

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Farmácia**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

Patrícia Cássia Rhis de Vasconcelos

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA POLIMÉRICO PARA  
VEICULAÇÃO DE SULFAGUANIDINA COM POTENCIAL ATIVIDADE  
ANTIGLAUCOMATOSA**

Belo Horizonte

2023

Patrícia Cássia Rhis de Vasconcelos

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA POLIMÉRICO PARA  
VEICULAÇÃO DE SULFAGUANIDINA COM POTENCIAL ATIVIDADE  
ANTIGLAUCOMATOSA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. André Augusto Gomes Faraco

Belo Horizonte

2023

V331d Vasconcelos, Patrícia Cássia Rhis de.  
Desenvolvimento e caracterização de sistema polimérico para veiculação de sulfaguanidina com potencial atividade antiglaucomatosa [recurso eletrônico] / Patrícia Cássia Rhis de Vasconcelos. – 2023.  
1 recurso eletrônico (103 f. : il.) : pdf

Orientador: André Augusto Gomes Faraco.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Farmacêuticas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Glaucoma – Teses. 2. Sulfonamidas – Teses. 3. Quitosana – Teses. 4. Físico-química – Teses. I. Faraco, André Augusto Gomes. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. III. Título.

CDD: 617.741



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

## FOLHA DE APROVAÇÃO

“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA POLIMÉRICO PARA VEICULAÇÃO DE SULFAGUANIDINA COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIGLAUCOMATOSA”

**PATRÍCIA CÁSSIA RHIS DE VASCONCELOS**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Dra. Ana Luíza Chaves Maia  
Centro de Tecnologia de Vacinas da UFMG - CT Vacinas

Profa. Dra. Rachel Oliveira Castilho  
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof. Dr. André Augusto Gomes Faraco - Orientador  
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Belo Horizonte, 06 de fevereiro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Luiza Chaves Maia, Usuária Externa**, em 06/02/2023, às 18:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andre Augusto Gomes Faraco, Professor do Magistério Superior**, em 07/02/2023, às 09:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rachel Oliveira Castilho, Professora do Magistério Superior**, em 07/02/2023, às 09:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site



[https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?)

[acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2020086** e o código CRC **CEC939C8**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pela força, sabedoria nos momentos difíceis e pela oportunidade de crescimento.

Aos meus pais, Milton Fernandes de Vasconcelos e Rosemere Rhis de Vasconcelos, por todo apoio, paciência, dedicação e por acreditarem em mim. Vocês foram peças fundamentais na minha formação pessoal e profissional, sou grata por ser quem sou hoje. Amo e admiro muito vocês.

Aos meus irmãos, Paula Aparecida Rhis Vasconcelos e Pedro Henrique Rhis Vasconcelos, pelo apoio nos momentos em que precisei.

Ao meu orientador Dr. André Augusto Gomes Faraco pelo aprendizado adquirido, pela confiança, apoio, compreensão e orientação no decorrer deste trabalho.

À aluna de iniciação científica Lídia Vieira Gomes, pelo apoio na execução dos experimentos.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gérias) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo auxílio financeiro.

Ao Dr. José Coelho Neto e a MSc. Renata Fontes Prado pelas aquisições dos espectros no infravermelho das amostras deste trabalho.

Às Doutoras Maria Irene e Betânia pela aquisição das curvas de DSC e de TGA das amostras deste trabalho.

Ao Dr. Hugo Mota da Universidade Federal de Campina Grande e ao Centro de Microscopia da UFMG pela aquisição das micrografias utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura.

E a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

## RESUMO

O glaucoma é a segunda maior causa de cegueira mundial, logo, o diagnóstico precoce e o tratamento possibilitam um melhor controle da doença. O tratamento consiste na utilização de fármacos que agem na redução da pressão intraocular utilizando formas farmacêuticas convencionais (colírios). Essa abordagem diminui a eficiência no tratamento da doença, pois sua posologia de manutenção leva ao esquecimento, efeitos colaterais sistêmicos e dificuldade de aplicação. Nesse sentido, nosso grupo de pesquisa já tem desenvolvido sistemas de liberação prolongada (com 60 dias) que ainda precisam de melhorias para maximizar uma liberação por maior tempo. Por outro lado, as moléculas disponíveis terapêuticamente ocasionam, a longo prazo, diminuição de eficiência. Assim, é interessante buscar novas moléculas por intermédio de seu reposicionamento ou associar as terapias para o tratamento desta doença. Então, o desenvolvimento de novas formulações, em conjunto com novos fármacos para o tratamento do glaucoma poderiam reduzir efeitos adversos sistêmicos, aumentar a adesão e inserir uma nova molécula por intermédio de seu reposicionamento farmacológico. Portanto, o objetivo deste trabalho é desenvolver insertes poliméricos multicamadas para promover a liberação controlada de potencial substância ativa (sulfaguanidina). Os insertes foram produzidos pelos métodos de solubilização/evaporação de solvente caracterizados por calorimetria exploratória diferencial, espectroscopia de absorção no infravermelho, microscopia eletrônica de varredura para verificação das eventuais compatibilidades entre o polímero e a substância ativa, potencial de hidratação do polímero, pH de superfície e perfil de liberação *in vitro*. Os insertes apresentaram grande capacidade de intumescimento e resistência física com aproximadamente 1000% de influxo de água. Os pHs encontrados (pH= 5) foram compatíveis com a aplicação ocular. Todos os insertes apresentaram bandas características do fármaco e do polímero na espectroscopia no infravermelho sem aparecimento de novas bandas. Resultados análogos foram obtidos na termogravimetria demonstrando que há compatibilidade entre o fármaco e o polímero testado. Foi possível observar nas micrografias obtidas pela microscopia eletrônica de varredura: superfície regular e homogênea, não sendo visualizado fármaco no interior dos dispositivos. O teste de liberação levou a uma rápida saída do fármaco do dispositivo em teste feito com membrana de celulose. Os dados

apresentados permitem afirmar que os insertes desenvolvidos são compatíveis com a sulfaguanidina, e que novos testes *in vivo* devem ser feitos para certificar a atividade antiglaucomatosa desta substância com esse sistema de liberação.

Palavras-chave: glaucoma; sulfaguanidina; insertes multicamadas; quitosana; caracterização físico-química.



## ABSTRACT

Glaucoma is the second leading cause of blindness worldwide, so early diagnosis and treatment enable better disease control. The treatment consists of drugs that reduce intraocular pressure using conventional pharmaceutical forms (eye drops). This approach decreases the efficiency in the treatment of the disease because its maintenance dosage leads to forgetfulness, systemic side effects and difficulty in application. In this sense, our research group has already developed extended-release systems (with 60 days) that still need improvements to maximize a longer release time. On the other hand, the molecules available therapeutically cause, in the long term, a decrease in efficiency. Thus, it is interesting to search for new molecules through their repositioning or to associate the therapies for treating this disease. Hence the development of new formulations, together with new drugs for the treatment of glaucoma, could reduce systemic adverse effects, increase adherence and insert a new molecule through its pharmacological repositioning. Therefore, this work aims to develop multilayer polymeric inserts to promote the controlled release of a potential active substance (sulfaguanidine). The inserts were produced by solubilization/solvent evaporation methods and characterized by differential exploratory calorimetry, infrared absorption spectroscopy, and scanning electron microscopy to verify possible compatibility between the polymer and the active substance, polymer hydration potential, surface pH, and in vitro release profile. The inserts showed high swelling capacity and physical resistance with approximately 1000% water influx. The pHs found (pH= 5) were compatible with the ocular application. All the inserts presented characteristic bands of the drug and the polymer in infrared spectroscopy without the appearance of new bands. Analogous results in thermogravimetry demonstrated compatibility between the drug and the polymer tested. The micrographs obtained by scanning electron microscopy observed regular and homogeneous surfaces and no drug was visualized inside the devices. The release test led to a rapid exit of the drug from the device in a test performed with cellulose membrane. The data presented made it possible to state that the inserts are compatible with sulfaguanidine, and new in vitro tests have to be done to certify the antiglaucomatous activity of this substance with this release system.

Keywords: glaucoma; sulfaguanidine; multilayer inserts; chitosan; physicochemical characterization.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Corte longitudinal do olho humano. Fonte: CLARO <i>et al.</i> , 2018, p. 30 .....	16
<b>Figura 2</b> – Segmento posterior (a) e segmento anterior (b) do olho humano. Fonte: SHEN; LU; HUGHES, 2018, p. 4; p. 20.....	17
<b>Figura 3</b> – Fluxo do humor aquoso no olho humano (A) Rota trabecular (B) Rota uveoescleral. Adaptado de GOTO, 2016, p. 15.....	17
<b>Figura 4</b> – Estrutura de uma retina normal. Fonte: ARAUJO, 2018, p. 24.....	18
<b>Figura 5</b> – Representação esquemática do glaucoma de ângulo aberto e do glaucoma de ângulo fechado. Fonte: AINA, 2019 .....	21
<b>Figura 6</b> – Retina/ disco óptico do olho normal - Contorno do disco óptico (verde) e escavação (vermelho). Fonte: CLARO <i>et al.</i> , 2018, p. 31 .....	22
<b>Figura 7</b> – Retina/ disco óptico do olho com glaucoma - Contorno do disco óptico (verde) e escavação (vermelho). Fonte: CLARO <i>et al.</i> , 2018, p. 31.....	23
<b>Figura 8</b> – Inserte ocular. Adaptado de YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019, p. 373 .....	27
<b>Figura 9</b> – Inserte de quitosana e bimatoprost. Fonte: RUBIÃO, 2021, p. 2.....	31
<b>Figura 10</b> – Estágios do processo de mucoadesão. Fonte: AINA, 2019 .....	32
<b>Figura 11</b> – Desacetilação da quitina. Fonte: FIGUEIREDO, 2014, p. 13 .....	34
<b>Figura 12</b> – Fórmula estrutural de quitosana. Fonte: WAYS <i>et al.</i> , 2018, p. 2.....	34
<b>Figura 13</b> – Protonação da quitosana. Fonte: FIGUEIREDO, 2014, p. 14 .....	35
<b>Figura 14</b> – Fórmula estrutural da sulfaguanidina. Fonte: PAVLOVIĆ <i>et al.</i> , 2015, p. 101 .....	40
<b>Figura 15</b> – Preparo dos insertes de quitosana branco e com o fármaco sulfaguanidina .....	44
<b>Figura 16</b> – Teste de liberação <i>in vitro</i> .....	47

<b>Figura 17</b> – Inserte com 4mm de diâmetro.....	50
<b>Figura 18</b> – Representação esquemática dos insertes de uma, duas e três camadas .....	50
<b>Figura 19</b> – Comportamento térmico da sulfaguanidina .....	78
<b>Figura 20</b> – Comportamento térmico da mistura física entre quitosana e sulfaguanidina .....	79
<b>Figura 21</b> – Curva DSC dos filmes de uma, duas e três camadas .....	80
<b>Figura 22</b> – Espectro de ATR-FTIR da quitosana.....	81
<b>Figura 23</b> – Espectro de ATR-FTIR da sulfaguanidina .....	82
<b>Figura 24</b> – Espectro de ATR-FTIR da mistura física de sulfaguanidina e quitosana .....	83
<b>Figura 25</b> – Espectros de ATR-FTIR (S) sulfaguanidina, (M) mistura física entre a sulfaguanidina e o polímero quitosana e (Q) quitosana .....	83
<b>Figura 26</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de uma camada branco.....	84
<b>Figura 27</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de uma camada com o fármaco sulfaguanidina .....	85
<b>Figura 28</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de duas camadas branco .....	86
<b>Figura 29</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguanidina .....	87
<b>Figura 30</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de três camadas branco .....	88
<b>Figura 31</b> – Espectro de ATR-FTIR do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguanidina .....	89
<b>Figura 32</b> – Microscopia eletrônica do inserte de uma camada .....	91
<b>Figura 33</b> – Microscopia eletrônica do inserte de duas camadas .....	91
<b>Figura 34</b> – Microscopia eletrônica do inserte de três camadas .....	92

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada branco ...	53
<b>Gráfico 2</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada com o fármaco sulfaguanidina .....	54
<b>Gráfico 3</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas branco	56
<b>Gráfico 4</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguanidina .....	56
<b>Gráfico 5</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas branco...	58
<b>Gráfico 6</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguanidina .....	59
<b>Gráfico 7</b> – Comparação estatística entre as médias dos insertes de uma, duas e três camadas (placebo e com o fármaco sulfaguanidina) .....	60
<b>Gráfico 8</b> – Curva analítica .....	63
<b>Gráfico 9</b> – Comparação entre as curvas analíticas.....	64
<b>Gráfico 10</b> – Liberação do fármaco no inserte de uma camada .....	65
<b>Gráfico 11</b> – Liberação do fármaco no inserte de duas camadas .....	65
<b>Gráfico 12</b> – Liberação do fármaco no inserte de três camadas .....	66
<b>Gráfico 13</b> – Comparação entre a liberação de Sulfaguanidina dos insertes de uma, duas e três camadas .....	67
<b>Gráfico 14</b> – Comparação do doseamento da Sulfaguanidina entre os insertes de uma, duas e três camadas .....	67
<b>Gráfico 15</b> – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de uma camada .....	69
<b>Gráfico 16</b> – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de duas camadas .....	69
<b>Gráfico 17</b> – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de três camadas .....	70
<b>Gráfico 18</b> – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de uma camada .....	70

<b>Gráfico 19</b> – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de duas camadas.....	71
<b>Gráfico 20</b> – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de três camadas .....	71
<b>Gráfico 21</b> – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de uma camada .....	72
<b>Gráfico 22</b> – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de duas camadas .....	72
<b>Gráfico 23</b> – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de três camadas.....	73
<b>Gráfico 24</b> – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de uma camada .....	73
<b>Gráfico 25</b> – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de duas camadas .....	74
<b>Gráfico 26</b> – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de três camadas .....	74
<b>Gráfico 27</b> – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de uma camada...	75
<b>Gráfico 28</b> – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de duas camadas	75
<b>Gráfico 29</b> – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de três camadas ..	76

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Dispositivos em estudo para o tratamento do glaucoma.....	28
<b>Tabela 2</b> – Teorias da mucoadesão.....	32
<b>Tabela 3</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.....	52
<b>Tabela 4</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.....	55
<b>Tabela 5</b> – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.....	57
<b>Tabela 6</b> – Coeficiente de determinação dos modelos cinéticos .....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	Refletância Total Atenuada (do inglês, Attenuated Total Reflectance)
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial (do inglês, Differential Scanning Calorimetry)
DTA	Análise Térmica Diferencial (do inglês, Differential Thermal Analysis)
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
GPAA	Glaucoma primário de ângulo aberto
GPAF	Glaucoma primário de ângulo fechado
IV	Infravermelho
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PBS	Phosphate buffered saline (Tampão fosfato salino)
PIO	Pressão Intraocular
TG	Termogravimetria
UV	Ultravioleta

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL E RELEVÂNCIA DO TEMA</b> .....	14
<b>PARTE 1 – REVISÃO DA LITERATURA E OBJETIVOS</b> .....	16
<b>1 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
1.1 Estrutura do olho humano .....	16
1.2 Glaucoma .....	19
1.2.1 <i>Epidemiologia</i> .....	19
1.2.2 <i>Classificação do glaucoma</i> .....	20
1.2.3 <i>Diagnóstico do glaucoma</i> .....	22
1.2.4 <i>Tratamento do glaucoma</i> .....	24
1.3 Insertes disponíveis no mercado .....	26
1.4 Mucoadesão .....	31
1.5 Polímero – Quitosana.....	33
1.6 Reposicionamento de fármacos e a sulfaguanidina .....	38
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	42
2.1 Objetivo Geral .....	42
2.2 Objetivos Específicos .....	42
<b>PARTE 2 – TRABALHO EXPERIMENTAL: MATERIAIS E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	43
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	43
3.1 Preparo dos insertes branco de quitosana .....	43
3.2 Preparo dos insertes de monocamada branco e com sulfaguanidina .....	43
3.3 Preparo dos insertes de dupla camada branco e com sulfaguanidina .....	44
3.4 Preparo dos insertes de tripla camada branco e com sulfaguanidina .....	45
3.5 Preparo da lágrima artificial pH 7,0 .....	45
3.6 Caracterização dos sistemas poliméricos .....	46
3.6.1 <i>Porcentagem de hidratação</i> .....	46



3.6.2	<i>Determinação do pH de superfície dos insertes</i> .....	46
3.6.3	<i>Dosagem do fármaco por espectrofotometria na região do ultravioleta</i> .....	46
3.6.4	<i>Perfil de liberação in vitro</i> .....	47
3.6.5	<i>Análises térmicas</i> .....	48
3.6.6	<i>Espectroscopia de absorção no infravermelho</i> .....	48
3.6.7	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i> .....	49
3.7	<i>Análise estatística</i> .....	49
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
4.1	<i>Preparo dos insertes poliméricos</i> .....	49
4.2	<i>Caracterização dos insertes poliméricos</i> .....	51
4.2.1	<i>Porcentagem de hidratação</i> .....	51
4.2.2	<i>Determinação do pH de superfície dos insertes</i> .....	62
4.2.3	<i>Determinação da curva analítica para doseamento do fármaco</i> .....	62
4.2.4	<i>Análise cinética da liberação de Sulfaguanidina nos insertes</i> .....	68
4.2.5	<i>Análises térmicas</i> .....	77
4.2.6	<i>Espectroscopia de absorção no infravermelho</i> .....	81
4.2.7	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i> .....	90
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>92</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>93</b>

## INTRODUÇÃO GERAL E RELEVÂNCIA DO TEMA

O glaucoma é caracterizado pelo acúmulo de humor aquoso no olho, que aumenta a pressão intraocular (PIO), causando danos ao nervo óptico resultando em perda progressiva e irreversível da visão. Sendo classificado em glaucoma de ângulo aberto e ângulo fechado (UMEZURIKE *et al.*, 2019; KWON *et al.*, 2009). É a segunda maior causa de cegueira mundial e no Brasil (CAMPOS; CID; NETO, 2018). Aproximadamente 70 milhões de pessoas sofrem com a doença em todo o mundo (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

Dessa maneira, o tratamento adequado é muito importante para o controle da doença (CAMPOS; CID; NETO, 2018). O tratamento é realizado ao longo da vida, iniciado logo após o diagnóstico e requer um compromisso por parte do paciente (KESAV *et al.*, 2021). As formulações farmacêuticas existentes para o tratamento do glaucoma de ângulo aberto, geralmente são os colírios, que agem reduzindo a PIO, mas apresentam desvantagens como o esquecimento da aplicação, utilização de mais de um colírio no tratamento, e efeitos colaterais sistêmicos, o que gera custos elevados (GUEDES, 2016; ROCHA *et al.*, 2019; SHALABY *et al.*, 2020).

Também ocorre uma menor disponibilidade do medicamento devido a drenagem rápida, renovação da lágrima, reflexo ao piscar, lacrimejamento induzido e a absorção conjuntival (KS; RK, 2009). Há uma baixa adesão do paciente devido as múltiplas administrações diárias (LAVIK; KUEHN; KNOW, 2011; ROCHA *et al.*, 2019). E menos de 5% da dose é absorvida no olho indo para a circulação sistêmica (AMO; URTTI 2008; CESAR *et al.*, 2020).

Nosso grupo de pesquisa já tem desenvolvido vários filmes de liberação ocular com resultados promissores, porém, ainda com liberação de 45 dias para dispositivos de uma camada. Assim, o desenvolvimento de novas formulações, podem otimizar o tratamento atingindo um tempo maior de ação, podendo proporcionar um melhor controle da PIO por longo período (ABDELKADER *et al.*, 2020; DEVI *et al.*, 2021). Por outro lado, o reposicionamento de fármacos tem sido adotado pela indústria farmacêutica como uma das formas de se realizar inovações incrementais no lançamento de novos produtos. Uma substância que tem apresentado atividade inibidora de anidrase carbônica é a sulfaguanidina (PUCCETTI *et al.*, 2005; ULUS *et al.*, 2016). Esta enzima está associada ao glaucoma, quando em excesso, pode

ocasionar um aumento da PIO e o desenvolvimento da doença. A sulfaguanidina já é aprovada para uso no arsenal terapêutico na medicina humana e veterinária para infecções intestinais, sendo administrada por via oral ou intraperitoneal. Sua utilização em um novo dispositivo com ação comprovada pode originar um novo medicamento com menos etapas de desenvolvimento menos custos e riscos pois já existem dados de segurança, eficácia e efeitos adversos do medicamento, bem como seu registro (ABIDI *et al.*, 2017; JOURDAN *et al.*, 2020; XUE *et al.*, 2018).

Portanto, os problemas relacionados ao uso de colírios no tratamento do glaucoma e os efeitos adversos dos fármacos utilizados no tratamento do glaucoma são prementes de serem resolvidos. Aliado a este fato, a introdução de uma molécula já descrita com seu reposicionamento para atividade antiglaucomatosa pode enriquecer o arsenal terapêutico. Então, tendo estas premissas por base, este trabalho teve como proposta o desenvolvimento e caracterização físico-química de insertes multicamadas contendo o polímero quitosana e o fármaco sulfaguanidina.

Este trabalho está dividido em duas partes. Na primeira parte foi realizada uma revisão da literatura a respeito do glaucoma e apresentação dos objetivos do trabalho. Na segunda parte foi realizado o trabalho experimental relatando o desenvolvimento do inserte de quitosana e sulfaguanidina e a sua caracterização físico-química empregando técnicas espectrométricas na região do ultravioleta (UV) e infravermelho (IV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), por exemplo.

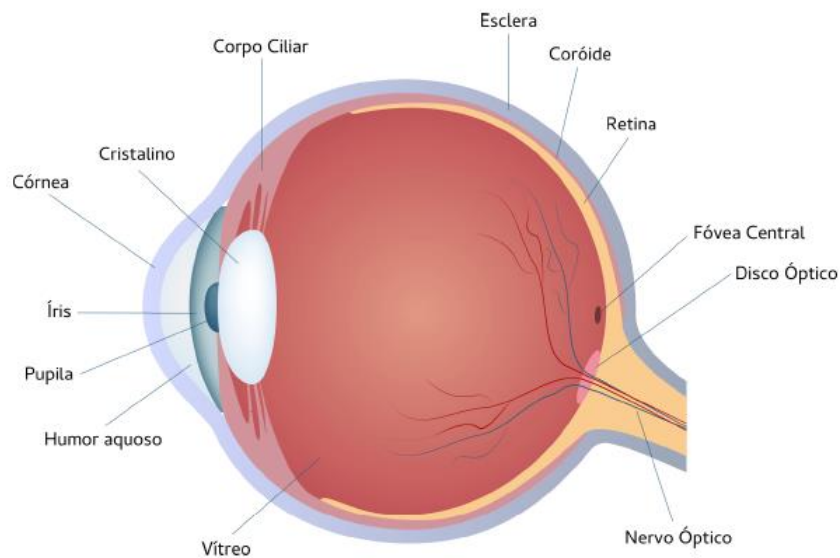
## PARTE 1 – REVISÃO DA LITERATURA E OBJETIVOS

### 1 REVISÃO DA LITERATURA

#### 1.1 Estrutura do olho humano

O olho humano é o órgão responsável pelo processo da visão (ASSIS, 2020; RODRIGUES, 2016). Ele possui três camadas, sendo a camada mais externa, composta pela esclera e córnea, a camada central, composta pela íris, corpo ciliar, epitélio pigmentado e coroide e a camada mais interna que é formada pela retina, essas estruturas podem ser observadas na **Figura 1** (ARAUJO, 2018; CLARO *et al.*, 2018; JULIANA *et al.*, 2019).

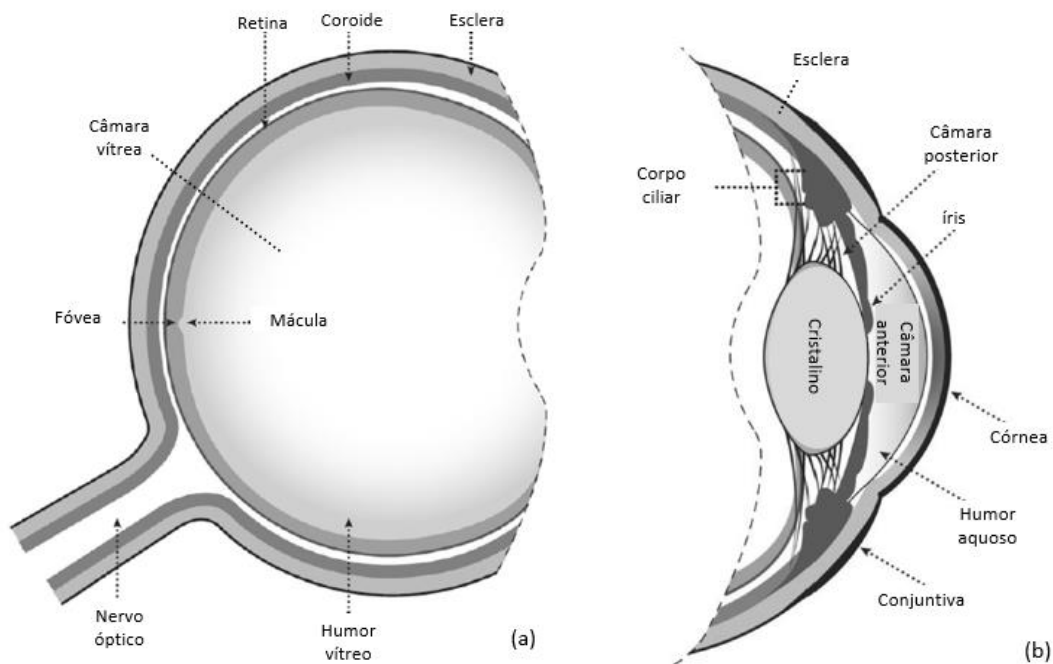
**Figura 1 – Corte longitudinal do olho humano.**



Fonte: CLARO *et al.* (2018, p. 30).

O olho humano é dividido em segmento anterior e segmento posterior, conforme **Figura 2**. O segmento anterior é constituído pela esclera, córnea, conjuntiva, câmara anterior, íris, pupila, corpo ciliar (DAVE *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021) e preenchido pelo humor aquoso. É ainda subdividido em câmara anterior que compreende o espaço entre a córnea até a íris e a câmara posterior que se estende entre a íris e o cristalino (RODRIGUES, 2016). O segmento posterior do olho é constituído pela câmara vítrea, retina, coroide, esclera, nervo óptico (DAVE *et al.*, 2021; SILVA, *et al.*, 2021) e preenchido pelo humor vítreo (RODRIGUES, 2016).

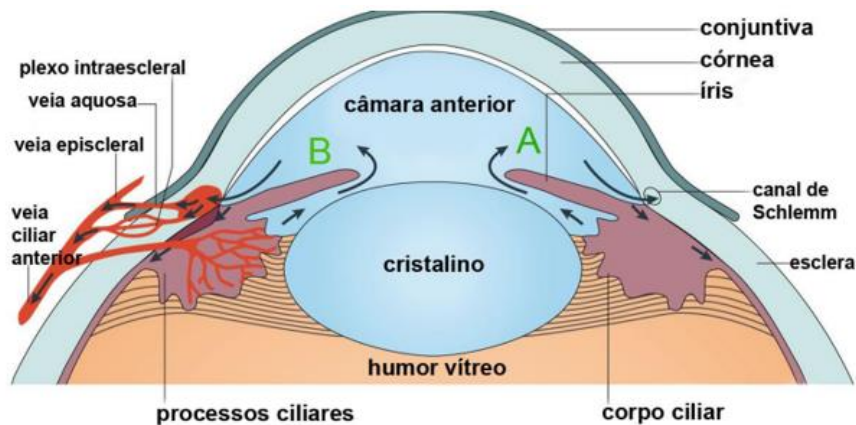
**Figura 2 – Segmento posterior (a) e segmento anterior (b) do olho humano.**



Fonte: Adaptado de SHEN; LU; HUGHES (2018, p. 4; p. 20).

O humor aquoso é um líquido que realiza a nutrição de estruturas do olho (ARAÚJO, 2018). É produzido pelo corpo ciliar constantemente, este flui da câmara posterior para a câmara anterior, podendo ser drenado por duas vias: pela malha trabecular para o canal de Schlemm e pela via uveoescleral, conforme **Figura 3** (JULIANA *et al.*, 2019; SILVA, *et al.*, 2021).

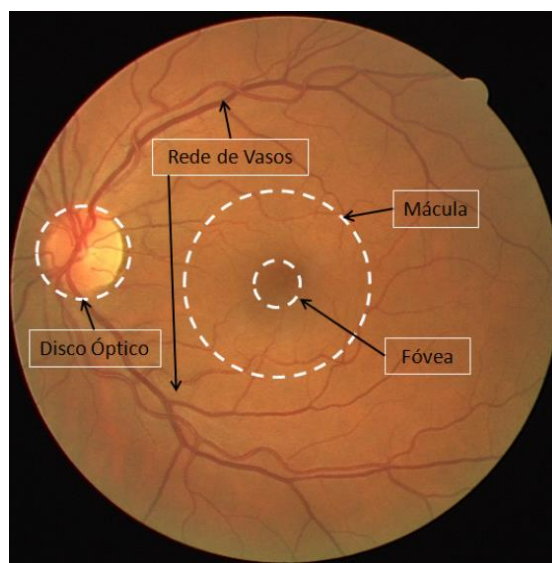
**Figura 3 – Fluxo do humor aquoso no olho humano (A) Rota trabecular (B) Rota uveoescleral.**



Fonte: Adaptado de GOTO (2016, p. 15).

A retina é uma membrana nervosa que tem a função de receber a impressão luminosa e transmitir ao nervo óptico. E o nervo óptico constituído por um conjunto de fibras nervosas que levam a informação visual para o cérebro (ARAUJO, 2018; RODRIGUES, 2016). A retina saudável é constituída pela rede de vasos, disco óptico, fóvea e mácula, conforme demonstrado na **Figura 4**. O disco óptico é constituído por uma região central denominada de escavação e uma região periférica denominada de anel neuroretinal. Em pacientes com glaucoma ocorre o alargamento da escavação e a diminuição do anel neuroretinal (ARAUJO, 2018).

**Figura 4 – Estrutura de uma retina normal.**



Fonte: ARAUJO (2018, p. 24).

A superfície ocular apresenta um pH na faixa de 7,3 a 7,7, sendo recoberta pelo filme lacrimal que é composto por lipídeos, eletrólitos e proteínas, como por exemplo, a mucina que é uma glicoproteína (BARAR *et al.*, 2016). O filme lacrimal é dividido em três camadas: camada superficial lipídica que possui a função de evitar a evaporação do filme lacrimal, uma camada intermediária aquosa responsável pelo equilíbrio osmótico e controle de infecções e uma camada interior de mucina e água. A mucina apresenta em sua estrutura ácido siálico e resíduos sulfatados que conferem carga negativa a mesma. A camada de mucina desempenha um papel de proteção e lubrificação do epitélio ocular (DAVE *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021).

A córnea é uma estrutura transparente com espessura de aproximadamente 0,5 mm, é considerada a barreira mais crítica para a penetração do fármaco no olho (CHENG *et al.*, 2020). Recebe nutrição do humor aquoso e do líquido lacrimal (SILVA *et al.*,

2021). O epitélio e o endotélio da córnea permitem a entrada de pequenas moléculas lipofílicas no humor aquoso e restringe a entrada de moléculas hidrofílicas. A sua superfície é carregada negativamente, contribuindo assim para que fármacos com cargas catiônicas permaneçam aderidos por maior tempo em sua superfície (CHENG *et al.*, 2020).

## **1.2 Glaucoma**

O glaucoma é caracterizado pelo acúmulo de humor aquoso, que aumenta a PIO, causando danos ao nervo óptico, morte de células ganglionares, afinamento da camada de fibras nervosas da retina e resultando em perda progressiva da visão (CAMPOS; CID; NETO, 2018; CHENG *et al.*, 2020). A PIO normal do olho é de 10 a 21 mmHg, porém, no olho glaucomatoso estes valores podem variar até 40 mmHg, no qual, é considerada hipertensão aqueles superiores à 21 mmHg (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

Não está claro como ocorre o aumento da PIO, estudos sugerem que há um desequilíbrio entre a produção e a drenagem do humor aquoso. Ocorre uma disfunção da malha trabecular gerando uma resistência da saída do humor aquoso (FAN; TAN; LIU, 2019). Então, a PIO aumenta provocando força exacerbada sobre os vasos e fibras nervosas do nervo óptico privando-o de nutrientes e de oxigênio. A privação destas substâncias conduz, progressivamente, a uma lesão ao nervo óptico ocasionando a cegueira (UMEZURIKE *et al.*, 2019).

O glaucoma apresenta alguns fatores de risco como: PIO acima de 21 mmHg; idade avançada (DINIZ *et al.*, 2021), fatores genéticos (UMEZURIKE *et al.*, 2019), presença de diabetes e hipertensão (SHABBIR *et al.*, 2021), o uso de esteroides que aumenta a incidência de hipertensão ocular em 40%, o trauma ocular (UMEZURIKE *et al.*, 2019) e a miopia moderada a alta (JONAS *et al.*, 2017; SHABBIR *et al.*, 2021).

### **1.2.1 Epidemiologia**

O glaucoma é a segunda maior causa de cegueira mundial e no Brasil (CAMPOS; CID; NETO, 2018; DINIZ *et al.*, 2021). Aproximadamente 70 milhões de pessoas sofrem com a doença em todo o mundo. Nos Estados Unidos é a principal razão que

contribui para cegueira, sendo registrado que mais de 2 milhões de pessoas atualmente sofrem de glaucoma, no qual, 80 mil se tornaram cegos ou parcialmente cegos (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). São estimados 900 mil portadores de glaucoma no Brasil (DINIZ *et al.*, 2021) e que pode afetar 111,1 milhões de indivíduos até 2040 (KESAV *et al.*, 2021).

