



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS



André de Barros Ferreira

Desenvolvimento e caracterização de filmes *sanduíches* de Poli (ácido lático-co-ácido glicólico) e Colágeno tipo I para uso oftalmológico como suporte em sistemas liberação de drogas

Belo Horizonte - MG

2022



André de Barros Ferreira

Desenvolvimento e caracterização de filmes *sanduíches* de Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e Colágeno tipo I para uso oftalmológico como suporte em sistemas liberação de drogas

Dissertação de mestrado do programa de pós-graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET-MG, na área de concentração de Ciência e Desenvolvimento de Materiais, na Linha de Pesquisa em Biomateriais, para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Materiais.

Área de concentração: Ciência e Desenvolvimento de Materiais

Linha de Pesquisa: Biomateriais

Orientador: Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Kátia Michelle Freitas

Coorientador: Dr. José Aloisio Dias Massote Mourão Oliveira

Belo Horizonte - MG

2022

Ferreira, André de Barros.

F383d Desenvolvimento e caracterização de filmes sanduíches de poli (ácido lático-co-ácido glicólico) e colágeno tipo I para uso oftalmológico como suporte em sistemas liberação de drogas / André de Barros Ferreira. – 2022.

252 f. : il.

Orientador: Sidney Nicodemos da Silva.

Coorientadora: Kátia Michelle Freitas.

Coorientador: José Aloisio Dias Massote Mourão Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Belo Horizonte, 2022.

Bibliografia.

1. Biomateriais. 2. Polímeros conjugados. 3. Poliacido lático. 4. Colágeno. 5. Drogas - Liberação controlada. 6. Oftalmologia. 7. PLGA. I. Silva, Sidney Nicodemos da. II. Freitas, Kátia Michelle. III. Oliveira, José Aloisio Dias Massote Mourão. IV. Título.

CDD: 620.118



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS - NS



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO N° 39/2022 - POSMAT (11.52.07)

N° do Protocolo: 23062.055573/2022-65

Belo Horizonte-MG, 27 de outubro de 2022.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

?DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES SANDUÍCHES DE POLI (ÁCIDO LÁCTICO-CO-ÁCIDO GLICÓLICO) E COLÁGENO TIPO I PARA USO OFTALMOLÓGICO COMO SUPORTE EM SISTEMAS EM LIBERAÇÃO DE DROGAS?

Autor: André de Barros Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou em 28 de outubro de 2022 esta Dissertação:

Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva (ORIENTADOR)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG

Prof.ª Dr.ª Kátia Michelle Freitas (COORIENTADORA)
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. José Aloísio Dias Massote Mourão Oliveira (COORIENTADOR)
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof.ª Dr.ª Ivete Peixoto Pinheiro Silva (EXAMINADOR INTERNO)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET/MG

Prof.ª Dr.ª Nayara Aparecida Neres da Silva (EXAMINADOR EXTERNO)
Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais ? CEFET-MG

(Assinado digitalmente em 21/11/2022 23:47)
IVETE PEIXOTO PINHEIRO SILVA
PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLÓGICO
CAP (11.68.01)
Matricula: ###016#3

(Assinado digitalmente em 07/11/2022 14:32)
NAYARA APARECIDA NERES DA SILVA
PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLÓGICO
DMQTM (11.63.04)
Matricula: ###012#4

(Assinado digitalmente em 08/11/2022 10:52)

SIDNEY NICODEMOS DA SILVA
PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO
DF (11.56.10)
Matricula: ###199#7

(Assinado digitalmente em 08/11/2022 10:25)

KÁTIA MICHELLE FREITAS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.046-##

(Assinado digitalmente em 27/10/2022 18:41)

JOSE ALOISIO DIAS MASSOTE MOURAO
OLIVEIRA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.456-##

Visualize o documento original em <https://sig.cefetmg.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **39**, ano: **2022**, tipo: **ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**, data de emissão: **27/10/2022** e o código de verificação: **68a33c6ac9**

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Caracterização do CEFET-MG e ao Departamento de Engenharia de Materiais, pelo apoio e ajuda nas caracterizações necessárias.

Ao Professor Dr. Sidney Nicodemos da Silva, pelo apoio, incentivo e suporte em todos os momentos.

A Professora Dra. Katia Michelle Freitas, pelo suporte, esforço na coorientação e na parte prática em laboratório.

Ao Dr. José Aloísio Massote Mourão de Oliveira, pelo suporte, pelas orientações textuais e em oftalmologia e pela coorientação.

A Ana Flávia Rodrigues Sales, pelo trabalho que serviu de base para minha pesquisa, e pela disponibilidade na condução do meu estudo.

Às Professoras Dra. Ivete Peixoto e Dra. Nayara Aparecida Neres Silva, pelo aceite em participarem da banca contribuindo com seus conhecimentos.

À Dra. Ângela Andrade Maestrini e ao Dr. José Carlos Bruno, pelos ensinamentos, incentivo e compreensão da minha ausência no trabalho.

A Luciene Aguiar, pela amizade, apoio, incentivo e motivação constante.

Ao Dr. Victor Massote, pela amizade e pelas várias contribuições de seu conhecimento na área oftalmológica.

À Oculare[®] Hospital de Oftalmologia, pelo apoio e incentivo.

À Technodry[®], pelo apoio e fornecimento do colágeno tipo I.

Ao Jorge Wanderson Barbosa pelos ensaios de DRX, FRX e MEV.

A Késsia Drumond e ao departamento de Química do CEFET-MG pelas caracterizações de TG e FTIR.

À professora Sara Dafé do Departamento de Engenharia Mecânica e a técnica Edilene Braga Carvalho pelo ensaio de MEV.

A Camila, e demais alunos de mestrado/IC do Laboratório de Biomateriais, meus agradecimentos pelo apoio na realização de ensaios.

À minha equipe de trabalho, Aline Marra, Ana Luisa, Andrea Dias, Andrea Pujoni, Ariana Pereira, Jerri Braga, Gizelli Oliveira, Glaysa Neves, Helen Alves, Natalia Gomes, Natalia Dias, Paula Fabiana, Rosana Marques, Samira Santos, Thalita Vieira, e Sisley de Fátima, pelo apoio, incentivo e compreensão de minhas ausências.

A toda equipe de coordenação da Oculare, Ana Paula, Djalma Tobias, Jardel Santos, Leandro Lucarelli, Maria Paula, Mariana Pessoa, Naiara Santos, Rafaela Rocha, Renata Oliveira, Ricardo Rodrigues, Tamiris Raissa, Érica Ferreira, pelo suporte e compreensão de minhas ausências.

Ao supervisor do Centro Cirúrgico da Oculare®, Rafael Paz, pela força e incentivo.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo.

À minha amiga Rosana Marques, pelos ensinamentos em oftalmologia.

Aos meus amigos, Breno Las-Cazas, Daniel Braga, Djalma Tobias, Fabiana Melato, Harisson Arantes, Janine Lopes, Leandro Diniz, Leandro Lucarelli, Mariana Saraiva, Renata Oliveira, Ricardo Rodrigues, Rodolfo Carvalho, Thamires Lacerda, e Thiago Victor, pelo apoio e incentivo.

Às bandas Queen Submarine e Rakun, pelo suporte e compreensão do afastamento em virtude dos estudos.

Aos meus familiares Arnont Costa, Lucimar Reis, Yasmim Costa e Ítalo Costa, pelo apoio e incentivo.

À minha irmã Profa. Me. Adriana de Barros Ferreira Cunha, e meu cunhado Prof. Dr. Marcelo La Carretta Enrique López da Cunha Pereira, pelo carinho, por me coorientarem informalmente, e pelas figuras deste trabalho.

Aos meus afilhados Felipe Ferreira Cunha e Sabrina Ferreira Cunha, pelos momentos felizes.

Em especial ao meu pai Carlos Alberto Ferreira e minha mãe Angélica Cinelli de Barros Ferreira, que me apoiaram e incentivaram em todos os momentos.

Em especial, à minha esposa Ana Karina Reis Costa, e nosso filho Heitor Costa Ferreira, pelo apoio e carinho incondicional mesmo nos meus momentos de ausência.

A Deus, pela vida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

Os tratamentos convencionais de doenças do segmento posterior do olho têm efeitos limitados, em decorrência do transporte dos fármacos ao sítio de atuação. Para um melhor prognóstico, além da adesão criteriosa por parte dos pacientes, há necessidade de tratamentos invasivos que oferecem riscos à saúde ocular. Pesquisas ao redor do mundo têm buscado desenvolver biomateriais biodegradáveis com maior versatilidade de aplicações terapêuticas, que proporcionem melhores resultados, maior conforto e adesão. Dentre as aplicações desses biomateriais, está o aprimoramento de sistemas de liberação controlada de drogas na cavidade vítrea. O poli (ácido lático-co-glicólico) – PLGA, já se mostrou como potencial suporte de liberação para um amplo espectro de drogas, como por exemplo, na Clínica Médica, como veículo de transporte de corticosteroides. O colágeno, por sua vez, também é bastante consagrado no desenvolvimento de biomateriais, possuindo características hidrofóbicas e estruturais, que permitem aumentar ou reduzir o tempo de degradação, além de proporcionar um elemento de base para obtenção de filmes conjugados com o PLGA. As metodologias de processamento desses compósitos de PLGA/colágeno descritos na literatura não apresentam performance biofuncional ideal, que o habilite para transporte de fármaco em tratamentos antiangiogênicos (*anti-Vascular Endothelial Growth Factor* ou anti-VEGF), bem como em sistema de liberação de drogas antiglaucomatosas nas dosagens ou prescrições terapêuticas. No presente trabalho, foi desenvolvida e descrita, uma nova metodologia de processamento e conformação, denominadas “Sanduíche” e “Rocamble”, respectivamente, com base nas melhores práticas descritas na literatura. A partir da metodologia proposta, foram desenvolvidos filmes na forma de blenda (PLGA/colágeno) constituída de 75% m/m de PLGA e 25% m/m de colágeno, que possui uma degradação mais lenta, sendo o PLGA composto por 75% m/m PGA e 25% m/m PLA, incorporadas com fármacos antiangiogênico (*Ácido Rosmarínico*) e antiglaucomatoso (*Brimonidina*). Os filmes e blendas produzidos pela nova metodologia foram caracterizados pelos ensaios de Ângulo de Contato, Termogravimetria (TG e DTG), Difratoograma de Raios X (DRX), Fluorescência de Raios X (FRX), Espectroscopia no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR),

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS), e Ensaio de degradação. Os resultados obtidos mostraram que foi possível obter uma blenda conformada através de filme, com deposição de colágeno e PLGA, em camadas, incorporadas com fármacos. A nova metodologia proporcionou uma redução no tempo de processamento e de conformação de 85%, e uso de temperatura mais baixa (40°C), do que os praticados pelos estudos de referência. O processamento em *sanduíche*, com sobreposição de soluções poliméricas, proporcionou a retirada de um conjugado polimérico PLGA/Colágeno em formato de filme medindo 40 mm x 40 mm. A conformação do conjugado em técnica de *rocambolé* permitiu a sobreposição cilíndrica das camadas sem uso de processo de compactação, mantendo uma morfologia porosa. A verificação de reprodutibilidade da metodologia apresentou um nível sigma 3,0 para 4,0, com baixo índice de variação. As blendas produzidas apresentaram um caráter hidrofílico intermediário, compatível para uso como biomaterial bioabsorvível. As técnicas de caracterização não mostraram degradação ou mudança dos grupos funcionais relacionados com a temperatura de processamento. No ensaio de degradação, as blendas tiveram a degradação total somente após 90 dias, sugerindo que a metodologia de processamento e de conformação auxiliaram no controle de degradação. Por meio do FTIR, observou-se que a incorporação das drogas conferiu à blenda a soma das identidades das matrizes dos espectros, sem que ocorresse a formação de novos compostos. O aspecto morfológico da blenda apresentou uma estrutura heterogênea com formação de camadas de espessura de aproximadamente 8,3 µm, além de poros e cavernas intercomunicantes. A morfologia das blendas com drogas sugeriu que houve incorporação pelo sistema matricial e reservatório. A metodologia proposta no presente trabalho mostrou-se eficaz e promissora para transporte de drogas que necessitem liberação controlada.

Palavras-chave: Conformação, processamento, biomateriais, conjugado, poliácido (lático-co-glicólico), colágeno tipo I, liberação de fármacos, glaucoma, degeneração macular, retinopatia diabética, VEGF, oftalmologia.

