

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE CURATIVOS PARA FERIDAS
DE QUEIMADURAS À BASE DE ÁCIDO HIALURÔNICO/ *ALOE VERA*/ VITAMINA E

Gabriela Garrastazu Pereira

PORTO ALEGRE, 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE CURATIVOS PARA FERIDAS
DE QUEIMADURAS À BASE DE ÁCIDO HIALURÔNICO/ *ALOE VERA*/ VITAMINA E

Tese apresentada por **Gabriela Garrastazu
Pereira** para obtenção do título de doutor em
Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Stanisçuaski Guterres

Co-orientador: Dr. Ralph Santos - Oliveira

Porto Alegre, 2013.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado – Produção e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos - da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada empela Banca Examinadora constituída por:

Prof^a. Dr.^a Letícia Cruz

Universidade Federal de Santa Maria

Prof^a. Dr.^a Renata Platcheck Raffin

Centro Universitário Franciscano

Prof^a. Dr.^a. Renata Fonseca Vianna Lopez

Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Ruy Carlos Ruver Beck

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Garrastazu Pereira, Gabriela
Estratégias para o desenvolvimento de curativos
para feridas de queimaduras à base de ácido
hialurônico/ aloe vera/ vitamina E / Gabriela
Garrastazu Pereira. -- 2013.
228 f.

Orientadora: Silvia Stanisçuaski Guterres.
Coorientadora: Ralph Santos Oliveira.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-
RS, 2013.

1. Queimaduras. 2. Aloe vera. 3. Vitamina E. 4.
Acido Hialurônico. 5. Curativos. I. Stanisçuaski
Guterres, Silvia, orient. II. Santos Oliveira,
Ralph, coorient. III. Título.

“Dedicatória.”

Aos meus pais e a minha avó Teresinha,
Mais uma vez este sonho realizado é nosso! Obrigada pela confiança... Sei que não
foi tão simples como da última vez, a saudade foi nossa companheira e a nossa
rotina foi diferente nestes últimos anos, mas o amor de vocês foi o combustível para
que eu realizasse mais este projeto, e mesmo com mais esse título continuo sendo o
reflexo de vocês, dos valores que me ensinaram e por me lembrarem que o futuro é
feito a partir da constante dedicação no presente.

Amo muito vocês

.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da UFRGS junto ao grupo de pesquisa *Sistemas Nanoestruturados para Administração de Fármacos* e contou com financiamento do CNPq e da Rede Nanocosméticos. O autor recebeu bolsa de estudos do CNPq e CAPES.

AGRADECIMENTOS

À Professora Silvia Stanisçuaski Guterres pela orientação, pelo incentivo constante e pelas valiosas oportunidades concedidas.

Ao Dr. Ralph Santos Oliveira pela orientação, pelas contribuições científicas, por acreditar no meu trabalho e aceitar o co-orientação desta tese, além da valiosa amizade.

Sono grata, inoltre, al Prof. Paolo Colombo ed a tutti i suoi collaboratori del Univeristá Degli Studio di Parma, (Parma, Italia), con cui ho avuto l'opportunità di lavorare.

Un ringraziamento speciale al Dott. Fabio Sonvico, per il suo indispensabile aiuto e costante supporto.

À professora Adriana Raffin Pohlmann pelas contribuições científicas e pela dedicação a este trabalho.

À todos os professores que colaboraram para a realização deste trabalho, Prof. Nilo Cardozo, Prof. Gilberto Weissmuller e Prof. Sérgio Souza, muito obrigado pelas oportunidades de aprender novas técnicas e pelas valiosas contribuições científicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aos seus docentes pela contribuição na minha formação e pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos colegas dos Laboratórios 405 da Faculdade de Farmácia e K204 do Instituto de Química pelo companheirismo, amizade e auxílio no desenvolvimento desta tese. Grazie a tutti i ragazzi del laboratorio di Parma, soprattutto grazie ad Anna Giulia, per il suo inestimabile contributo in laboratorio e per i bei momenti passati insieme.

Aos colegas Cássia Britto Detoni, Frantiescoli Anversa Dimer, Irene Clemes Kulkamp, Letícia Marques Colomé e Renata Platcheck Raffin pela participação direta em diversas etapas deste trabalho.

À Cassia Britto Detoni, Guilherme Soaeres, Irene Clemes Kulkamp, Karina Paese, Letícia Marques Colomé e ao Manoel Ortiz pela amizade e companheirismo.

À minha família e amigos pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A CAPES órgão financiador da bolsa de estudos e à Rede Nanocosméticos CNPq/MCT pelo apoio financeiro recebido durante a realização deste trabalho.

Meus Sinceros Agradecimentos!

APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Estatuto do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente tese foi redigida na forma de capítulos, para melhor organização e discussão dos resultados obtidos. Assim, este exemplar encontra-se dividido da seguinte forma:

- ❖ Introdução, contendo a apresentação do tema e a formulação das hipóteses de trabalho;
- ❖ Objetivos, geral e específicos;
- ❖ Revisão de Literatura;
- ❖ Capítulos 1-5: artigos em redação submetidos à periódicos científicos que se referem às diferentes etapas do trabalho realizado;
- ❖ Considerações Gerais, visando uma compreensão global dos resultados apresentados nas diferentes etapas do trabalho;
- ❖ Conclusões;
- ❖ Referências Bibliográficas Complementares; e
- ❖ Publicação complementar, publicação esta desenvolvida e publicada em paralelo ao trabalho de tese aqui apresentado.

RESUMO

Estratégias para o desenvolvimento de curativos para feridas de queimaduras à base de ácido hialurônico/ *aloe vera*/ vitamina E

As queimaduras constituem, nas diferentes idades, uma importante causa de morte por trauma, tanto em países desenvolvidos quanto naqueles em desenvolvimento. Apesar dos recentes avanços no desenvolvimento de substâncias ativas, os produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo a maior fonte para obtenção de moléculas para os mais diversos fins. Neste trabalho, foi proposta a primeira aplicação de uma mistura de substâncias naturais – Ácido hialurônico; *Aloe vera*; acetato de tocoferol - para a preparação curativos para o tratamento de feridas de queimaduras. A primeira etapa do trabalho constituiu no desenvolvimento de micropartículas de quitosana contendo vitamina E e *Aloe vera* e de um método analítico para a quantificação do acetato de tocoferol nas micropartículas de quitosana. O método se mostrou linear, específico e reprodutível, foi também realizado ensaios de fotoestabilidade, onde o acetato de tocoferol microencapsulada se mostrou mais estável que o acetato de tocoferol em pó comercial. Na segunda etapa, consistiu no desenvolvimento de um gel termorreversível e para isto fez-se a avaliação reológica do gel de poloxamer 407, determinando-se que o gel contendo 18% de poloxamer possui temperatura sol-gel de 32 °C e que quando se adiciona as micropartículas esta temperatura diminui para 30 °C. O gel demonstrou propriedades pseudo-plásticas e baixa viscosidade. Na etapa seguinte, foram desenvolvidas com sucesso micropartículas contendo *aloe vera*/acetato de tocoferol. Diversas análises microscópicas foram efetuadas para caracterizá-las e um método *in vivo* para avaliação da permeação das partículas através da radiação gama foi desenvolvido. Avaliou-se também o poder cicatrizante do gel contendo as micropartículas e este apresentou um poder cicatrizante maior do que quando usado somente o gel sem as micropartículas. Na quarta etapa, desenvolveu-se filmes poliméricos de hialuronato, contendo *aloe vera* e acetato de tocoferol, avaliando-se as suas propriedades mecânicas e morfológicas e testes de liberação comparando-os com um creme comercial contendo a mesma concentração de acetato de tocoferol. O filme apresentou uma liberação lenta, quando comparada ao creme que não libera o fármaco e no teste de *tape stripping* foi possível observar que o acetato de tocoferol