O glaucoma não é diagnosticado em 50% dos casos em países ocidentais e 90% em países desenvolvidos. Ocorre com maior prevalência em negros do que em brancos, é mais agressivo em afrodescendentes, apresentando, aproximadamente, seis vezes mais susceptibilidade a apresentar dano ao nervo óptico do que em brancos (UMEZURIKE *et al.*, 2019). Além disso, homens são mais propensos a desenvolver o glaucoma do que as mulheres (JONAS *et al.*, 2017).

O glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA) é a forma mais prevalente dentre os tipos de glaucoma, sendo responsável por 90% dos casos (DINIZ *et al.*, 2021; WEINREB *et al.*, 2014). Apresenta uma prevalência seis vezes maior do que o glaucoma primário de ângulo fechado (GPAF), mas o GPAF apresenta prognóstico pior em relação ao GPAA (JONAS *et al.*, 2017).

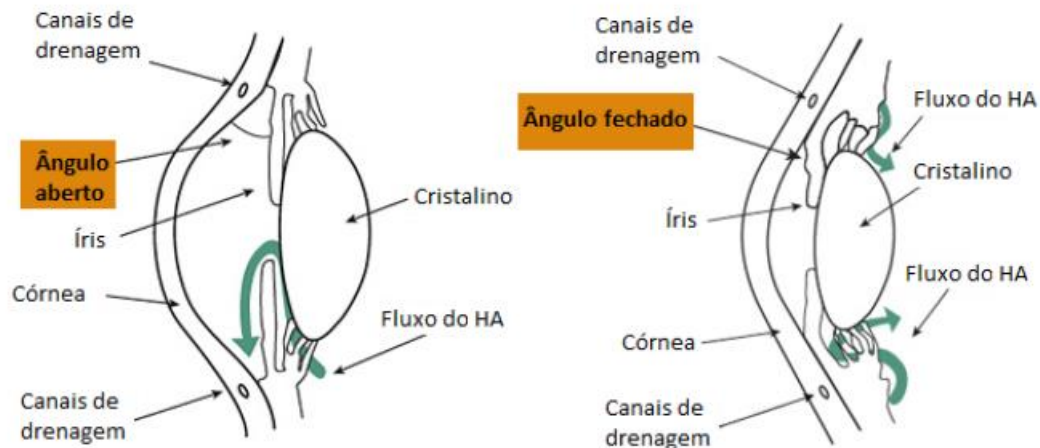
### **1.2.2 Classificação do glaucoma**

O glaucoma apresenta vários tipos que dependem dos sintomas e da causa da doença. Os tipos mais comuns são: GPAA, GPAF, glaucoma de tensão normal, glaucoma pigmentar, uveítico, congênito, pseudoesfoliativo, neovascular e glaucoma relacionado a traumas (SHABBIR *et al.*, 2021).

O glaucoma também é classificado em ângulo aberto e de ângulo fechado (UMEZURIKE *et al.*, 2019; KWON *et al.*, 2009). A diferença entre eles está na abertura e fechamento do ângulo iridocorneano (CHENG *et al.*, 2020). No glaucoma de ângulo aberto ocorre obstrução dos canais de drenagem do olho por partículas microscópicas ou este canal apresenta fluxo de passagem do humor aquoso menor do que a sua taxa de produção e no glaucoma de ângulo fechado ocorre uma obstrução física dos canais de drenagem do humor aquoso pela aposição da íris. Esses tipos podem ser observados na **Figura 5** (ASSIS, 2020).



**Figura 5 – Representação esquemática do glaucoma de ângulo aberto e do glaucoma de ângulo fechado.**



Fonte: AINA (2019).

O glaucoma é ainda dividido em primário e secundário (KWON *et al.*, 2009). O primário está relacionado ao aumento da PIO devido ao acúmulo de humor aquoso no olho (BRASIL, 2022; WEINREB *et al.*, 2014) e o secundário relacionado a traumas, uso de medicamentos, como por exemplo, os corticosteroides e doenças predisponentes como a hipertensão ocular (BRASIL, 2022) e diabetes mal controlado (ASSIS, 2020).

O GPAA é a forma mais prevalente dentre os tipos de glaucoma. É caracterizado pela maior resistência ao fluxo do humor aquoso pela rede trabecular e via uveoscleral (DINIZ *et al.*, 2021; WEINREB *et al.*, 2014). Não causa nenhuma alteração inicial na visão, sendo assintomático nos estágios iniciais, ocorrendo perda da visão em túnel no estágio mais avançado (ARAUJO, 2018; CHENG *et al.*, 2020; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). O paciente apresenta uma PIO maior do que 21 mmHg, é uma doença crônica, geralmente bilateral (UMEZURIKE *et al.*, 2019).

No GPAF ocorre obstrução do fluxo aquoso pela aposição da íris (CHENG *et al.*, 2020; WEINREB *et al.*, 2014). Este tipo de glaucoma é menos comum quando comparado ao de ângulo aberto. O seu quadro evolui rapidamente, necessitando de atenção médica imediata (SHABBIR *et al.*, 2021). Os sintomas incluem visão turva, dor nos olhos, olhos vermelhos (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019), PIO superior a 30 mmHg, náuseas, vômitos, pupilas dilatadas e perda súbita da visão (DASTJERDI *et al.*, 2021).

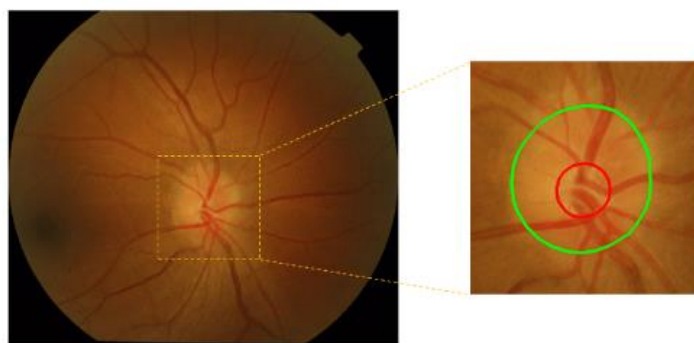
### 1.2.3 Diagnóstico do glaucoma

O diagnóstico precoce é muito importante para o tratamento, pois os danos são irreversíveis, podendo ser realizado principalmente por três sinais: escavação do disco óptico, aumento da PIO e perda progressiva do campo visual (CAMPOS; CID; NETO, 2018; CLARO *et al.*, 2018). É necessária avaliação do campo visual para determinar a perda do mesmo e o dano causado ao nervo óptico (CLARO *et al.*, 2018).

A avaliação da PIO é realizada pela tonometria que mede a pressão interna do olho. A PIO não pode ser o principal critério de diagnóstico uma vez que existem casos de glaucoma nos quais a PIO se encontra normal (JONAS *et al.*, 2017). Então, a utilização de imagens digitais da retina vem sendo utilizadas para auxiliar no diagnóstico do glaucoma (CLARO *et al.*, 2018).

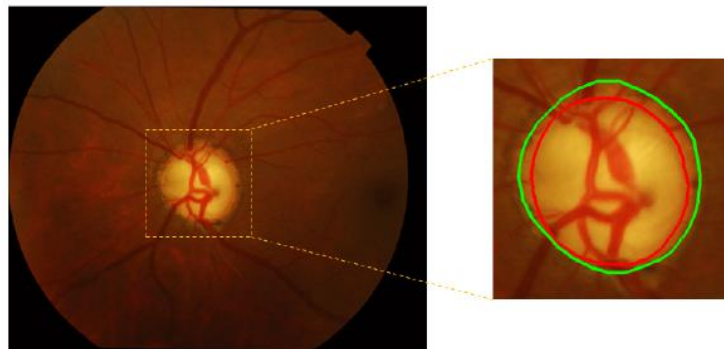
Para avaliação da escavação do disco óptico são utilizadas ferramentas como a oftalmoscopia e biomicroscopia (UMEZURIKE *et al.*, 2019). A fundoscopia realizada pelo aparelho retinógrafo é empregada para avaliar o fundo do olho, no qual, é possível avaliar o nervo óptico, nervos retinianos e a retina, estruturas que são importantes para o diagnóstico do glaucoma (ASSIS, 2020). No exame do nervo óptico deve ser avaliado o formato e o tamanho do disco óptico, o tamanho e escavação do disco óptico, configuração da lâmina cribiforme, área e configuração do anel neural, região peripapilar e a configuração dos vasos sanguíneos do nervo óptico (BRASIL, 2022). Conforme demonstrado nas **Figuras 6 e 7** quando se compara o disco óptico normal com o disco óptico de um paciente com glaucoma.

**Figura 6 – Retina/ disco óptico do olho normal - Contorno do disco óptico (verde) e escavação (vermelho).**



Fonte: CLARO *et al.* (2018, p. 31).

**Figura 7 – Retina/ disco óptico do olho com glaucoma - Contorno do disco óptico (verde) e escavação (vermelho).**



Fonte: CLARO *et al.* (2018, p. 31).

O exame de fundo de olho é o exame mais utilizado no diagnóstico do glaucoma. Para otimização da análise das imagens e evitar uma interpretação errônea dos resultados do exame pode ser utilizado o processamento de imagens por computador – *Computer Aided Diagnosis* – CADx (ARAUJO, 2018). Também pode ser utilizada a gonioscopia para verificar se o ângulo está aberto ou fechado, identificar a amplitude do ângulo e avaliação da posição da íris (BRASIL, 2022). A imagem de fundo de olho e a tomografia de coerência óptica são usadas para avaliar a espessura da camada das fibras nervosas da retina (SHABBIR *et al.*, 2021). Outra técnica que pode ser utilizada no diagnóstico do glaucoma é a paquimetria ultrassônica que avalia a espessura da córnea. Enquanto a campimetria visual detecta o dano do glaucoma, o exame é empregado para avaliar a progressão da doença, considerado um exame padrão ouro no diagnóstico do glaucoma (BRASIL, 2022).

Para o diagnóstico também podem ser utilizadas técnicas por imagem, como a polarimetria a *laser* de varredura que se concentra nas propriedades ópticas das fibras nervosas retinianas; a oftalmoscopia a *laser* de varredura confocal, técnica que realiza um mapeamento da superfície da retina e a tomografia de coerência óptica, técnica que fornece resolução em microns dos tecidos oculares (UMEZURIKE *et al.*, 2019). Em pacientes com miopia alta, na qual, as técnicas utilizadas falham no diagnóstico pode ser utilizada avaliação da rede vascular radial peripapilar (JONAS *et al.*, 2017). Atualmente, já estão disponíveis técnicas que avaliam a camada de fibras nervosas do disco óptico, sendo: *Confocal Scanning Laser Ophthalmoscopy*, *Optical Coherence Tomography* e *Scanning Laser Polarimetry*, mas são métodos caros e demorados (ARAUJO, 2018).

#### **1.2.4 Tratamento do glaucoma**

O tratamento do GPAA pode ser realizado pela redução da PIO, pelo uso de medicamentos, tratamento a *laser* e cirúrgico (CHENG *et al.*, 2020; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). Geralmente o objetivo é uma redução de 20 a 50% da PIO. Esta redução está relacionada ao dano no nervo óptico e aos fatores de risco. Quanto maior for o dano ao nervo óptico e quanto maior os fatores de risco, maior deverá ser a redução da PIO para o paciente (JONAS *et al.*, 2017).

O tratamento medicamentoso é realizado com colírios, no qual os fármacos reduzem a PIO, atuando na redução da produção de humor aquoso pelo corpo ciliar e/ou aumento do seu fluxo pela rede trabecular e via uveoscleral (CHENG *et al.*, 2020; UMEZURIKE *et al.*, 2019). Os medicamentos utilizados no tratamento são divididos em classes: agonistas  $\alpha$ -adrenérgico,  $\beta$ -bloqueadores, inibidores da anidrase carbônica, agonistas de prostaglandina e mióticos (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

Os agonistas  $\alpha$ -adrenérgico agem reduzindo a produção de humor aquoso através da constrição dos vasos sanguíneos, exemplos dessa classe são a apraclonidina e a brimonidina (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). Reduzem a PIO tanto pela redução da produção do humor aquoso quanto pela sua drenagem pela via uveoscleral (BRASIL, 2022).

Enquanto os  $\beta$ -bloqueadores atuam no corpo ciliar reduzindo a produção de humor aquoso (UMEZURIKE *et al.*, 2019; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019), no processo ciliar e na perfusão capilar. Os fármacos desta classe são o timolol, levobunolol, carteolol, pindolol, metipranolol, betaxolol e metoprolol (BRASIL, 2022). O medicamento mais utilizado é o timolol, sendo a primeira escolha de fármaco a ser utilizado desta classe (UMEZURIKE *et al.*, 2019; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). O maleato de timolol pode ser associado a outras classes de medicamentos apresentando efeito aditivo hipotensor (BRASIL, 2022), mas apresenta efeitos adversos como bradicardia, arritmias, queda da pressão sanguínea e problemas brônquicos (JONAS *et al.*, 2017).

Os inibidores da anidrase carbônica são divididos em tópicos e sistêmicos, sendo a acetazolamida de uso sistêmico e a dorzolamida e a brinzolamida de uso tópico (BRASIL, 2022). Eles atuam diminuindo a produção de humor aquoso pelo corpo ciliar.

A dorzolamida 2,0% em associação com o timolol 0,5% apresentam um melhor resultado no tratamento do glaucoma (BRASIL, 2022; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

Os mióticos são utilizados como tratamento de terceira linha do glaucoma, eles atuam aumentando a drenagem de humor aquoso, mas apresentam a desvantagem de serem administrados até quatro vezes ao dia (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). A pilocarpina é o principal representante desta classe, ela atua aumentando o escoamento do humor aquoso pela contração da musculatura ciliar (BRASIL, 2022). Não apresentam efeitos adversos sistêmicos consideráveis (JONAS *et al.*, 2017).

Os análogos de prostaglandina aumentam a drenagem de humor aquoso pelo canal de Schlemm. São os medicamentos de primeira linha no tratamento do glaucoma, mas apresentam efeitos adversos que devem ser considerados como a irritação local, descoloração da íris e da pele ao redor da aplicação e vermelhidão dos olhos (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). São exemplos da classe a latanoprost (JONAS *et al.*, 2017), travoprost e tafluprot. É a classe de maior efeito hipotensor, podendo ser associados a outras classes de medicamentos (BRASIL, 2022).

Portanto, no tratamento do glaucoma o paciente pode utilizar mais de um colírio, o que gera custos altos (GUEDES, 2016; ROCHA *et al.*, 2019; SHALABY *et al.*, 2020), há uma baixa adesão do paciente devido as múltiplas administrações diárias (LAVIK; KUEHN; KNOW, 2011; ROCHA *et al.*, 2019) e uma menor disponibilidade do medicamento devido a sua drenagem rápida, renovação da lágrima, reflexo ao piscar, lacrimejamento induzido e a absorção conjuntival (KS; RK, 2009). No qual, menos de 5% da dose é absorvida no olho indo para a circulação sistêmica (AMO; URTTI, 2008; CESAR *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2017; ZAMBOULIS *et al.*, 2020).

Quando o tratamento medicamentoso não é eficaz o tratamento a *laser* pode ser um recurso (JONAS *et al.*, 2017). A trabeculoplastia seletiva a *laser* ou a trabeculoplastia a *laser* de argônio tem sido utilizada no tratamento do glaucoma, mas foi evidenciado a diminuição da sua eficácia ao longo dos anos. Quando o tratamento medicamentoso ou a trabeculoplastia não apresenta eficiência no tratamento a abordagem cirúrgica é uma alternativa. As cirurgias são seguras e de fácil recuperação, mas podem apresentar complicações e ser necessário reoperações (CHATZARA *et al.*, 2019).

O tratamento do GPAF difere do tratamento do GPAA, uma vez que, o objetivo do tratamento é a abertura do ângulo induzindo uma miose e o deslocamento da íris para fora do ângulo. O uso de mióticos, como a pilocarpina, é o tratamento medicamentoso de primeira linha. Caso o tratamento medicamentoso não seja eficaz o tratamento a *laser* pode ser uma alternativa como a iridoplastia a *laser*. Neste procedimento é realizado um orifício na íris periférica para reduzir a pressão entre a câmara anterior e posterior do olho (JONAS *et al.*, 2017).

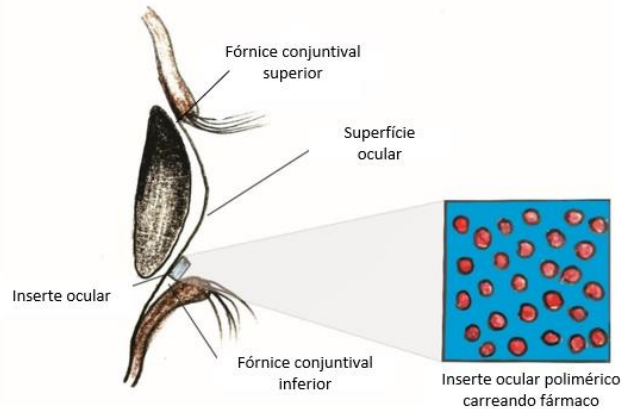
As formas convencionais utilizadas para administração de medicamentos na via ocular para o tratamento do glaucoma, no caso os colírios, apresentam uma biodisponibilidade limitada e, portanto, são necessárias várias aplicações ao dia (CHENG *et al.*, 2020). Para otimizar o tratamento podem ser utilizados os sistemas poliméricos biodegradáveis de liberação de fármacos, que conferem maior tempo de contato e permanência do fármaco no local de aplicação (CARVALHO *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2017), redução de efeitos colaterais e redução do número de administrações (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009; BATISTA, 2015; CESAR *et al.*, 2020; FRANCA, 2020; KS; RK, 2009; PAOLICELLI *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2017). Logo, os sistemas como as nanopartículas, sistemas de gelificação *in situ*, insertes, lipossomas, emulsões, lentes de contato, microagulhas, dendrímeros, hidrogéis entre outros, que proporcionam uma liberação prolongada dos fármacos no local de ação podem ser uma alternativa promissora para o tratamento do glaucoma (CHENG *et al.*, 2020; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

### 1.3 Insertes disponíveis no mercado

Os insertes oculares são dispositivos estéreis administrados no olho, podem ser divididos em inserções conjuntivais, inserções subconjuntivais e inserções intravítreas (GOOCH *et al.*, 2012). As inserções subconjuntivais e intravítreas são dispositivos que requerem procedimentos cirúrgicos para serem administrados e posteriormente quando retirados (SINGH *et al.*, 2020). Os insertes conjuntivais são dispositivos colocados sob a porção conjuntival do olho, entre a pálpebra inferior ou superior e a superfície do olho, conforme **Figura 8** (FRANCA *et al.*, 2014; GOOCH *et al.*, 2012; YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019). Essa via de administração geralmente é

utilizada para tratar doenças que afetam o segmento anterior do olho (FOUREAUX *et al.*, 2015), o que é o caso do glaucoma.

**Figura 8 – Inerte ocular.**



Fonte: Adaptado de YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA (2019, p. 373).

São divididos em insolúveis, solúveis e bioerodíveis. Os insertes insolúveis são dispositivos que o fármaco está presente em um sistema reservatório central que pode ser liberado por difusão ou por osmose. Apresentam a desvantagem de ser necessário sua retirada após liberação do ativo, enquanto os insertes solúveis não há necessidade de remoção do local de aplicação. As inserções bioerodíveis consistem de dispersão homogênea do fármaco, no qual, a liberação do mesmo ocorre quando a bioerosão da matriz polimérica se inicia (AHMAR *et al.*, 2019; GOOCH *et al.*, 2012; KRITI; YASHIKA, 2019; KUMAR; SINGH, 2014). Atualmente, existem diversos dispositivos em estudo para o tratamento do glaucoma, estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Dispositivos em estudo para o tratamento do glaucoma.

(continua)

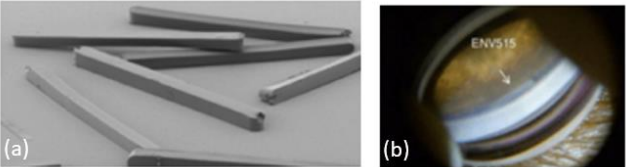

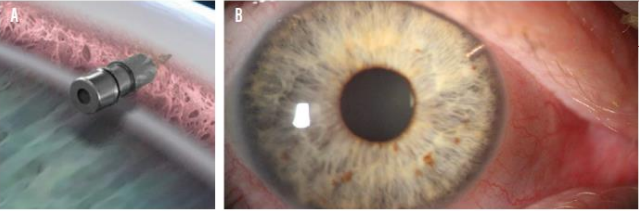
Nome do dispositivo	Tipo de dispositivo	Fármaco	Estágio de desenvolvimento	Referências bibliográficas
<p><b>ENV 515 (Envisia Therapeutics)</b></p> 	Implante intracameral biodegradável.	Travoprostá XR	Estudo de fase II.	(KESAV <i>et al.</i> , 2021; MANSBERGER <i>et al.</i> , 2017; MILLER; EATON, 2021)
<p><b>DURYSTA (Allergan)</b></p> 	Implante bioerodível – o dispositivo apresenta uma agulha que é inserida na câmara anterior do olho e o implante é liberado.	10 µg de bimatoprostá.	Aprovado pelo FDA para tratamento de glaucoma de ângulo aberto e hipertensão ocular.	(KESAV <i>et al.</i> , 2021; MILLER; EATON, 2021)
<p><b>iDose Travoprostá (Glaukos)</b></p> 	É um sistema de entrega intracameral administrado de forma cirúrgica na córnea e ancorado à malha trabecular.	Travoprostá	Estudo de fase III.	(IBACH, 2020; KESAV <i>et al.</i> , 2021)



Tabela 1 – Dispositivos em estudo para o tratamento do glaucoma.

(continua)

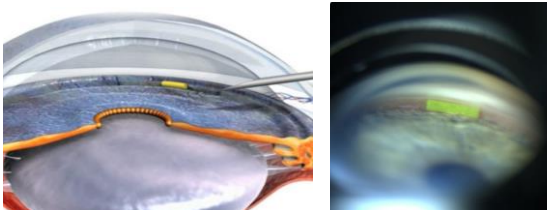
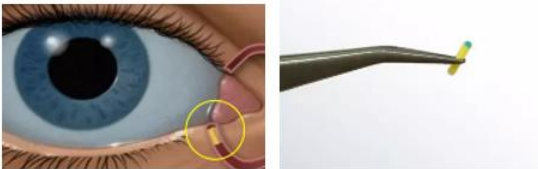

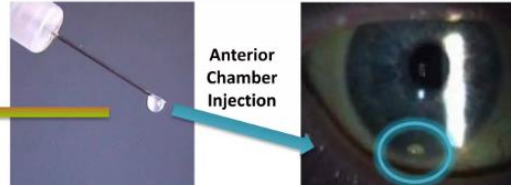
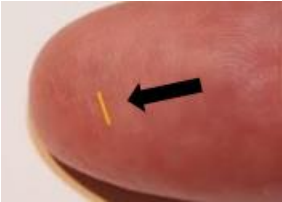
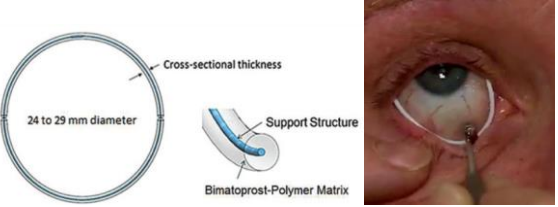
Nome do dispositivo	Tipo de dispositivo	Fármaco	Estágio de desenvolvimento	Referências bibliográficas
<p><b>OTX-TIC (Ocular Therapeutix™)</b></p> 	<p>Implante intracamerar que libera travoprostá por um período de 4 meses.</p>	<p>Travoprostá</p>	<p>Estudo fase I.</p>	<p>(KESAV <i>et al.</i>, 2021; MILLER; EATON, 2021)</p>
<p><b>OTX-TP (Ocular Therapeutix™)</b></p> 	<p>Implante canalicular em forma de bastão que libera travoprostá por 2 a 3 meses.</p>	<p>Travoprostá</p>	<p>Estudos de fase III.</p>	<p>(MILLER; EATON, 2021)</p>
<p><b>TODDD™ (Amorphex Therapeutics)</b></p> 	<p>Inserte macio flexível, composto por elastômero transparente que é administrado abaixo da pálpebra superior.</p>	<p>Timolol ou prostaglandina.</p>	<p>Estudos de fase II.</p>	<p>(BERTENS <i>et al.</i>, 2018; KRESCH, 2017)</p>

Tabela 1 – Dispositivos em estudo para o tratamento do glaucoma.

(conclusão)

Nome do dispositivo	Tipo de dispositivo	Fármaco	Estágio de desenvolvimento	Referências bibliográficas
<p><b>IBI-60089</b></p> 	<p>Injeção subconjuntival liberação de latanoprostá durante 6 meses.</p>	<p>Latanoprostá</p>	<p>Teste pré-clínico.</p>	<p>(KRESCH, 2017)</p>
<p><b>Durasert (pSivida)</b></p> 	<p>Implante subconjuntival, biodegradável, bioerodível de liberação sustentada de latanoprostá por até 12 meses.</p>	<p>Latanoprostá</p>	<p>Estudo de fase I/II.</p>	<p>(KRESCH, 2017)</p>
<p><b>Helios™ (ForSight Vision5 Inc.)</b></p> 	<p>É um dispositivo em forma de anel administrado abaixo das pálpebras superior ou inferior.</p>	<p>Bimatoprostá</p>	<p>Estudo de fase II.</p>	<p>(J. F. BERTENS <i>et al.</i>, 2018)</p>

Os insertes apresentam vantagens como o maior tempo de contato do fármaco no local de ação, melhorando sua biodisponibilidade. A administração de uma dose exata no olho que proporciona um melhor controle na terapia e redução da absorção sistêmica. Portanto, apresentam menores efeitos adversos, maior eficácia devido a liberação contínua do fármaco e melhor adesão do paciente (AHMAR *et al.*, 2019; KUMAR; SINGH, 2014). Dessa maneira, podem proporcionar um melhor controle da PIO no tratamento do glaucoma (ABDELKADER *et al.*, 2020; DEVI *et al.*, 2021).

Entretanto, ainda apresentam desafios a serem aprimorados como a sensação de corpo estranho no olho, o deslocamento do dispositivo do local de aplicação e a dificuldade de administração em alguns casos (ABDELKADER *et al.*, 2020; AHMAR *et al.*, 2019; DEVI *et al.*, 2021). Essas limitações dos insertes podem ser superadas utilizando materiais mais favoráveis que ao serem administrados no fórnice conjuntival intumescam, gelifiquem e degradem completamente (ABDELKADER *et al.*, 2020), por exemplo, o inserte desenvolvido por Rubião e colaboradores, conforme **Figura 9**.

**Figura 9 – Insete de quitosana e bimatoprost.**



Fonte: RUBIÃO (2021, p. 2)

Em relação aos implantes, para sua administração é necessário um processo cirúrgico e invasivo que pode ocorrer complicações como a migração do implante, reações de hipersensibilidade e o risco de perda de células endoteliais com o tempo de uso. Esses implantes ainda estão em estudo e devem ser avaliados quanto ao risco benefício (KESAV *et al.*, 2021).

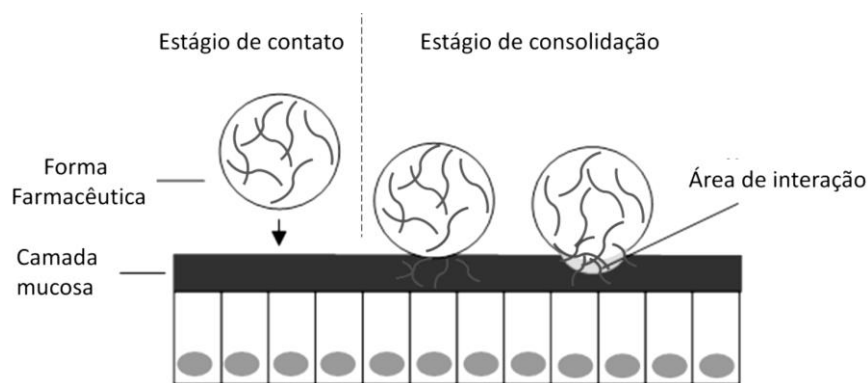
#### **1.4 Mucoadesão**

O muco é uma barreira semipermeável que confere nutrição e defesa das células epiteliais, ele é continuamente produzido, degradado e eliminado (COLLADO-GONZÁLEZ; ESPINOSA; GOYCOOLEA, 2019; KHARE *et al.*, 2014). A mucoadesão

é definida como a aderência de substâncias a uma superfície coberta por muco ou a membrana mucosa (PHAM *et al.*, 2021). Apresenta vantagens como o aumento do tempo de permanência do fármaco no local de ação e rápida absorção do fármaco (MANSURI *et al.*, 2016).

A mucoadesão consiste no contato entre o material e a mucosa ocorrendo a molhabilidade do material (estágio de contato), em seguida ocorre a difusão e interação entre as cargas do polímero com a mucosa (estágio de consolidação) e, conseqüentemente, a difusão do fármaco para o tecido, conforme **Figura 10** (CHATTERJEE *et al.*, 2017).

**Figura 10 – Estágios do processo de mucoadesão.**



Fonte: AINA (2019).

O fenômeno de mucoadesão pode ser explicado por teorias como a teoria de adsorção, teoria de difusão, a teoria eletrônica, teoria mecânica e teoria da molhabilidade, conforme **Tabela 2**.

**Tabela 2 – Teorias da mucoadesão.**

(continua)

Teoria	Processo envolvido	Referências
<b>Adsorção</b>	Relacionada com as forças de Van der Waals e com ligações de hidrogênio.	(DAVE <i>et al.</i> , 2021; MANSURI <i>et al.</i> , 2016)
<b>Difusão</b>	Interpenetração de cadeias poliméricas através de uma interface adesiva. O entrelaçamento entre o polímero e o muco é dependente do tamanho da cadeia polimérica.	(DAVE <i>et al.</i> , 2021; MANSURI <i>et al.</i> , 2016)

**Tabela 2 – Teorias da mucoadesão.****(conclusão)**

<b>Teoria</b>	<b>Processo envolvido</b>	<b>Referências</b>
<b>Eletrônica</b>	Relacionada com a diferença eletrônica entre a mucosa e o sistema polimérico. Em que, a mucina de carga negativa interage com o polímero catiônico, por exemplo, a quitosana.	(DAVE <i>et al.</i> , 2021; MANSURI <i>et al.</i> , 2016)
<b>Mecânica</b>	Relacionada com o preenchimento de uma superfície irregular por um líquido mucoadesivo. As irregularidades correspondem a uma maior superfície de contato da formulação.	(MANSURI, <i>et al.</i> 2016)
<b>Molhabilidade</b>	Quando o sistema polimérico entra em contato com a mucosa o mesmo penetra nas deformações da superfície. A afinidade do sistema adesivo é definida de acordo com o ângulo de contato.	(AINA, 2019; MANSURI, <i>et al.</i> 2016)

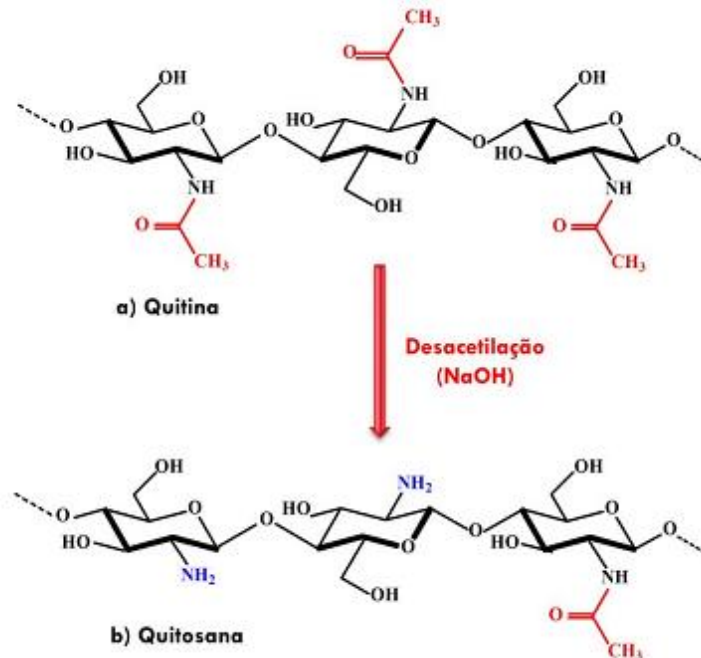
As interações entre o polímero e a mucina ou mucosa depende de fatores como o pH local, fator de renovação da mucina (CHATTERJEE *et al.*, 2017), capacidade de hidratação do polímero (ZAMBOULIS *et al.*, 2020), teor de água, força iônica e temperatura que podem influenciar nas características eletrostáticas e de conformação da mucina (DAVE *et al.*, 2021), peso molecular do polímero, em que, quanto maior o peso molecular maior será o emaranhado formado e a conformação do polímero que impacta na disponibilidade dos grupos funcionais para interação com a mucina (CHATTERJEE *et al.*, 2017).

### **1.5 Polímero – Quitosana**

Existem vários polímeros que são utilizados em sistemas de liberação mucoadesiva (CHO *et al.*, 2018; WAYS *et al.*, 2018). A quitosana é um desses polímeros, sendo biocompatível, biodegradável (DAVE *et al.*, 2021) e obtida da desacetilação parcial da quitina, **Figura 11** (MANSURI *et al.*, 2016). A quitina é um polissacarídeo presente no exoesqueleto de artrópodes. Apresenta baixa solubilidade aquosa dificultando a formação de hidrogéis, assim, ela pode ser desacetilada, formando a quitosana, o que ocasiona um aumento na solubilidade em sistemas aquosos (COLLADO-GONZÁLEZ; ESPINOSA; GOYCOOLEA, 2019). Na desacetilação da quitosana os grupamentos

acetamido (-NHCOCH<sub>3</sub>) da quitina são parcialmente transformados em grupos amino (-NH<sub>2</sub>) (SANTOS, 2018).