ABSTRACT

Conventional treatments for diseases of the posterior segment of the eye have limited effects due to the drug transportation to the site of performance. For a better prognosis, in addition to careful compliance by patients, there is the need for invasive treatment that poses risks to eye health. Research around the world has sought to develop biodegradable biomaterials with greater versatility in therapeutic applications, that provide better results, greater comfort, and adherence. Among the applications of these biomaterials, there is the improvement of controlled release systems for drugs in the vitreous chamber. The poly (lactic-co-glycolic acid) - PLGA has already proved itself as potential release support for a wide range of drugs, such as a vehicle for corticosteroid transportation, in Clinical Medicine. Collagen, in its turn, is also widely established in the development of biomaterials, having hydrophobic and structural characteristics, which allow for increased or reduced degradation time, besides as well as providing a building block for obtaining PLGA films. The processing methodologies for these PGLA/collagen composites described in the literature do not present an ideal biofunctional performance that qualifies it for drug transport in anti-angiogenic treatments (*anti-Vascular Endothelial Growth Factor* or anti-VEGF), as well as in antiglaucomatous drug delivery system in therapeutic dosages or prescriptions. In this study, a new processing and conformation methodology was developed and described, respectively called "Sandwich" and "Roulade", based on best practices described in the literature. From the proposed methodology, films were developed in a blend (PLGA/collagen) of 75% m/m of PLGA and 25% m/m of collagen, which has a slower degradation, with PLGA being formed by 75% m/m PGA and 25% m/m PLA, incorporated with anti-angiogenic (*Rosmarinic Acid*) and antiglaucomatous (*Brimonidine*) drugs. The films and blends produced by the new methodology were characterized by the Contact Angle, Thermogravimetry (TG and DTG), X-ray Diffractogram (DRX), X-ray Fluorescence (FRX), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM/EDS) trials, and Degradation Assay. The results obtained show that it was possible to get a blend made through film, with collagen and PGLA decomposition, in layers incorporated with drugs. The new methodology provided a reduction in processing and forming time of 85%, and

the use of lower temperatures (40°C) than those practiced by the reference studies. The “*sandwich*” processing, with overlapping polymeric solutions, provided the removal of a PLGA/Collagen polymeric conjugate in a film format measuring 40 mm x 40 mm. The conformation of the conjugated in a “*rocambole*” technique allowed the cylindrical overlapping of the layers without using a compaction process, maintaining a porous morphology. The reproducibility check of the methodology showed a sigma level of 3.0 to 4.0, with a low variation index. The produced blends presented an intermediate hydrophilic characteristic, compatible with the use as a bioabsorbable biomaterial. The characterization techniques did not show degradation or change in the related functional groups with the processing temperature. In the degradation assay, the blends had total degradation only after 90 days, suggesting that the processing and forming methodology helped control degradation. Through FTIR, it was observed that the drug incorporation gave the blend the sum of the matrix identities of the spectra, without the formation of new compounds. The morphological aspect of the blend presented a heterogeneous structure with the formation of layers approximately 8.3 µm thick, and intercommunicating pores and caves. The morphology of the blends with drugs suggested that there here was the incorporation by the matrix and reservoir system. The methodology proposed in this work has shown to be effective and promising for the transport of drugs that require controlled release.

Keywords: Conformation, processing, biomaterials, conjugated, polyacid (lactic-co-glycolic), collagen type I, drug release, glaucoma, macular degeneration, diabetic retinopathy, VEGF, ophthalmology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho Esquemático da Angiogênese	36
Figura 2 - Desenho esquemático mostrando o desenvolvimento da neovascularização	37
Figura 3 - Retinografia, Angiofluoresceinografia e Tomografia de Coerência Óptica da retina apresentando Edema Macular Diabético.....	40
Figura 4 - Estrutura molecular do Ácido Rosmarínico	43
Figura 5 - Termogravimetria do Ácido Rosmarínico	44
Figura 6 - Estrutura química do Tartarato de Brimonidina	51
Figura 7 - Análise Termogravimétrica do Tartarato de Brimonidina em pó	52
Figura 8 - Dispositivos de drenagem para glaucoma	54
Figura 9 - Implante iStent Inject [®] , titânio revestido de heparina	55
Figura 10 - Difratoograma de Raios X PLGA 75:25.....	62
Figura 11 - Termogravimetria do PLGA 75:25.....	63
Figura 12 – Difratoograma de Raios X da Matriz de Colágeno tipo I.....	64
Figura 13 - Curvas de Termogravimetria e Derivada Termogravimétrica da Matriz de Colágeno tipo I.....	65
Figura 14 - Síntese PLGA	67
Figura 15 - Esquema de processamento em camadas do tipo “sanduíche”	73
Figura 16 - Aspecto do material raspado da placa de petri, produto da solução Colágeno/PLGA	87
Figura 17 - Aspecto da blenda reproduzida pelas técnicas de Curtts (2018)....	88
Figura 18 – Imagem comparativa do aspecto macroscópico da blenda do trabalho de Curtts (2018) e da blenda no presente trabalho	88
Figura 19 – Fotografia com aspecto da solubilização do PLGA em placa de Petri após secagem, comparativo entre solventes	98
Figura 20 - Aspecto da solubilização de colágeno, comparativo entre solventes 1 e 2.....	99
Figura 21 - Aspecto da solubilização de colágeno, após secagem das placas	100
Figura 22 - Esquema de processamento em camadas (sanduiche)	101
Figura 23 - Aspecto do filme polimérico depositado em placa de Petri.....	103

Figura 24 - Extração do filme polimérico (“sanduíche”) da placa de Petri.....	103
Figura 25 – Aspecto macroscópico do filme de colágeno e PLGA	104
Figura 26 - Aspecto final da placa de Petri.....	105
Figura 27 - Filme contendo Brimonidina, após extração da placa de Petri	106
Figura 28 - Filme contendo Ácido Rosmarínico, após extração da placa de Petri	107
Figura 29 - Desenho esquemático do processo de conformação “rocambolé”	108
Figura 30 - Foto macroscópica das blendas conformadas	108
Figura 31 - Ângulo de contato Blenda-0.....	140
Figura 32 - Ângulo de contato Blenda-BR.....	140
Figura 33 - Ângulo de contato Blenda-AR.....	141
Figura 34 - Termogravimetria da matéria-prima PLGA.....	142
Figura 35 - Termogravimetria do colágeno tipo I.....	143
Figura 36 - Termogravimetria da substância ativa Brimonidina	145
Figura 37 - Termogravimetria do Ácido Rosmarínico	146
Figura 38 - Termogravimetria do Filme-0	148
Figura 39 - Termogravimetria do Filme-BR	149
Figura 40 - Termogravimetria do Filme-AR	150
Figura 41 - Termogravimetria da Blenda-0.....	152
Figura 42 - Termogravimetria da Blenda-BR.....	153
Figura 43 - Termogravimetria do Blenda-AR.....	154
Figura 44 - Difratoograma do PLGA.....	156
Figura 45 - Difratoograma do Colágeno tipo I	157
Figura 46 - Difratoograma da Brimonidina.....	158
Figura 47 - Difratoograma do Ácido Rosmarínico.....	159
Figura 48 - Difratoograma da Blenda-0	160
Figura 49 - Difratoograma da Blenda-BR	161
Figura 50 - Difratoograma da Blenda-AR	162
Figura 51 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-0, no ensaio de degradação.....	164
Figura 52 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-BR, no ensaio de degradação.....	165

Figura 53 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-AR, no ensaio de degradação.....	166
Figura 54 – Foto da degradação da blenda-0 por dia.....	167
Figura 55 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de PLGA.....	168
Figura 56 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de colágeno tipo I.....	169
Figura 57 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de Brimonidina	170
Figura 58 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de Ácido Rosmarínico	171
Figura 59 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0	172
Figura 60 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR	173
Figura 61 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR	174
Figura 62 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-0.....	175
Figura 63 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-BR.....	176
Figura 64 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-AR.....	176
Figura 65 - Microscopia eletrônica de varredura logitudinal da Blenda-0 com EDS	177
Figura 66 - Microscopia eletrônica de varredura transversal da Blenda-0	178
Figura 67 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-0 corte longitudinal	178
Figura 68 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-BR corte longitudinal	179
Figura 69 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-AR corte longitudinal	179
Figura 70 - Comparação entre termogravimetrias do PLGA.....	183
Figura 71 - Derivadas PLGA, Colágeno e composto (Filme-0).....	185
Figura 72 - Derivadas PLGA, Colágeno e Brimonidina (Filme-BR)	186
Figura 73 - Derivadas PLGA, Colágeno e Ácido Rosmarínico (Filme-AR).....	187

Figura 74 - Difratoograma do Ácido Rosmarínico em detalhe	192
Figura 75 - Difratoograma da Blenda-0 e das matrizes	193
Figura 76 - Difratoograma da Blenda-BR e das matrizes	194
Figura 77 - Difratoograma da Blenda-AR e das matrizes	195
Figura 78 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0 comparada a das matrizes	199
Figura 79 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0 ampliada	200
Figura 80 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR comparativo com matrizes	201
Figura 81 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR comparativo com matrizes ampliado	202
Figura 82 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR comparativo com matrizes	203
Figura 83 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR comparativo com matrizes ampliado	204
Figura 84 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo com a literatura – Blenda - 0	205
Figura 85 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo (Wang e Blenda-0)	206
Figura 86 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo Blenda-0, Blenda-BR, Blenda-AR.....	207

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabulação dos dados obtidos pelo questionário de avaliação da relevância do uso e desenvolvimento de biomateriais para o mercado de terapêutica em oftalmologia	81
Tabela 2 - Escala Sigma	124
Tabela 3 - Plano de resolução da microscopia Eletrônica de Varredura	136
Tabela 4 - Dados utilizados na construção da curva de calibração da Brimonidina	138
Tabela 5 - Ângulo de Contato das blendas	141
Tabela 6 – Resultado do ensaio de termogravimetria do PLGA com porcentagem de perda de massa.	143
Tabela 7 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Colágeno com porcentagem de perda de massa.....	144
Tabela 8 - Resultado do ensaio de termogravimetria da substância ativa Brimonidina com porcentagem de perda de massa	146
Tabela 9 - Resultado do ensaio de termogravimetria da substância ativa Ácido Rosmarínico com porcentagem de perda de massa	147
Tabela 10 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-0 com porcentagem de perda de massa.....	148
Tabela 11 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-BR com porcentagem de perda de massa.....	150
Tabela 12 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-AR com porcentagem de perda de massa.....	151
Tabela 13 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-0 com porcentagem de perda de massa.....	152
Tabela 14 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-BR com porcentagem de perda de massa.....	154
Tabela 15 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-AR com porcentagem de perda de massa.....	155
Tabela 16 - Porcentagem de peso por dia e por blenda.....	164
Tabela 17 – Elementos químicos da matriz de Bromo e Blenda-BR.....	167

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Processamento e conformação de blendas poliméricas encontradas na literatura	75
Quadro 2 – Relação de Caracterizações.....	128
Quadro 3 - Ângulo de contato da Blenda-0	180

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Principais palavras-chave e sua incidência em trabalhos publicados e levantados pelo presente trabalho	80
Gráfico 2 - Pontuação da relevância dos temas apresentados no questionário e respondido pela equipe médica	82
Gráfico 3 - Relatório resumo para o comprimento das amostras de blenda ...	117
Gráfico 4 - Relatório resumo para o diâmetro das amostras de blenda	118
Gráfico 5 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-0	119
Gráfico 6 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-BR	120
Gráfico 7 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-AR	121
Gráfico 8 - Espectro de varredura da Brimonidina no ultravioleta, λ máximo de absorção em 313 nm	137
Gráfico 9 - Espectro de varredura do ácido rosmarínico no ultravioleta	137
Gráfico 10 - Curva analítica de BR	138
Gráfico 11 - Curva de liberação de Brimonidina por 96 horas após a incubação	139
Gráfico 12 - Perda de massa das blendas após 96 horas de incubação	163

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS:	Acrilonitrila Butadieno Estireno (do inglês: <i>acrylonitrile butadiene styrene</i>)
A.C.:	Antes de Cristo
AR:	Ácido Rosmarínico
AREDS:	Estudo de Doença Ocular Relacionado à Idade (do inglês: <i>Age Related Eye Disease Study</i>)
ADA:	Associação Americana de Diabetes
AFG:	Angiofluoresceínoграфия
AMPc:	Monofosfato Cíclico de Adenosina
AV:	Acuidade Visual
AVE:	Acidente Vascular Encefálico
ATR:	Refletância Total Atenuada (do inglês <i>Attenuated Total Reflectance</i>)
BAV:	Baixa Acentuada de Visão
BET:	Teoria de Adsorção Multimolecular (das iniciais dos sobrenomes dos desenvolvedores Brunauer, Emmett e Teller)
Blenda-0:	Blenda de Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e colágeno sem incorporação de drogas
Blenda-AR:	Blenda de Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e colágeno com incorporação de Ácido Rosmarínico
Blenda-BR:	Blenda de Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) e colágeno com incorporação de Brimonidina
°C:	Grau Celsius
CEFET-MG:	Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais
cm:	Centímetro (s)
DDG:	Dispositivo (s) de Drenagem para Glaucoma
DDS:	Dispositivos de Liberação de Drogas (do inglês: <i>Drug Delivery Systems</i>)
DM:	Diabetes Mellitus
DM1:	Diabetes Mellitus tipo 1

DM2:	Diabetes Mellitus tipo 2
DMF:	Dimetilformamida
DMRI:	Degeneração Macular Relacionada à Idade
DRX:	Difração de raios X
DSC:	Calorimetria Diferencial por Varredura (do inglês, <i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DTG:	Termogravimetria derivada (do inglês, <i>Derived Thermogravimetric</i>)
CBO:	Conselho Brasileiro de Oftalmologia
DEMAT:	Departamento de Engenharia de Materiais
EDC:	1-etil-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
EDS:	Espectroscopia por Energia Dispersiva
EDX:	Espectroscopia de Raios X por Energia Dispersiva
e.g.:	Por exemplo (do latim, <i>exempli gratia</i>)
EMD:	Edema Macular Diabético
EPR:	Epitélio Pigmentar da Retina
ePTFE:	Politetrafluoretileno expandido
EVA:	Acetato Vinilo de Etileno (do inglês, Ethylene Vinyl Acetate)
FDA:	Agência de Fiscalização Sanitária Americana (do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>)
FTIR:	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês <i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>)
FRX:	Espectrometria de Fluorescência de Raios X (do inglês, <i>X-Ray Fluorescence</i>)
GPAA:	Glaucoma Primário de Ângulo Aberto
GPN:	Glaucoma de Pressão Normal
HFIP:	Hexafluoroisopropano (composto, 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol)
HPLC:	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
ICB:	Instituto de Ciências Biológicas
ISO:	Organização Internacional de Normatização (do inglês, <i>International Organization for Standardization</i>)