contido no filme permeava até as camadas mais profundas do estrato córneo em comparação ao creme comercial com a mesma quantidade de acetato de tocoferol. Na quinta e última etapa, foram desenvolvidas nanopartículas lipídicas contendo acetato de tocoferol, sendo estas caracterizadas por técnicas diversas. As nanopartículas apresentaram tamanho de partícula e polidispersão adequadas para uso tópico e cinética de liberação do acetato de tocoferol monoexponencial e tempo de meia-vida de 881 horas. Quando incorporadas em um filme polimérico de hialuronato, as mesmas apresentam liberação lenta quando comparadas a filmes de hialuronato contendo acetato de tocoferol livre e também propriedade oclusiva maior.

ABSTRACT

Strategies for the development of dressings for burn wounds based on hyaluronic acid / *Aloe vera* / Vitamin E

The burns are in different ages an important cause of death, both developed country as in undeveloped country. In despite of many studies discovery different substances the natural products like plants and minerals remain the main source to obtain different molecules to various purposes. In this work, we present in the first time a mixture of natural substances like Hyaluronic acid, *Aloe vera* and tocopherol acetate, to prepare different dressings to treat burn wounds. The first step was the development of chitosan microparticles with tocopherol acetate and *Aloe vera* and an analytical method to quantify the tocopherol acetate in chitosan microparticles. The method showed linear, specific and reproducible, was also performed the photostability studies where the tocopherol acetate microparticulate presented more stable than the tocopherol acetate in a commercial power. The second step was the development of a thermoresible gel and for this and it became the rheological evaluation of poloxamer 407 gel, determined that the gel containing 18% of poloxamer has the sol-gel temperature equal 32 °C and when added the chitosan microparticles this temperature decreases for 30 °C. the gel demonstrated characteristics pseudo-plastic and low viscosity. In the next step, we developed chitosan microparticles containing *Aloe vera*/tocopherol acetate. Different microscopy analyses were used to characterize the microparticles and an in vivo method was used to evaluate the microparticles permeation through the gamma scintigraphy. Was also evaluated the healing power of the gel containing the microparticles and this presented a healing power better than used the gel without the microparticles. The fourth stage we developed polymeric films with hialuronate/ *Aloe vera*/ tocopherol acetate we evaluated the mechanics and morphologic properties and release tests compared with a commercial cream with the same quantity of tocopherol acetate. The film presented a slow release compared with the commercial cream that did not release tocopherol acetate. The tape stripping test it was possible observed that the tocopherol acetate in polymeric films permeated to the deeper layers of the stratum corneum compared with the commercial cream with the same quantities of tocopherol acetate. In the last stage were developed lipid nanoparticles with tocopherol acetate and characterized by different techniques. The nanoparticles

presented particle size and polydispersion index adequate to used in topic application and the tocopherol acetate kinetic release monoexponencial and the half life equal a 881 hours. When incorporate the particles in polymeric films the particles presenting slow release compared with polymeric films containing tocopherol acetate free and the occlusion properties better. In conclusion it was possible develop different dressings to treatment of burn wounds.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
OBJETIVOS	27
REVISÃO DE LITERATURA	29
PUBLICAÇÃO 1: DEVELOPMENT OF STABLE CHITOSAN MICROPARTICLES CONTAINING α-TOCOFEROL ACETATE AND ALOE VERA BY SPRAY DRYING	45
Abstract.....	48
Introduction	49
Experimental Part.....	51
Materials	51
Preparation of the particles.....	51
Characterization of the particles.....	51
Analytical Method.....	51
Specificity.....	52
Linearity.....	52
Quantification and detection limits.....	53
Repeatibility.....	53
Recuperation.....	53
Photostability.....	54
Results and Discussion.....	55
Conclusion.....	60
References.....	61
PUBLICAÇÃO 2: FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF POLOXAMER 407[®] THERMOREVERSIBLE GEL CONTAINING POLYMERIC MICROPARTICLES AND HYALURONIC ACID FOR <i>IN SITU</i> TREATMENT OF BURN WOUNDS	69
Abstract.....	72
Introduction.....	73
Experimental part.....	75
Chemicals.....	75
Microparticle preparation.....	75
Preparation of gels.....	76
Measurement of gelation temperature.....	76
Statistical analysis.....	77

Results and Discussion	77
Conclusions.....	80
References.....	81
PUBLICAÇÃO 3: MICROPARTICLES OF ALOE VERA/ VITAMIN E /CHITOSAN: MICROSCOPIC ANALYSIS, DEVELOPMENT OF A NUCLEAR IMAGING METHODOLOGY AND AN <i>IN VIVO</i> TEST FOR BURN TREATMENT.....	89
Abstract.....	92
Introduction.....	93
Experimental part.....	95
Material.....	95
Microparticles preparation.....	95
Microparticles characterization.....	95
Particle size measurement.....	95
Determination of water content.....	95
Scanning electron microscopy analyses.....	96
Atomic force microcopy analyses.....	96
Mucoadhesivity evaluation.....	96
Raman microscopy analyses.....	97
In vivo gamma scintigraphy studies.....	97
In vivo clinical and histopathological evaluation of thermal 2 nd degree burns...	97
Results and Discussion.....	98
Conclusion.....	105
References.....	106
PUBLICAÇÃO 4: BIOADHESIVE POLYMERIC FILMS LOADED WITH VITAMIN E AND <i>ALOE VERA</i> FOR TOPICAL APPLICATION FOR THE TREATMENT OF BURN WOUNDS.....	123
Abstract.....	126
Introduction.....	127
Experimental part.....	130
Materials.....	130
<i>Aloe vera</i> and vitamin E acetate loaded films preparation.....	130
Physical characterization of the film.....	131
Vitamin E acetate assay.....	131
Scanning electronic microscopy analyses.....	132
Atomic force microscopy analyses.....	132