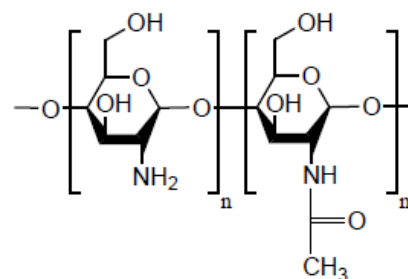
**Figura 11 – Desacetilação da quitina.**



Fonte: FIGUEIREDO (2014, p. 13).

A quitosana apresenta características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, mucoadesão (CHO *et al.*, 2018; MANSURI *et al.*, 2016; WAYS *et al.*, 2018), ausência de toxicidade, atividade contra fungos e bactérias, capacidade de formar membranas (MOURA, 2012), cicatrização de feridas na córnea (MANSURI *et al.*, 2016), aumento da penetração de fármacos através das vias paracelular e intracelular, por meio do afrouxamento das junções entre as células (DAVE *et al.*, 2021; FRANCA *et al.*, 2019; ZAMBOULIS *et al.*, 2020), melhorando assim, a absorção de fármacos hidrofílicos (SILVA *et al.*, 2021).

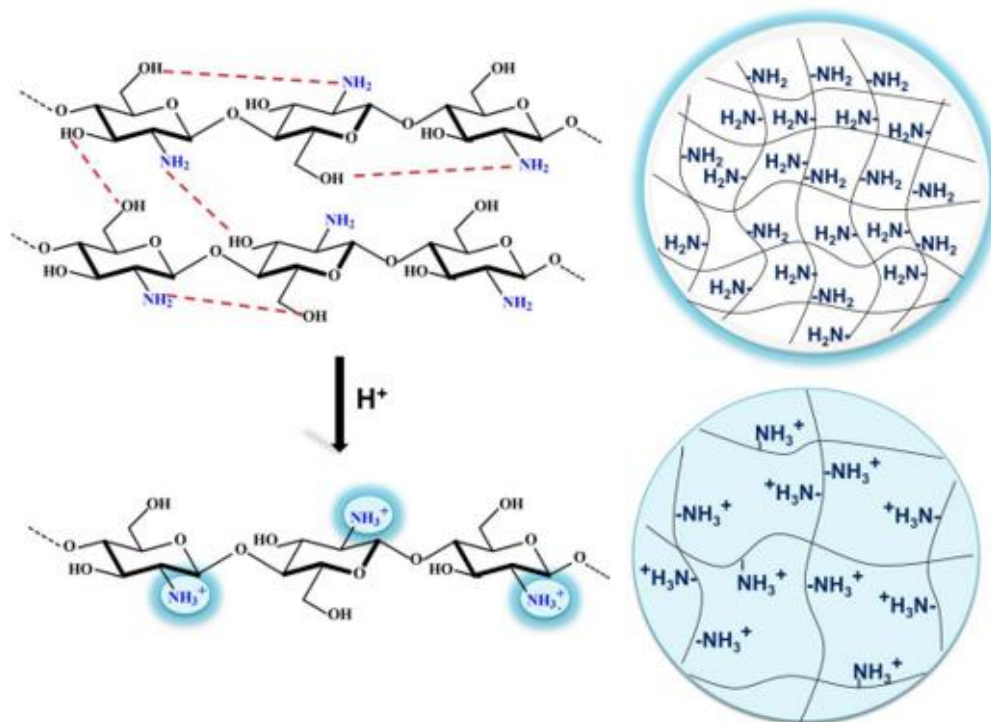
**Figura 12 – Fórmula estrutural de quitosana.**



Fonte: WAYS *et al.* (2018, p. 2).

Em sua estrutura apresenta grupamentos OH e NH<sub>2</sub> que são importantes para as interações da molécula e sua solubilidade (WAYS *et al.*, 2018), conforme **Figura 12**. Em pH baixo o grupamento NH<sub>2</sub> sofre protonação, **Figura 13**, e a molécula se torna positiva (MOURA, 2012) e em pH elevado ocorre a sua precipitação podendo afetar o desempenho do sistema de liberação. É uma molécula básica que apresenta solubilidade em pH ácido menor do que 6 (WAYS *et al.*, 2018).

**Figura 13 – Protonação da quitosana.**



Fonte: FIGUEIREDO (2014, p. 14).

A quitosana quando utilizada em sistemas de liberação de fármacos no olho apresenta tempo de residência pré-corneal prolongado (FRANCA *et al.*, 2019). Essa interação entre a mucina e a quitosana ocorre por interação eletrostática e ligações de hidrogênio (COLLADO-GONZÁLEZ; ESPINOSA; GOYCOOLEA, 2019; MANSURI *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2021). Os resíduos do ácido siálico, carregados negativamente, interagem com os grupos amino da quitosana, carregados positivamente, aumentando assim, o tempo de contato do fármaco no local de aplicação (SILVA *et al.*, 2017). No qual, quanto maior a concentração de ácido siálico no muco mais forte será a interação com a quitosana (CHATTERJEE *et al.*, 2017).

Essa interação também depende de fatores intrínsecos das moléculas e condições ambientais como o pH do meio, força iônica, temperatura, entre outros. As propriedades intrínsecas estão relacionadas ao grau de acetilação e o peso molecular da quitosana. As condições ambientais estão relacionadas a concentração do polímero acima da concentração crítica que gera uma rede emaranhada dificultando a interação com a mucina. O pH do meio pode favorecer a protonação da quitosana. Em relação ao grau de acetilação da quitosana, quanto maior for mais flexível fica a cadeia. E em meio com alta concentração de sal tanto a quitosana como a mucina ficam com cargas neutras o que dificulta a interação entre ambas (COLLADO-GONZÁLEZ; ESPINOSA; GOYCOOLEA, 2019).

No mercado a quitosana já foi testada em filmes, sistemas de partículas (micropartículas e nanopartículas), sistemas injetáveis, adesivos, implantes, entre outros, nas mais diversas áreas, como por exemplo, a oftalmológica, gástrica, bucal e anticancerígena (MOURA, 2012). Dois exemplos são, o inserte de quitosana e brimonidina que demonstrou uma liberação do fármaco por até 30 dias e quitosana e brimatoprost que liberou o fármaco por 15 dias (YADAV; RAJPUROHIT; SHARMA, 2019).

Foram realizados estudos com implantes de quitosana e maleato de timolol, um betabloqueador para o tratamento do glaucoma e implantes com ofloxacino. No estudo *in vitro* 80% dos fármacos foram liberados em aproximadamente, uma hora e quatorze dias e o estudo *in vivo* foram liberados de cinco dias a dez semanas. Os dispositivos demonstraram uma alternativa promissora para o tratamento de doenças oculares (FULGÊNCIO, 2012).

Os filmes de quitosana para administração de fármacos na via ocular estão em estudo. São exemplos, o desenvolvimento de um filme de quitosana monocamada contendo tartarato de brimonidina, que demonstrou mucoadesividade, alta taxa de intumescimento e capacidade de permeação do fármaco através da córnea, no qual, o fármaco foi inicialmente liberado de forma rápida (75% do fármaco em 6 minutos), seguida de uma liberação prolongada por aproximadamente 25 horas (LI *et al.*, 2020). Franca e colaboradores 2019, também desenvolveram um filme monocamada contendo quitosana e hidroxietilcelulose para entrega de dorzolamida na via ocular. O



dispositivo liberou 75% do fármaco nas três primeiras horas havendo liberação do fármaco no olho por cerca de 18 horas.

Também está descrito na literatura dispositivos multicamadas, como exemplo, o desenvolvimento de um filme composto por quitosana e alginato de sódio carregado com maleato de timolol e levofloxacina. Nos testes realizados em modelos animais apresentou estabilização da PIO por 13 dias e proporcionou prevenção de infecções. O dispositivo ainda deve ser avaliado em relação as questões de desconforto ocular, toxicidade e a degradação após uso a longo prazo (WANG *et al.*, 2021).

Outro dispositivo estudado apresenta um sistema de microagulhas de dupla camada constituído por ácido hialurônico e ácido hialurônico metacrilado reticulado que apresentou liberação prolongada de IgG por 5 a 6 dias, quando o IgG foi conjugado ao ácido hialurônico observou-se uma liberação sustentada por até duas semanas. O dispositivo pode ser utilizado para carreamento de diversos fármacos, como por exemplo, os análogos de prostaglandina para tratamento de glaucoma (THAN *et al.*, 2018).

Também há estudos de filmes para aplicação ocular com outros tipos de polímeros o que é o caso do filme de monocamada poli- $\beta$ -aminoéster e óxido de grafeno em que a brimonidina foi encapsulada em  $\beta$ -ciclodextrina, em que de acordo com o número de camadas do dispositivo é possível prolongar o tempo de liberação do fármaco em até 5 dias. O dispositivo está em estudo para ajustes na liberação do fármaco (MACHADO *et al.*, 2019).

Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido e patenteado diversos tipos de dispositivos com liberação de fármacos na cavidade ocular. Alguns destes estudos já realizados em humanos e que foi possível obter uma liberação de 40 dias, nos quais, foram utilizados insertes de quitosana (FARACO; JÚNIOR, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2009). Inserções de quitosana para liberação de acetato de diminazeno por 30 dias em animais (FOUREAUX *et al.*, 2015). Inserções de quitosana e hidroxietilcelulose para liberação de dorzolamida por duas semanas, estudos em animais, conforme citado anteriormente (FRANCA *et al.*, 2019). Foram testados, também, com vistas a melhorar a mucoadesão dispositivos de quitosana e sulfato de condroitina, que proporcionaram liberação *in vivo* durante três semanas (CESAR *et al.*, 2020). Todos

estes experimentos até o momento têm conduzido a liberação por até 42 dias (RUBIÃO *et al.*, 2021).

### **1.6 Reposicionamento de fármacos e a sulfaguanidina**

O desenvolvimento de fármacos é um processo caro, apresenta risco, é oneroso, pode levar de 10 a 15 anos e a taxa de sucesso é cerca de 2,01%. Então, o reposicionamento de fármacos, ou seja, o uso de um fármaco para uma doença diferente daquela que foi aprovado, no qual, pode ser usada uma nova dose, via de administração e formulação diferente do fármaco (JOURDAN *et al.*, 2020) já existente no mercado, se tornou uma estratégia eficaz (XUE *et al.*, 2018).

Este é um processo de baixo custo e sem risco (XUE *et al.*, 2018), pois já existem informações sobre a segurança, eficácia e efeitos adversos do medicamento (JOURDAN *et al.*, 2020) e o tempo de estudo para uso do fármaco reposicionado é menor (XUE *et al.*, 2018). No mercado existem vários fármacos que já foram reposicionados, exemplos são: o ácido acetil salicílico, talidomida, sildenafil, fumarato de dimetila, cloreto de metiltionina e recentemente a cloroquina e hidroxicloroquina (JOURDAN *et al.*, 2020).

Logo, para o tratamento do glaucoma é importante o reposicionamento de fármacos, visto que, é uma abordagem segura e custo efetiva. Vários fármacos em estudo apresentaram efeitos neuroprotetores e preservaram a função visual em modelos animais com glaucoma, como a candesartana usada em tratamento de hipertensão, o ácido valpróico utilizado para tratamento de epilepsia, geranilgeranil acetona no tratamento de úlcera gástrica, edaravona utilizada para tratamento de infarto agudo do cérebro, a nicotinamida usada em doenças de pele e Amlexanox utilizado no tratamento de asma brônquica e rinite alérgica. Estes medicamentos foram reposicionados com o objetivo de descoberta de novas terapias e intervenções farmacológicas para o tratamento do glaucoma (HARADA *et al.*, 2019).

Outro fármaco estudado para o reposicionamento para o tratamento do glaucoma é a nifedipina, utilizada para o tratamento da hipertensão e angina. Ela atua causando a vasodilatação da musculatura lisa vascular do olho diminuindo a PIO. Quando administrado de forma oral apresenta baixa biodisponibilidade e causa o abaixamento

da pressão arterial, por isso, uma nova estratégia de uso é a administração direta no olho reduzindo os efeitos colaterais e aumentando a duração da ação do fármaco. Portanto, foi desenvolvido um sistema de gelificação local com poloxamer 407 e hidroxipropilmetilcelulose K4M, no qual, a nifedipina se demonstrou adequada e segura para o tratamento do glaucoma com liberação prolongada, 49,81% do fármaco foi liberado em seis horas (EL-FEKY *et al.*, 2021).

Recentemente um derivado de diminazeno, um antiparasitário, a benzamidina (dicloridrato de 4-aminobenzamidina), também foi testado para administração ocular para o tratamento do GPAA sendo desenvolvido um inserte polimérico de quitosana e sulfato de condroitina, em que houve uma liberação *in vitro* de até 180 minutos e proporcionou controle da PIO *in vivo* por até três semanas (CESAR *et al.*, 2020).

Conforme citado anteriormente, na literatura já existem vários fármacos que estão em estudo para o reposicionamento no tratamento do glaucoma. As sulfonamidas são uma classe farmacêutica que também é estudada para o tratamento do glaucoma, pois elas atuam inibindo as anidrases carbônicas presentes no olho humano. São fármacos que possuem o grupamento ( $R-SO_2NH_2$ ), essa classe apresenta diversos fármacos que atuam como diuréticos, antivirais, antibacterianos, inibidores de proteases, inibidores de ciclooxigenase 2, anticancerígeno e inibidores da anidrase carbônica (CARTA; SUPURAN; SCOZZAFAVA, 2012).

As anidrases carbônicas são metaloenzimas contendo zinco, a sua inibição está relacionada a redução da PIO no tratamento do glaucoma. As isoformas II, IV e XII estão relacionadas com a produção de humor aquoso (CARTA; SUPURAN; SCOZZAFAVA, 2014), principalmente a isoforma II, que está presente em diversos locais do olho humano como a retina e o cristalino (GHORAI *et al.*, 2020). Os fármacos inibidores da anidrase carbônica diminuem a produção de bicarbonato pelo processo ciliar, assim há uma redução da secreção do humor aquoso e conseqüentemente da PIO (ANITHA *et al.*, 2020; ULUS *et al.*, 2016).

Dentre as sulfonamidas estudadas para o tratamento do glaucoma temos a acetazolamida, metazolamida e a diclorfenamida de uso oral, mas apresentam efeitos adversos sistêmicos por inibirem as anidrases carbônicas distribuídas pelo organismo humano. Assim, a dorzolamida e a brinzolamida da mesma classe foram testadas com aplicação tópica resultando em uma redução de 30 % da PIO (CARTA; SUPURAN;

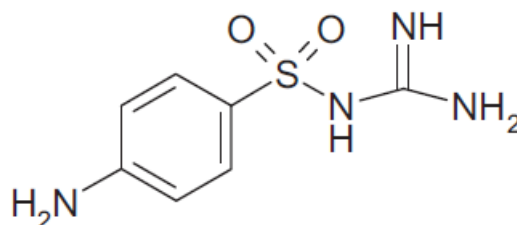
SCOZZAFAVA, 2014), mas apresentam efeitos adversos como visão turva, vermelhidão ocular, descompensação da córnea, entre outros (ANITHA *et al.*, 2020).

Portanto, é interessante o estudo de novos fármacos para aplicação tópica no tratamento do glaucoma que apresente menos efeitos adversos e melhor eficácia (ANITHA *et al.*, 2020; ULUS *et al.*, 2016). Um outro fármaco da classe das sulfonamidas a ser testado para o tratamento do glaucoma é a sulfaguanidina, visto que apresenta inibição da anidrase carbônica e pode ocasionar a redução da PIO (PUCETTI *et al.*, 2005; ULUS *et al.*, 2016).

A sulfaguanidina de fórmula estrutural  $C_7H_{10}N_4O_2S$ , peso molecular de 214,3 g/mol (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2019; WIKSTROM; KAKIDAS; TAYLOR, 2009) é um fármaco utilizado como antimicrobiano na medicina humana e veterinária para infecções intestinais, sendo administrada por via oral ou intraperitoneal (ABIDI *et al.*, 2017; ADAY *et al.*, 2016; PAVLOVIĆ *et al.*, 2015), principalmente em infecções gastrointestinais (R. BHUVANESWARI *et al.*, 2021), também possui uso na apicultura para prevenção e controle de doenças nas colmeias (HASSANI *et al.*, 2018).

É um pó cristalino fino branco ou quase branco, muito pouco solúvel em água, pouco solúvel em acetona, muito pouco solúvel em etanol (99%), praticamente insolúvel em cloreto de metileno (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2019). A sua solubilidade em água é de 2200 mg/L (DOLAR *et al.*, 2017). Dissolve-se em soluções diluídas de ácidos minerais. Deve ser armazenado protegido da luz (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2019). Sua estrutura está representada na **Figura 14**.

**Figura 14 – Fórmula estrutural da sulfaguanidina.**



Fonte: PAVLOVIĆ *et al.* (2015, p. 101).

A reação de hipersensibilidade do tipo I mediada por IgE é a principal reação adversa causada pelas sulfonamidas, no qual, as reações cutâneas são as manifestações mais comuns, incluindo urticária, eritoderma, eritema multiforme, erupções

morbiliformes, necrólise epidérmica tóxica e síndrome de Stevens-Johnson. As reações se desenvolvem entre 7 a 14 dias após o início do tratamento. Também pode apresentar reações não relacionadas ao sistema imunológico como, náuseas, vômitos, hepatite, artrite, complicações hematológicas e alterações hidro-eletrolíticas (GELLER *et al.*, 2008).

Portanto, diante dos dados da literatura sobre a gravidade do glaucoma em causar cegueira irreversível, os diversos problemas relacionados as formas farmacêuticas convencionais e os efeitos adversos causados pelos fármacos utilizados no tratamento do glaucoma, se faz necessário o estudo de novos fármacos e dispositivos para entrega desses fármacos que possam proporcionar melhor conforto ao paciente e eficácia no tratamento (AMO; URTTI, 2008; CESAR *et al.*, 2020; LAVIK; KUEHN; KNOW, 2011; ROCHA *et al.*, 2019).

Dessa forma, o reposicionamento da Sulfaguanidina como um potencial fármaco no tratamento do glaucoma pode ser promissor, uma vez que, o fármaco apresenta inibição da anidrase carbônica podendo ocasionar a redução da PIO (PUCETTI *et al.*, 2005; ULUS *et al.*, 2016) e o reposicionamento de fármacos ser um processo com menores custos, riscos, menos etapas e já existirem dados de segurança, eficácia e efeitos adversos do medicamento. Portanto, pode otimizar o tempo de estudo e avaliação do inserte com o fármaco para o tratamento do glaucoma (JOURDAN *et al.*, 2020; XUE *et al.*, 2018).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolvimento e caracterização de insertes poliméricos na forma de filmes contendo o fármaco (sulfaguanidina) com potencial atividade antiglaucomatosa como alternativa potencial para tratamento do glaucoma.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver insertes poliméricos na forma de filmes poliméricos com uma, duas e três camadas, para veiculação de potencial substância ativa antiglaucomatosa (sulfaguanidina);
- Caracterizar os insertes poliméricos com e sem fármaco, com relação às propriedades físicas e químicas, como potencial de hidratação, pH de superfície, microscopia eletrônica de varredura, DSC, TG, DTA e espectroscopia no UV e IV.

## **PARTE 2 – TRABALHO EXPERIMENTAL: MATERIAIS E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

- Quitosana, corante verde lissamina e o fármaco sulfaguanidina / Sigma-Aldrich;
- Água Milli-Q obtida do equipamento Milli-Q Marca Millipore, modelo Direct-Q, Morshem;
- Shaker KS 4000 i control da marca IKA / Merck;
- Fita de papel indicador / Merck;
- Demais solventes e materiais compõe a grade de insumos para análise do laboratório e não foram purificados previamente ao uso.

#### **3.1 Preparo dos insertes branco de quitosana**

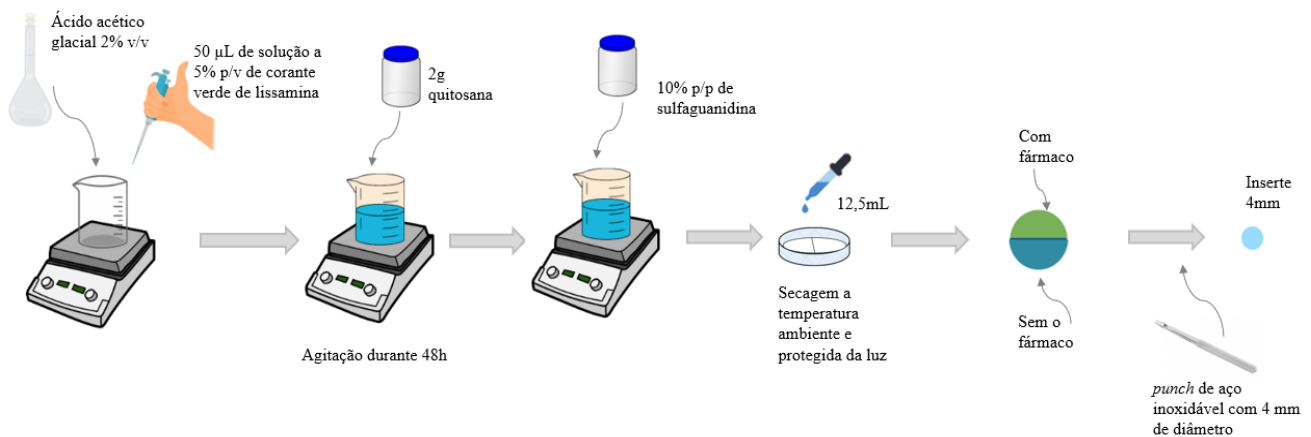
Os insertes brancos de quitosana foram preparados utilizando método de evaporação do solvente (CESAR *et al.*, 2020). Assim, em um béquer de 250 mL foram adicionados, sob agitação magnética, solução de ácido acético glacial 2% v/v, 50 µL de solução a 5% p/v de corante verde de lissamina até completa homogeneização e, posteriormente, adicionados 2 g de quitosana. O sistema ficou sob agitação magnética por 48 horas para assegurar a hidratação do polímero. Os insertes foram preparadas como filmes de monocamada, dupla camada e tripla camada em placa de Petri plástica por intermédio do método descrito abaixo.

#### **3.2 Preparo dos insertes de monocamada branco e com sulfaguanidina**

Para obtenção dos insertes brancos monocamadas, a dispersão polimérica obtida no item anterior foi vertida em placa de Petri totalizando 12,5 mL de dispersão polimérica. Após secagem a temperatura ambiente e protegida da luz, o filme polimérico foi obtido como filme monocamada. Estes filmes foram armazenados ao abrigo da luz e da umidade e durante sua utilização foram cortados com utilização de *punch* de aço inoxidável com 4 mm de diâmetro obtendo os insertes homogêneos em seu diâmetro que foram analisados posteriormente.

Para obtenção dos insertes com fármaco monocamada, metodologia semelhante foi empregada diferindo pela adição do fármaco (10% p/p em relação ao polímero conforme descrito na literatura por Bergmann e colaboradores, 2013 e Gomes e colaboradores, 2015) na dispersão polimérica seguida de sua homogeneização por intermédio da agitação magnética. Após homogeneização, a dispersão foi vertida em placa de Petri e seca a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após secagem e formação dos filmes, os insertes foram obtidos utilizando, também, *punch* de 4 mm de aço inoxidável afim de homogeneizar os diâmetros dos mesmos para posteriores análises, conforme **Figura 15**.

**Figura 15 – Preparo dos insertes de quitosana branco e com o fármaco sulfaguandina.**



### 3.3 Preparo dos insertes de dupla camada branco e com sulfaguandina

Para o preparo dos insertes com dupla camada branco foram utilizadas as dispersões previamente desenvolvidas nos itens anteriores. Então, para a obtenção da primeira camada a dispersão polimérica (12,5 mL) sem fármaco foi vertida na placa de Petri e, analogamente ao descrito, foi colocada para secar. Após a obtenção do filme proveniente desta primeira camada, foi vertida a segunda camada, de igual volume (12,5 mL) sobre a primeira. Esta nova preparação foi colocada para secar ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Os filmes de duas camadas obtidos foram cortados com *punch* de 4 mm para posteriores análises.

Por outro lado, para obtenção dos insertes com duas camadas com fármaco, uma das dispersões utilizadas foi aquela previamente desenvolvida com a presença do fármaco. Assim, para a obtenção da primeira camada a dispersão polimérica (12,5



mL) sem fármaco foi vertida na placa de Petri e, analogamente ao descrito, foi colocada para secar. Após a obtenção do filme proveniente desta primeira camada, foi vertida a segunda camada de dispersão polimérica, agora com fármaco, de igual volume (12,5 mL) sobre a primeira. Esta nova preparação foi colocada para secar ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Os filmes de duas camadas obtidos foram cortados com *punch* de 4 mm obtendo-se os insertes para análises posteriores, conforme **Figura 15**.

### **3.4 Preparo dos insertes de tripla camada branco e com sulfaguanidina**

Os insertes de tripla camada brancos foram obtidos a partir da adição de uma nova camada de dispersão polimérica sem fármaco sobre os filmes de dupla camada. Assim, para obtenção dos filmes de tripla camada branco foram adicionados 12,5 mL de dispersão polimérica sem fármaco sobre os filmes dupla camada obtidos anteriormente. Após esta adição, os filmes foram colocados para secar em temperatura ambiente e também ao abrigo da luz. Os filmes produzidos com três camadas foram cortados com *punch* de 4 mm e os insertes obtidos foram acondicionados em recipientes ao abrigo da luz.

Para obtenção dos insertes de três camadas com fármaco, foram vertidos 12,5 mL da dispersão polimérica sem fármaco sobre o filme de duas camadas com fármaco previamente feito. Após adição, o filme foi acondicionado ao abrigo da luz e temperatura ambiente até secagem. Os insertes foram obtidos utilizando *punch* de aço inoxidável de 4 mm para análises posteriores, conforme **Figura 15**.

### **3.5 Preparo da Lágrima artificial pH 7,0**

Foi preparada uma solução com 0,2% de NaHCO<sub>3</sub>, 0,008% de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O e 0,67% de NaCl em água MilliQ (IRIMIA *et al.*, 2018; LIN *et al.*, 2010).

### **3.6 Caracterização dos sistemas poliméricos**

#### **3.6.1 Porcentagem de hidratação**

As propriedades de hidratação do polímero foram determinadas com base na diferença do peso do inserte antes e depois da imersão em lágrima artificial simulada. O inserte seco foi pesado e em seguida colocado em contato com 10 mL de lágrima artificial por tempos previamente determinados (5, 10, 20, 30, 60 e 120 minutos).

A porcentagem de intumescimento foi avaliada para cada um destes tempos pré-determinados. Após transcorrido o tempo determinado, as amostras foram cuidadosamente retiradas e secas com auxílio de pinças metálicas e papel de alta absorção. Os insertes foram pesados novamente e a porcentagem de hidratação determinada de acordo com a equação abaixo (EROGLU; SARGON; ÖNER, 2007):

$$\% \text{ de hidratação} = \frac{(\text{polímero hidratado} - \text{polímero seco})}{\text{polímero seco}} \times 100$$

A porcentagem de hidratação foi avaliada em triplicata e o teste foi realizado para os insertes com uma, duas e três camadas, com e sem fármaco. Cada resultado foi registrado como média e desvio padrão.

#### **3.6.2 Determinação do pH de superfície dos insertes**

A determinação do pH de superfície foi realizada em água e consistiu em adicionar água na superfície do inserte e, posteriormente, uma fita de pH foi colocada em contato com esta superfície umidificada. Essa determinação foi feita em triplicata e foi realizada nos filmes com uma, duas e três camadas branco e com o fármaco (CESAR *et al.*, 2020).

#### **3.6.3 Dosagem do fármaco por espectrofotometria na região do ultravioleta**

A espectrofotometria na região do UV foi o método usado para quantificar a substância sulfaguanidina, presente nos sistemas poliméricos desenvolvidos. Foi construída uma curva de concentração em função da absorbância do fármaco. As concentrações utilizadas foram de 10 a 100 µg de sulfaguanidina. Após a construção da curva, foi

realizada a verificação da linearidade da mesma, sendo calculado o limite de detecção e quantificação de acordo com a RDC Nº 166 de 2017.

### 3.6.4 Perfil de liberação *in vitro*

Para a determinação do perfil de liberação *in vitro*, os insertes foram cuidadosamente acondicionados no interior de tubos de diálise de 33 mm de largura e *cut-off* de 10 kDa. As extremidades do tubo foram amarradas com fios de polivinilacetato para impedir a saída dos insertes. Estes tubos foram acondicionados em recipientes de vidro âmbar com capacidade para 30 mL e foram tampados. Estes vidros preparados foram cheios com lágrima artificial e colocados sobre agitação horizontal em *shaker* de bancada na temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C, conforme **Figura 16**.

**Figura 16 – Teste de liberação *in vitro*.**



Em tempos pré-determinados todo o volume do meio foi retirado (3 mL) e o mesmo volume de lágrima artificial recém preparada foi adicionado. Os tempos de análise foram de 5min, 10min, 20min, 30min e 60min, 2h, 3h, 4h, 5h e 1 dia. Foi construída curva de liberação acumulada em função do tempo, utilizando espectrofotometria na região do UV, no comprimento de onda de 293 nm. A concentração das amostras foi determinada utilizando a curva analítica elaborada no item anterior de determinação do fármaco.

### 3.6.5 Análises térmicas

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal de Minas Gerais. O comportamento térmico das amostras foi avaliado por meio de DSC, TG e DTA.

As curvas TG foram derivadas em 1ª ordem para confirmação dos fenômenos térmicos (dado não mostrado). As curvas DSC foram obtidas na célula DSC60 Shimadzu sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> e razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, de 30 a 400 °C. Utilizou-se cadinho de alumínio fechado e massa de amostra, exatamente cerca de 2,0 mg. O equipamento foi previamente calibrado com índio ( $T_{\text{onset}} = 156,63 \text{ °C}$ ,  $\Delta H_{\text{fus}} = 28,45 \text{ J.g}^{-1}$ ).

As curvas TG/DTA simultâneas foram obtidas na termobalança DTG60 Shimadzu em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> de 30 a 600 °C. Utilizou-se cadinho de alumina aberto e massa de amostra, exatamente cerca de 3,0 mg.

### 3.6.6 Espectroscopia de absorção no infravermelho

A espectroscopia de absorção no IV é uma técnica muito utilizada na identificação, determinação de grupos funcionais e estruturas de macromoléculas. Se baseia na radiação eletromagnética que interage com a matéria em processos de absorção, emissão e espalhamento de radiação. Assim, ocorre identificação de estruturas fundamentais presentes nas moléculas orgânicas de acordo com sua absorção no espectro do IV sendo possível a sua identificação (PAVIA *et al.*, 2015).

Por isso, a técnica foi utilizada para avaliar possíveis interações entre o polímero e a substância potencialmente ativa. Foi utilizado espectrofotômetro Perkin Elmer®, modelo 283B, pertencente ao DQ-UFMG, na região de 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>, empregando brometo de potássio (KBr) como diluente para a confecção das pastilhas (KUMIRSKA *et al.*, 2010). As amostras avaliadas foram as do polímero (quitosana) e o fármaco (sulfaguanidina), tanto na forma pura quanto na forma farmacêutica final dos insertes de uma, duas e três camadas.

### **3.6.7 Microscopia eletrônica de varredura**

Os insertes desenvolvidos neste projeto foram analisados por MEV com o intuito de avaliar as características de superfície dos materiais com e sem a substância potencialmente ativa. No qual os insertes foram congelados em nitrogênio líquido e posteriormente realizado o corte lateral dos dispositivos. Em seguida, os insertes foram analisadas em tensões de aceleração e ampliações variáveis, sendo tiradas micrografias representativas da superfície e das laterais das inserções de uma, duas e três camadas tanto nos insertes brancos como nos insertes com a sulfaguanidina. Este estudo foi realizado em um microscópio eletrônico de varredura (JEOL, modelo FEI Quanta 200 FEG) operado de 2,5 a 10 kV no Centro de Microscopia da UFMG.

### **3.7 Análises estatísticas**

Os dados quantitativos foram representados como média  $\pm$  desvio padrão e avaliados por meio do software GraphPad Prism versão 8,0. Foram considerados resultados estatisticamente significativos aqueles que apresentaram limite de confiança menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) com nível de confiança de 95%. A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade dos dados, teste de Bartlett's para avaliação da homoscedasticidade, do teste ANOVA *one-way* e teste de Tukey para avaliar se há diferença significativa entre os dados e qual dado se difere dos demais seguido do teste de ROUT para avaliação de outliers.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

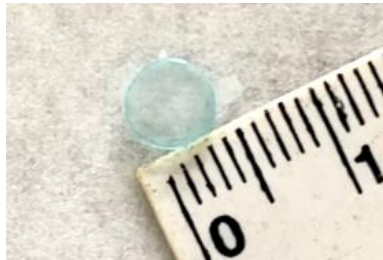
### **4.1 Preparo dos insertes poliméricos**

O polímero quitosana é derivado da quitina e apresenta em sua estrutura unidades sacarídeas de N-acetilglicosamina e N-glicosamina. Apesar de apresentar grupos hidrofílicos, ele é dificilmente disperso em água. Para diminuir o tempo de dispersão deste polímero em água utilizou-se uma solução de ácido acético, responsável pela protonação do nitrogênio dos resíduos da N-glicosamina facilitando, assim, sua dispersão (CESAR *et al.*, 2020). A dispersão do polímero em solução ácida apesar de eficaz, ainda é demorada, necessitando de se utilizar proteção contra a luz para que a dispersão fique com coloração preservada. A adição de corante visou a melhor

visualização dos filmes durante a execução dos testes e atendeu, também, solicitação dos colaboradores da área médica com vistas em facilitar o manuseio do inserte em futuros ensaios clínicos.