IV:	Injeção Intra Vítrea
kV:	Quilovolt
LIO:	Lente Intraocular
mA:	Miliampere (s)
MEV:	Microscopia Eletrônica de Varredura
MG:	Minas Gerais
MIGS:	Cirurgias Microinvasiva de Glaucoma (do inglês, <i>Microinvasive Glaucoma Surgery</i>)
min:	Minuto (s)
mL:	Mililitro (s)
mm:	Milímetro (s)
µL:	Microlitro (s)
MNSR:	Membrana Neovascular Subrretiniana
MO:	Microscopia Óptica
Nd-YAG:	Dispositivo de emissão laser de estado sólido de ítrio-alumínio-granada (do inglês, <i>neodymium-doped yttrium aluminium garnet</i>)
	NHS: N-hidroxissuccinimida
OCT:	Tomografia de Coerência Óptica (do inglês, <i>Optical Coherence Tomography</i>)
OMS:	Organização Mundial de Saúde
OS:	Óleo de Silicone
OVR:	Oclusões Venosas da Retina
PDMS:	Polidimetilsiloxano
P.A.:	Para análise
PBS:	Solução tampão fosfato
PLA:	Poli (ácido lático)
PGA:	Poli (ácido glicólico)
PLGA:	Poli (ácido lático-co-ácido glicólico)
PMA:	Polimetil Meta-acrilato
PIO:	Pressão intra Ocular
PUC-MG:	Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
p/v:	Peso por volume

PVA:	Poliacetato de Vinila
RD:	Retinopatia Diabética
ROS:	Espécies reativas do oxigênio (do inglês, <i>Reactive Oxygen Species</i>)
SC:	Santa Catarina
SBF:	Fluído Corporal Simulado (do inglês, <i>Simulated Body Fluid</i>)
SLT:	Trabeculoplastia Seletiva a Laser (do inglês, <i>Selective Laser Trabeculoplasty</i>)
TEM:	Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês, <i>Transmission electron microscopy</i>)
TG:	Termogravimetria (do inglês, <i>Thermogravimetric</i>)
TGA:	Análise termogravimétrica (do inglês, <i>Thermogravimetric Analysis</i>)
UFMG:	Universidade Federal de Minas Gerais
USP:	Universidade São Paulo
VEGF:	Fator de crescimento do endotélio vascular (do inglês, <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)
VVPP:	Vitrectomia Via Pars Plana

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	27
2. OBJETIVOS	30
2.1 Geral	30
2.2 Específicos	30
2.3 Divisão do trabalho	31
3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	32
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	34
4.1 Angiogênese e doenças da retina	34
4.1.1 Angiogênese	35
4.1.2 Degeneração Macular Relacionada à Idade (DMRI)	36
4.1.3 Retinopatia Diabética (RD).....	38
4.2 Tratamentos antiangiogênicos	41
4.2.1 Bevacizumabe.....	41
4.2.2 Ranibizumabe	42
4.2.3 Aflibercept	42
4.2.4 Ácido Rosmarínico	42
4.2.5 Posologia dos antiangiogênicos	44
4.2.6 Injeção intravítrea.....	45
4.3 Doença do nervo óptico	46
4.3.1 Glaucoma.....	47
4.4 Tratamentos do Glaucoma	48
4.4.1 Tratamento farmacológico do Glaucoma.....	49
4.4.2 Brimonidina	51
4.4.3 Tratamento cirúrgico do Glaucoma	52
4.5 Biomateriais	56

4.5.1 Conceito de biomateriais	57
4.5.2 Polímeros	60
4.5.3 Poli (ácido lático-co-ácido glicólico): PLGA	61
4.5.4 Colágeno.....	63
4.5.5 Implantes poliméricos para liberação controlada de drogas, processamento e conformação de blendas e filmes.....	66
4.6 Dispositivos usados na Oftalmologia.....	68
4.6.1 Biomateriais usados em Oftalmologia	69
4.7 Processamento e conformação	72

CAPÍTULO I

Levantamento bibliográfico e aplicação do questionário semiestruturado sobre biomateriais aplicados na área oftalmológica

1. Objetivo	78
2. Materiais e Métodos.....	78
2.1 Materiais	78
2.2 Método	79
3. Resultados.....	79
4. Discussão	82
5. Conclusão.....	83

CAPÍTULO II

Reproduzir o processo de obtenção de blendas copoliméricas conforme Curtts (2018)

1. Objetivo	85
2. Materiais e métodos.....	85
2.1 Materiais	85
2.2 Método	86
3. Resultados.....	87
4. Discussão	88

5. Conclusão.....	89
--------------------------	-----------

CAPÍTULO III

Proposta de um novo método de solubilização e obtenção dos filmes poliméricos e processamento / conformação de blendas

1. Objetivos.....	91
2. Materiais e métodos.....	91
2.1 Materiais	91
2.2 Método	93
2.2.1 Escolha das matérias primas	93
2.2.2 Escolha do solvente	95
2.2.3 Processamento e conformação das blendas	97
3. Resultados.....	97
3.1 Definição da rota de solubilização do PGLA (75:25)	97
3.2 Solubilização do Colágeno tipo I	99
3.3 Processamento do filme.....	101
3.4 Conformação das blendas	107
4. Discussão	109
5. Conclusão.....	112

CAPÍTULO IV

Avaliação da reprodutibilidade da metodologia de processamento dos filmes poliméricos e de conformação pelo método *sanduíche* e *rocambolé*, respectivamente

1. Objetivo	114
2. Materiais e métodos.....	114
2.1 Materiais	114
2.2 Método	115
3. Resultados.....	116
3.1 Comprimento das amostras	117

3.2 Diâmetro das amostras	118
3.3 Peso das amostras	119
3.4 Cálculo do nível Sigma e teste de grupos	122
4. Discussão	122
5. Conclusão.....	124
CAPÍTULO V	
Caracterizações físico-químicas e morfológica de filmes e blendas poliméricos	
1. Objetivos.....	127
2. Materiais e métodos.....	127
2.1 Materiais	128
2.2 Método	129
2.2.1 Determinação do método analítico para quantificação de substâncias incorporadas nas blendas	129
2.2.2 Avaliação da molhabilidade.....	130
2.2.3 Avaliação do perfil térmico	131
2.2.4 Caracterização molecular estrutural	132
2.2.5 Ensaio de degradação	133
2.2.6 Caracterização de elementos químicos.....	133
2.2.7 Caracterização das ligações químicas	134
2.2.8 Caracterização morfológica microscópica	135
3. Resultados.....	136
3.1 Caracterizações físicas	136
3.1.1 Determinação do método analítico para quantificação de substâncias incorporadas nas blendas	136
3.1.2 Molhabilidade – Ângulo de Contato.....	139
3.1.3 Termogravimetria (TG/DTG)	142
3.1.4 Difractometria de Raios-x (DRX).....	155

3.1.5 Ensaio de degradação	162
3.2 Caracterizações Químicas	167
3.2.1 Fluorescência de Raios-X (FRX)	167
3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	168
3.3 Caracterização Morfológica.....	175
3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	175
4. Discussão	180
4.1 Caracterizações físicas	180
4.1.1 Avaliação da molhabilidade.....	180
4.1.2 Avaliação do perfil térmico	182
4.1.3 Difratomia de Raios-x (DRX).....	190
4.1.4 Ensaio de degradação	196
4.2 Caracterizações Químicas	197
4.2.1 Caracterização e elementos químicos (FRX)	197
4.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	197
4.3 Caracterização Morfológica.....	204
4.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	204
5. Conclusão.....	208
4. CONCLUSÃO FINAL	210
5. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS.....	213
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	214
APÊNDICES	235
APÊNDICE A - QUADRO DE AVALIAÇÃO DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA	236
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO DE PESQUISA DO TEMA POR RELEVÂNCIA	240

APÊNDICE C – RESULTADO DO COMPRIMENTO DAS BLENDA.....	241
APÊNDICE D - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE DO COMPRIMENTO DAS BLENDA	243
APÊNDICE E - RESULTADO DO DIÂMETRO DAS BLENDA.....	244
APÊNDICE F - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE DO DIÂMETRO DAS BLENDA	246
APÊNDICE G - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLEND-0..	247
APÊNDICE H - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND- 0.....	248
APÊNDICE I - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLEND-BR.	249
APÊNDICE J - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND- BR.....	250
APÊNDICE K - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLEND- AR.....	251
APÊNDICE L - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND- AR.....	252

1. INTRODUÇÃO

Entre 2010 e 2019, as deficiências visuais representavam 48,1% do total de deficiência física na população brasileira, em que 11 milhões de brasileiros apresentavam alguma baixa de visão caracterizada pela limitação, ou perda das funções básicas do sistema visual (pessoas cegas ou com baixa visão). Em 2015, havia cerca de 485 milhões de pessoas em todo o mundo com algum grau de perda visual, e entre estas, havia 246 milhões com baixa visão e 39 milhões com cegueira total ou legal (não possuindo qualquer sensação visual). Até o final de 2022, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que haverá no mundo 76 milhões de novos casos de pessoas com problemas visuais. Esse número deve-se, principalmente ao aumento do número de pessoas acima dos 65 anos (OTAVIANO et al, 2019; STEVENS et al, 2013; IBGE, 2010; RESNIKOFF et al, 2020).

Nesse cenário, as doenças do segmento posterior do olho são responsáveis por uma grande parcela dos casos de cegueira no mundo inteiro. O grande desafio tem sido a homologação de um protocolo clínico que preconize uma estratégia terapêutica com maior conforto ao paciente. Para isso, vêm sendo desenvolvidos novos biomateriais para tratamento de degenerações retinianas e/ou doenças que atingem os tecidos posteriores do olho, por meio de sistemas de transporte de drogas, biodegradáveis ou não-biodegradáveis. Para a segurança e a eficácia do tratamento, são essenciais, além do transporte, também o controle da taxa de liberação das doses efetivas de agentes farmacológicos, através de biomateriais poliméricos biofuncionalmente projetados para serem implantados diretamente nos locais de tratamento (FIALHO *et al.*, 2007; SILVA et al., 2010; KOST et al., 2012). A cegueira ou baixa visão representa para a sociedade custos econômicos elevados, derivados não só do tratamento em si, como também da incapacidade para o trabalho. O percentual de deficiência visual no Brasil é mais elevado do que a média mundial, por causa do envelhecimento populacional, fatores epigenéticos, falta de diagnóstico e tratamentos profiláticos, e pelo pouco uso de novas terapêuticas (menos invasivas) (STEVENS et al., 2013; OTAVIANO et al., 2019).

Estima-se que 80% dos casos de deficiência visual sejam evitáveis ou tratáveis. Dentre as mais de 80 doenças oculares, a grande maioria é tratável e quase a totalidade pode ser evitada com um bom controle clínico (OTAVIANO et al., 2019;

STEVENS et al., 2013; RESNIKOFF et al., 2020). A DMRI é a maior causa de cegueira irreversível em pessoas acima de 65 anos de idade, e, além da perda acentuada da visão central, o tratamento é complexo, e ainda longe dos padrões clínicos ideais (DAMICO, 2007; NEHEMY, 2006; GARCIA FILHO et al., 2012). A RD está associada a complicações advindas da doença Diabetes Mellitus (DM), e é a maior causa de cegueira em idade laboral em países subdesenvolvidos, que além do déficit na saúde e qualidade de vida do indivíduo, representa impacto financeiro para a sociedade (ALISEDA et al., 2008).

Já dentre as doenças do nervo óptico, o Glaucoma é a mais prevalente, sendo a principal causa de cegueira irreversível no mundo. Trata-se de uma doença com causas ainda não totalmente estabelecidas, que pode ocorrer com ou sem aumento da pressão intraocular, causando perda progressiva irreversível da visão por comprometimento do nervo óptico. As doenças relacionadas anteriormente possuem tratamentos diversos, porém, não são totalmente satisfatórios, apresentam efeitos colaterais, e altos custos (DAMICO, 2007). Tais fatores trazem baixa adesão dos pacientes, custo elevado e conseqüente aumento da população com baixa visão ou cegueira legal.

Nos últimos anos, muitas pesquisas farmacológicas ou de bioengenharia buscam desenvolver biomateriais para uso em sistemas de liberação de drogas com a perspectiva de oferecer tratamentos mais eficazes e minimamente invasivos. Na clínica médica, o uso de biomateriais poliméricos (e.g. polimetilmetacrilato - PMMA) ou de blendas biopoliméricas tem seu processamento e aplicações bem consolidadas, e tem demonstrado potencialidades em implantes ou microcirurgias oftalmológicas, resultando em uma melhora do prognóstico. Porém, o atual desafio em termos de tratamentos com biomateriais nesse campo está relacionado ao aumento da disponibilidade farmacológica e do tempo de degradação dos filmes poliméricos incorporados com drogas, sendo esses dois fatores ligados diretamente ao processo de conformação desses filmes (GUIMARÃES et al, 2013).