Mechanical evaluation of films.....	133
<i>In vitro</i> vitamin E acetate release studies.....	133
<i>Tape Stripping</i>	134
Statistical analysis.....	135
Results and Discussion.....	136
Conclusion.....	144
References.....	145
PUBLICAÇÃO 5: BIOADHESIVE POLYMERIC FILM CONTAINING VITAMIN E-LOADED NANOPARTICLES AND ALOE VERA FOR SKIN APPLICATION TO THE TREATMENT OF WOUND HEALING	157
Abstract.....	160
Introduction.....	161
Experimental Part.....	163
Materials.....	163
Nanoparticle preparation.....	163
Nanoparticle morphology.....	163
Physico-chemical characterization of nanoparticles suspensions.....	164
Laser diffractometry of nanoparticles suspensions.....	164
Nanoparticle tracking analysis.....	163
Determination of encapsulation efficiency.....	165
Multiple light scattering.....	165
Stability studies.....	166
HPLC assay.....	166
<i>In vitro</i> release study.....	167
Film preparation.....	168
Physical characterization of the film.....	168
Vitamin E acetate assay.....	168
Scanning electronic microscopy analyses.....	169
Atomic force microscopy analyses.....	169
<i>In vitro</i> occlusion test.....	169
<i>In vitro</i> vitamin E acetate release studies.....	170
Results and Discussion.....	171
Conclusion.....	178
References.....	192

CONSIDERAÇÕES FINAIS	197
CONCLUSÕES	205
REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES	209
ANEXO- PUBLICAÇÃO COMPLEMENTAR: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS DESTINADAS À APLICAÇÃO TÓPICA DE DAPSONA.....	221

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As queimaduras são as lesões mais devastadoras que o corpo humano pode sofrer. Nesse tipo de trauma há liberação de mediadores celulares e humorais que determinam alteração da permeabilidade capilar, metabólica e imunológica, levando a um distúrbio hidroeletrólítico, desnutrição e infecção (Atiyeh *et al.*, 2005).

Queimadura é definida como sendo uma lesão causada por agentes térmicos, químicos, elétricos ou radioativos que, atuando nos tecidos de revestimento do corpo humano, destroem parcial ou totalmente a pele e seus anexos, podendo atingir camadas mais profundas, como tecido celular subcutâneo, músculos, tendões e ossos (Gonçalves, 2000). As queimaduras causadas por exposição a agentes térmicos podem ainda ser subdivididas entre aquelas causadas pelo contato direto com chamas (sejam elas de diversas origens), com líquidos e seus vapores (conhecidas por escaldos ou escaldaduras) e com sólidos (ou superfícies sólidas) aquecidos (Rangel, 1998).

Mesmo com a melhora no prognóstico (Peyrefitte, 1998) e com o progresso no emprego de substitutos biológicos da pele (Balasubramani *et al.*, 2001), as queimaduras ainda representam uma importante causa de mortalidade (Leonardi, 2000; Peter, 2001), as lesões por queimaduras são a terceira causa de morte acidental em todas as faixas etárias no Brasil, sendo que 75% dessas lesões resultam da ação da vítima e ocorrem no ambiente domiciliar. Nos Estados Unidos, 70.000 pessoas são hospitalizadas a cada ano, com ferimentos graves causados por trauma térmico (Vale, 2005).

As queimaduras representam um problema de saúde pública não só no Brasil mas também no mundo e o processo para de cicatrização destas feridas define-se como um sistema ordenado de fenômenos dinâmicos que se apresentam como resposta à ação de vários tipos de células, a exemplo de inflamatórias, plaquetárias, epiteliais e fibroblastos, que atuam continuamente para a recuperação dos tecidos lesionados (Lever, 2002; Bouwastra, 2003; Boateng *et al.*, 2008). Os mecanismos de cicatrização podem ser classificados como fechamento primário ou por primeira intenção, onde há reepitelização com mínima formação de tecido de granulação (Atiyeh *et al.*, 2007; Groeber *et al.*, 2012). Também podem ocorrer por fechamento secundário (segunda intenção ou espontâneo), onde as feridas são mantidas abertas e a cicatrização depende da formação do tecido de granulação e contração

da ferida. O terceiro tipo denomina-se fechamento primário tardio, onde as técnicas de desbridamento são aplicadas juntamente com antibioticoterapia, visto que geralmente são acompanhados por contaminação e/ou infecção, como no caso das feridas de queimadura (Cesaretti, 1998; Goldberg e Diegelmann, 2010).

Grande parte dos pacientes queimados permanece internada por um período variável, que depende da extensão e da profundidade da lesão. Assim, quanto mais rápida for à cicatrização da área, melhor para os pacientes e para o sistema público de saúde, uma vez que esses pacientes permanecem internados por, no mínimo, 15 dias, gerando gastos para o sistema hospitalar (Coutinho *et al.*, 2010).

O tratamento envolve a administração de substâncias com atividade antibacteriana e que estimulam o processo de cicatrização (Balasubramani *et al.*, 2001; Boateng *et al.*, 2008). As características desejadas para um produto de uso tópico para áreas queimadas envolvem a capacidade de regeneração tissular, a atividade antimicrobiana, já que a presença de microrganismos na área afetada compromete o processo cicatricial, a ausência de toxicidade, a facilidade de aplicação e de remoção do produto (Drago *et al.*, 2009). Tendo em vista todos os aspectos citados acima, inúmeras substâncias têm sido estudadas, entre elas muitas de origem vegetal como o *Aloe Vera*, a própolis verde, a própolis marrom, a papaína entre outros.

O *Aloe vera* Linné, também conhecido como *Aloe barbadensis* Miller (Liliaceae) ou popularmente como babosa vem sendo utilizada há muito tempo como medicamento (Feily e Namazi, 2009). O gel extraído provém do parênquima das folhas (Heck *et al.*, 1981) apresenta aspecto de gel incolor (mucilagem). Estima-se que o *Aloe vera* Linné possua cerca de duzentas substâncias biologicamente ativas que atuam sinergicamente sobre os fibroblastos durante a formação de um novo epitélio (Reynolds e Dweck, 1999; Steenkamp e Stewart, 2007) auxiliando no tratamento de feridas de queimaduras, cicatrização das lesões cutâneas, alívio de dores, além de ser um poderoso agente hidratante (Schreml *et al.*, 2010).