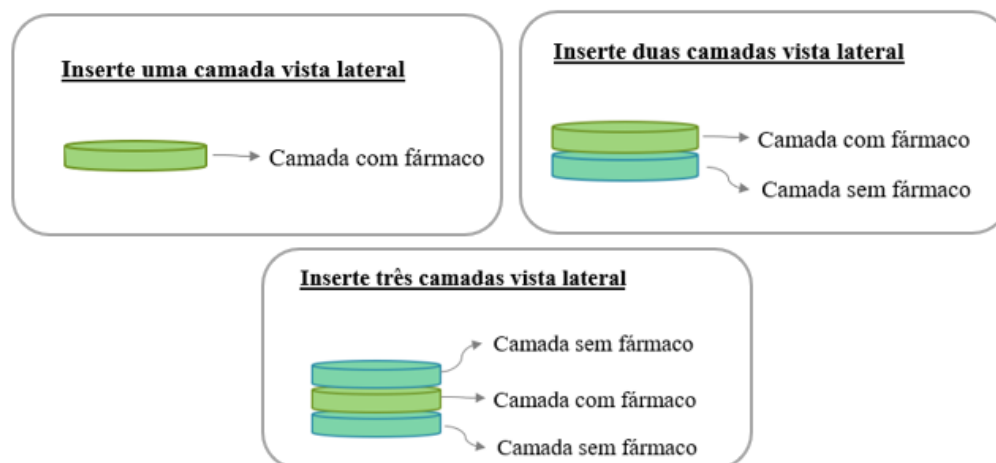
Os insertes com e sem fármaco foram produzidos com uma, duas e três camadas como relatado na metodologia obtenção dos insertes com duas e três camadas obedeceram a um critério estabelecido pelo laboratório em que a adição de novas camadas foi feita após secagem da camada inicial nos insertes. Esta conduta facilitou a produção de insertes multicamadas. Ainda em relação ao processo produtivo, a formação de bolhas foi evitada com a adição paulatina das dispersões poliméricas. Os insertes foram obtidos com o mesmo diâmetro (4 mm) por intermédio da utilização de um *punch* de biopsia de aço inoxidável, **Figura 17**.

**Figura 17 – Inserte com 4mm de diâmetro.**



Os insertes apresentaram massas de aproximadamente  $1,6 \pm 0,18$  mg,  $3,1 \pm 0,08$  mg e  $3,6 \pm 0,08$  mg, para os insertes de uma, duas e três camadas, respectivamente. A **Figura 18** apresenta uma representação esquemática dos insertes de uma, duas e três camadas contendo o fármaco sulfaguánidina.

**Figura 18 – Representação esquemática dos insertes de uma, duas e três camadas.**



Quando se compara o peso dos três insertes desenvolvidos, observa-se que há uma diferença estatística em relação ao peso dos insertes de uma, duas e três camadas. Em que  $p < 0,0001$  após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós teste de Tukey. Não houve diferença estatística entre os pesos dos insertes de uma camada  $p = 0,2767$ ,  $n = 20$  (Shapiro-Wilk). Houve diferença estatística entre os pesos dos insertes de duas camadas  $p = 0,0005$ ,  $n = 20$  (Shapiro-Wilk). Houve diferença estatística entre os pesos dos insertes de duas camadas  $p = 0,0013$ ,  $n = 20$  (Shapiro-Wilk). Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

## **4.2 Caracterização dos sistemas poliméricos**

### **4.2.1 Porcentagem de hidratação**

Para a determinação do percentual de hidratação foi utilizado, como dito anteriormente, uma equação que subsidiou a aquisição dos dados. Nenhum dos insertes testados apresentaram rompimento em sua estrutura durante todo o tempo de execução do teste.

O intumescimento pode ser determinado pela quantidade de solvente absorvido pela matriz polimérica em função do tempo. Logo, avalia-se a capacidade de hidratação do polímero que depende da interação do polímero com o solvente, com o grau de reticulação do polímero, a força iônica, a temperatura e o pH (OLIVEIRA, 2013). A reticulação do polímero está relacionada ao número de ligações cruzadas que vão determinar a resistência química da rede polimérica (BISPO, 2009).

Por outro lado, a adesão desse polímero é ativada quando o mesmo inicia a sua hidratação. Assim, o grau e a velocidade de intumescimento do polímero podem impactar na liberação do fármaco, pois quanto maior o número e a força das interações entre as cadeias poliméricas, mais lentamente as partículas de água vão se difundir na matriz, ocasionando uma liberação mais lenta do fármaco (AHMAR *et al.*, 2019; FRANCA *et al.*, 2019).

A quitosana é um polímero mucoadesivo que apresenta bom desempenho em pH fisiológico, podendo aumentar a biodisponibilidade de fármacos hidrofílicos e lipofílicos (FRANCA *et al.*, 2014). Apresenta grande afinidade com a água quando seu nitrogênio do grupo amina encontra-se protonado. A afinidade desta molécula também

é proporcional ao grau de desacetilação presente. Para uso em sistemas de liberação de fármacos, utiliza-se um grau de desacetilação superior a 80% pois permite um influxo de água para posterior solubilização e difusão do fármaco na sua rede polimérica (BISPO, 2009; OLIVEIRA, 2013).

Nos testes de caracterização para os insertes produzidos neste trabalho, foram utilizadas soluções com pH neutro a ácido tendo em vista que foi utilizada lágrima artificial para simular uma condição tanto de hidratação quanto de liberação do fármaco no olho humano. A liberação do fármaco ocorreu devido a constante hidratação do dispositivo, promovendo uma liberação constante e inicialmente rápida do fármaco. No olho humano essa condição não ocorre devido a quantidade de lágrima ser limitada, dessa forma, o fármaco será liberado de forma mais lenta (FOUREAUX *et al.*, 2015).

Na **Tabela 3** é possível observarmos a porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada sem fármaco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina nas três amostras testadas em função do tempo.

**Tabela 3 – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.**

Porcentagem de intumescimento dos insertes de uma camada branco e com o fármaco sulfaguanidina							
Insertes	Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio padrão	% acumulada
Inserte de uma camada branco	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	257,69	293,18	262,00	270,96	19,37	270,96
	10	253,85	279,55	262,00	265,13	13,13	536,09
	20	251,92	281,82	258,00	263,91	15,80	800,00
	30	250,00	293,18	244,00	262,39	26,83	1062,40
	60	240,38	268,18	228,00	245,52	20,58	1307,92
	120	246,15	256,82	232,00	244,99	12,45	1552,91
Inserte de uma camada com sulfaguanidina	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	157,58	300,00	346,67	268,08	98,50	268,08
	10	157,58	298,04	344,44	266,69	97,30	534,77
	20	154,55	296,08	337,78	262,80	96,04	797,57
	30	153,03	286,27	328,89	256,06	91,74	1053,63
	60	153,03	288,24	337,78	259,68	95,63	1313,31
	120	151,52	301,96	324,44	259,31	94,02	1572,62

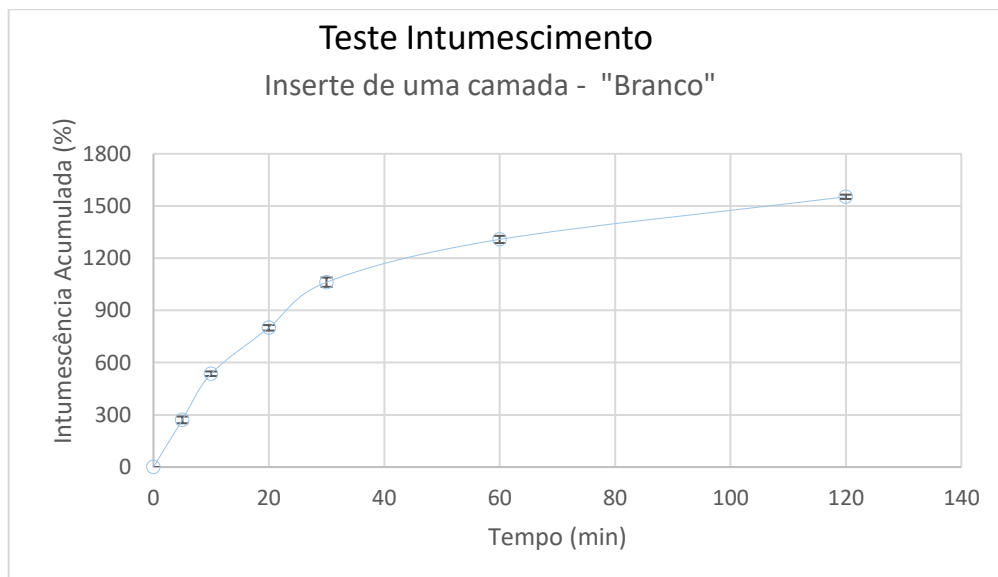
Observa-se na **Tabela 3**, uma hidratação com valores absolutos próximos e entre 228,00% a 293,18% de hidratação em cada tempo testado no inserte branco e de



151,52% a 346,67% para o inserte com sulfaguanidina. A porcentagem acumulada de intumescimento visualizada na última coluna da tabela demonstra uma absorção crescente e gradual do solvente em função do tempo chegando em valor de 1.552,91% para o inserte branco e 1.572,62% para o inserte com o fármaco sulfaguanidina ao término do teste (120 minutos).

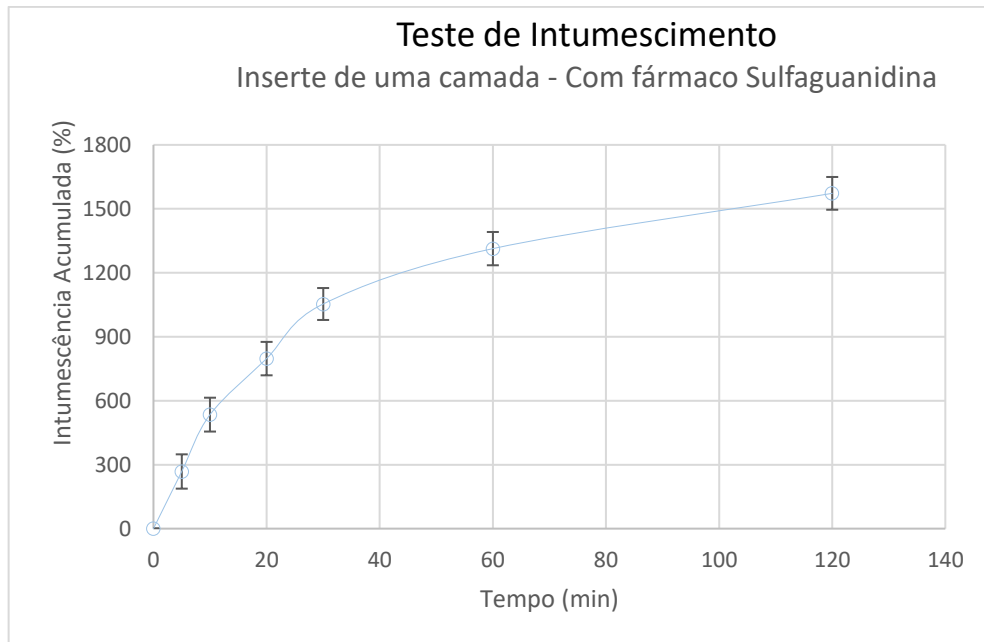
É possível visualizar no **Gráfico 1**, as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte branco.

**Gráfico 1 – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada branco.**



É possível visualizar no **Gráfico 2**, as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte de uma camada com o fármaco sulfaguanidina.

**Gráfico 2 – Porcentagem de intumescimento do inserte de uma camada com o fármaco sulfaguandina.**



No teste realizado para o inserte de uma camada, com e sem fármaco, observou-se que houve uma rápida absorção de água aos 5 minutos, um influxo de água da ordem de 260-270% de intumescimento. Após este tempo o inserte manteve a mesma taxa de intumescimento por 2 horas e um grande percentil de hidratação com cerca de 1.500%, tanto para o inserte branco como o inserte com o fármaco. Este influxo de água é tempo dependente conforme representado na **Tabela 3** e nos **Gráficos 1 e 2**.

Os resultados do intumescimento dos insertes de uma camada tanto placebo como inserte com o fármaco são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's) após transformação ( $Y = \log(Y)$ ). Houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes placebo ( $p = 0,0012$ ) e dos insertes com o fármaco ( $p = 0,0001$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

Analogamente aos insertes com uma camada, o teste também foi realizado para os insertes de duas e três camadas com o intuito de verificar, além do influxo de solvente, se o mesmo pode ou não resistir fisicamente à separação destas camadas ou até mesmo ter sua estrutura rompida de alguma forma e avaliar se os insertes de duas e três camadas poderiam alterar o perfil de liberação do fármaco.

Na **Tabela 4** é possível observarmos a porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas sem o fármaco e do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguanidina nas três amostras testadas em função do tempo.

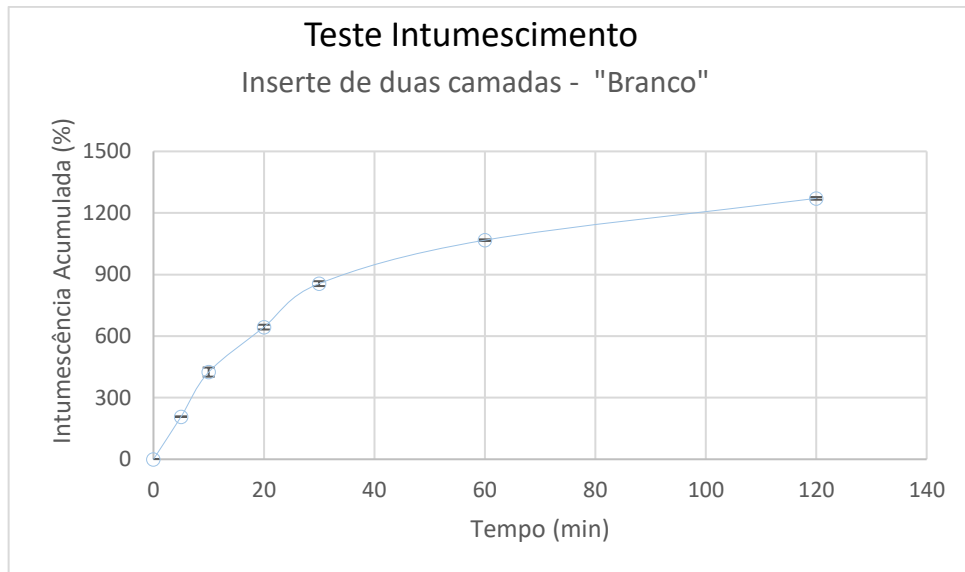
**Tabela 4 – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.**

Porcentagem de intumescimento dos insertes de duas camadas branco e com o fármaco sulfaguanidina							
Insertes	Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio padrão	% acumulada
Inserte de duas camadas branco	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	214,00	225,84	183,00	207,61	22,12	207,61
	10	216,00	229,21	206,00	217,07	11,64	424,69
	20	208,00	231,46	218,00	219,15	11,77	643,84
	30	208,00	215,73	212,00	211,91	3,87	855,75
	60	208,00	219,10	208,00	211,70	6,41	1067,45
	120	204,00	207,87	199,00	203,62	4,45	1271,07
Inserte de duas camadas com sulfaguanidina	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	219,47	211,72	218,10	216,43	4,14	216,43
	10	240,71	226,56	238,79	235,35	7,68	451,78
	20	240,71	228,13	234,48	234,44	6,29	686,22
	30	227,43	222,66	231,03	227,04	4,20	913,26
	60	218,58	215,63	235,34	223,18	10,63	1136,45
	120	220,35	207,81	225,00	217,72	8,89	1354,17

Observa-se na **Tabela 4** uma hidratação com valores absolutos próximos e entre 183,00% a 231,46% de hidratação em cada tempo testado no inserte de duas camadas branco e de 207,81% a 240,71% para o inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguanidina. A porcentagem acumulada de intumescimento visualizada na última coluna da tabela demonstra uma absorção crescente e gradual do solvente em função do tempo chegando em valor de 1.271,07% de hidratação para o inserte branco e de 1.354,17% para o inserte com o fármaco sulfaguanidina ao término do teste (120 minutos).

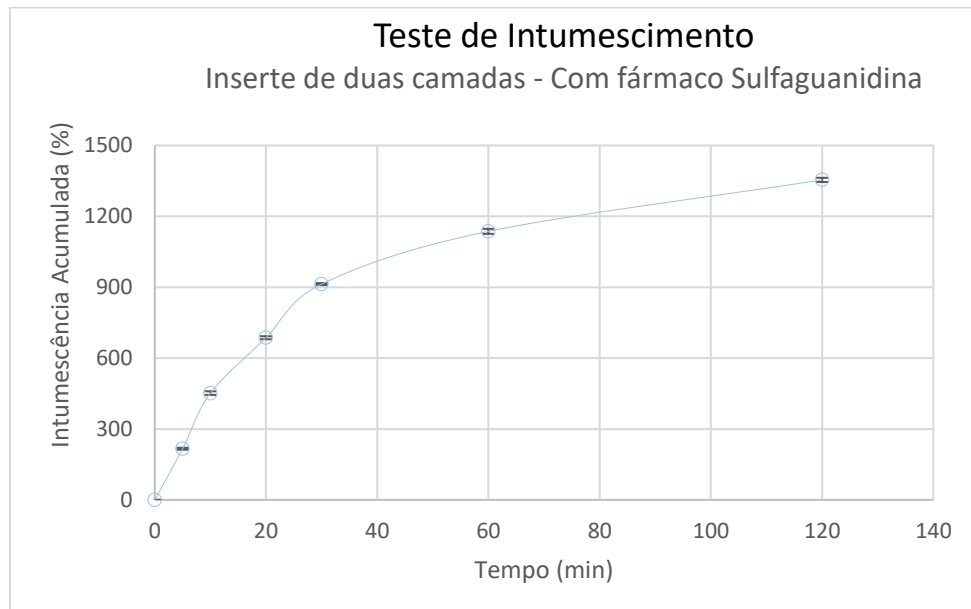
É possível visualizar no **Gráfico 3**, as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte de duas camadas branco.

**Gráfico 3 – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas branco.**



É possível visualizar no **Gráfico 4**, as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguandina.

**Gráfico 4 – Porcentagem de intumescimento do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguandina.**



Conforme observado nos testes realizados com os insertes de uma camada, no teste de intumescimento dos insertes de duas camadas, os mesmos sofreram rápida absorção de água. Conforme **Tabela 4** e **Gráficos 3** e **4**, com 5 minutos os insertes

atingiram a porcentagem média de intumescimento de 207 a 216% de intumescimento, respectivamente do inserte branco e do inserte com o fármaco. Após este tempo o inserte manteve o intumescimento constante por 2 horas e um grande percentil de hidratação com cerca de 1.200 a 1.300%, respectivamente do inserte branco e do inserte com o fármaco.

Os resultados do intumescimento dos insertes de duas camadas tanto placebo como inserte com o fármaco são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's) após transformação ( $Y = \text{Log}(Y)$ ). Houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes placebo ( $p = 0,0181$ ) e não houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes com o fármaco ( $p = 0,0849$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

Na **Tabela 5** é possível observarmos a porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas sem o fármaco e do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguanidina nas três amostras testadas em função do tempo.

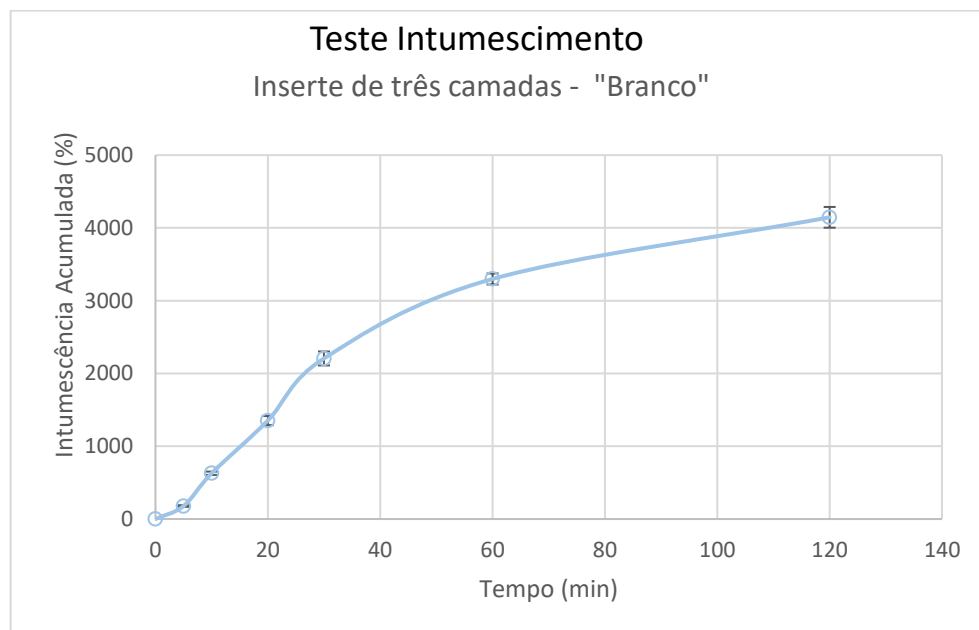
**Tabela 5 – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas branco e do inserte com o fármaco sulfaguanidina.**

Porcentagem de intumescimento dos insertes de três camadas branco e com o fármaco sulfaguanidina							
Insertes	Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Desvio padrão	% acumulada
Inserte de três camadas branco	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	188,19	167,02	181,10	178,77	10,78	178,77
	10	476,38	434,04	439,86	450,09	22,95	628,86
	20	790,04	717,19	665,64	724,29	62,50	1353,15
	30	945,39	860,00	754,30	853,23	95,72	2206,38
	60	1158,67	1108,42	1009,62	1092,24	75,83	3298,62
	120	1003,32	811,93	724,74	846,66	142,50	4145,28
Inserte de três camadas com sulfaguanidina	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	387,05	333,48	347,76	356,10	27,74	356,10
	10	816,52	737,00	737,14	763,55	45,87	1119,65
	20	1197,77	1106,61	1055,51	1119,96	72,06	2239,61
	30	1316,52	1299,12	1238,78	1284,81	40,80	3524,42
	60	1288,84	1232,60	944,49	1155,31	184,73	4679,73
	120	1216,96	1321,15	1002,04	1180,05	162,73	5859,78

Observa-se na **Tabela 5**, uma hidratação com valores absolutos próximos e entre 167,02% a 1.158,67% de hidratação para o inserte de três camadas branco e de 333,48% a 1.321,15% para o inserte com o fármaco sulfaguanidina em cada tempo testado. A porcentagem acumulada de intumescimento visualizada na última coluna da tabela demonstra uma absorção crescente e gradual do solvente em função do tempo chegando em valor de 4.145,28% de hidratação para o inserte placebo e de 5.859,78% para o inserte com o fármaco sulfaguanidina ao término do teste (120 minutos).

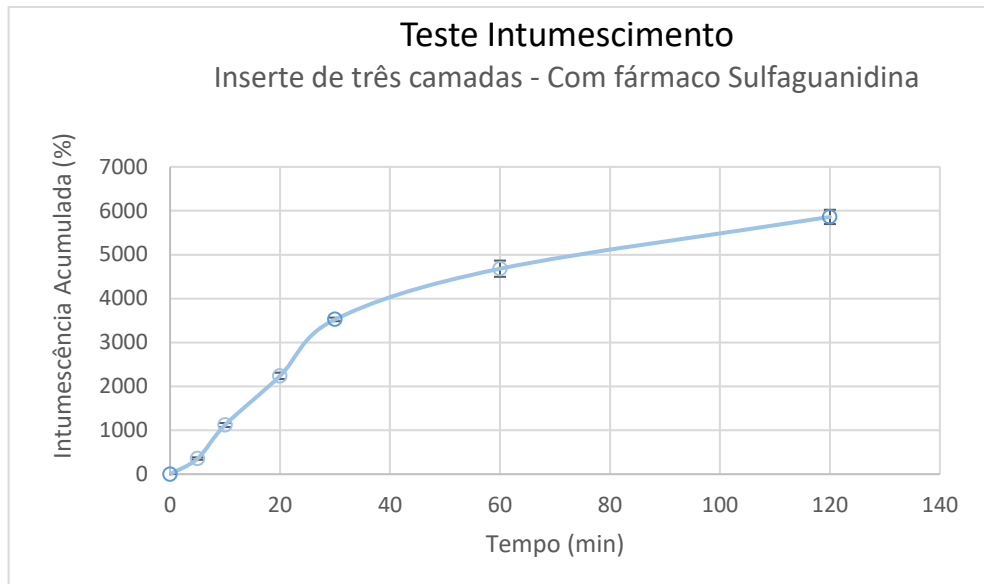
É possível visualizar no **Gráfico 5** as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte de três camadas branco.

**Gráfico 5 – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas branco.**



É possível visualizar no **Gráfico 6** as barras dos valores de desvio da média como os valores inferiores e superiores de absorção de solvente para as três amostras obtidas no teste do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguanidina.

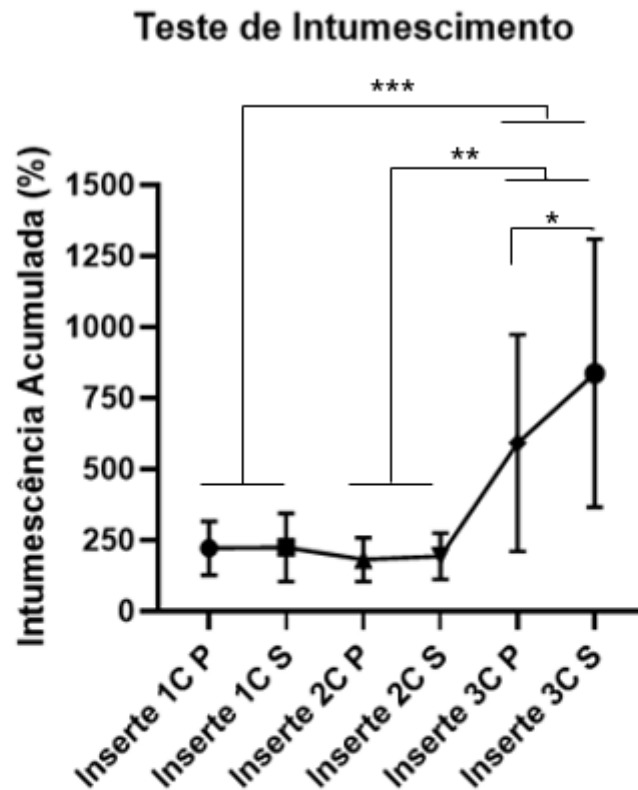
**Gráfico 6 – Porcentagem de intumescimento do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguandina.**



Conforme demonstrado nos testes realizados com os insertes de uma e duas camadas, no teste de intumescimento dos insertes de três camadas, os mesmos sofreram rápida absorção de água. Conforme **Tabela 5** e **Gráficos 5** e **6**, com 5 minutos os insertes atingiram a porcentagem média de intumescimento de 178 a 356% de intumescimento sendo do inserte branco e do inserte com o fármaco, respectivamente. Após este tempo o inserte manteve o intumescimento constante por 2 horas e um grande percentil de hidratação com cerca de 4.145 a 5.859%, porcentagem esta superior quando comparado aos insertes de uma e duas camadas.

Os resultados do intumescimento dos insertes de três camadas tanto placebo como inserte com o fármaco são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's). Não houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes placebo ( $p= 0,8698$ ) e dos insertes com o fármaco ( $p= 0,8782$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

**Gráfico 7 – Comparação estatística entre as médias dos insertes de uma, duas e três camadas (placebo e com o fármaco sulfaguandina).**



(\* , \*\* e \*\*\*) Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) após teste ANOVA *one-way* e teste de Tukey.

Inserte 1C P: Inserte de uma camada placebo

Inserte 1C S: Inserte de uma camada com sulfaguandina

Inserte 2C P: Inserte de duas camadas placebo

Inserte 2C S: Inserte de duas camadas com sulfaguandina

Inserte 3C P: Inserte de três camadas placebo

Inserte 3C S: Inserte de três camadas com sulfaguandina

Quando se compara os três insertes desenvolvidos, observa-se que há uma diferença estatística em relação ao intumescimento dos insertes de três camadas em relação ao de uma e de duas camadas. Em que  $p < 0,0001$  após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós teste de Tukey. Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados. Não houve diferença significativa entre o inserte placebo de uma camada em relação ao inserte de uma camada com a sulfaguandina ( $p > 0,9999$ ). Também não houve diferença significativa entre os insertes de duas camadas placebo em relação ao inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguandina ( $p > 0,9999$ ). Mas houve diferença significativa entre os



insertes de três camadas placebo em relação ao inserte de três camadas com o fármaco sulfaguandina ( $p= 0,0319$ ), conforme o **Gráfico 7**.

A alta porcentagem de hidratação dos insertes neste trabalho correspondem aos descritos na literatura. Conforme estudos realizados por três horas, no qual, houve uma taxa de intumescimento da membrana de quitosana incorporada com óleo de cravo de 970,87% em água destilada e 1.149,15% em PBS (SANTOS, 2018). Um segundo estudo demonstrou uma rápida absorção de água inicial com subsequente aumento gradual de intumescimento, apresentando uma variação de absorção de água entre 185% e 300% (ZALDIVAR *et al.*, 2017). E um terceiro estudo que a quitosana pura em água apresentou uma taxa de intumescimento ( $79,63 \pm 19,28$ ) % na primeira hora, ( $77,26 \pm 2,73$ ) % na segunda hora e ( $65,08 \pm 12,46$ ) % na terceira hora (GUIMARÃES, 2018).

Um filme de quitosana contendo tartarato de brimonidina em PBS apresentou 1.987% de hidratação com 6 minutos e aos 15 minutos excedeu os 2.000% de hidratação (LI *et al.*, 2020).

Fármacos que apresentam grupos funcionais que permitem interações intermoleculares com a estrutura do polímero podem ocasionar um maior fechamento da rede polimérica levando a um menor influxo de água para o interior do sistema polimérico (FRANCA *et al.*, 2014). O raciocínio análogo pode ser feito onde a presença do fármaco que não interage com a matriz pode conduzir a um sistema de liberação que não haverá modificação no intumescimento ou que pode aumentar o influxo de água se a substância também for capaz de adsorver as moléculas de água. O fármaco utilizado neste trabalho, apesar de apresentar grupos funcionais que podem promover interações intermoleculares com a água (grupos sulfonamida, amino e guanidino), o mesmo apresenta baixa solubilidade neste solvente, o que indica que estes grupos não são preponderantes para interações com a água.

Os insertes com o fármaco sulfaguandina apresentaram maior porcentagem de hidratação em relação aos insertes placebo, o que foi observado principalmente no inserte de três camadas, pois o fármaco, intercala as cadeias do polímero gerando espaços intermoleculares ocasionando um maior influxo de água para estes locais, causando uma desorganização da matriz polimérica, e, conseqüentemente, uma maior taxa de intumescimento (FOUREAUX *et al.*, 2015).

Quando se relaciona o percentual de quitosana na formulação e a taxa de intumescimento do inserte quanto maior o percentil de quitosana maior é o intumescimento do mesmo (VERESTIUC *et al.*, 2006). No qual, a porcentagem de intumescimento varia de acordo com a proporção de camadas do polímero. Esse percentil de hidratação alto dos insertes pode ser devido ao quitosana ser o único polímero utilizado na formulação. E a variação de absorção de água dos insertes branco em relação ao inserte com o fármaco também está relacionado a presença do fármaco como dito anteriormente (GUIMARÃES, 2018; SANTOS, 2018; LI *et al.*, 2020).

A quitosana apresenta em sua estrutura grupos amino (N-H), no qual a eletronegatividade desses grupos gera sítios de alta polaridade favorecendo a interação com as moléculas de água. Os grupos acetamido (polares), presentes na molécula também proporcionam afinidade e retenção de água pelo polímero (GUIMARÃES, 2018; SANTOS, 2018; LI *et al.*, 2020). Devido a essas características da estrutura da quitosana há um constante intumescimento da matriz polimérica (CESAR *et al.*, 2020).

#### **4.2.2 Determinação do pH de superfície do polímero**

O teste de pH de superfície foi realizado para avaliar se o pH dos insertes é compatível com o pH do olho humano. Os valores encontrados para o pH de superfície dos insertes (monocamada, dupla camada e tripla camada) foi de 5,0 tanto para o inserte sem o fármaco quanto com o fármaco. De acordo com a literatura o pH compatível com a cavidade ocular varia de 4 a 10, estes valores de pH não ocasionam irritação ocular (CESAR *et al.*, 2020; KALYANWAT R. *et al.*, 2016). Portanto, os insertes apresentaram pH adequado para uso ocular.

#### **4.2.3 Determinação da curva analítica para doseamento do fármaco**

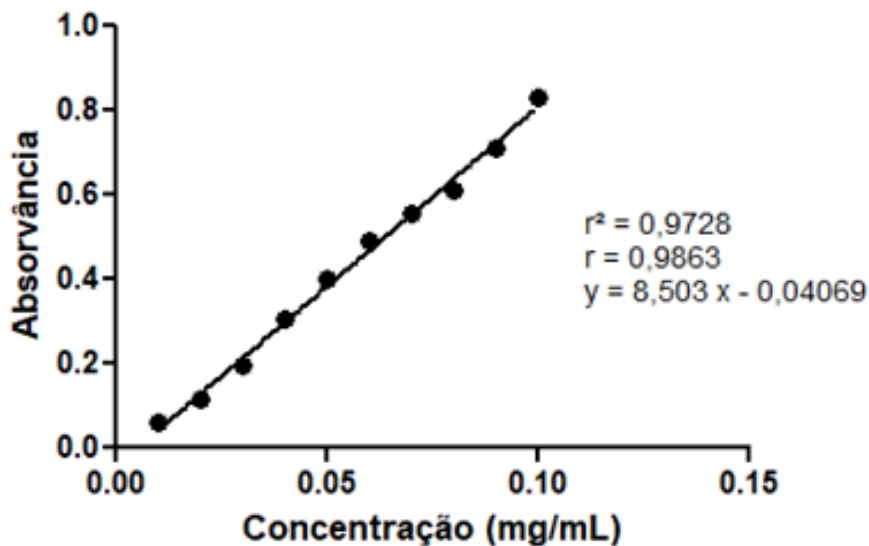
Para o doseamento da sulfaguanidina foi utilizado a espectrofotometria na região do ultravioleta. Esta técnica tem por objetivo determinar a quantidade de energia absorvida pela substância e por intermédio dela, verificar se os valores encontrados na medida que se aumenta a concentração da substância apresenta uma progressão

linear. Além disso, é uma técnica de baixo custo e versátil em relação à sua aplicação, bastando para isso que a substância a ser doseada tenha grupos cromofóricos (PAVIA *et al.*, 2015), o que é o caso da sulfaguanidina.