Para tal, no presente trabalho, utilizou-se de dados da literatura para propor uma nova técnica de processamento e de conformação, partindo da variação das técnicas de processamento e modelagem da literatura, que possibilitassem um melhor transporte de substâncias, e conseqüente controle do tempo de degradação ideal. Buscou-se entender os mecanismos que influenciam diretamente a cinética de

liberação dos agentes terapêuticos ativos. Na literatura, é demonstrado que o Estado da Arte de um sistema versátil envolve o aperfeiçoamento de sistemas para a liberação controlada de fármacos e encapsulação de moléculas bioativas baseados em filmes poliméricos nanoestruturados de liberação lenta, ou seja, que apresentem potencial biofuncional para administração da dose terapêutica por um tempo mais prolongado. Assim, nesse trabalho, foram estudados os principais sistemas poliméricos usados na área oftálmica, biodegradáveis e não degradáveis, que possibilitassem o desenvolvimento de uma nova estratégia para a veiculação de ingredientes ativos, podendo ser aplicados em diferentes regiões do olho. O sucesso clínico de um sistema de liberação controlada de fármacos deve possibilitar que o perfil de concentração da droga se mantenha constante, dentro da faixa terapêutica, promovendo, dessa forma, aumento do índice terapêutico, com a máxima segurança e eficácia, e sobretudo maior conforto ao paciente, o que se reflete em maior adesão do paciente ao tratamento, evitando-se assim efeitos colaterais adversos, quando comparado aos métodos convencionais de administração (KIMURA et al, 2001; HASHIZOE et al, 1994; COLTHURST, 2000)

Atualmente, diferentes sistemas, tais como os implantes sólidos, micro e nanopartículas, os lipossomos e a iontoforese, têm sido estudados como potenciais agentes no transporte prolongado de drogas (RUBSAMEN et al, 1994; HERRERO-VANRELL et al, 2001; MORITERA et al, 1991; SHARMA et al, 1997). Assim, no presente trabalho foram utilizados os dados da literatura para propor uma variação nas técnicas de processamento e conformação, que possibilitem um melhor transporte de substâncias e consequente tempo de degradação ideal.

Para isso, serão apresentados os resultados de pesquisa envolvendo o corpo clínico de um Hospital de oftalmologia que reforçam a importância do uso do biomaterial na área oftalmológica e evidenciaram a necessidade de desenvolvimento e investimentos em novos biomateriais para o mercado. A partir de dados da literatura, determinou-se novo método de processamento e de conformação de uma blenda polimérica PLGA/Colágeno, que resultou em um biomaterial poroso e promissor sistema de aprisionamento e liberação de drogas. A partir da blenda confeccionada, foram realizados ensaios de reprodutibilidade do método, assim como testes físicos, químicos e morfológicos.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Desenvolver um método simples de confecção de blendas poliméricas de Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) e colágeno tipo 1 contendo substâncias ativas (ácido rosmarínico e brimonidina), assim como caracterizá-las físico-química e morfológica visando um potencial sistema de liberação de drogas aplicável na área oftálmica.

2.2 Específicos

- Levantar os dados na área médica por meio do questionário semiestruturado sobre a necessidade de novos biomateriais para área para a oftalmologia;
- Definir uma rota de solubilização do PLGA/colágeno e confecção de um filme polimérico moldável incorporado ou não com ácido rosmarínico e brimonidina;
- A partir da literatura, propor um novo método de processamento e conformação para obtenção de blendas poliméricas de PLGA/colágeno contendo ou não as substâncias ativas
- Caracterizar físico-química e morfológica filmes e blendas incorporadas ou não com as substâncias ativas, avaliando:
 - ✓ A molhabilidade por ensaio de ângulo de contato;
 - ✓ Perfil térmico por meio da análise de Termogravimetria (TGA);
 - ✓ Fases amorfa e cristalinas das blendas e das matérias primas por meio de Difração de Raios X (DRX);
 - ✓ A degradação hidrolítica das blendas processadas e conformadas pelo Ensaio de Degradação;
 - ✓ A composição química elementar por Espectrometria de Fluorescência de Raios X (FRX);
 - ✓ Perfil das bandas de absorção dos constituintes químicos por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR);
 - ✓ A morfologia quanto ao tamanho, espessura e porosidade por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

2.3 Divisão do trabalho

Com o intuito de permitir uma leitura concatenada e dar maior organização das etapas na condução do estudo, o presente trabalho foi dividido em cinco partes:

- Capítulo I – Levantamento bibliográfico e aplicação do questionário semiestruturado sobre biomateriais aplicados na área oftalmológica;
- Capítulo II – Reproduzir o processo de obtenção de blendas copolímeras conforme Curtts (2018);
- Capítulo III – Proposta de um novo método de solubilização e obtenção dos filmes poliméricos e processamento/ conformação de blendas;
- Capítulo IV – Avaliação da reprodutibilidade da metodologia de processamento dos filmes poliméricos e de conformação pelo método *sanduíche* e *rocambole*, respectivamente;
- Capítulo V – Caracterizações físico-químicas e morfológica de filmes e blendas poliméricos.

3 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Diferentes sistemas de transporte e liberação controlada de drogas têm sido desenvolvidos nos últimos anos objetivando um tratamento terapêutico mais duradouro, acessível e que garanta maior conforto ao paciente (SOUZA, 2015; CURTTS, 2018). Tais sistemas proporcionam inúmeras vantagens, tais como: aumento da biodisponibilidade e da concentração local da droga, e alcance especificamente a um tipo de tecido ou célula, redução da frequência e desconforto das injeções intraoculares (FIALHO e CUNHA, 2013; HENRIQUES, 2014).

Diferentes polímeros são empregados para a produção desses biomateriais (biodegradáveis ou não-biodegradáveis) assim como, diversas formulações com o uso de substâncias orgânicas complexas, por exemplo, as biomacromoléculas (carboidratos, lipídios, proteínas, colágenos e ácidos nucleicos) resultando em sistemas micro ou nanoparticulado ou em microesferas. Os biomateriais poliméricos biodegradáveis constituídos de PLGA são amplamente usados no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos em diversas áreas médicas, inclusive a oftalmológica. Os implantes de sistema controlado apresentam uma cinética de liberação mais prolongada, podendo ser potencialmente empregados nas doenças proliferativas da retina DMRI e RD e no glaucoma, que são hoje, responsáveis por cerca de 2/3 dos casos de cegueira irreversíveis no mundo (STEVENS et al, 2013; OTAVIANO et al, 2019; RESNIKOFF et al, 2020).

Nas doenças proliferativas, o tratamento dá-se por ativos moleculares que se ligam aos receptores VEGF (Fator de crescimento do endotélio vascular - do inglês, *Vascular Endothelial Growth Factor*) ou corticosteróides, estes exercem uma inibição da neovascularização e assim um controle da doença. Essas drogas são administradas diretamente no vítreo, porém podem ser degradados rapidamente e assim necessitam de repetidas injeções e risco de infecção, sangramento e até descolamento de retina (DAMICO, 2007; ALISEDA et al, 2008; KLIFFEN et al, 1997).

Nas doenças glaucomatosas, o tratamento e manutenção tornam-se um desafio. É comum pacientes não aderirem corretamente ao tratamento devido a três fatores: esquecerem de administrar o colírio de uso diário, custo elevado do fármaco, e conservação da medicação, visto que alguns colírios devem ser conservados em

geladeira. Esses fatores, em sua maioria, resultam numa acentuada perda irreversível da visão. Os procedimentos cirúrgicos glaucomatosos, apesar de serem eficazes, também apresentam alguns obstáculos relacionados à manutenção do funcionamento da cirurgia, e custo. Recentemente, as Cirurgias Minimamente Invasivas para Glaucoma têm apresentado grandes avanços no tratamento graças ao desenvolvimento de biomateriais de escala micro e nano, porém, os custos do material e do implante tornam esses tratamentos inacessíveis para a maioria da população brasileira, além de não serem indicados para os casos mais avançados da doença (KHOUBEH et al, 1991; RAMALHO et al, 2007).

Nesse sentido, têm-se buscado desenvolver novos biomateriais baseados em combinações de matérias primas de baixo custo e de fonte abundante. Dentre diversos polímeros, o colágeno apresenta vantagens desde a estrutura química às propriedades mecânicas que favorecem a formação de uma rede complexa polimérica capaz de aprisionar fármacos, além de apresentarem grande biocompatibilidade e funcionabilidade. Esse polímero é amplamente empregado na Engenharia de Tecidos na obtenção de “*scaffolds*”, onde o colágeno mostrou-se compatível e seguro (YÜKSEL et al, 2002; TABATA, 2009).

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Angiogênese e doenças da retina

A retina é uma camada fina de tecido nervoso formada por uma união de células, entre elas, a fotorreceptora. As células fotorreceptoras são células semineuronais, sensíveis ao estímulo luminoso, que tem a função de transformar luz em estímulo nervoso através da sinapse de impulsos elétricos enviados por meio do nervo óptico ao cérebro. Há uma série de doenças, que podem afetar o funcionamento normal dessas células, sendo as mais prevalentes as doenças retinianas (MOHAMED, 2017; NEHEMY, 2006; KLEIN et al, 2009):

A Retinopatia Diabética (RD) é apontada como a principal causa de cegueira em pacientes com idade laboral e é uma complicação oftalmológica do diabetes mellitus. A RD se divide em dois estágios: não-proliferativo e proliferativo, que possuem tratamentos diferenciados que, dependendo do quadro, pode ser por fotocoagulação a laser, cirurgia (vitrectomia), ou injeção de anti-angiogênicos (NEHEMY, 1998; KLEIN et al, 2009, INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2022).

A DMRI é a maior causa de cegueira central irreversível em pessoas acima de 65 anos de idade. Geralmente acomete indivíduos acima de 65 anos e tem causas multifatoriais, ainda não completamente estabelecidas. Pessoas de pele clara com olhos azuis ou verdes, fumantes e hipertensos, fazem parte do grupo de risco. Ela pode se apresentar em duas formas distintas: seca (atrófica) ou exsudativa. Para a forma exsudativa o tratamento com prognóstico melhor é a injeção intravítrea de anti-angiogênicos (NEHEMY, 2006; GEITZENAUER et al, 2008).

O Descolamento de Retina (DR) caracteriza-se pelo descolamento da retina neurosensorial do epitélio pigmentar da retina (EPR). Pode acontecer em qualquer fase da vida sendo mais comum ocorrer de forma espontânea, mas também pode estar relacionado a traumas, hemorragias retinianas, alta miopia, complicações da RD e da DMRI, ou de forma regmatogênica ocasionada pelo descolamento do vítreo posterior. Na maioria dos casos, o tratamento requer intervenção cirúrgica em caráter de urgência, devido à morte celular da região macular. Para quadros iniciais, em que o descolamento é periférico, poder ser indicado o laser ou a crioterapia (congelamento) (KLIFFEN et al, 1997; DONATI et al, 2014).

Essas doenças podem ocorrer gradativamente de forma silenciosa, percebidas já em estágios avançados, dificultando o tratamento. Alterações na retina também podem indicar risco de perda parcial ou mesmo total da visão, dependendo da região supostamente afetada (MOHAMED, 2017; NEHEMY, 1998, 2006; KLEIN et al, 2009).

A tomografia de Coerência Óptica (OCT) é o exame mais importante para o diagnóstico e acompanhamento das enfermidades da retina, entretanto, para alguns casos, pode ser necessário indicar a realização de retinografia com ou sem fluorescência. Os tratamentos para as doenças da retina são variados, e devem ser escolhidos após a avaliação da retina, que pode auxiliar no diagnóstico dos males mais comuns (LEUNG et al, 1989; KLIFFEN et al, 1997).

4.1.1 Angiogênese

A angiogênese, ou seja, a criação de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes, é essencial no desenvolvimento normal e na homeostase de tecidos, mas pode também aparecer de forma patológica em uma série de transtornos, como tentativa de reparação de danos teciduais através de formação dos neovasos (GUIMARÃES et al, 2013, RESNIKOFF et al, 2020). O Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF - do inglês, *vascular endothelial growth factor*), isolado pela primeira vez em 1983, é o elemento fundamental na angiogênese. A angiogênese envolve um complexo equilíbrio de inibidores e ativadores do complexo de formação e de permeabilidade dos vasos (WILLIAMS, 2009; CAPP et al, 2009). O VEGF é produzido por macrófagos, linfócitos T e células tumorais, sendo multifuncional na complexidade da formação dos vasos, atraindo as células progenitoras provenientes da medula óssea, e também regulando a mitose e a taxa de sobrevivência de células endoteliais (Figura 1). Nos seres humanos, coexistem quatro isoformas da molécula de VEGF biologicamente ativas, contendo 121, 165, 189 e 206 aminoácidos, cada uma desempenhando um papel diferente no processo de angiogênese (CAPP et al, 2009; LEUNG et al, 1989).