Outra substância utilizada no processo de cicatrização de queimaduras é o acetato de tocoferila, DL-alfa acetato de tocoferol ou vitamina E, que é considerado um potente antioxidante utilizado em aplicações tópicas. A vitamina E é um antioxidante que protege as membranas biológicas dos efeitos negativos dos radicais livres, principalmente pelo fato da membrana biológica ser constituída de ácidos graxos poli-insaturados, os quais são suscetíveis à oxidação (Thiele e

Ekanayake-Mudiyanselage, 2010; Zampieri *et al.*, 2010). Esta vitamina tem como principais ações a de reduzir o eritema, danos causados por raios UV, queimaduras, bem como a fotocarcinogênese, a capacidade de aumentar a atividade superóxido desmutase dérmica, além de diminuir consideravelmente a formação de peroxidases lipídicas na epiderme e apresentar a capacidade de prevenir a imunossupressão sistêmica induzida por UV (Eberlein-Kónig, 2005). Além de neutralizar os radicais livres, o acetato de alfa-tocoferol, também vem sendo empregado em formulações para outras finalidades, tais como umectante, anti-inflamatório, cicatrizante e para melhorar a microcirculação (Zanatta *et al.*, 2010).

Entre os componentes da pele, as glicosaminoglicanas são cadeias de polissacarídeos compostas de unidades repetidas de dissacarídeos, ligadas covalentemente às proteínas para formar moléculas de proteoglicana com alta propriedade hidrofílica. Concentram-se principalmente na matriz extracelular, na periferia e entre a elastina e o colágeno. Sete grupos maiores de glicosaminoglicanas têm sido distinguidos, sendo que o principal deles é o ácido hialurônico (Burd *et al.*, 1991; Andrew *et al.*, 2004). Na pele, o ácido hialurônico provê uma alta hidratação que facilita o movimento de células que ocorre em estágios prematuros do dano, inflamação ou cicatrização de feridas. Ele também pode contribuir para as propriedades elásticas da derme por formação de uma rede de estruturas helicoidais, e por diferenciação epidermal (Andrew *et al.*, 2004; Liao *et al.*, 2005).

De acordo com o exposto acima e considerando que a associação entre *Aloe vera*, vitamina E e ácido hialurônico poderia beneficiar o tratamento de feridas de queimaduras, este trabalho foi delineado no sentido de propor novos curativos baseados na associação inédita destas substâncias. Para tal, propõe-se como estratégias o desenvolvimento de micropartículas poliméricas e sua incorporação em um gel termorreversível, bem como a preparação de filmes poliméricos contendo ou não nanopartículas de vitamina E. Cabe ressaltar que não foram encontrados registros da associação das referidas substâncias em tais formulações destinadas ao tratamento de queimaduras.

Contemplando as referidas investigações, este trabalho é apresentado sob a forma de cinco publicações: a primeira intitulada “Development of stable chitosan microparticles containing α -tocopherol acetate and *aloe vera* by spray drying”, submetida periódico Journal of Chromatographic Science; a segunda intitulada

“Formulation and characterization of poloxamer 407 thermoreversible gel containing polymeric microparticles and hyaluronic acid for *in situ* treatment of burn wounds”, aceita pela revista revista Química Nova; a terceira com o título de “Microparticles of *Aloe vera*/ vitamin E /chitosan: microscopic analysis, development of a nuclear imaging methodology and an *in vivo* test for burn treatment”; a quarta intitulada “Bioadhesive polymeric films loaded with vitamin E and *Aloe vera* for topical application for the treatment of burn wounds”, submetida ao periódico Skin Research and Technology e, por fim, a quinta intitulada “Bioadhesive polymeric film containing vitamin E-loaded nanocapsules and *Aloe vera* for skin application to the treatment of wound healing” submetida ao Drug Delivery and Translational Research.

Adicionalmente, este trabalho traz ainda em seu anexo, uma publicação realizada em paralelo às relativas do doutorado, a qual se intitula “Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas lipídicas destinadas a aplicação tópica de dapsona” que constitui-se em uma publicação no periódico Química Nova.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar *in vitro* e *in vivo* formulações destinadas ao tratamento de feridas de queimaduras contendo a associação *Aloe vera*/ vitamina E/ ácido hialurônico.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar micropartículas contendo *Aloe vera*/ Vitamina E empregando a técnica de secagem por aspersão em escala laboratorial, usando quitosana como polímero e caracterizá-las quanto à quantificação de vitamina E, morfologia e perfil de liberação através da marcação das partículas com tecnécio 99m;
- Analisar histopatologicamente o uso de micropartículas de *aloe vera*/vitamina E /quitosana em um gel termorreversível *in vivo*;
- Preparar um gel termorreversível com ácido hialurônico contendo as micropartículas de *Aloe vera*/ vitamina E/ quitosana e caracterizá-lo quanto aos perfis reológicos;
- Desenvolver filmes poliméricos de hialuronato de sódio contendo *Aloe vera*/vitamina E, caracterizá-los morfologicamente e mecanicamente e quanto ao perfil de liberação através da técnica de *tape stripping* e liberação da vitamina E *in vitro*;
- Desenvolver nanopartículas lecitina/ácido hialurônico contendo vitamina E e caracterizá-las quanto a quantificação de vitamina E, morfologia e perfil de liberação e incorporá-las em filmes poliméricos de hialuronato de sódio.

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Queimaduras

As queimaduras constituem, nas diferentes idades, a terceira causa de morte por trauma e a segunda em menores de quatro anos no Brasil (Rossi *et al.*, 2000). As lesões térmicas produzidas por escaldadura são as mais comuns, especialmente em menores de cinco anos. A queimadura elétrica é menos frequente, porém causa lesões de extrema gravidade, mutilações e óbito. Baixa idade, lesão inalatória, extensão e profundidade da lesão, demora e falhas no primeiro atendimento médico são fatores agravantes e associados a aumento da mortalidade (Van Loey *et al.*, 2001).

Os aspectos epidemiológicos das queimaduras variam de uma comunidade para a outra, enquanto que, os efeitos que alguns tipos de queimaduras produzem sobre a taxa de morbidade e mortalidade sobre circunstâncias similares, são universais. Este tipo de lesão provoca, além do risco de morte, importantes repercussões metabólicas, sequelas físicas e psicológicas e algumas complicações que podem levar a morte do paciente, conforme Tabela 1, a partir de um estudo realizado pelo Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre (Doncatto, 2008).

Tabela 1. Complicações que levam pacientes queimados a morte (Doncatto, 2008).

Complicações	Pacientes	
	n	%
Infecção da ferida	176	12.8
Pulmonares	106	7.7
Cardiovasculares	60	4.4
Hematológicas	53	3.8
Hidroeletrolíticas	53	3.8
Renais	47	3.4
Gastrointestinais	20	1.5
Psiquiátricas	14	1.0
Neurológicas	13	0.9
Não identificadas	837	60.7
Total	1379	100.0

No Brasil, as queimaduras são um problema de saúde significativo. Sabe-se que cerca de 100.000 pacientes procurarão, a cada ano, atendimento hospitalar e 2.500 irão falecer, direta ou indiretamente de suas lesões. Destes acidentes com queimaduras, dois terços ocorrem em crianças e adolescentes, conforme Tabela 2. As queimaduras estão entre as principais causas externas de morte registradas no Brasil, sendo superadas apenas por outras causas violentas, que incluem acidentes de transporte e homicídios (Brasil e mortalidade, 2004).