Foi utilizado o comprimento de onda de 293 nm. Este valor foi escolhido após a realização da varredura espectral da sulfaguanidina na região do ultravioleta. Foi escolhido o ombro da banda em que a absorvidade molar estava mais intensa a fim de evitar eventuais flutuações nas medidas caso fosse feita no ápice da banda.

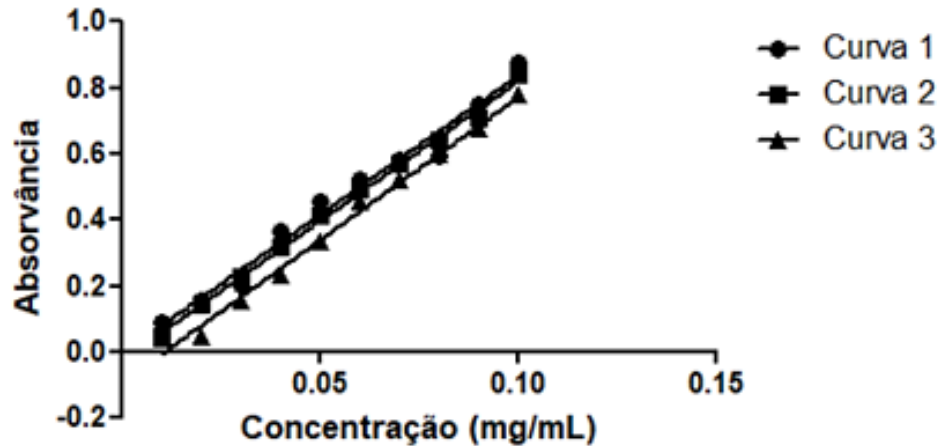
A curva de calibração foi realizada utilizando variedade de concentração da amostra sendo a concentração mínima de 10 µg e máxima de 100 µg, o coeficiente de linearidade foi determinado após tratamento matemático por intermédio da regressão linear e o coeficiente da regressão médio ( $R^2$ ) foi de 0,9728. É possível inferir que há uma relação linear entre a absorbância e a concentração do analito na amostra, ou seja, segue a lei de Lambert-Beer, no qual, a absorbância é dependente da concentração da solução, conforme **Gráfico 8**.

**Gráfico 8 – Curva analítica.**



Quando se compara as três curvas analíticas utilizadas para calibração observa-se que há uma diferença estatística entre elas, apresentando  $p < 0,0001$ , conforme **Gráfico 9**.

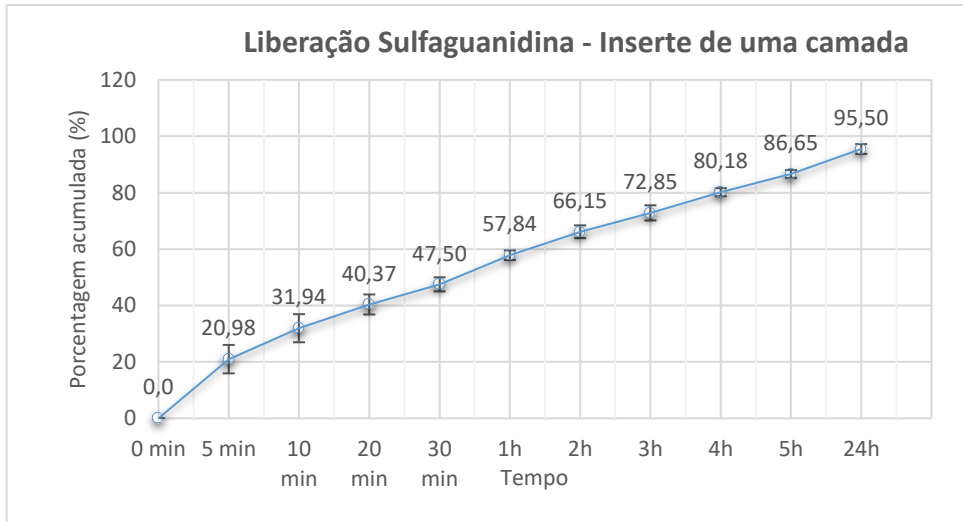
**Gráfico 9 – Comparação entre as curvas analíticas.**



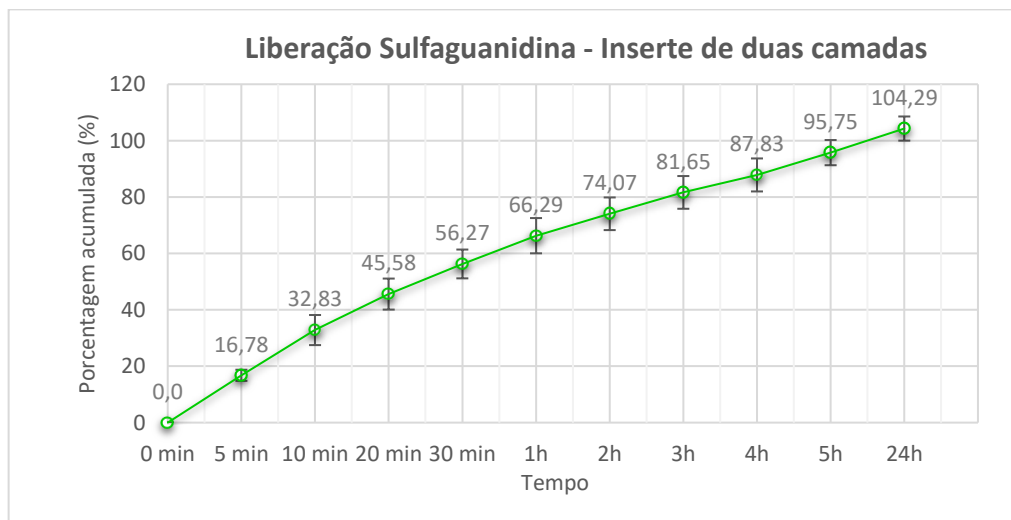
O limite de detecção foi determinado de acordo com a equação  $LD = 3,3 \cdot \sigma / IC$ , sendo IC a inclinação da curva de calibração e  $\sigma$  o desvio padrão. Logo, o limite de detecção do método foi de 0,006 mg/mL. Sendo o limite de detecção a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, portanto, infere-se que a quantidade mínima utilizada neste trabalho, 0,01mg/mL (10  $\mu$ g) pode ser detectada.

O limite de quantificação foi determinado de acordo com a equação  $LQ = 10 \cdot \sigma / IC$ , sendo IC a inclinação da curva de calibração e  $\sigma$  o desvio padrão. Logo, o limite de quantificação do método foi de 0,019mg/mL. Sendo o limite de quantificação a menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão em uma amostras, portanto, infere-se que a quantidade mínima utilizada neste trabalho, 0,01mg/mL (10  $\mu$ g) pode ser quantificada.

Os insertes desenvolvidos no trabalho são um sistema matricial monolítico, visto que, a sulfaguanidina está dispersa na matriz polimérica de quitosana e é liberada por difusão através da matriz. A liberação do fármaco depende da erosão da matriz, da difusão do fármaco e/ou de ambos os fatores (BIZERRA; SILVA, 2016; FARACO; JÚNIOR, 2010). A liberação de sulfaguanidina, a partir dos insertes de uma duas e três camadas carreando o fármaco, foi monitorado *in vitro*.

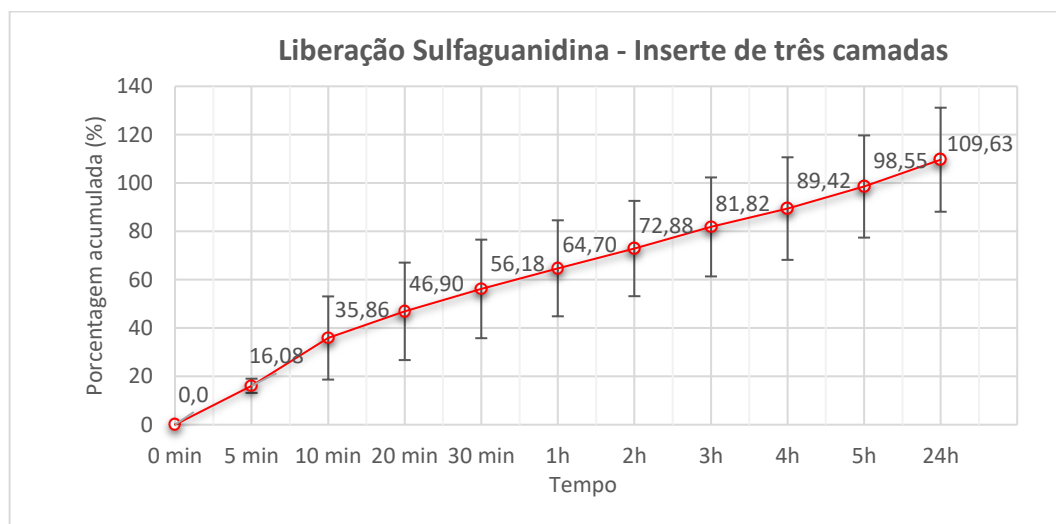
**Gráfico 10 – Liberação do fármaco no inserte de uma camada.**

No **Gráfico 10**, está representada a liberação do fármaco sulfaguandina no inserte de uma camada. É possível observar as barras dos valores de desvio da média como sendo os valores inferiores e superiores de liberação do fármaco para as três amostras obtidas no teste. O inserte de uma camada revelou uma liberação de 86,65% do fármaco nas primeiras 5 horas, em que, 57,84% desta liberação ocorreu na primeira hora, totalizando 24 horas com liberação de 95,50%. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's). Não houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes ( $p= 0,9830$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

**Gráfico 11 – Liberação do fármaco no inserte de duas camadas.**

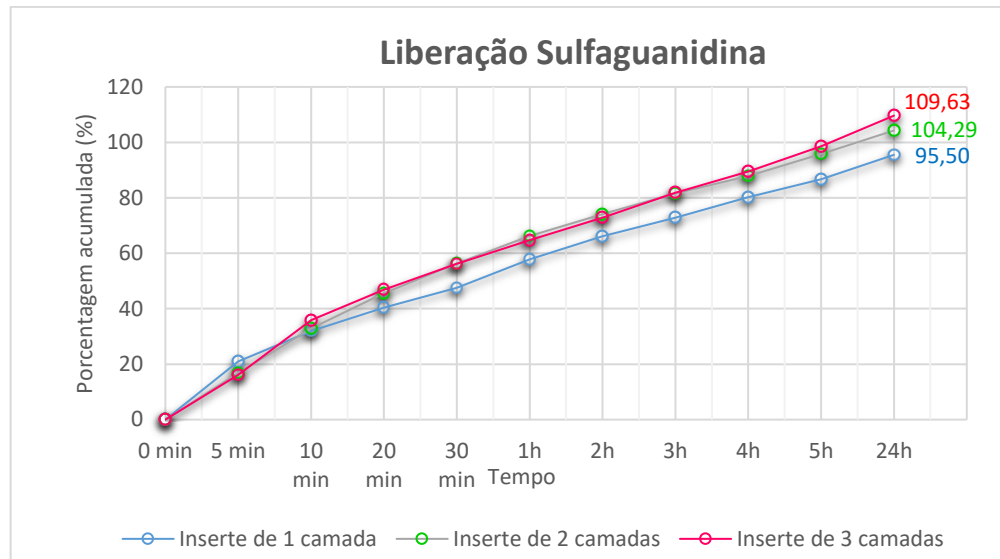
No **Gráfico 11**, está representada a liberação do fármaco sulfaguanidina no inserte de duas camadas. É possível observar as barras dos valores de desvio da média como sendo os valores inferiores e superiores de liberação do fármaco para as três amostras obtidas no teste. O inserte de duas camadas revelou uma liberação de 95,75% do fármaco nas primeiras 5 horas, em que, 66,29% desta liberação ocorreu na primeira hora, totalizando 24 horas com liberação de 104,29%. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's). Não houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes ( $p= 0,8281$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

**Gráfico 12 - Liberação do fármaco no inserte de três camadas.**

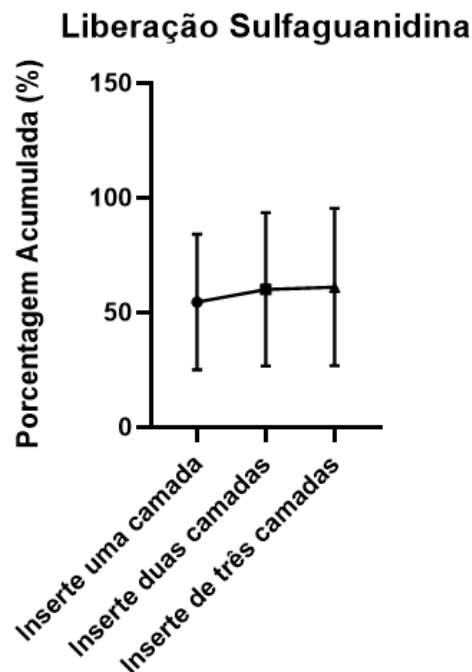


No **Gráfico 12**, está representada a liberação do fármaco sulfaguanidina no inserte de três camadas. É possível observar as barras dos valores de desvio da média como sendo os valores inferiores e superiores de liberação do fármaco para as três amostras obtidas no teste. O inserte de três camadas revelou uma liberação de 98,55% do fármaco nas primeiras 5 horas, em que, 64,70% desta liberação ocorreu na primeira hora, totalizando 24 horas com liberação de 109,63%. Os dados apresentaram normalidade (Shapiro-Wilk) e homoscedasticidade (Bartlett's). Não houve diferença estatística entre as triplicatas dos insertes ( $p= 0,0894$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste de Tukey. Não foram identificados outliers (ROUT). Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

**Gráfico 13 – Comparação entre a liberação de sulfaguanidina dos insertes de uma, duas e três camadas.**



**Gráfico 14 – Comparação do doseamento da Sulfaguanidina entre os insertes de uma, duas e três camadas.**



Nos **Gráficos 13** e **14** está representada a comparação da liberação do fármaco sulfaguanidina no inserte de uma, duas e três camadas. Os filmes de quitosana produziram uma liberação sustentada do fármaco sulfaguanidina em todas as formulações. Não houve diferença estatística entre os três tipos de insertes desenvolvidos ( $p = 0,8782$ ) após avaliação por ANOVA *one-way*, seguida de pós-teste

de Tukey. Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos realizados.

Todos os insertes apresentaram rápida liberação inicial do fármaco e depois uma taxa de liberação sustentada por até 24 horas. A rápida liberação inicial do fármaco em dispositivos pode ser devido ao fármaco estar presente na superfície do inserte (EL-FEKY *et al.*, 2021), o que não ocorreu neste trabalho, pois de acordo com as micrografias dos insertes de uma, duas e três camadas não foi visualizado fármaco na forma cristalina na superfície do dispositivo, evidenciando que o fármaco está disperso na matriz polimérica.

A rápida liberação inicial do fármaco pode ser explicada com base no influxo de solvente. No qual, ocorre o intumescimento de forma rápida do inserte de quitosana permitindo a difusão do fármaco entre as cadeias do polímero promovendo uma rápida liberação do fármaco (FRANCA *et al.*, 2019). Como observado nos testes de intumescimento, a rápida absorção de água aumenta a possibilidade de dissolução do ativo e, conseqüentemente, seu carreamento para fora do sistema polimérico. O fármaco é hidrofóbico, não interage com a matriz polimérica e, portanto, não encontra resistência para sua saída ocasionando esta maior liberação inicial.

Também deve-se levar em consideração que o teste foi realizado em excesso de lágrima artificial simulada (ALAMBIAGA-CARAVACA *et al.*, 2021). Enquanto o olho humano apresenta uma quantidade pequena de lágrima, no qual, a hidratação do inserte pode ser diminuída, logo, a droga pode ser liberada de forma mais lenta quando comparada com o teste de hidratação realizado neste trabalho (FRANCA *et al.*, 2019).

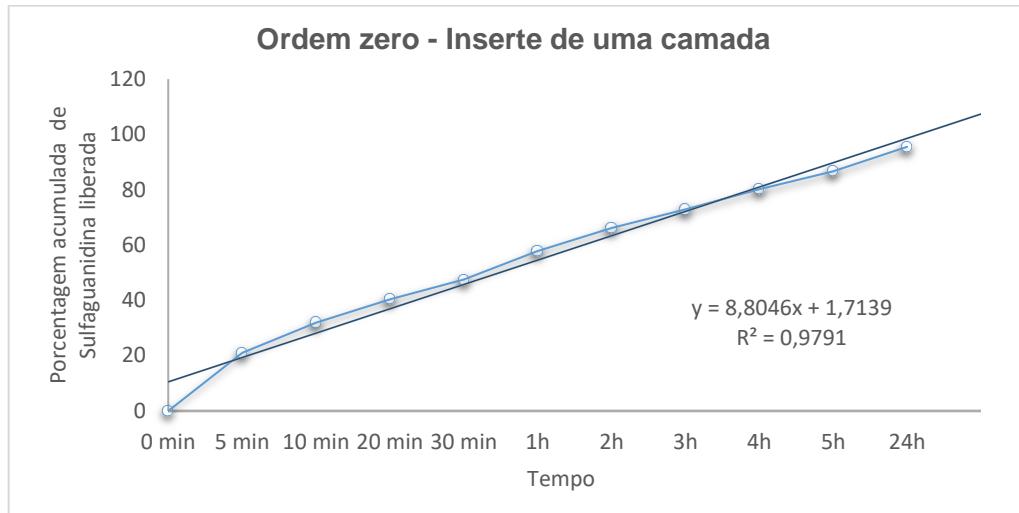
#### **4.2.4 Análise cinética de liberação da sulfaguanidina nos insertes**

Para compreender melhor o mecanismo de liberação da sulfaguanidina a partir do inserte polimérico, foram realizados cálculos de cinética de liberação utilizando diferentes modelos matemáticos, sendo: ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixon-Crowell e Korsmeyer-Peppas. Os valores do coeficiente de determinação ( $r^2$ ) foram utilizados para verificar o modelo que melhor descreve os dados de liberação do presente trabalho.

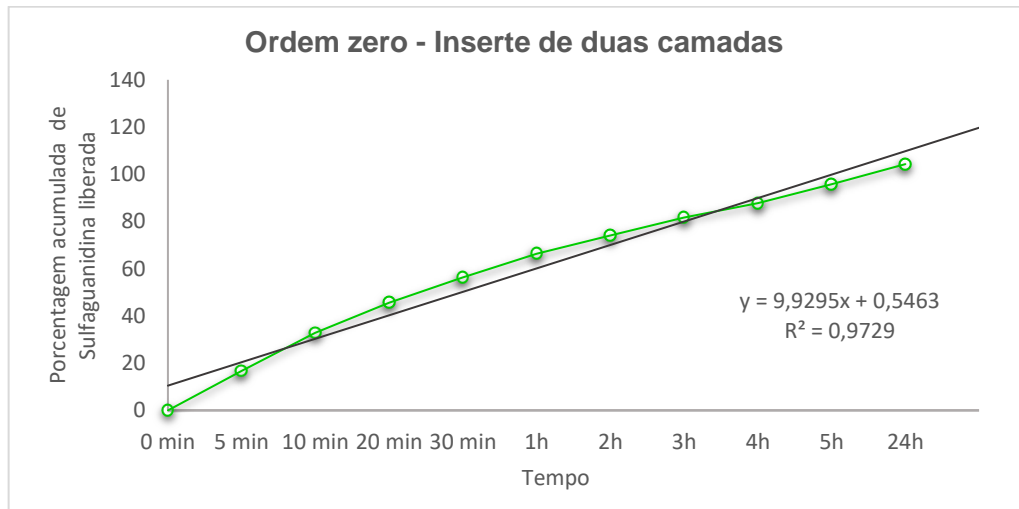


Para estudar o modelo de ordem zero foram construídos gráficos da porcentagem acumulada de sulfaguanidina em função do tempo de liberação do fármaco nos insertes de uma, duas e três camadas que apresentaram coeficiente de determinação de 0,9791, 0,9729 e 0,9785, respectivamente, conforme **Gráficos 15, 16 e 17**.

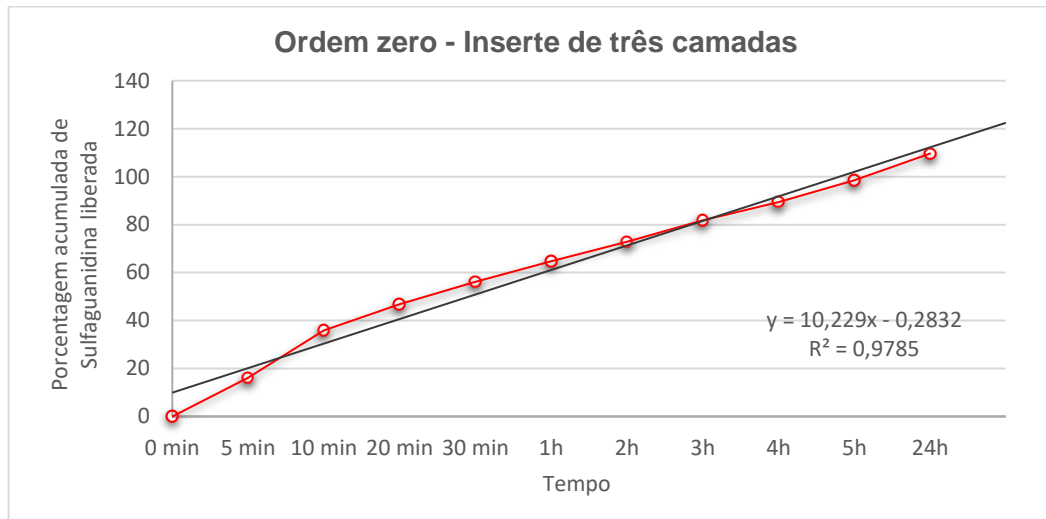
**Gráfico 15 – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de uma camada.**



**Gráfico 16 – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de duas camadas.**

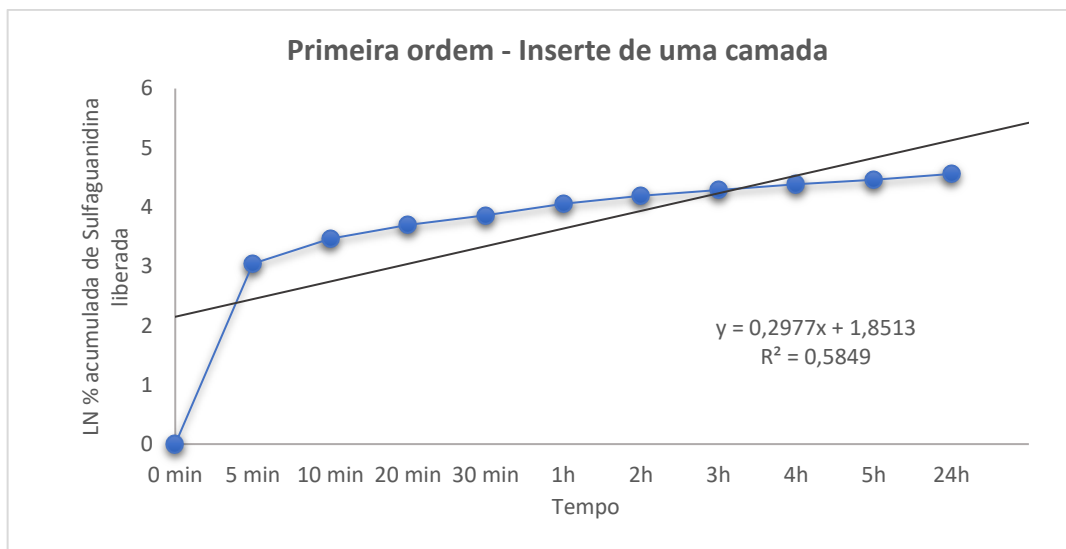


**Gráfico 17 – Modelo de ordem zero aplicado ao inserte de três camadas.**

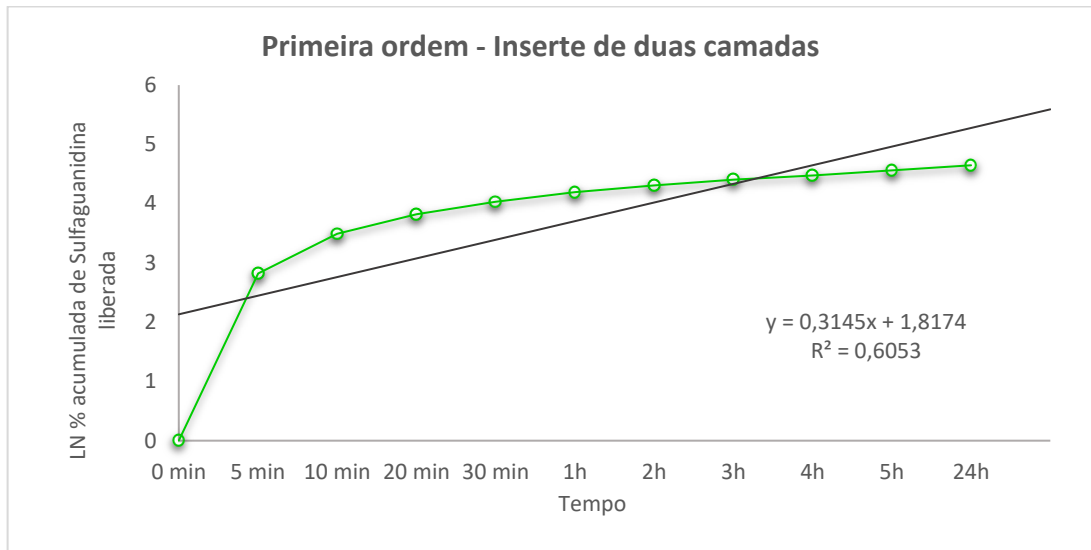


Para o modelo de primeira ordem foi construído o gráfico de logaritmo natural (LN) da porcentagem acumulada de sulfaguandina em função do tempo de liberação do fármaco nos insertes. Pode-se observar que os insertes de uma, duas e três camadas apresentaram coeficiente de determinação de 0,5849, 0,6053 e 0,6079, respectivamente, **Gráficos 18, 19 e 20**.

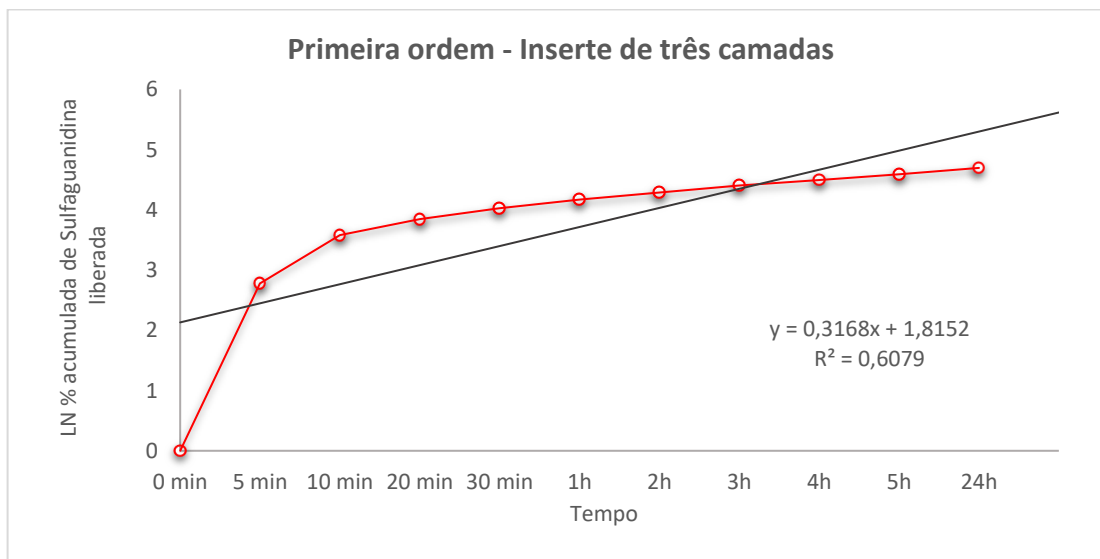
**Gráfico 18 – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de uma camada.**



**Gráfico 19 – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de duas camadas.**

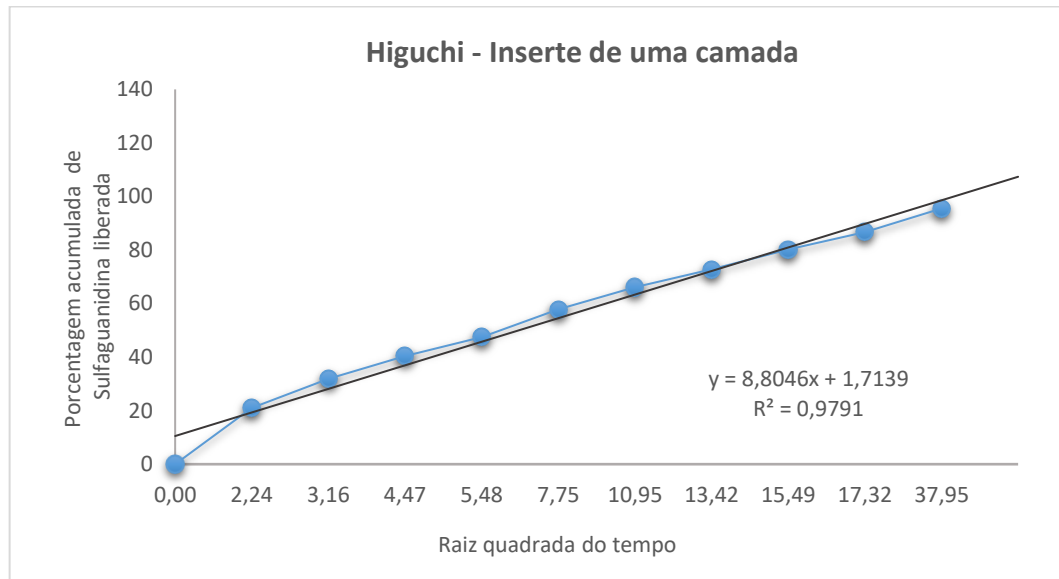


**Gráfico 20 – Modelo de primeira ordem aplicado ao inserte de três camadas.**

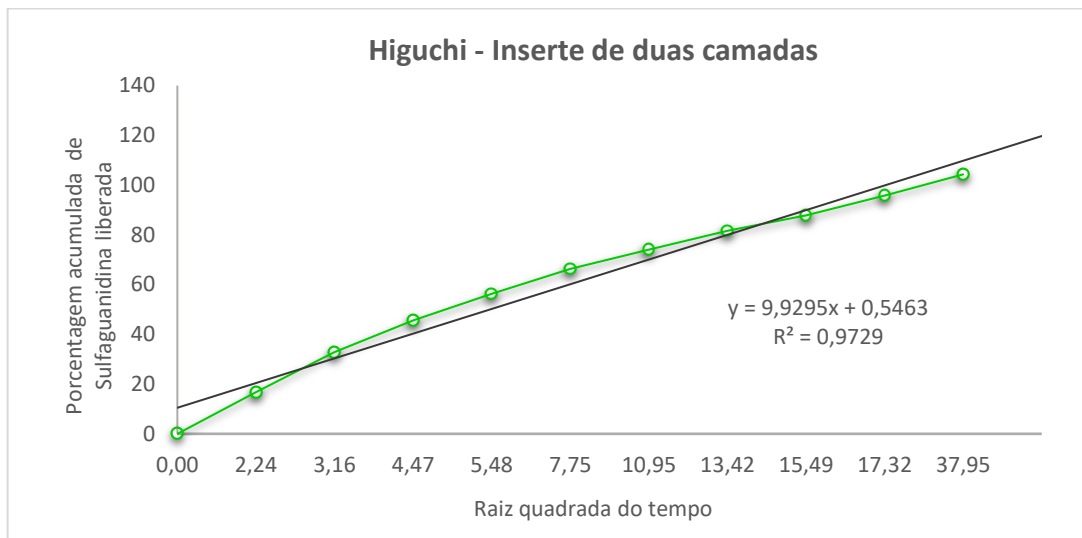


Para o modelo de Higuchi foram construídos gráficos da porcentagem acumulada de sulfaguandina liberada em função da raiz quadrada do tempo de liberação do fármaco. Pode-se observar que os insertes de uma, duas e três camadas apresentaram coeficiente de determinação de 0,9791, 0,9729 e 0,9785, respectivamente, **Gráficos 21, 22 e 23.**