Figura 1 - Desenho Esquemático da Angiogênese

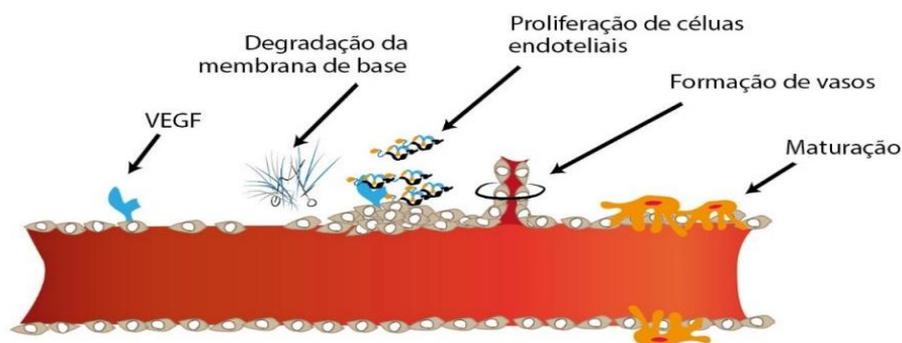


Figura mostra esquematicamente, da esquerda para a direita, as etapas da angiogênese, da ativação do VEGF à Maturação dos vasos.

Fonte: do autor.

O VEGF¹⁶⁵ (VEGF-A), mais predominante no olho humano, é o indutor de permeabilidade vascular mais potente, aproximadamente 50.000 vezes mais potente do que a histamina. O VEGF-A foi encontrado no humor vítreo, e principalmente no Epitélio Pigmentar da Retina (EPR) de pacientes com DMRI e RD. No olho, o VEGF é produzido pelas células do EPR, onde o aumento de sua produção ocorre em condições de hipóxia (LEUNG et al, 1989; SENGER et al, 1990; WELLS et al, 1996).

A RD e a DMRI são diretamente influenciadas pelo VEGF e pela má perfusão do endotélio, na reestruturação não fisiológica da retina. Uma característica patológica em comum da DMRI e da RD no desencadeamento do complexo VEGF, é a presença de algum grau de lesão da membrana de Bruch na região macular (KLIFFEN et al, 1997).

4.1.2 Degeneração Macular Relacionada à Idade (DMRI)

A DMRI é a principal causa de cegueira central, em pessoas acima de 65 anos. Em 2017, 30% da população americana com idade igual ou superior a 75 anos apresentava algum grau da doença. Embora a prevenção dessa doença tenha ampliado nos últimos anos, com o uso de vitaminas, a mesma não possui tratamento eficaz para casos mais avançados (OTAVIANO et al, 2019; WELLS et al, 1996; PHAM et al, 2009).

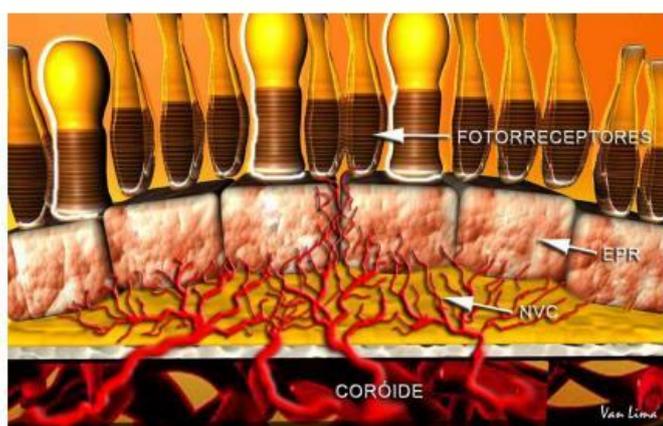
A DMRI é uma doença oxidativa, multifatorial, na qual as causas ainda não foram completamente estabelecidas. Sabe-se que a etnia caucasiana, idade,

hipertensão arterial, aterosclerose, tabagismo, e polimorfismos genéticos são causas do seu desenvolvimento (ADAMIS et al, 1994; BRESSLER, 2004).

A DMRI apresenta-se em duas formas clássicas: Atrófica (“seca”) e Exsudativa (“úmida”). A forma atrófica, mais comum, não possui tratamento, e pode ou não culminar na perda da visão central. A forma exsudativa caracteriza-se pela neovascularização anormal na região macular, com formação de uma Membrana Neovascular Subretiniana (MNSR). A neovascularização macular promove um acúmulo de fluido no espaço sub-retiniano, intrarretiniano ou abaixo do EPR, e esses vasos anormais podem romper, extravasando seu conteúdo e levando à perda acentuada da visão central (NEHEMY, 2006; BRESSELER, 2004).

A DMRI desencadeia um processo de oxidação, com acúmulo de resíduos metabólicos no espaço subretiniano, resultando no encapsulamento dos restos celulares (drusas), entre a membrana de Bruch e o EPR. O acúmulo de substâncias e encapsulamento destas inicia um processo inflamatório, associado à baixa difusão de oxigênio e nutrientes para a retina, causando hipóxia às células do EPR, que aumentam a produção de VEGF, desencadeando crescimento anormal de vasos, levando à baixa visão central (NEHEMY, 2006; COLQUITT et al, 2009) (Figura 2).

Figura 2 - Desenho esquemático mostrando o desenvolvimento da neovascularização



Desenho esquemático mostrando a neovascularização do EPR no sentido orgânico Coróide para Fotorreceptores.

Fonte: ISAAC, 1993.

Segundo Isaac (1993), nas últimas três décadas, obteve-se grandes avanços na prevenção da DMRI. Um importante estudo multicêntrico, denominado Age-Related Eye Disease Study (AREDS), demonstrou que a ingestão de uma combinação

de beta-caroteno (15 mg), vitamina C (500 mg), vitamina E (400 UI), cobre (2 mg) e zinco (80 mg), reduz a incidência da forma grave da doença.

Atualmente, o único tratamento para a DMRI exsudativa consiste na aplicação de fármacos antiangiogênicos (anti-VEGF), por administração intravítrea, destacando para esse uso os medicamentos Bevacizumabe (Avastin®), Ranibizumabe (Lucentis®), Aflibercepte (Eylia®) (GARCIA FILHO et al, 2012; AREDS, 2002).

4.1.3 Retinopatia Diabética (RD)

Diabetes Mellitus (DM) é uma doença causada pela ausência absoluta ou relativa na produção de insulina, ou falta do complexo receptor de insulina. O DM é um grupo de distúrbios metabólicos que apresentam, como resultado, o aumento dos níveis séricos de glicose, resultante de defeitos na secreção da insulina, em sua ação metabólica ou em ambas. A OMS e a Associação Americana de Diabetes (ADA) classificam o DM em quatro classes clínicas: DM tipo 1 (DM1), DM tipo 2 (DM2), outros tipos específicos de DM e gestacional. No DM1, ocorre a destruição autoimune das células beta pancreáticas, o que leva à falta sistêmica de insulina. No DM2, ocorre produção e ação insuficiente da insulina, que prejudica o controle dos níveis glicêmicos. O DM é a principal causa de acidente vascular encefálico (AVE), insuficiência renal crônica, infarto do miocárdio, amputações não traumáticas e cegueira reversível e irreversível (YANNUZZI et al, 2001; RODRIGUES et al, 2010; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019).

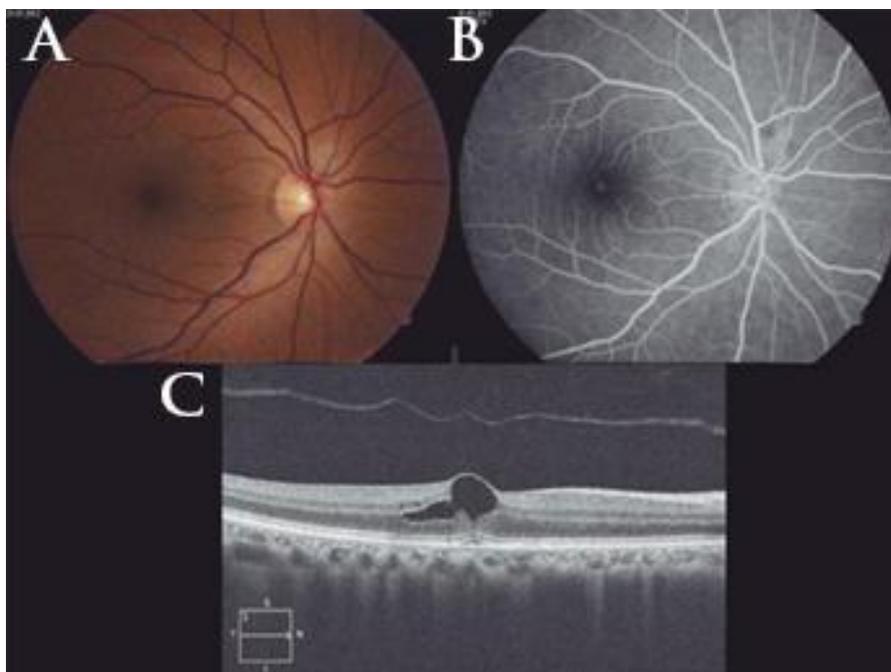
A Retinopatia Diabética (RD) é uma doença oftalmológica, que acomete a retina de pessoas com DM descompensada. A RD é a segunda maior causa de cegueira reversível no mundo, e a maior causa de cegueira em pessoas em idade laboral no mundo (OTAVIANO et al, 2019; AREDS, 2002). De acordo com Yannuzzi (2001), os fatores de risco da retinopatia diabética abrangem situações de descontrole da glicemia que são: Níveis de hiperglicemia, o tempo da diabetes mellitus sem controle, pressão arterial elevada e fatores genéticos. A RD desenvolve-se no mesmo princípio da DMRI, com ativação do VEGF, porém, ao invés de um processo de oxidação, ocorre alteração na permeabilidade dos vasos e/ou perda da rede capilar, ocasionada pela alta glicemia, o que acarreta em um quadro de hipóxia da retina, desencadeando o fator VEGF (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017;

NEHEMY, 1998). DM tem um caráter progressivo, que pode evoluir de um estágio inicial não-proliferativo, caracterizado pela formação de microaneurismas na retina, para um quadro proliferativo, onde há neovascularização no disco óptico e retina, podendo chegar ao segmento anterior do olho. O crescimento e rompimento dos neovasos podem causar sangramentos extensos na cavidade vítrea, que podem ocasionar o descolamento de retina tracional (STEVENS et al, 2013; GUEDES, 2007; IMESCH et al, 1997; NATHAN, 1993).

Os pacientes com quadro de RD estão sujeitos à ocorrência do Edema Macular Diabético (EMD), quando há formação de edema na região macular. O EMD é mais prevalente em pacientes DM2, e devido ao comprometimento da região macular, é uma das causas mais importantes de deficiência visual em diabéticos. O EMD ocorre devido ao extravasamento de fluidos, lipídios e proteínas na região da mácula, em decorrência da alteração da permeabilidade vascular, que causa hipóxia associada à inflamação, aumentando, o VEGF (SCHRÖDER et al, 1991; MOHAMED et al, 2017).

O EMD e a RD possuem tratamentos consolidados, clinicamente escolhidos de acordo com o estágio da doença. Em casos iniciais, sem proliferação, onde há microaneurismas e áreas de má perfusão, é indicado o uso de terapias com laser (fotocoagulação), que usa o calor do laser para cauterizar as áreas de má perfusão. Em casos mais graves, proliferativos, hemorrágicos e que apresentem descolamento da retina, podem ser tratados com a Vitrectomia Via Pars Plana (VVPP), procedimento cirúrgico que consiste na retirada do vítreo e de suas trações, além de hemorragias, permitindo a adesão da retina à coroide (TINE et al, 2016; VARMA et al, 2014). Observa-se na Figura 3 uma retinografia (A), uma angiofluoresceinografia (B) e uma Tomografia de Coerência Óptica da retina (OCT) (C).

Figura 3 - Retinografia, Angiofluoresceinografia e Tomografia de Coerência Óptica da retina apresentando Edema Macular Diabético



Legenda: Retinografia do segmento posterior, com área de edema na região macular, não se evidencia presença de drusas (A); Angiofluoresceinografia com área de hiperfluorescência em região macular evidenciando edema macular, sem evidências de drusas ou extravasamentos periféricos (B). Tomografia de Coerência Óptica evidenciando edema macular intrarretiniano.
 Fonte: do autor, gentilmente cedida pela Oculare Hospital de Oftalmologia (2022).

Os corticosteróides (esteróides), são amplamente usados associados nos casos não proliferativos, com o objetivo de reduzir a inflamação. Os corticosteróides são hoje ministrados por meio intravítreo, de liberação prolongada (Ozurdex®), ou de depósito (triancinolona) (ALISEDA, et al, 2007). Em casos iniciais e até mesmo em casos graves de estágios proliferativos, o cirurgião pode optar pelo tratamento com antiangiogênico, que pode ser associado a laser ou Vitrectomia Via Pars Plana (VVPP). Estudos variados evidenciaram a segurança e a eficácia de drogas antiangiogênicas no tratamento do edema macular diabético, com resultados satisfatórios na recuperação da visão e no retardo da neovascularização. A medicação intraocular de corticoide disponível no mercado é o Ozurdex® (Polímero biodegradável intra vítreo de liberação controlada de dexametasona), produzido pela Allergan® (DIABETES ASSOCIATION, 2019; KLEIN et al, 2019, BUCHAIM et al, 2013). As medicações antiangiogênicas disponíveis no mercado são as mesmas utilizadas na DMRI, Bevacizumabe (Avastin®), Ranibizumabe (Lucentis®), Aflibercepte (Eylia®), que

serão mais profundamente abordadas no capítulo seguinte (GARCIA FILHO et al, 2012; AREDS, 2002; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2019; BUCHAIM et al, 2013; RCM OZURDEX®, 2010).