Tabela 2: Características dos pacientes queimados no Brasil (Doncatto, 2008).

Características	Pacientes		Óbitos (n)	Taxa de mortalidade (n)
	n	%		
Sexo				
Masculino	860	62.4	52	6.0
Feminino	519	37.6	34	6.6
Total	1379	100.0	86	6.2
Faixa etária				
0 a 10	679	49.2	17	2.5
11 a 20	179	13.0	10	5.6
21 a 30	196	14.2	11	5.6
31 a 40	158	11.4	10	6.3
41 a 50	80	5.8	10	12.5
51 a 60	42	3.0	8	19.0
61 a 90	45	3.4	20	44.4
Total	1379	100.0	86	6.2

O agente e o tempo de exposição ao agente térmico determinam a profundidade da lesão, assim sendo, elas são classificadas em queimaduras de 1º, 2º e 3º graus. Considera-se lesão de 1º grau aquela que atinge somente a epiderme (Bunyaphatsara *et al.*, 1996). Costuma ser secundária à exposição prolongada à luz ultravioleta ou exposições curtas ao calor. As queimaduras de 2º grau envolvem a epiderme e porções variáveis da derme, sendo subdivididas em superficial e profunda, de acordo com a profundidade da derme atingida, são produzidas por contatos com líquidos quentes ou chama, sendo que, quanto maior o tempo de contato com esses agentes, maior a profundidade da lesão. Nas lesões de 2º grau profundo, a reepitelização da ferida ocorre de forma precária, sendo possível obter melhores resultados estéticos e funcionais com tratamento cirúrgico. Por sua vez, nas queimaduras de 3º grau, ou espessura total, há destruição completa da epiderme e derme, podendo atingir outros tecidos. Nestas lesões, como não resta tecido cutâneo capaz de se regenerar, é necessário à enxertia para reparação tecidual. São causadas pela exposição a produtos químicos concentrados, eletricidade (alta voltagem) ou por contato prolongado com chamas ou líquidos

quentes (Peter, 2001; Van Loey *et al.*, 2001; Drago *et al.*, 2009).

A literatura menciona que o “estar” queimado é uma das mais traumáticas situações que o indivíduo pode vivenciar física- e emocionalmente. Trata-se de um acontecimento que interrompe bruscamente a existência, passando-se da integridade física para o desequilíbrio, cuja gravidade varia com a extensão do dano (Coutinho *et al.*, 2010).

Os danos iniciais de uma queimadura e o tratamento que se segue podem estressar os pacientes muito além de seu nível de tolerância. O queimado tem que lutar contra o desconforto físico inicial e com a dor, tanto quanto com os problemas psicológicos imediatos e tardios, como delírio, regressão, depressão e a imagem corporal alterada (Rossi *et al.*, 2000; Bergamasco *et al.*, 2002; Lumenta *et al.*, 2008). Este último aspecto tem uma conotação importante, levando-se em consideração que a desfiguração não constitui um fato raro no pós-queimadura (Zor *et al.*, 2005; Bozkurt *et al.*, 2008).

O cuidado com as vítimas de queimaduras tem progredido muito nos últimos 50 anos. Antes da Segunda Guerra Mundial, pacientes com menos de 30% de Superfície do Corpo Queimado (SCQ) apresentavam mortalidade de 50%. Hoje, para esta mortalidade a SCQ elevou-se para 65-75%. Esses avanços na sobrevivência dos queimados são devidos a múltiplos fatores, incluindo:

- Um melhor entendimento da fisiopatologia da queimadura;
- Melhora na ressuscitação volêmica para prevenir o desenvolvimento do choque e da insuficiência renal aguda;
- O desenvolvimento de agentes antimicrobianos tópicos, tais como a sulfadiazina de prata e o acetato de mafenide, para reduzir a incidência de infecções na queimadura;
- O desenvolvimento e implementação de métodos de suporte nutricional para otimizar a cicatrização da ferida e aumenta a resistência às infecções e;
- O entendimento de que a remoção cirúrgica precoce da escara necrótica da queimadura com enxertia precoce encurta o período de estresse fisiopatológico (Bernard, 1982; Bergamasco *et al.*, 2002; Bozkurt *et al.*, 2008).

3.2 Cicatrização

O tratamento das feridas é, provavelmente, uma das áreas mais antigas da Medicina. Evidências arqueológicas indicam que na pré-história, os extratos de plantas, frutas, lama, água e gelo eram aplicados sobre as feridas. Os antigos egípcios usavam tiras de pano para manter as bordas das lesões unidas, pois acreditavam que uma ferida fechada curava-se mais rapidamente do que uma aberta (Iur., 1998; Lima, 2009).

No século IV A.C., Hipócrates orientava o tratamento das feridas: “Derreta a gordura de um porco velho e misture com resina e betume, espalhe em uma peça velha de roupa, esquite-a no fogo, aplique-a como atadura”. Ambroise Pare, Século XVI, introduziu a necessidade de desbridamento, aproximação das bordas e uso de curativos. Lister, no Século XIX, desenvolveu o conceito da antisepsia da pele e do material cirúrgico, colaborando para a resolução das feridas (Andrade Mnb, 1992; El, 2001; Coutinho *et al.*, 2010).

O processo de cicatrização define-se como um sistema ordenado de fenômenos dinâmicos que se apresentam como resposta à ação de vários tipos de células, a exemplo de inflamatórias, plaquetárias, epiteliais e fibroblastos, que atuam continuamente para a recuperação dos tecidos lesionados (Gt., 1997; Rodeheaver, 1997; Lionelli Gt, 2003; Atiyeh *et al.*, 2005).

Os mecanismos de cicatrização podem ser classificados como fechamento primário ou por primeira intenção, onde há reepitelização com mínima formação de tecido de granulação (Lionelli Gt, 2003; Schreml *et al.*, 2010). Também pode ocorrer por fechamento secundário (segunda intenção ou espontâneo), onde as feridas são mantidas abertas e a cicatrização depende da formação do tecido de granulação e contração da ferida. O terceiro tipo denomina-se fechamento primário tardio, onde as técnicas de desbridamento são aplicadas juntamente com antibioticoterapia, visto que geralmente são acompanhados por contaminação e/ou infecção (Eaglstein, 2001; Wh., 2001; Wood, 2012).