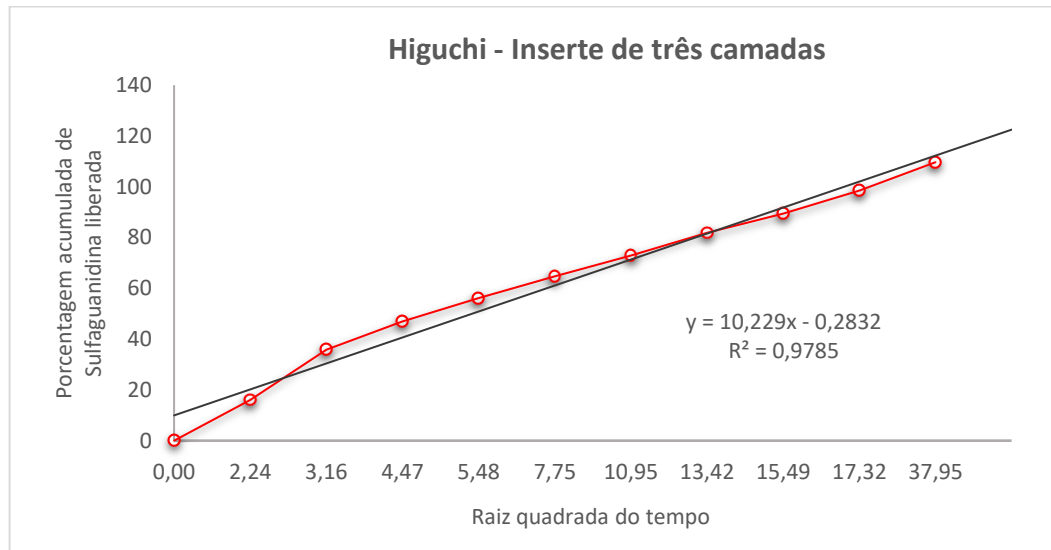
**Gráfico 21 – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de uma camada.**



**Gráfico 22 – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de duas camadas.**

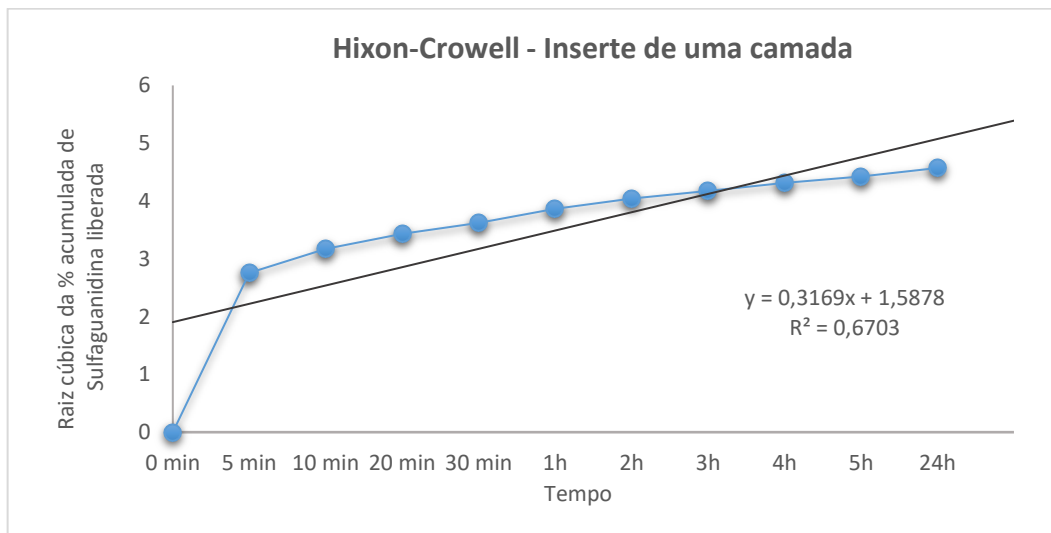


**Gráfico 23 – Modelo de Higuchi aplicado ao inserte de três camadas.**

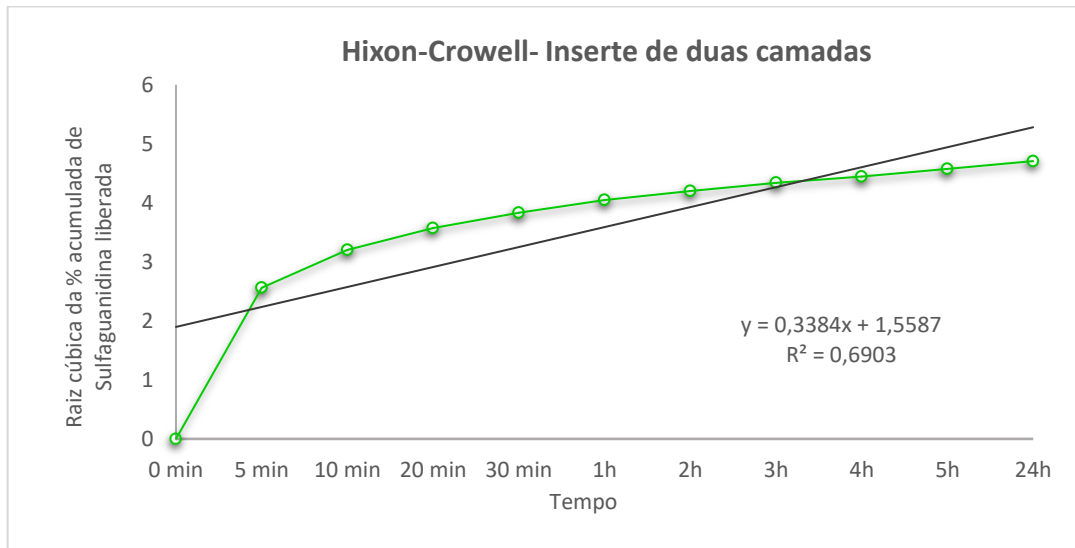


Para o modelo de Hixon-Crowell foram criados gráficos da raiz cúbica da porcentagem acumulada de sulfaguandina liberada em função do tempo. Pode-se observar que os insertes de uma, duas e três camadas apresentaram coeficiente de determinação de 0,6703, 0,6903 e 0,6958, respectivamente, **Gráficos 24, 25 e 26**.

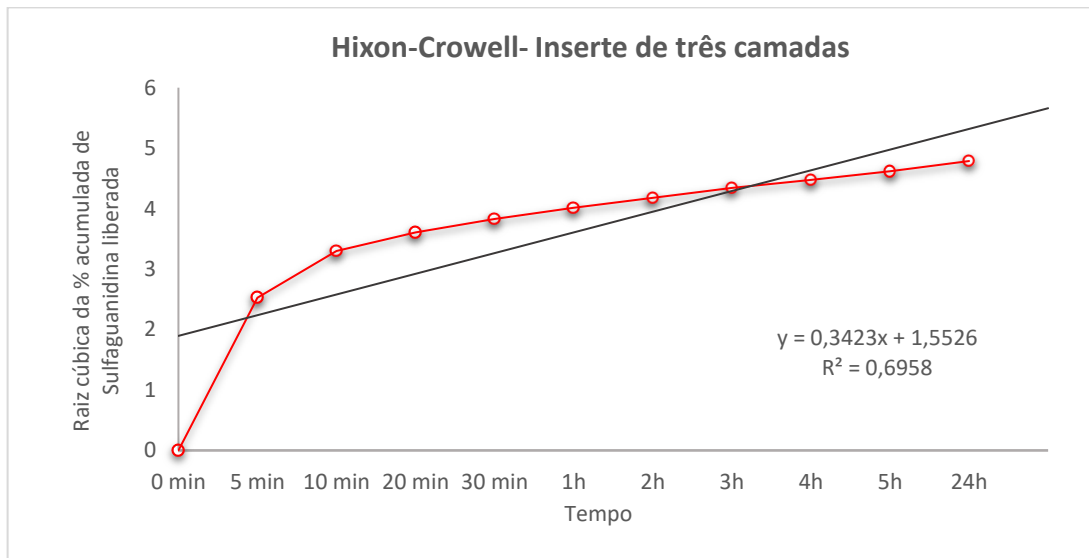
**Gráfico 24 – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de uma camada.**



**Gráfico 25 – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de duas camadas.**

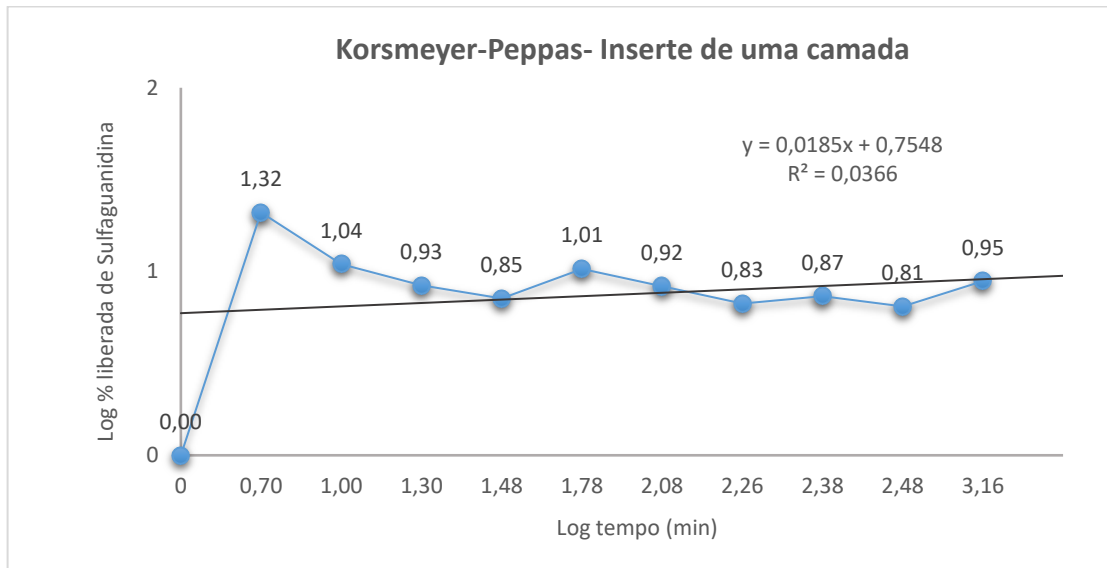


**Gráfico 26 – Modelo de Hixon-Crowell aplicado ao inserte de três camadas.**

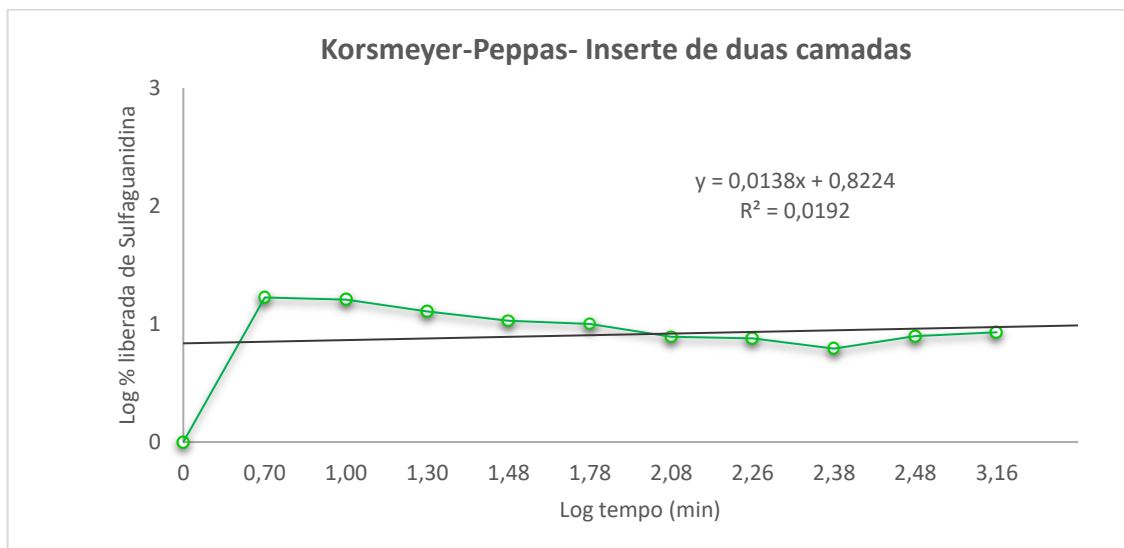


Também foi realizada a avaliação do modelo de Korsmeyer-Peppas, sendo criados gráficos do Log da porcentagem liberada de sulfaguandina em função do Log do tempo de liberação. Pode-se observar que os insertes de uma, duas e três camadas apresentaram coeficiente de determinação de 0,0366, 0,0192 e 0,0624, respectivamente, **Gráficos 27, 28 e 29.**

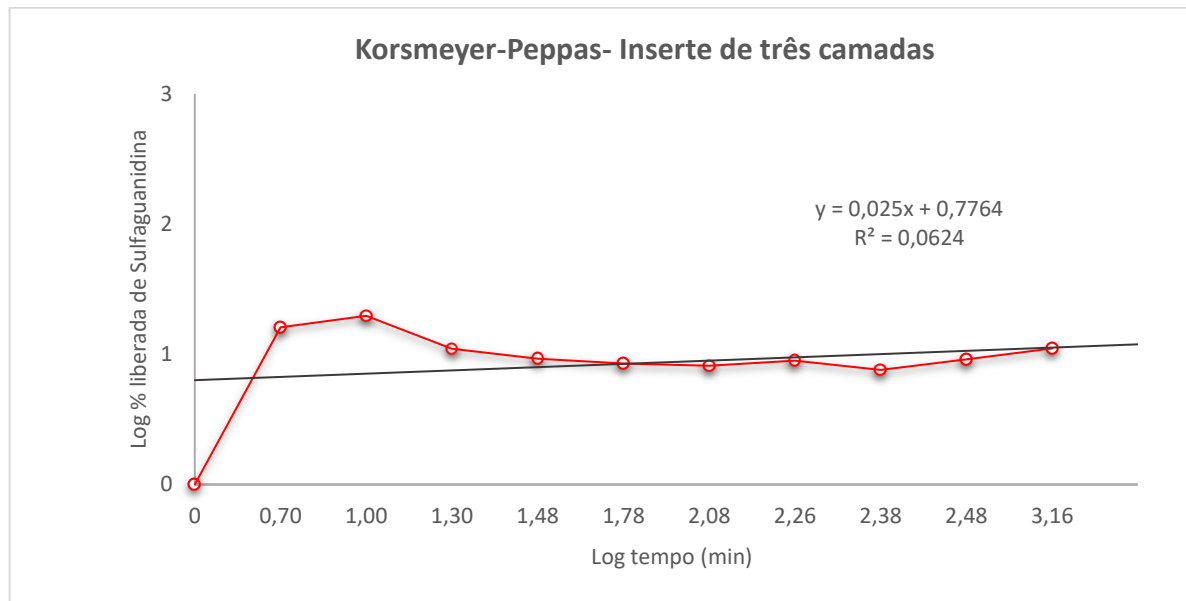
**Gráfico 27 – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de uma camada.**



**Gráfico 28 – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de duas camadas.**



**Gráfico 29 – Modelo de Korsmeyer-Peppas aplicado ao inserte de três camadas.**



Como pode ser observado na **Tabela 6**, o maior coeficiente de determinação foi obtido para os modelos de ordem zero e de Higuchi tanto para os insertes de uma camada como para o de duas e três camadas. Os modelos de Higuchi e de ordem zero não se aplicam simultaneamente, ou seja, quando se aplica um o outro já não tem aplicação (LOPES; LOBO, CASTRO, 2005).

**Tabela 6 – Coeficiente de determinação dos modelos cinéticos.**

Insertes	Coeficiente de determinação ( $r^2$ ) / Modelos				
	Ordem zero	Primeira ordem	Higuchi	Hixon-Crowell	Korsmeyer-Peppas
<b>Uma camada</b>	0,9791	0,5849	0,9791	0,6703	0,0366
<b>Duas camadas</b>	0,9729	0,6053	0,9729	0,6903	0,0192
<b>Três camadas</b>	0,9785	0,6079	0,9785	0,6958	0,0624

O modelo de Higuchi está relacionado a uma liberação do fármaco seguindo a lei de Fick, sendo dependente da raiz quadrada do tempo. Este modelo está relacionado a sistemas de liberação prolongada de fármacos (GIL, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2006), em que a liberação do fármaco ocorre por difusão, entre os poros da matriz de forma lenta (MOREIRA, 2010). Este modelo apresenta limitações quando o sistema intumescer, pois o intumescimento do dispositivo pode interferir na difusão do fármaco (ANTUNES, 2020, COSTA, 2020; LOPES; LOBO; COSTA, 2005). Nesses sistemas



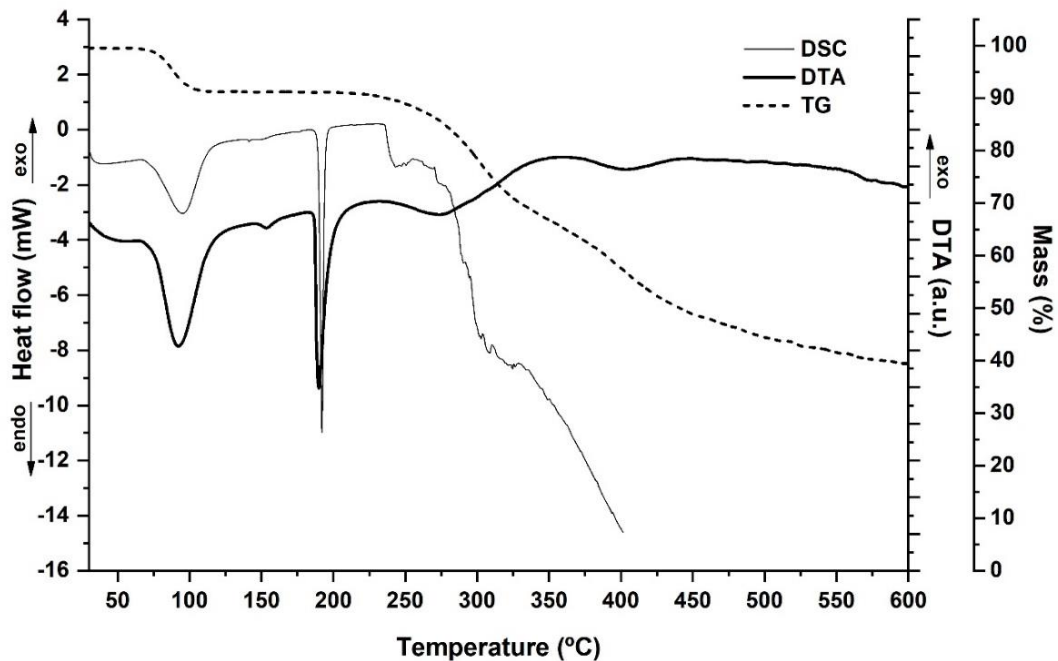
pode ocorrer erosão e o relaxamento das cadeias poliméricas para o transporte do fármaco, sendo assim, ele é melhor aplicado em matrizes unidimensionais pouco solúveis que não apresentam capacidade de intumescimento (LOPES; LOBO, CASTRO, 2005), não é o caso dos insertes desenvolvidos neste trabalho.

Enquanto o modelo de cinética de ordem zero é baseada na liberação do fármaco de forma lenta, no caso dos insertes deste trabalho houve uma liberação mais pronunciada do fármaco inicialmente seguida de uma liberação gradual e contínua do fármaco, o que é característico deste modelo (CASTRO, 2018). Geralmente as preparações destinadas a liberação prolongada de fármacos apresentam um perfil de liberação de ordem zero, observando-se que há formação de uma solução saturada ocorrendo a liberação constante do fármaco. É importante destacar que este modelo ideal é difícil de se obter na prática devido aos fatores de ajuste do modelo (LOPES; LOBO, CASTRO, 2005).

#### **4.2.5 Análises térmicas**

A análise térmica permite verificar e analisar os eventos térmicos e as possíveis interações entre o polímero e o fármaco (CESAR *et al.*, 2020). São avaliadas características como: fusão, oxidação, reações de redução, ebulição, sublimação, decomposição, transição vítrea, desidratação, cristalização da substância, entre outras (STORPIRTIS *et al.*, 2009). Então, a técnica foi utilizada para analisar as propriedades térmicas do polímero e da sulfaguanidina.

**Figura 19 – Comportamento térmico da sulfaguanidina.**



A **Figura 19**, mostra o comportamento térmico da sulfaguanidina, na curva de DSC é possível visualizar que há um pico endotérmico próximo a 100 °C que pode ser atribuído a evaporação de água residual e em seguida um outro pico endotérmico que ocorre por volta de 188 °C a 193 °C, correspondente ao ponto de fusão da sulfaguanidina (ABIDI *et al.*, 2017; WIKSTROM; KAKIDAS; TAYLOR, 2009) e em aproximadamente 240 °C ocorre a sua decomposição.

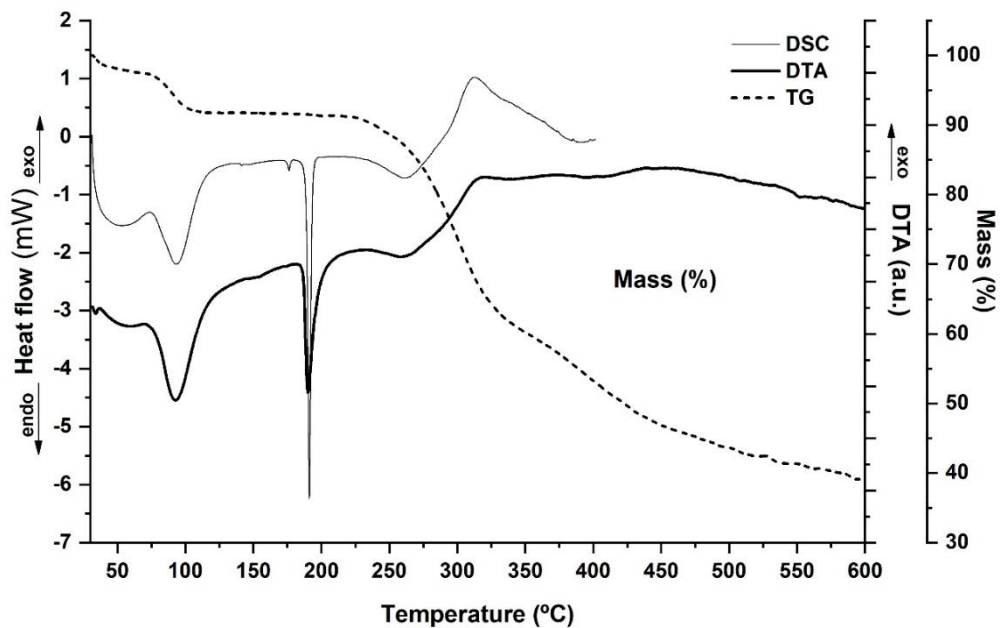
As curvas termogravimétricas TG e DTA da sulfaguanidina, os eventos térmicos encontrados foram semelhantes aos observados na curva de DSC. A perda de massa próxima a 100 °C e 240 °C pode ser atribuída a perda de água residual e a decomposição térmica do fármaco, respectivamente.

A decomposição do ativo em temperatura acima de 240 °C demonstra um ponto positivo para o processo de esterilização do inserte, visto que, a formulação é de aplicação ocular e deve obrigatoriamente ser estéril (FRANCA *et al.*, 2020). De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019), podem ser utilizados diversos métodos para esterilização. O método por calor é o mais simples, econômico e seguro e este método geralmente utiliza temperaturas acima de 100 °C para esterilização.

O processo de esterilização a ser utilizado no dispositivo deve ser avaliado, visto que, conforme descrito na literatura o impacto de diferentes formas de esterilização sobre

a matriz polimérica ainda não está claro. Quando é realizada a esterilização a vapor em insertes de quitosana ocorre uma alteração no arranjo das cadeias do polímero, mas sem alterar significativamente a matriz polimérica, grau de acetilação e peso molecular (FRANCA *et al.*, 2020).

**Figura 20 – Comportamento térmico da mistura física entre quitosana e sulfaguanidina.**



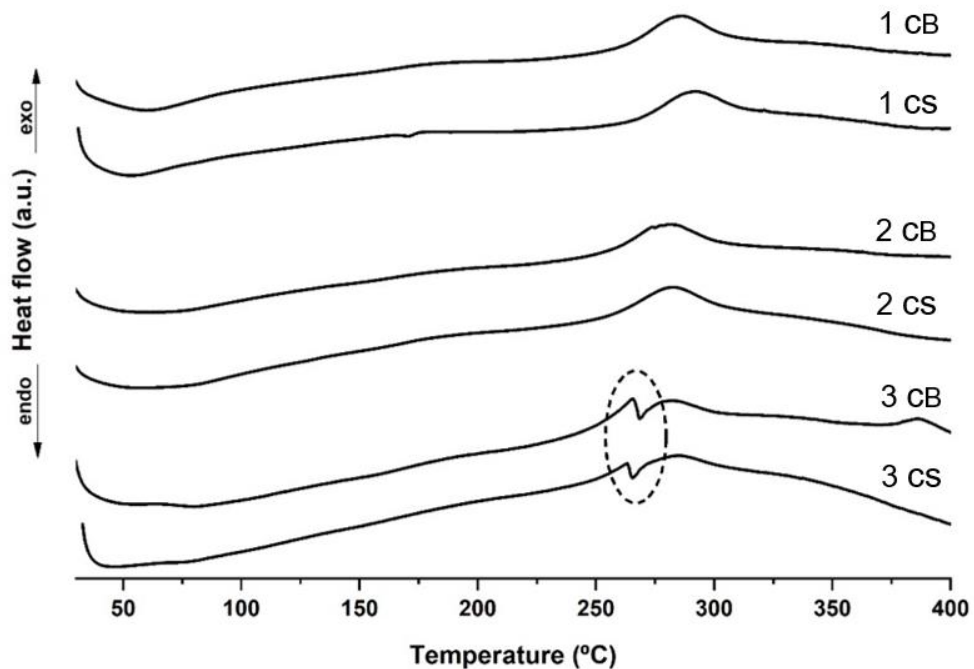
Quando se compara a **Figura 19**, comportamento térmico da sulfaguanidina, com a **Figura 20**, que representa a mistura física do polímero (quitosana) com a sulfaguanidina, pode-se observar na curva de DSC que não ocorreu alteração na temperatura de decomposição da sulfaguanidina, pois os eventos térmicos encontrados na **Figura 20** foram semelhantes aos observados na **Figura 19**. Apresentando eventos térmicos endotérmicos em 100 °C correspondentes a perda de água residual e em 188 °C a 193 °C correspondente ao ponto de fusão da sulfaguanidina (ABIDI *et al.*, 2017; WIKSTROM; KAKIDAS; TAYLOR, 2009).

Entretanto, na **Figura 20**, pode-se observar na curva de DSC um evento endotérmico largo em aproximadamente 50 °C que está relacionado a liberação de água absorvida pelo polímero quitosana e um pico exotérmico em aproximadamente 300 °C (FOUREAUX *et al.*, 2015; NAINGGOLAN; NASUTION; AHMAD, 2019; NETO *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2016). Sendo atribuído a um processo de decomposição térmica das ligações glicosídicas da

quitosana e das unidades acetiladas e desacetilada da quitosana (EULALIO *et al.*, 2019).

O pico endotérmico mais acentuado na curva de DSC (**Figura 20**), entre 175 °C a 200 °C, em comparação com a **Figura 19**, está relacionado a sobreposição dos picos do ponto de fusão da sulfaguanidina e da evaporação da água ligada por pontes de hidrogênio com os grupos hidroxila presentes no polímero quitosana (FILHO *et al.*, 2021; NETO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2016). As curvas TG e DTA da sulfaguanidina, os eventos térmicos encontrados foram semelhantes aos observados na curva de DSC.

**Figura 21 – Curvas DSC dos filmes de uma, duas e três camadas.**



A **Figura 21**, apresenta a decomposição térmica dos insertes de uma, duas e três camadas. De acordo com os termogramas é possível inferir que há uma diferença na degradação dos insertes de acordo com o número de camadas existentes. No qual, o inserte de uma camada apresentou um pico exotérmico por volta de 275 °C a 300 °C. No inserte de duas camadas há um pico por volta de 270 °C a 290 °C, mas o mesmo é mais amplo com a presença de um platô. E no inserte de três camadas ocorre a separação desse pico de decomposição, ocorrendo o evento térmico em uma temperatura mais baixa na faixa de 260 °C a 275 °C. Não foi observado pico de

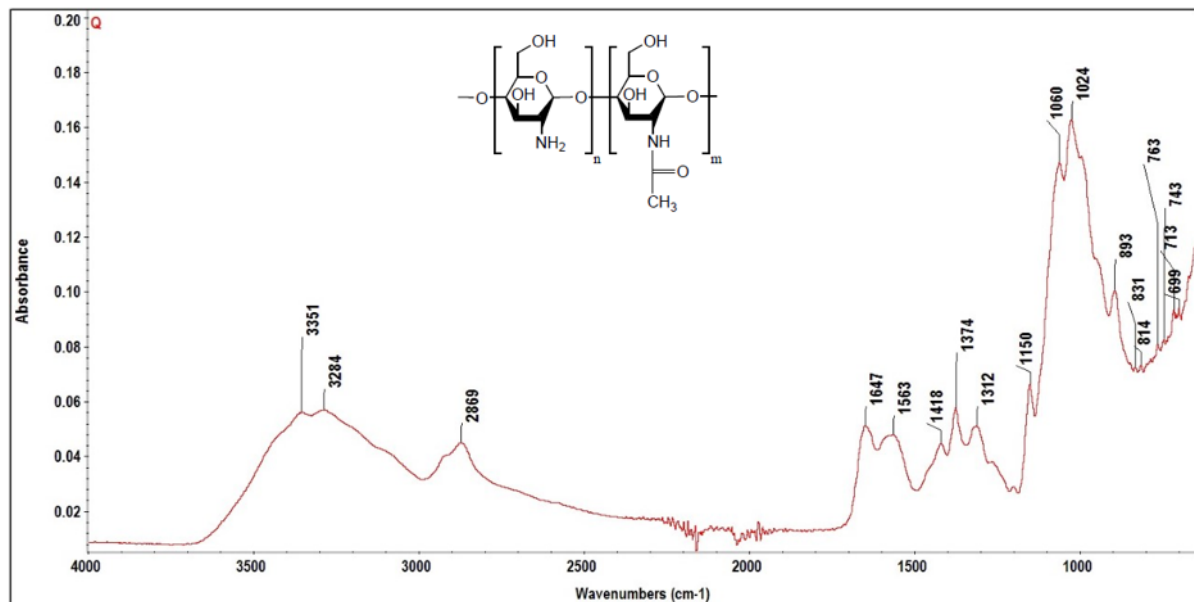
fármaco no termograma de nenhum dos insertes, evidenciando que não há fármaco cristalino no dispositivo, sendo confirmado pelas micrografias dos dispositivos.

Os picos exotérmicos observados correspondem a temperatura de degradação térmica das ligações glicosídicas da quitosana (NAINGOLAN; NASUTION; AHMAD, 2019; NETO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2016). Esses resultados sugerem que nos dispositivos com duas e três camadas pode haver interações intermoleculares entre as camadas dos insertes o que ocasiona um comportamento diferenciado na degradação do dispositivo (NETO *et al.*, 2019; POTAS *et al.*, 2022).

#### 4.2.6 Espectroscopia de absorção no infravermelho

Foram realizadas as caracterizações por IV da quitosana, do fármaco sulfaguanidina e da mistura da quitosana com o fármaco sulfaguanidina para avaliar se ocorre alguma interação entre ambos.