4.2 Tratamentos antiangiogênicos

A terapia antiangiogênica é um procedimento cada vez mais utilizado no tratamento de doenças que afetam a retina. A técnica surgiu há cerca de 20 anos, e trata-se da aplicação de fármacos que diminuem a proliferação e a permeabilidade de vasos sanguíneos no interior dos olhos. A seguir serão descritos os três tipos de medicamentos antiangiogênicos aprovados para uso ocular pela Anvisa: Bevacizumabe (Avastin®), de uso *off label*; Ranibizumabe (Lucentis®); Aflibercept (Eylea®), além do Ácido Rosmarínico ainda em pesquisas *in vitro* (BEER et al, 2016; GEITZENAUER, 2006; BOYER et al, 2009; HOLASH et al, 2002).

4.2.1 Bevacizumabe

O bevacizumabe (Avastin®), produzido pela Roche®, é um anticorpo monoclonal humanizado (93% humano e 7% murino), que bloqueia a ação do VEGF, aprovado pela agência americana *Food and Drug Administration* (FDA), para tratamento do câncer colo-retal, câncer de mama, pulmão e rim (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2000). Estudos mostraram que a ação do bevacizumabe, quando injetado intravítreo, apresentava uma meia vida de 4 a 9 dias, promovendo um bloqueio do VEGF por um período de cerca de 4 semanas após a aplicação intravítrea (RMC OZURDEX, 2010; BEER et al, 2016). O uso do bevacizumabe para o tratamento da DMRI e RD, apesar de ser “*off label*”, é bastante consolidado. Estudos comparativos mostraram segurança e eficácia similar ao ranibizumabe no tratamento da DMRI exsudativa (KROHNE et al, 2008; ZHU et al, 2008; MICHELS et al, 2005; GEITZENAUER et al, 2006; GEITZENAUER et al, 2008).

4.2.2 Ranibizumabe

Ranibizumabe (Lucentis®), produzido pela Novartis®, diferente do bevacizumabe, trata-se apenas de um fragmento de anticorpo. Esse fragmento atua inibindo todas as isoformas de VEGF, e, devido ao seu tamanho de 48kD, penetra mais facilmente na retina. Estudos clínicos fase III como MARINA, ANCHOR, PIER e SAILOR, comprovaram a segurança e eficácia do uso do ranibizumabe no tratamento da DMRI forma exsudativa. O estudo clínico PrONTO forneceu informação sobre a estratégia e dose no tratamento da DMRI exsudativa. Diferentemente do bevacizumabe, o ranibizumabe não é uma droga de uso “*offlabel*”, sendo aprovado pela FDA e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para uso oftalmológico (GEITZENAUER, 2006; BOYER et al, 2009; BROWN et al, 2009; BROWN et al, 2006; REGILO et al, 2009).

4.2.3 Aflibercept

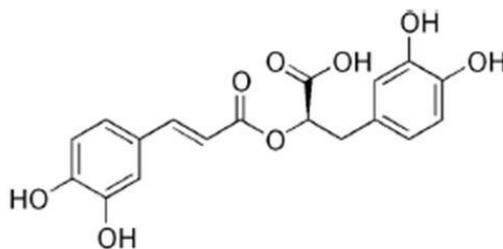
O aflibercept (Eylea®), produzido pela Bayer® e Regeneron Pharmaceuticals®, diferentemente do bevacizumabe e do ranibizumabe, trata-se de uma proteína solúvel, que ligados à porção Fc da imunoglobulina humana IgG1, combinada com componentes da matriz extracelular dos receptores 1 e 2 do VEGF. Estudos evidenciaram que o Aflibercept, por se tratar de uma proteína, tem um poder de penetração nas camadas da retina 200 vezes maior que o ranibizumabe, permitindo a inibição do crescimento vascular endotelial até nas camadas mais profundas. O estudo VIEW III, que compara o uso do aflibercept com o regime mensal de 0.5mg de ranibizumabe, mostrou segurança e melhora anatômica e funcional, especialmente nas doses de 0.5 e de 2mg, com intervalos de 8 semanas entre uma aplicação e outra (LALWANI et al, 2009; HOLASH et al, 2002; NGUYEN et al, 2009; CAO et al, 2006).

4.2.4 Ácido Rosmarínico

Ácido Rosmarínico (AR) é um substrato isolado, em 1958, das folhas de *Rosmarinus officinalis L.*, e apresenta função anti-inflamatória, anti-angiogênica, anti-oxidante, anti-tumoral, anti-alérgica, anti-microbiana, anti-viral e neuroprotetora

(BENZ et al, 2007; RAWAS-QLAJI et al, 2012). Estudos comprovam que o AR inibe as quatro etapas da formação desses novos vasos sanguíneos: a proliferação, a migração, a adesão e a formação de tubo com células endoteliais (VENZ et al, 2007; CURTTS, 2018). Além de reduzir essas atividades, o AR ainda apresentou relação com a diminuição de espécies reativas do oxigênio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*), que possui relação direta com o fator VEGF e, conseqüentemente, com a neovascularização (VIEIRA, 2011; CURTTS, 2018). A estrutura molecular do AR trata-se de um ácido fenólico que apresenta diversas propriedades biológicas (Figura 4). Não há, na literatura, relatos da utilização de AR em processos industriais de fabricação de antiangiogênio (BENZ et al, 2007; RAWAS-QLAJI et al, 2012; VIEIRA, 2011).

Figura 4 - Estrutura molecular do Ácido Rosmarínico



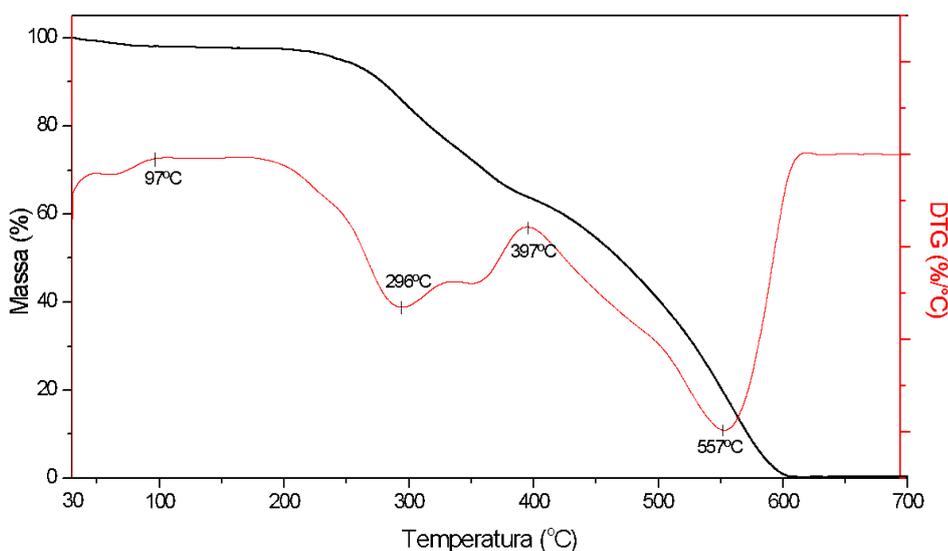
Fórmula molecular: C₁₈H₁₆O₈. Grupos funcionais: Fenil, Éter, Ácido carboxílico.

Fonte: Vieira (2011).

O AR é um material semicristalino, com banda de amorfismo que varia de 10° a 50°, épicos de cristalinidade em praticamente todas as regiões. Seu índice de cristalinidade é de 18% (CURTTS, 2018).

O AR é solúvel em solventes como etanol e metanol, para temperaturas de 20 a 45°C, sendo que, quanto maior a temperatura, maior a solubilidade do ácido. Seu perfil térmico é representado pela análise termogravimétrica (TG) (KIM et al, 2015; KIM et al, 2009; HUANG et al, 2006, MAKADIA et al, 2011; MOURA, 2014) (Figura 5).

Figura 5 - Termogravimetria do Ácido Rosmarínico



Ensaio termogravimétrico do ácido Rosmarínico mostrando valores de 30°C a 700°C, em que se pode observar que a perda de massa significativa ocorre a partir de 200°C
 Fonte: Curtts (2019).

A análise termogravimétrica permite a avaliação do comportamento, em relação a perda de massa (degradação), do material quando submetido a mudança de temperatura. Para a conformação de implantes, é necessário a utilização de calor no preparo da solução. Conforme descrito por Fialho et al (2007, 2003), e Curtts (2018), há necessidade de aquecer o material de 30°C a 40°C para preparo da solução e homogeneização da mesma. Com a análise gravimétrica realizada por Curtts (2018), observa-se que o AR inicia sua decomposição térmica à temperatura de 200°C com carbonização por volta de 400°C. Há uma perda de massa até 97°C, associada à perda de água no composto, o que permite trabalhar a solução com AR até 97°C, sem degradação da matéria prima. Os ensaios de Análise Termogravimétrica descritos na literatura comprovam que o AR sofre apenas perda de água, quando trabalhado até a temperatura de 30° a 40°C (MAKADIA et al, 2011; MOURA, 2014; CURTTTS, 2018).

4.2.5 Posologia dos antiangiogênicos

As três drogas antiangiogênicas produzidas industrialmente (bevacizumab - Avastin®, Ranibizumabe - Lucentis® e Aflibercept - Eylia®), são amplamente usadas, cabendo ao médico oftalmologista a escolha pela droga mais adequada ao caso do paciente. Três fatores influenciam na escolha pelo tipo de fármaco: o aspecto

fisiológico da lesão em relação à localização (presença de líquido sub ou intrarretiniano), resposta ao tratamento anterior (possibilidade de troca de fármaco devido à baixa resposta anterior), e condições sociais do doente para arcar com o custo do tratamento. O bevacizumabe e o Ranibizumabe apresentam a mesma posologia com tratamento inicial de três injeções por olho, com intervalo entre uma dose e outra de 4 semanas. Após a dose inicial, serão realizadas outras injeções, caso o paciente apresente ao exame de OCT ou angiofluoresceinografia (AFG), o crescimento de novos vasos sanguíneos e/ou a persistência de líquido intra ou subretiniano. Também é critério para nova injeção a piora da acuidade visual central, ao exame clínico. No caso do aflibercept, o critério de reaplicação é similar com três doses iniciais, porém, com 12 semanas de intervalos entre as injeções (CURTTS, 2018; BRASIL, 2018). Os riscos e eventos adversos provenientes do tratamento antiangiogênico são ocasionados principalmente pela física da injeção intravítrea, uma vez que os antiangiogênicos intraoculares apresentaram em todos os estudos baixíssimos índices sistêmicos. Os risco e eventos adversos mais comuns foram a hemorragia subconjuntival, a endoftalmite, a uveíte e rotura do EPR (GUIMARAES et al, 2013; MARTIN et al, 2011,77).

4.2.6 Injeção intravítrea

Doenças que acometem o vítreo e a retina têm uma dificuldade maior de tratamento, devido à dificuldade da penetração dos colírios no segmento posterior do olho. A eficácia do tratamento depende, basicamente, do sucesso do transporte de drogas efetivas de agentes farmacológicos para os locais de tratamento. A injeção intravítrea é, hoje, um procedimento eficaz na contribuição da absorção do fármaco com maior eficácia, porém, a injeção, além de altos custos, o uso do centro cirúrgico, e a disponibilidade de tempo do paciente e do médico, ainda oferece o risco adverso de infecção, de aumento da pressão intraocular, e de ocorrência da catarata precoce (MARTIN et al, 2011).

A injeção intravítrea (IV) é uma das mais importantes modalidades terapêuticas na oftalmologia, devido à anatomia ocular proporcionar uma situação privilegiada para a farmacoterapia. O desenvolvimento de medicamentos para a aplicação intra-ocular tem atraído um grande investimento da indústria farmacêutica. A IV é uma técnica de

baixa complexidade, que fornece concentrações adequadas de drogas aplicadas no tecido retiniano (FIALHO et al, 2003; AIELLO et al, 2004).

Segundo Rodrigues (2008), o procedimento é realizado em centro cirúrgico, com uso de luvas estéreis e máscara, pelo cirurgião, onde o paciente será submetido à dilatação da pupila, anestesia local com gel anestésico de Xilocaína, antissepsia pré-operatória com colírio de iodo-povidona 5%, ou clorexidina (caso paciente alérgico a iodo). O olho é exposto com blefarostato estéril, e, para evitar o contato entre agulha e as pálpebras e cílios, é inserido proteção com “*sterile-drape*”. O cirurgião, retinólogo, insere a agulha a 3,5 - 4 mm do limbo e até 6 mm de profundidade na cavidade vítrea, onde é injetada a medicação.

Os riscos e complicações da IV estão relacionadas ao procedimento em si que incluem: Endoftalmite, aumento da pressão intraocular com oclusão da artéria central da retina, desepitelização de córnea e catarata traumática. Para o paciente, mesmo não ocorrendo eventos adversos, há a desvantagem no tempo de procedimento, que apesar de simples, requer preparo e burocracia, que podem demandar de uma a duas horas, para cada procedimento. Para que a concentração do fármaco seja mantida em níveis terapêuticos, é necessária a aplicação repetida de injeções no interior da cavidade vítrea, que, além dos riscos já mencionados, ainda há desconforto ao paciente. Dessa maneira, sistemas alternativos de liberação de medicamento por período mais prolongado, com o objetivo de manter as concentrações de drogas no segmento posterior do olho, com maior conforto ao paciente, têm sido objeto de vários estudos (RODRIGUES et al, 2008; JAISSE et al, 2005; TA, 2004; FIALHO, 2013, 2020).