Embora a reparação tecidual seja um processo sistêmico, é necessário favorecer condições locais através de terapia tópica adequada para viabilizar o processo fisiológico (Borges, 2001; El, 2001).

O processo de reparação tissular compreende dois mecanismos de restauração dos tecidos: a *regeneração* e a *cicatrização*. A regeneração ocorre com

a reposição tissular original. O trauma inicial geral uma resposta inflamatória aguda que se manifesta através de edema e formação de exsudato serosos, rico em leucócitos, que cessa em torno de 72 horas. As células epidérmicas, das margens da ferida e das invaginações epidérmicas dos folículos pilosos e glândulas (sudoríparas e sebáceas) começam a proliferar e migrar sobre o leito da ferida, ocluindo sua superfície promovendo, assim, a cicatrização (El, 2001; Boateng *et al.*, 2008; Adewumi e Ogunjinmi, 2011).

A evolução cicatricial das feridas é composta de uma série de estágios complexos, interdependentes e simultâneos, e representa o esforço do corpo para restaurar a função e a estrutura natural de um tecido injuriado (Goldberg e Diegelmann, 2010). Este processo é sem dúvida uma das partes mais primordiais e vitais na existência de qualquer código genético, sendo o objetivo do mesmo restabelecer o funcionamento ideal para a sobrevivência e atividade do organismo vivo (Hanna e Giacomelli, 1997).

As estruturas substitutas devem ser produzidas de modo que permitam à parte original ficar tão recomposta quanto possível. Nos seres vivos, o processo de reconstrução tecidual é concluído com notável sucesso, mas é improvável que o corpo tenha exatamente as mesmas “ferramentas” (matéria-prima e ambiente) de antes para trabalhar, por isso existem limites no que concerne à qualidade da replicação (Balasubramani *et al.*, 2001; Groeber *et al.*, 2012).

3.3 Aloe Vera

Apesar dos recentes avanços na terapêutica providos pela síntese orgânica e a biotecnologia, os produtos naturais derivados de plantas e minerais continuam sendo a maior fonte para obtenção de medicamentos para os mais diversos fins. Dentre as substâncias naturais mais amplamente utilizadas para cicatrização de feridas cutâneas, destacam-se o mel (Adewumi e Ogunjinmi, 2011), a própolis (40) e as folhas do *Aloe vera* (Bunyapraphatsara *et al.*, 1996; Cuttle *et al.*, 2008).

Aloe vera (L.) Burm.f., pertencente à família Asphodelaceae (Klein e Penneys, 1988; Jia *et al.*, 2008), é popularmente conhecida no Brasil como babosa. O gênero *Aloe* compreende mais de 300 espécies catalogadas, contudo, apenas algumas espécies como *Aloe vera*, *Aloe ferox* (Cape aloés) e *Aloe perryi* Baker (*Aloe* da ilha de Socotra) têm sido exploradas pelas indústrias farmacêutica e cosmética (Heck *et*

al., 1981; Klein e Penneys, 1988).

Estima-se que o *Aloe vera* Linné possua cerca de duzentas substâncias biologicamente ativas que atuam sinergicamente sobre os fibroblastos durante a formação de um novo epitélio (Reynolds e Dweck, 1999). As diferentes formas de apresentação derivadas da mucilagem das folhas do *Aloe vera* Linné disponíveis são estabilizadas, preparadas por diversos métodos, desde extração por solvente sob condições extremas até processos de extração por secagem em baixas temperaturas. O produto resultante é variável em relação à sua composição e ao comprometimento da propriedade cicatrizante da droga “in natura” (Klein e Penneys, 1988; Jia *et al.*, 2008).

Inúmeras atividades biológicas têm sido estudadas e atribuídas ao *Aloe vera*, particularmente ao gel da polpa de suas folhas. Entre elas, atividades antiviral, antibacteriana e antifúngica (Choi e Chung, 2003), laxante (Akao *et al.*, 1996), anti-inflamatória (Nandal e Bhardwaj), protetora contra radiação UV (Mukherjee *et al.*), tratamentos contra queimaduras (Muller *et al.*, 2003), estimulante do sistema imunológico (Steenkamp e Stewart, 2007), aceleração de cicatrizações de feridas (Maenthaisong *et al.*, 2007), tratamento de edemas (Grindlay e Reynolds, 1986), adjuvante no tratamento de artrites (Nandal e Bhardwaj), de problemas gastrintestinais (Gao *et al.*, 2004), de úlceras (Steenkamp e Stewart, 2007), diabetes e até mesmo alguns tipos de câncer (Reynolds e Dweck, 1999).

As pesquisas científicas sobre as propriedades medicinais do gel da polpa das plantas do gênero *Aloe* começaram por volta de 1930. Os primeiros resultados referem-se à publicação de Collins e Collins em 1935, apud Grindlay e Reynolds (1986), que se basearam no uso popular do gel contra queimaduras solares severas em pacientes na Flórida. Pesquisas anteriores relatavam apenas o efeito purgativo do exsudato das folhas, o gel era ignorado. Resultados mais importantes no tratamento de lesões com o gel do *Aloe* foram observados quando o raio-X começou a ser usado no tratamento de alguns tipos de câncer. No início, esse tipo de terapia causava muitas queimaduras e irritação de pele, principalmente por exposições exageradas, então, com o uso do gel essas queimaduras cicatrizam mais rápido, deixando cicatrizes mínimas (Choi e Chung, 2003).

3.4 Ácido Hialurônico

O ácido hialurônico, também conhecido como hialuronam, é a glicosaminoglicana estruturalmente mais simples, constituída pela alternância de N-acetilglucosamina e ácido glucurônico (Kogan *et al.*, 2007).

O ácido hialurônico é um polissacarídeo de origem animal, composto por unidades repetitivas de dissacarídeo D-glucurônico e ácido N-acetil-D-glucosamina, que devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e viscoelasticidade têm sido usadas como um biomaterial ideal para cosméticos, aplicações médicas e farmacêuticas (Liao *et al.*, 2005). Também são relatadas aplicações clínicas para o hialuronato, como o tratamento de osteoartrites, na cicatrização de feridas e em cirurgia oftalmológicas e otológicas (Kogan *et al.*, 2007). Adicionalmente, este material também tem sido proposto como principal constituinte de várias formas farmacêuticas inovadoras, tais como microesferas (Lim *et al.*, 2002; Esposito *et al.*, 2005), hidrogéis (Hahn *et al.*, 2006; Mayol *et al.*, 2008), filmes (Arnold *et al.*, 2000) e implantes (Yadav *et al.*, 2008). Recentemente, bioconjugados de paclitaxel-hialuronato (ONCOFID-P ®) têm sido propostos para o tratamento intravesical local de câncer de bexiga superficial (Rosato *et al.*, 2006; Banzato *et al.*, 2009).