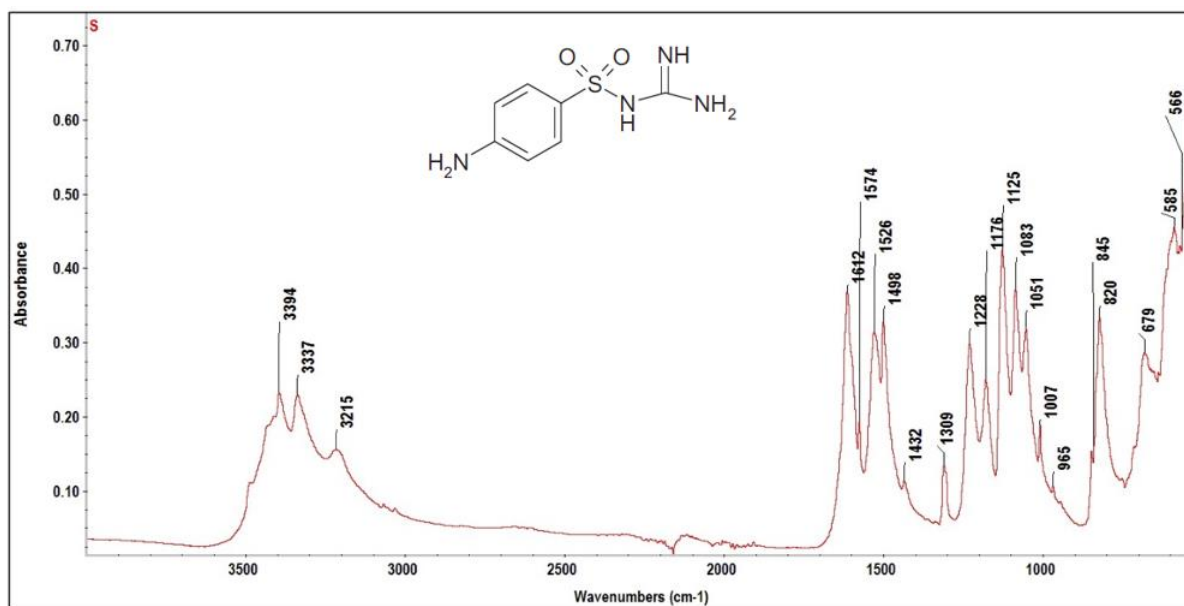
**Figura 22 – Espectro de ATR-FTIR da quitosana.**



No espectro da quitosana, **Figura 22**, pode-se visualizar bandas de absorção em 1647 cm<sup>-1</sup> e 1563 cm<sup>-1</sup> estão relacionados aos grupamentos amida da quitosana que corresponde a ligação C=O do grupo amida presente em parte da molécula deste polímero. É possível observar bandas em 3351 cm<sup>-1</sup> e em 3284 cm<sup>-1</sup> relacionadas aos estiramentos, dos grupos OH e NH. A banda em 2869 cm<sup>-1</sup> é correspondente ao estiramento da ligação C-H presente no anel piranosídico do esqueleto polimérico. As

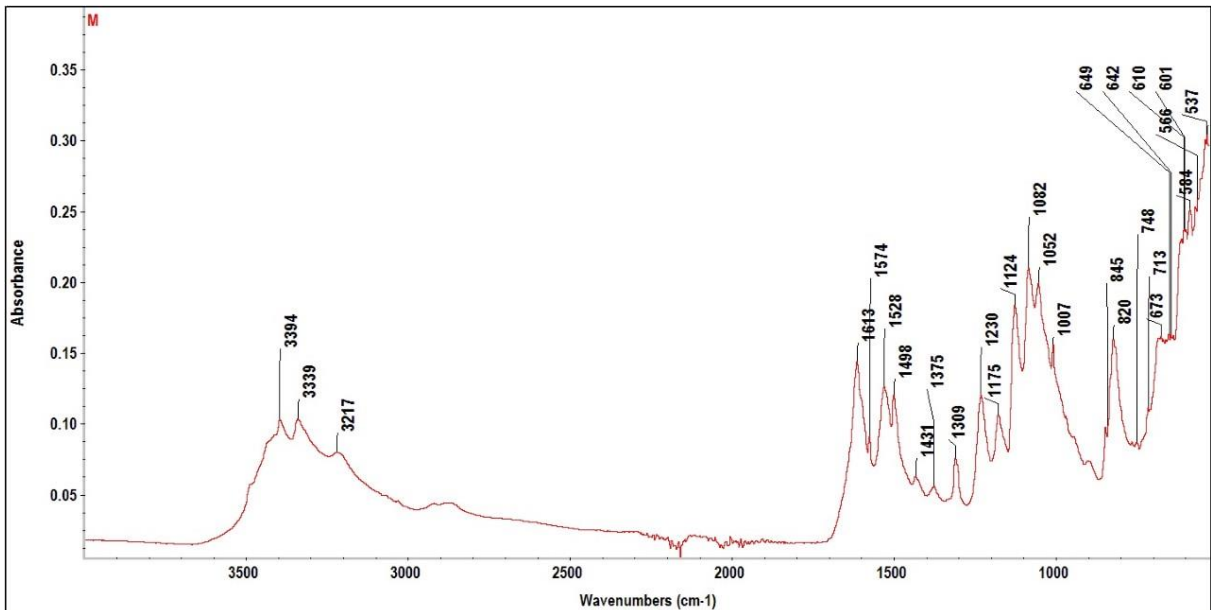
bandas em torno de  $1418\text{ cm}^{-1}$  e  $1374\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas aos grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , respectivamente. As bandas em  $1060\text{ cm}^{-1}$  e  $1024\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao alongamento C-O. As demais bandas encontradas de absorção estão em acordo com a estrutura do quitosana na forma sólida. Estes dados estão coerentes com os descritos na literatura (CHEN *et al.*, 2020; FRANCA *et al.*, 2020; KOEV *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2015).

**Figura 23 – Espectro de ATR-FTIR da sulfaguandina.**

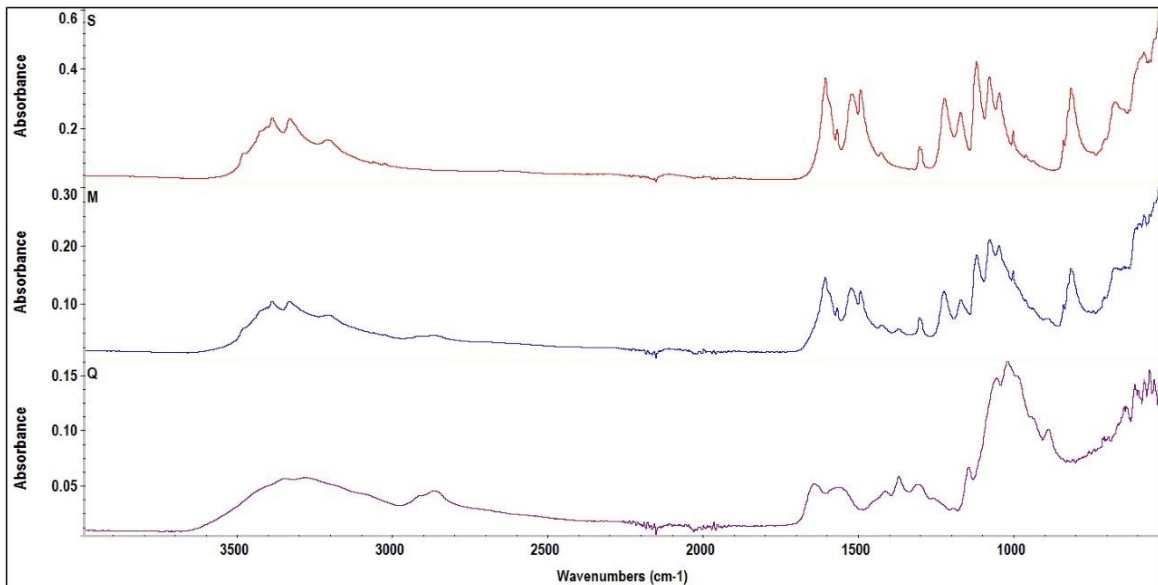


No espectro da sulfaguandina, **Figura 23**, podem ser observados bandas características do fármaco. Em  $3394\text{ cm}^{-1}$ ,  $3337\text{ cm}^{-1}$  e  $3215\text{ cm}^{-1}$  são observadas bandas relacionadas às aminas primária, aromática e secundária. Em  $1612\text{ cm}^{-1}$ , pode ser observada a banda relacionada ao estiramento ao grupo sulfona  $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ . Em  $679\text{ cm}^{-1}$  e  $820\text{ cm}^{-1}$  observa-se bandas que correspondem ao estiramento das ligações C-H características de um anel aromático e com um padrão AA'BB' (HASSANI *et al.*, 2018). As bandas em  $1574\text{ cm}^{-1}$ ,  $1526\text{ cm}^{-1}$  e  $1498\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas as ligações C=C do anel aromático (PAVIA *et al.*, 2015) presente na estrutura da sulfaguandina.

**Figura 24 – Espectro de ATR-FTIR da mistura física de sulfaguanidina e quitosana.**



**Figura 25 – Espectros de ATR-FTIR (S) sulfaguanidina, (M) mistura física entre a sulfaguanidina e o polímero quitosana e (Q) quitosana.**

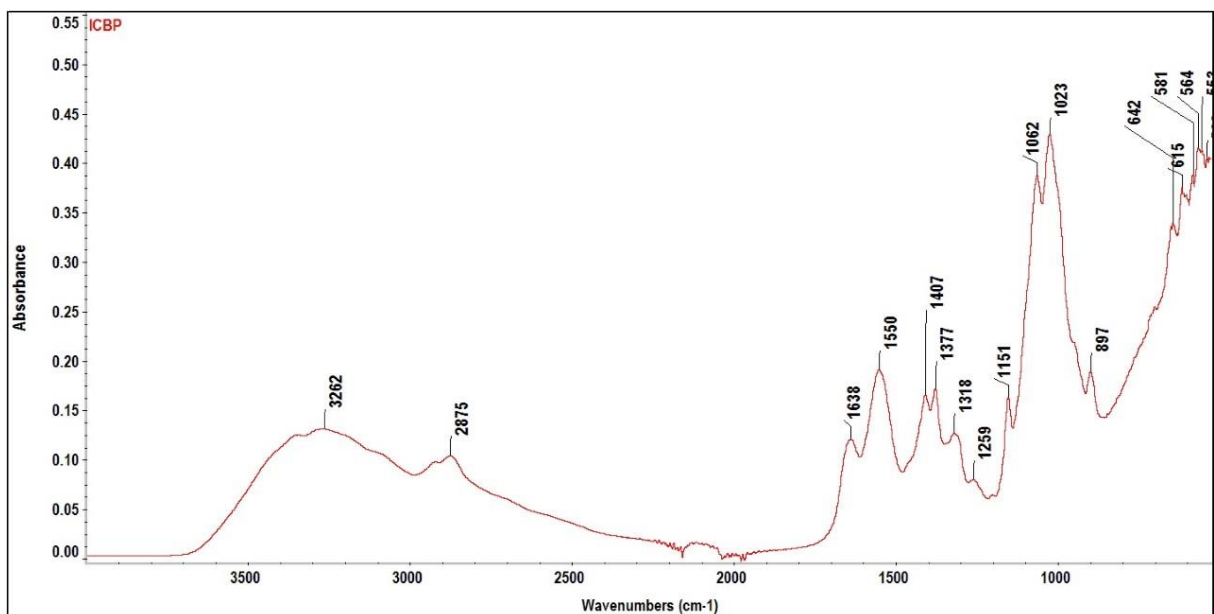


A **Figura 24**, apresenta o espectro da mistura da quitosana com o fármaco sulfaguanidina, pode-se visualizar que não houve uma alteração significativa no espectro em relação aos espectros obtidos das substâncias puras, **Figura 25**. Pode-se observar que houve uma sobreposição dos espectros do quitosana com o do

fármaco sulfaguanidina. Onde as bandas características de cada substância são observadas neste espectro. De acordo com Foureaux e colaboradores (2015), esta constatação nos permite inferir que não houve formação de novas bandas no espectro em análise e conseqüentemente não há interação entre a sulfaguanidina e a matriz polimérica de quitosana. Essa compatibilidade é reforçada pela visualização simultânea dos espectros, conforme **Figura 25**. Após a mistura é possível observar que as principais bandas de absorção se mantiveram e não houve alargamento ou aparecimento de novas bandas. Então, não há alteração da estrutura do fármaco e do polímero.

Conforme descrito por Ricachenevsky e colaboradores, 2020, o IV é uma técnica precisa que pode identificar e caracterizar estruturas dos compostos nas mais diversas formas farmacêuticas. No qual, o espectro é considerado a impressão digital de um composto, pois cada substância apresenta seu espectro característico. Quando uma mistura de substâncias é avaliada pode surgir uma superposição de bandas largas com pouca definição o que não foi evidenciado nos espectros descritos neste trabalho, evidenciando que possivelmente não há interação entre o polímero e o fármaco. Estes resultados corroboram com os termogramas dos insertes demonstrados anteriormente, que evidenciaram haver compatibilidade entre a sulfaguanidina e a quitosana.

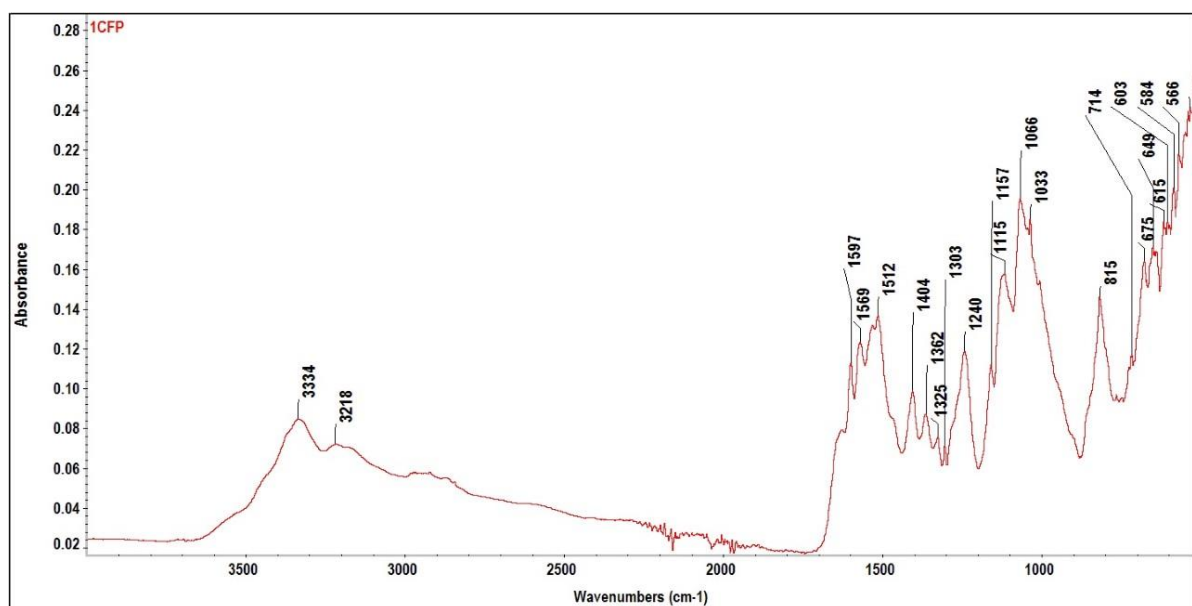
**Figura 26 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de uma camada branco.**





A **Figura 26** apresenta o espectro na região do IV para o inserte de uma camada placebo. Pode-se observar as bandas de absorção em  $3262\text{ cm}^{-1}$  e em  $2875\text{ cm}^{-1}$  que corresponde ao estiramento de OH e da ligação NH e um pico evidente em  $1638\text{ cm}^{-1}$  relacionado a ligação C=O da quitosana. Todas as demais bandas são compatíveis com as do polímero quitosana na forma de filme polimérico (CHEN *et al.*, 2020; FRANCA *et al.*, 2020; KOEV *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2015).

**Figura 27 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de uma camada com o fármaco sulfaguanidina.**



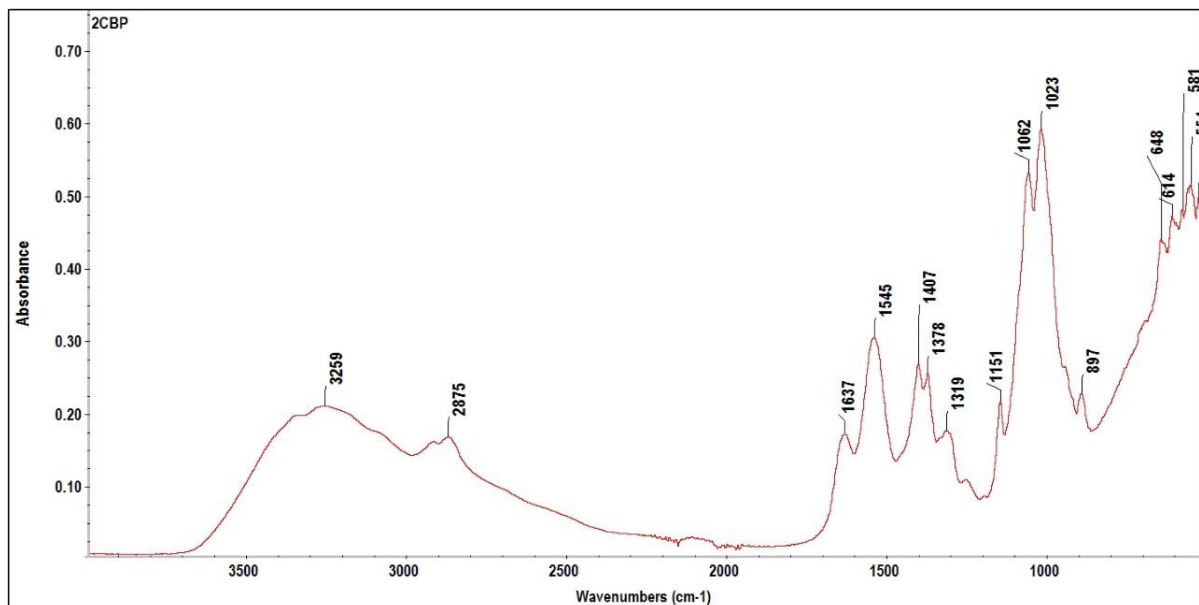
Os filmes com fármaco, por sua vez, apresentam diferenças em relação aos deslocamentos observados para às bandas características do fármaco e do polímero. Deste modo, pode ser observado na **Figura 27** o espectro do inserte de uma camada com fármaco, que há um deslocamento da banda de absorção da ligação N-H da sulfaguanidina de  $3394\text{ cm}^{-1}$  para  $3334\text{ cm}^{-1}$  havendo uma redução do alargamento desta mesma banda de absorção. A banda característica do grupo sulfona (O=S=O) em aproximadamente  $1612\text{ cm}^{-1}$  não está marcada, porém é possível de ser visualizada no espectro.

Em relação às bandas do polímero quitosana foi possível observar que as bandas se tornaram menos largas do que as observadas entre  $3500\text{ cm}^{-1}$  e  $2500\text{ cm}^{-1}$ , podendo, inclusive ser possível a visualização das bandas de grupos N-H da sulfaguanidina relatadas anteriormente. Em adição, as bandas características do esqueleto polimérico com estiramentos C-H em torno de  $2800\text{ cm}^{-1}$  não estão marcadas, porém

são possíveis de serem vistas no espectro. Estes dados sugerem que não há uma interação entre fármaco e polímero por ligações de hidrogênio pois não foi possível verificar o alargamento de bandas característico quando esta situação ocorre (RICACHENEVSKY *et al.*, 2020).

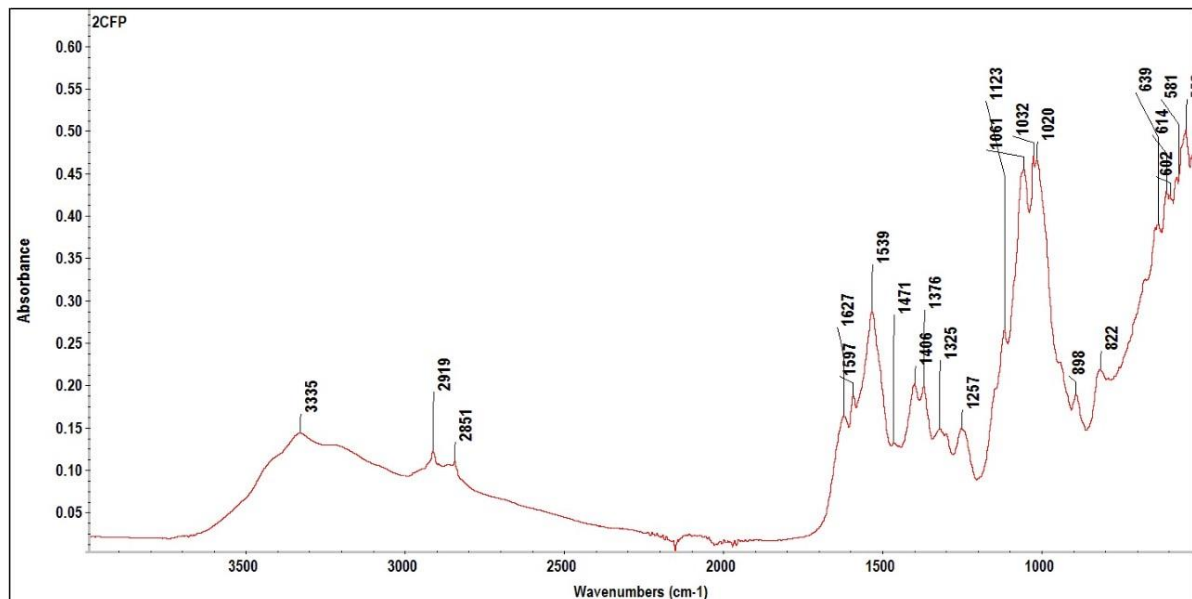
Importante destacar na análise deste espectro que é possível verificar grande parte das bandas do fármaco proporcionalmente ao do polímero. Este resultado é interessante, pois normalmente como o polímero está em maior quantidade do que o fármaco os espectros comumente apresentam as bandas do polímero preponderando sobre as do fármaco. Isto é possível observar na **Figura 29**, onde há o espectro do inserte com duas camadas de polímero e a mesma quantidade de fármaco empregada no espectro dos insertes de uma camada, ou seja, 10 % p/p.

**Figura 28 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de duas camadas branco.**



A **Figura 28**, apresenta o espectro na região do IV para o inserte de duas camadas placebo, um perfil semelhante ao observado para o inserte de uma camada, conforme **Figura 26**. As bandas de absorção em  $3259\text{ cm}^{-1}$  e em  $2875\text{ cm}^{-1}$  que corresponde ao estiramento de OH e da ligação NH e um pico evidente em  $1637\text{ cm}^{-1}$  relacionado a ligação C=O da quitosana. Todas as demais bandas são compatíveis com as do polímero quitosana na forma de filme polimérico (CHEN *et al.*, 2020; FRANCA *et al.*, 2020; KOEV *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2015). As pequenas diferenças (da ordem de  $1\text{ cm}^{-1}$ ) de deslocamento encontradas são atribuídas à calibração das bandas por parte do operador e do aparelho.

**Figura 29 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de duas camadas com o fármaco sulfaguandina.**



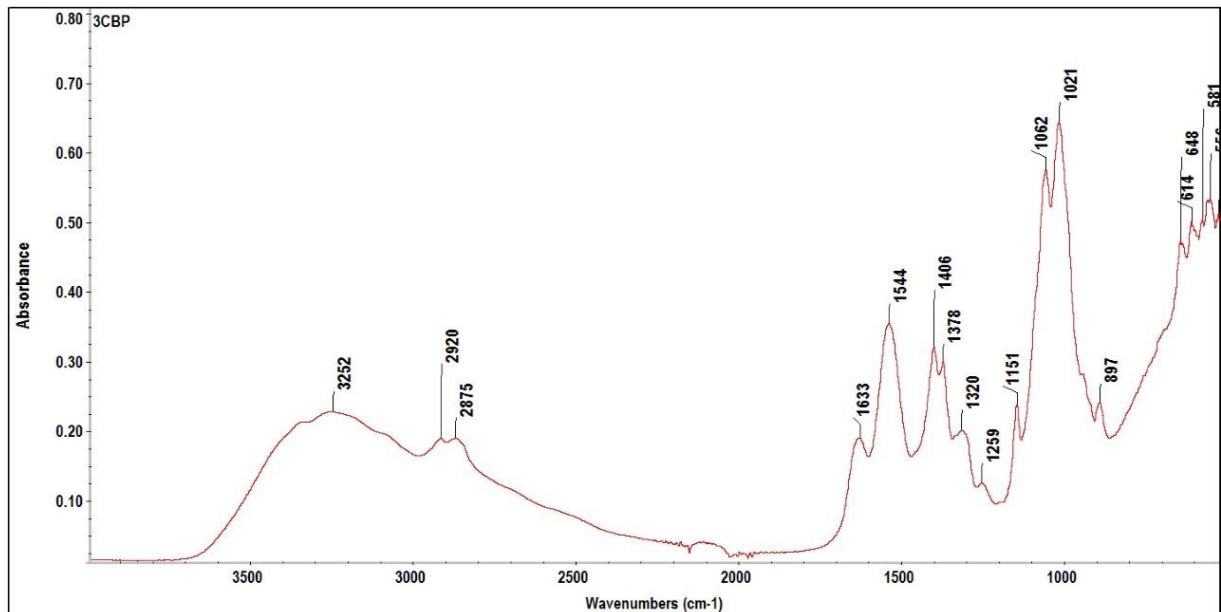
O espectro observado na **Figura 29** é bastante semelhante ao espectro para o inserte com uma camada com fármaco (**Figura 27**), todas as bandas observadas no espectro do inserte com uma camada são observadas no espectro do inserte de duas camadas. A diferença perceptível torna-se a diminuição da intensidade das bandas do fármaco sendo as mesmas sobrepostas às bandas do polímero quitosana, como observado na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  a  $2500\text{ cm}^{-1}$ .

Este fato é explicado em função da maior concentração de polímero (duas vezes maior do que o inserte com uma camada). Neste caso, as bandas do polímero, em maior quantidade na formulação, tendem a ser detectadas com maior facilidade pelo aparelho. Apesar deste fato ocorrer, ainda é possível identificar bandas relacionadas ao fármaco demonstrando que o mesmo se encontra na formulação e que não há nenhuma mudança nas mesmas no sentido de se ter a formação de reações entre o polímero e a sulfaguandina.

Quando o inserte de duas camadas com o fármaco é comparado com o espectro do fármaco observa-se que houve um deslocamento de  $1612\text{ cm}^{-1}$  para  $1627\text{ cm}^{-1}$  evidenciando que houve uma interação entre a carbonila da quitosana e o grupamento  $\text{O}=\text{S}=\text{O}$  da sulfaguandina. Foi observado que houve um deslocamento de  $1574\text{ cm}^{-1}$  para  $1627\text{ cm}^{-1}$ , de  $1526\text{ cm}^{-1}$  para  $1539\text{ cm}^{-1}$ , entre outras. Segundo Foureaux e colaboradores (2015), ocorreu um deslocamento para uma frequência mais alta,

necessitando de maior energia, logo, demonstra que a matriz está prendendo o fármaco, então ele é liberado de forma mais lenta, o que foi evidenciado pelo teste de liberação, no qual, o dispositivo liberou o fármaco nos testes *in vitro* em 24 horas.

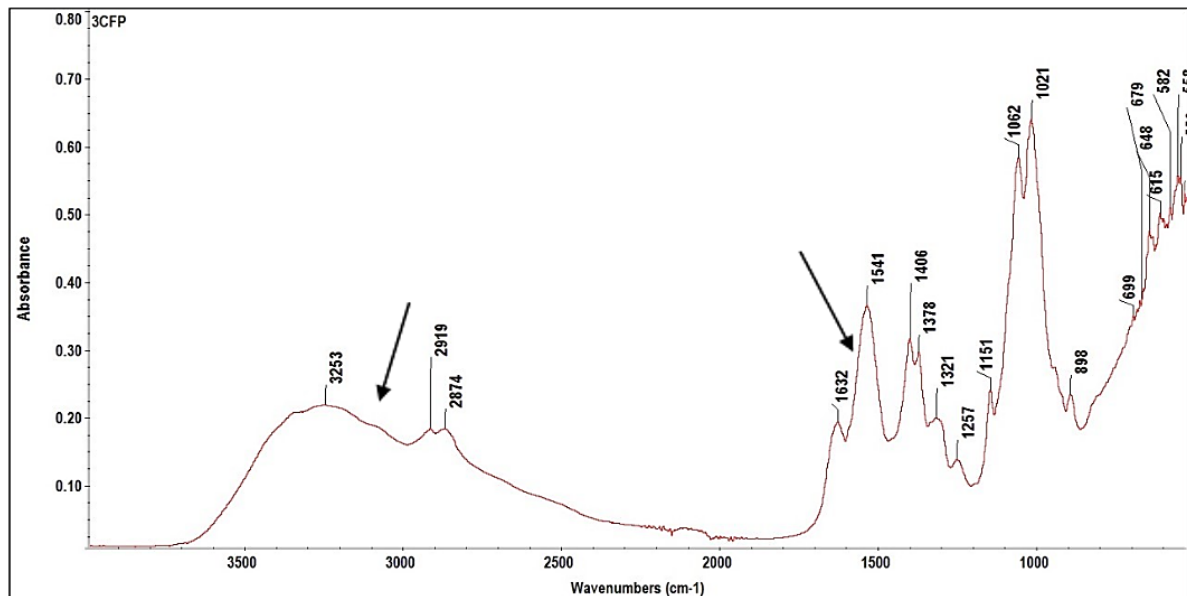
**Figura 30 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de três camadas branco.**



Analogamente à análise feita para os insertes de uma e duas camadas em relação ao inserte de três camadas, sem fármaco, o que se observa no espectro do inserte com três camadas (**Figura 30**) são as bandas características do polímero com pequenos deslocamentos no número de onda compatíveis com a presença dos grupos funcionais presentes na estrutura molecular do quitosana.

Assim, pode-se observar as bandas alargadas de absorção em  $3252\text{ cm}^{-1}$  que corresponde aos estiramentos da ligação OH e da ligação NH e as bandas em  $2875\text{ cm}^{-1}$  e  $2920\text{ cm}^{-1}$  relacionadas ao estiramento das ligações C-H do anel piranosídico do polímero (CHEN *et al.*, 2020; FRANCA *et al.*, 2020; KOEV *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2015). A banda de amida I proveniente do estiramento da ligação C=O de amida é possível de ser identificada em  $1633\text{ cm}^{-1}$  assim como a banda de amida II, proveniente do estiramento da ligação N-H de amida em  $1544\text{ cm}^{-1}$ . As demais bandas observadas são características da impressão digital do polímero e estão em acordo com o descrito na literatura.

**Figura 31 – Espectro de ATR-FTIR do inserte de três camadas com o fármaco sulfaguanidina.**



O espectro observado na **Figura 31** é proveniente de amostra do inserte com três camadas com fármaco. Neste caso, a camada com fármaco fica entre duas camadas do polímero. Este fato pode ter contribuído para a dificuldade em identificar as bandas relacionadas ao fármaco. Neste espectro, como no espectro de duas camadas com fármaco, pode-se observar as bandas características do polímero sobrepondo as bandas relacionadas ao fármaco. Assim, é possível visualizar as bandas em  $3253\text{ cm}^{-1}$  provenientes do estiramento da ligação O-H do polímero, bandas em  $2919\text{ cm}^{-1}$  e  $2874\text{ cm}^{-1}$  provenientes do estiramento da ligação C-H do esqueleto piranosídico (CHEN *et al.*, 2020; FRANCA *et al.*, 2020; KOEV *et al.*, 2010; NETO *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2015), bandas em  $1632\text{ cm}^{-1}$  e  $1541\text{ cm}^{-1}$  provenientes dos estiramentos das ligações C=O e N-H (respectivamente, bandas de amida I e II) do polímero. As demais bandas também características do quitosana e estão em acordo com o descrito na literatura.

Apesar de não se visualizar todas as bandas relacionadas ao fármaco, é possível identificar uma delas, em  $679\text{ cm}^{-1}$  proveniente de deformações de ligações C-H do anel aromático da sulfaguanidina. Além destas bandas, pode-se observar, também no espectro da **Figura 31**, diversos ombros, destacados com setas no espectro, proveniente de bandas que poderiam ser marcadas caso o operador do software de edição do espectro abaxasse o corte de identificação das bandas. Destaca-se, neste

caso, as setas em aproximadamente  $3200\text{ cm}^{-1}$  proveniente do estiramento das ligações N-H do grupo guanidino e seta em aproximadamente  $1612\text{ cm}^{-1}$  do grupo sulfonila.

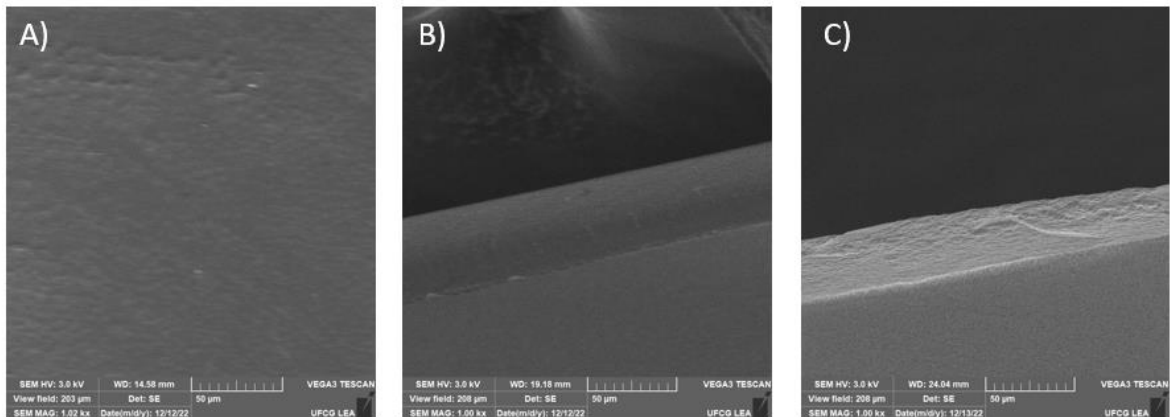
É importante salientar que não há formação de novas bandas indicando que não há eventual reação entre o polímero e o fármaco, o que também se observa nos espectros relacionados aos insertes com uma e duas camadas com fármaco. Eventual alargamento de bandas observadas na medida que se aumenta a quantidade de polímero na formulação são proporcionais ao aumento das interações existentes no esqueleto polimérico.

As análises feitas com os diferentes tipos de insertes com e sem fármaco, permitem inferir que não há interações entre o polímero e o fármaco, o que de certa forma é previsível em função da baixa solubilidade do fármaco no meio de dispersão polimérica. Quando se analisa os dados relacionados à capacidade de intumescimento e também aos testes de liberação, pode-se propor que o fármaco atua como um espaçador entre as moléculas do polímero aumentando o influxo de água para o interior do dispositivo ocasionando uma liberação de aproximadamente 90-100% do conteúdo do fármaco em torno de 24 horas. Estes dados são semelhantes entre os insertes de uma, duas e três camadas. Conforme descrito por Foureaux e colaboradores (2015), em que, a desorganização da matriz polimérica ocasionada pelo fármaco pode facilitar a penetração da água no dispositivo.

#### **4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura**

A análise morfológica dos insertes placebos e com o fármaco de uma, duas e três camadas foi realizada para avaliação da superfície e das laterais dos insertes. Os dispositivos foram analisados em ampliações adequadas para cada amostra. Foi possível visualizar nas micrografias uma superfície regular, homogênea e ausência de fármaco na superfície dos dispositivos na forma cristalina.