4.3 Doença do nervo óptico

Geralmente, as lesões do nervo óptico ou da camada de fibras nervosas da retina resultam em perdas da visão, que atingem inicialmente a região periférica da visão. Em uma estrutura denominada quiasma (cruzamento de fibras de neurônios dos dois nervos ópticos), cada nervo óptico se divide e metade das suas fibras se cruza até o lado oposto. O nervo óptico pode ser danificado por determinados tipos de doenças oculares como por exemplo o glaucoma, a neurite óptica, entre outras lesões, descritas a seguir (DEMARCO et al, 2002; RAMALHO et al, 2007; QUIGLEY et al, 2006).

4.3.1 Glaucoma

O glaucoma é a segunda maior causa de cegueira e a mais importante causa de cegueira irreversível no mundo. Trata-se de uma neuropatia óptica, caracterizada por perda de campo visual e lesão do nervo óptico. Em 2007, de acordo com a OMS, o glaucoma era responsável por cerca de 13% da cegueira global. Em 2011 estimava-se que, em dez anos, o glaucoma atingiria cerca de 2 a 3% da população mundial, correspondente a quase oitenta milhões de pessoas (RAMALHO et al, 2007; SOUZA et al, 2011). Em 2013, o Conselho Brasileiro de Oftalmologia (CBO) estimava que existam 985 mil portadores de glaucoma no Brasil, e que mais 70% ainda não tinham o diagnóstico estabelecido (MICHELE et al, 2013; QUIGLEY et al, 2006).

Glaucoma é uma doença crônica, multifatorial, que não tem cura, e 80% dos casos são assintomáticos no início da doença. O diagnóstico ocorre, na maioria das vezes, somente quando o paciente procura o oftalmologista, devido a uma baixa de visão (BAV). O principal fator de risco é o aumento da pressão intraocular (PIO), porém existem ocorrências do glaucoma com pressão baixa, e outros fatores de risco que favorecem a ocorrência da doença, como idade avançada, DM, raça negra, hereditariedade e miopia elevada. O glaucoma é subdividido em cinco manifestações relacionadas a achados clínicos: Glaucoma Primário de ângulo Aberto (GPAA), Glaucoma de Pressão Normal (GPN), Glaucoma Primário de Ângulo Fechado, Glaucoma Congênito e Glaucomas Secundários (QUIGLEY et al, 2006; DEMARCO, et al, 2002).

Glaucoma Primário de Ângulo Aberto (também chamado de glaucoma crônico simples), ocorre quando o ângulo da câmara anterior apresenta aspecto normal, mesmo com a pressão intraocular elevada. A manifestação patológica desse glaucoma dá-se pela dificuldade de escoamento do humor aquoso pelo trabeculado (GONCALVES et al, 2013).

Glaucoma de Pressão Normal, também conhecido como glaucoma de baixa pressão, é caracterizado por uma neuropatia óptica (aumento da relação escavação do disco óptico), e defeito de campo visual, com PIO dentro dos limites normais. Os fatores de risco para a ocorrência desse tipo de glaucoma, não são totalmente estabelecidos, mas sabe-se que esse quadro é mais comum em pessoas com história de doenças cardiovasculares e de origem japonesa (DEMARCO et al, 2002).

O Glaucoma Primário de Ângulo Fechado, também conhecido como glaucoma de ângulo estreito, é caracterizado pelo aumento da PIO devido à justaposição da íris sobre a malha do trabeculado, que acarreta no fechamento do ângulo e na diminuição do fluxo de drenagem. Na maioria dos casos, essa manifestação do Glaucoma ocorre em olhos com o segmento anterior pequeno e cristalinos grandes. O Glaucoma Primário de Ângulo Fechado é dividido em agudo, subagudo e crônico, dependendo das condições clínicas e sintomas. Um dos fatores que pode desencadear uma crise aguda é a midríase ocasionada por exposição prolongada ao escuro, medicamentos e fatores psicológicos. A crise aguda apresenta fortes dores no olho e na cabeça com queda da acuidade visual e hiperemia ocular. O tipo crônico não apresenta sintomas (DEMARCO et al, 2002; GONCALVES et al, 2013; OLIVEIRA, 2017).

O glaucoma congênito é a obstrução da drenagem do humor aquoso causada por anormalidade do desenvolvimento ocular, do nascimento até os seis meses de vida. Apesar de ser um quadro muito grave, que, na maioria dos casos, leva à cegueira, é também extremamente raro, com ocorrência de um caso para cada 10.000 nascimentos (GONCALVES et al, 2013).

Os glaucomas secundários, como o nome diz, refere-se a qualquer caso de glaucoma em que outras doenças ou uso de medicações contribuam para o aumento da pressão intraocular, com dano no nervo óptico e perda da visão. Os glaucomas secundários podem ocorrer nos casos de traumas oculares, catarata intumescente, diabetes descompensada, tumores, uveites, oclusões vasculares e uso de medicação corticosteroide sistêmica ou local (SHAFFER et al, 1970; MICHELE et al, 2013).

4.4 Tratamentos do Glaucoma

O tratamento para o glaucoma, mais importante, é a prescrição de colírios que atuam na redução da pressão intraocular. Em alguns casos eles podem ser combinados com o uso de medicamentos de via oral ou mesmo ser necessário procedimentos cirúrgicos, descritos a seguir (VIDOTTI et al, 2013; MICHELE et al, 2013).

4.4.1 Tratamento farmacológico do Glaucoma

A primeira linha de tratamento do Glaucoma é o uso de fármacos, que, quase sempre, apresenta-se sob a forma de colírio. Estes são classificados nas seguintes categorias: Parassimpaticomiméticos, betabloqueadores, inibidores da anidrase carbônica, análogos das prostaglandinas e prostamidas e, agonistas alfaadrenérgicos (VIDOTTI et al, 2013).

Os parassimpaticomiméticos foram os primeiros a serem utilizados no tratamento do Glaucoma, e sua ação aumenta os espaços de drenagem intertrabeculares, através da contração da musculatura ciliar longitudinal, deslocando posteriormente o esporão escleral, com conseqüente aumento do fluxo do humor aquoso. O principal fármaco é a pilocarpina. O uso contínuo do fármaco pode apresentar uma série de efeitos adversos: Miose, formação de sinéquias posteriores, miopia induzida, amadurecimento da catarata, descolamento de retina (ALLINGHAM et al, 2005).

Os betabloqueadores (metipranolol, levobunolol, carteolol, timolol, pindolol), um dos principais grupos no tratamento do glaucoma, atuam nos processos ciliares e na inibição da produção de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), que reduz a produção do humor aquoso. A redução da produção do humor aquoso leva à redução da pressão intraocular. Os betabloqueadores, apresentam uma intensa lista de reações adversas oculares e sistêmicas, que são: toxicidade ocular, hipoestesia, erosões corneanas, reações alérgicas, episódios de bradicardia, arritmia, síncope, infarto, depressão, ansiedade, alucinações, sonolência e espasmos brônquicos (VIDOTTI et al, 2013; MICHELE et al, 2013).

Os inibidores da anidrase carbônica (dorzolamida e brinzolamida), utilizados desde 1950, têm como mecanismo de ação a redução da produção do humor aquoso. A produção do humor aquoso depende, em parte, da enzima anidrase carbônica, localizada principalmente no epitélio não pigmentado do corpo ciliar, que metaboliza o dióxido de carbono em bicarbonato. Seu efeito é rápido e seu tempo de meia vida é curto. Geralmente, essa droga está associada a outras drogas para uso terapêutico prolongado. Os efeitos adversos no uso dessa classe de medicamentos são poucos, sendo mais comum reações alérgicas, como blefaroconjuntivite e dermatite periorbitária (ALLINGHAM et al, 2005; AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2010; BRON et al, 2002).

Os análogos das prostaglandinas e prostamidas (latanoprosta, travoprosta e bimatoprosta) são recentes no tratamento do glaucoma. Seu mecanismo tem como alvo as alterações na matriz extracelular, aumentando a atividade das metaloproteinases, com conseqüente aumento do escoamento do humor aquoso através da via uveoescleral. Os efeitos adversos no uso dessa classe de medicamentos são a hiperemia ocular, o aumento da pigmentação iriana e o crescimento dos cílios (AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY, 2010; BRON et al, 2002).

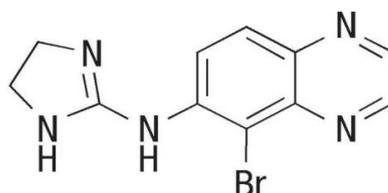
Agonista alfa-adrenérgico (brimonidina) é um fármaco consagrado no tratamento do glaucoma, há algumas décadas. Os agonistas alfa-adrenergicos, são muito seletivos para os receptores alfa-2, o que proporciona menores efeitos colaterais. A produção do humor aquoso depende, em parte, da vasoconstrição e conseqüente redução do fluxo sanguíneo no corpo ciliar. Essa vasoconstrição é associada ao estímulo dos receptores alfa-adrenérgicos. Uma vantagem dessa classe de medicamento é que a vasoconstrição reduz a PIO tanto pela diminuição da produção de humor aquoso, quanto pelo aumento da drenagem pela via uveoescleral. Os efeitos adversos mais comuns dessa classe de medicamento são alergia ocular, edema palpebral, uveíte anterior granulomatosa, xerostomia, fadiga, sedação, sonolência e cefaleia (WEBERS et al, 2007; FUNG et al, 2007; SPAETH et al, 2011; LOON et al, 2008).

Uma extensa linha de combinações de classes e dosagens de medicamentos para o tratamento do glaucoma são encontradas. Por se tratar de uma doença crônica sem cura, o tratamento tem, por objetivo, conservar a visão, mantendo a neuropatia óptica controlada, tal como no momento do diagnóstico. As possibilidades de tratamento são amplas, quanto mais precoce for o diagnóstico. A escolha do fármaco dar-se-á pelo tipo de alteração na fisiologia de escoamento e pelos achados clínicos. Em situações em que os tratamentos farmacológicos não são suficientes para o controle da doença, seja por reações adversas, resposta orgânica, baixa adesão e custos da medicação, o oftalmologista pode optar por intervenção cirúrgica. É comum que, antes de chegar a essa decisão, o doente tenha passado pelo uso de pelo menos três classes de medicamentos (CRAVEN et al, 2005).

4.4.2 Brimonidina

O tartarato de brimonidina, disponível comercialmente sob a forma farmacêutica de colírios nas concentrações de 0,1% (Alphagan Z[®], Glaub MD[®]) a 0,2% (Alphagan[®], Glaub[®]), produzido pela indústria farmacêutica Allergan[®] e Genom[®], é utilizado como terapia de primeira linha em pacientes que apresentam contra-indicações para betabloqueadores. O tartarato de Brimonidina é um pó de coloração amarelo-pálido, que pode ser comercializado em forma de cristais. O peso molecular é 442,24, sendo solúvel tanto em água, quanto em solução acética 2% (VAN DER VALK et al, 2005; CANTOR, 2006; FUNG et al, 2007) (Figura 6).

Figura 6 - Estrutura química do Tartarato de Brimonidina



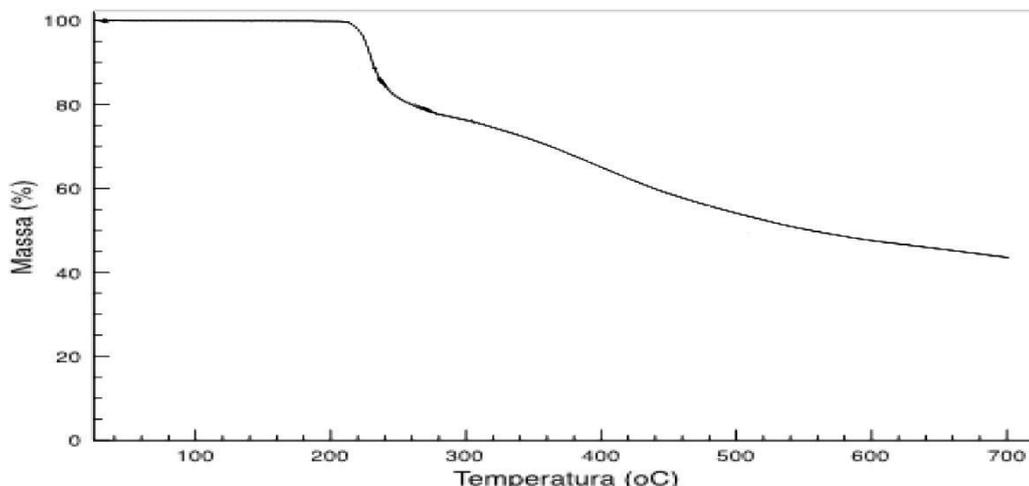
Estrutura química da fórmula molecular C₁₁H₁₀BrN₅. C₄H₆O₆ do Tartarato de Brimonidina. Nome químico do tartarato de brimonidina é L-tartarato de 5-bromo-6-(2-imidazolidinilideneamino) quinoxalina.

Fonte: Schuman (2002) apud Curttis (2018).

O tartarato de brimonidina é um alfa agonista adrenérgico altamente seletivo para o receptor alfa-2, possui eficiente efeito a curto prazo com inibição da produção do humor aquoso, e a longo prazo, estimulação do fluxo de saída do humor aquoso uveoescleral. Sua eficácia na redução da PIO, compara-se à do Maleato de Timolol, e da Dorzolamida. Estudos relatam que o uso do tartarato de brimonidina é seguro, com suposto efeito de uma neuroproteção preservando as células ganglionares. Ainda não existem comercialmente os implantes oculares biodegradáveis de tartarato de brimonidina (TORIS et al, 1999).