Como o ácido hialurônico é um elemento chave na matriz extracelular, este tem um papel fundamental no processo de cicatrização de feridas que envolve a deposição de uma nova matriz (Burd *et al.*, 1991). A sequência de eventos de reparo de feridas, a forma de cura que resulta na formação de cicatriz envolve inflamação, proliferação celular, angiogênese na deposição da matriz e remodelação da mesma (Andrew *et al.*, 2004).

Há evidências que sugerem que a cicatrização de feridas pode ser modulada, resultando em uma diminuição no tempo de cicatrização. Chauvin e colaboradores (1999) relataram uma melhor cicatrização na perfuração da membrana timpânica de ratos após a aplicação tópica de ácido hialurônico na lesão. Membranas tratadas com ácido hialurônico apresentaram-se normais (translúcidas), de acordo com avaliação microscópica três meses após serem rompidas, em contraste com membranas não tratadas, que se mostraram extensamente opacas. Em um estudo de acompanhamento foi relatado que este efeito foi independente do tamanho molecular ou propriedades reológicas do ácido hialurônico, mas relacionada com a concentração da preparação (Chauvin *et al.*, 1999).

3.5 Vitamina E

A vitamina E foi descoberta em 1922 pelo Dr. Herbert Evans (professor de Bioquímica da Universidade da Califórnia). O estudo demonstrou a necessidade dessa vitamina nos processos normais de reprodução em ratos, advindo daí o nome tocoferol (do grego *tocos* = parto + *phercin* = levar adiante + *ol* = pela natureza alcoólica da substância) (Eberlein-Kóning, 2005). A vitamina E funciona basicamente *in vivo* como um antioxidante, inibindo a oxidação de lipídeos insaturados, agindo como doador de elétron e, como tal, reagindo diretamente com os radicais livres (Lederer, 1991; Thiele e Ekanayake-Mudiyanselage, 2010).

A vitamina E abrange um grupo de oito vitaminas caracterizadas por uma estrutura em anel cromanol com padrões de substituição distintos de grupos metil nas posições 5, 7 e 8 do grupo de cabeça (α , β , γ e σ -) e um carbono na posição 16 - da cadeia lateral phytyl (saturados em tocoferol e com três duplas ligações em tocotrienóis) (Schwartz *et al.*, 2008; Alves, R. C. *et al.*, 2009; Wang, X.-Q. *et al.*, 2010). A vitamina E é conhecida como o mais eficaz antioxidante lipossolúvel natural, protegendo as membranas celulares dos radicais peroxila e espécies mutagênicas de óxido de nitrogênio (Gliszczynska-Świgło e Sikorska, 2004). A prevenção dos tecidos mediante os radicais livres pode desempenhar um papel importante na patogênese de várias doenças degenerativas, como doenças cardiovasculares, câncer, doenças inflamatórias, doenças neurológicas, catarata e na manutenção do sistema imunológico (Almeida *et al.*, 2009).

Agentes protetores como os tocoferóis, são vistos como componentes essenciais da bicamada lipídica das membranas biológicas, associados em particular na proteção contra níveis aumentados de radicais livres e com a interrupção de reações de radicais livres. Quando adicionados a cosméticos, fornecem proteção contra estas moléculas químicas destrutivas que comprometem a integridade da pele e do cabelo (Lederer, 1991; Gaspar e Campos, 2007).

Segundo Lederer (1990), a vitamina E pode ter ação protetora sobre a pele, a mucosa bucal, a glândula mamária, o estômago e o colón. Além disso, a vitamina E também é capaz de inibir o crescimento das células malignas de linfomas e de câncer de mama *in vitro*. Ela impede que as células tumorais deem prosseguimento ao ciclo celular, interrompendo-o na fase G1 e conduzindo a apoptose. Em estados de deficiência dessa vitamina, os danos celulares causados pela produção de

radicais livres pelo tumor resultam em peroxidação lipídica e destruição celular (Lampen *et al.*, 2003). Esta vitamina tem como principais ações reduzir o eritema, minimizar danos causados por raios UV, os quais levam à fotocarcinogênese, atuar como adjuvante no tratamento de queimaduras, além de apresentar a capacidade de aumentar a atividade superóxido desmutase dérmica, diminuir consideravelmente a formação de peroxidases lipídicas na epiderme (Eberlein-Kónig, 2005), e apresentar a capacidade de prevenir a imunossupressão sistêmica induzida por UV (Ching Kuang, 1991). O acetato de alfa-tocoferol, também vem sendo empregado em formulações para outras finalidades além da neutralização de radicais livres, objetivando efeito umectante; anti-inflamatório, cicatrizante e para melhorar a microcirculação (Zanatta *et al.*, 2010).

A vitamina E desempenha um efeito modulador no sistema imunológico, protegendo contra danos causados por radicais livres, que podem ser gerados em situações de estresse oxidativo oriundo de inflamações (Ching Kuang, 1991). Por ser de caráter lipofílico, a vitamina E acumula-se nas lipoproteínas circulantes, nas membranas celulares e nos depósitos de gordura, nos quais reage rapidamente com o oxigênio molecular e os radicais livres (Roberts *et al.*, 2007). Estudos comprovam que a deficiência da vitamina E, inclusive tecidual, faz com que os componentes da resposta inflamatória do tipo Th1 aumentem, gerando o desequilíbrio da resposta imunológica (Oriani *et al.*, 2001).

A principal função do α -tocoferol é a de um radical antioxidante de cadeia de quebra nas membranas e lipoproteínas, bem como em alimentos (Mavon *et al.*, 2004; Figueiro *et al.*, 2011). Apesar das concentrações plasmáticas, outros tocoferóis ainda são capazes de exercer atividades antioxidante e biológica. Tem sido relatado, por exemplo, que o γ -tocoferol é mais potente do que σ -tocoferol na diminuição da agregação plaquetária, da oxidação do LDL, e na diminuição da formação de trombos intra-arteriais (Oriani *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2006). Da mesma forma, tocotrienóis foram usados para inibir a biossíntese do colesterol (Watanabe *et al.*, 2006) e são discutidos no contexto de redução do risco de câncer de mama (Oriani *et al.*, 2001; Schwartz *et al.*, 2008). Assim, a administração concomitante de vários tocoferóis e tocotrienóis pode resultar em aumento antioxidante, antitumoral e potencial hipocolesterolêmico. A fim de ter em conta as atividades biológicas de outros tocoferóis, alguns bancos de dados de nutrientes incluem-os na forma de α -tocoferol equivalentes (Taepaiboon *et al.*, 2007; Figueiro *et al.*, 2011).