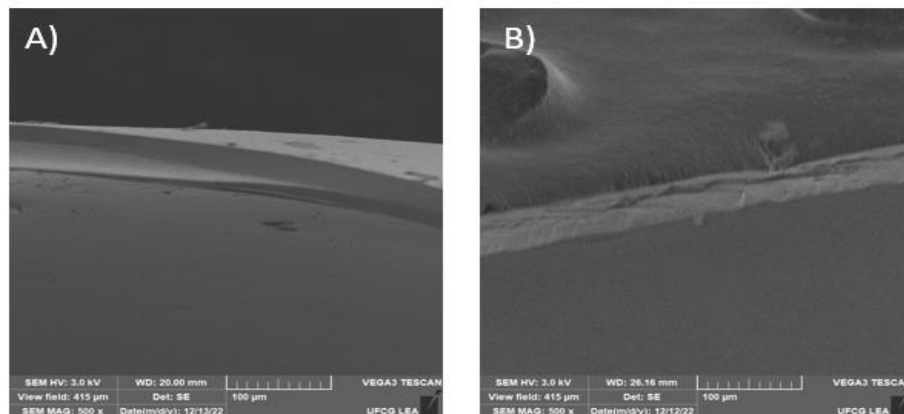
**Figura 32 – Microscopia eletrônica do inserte de uma camada.**



- A) Inserte de uma camada branco – 1000x  
 B) Inserte de uma camada branco, corte – 1000x  
 C) Inserte de uma camada com Sulfaguanidina, corte – 1000x

O inserte de uma camada placebo, **Figura 32 (A)** e **(B)**, e o inserte com a sulfaguanidina, **Figura 32 (C)**, ambas apresentaram as áreas de superfície e laterais regulares e homogêneas. Sugerindo que o fármaco está disperso na matriz polimérica, pois não foram identificadas partículas cristalinas do fármaco na superfície do dispositivo, conforme **Figura 32 (C)** (FRANCA *et al.*, 2014).

**Figura 33 – Microscopia eletrônica do inserte de duas camadas.**

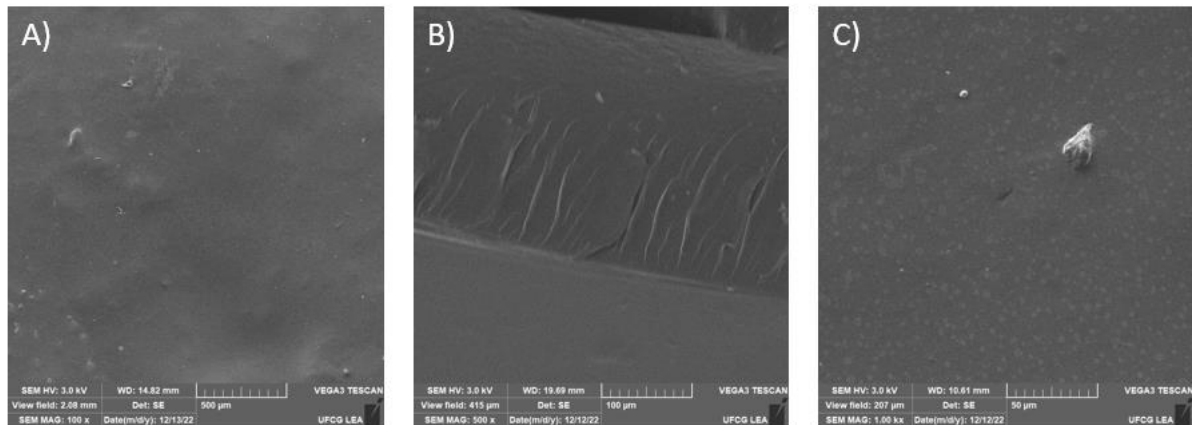


- A) Inserte de duas camadas branco, corte – 500x  
 B) Inserte de duas camadas com Sulfaguanidina, corte - 500x

Conforme observado para o inserte de uma camada, o inserte de duas camadas placebo, **Figura 33 (A)**, e o inserte com a sulfaguanidina, **Figura 33 (B)**, também apresenta ambas as áreas superficiais e laterais com características regulares e homogêneas. Sugerindo que o fármaco está disperso na matriz polimérica, pois não foram identificadas partículas cristalinas do fármaco na superfície do dispositivo,

conforme **Figura 33 (B)**. De acordo com o corte lateral do dispositivo (**Figura 33 (B)**) foi possível visualizar as duas camadas do inserte.

**Figura 34 – Microscopia eletrônica do inserte de três camadas.**



- A) Inserte de três camadas branco – 100x  
 B) Inserte de três camadas com Sulfaguanidina, corte – 500x  
 C) Inserte de três camadas com Sulfaguanidina – 1000x

O inserte de três camadas placebo, **Figura 34 (A)**, e o inserte com a sulfaguanidina, **Figura 34 (B) e (C)**, também apresentaram ambas as áreas superficiais e laterais com características regulares e homogêneas. Sugerindo que o fármaco está disperso na matriz polimérica, pois o mesmo não foi visualizado na forma cristalina na superfície do dispositivo, **Figura 34 (B) e (C)**. De acordo com o corte lateral do dispositivo (**Figura 34 (B)**), ocorreu a fundição das três camadas, pois não foi possível observar a divisão entre elas. Podendo ser explicado pelo fato de ambas as camadas serem formadas pelo mesmo polímero (NETO et al. 2019). Todos os insertes apresentaram superfície homogênea indicando miscibilidade entre o fármaco e o polímero. Não sendo visualizada a presença de sulfaguanidina na matriz polimérica. Resultado análogo foi obtido nas análises térmicas.

## 5 CONCLUSÃO

O glaucoma requer um tratamento crônico, este é realizado a longo prazo para interromper a progressão da doença e evitar a cegueira irreversível. Portanto, a adesão do paciente ao tratamento é crucial para sua eficácia. Entretanto, ainda existem muitos problemas relacionados as terapias existentes no mercado, então, é importante o desenvolvimento de novos tratamentos que possam proporcionar um melhor conforto para o paciente e eficácia do mesmo. Logo, os sistemas de liberação



controlada de fármacos para tratamento de doenças oculares apresentam diversas vantagens em relação ao tratamento convencional (colírios). Não expõem o paciente a níveis tóxicos de fármacos, reduzem reações adversas e, conseqüentemente, melhoram a adesão do paciente ao tratamento.

Os insertes de quitosana com sulfaguanidina, desenvolvidos neste trabalho, foram produzidos com sucesso para aplicação na via ocular. Os insertes apresentaram grande capacidade de intumescimento e resistência física, indicando pH compatível com a via ocular. O teste de liberação *in vitro* revelou que inicialmente há uma rápida liberação do fármaco do dispositivo que depois é sustentada por um período de 24 horas. Os insertes apresentaram bandas características da sulfaguanidina e da quitosana na espectroscopia no IV sem aparecimento de novas bandas. Resultado análogo foi obtido nas análises térmicas revelando que há compatibilidade entre a sulfaguanidina e a quitosana, pois após a mistura física de ambas as substâncias, não houve aparecimento de eventos térmicos em relação as curvas de DSC das substâncias puras. As micrografias demonstraram que as áreas superficiais e laterais de todos os insertes produzidos são regulares e homogêneas.

Os três insertes desenvolvidos são compatíveis com o fármaco Sulfaguanidina, apresentando uma liberação do fármaco de forma semelhante entre os insertes de uma, duas e três camadas. Comparando os três insertes, o inserte de uma camada seria preferível de desenvolver devido ao seu processo de produção ser menos oneroso em relação ao de duas e três camadas, em que, é necessário um maior cuidado na produção para não ocorrer a separação das camadas.

Os dados apresentados permitem afirmar que esse dispositivo na forma de filme de quitosana para veiculação de sulfaguanidina é um potencial dispositivo para o tratamento do glaucoma. Para verificar se o mesmo apresentará atividade biológica são necessário novos testes *in vivo*.

## 6 REFERÊNCIAS

ABDELKADER, Hamdy *et al.* Curcumin In Situ Gelling Polymeric Insert with Enhanced Ocular Performance. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 12, p. 1158, Nov. 2020.

ABIDI, Syed Sibte. Sulfaguanidine cocrystals: Synthesis, structural characterization and their antibacterial and hemolytic analysis. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 5, n. 149, p. 351–357, Nov. 2017.

ADAY, Burak. *et al.* Synthesis of novel sulfonamide analogs containing sulfamerazine/sulfaguanidine and their biological activities. **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, v. 31, n. 6, Early Online: 1 – 6, Aug. 2016.

AHMAR, Khan *et al.* Ocular Inserts: A Novel Approach in Ocular Drug Delivery. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 9, n. 4, p. 693-703, Jul-Aug. 2019.

ALAMBIAGA-CARAVACA, Adrián M. *et al.* Development, characterization, and ex vivo evaluation of an insert for the ocular administration of progesterone. **Int. J. Pharm.**, v. 5, n. 606, p.120921, Jul. 2021.

AMO, Eva M. Del; URTTI, Arto. Current and future ophthalmic drug delivery systems a shift to the posterior segment. **Drug. Discov. Today**, v. 13, n. 3-4, p. 135-143, Feb. 2008.

ANDREWS, Gavin P.; LAVERTY, Thomas P.; JONES, David S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 71, n. 3, p. 505–518, Mar. 2009.

ANITHA, D *et al.* Identification of Potential Carbonic Anhydrase Inhibitors for Glaucoma Treatment Through an In-Silico Approach. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, p. 2147–2154, Jan. 2020.

ANTUNES, Lidiane Rodrigues. **Estudo de Liberação de Nnaofibras Poliméricas de Ecovio Contendo Cilostazol**. 2020. Dissertação (Mestre em Química) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2020.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANTÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº166 de 24 de julho de 2017. Disponível em: [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC\\_166\\_2017\\_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401) Acesso em: 08 de nov. 2023.

ARAUJO, Jose Denes Lima. **Diagnóstico de Glaucoma a partir de Imagens de Fundo de Olho Utilizando Índices de Diversidade**. 2018. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Computação) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

ASSIS, Débora Ferreira de. **Avaliação de Métodos de Classificação de Glaucoma em Imagens de Fundoscopia**. 2020. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Teleinformática) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2020.

BARAR, Jaleh *et al.* Advanced drug delivery and targeting technologies for the ocular diseases. **Biolmpacts**, v. 6, n.1, p. 49-67, Mar. 2016.

BATISTA, Jorge Gabriel dos Santos. **Desenvolvimento de Matrizes Poliméricas Biodegradáveis à Base de Quitosana e Possíveis Blendas como Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos**. 2015. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BERGMANN; Bertira Rossi *et al.* **Composições Farmacêuticas Microparticuladas contendo Antiparasitários para Terapia Subcutânea Prolongada, uso das ditas Composições Farmacêuticas para a Produção de um Medicamento e Método de Tratamento de Parasitoses.** Depositante: Universidade Federal do Rio de Janeiro. PI 1103229-4 A2. Depósito: 18 jul. 2011. Concessão: 24 dez. 2013.

BERTENS, Cristian J.F. *et al.* Topical drug delivery devices: A review. **Exp. Eye Res.**, v. 168, p. 149-160, Mar. 2018.

BISPO, Viviane Mota. **Estudo do Efeito da Reticulação por Genipin em suportes biocompatíveis de Quitosana-PVA.** 2009. 206 f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BIZERRA, Alexa; SILVA, Viviane. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **RESMA**, v, 3, n. 2, p. 1-12, ago/dez. 2016.

BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 6ª ed. vol. I. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019. 903 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório de recomendações - Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Glaucoma.** Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde. Ministério da Saúde, Brasília, 2022. 60 p.

BRITISH PHARMACOPOEIA, 2019. London: Stationery Office: British Pharmacopoeia Commission, 2019, p. 6648.

CAMPOS, Maria Elizabete Jimenes de; CID, Felipe Biscegli; NETO, Álvaro Alves de Campos. Use of antiglaucomatous drugs in patients with severe glaucoma: how many are necessary to control the disease? **Rev. Bras. Oftalmol.**, v. 77, n. 4, p. 189-193, Jul-Aug. 2018.

CARTA, Fabrizio; SCOZZAFAVA, Andrea. SUPURAN, Claudiu T. Sulfonamides: a patent review (2008-2012). **Expert. Opin. Ther. Pat.**, v. 22, n. 7, p. 747-758, Jul. 2012.

CARTA, Fabrizio; SUPURAN, Claudiu T.; SCOZZAFAVA, Andrea. Sulfonamides and their isosters as carbonic anhydrase inhibitors, **Future Med. Chem.**, v. 6, n. 10, p. 1149–1165, Jul. 2014.

CARVALHO, Flávia Chiva *et al.* Mucoadhesive drug delivery systems. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 46, n. 1, p. 1-17, Jan-Mar. 2010.

CASTRO, Mayara de Freitas e. **Formulação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada e Vetorizada a partir de P3HB e P3(HB-co-HHx).** 2018. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciências dos Materiais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

CESAR, Aina Liz A. *et al.* New antiglaucomatous agent for the treatment of open angle glaucoma: Polymeric inserts for drug release and in vitro and in vivo study. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, v. 109, n. 3, p. 336-345, Jun. 2020.

CESAR, Aina Liz. **Desenvolvimento, Caracterização e Avaliação de Atividade *in vivo* de Sistemas de Libração de Ativo Antiglaucomatoso a partir de Filmes de Quitosana e Condroitina.** 2019. Tese (Doutor em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

CHATTERJEE, Bappaditya *et al.* Mucoadhesive Polymers and Their Mode of Action: A Recent Update. **Journal of Applied Pharmaceutical Science.**, v. 7, n. 05, p. 195-203, May. 2017.

CHATZARA, Aikaterini *et al.* XEN Implant for Glaucoma Treatment: A Review of the Literature. **Semin. Ophthalmol.**, v. 34, n. 2, p. 93-97, Feb. 2019.

CHEN, Fangyuan *et al.* Chitosan-Based Layer-by-Layer Assembly: Towards Application on Quality Maintenance of Lemon Fruits. **Advances in Polymer Technology**, v. 2020, Article ID 7320137, 10 pages, 2020.

CHENG, Kuei-Ju. *et al.* Ocular Disease Therapeutics: Design and Delivery of Drugs for Diseases of the Eye. **J. Med. Chem.**, v. 63, n. 19, p. 10533–10593, Oct. 2020.

CHO, Ik Sung *et al.* Synthesis and characterization of thiolated hexanoyl glycol chitosan as a mucoadhesive thermogelling polymer. **Biomater Res.**, v. 22, n.1, p. 22-30, Sep. 2018.

CLARO, Maíla Lima *et al.* Métodos computacionais para segmentação do disco óptico em imagens de retina: uma revisão. **Revista Brasileira de Computação Aplicada**, v.10, n. 2, p. 29-43, Jul. 2018.

COLLADO-GONZÁLEZ, Mar.; ESPINOSA, Yadira González; GOYCOOLEA, Francisco M. Interaction Between Chitosan and Mucin: Fundamentals and Applications. **Biomimetics**, v. 4, n. 2, p. 32, Apr. 2019.

COSTA, Jangley Bahia. **Sistemas de Liberação Controlada de Medicamentos: Efeitos da Geometria de Dispositivos Encapsulados Porosos nas Taxas de Difusão de Fármacos.** 2020. Dissertação (Mestre em Ciências de Materiais) – Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

DASTJERDI, Shahriar *et al.* On the shell model for human eye in Glaucoma disease. **International Journal of Engineering Science**, v. 158, Jan. 2021.

DAVE, Ridhdi S. *et al.* Ocular drug delivery to the anterior segment using nanocarriers: A mucoadhesive/mucopenetrative perspective. **J. Control. Release**, v. 336, p. 71-88, Jun. 2021.

DEVI, Usha *et al.* Ophthalmic Insert: A Controlled Drug Delivery System for Eye Diseases, **JETIR.**, v. 8, n. 1, p. 1120-1127, Jan. 2021.

DINIZ, Evandro Ribeiro *et al.* Perfil clínico epidemiológico de pacientes com glaucoma atendidos em um serviço de referência em oftalmologia do estado de Minas Gerais. **Rev. Méd. de Minas Gerais.** v. 31: e-31103, p. 1-6, Fev. 2021.

DOLAR, Davor. *et al.* Adsorption of hydrophilic and hydrophobic pharmaceuticals on RO/NF membranes: Identification of interactions using FTIR. **J. APPL. POLYM. SCI.** v. 134, n. 5, Feb. 2017.

EL-FEKY, Yasmin A. *et al.* Repurposing of nifedipine loaded in situ ophthalmic gel as a novel approach for glaucoma treatment. **Biomed. Pharmacother.**, v.142, n. 1, Oct. 2021.

EROGLU, Hakan; SARGON, Mustafa F.; ONER, Levent. Chitosan Formulations for Steroid Delivery: Effect of Formulation Variables on In Vitro Characteristics. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v.33, n.3, p. 265–271, Mar. 2007.

EULALIO, Hugo Yves C. *et al.* Characterization and thermal properties of chitosan films prepared with different acid solvents. **Revista Cubana de Química**, v. 31, n. 3, p. 309-323, May. 2019.

FAN, Ning; TAN, Junkai; LIU, Xuyang. Is “normal tension glaucoma” glaucoma? **Med. Hypotheses**, v.133, Dec. 2019.

FARACO, André Augusto Gomes; JÚNIOR, Armando da Silva Cunha. **Processo de Obtenção de Filme Multicamada de Liberação Controlada de Fármacos Lipofílicos e Produtos.** Depositante: Universidade Federal de Minas Gerais. PI 0803807-4 A2. Depósito: 21 ago. 2008. Concessão: 22 jun. 2010.

Faraco AAG *et al.* Inventor. Universidade Federal de Minas Gerais (BR/MG); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (BR/MG); Universidade Federal de Goiás (BR/GO). BR 10 2018 070564 4 A2. 2020 Apr. 22.

FILHO, Evilásio Anísio Costa *et al.* Application of surface response methodology in the evaluation of thermal degradation of Polyvinylpyrrolidone/Chitosan. **Research Society and Development**, v. 10, n. 15, 11 pages, Nov. 2021.

FOUREAUX, Giselle *et al.* Ocular Inserts for Sustained Release of the Angiotensin-Converting Enzyme 2 Activator, Diminazene Aceturate, to Treat Glaucoma in Rats. **PLoS One**, v. 10, n. 7, e0133149, Jul. 2015.

FRANCA, Juçara R. *et al.* Chitosan/hydroxyethyl cellulose inserts for sustained-release of dorzolamide for glaucoma treatment: In vitro and in vivo evaluation. **Int. J. Pharm.**, v. 570, Oct. 2019.

FRANCA, Juçara Ribeiro *et al.* Use of chitosan as pharmaceutical excipient in ocular drug delivery systems: Sterilization and pharmacokinetics. **J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.**, v. 108, n. 5, p. 2227-2237, Jul. 2020.

FRANCA, Juçara Ribeiro. **Desenvolvimento e Avaliação da Atividade de Inserts Poliméricos de Quitosana para Liberação de Fármacos Antiglaucosomatosos**. 2014. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

FULGÊNCIO, Gustavo de Oliveira. **Desenvolvimento e Avaliação de Implantes Mucocunjugativos Biodegradáveis Constituídos de Quitosana para Tratamento de Oftalmopatias**. 2012. 125 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

GELLER, Mario *et al.* Alergia a Sulfas. **Rev. bras. alerg. imunopatol.**, v. 31, n. 3, 2008.

GIL, Viviane Silva Brey. **Sistema de Liberação Controlada Baseado em Vesículas de poli(estireno-b-óxido de etileno) Carregadas com Adapaleno Inseridas em Filmes Poliméricos**. 2017. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.

GOMES, Tarcyla de Andrade *et al.* Estratégias Utilizadas para o Incremento da Solubilidade do Fármaco Antiretroviral Classe II: Efavirens. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, n. 36, v. 2, p. 239-249, 2015.

GOOCH, Nathan *et al.* Ocular Drug Delivery for Glaucoma Management. **Pharmaceutics**, n. 4, v. 1, p. 197-211, Mar. 2012.

GOTO, Aline Yoshie. **Estudo da produção, composição e drenagem dos meios oculares de *Carassius auratus (Cyprinidae)* variedades padrão e demekin**. 2016. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

GUEDES, Ricardo Augusto Paletta *et al.* Cost-utility of primary open-angle glaucoma in Brazil. **Ver. Bras. Oftalmol.**, v. 75, n.1, p. 7-13, Feb. 2016.

GUIMARÃES, Aracelle de Albuquerque Santos. **Hidrogéis à Base de Quitosana/ Poli(Álcool vinílico) para Liberação de Fármaco Visando uso Potencial como Curativo**. 2018. 180 f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal da PARAÍBA, João Pessoa, 2018.

HARADA, Chikako *et al.* Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning. **Br. J. Ophthalmol.**, v. 103, n. 2, p. 161-166, Feb. 2019.

HASSANI, Nadia El Alami El. *et al.* Development of a highly sensitive and selective molecularly imprinted electrochemical sensor for sulfaguanidine detection in honey samples. **Journal of Electroanalytical Chemistry.**, v. 823, p. 647-655, Aug. 2018.

IBACH, Mitch. iDose: An Intraocular Drug-Eluting Delivery Device for Glaucoma. **Glaucoma Today**, novembro/dezembro 2020. Disponível em: <https://glaucomatoday.com/articles/2020-nov-dec/idose-an-intraocular-drug-eluting-delivery-device-for-glaucoma?c4src=issue:feed> Acesso em: 03 nov. 2022.

IRIMIA, Teodora *et al.* Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. **Mar. Drugs.**, v. 16, n. 10, p. 373, Oct. 2018.

JONAS, Jost B. *et al.* Glaucoma. **Lancet**, v. 390, n. 10108, p. 2183-2193, Nov. 2017.

JOURDAN, Jean-Pierre *et al.* Drug repositioning: a brief overview. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.72, n. 9, p. 1145-1151, Sep. 2020.

JULIANA, Fidiniaina Rina *et al.* Promising Approach in the Treatment of Glaucoma Using Nanotechnology and Nanomedicine-Based Systems. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3805, Oct. 2019.

K. S., Rathore; R K., Nema. Review on Ocular Inserts. **Int. J. Pharm. Tech. Res.**, v.1, n. 2, p. 164-169, Apr-Jun. 2009.

KALYANWAT R. *et al.* Preparation and Evaluation of Bioadhesive Ocular Inserts of Aceclofenac. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.**, v. 41, n. 2, p. 207-213, Dec. 2016.

KESAV, Natasha P. *et al.* Sustained-release drug delivery systems for the treatment of glaucoma. **Int. J. Ophthalmol.**, v. 14, n. 1, p. 148-159, Jan. 2021.

KHARE, Anubha, *et al.* Mucoadhesive Polymers for Enhancing Retention in Ocular Drug Delivery: A Critical Review. **Rev. Adhesion Adhesives**, v. 2, n. 4, p. 467-502, Dec. 2014.

KOEV, S. T. *et al.* Chitosan: an integrative biomaterial for lab-on-a-chip devices. **Lab. Chip.**, v.10, n. 22, p. 3026-3042, Sep. 2010.

KRESCH, Shira, Reinventing Glaucoma Therapy. **Review of Optometry**. Feb. 2017. Disponível em: <https://www.reviewofoptometry.com/article/reinventing-glaucoma-therapy> Acesso em: 03 nov. 2022.

KRITI, Dabrai; YASHIKA, Uniyal. Ocular inserts: Novel approach for drug delivery into eyes. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**, v. 07, n. 03, p. 1–7, May. 2019.

KUMAR, Kaushal; SINGH, Lakshyaveer. Review Article on Ocusert: A Novel Ophthalmic Drug Delivery System. **JETIR.**, v. 1, n. 3, p. 1221-1229, Aug. 2014.

KUMIRSKA, Jolanta *et al.* Application of Spectroscopic Methods for Structural Analysis of Chitin and Chitosan. **Mar. Drugs.**, v. 8, n. 5, p.1567-1636, Apr. 2010.

KWON, Young H. *et al.* Primary Open-Angle Glaucoma. **N. Engl. J. Med.**, v. 360, n.11, p. 1113-1124, Mar. 2009.

LAVIK, E.; KUEHN, M.H.; KNOW, Y.H. Novel drug delivery systems for glaucoma. **Eye**, v. 25, n. 5, p. 578-586, May. 2011.

LI, Boxuan *et al.* Drug-loaded chitosan film prepared via facile solution casting and air-drying of plain water-based chitosan solution for ocular drug delivery. **Bioactive Materials**, v.5, p. 577-583, Apr. 2020.

LIN; Hong-Ru *et al.* High pH Tolerance of a Chitosan–PAA Nanosuspension for Ophthalmic Delivery of Pilocarpine. **J. Biomater. Sci. Polym. Ed.**, v. 21, n. 2, p. 141-157, 2010.

LOPES, Carla, Martins; LOBO, José Manuel Sousa; COSTA, Paulo. Formas Farmacêuticas de Liberação Modificada: Polímeros Hidrofílicos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 41, n. 2, p.143-154, jun., 2005.

MACHADO, Mónica *et al.* Self-Assembled Multilayer Films for Time-Controlled Ocular Drug Delivery. **ACS Appl. Bio Mater.**, v. 2, n. 10, p. 4173-4180, Sep. 2019.

MANSBERGER, Steven L. *et al.* Análise provisória de baixa dose de ENV515 Travoprost XR com duração de 11 meses seguido de escalonamento de dose e avaliação de eficácia de 28 dias de alta dose de ENV515. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**. v. 58, n. 8, p. 7-11, Jun. 2017.

MANSURI, Shakir *et al.* Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. **Reactive and Functional Polymers**, v. 100, p. 151-172, Mar. 2016.

MILLER, Paul E.; EATON, Joshua Seth. Medical anti-glaucoma therapy: Beyond drop. **Vet. Ophthalmol.**, v. 24 (suppl. 1), p. 2-15, Mar. 2021.

MOREIRA, Joana da Silva. **Estudo de Síntese e Cinética de Liberação Controlada de Bionanocompósitos**. 2010. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) – Universidade de Aveiro, Portugal, 2010.

MOURA, Maria José. Aplicações do quitosano em Liberação Controlada de Fármacos: Algumas Considerações. **Enciclopédia Biosfera**. v. 8, n. 14, p. 1489-1509, Jun. 2012.

NAINGGOLAN, Irwana; NASUTION, Tulus Ikhsan; AHMAD, Khaired Rafezi. **Thermal Properties of Chitosan-roselle Films**. In Proceedings of the 1st International Conference on Chemical Science and Technology Innovation (ICOCSTI 2019), p. 266-273, 2019.

NETO, Reginaldo José Gomes *et al.* Characterization and in vitro evaluation of chitosan/konjac glucomannan bilayer film as a wound dressing. **Carbohydr. Polym.**, v. 212, p. 59-66, May. 2019.

OLIVEIRA, Ana Paula Ramos de. **Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o Estudo do Processo de Reticulação**. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Bioengenharia) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

PAOLICELLI, Patrizia *et al.* Chitosan nanoparticles for drug delivery to the eye. **Expert. Opin. Drug Deliv.**, v. 6, n. 3, p. 239-253, Mar. 2009.



PAVIA, Donald L. *et al.* **Introdução a Espectroscopia**. 2ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015. 708 p.

PAVLOVIĆ, Dragana Mutavdžić *et al.* Preparation and application of sulfaguanidine-imprinted polymer on solid-phase extraction of pharmaceuticals from water. **Talanta**, v. 131, p. 99-107, Jan. 2015.

PHAM, Quoc Dat *et al.* Mucoadhesion: mucin-polymer molecular interactions. **Int. J. Pharm.**, v. 610, Dec. 2021.

POTAS, Joanna *et al.* Optimization of Multilayer Films Composed of Chitosan and Low-Methoxy Amidated Pectin as Multifunctional Biomaterials for Drug Delivery. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 23, n. 15, p. 8092, Jul. 2022.

PUCETTI, Luca. *et al.* Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of cytosolic/tumor-associated carbonic anhydrase isozymes I, II, IX, and XII with Schiff's bases incorporating chromone and aromatic sulfonamide moieties, and their zinc complexes. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 15, n. 12, p. 3096-3101, Jun. 2005.

QUEIROZ, Moacir Fernandes *et al.* Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation? **Mar. Drugs**, v.13, n. 1, p. 141-158, Dec. 2015.

R. BHUVANESWARI *et al.* Chemisorption of sulfaguanidine and sulfanilamide drugs on bismuthine nanosheet based on first-principles studies. **Applied. Surface Science.**, v. 561, Sep. 2021.

RICACHENEVSKY, Cleber *et al.* Determinação de Fluoxetina em Medicamentos por Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier. **Revista Tecnologia e Tendências**, v. 11, n. 1, p. 149-169, Jan-Jun. 2020.

ROCHA, Iago C. da *et al.* Tratamento Farmacológico do Glaucoma Crônico de Ângulo Aberto. **Revista Cadernos de Medicina**, v. 2, n. 3, p. 117-126, 2019.

RODRIGUES, Ana Filipa Simões. **Imagem de fundo ocular: Análise comparativa de técnicas e de novas tecnologias no diagnóstico oftalmológico da retina – Aplicação Clínica**. 2016. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

RODRIGUES, Livia B. *et al.* *In vitro* release and characterization of chitosan films as dexamethasone carrier. **Int. J. Pharm.**, v. 368, n. 1-2, pages 1-6, Feb. 2009.

RODRIGUES, Patrik Oening *et al.* Equivalência Farmacêutica entre Comprimidos de Propranolol Comercializados no Mercado Nacional. **Infarma**, v. 18, n. ¾, 2006.

RUBIÃO, Francine *et al.* Topical Bimatoprost Insert for Primary Open-Angle Glaucoma and Ocular Hypertension Treatment - A Phase II Controlled Study. **Curr. Drug. Deliv.**, v. 18, n. 7, p. 1022-1026, 2021.

SANTOS, Elaine Pereira dos. **Membranas de Quitosana/Bioativos Naturais com Atividade Antimicrobiana para Tratamento de Lesões Cutâneas**. 2018. 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

SHABBIR, Amsa *et al.* Detection of glaucoma using retinal fundus images: A comprehensive review. **Math. Biosci. Eng.**, v. 18, n. 3, p. 2033-2076, Mar. 2021.

SHALABY, Wesam Shamseldin *et al.* Current and new pharmacotherapeutic approaches for glaucoma. **Expert. Opin. Pharmacother.**, v. 21, n. 16, p. 2027-2040, Nov. 2020.

SHEN, Jie; LU, Guang Wei; HUGHES, Patrick. Targeted Ocular Drug Delivery with Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Considerations. **Pharm. Res.**, v. 35, n. 11, p. 217, Sep. 2018.

SILVA, Beatriz *et al.* Colloidal nanosystems with mucoadhesive properties designed for ocular topical delivery. **Int. J. Pharm.**, v. 606, Sep. 2021.

SILVA, J. R. M. B. da *et al.* Influência do teor de quitosana na morfologia e propriedades térmicas e mecânicas das misturas de polipropileno. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 9, n. 3, p. 137-143, Nov. 2014.

SILVA, Mariana M. *et al.* Chitosan Nanoparticles as a Mucoadhesive Drug Delivery System for Ocular Administration. **Mar. Drugs**, v. 15, n. 12, p. 370, Dec. 2017.

SILVA, Milena Costa *et al.* Avaliação do método de obtenção de scaffolds quitosana/curcumina sobre a estrutura, morfologia e propriedades térmicas. **Revista Matéria**, v. 21, n. 3, p. 560-568, 2016.

SINGH, Rohan B. *et al.* Promising therapeutic drug delivery systems for glaucoma: a comprehensive review. **Ther. Adv. Ophthalmol.**, v. 12, p. 1–17, Mar. 2020.

STORPIRTIS, S. *et al.* **Ciências Farmacêuticas: biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 352 p.

THAN, Aung *et al.* elf-implantable double-layered micro-drug reservoirs for efficient and controlled ocular drug delivery. **Nature communications**, v. 9, p. 1-12, Nov. 2018.

ULUS, Ramazan *et al.* Three-component synthesis and carbonic anhydrase inhibitory properties of novel octahydroacridines incorporating sulfaguanidine scaffold. **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, v. 31 (sup2), p. 63-69, May. 2016.

UMEZURIKE, Benedict C. *et al.* Primary Open Angle Glaucoma: The Pathophysiology, Mechanisms, Future Diagnostic and Therapeutic Directions. **Ophthalmology Research: An International Journal**, v. 10, n. 3, p. 1-17, Jun. 2019.

VERESTIUC, Liliana *et al.* Functionalized chitosan/NIPAM (HEMA) hybrid Polymer networks as inserts for ocular drug delivery: Synthesis, in vitro assessment, and in

vivo evaluation. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 77, n. 4, p. 726-735, Mar. 2006.

WANG, Feifei *et al.* Lollipop-Inspired Multilayered Drug Delivery Hydrogel for Dual Effective, Long-Term, and NIR-Defined Glaucoma Treatment. **Macromol. Biosci.**, v. 21, n. 11, Aug. 2021.

WAYS, Twana Mohammed M. *et al.* Chitosan and Its Derivatives for Application in Mucoadhesive Drug Delivery Systems. **Polymers**, v. 10, n. 3, p. 267, Mar. 2018.

WEINREB, Robert N. *et al.* The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma. **JAMA.**, v. 311, n. 18, p.1901-1904, May. 2014.

WIKSTROM, Hakan; KAKIDAS, Christopher; TAYLOR, Lynne S. *et al.* Determination of hydrate transition temperature using transformation kinetics obtained by Raman spectroscopy. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 49, n. 2, p. 247-252, Feb. 2009.

XUE, Hanqing *et al.* Review of Drug Repositioning Approaches and Resources. **Int. J. Biol. Sci.**, v. 14, n. 10, p. 1232-1244, Jul. 2018.

YADAV, Khushwat S.; RAJPUROHIT, Rahul; SHARMA, Sushmita. Glaucoma: Current treatment and impact of advanced drug delivery systems. **Life Sci.**, v. 15, n. 221, p. 362-376, Mar. 2019.

ZALDIVAR, Mayté Paredes *et al.* Thermal properties, nanoscopic structure and swelling behavior of chitosan/(ureasil–polyethylene oxide hybrid) blends. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 130, p. 791-798, May. 2017.

ZAMBOULIS, Alexandra *et al.* Chitosan and its Derivatives for Ocular Delivery Formulations: Recent Advances and Developments. **Polymers**, v. 12, n. 7, p. 1519, Jul. 2020.