3.6 Curativos para Queimaduras

O tratamento de feridas pós-queimaduras pode ser realizado de várias formas, todas com vantagens e desvantagens, variando de caso a caso, conforme a necessidade, possibilidade e experiência da equipe. Atualmente, os agentes tópicos (soluções, cremes e produtos naturais), são as substâncias mais utilizadas nos curativos, podendo ou não ter ação antimicrobiana e também ajudar no desbridamento dos tecidos. Na atualidade tem-se buscado o desenvolvimento de novas tecnologias para a reparação e substituição do tecido humano, principalmente de pacientes que possuem grande área corpórea comprometida com queimaduras de segundo grau profunda e/ou de terceiro grau.

Entre os curativos desenvolvidos com novas tecnologias, se encontram os hidrogéis. Segundo Blanes (2005), o hidrogel reduz significativamente a dor, dando uma sensação refrescante, devido a sua elevada umidade que evita a desidratação das terminações nervosas. Ajuda na autólise, ou seja, amolece e hidrata tecidos desvitalizados, facilitando sua remoção. Em feridas livres de tecidos desvitalizados, propicia o meio ideal para a reparação tecidual.

Eisenbud e colaboradores (2003) descrevem que, o *hidrogel* encontra-se entre as muitas categorias de produtos avançados disponíveis hoje, devido ao seu custo, sua efetividade, por ser confortável e de fácil manuseio. Além disso, proporciona o controle da hidratação da superfície da ferida, promovendo a umidade e absorvendo o exsudato em excesso. Tendo como uma das suas vantagens a adição de ingredientes farmacológicos que ajudariam no processo de cicatrização.

Outra possibilidade de curativos, que podem ser usados na forma pó em spray ou mesmo adicionados em um gel são as micropartículas. Muitas pesquisas sobre utilização de micropartículas como sistemas de liberação de fármacos têm sido realizadas na área de tecnologia farmacêutica (Bruschi *et al.*, 2003; Alencastre *et al.*, 2006). As micropartículas podem ser utilizadas em diversas formas farmacêuticas, de modo a permitir que fármacos sejam liberados nas doses e locais apropriados (Sibata *et al.*, 2004).

A microencapsulação é uma técnica que compreende a compartimentalização de pequenas partículas de fármaco, ou de uma solução do mesmo, em um revestimento polimérico, gerando partículas com dimensões entre 0,2 e 300 μm (Raffin *et al.*, 2008). A partir destes sistemas é possível modular a liberação de

fármacos, os quais são liberados principalmente através de um mecanismo de difusão, entre outros, como a erosão da matriz polimérica (Lademann *et al.*, 2008)

Várias técnicas podem ser utilizadas para a microencapsulação de fármacos. A técnica de *spray-drying* é uma delas e oferece vantagens pelo fato de constituir uma técnica de baixo custo, simples (realizada em um único passo), versátil (pode ser utilizada para a produção de micropartículas a partir de diversos polímeros) e capaz de produzir micropartículas de tamanho uniforme (Broadhead *et al.*, 1992), além de permitir o fácil controle de seus parâmetros (Wang, A. J. *et al.*, 2007). Uma vantagem adicional desta técnica é que o fármaco pode tanto encontrar-se solubilizado quanto simplesmente disperso no momento da preparação das micropartículas. Quando o fármaco encontra-se solubilizado, formam-se microesferas e quando este se encontra disperso, ocorre a formação de microcápsulas (Kristmundsdóttir *et al.*, 1996).

Aquino e colaboradores (2013) produziram micropartículas poliméricas contendo gentamicina para o uso em feridas infectadas por bactérias diversas e obtiveram como resultado um maior eficiência no combate a infecção quando comparados com o fármaco livre (Aquino *et al.*, 2013). Em outro estudo, Vasconcellos e colaboradores (2011) produziram micropartículas de quitosana contendo papaína para o tratamento de feridas em geral e obtiveram um enorme sucesso, sendo estas esféricas, de tamanho homogêneo e com uma liberação mais lenta que a do fármaco livre (Vasconcellos *et al.*, 2011), sendo esta uma estratégia bastante promissora para o tratamento de feridas.

Outros possíveis curativos são os polímeros bioadesivos, que são materiais capazes de se ligarem a substratos biológicos de duas maneiras: aderindo à camada mucosa (mucoadesivos) ou à membrana celular (citoadesivos) (Padula *et al.*, 2003; Wittaya-Areekul *et al.*, 2006). A bioadesão é uma propriedade explorada como estratégia para aumentar o tempo de permanência de um fármaco no seu local de ação. Em consequência, a biodisponibilidade dos fármacos pode ser melhorada e o número de doses tomadas, diariamente, pode ser reduzido. Outra vantagem é que a bioadesão pode ser modulada para ocorrer em sítios específicos, diminuindo a toxicidade e aumentando a efetividade terapêutica dos fármacos (Wittaya-Areekul *et al.*, 2006; Wood, 2012).

Filmes poliméricos têm sido amplamente explorados em diferentes áreas, da física à medicina. E engloba compostos orgânicos, poliméricos e biológicos, além de

metálicos e inorgânicos (Bonferoni *et al.*, 2004). Filmes poliméricos são formas farmacêuticas muito promissoras, pois possuem propriedades físicas muito vantajosas (Naik *et al.*, 2000; Kalia e Guy, 2001):

- a dimensão e formato podem ser facilmente controlados para corresponderem às dimensões da área a ser tratada;
- pode ser inserido rapidamente com o mínimo desconforto ao paciente;
- por ter espessura reduzida e se possuir adesividade suficiente, ele permanecerá submerso, não interferindo nos hábitos do paciente.

O desenvolvimento de técnicas de fabricação de filmes poliméricos ultrafinos foi impulsionado pela necessidade de se obter estruturas organizadas, com controle de espessura e de propriedades em escala molecular (Ampollini, 2010).

Carreadores coloidais de fármacos, incluindo nanoemulsões, nanoesferas, nanocápsulas, lipossomas e complexos lipídicos, apresentam-se como veículos interessantes para administração intravenosa de fármacos lipofílicos, bem como para administração via oral e cutânea, possibilitando a otimização da velocidade de cedência e do regime de dosagem das substâncias. As nanopartículas, constituídas por polímeros biodegradáveis, possuem vantagens em relação aos lipossomas devido às suas potencialidades terapêuticas, à maior estabilidade *in vivo* e durante o armazenamento (Sonvico *et al.*, 2006; Taner *et al.*, 2010).

Estes sistemas nanométricos apresentam elevada área superficial, sendo considerados vetores para a administração de substâncias lipofílicas, possibilitando uma liberação homogênea e, muitas vezes, controlada de fármacos, aumentando assim a resposta terapêutica no sítio de ação por tempo prolongado. A vetorização em órgãos, tecidos ou células específicos também apresenta como vantagem a diminuição de efeitos adversos apresentados sistemicamente pelo fármaco vetorizado (Couvreux *et al.*, 2006; Venturini *et al.*, 2011).