O tartarato de brimonidina é um pó cristalino, de fácil solubilidade em ácido acético. A literatura evidencia que o Tartarato de Brimonidina sofre decomposição a partir de 214°C com carbonização total em 500° (TORIS et al, 1999, SOUZA, 2015). Observa-se na Figura 7 um ensaio de termogravimetria de Tartarato de Brimonidina em pó.

Figura 7 - Análise Termogravimétrica do Tartarato de Brimonidina em pó



Observa-se que, a 214°C ocorre a decomposição inicial do fármaco, conforme literatura que descreve 214°C como ponto de fusão. A partir dessa temperatura, ocorre uma perda de massa significativa. Fonte: Adaptado de Souza (2015).

A TG do tartarato de brimonidina em pó, descrito no trabalho de Souza (2015), evidencia perda de massa a partir do ponto de fusão de 214°C. Observa-se que entre 30° e 40°C não ocorre perda de massa. Souza, 2015, descreveu o processamento e a conformação de implante de quitosana e de tartarato de brimonidina. Foi utilizado, para esse estudo o modelo matricial, em que houve incorporação do fármaco à matriz polimérica, evidenciado por espectrofotometria UV. O implante não apresentou citotoxicidade, nem carcinogenicidade, sendo também hemocompatível.

4.4.3 Tratamento cirúrgico do Glaucoma

O tratamento clínico, com drogas, é hoje a primeira opção para o tratamento do glaucoma. O tratamento cirúrgico é indicado em alguns casos, em que o tratamento farmacológico não é suficiente, e a pressão intraocular mesmo após tentativas com diferentes formulações de drogas, permanece fora dos níveis adequados. Em 1857, foi proposta por Friedrich Wilhelm Ernst Albrecht von Graefe a primeira cirurgia antiglaucomatosa. Os tratamentos cirúrgicos para o glaucoma consistem basicamente em criar uma via alternativa para a drenagem do humor aquoso (OLIVEIRA, 2017). As cirurgias antiglaucomatosas se dividem em três categorias: as cirurgias a laser, as cirurgias convencionais e as cirurgias minimamente invasivas (KHAW et al, 2002).

As cirurgias a laser consistem na aplicação de laser de ítrio-alumínio-granada (do inglês: *Neodymium-doped Yttrium Aluminium Garnet*) (Nd-YAG), argônio ou diodo verde. A trabeculoplastia é um procedimento que utiliza o laser de argônio ou Nd-YAG (em pulsos mais fracos) no trabeculado, o que aumenta sua porosidade e permeabilidade, reestabelecendo o escoamento do humor aquoso. A iridectomia é um procedimento que utiliza o Nd-YAG (em pulsos mais potentes), com objetivo de abrir um orifício na íris, nos casos de glaucoma agudo, para abertura do ângulo irido-corneano, permitindo que o humor aquoso possa ir ao trabeculado, para ser drenado. Os procedimentos ciclodestrutivos têm o objetivo de reduzir a PIO devido à destruição dos processos ciliares, que são responsáveis pela produção do humor aquoso. Nessa técnica, pode ser utilizada uma fonte de calor, luz de argônio (ciclofotocoagulação), ou por uma fonte de congelamento (crioterapia) (ANDERSON, 1983; LIMA et al, 2003, OIVEIRA, 2017).

Nos últimos dez anos, foi desenvolvido um equipamento, a trabeculoplastia seletiva a laser (SLT), que consiste na aplicação de laser na malha trabecular, com o propósito de aumentar a permeabilidade da malha trabecular, reduzindo assim a pressão intraocular (KHAW et al, 2002; DHINGRA et al, 2009; OLIVEIRA, 2017).

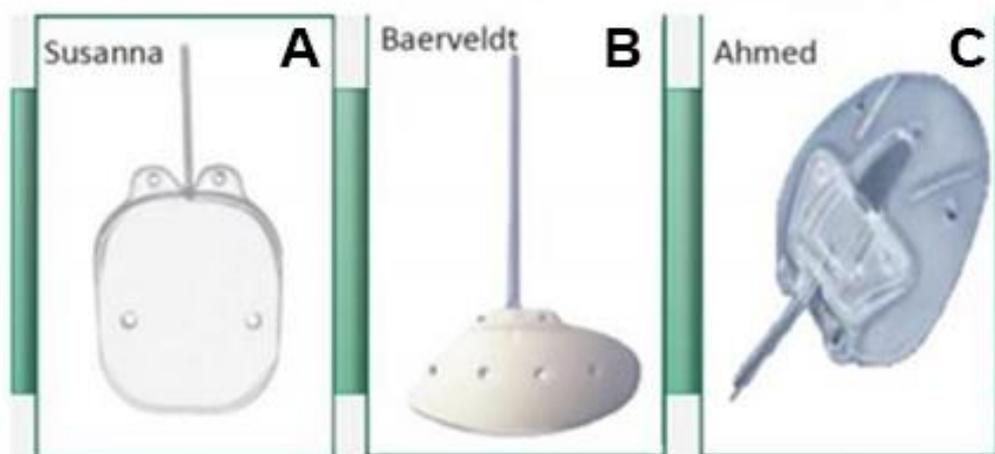
A trabeculectomia é uma técnica cirúrgica em que é criada uma alternativa ao escoamento do humor aquoso. Trata-se da criação de uma fístula, que comunica a câmara anterior com o espaço subtenoniano, protegida por retalho escleral, possibilitando a absorção do humor aquoso pelos vasos sanguíneos e linfáticos subconjuntivais, e veias aquosas. A falência de uma trabeculectomia causa um impacto social muito grande, pois além dos custos de retratamento, o doente sente-se profundamente frustrado (DHINGRA et al, 2009; MAESTRINI, 2009).

A cirurgia fistulizante com implante de drenagem é uma técnica que utiliza a área de biomateriais e engenharia de tecidos, aplicada ao auxílio do escoamento do humor aquoso. A técnica consiste em implantes de dispositivos compostos por um longo tubo de silicone com extensão até um prato distal. Esses implantes variam a área de seu prato e podem ser valvulados e não valvulados. Atualmente, no mercado brasileiro, existem três implantes comerciais (Susana[®], Baerveldt[®] e Ahmed[®]). Os implantes permitem o escoamento do humor aquoso para o espaço subconjuntival, com redução da pressão intraocular (BIETTI, 1950; AL-KINANI et al, 2017).

As cirurgias fistulizantes com implante de drenagem e a trabeculotomia causam grande impacto na vida social dos pacientes, uma vez que muitos pacientes, devido

ao risco de infecção, nunca mais poderão mergulhar no mar ou em piscinas (CONLON et al, 2017; GEDDE et al, 2012). Observa-se na Figura 8 os Dispositivos de Drenagem para o Glaucoma (DDG).

Figura 8 - Dispositivos de drenagem para glaucoma



Desenho esquemático dos implantes. (A) Susanna[®]: Lançado no Brasil em 2016, dotado de tubo de silicone e de prato episcleral. (B) Baerveldt[®]: Lançado em 1992, silicone impregnado com bário, sem válvula. (C) Ahmed[®]: Lançado em 1993, Polipropileno, silicone, polietileno, com válvula.
Fonte: <http://revista.sbglaucoma.com.br/implantes-de-drenagem>

As primeiras cirurgias de glaucoma com algum tipo de implante foram realizadas no princípio do século XX, e tinham como objetivo manter o trajeto fistulante. Nguey (2009) cogitava o uso de DDG como cirurgia primária do glaucoma, em substituição à trabeculectomia, por apresentar menores índices de complicações.

Nos anos 50, foi criado e testado o primeiro implante de polímero PMMA para o tratamento do glaucoma, feito artesanalmente, composto por uma placa no espaço subconjuntival e outra na extremidade da câmara anterior. Os conceitos de implantes fixados à esclera no espaço subconjuntival, para permitir o aumento da área de drenagem, permanecem os mesmos (OLIVEIRA, 2017; GEDDE et al, 2012; QADEER, 1954).

As cirurgias de glaucoma micro invasivas (*microinvasive glaucoma surgery – MIGS*) são provenientes de um conceito originalmente criado em 2009, pelo oftalmologista canadense Ike Ahmed. O conceito de MIGS trata do uso de um material biocompatível, com mínimo de risco e dano estrutural, que seja eficaz na redução da

PIO. Esses dispositivos micro invasivos são parte de uma tecnologia de biomaterias que exploram as vias naturais de escoamento (canal de Schlemm e canais coletores). São considerados dispositivos minimamente invasivos o Hydrus[®], iStent[®], iStent Inject[®] (Figura 9), e como procedimentos minimamente invasivos o Trabectome[®] e o Kahook Dual Blade[®]. As vantagens são a rapidez, a segurança e a liberdade das condições de vida normal dos pacientes, uma vez que as cirurgias de fistula não permitem tais opções. Recentemente, foi criado o termo MIGS “*plus*” no objetivo de inserir uma classificação para adequar a um grupo a técnica de implante XEN 45 Gel Stent[®] ou InnFocus[®]. Esse biomaterial, em forma de tubo, constituído de gelatina derivada do colágeno, permite o escoamento do humor aquoso pela câmara anterior para o espaço subconjuntival (GEDDE et al, 2012; OLIVEIRA, 2017; PALLETA, 2019; ANSARI, 2017; OZAL, 2017).

Figura 9 - Implante iStent Inject[®], titânio revestido de heparina

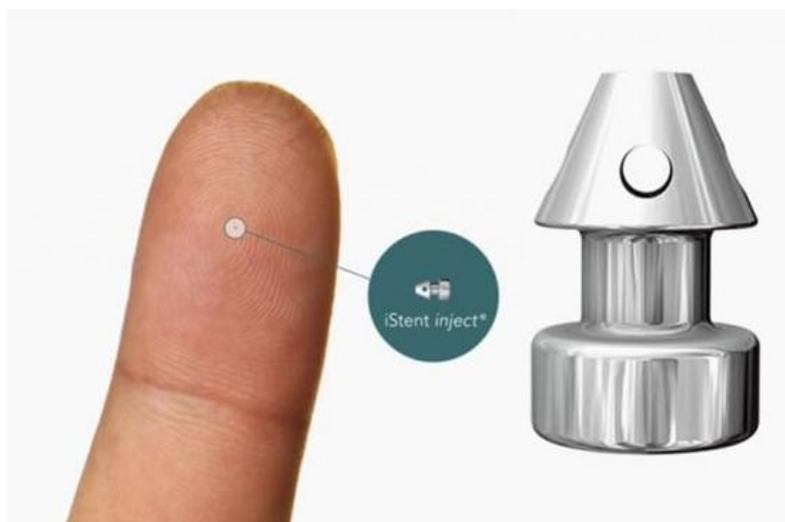


Figura representando visualmente o tamanho do dispositivo, quando comparado à papila do dedo.
Fonte: <https://www.glaukos.com/pt-br/profissionais-de-saude/istent-inject/>

Na última década, a glaucomatologia (área da oftalmologia dedicada ao Glaucoma) foi a especialização que mais evoluiu em termos de biomateriais e “*scaffolds*”. Apesar de as cirurgias de catarata com implante de LIOs terem sido um dos primeiros segmentos da oftalmologia a usarem o desenvolvimento de biomateriais, recentemente, foram superadas pela tecnologia de biomateriais minimamente invasivos (AL-KIINANI et al, 2017; PALLETA, 2019).

4.5 Biomateriais

A seguir é apresentado sucintamente um breve histórico da evolução dos biomateriais, com as quatro gerações destes dispositivos médicos, ao longo dos últimos 2000 anos (informação verbal).¹

1ª geração (Fase - empirismo):

- Romanos, Chineses e Astecas já usavam o ouro na odontologia, por volta do primeiro século depois de Cristo;
- Dentes de marfim ou de madeira para confecção de próteses de membros;
- Vidro para reposição do globo ocular.

2ª geração (Uso de materiais estruturais):

- Placas metálicas para reparos ósseos em 1910, e já por volta de 1930 reparos rudimentares das articulações;
- A partir de 1950 - implantes de titânio e suas ligas. Por meio de aproveitamento do conhecimento desses materiais avançados, desenvolvidos à priori para outras aplicações (e.g. indústria automobilística e/ou aeronáutica);
- Em 1960 – conjugados de polietileno e o aço inoxidável sendo usado como prótese coxofemoral, joelho, ombro e/ou cotovelo (e.g. artroplastia total de quadril - ATQ);
- No final de segunda metade do século passado, novos biomateriais sintéticos (poliméricos, compósitos etc.) entraram em uso: lentes acrílicas oftálmicas, *dracon* para enxerto de vasos, *teflon* em próteses ortopédicas.

¹ Notação de aula da disciplina de Biomateriais e Engenharia de Tecidos, CEFET-MG, em março de 2020.

3ª geração (Aprimoramento):

- Desenvolvimento de biomateriais com características específicas de acordo com a aplicação. *E.g.* recobrimentos bioativos ou uso de UHMWPE para próteses articulares, válvulas cardíacas e marcapassos.

4ª geração (Estado da arte):

- Biomimética - Busca a reprodução de formas e/ou função de tecidos biológicos (biodegradáveis), e *drug release*;
- Engenharia de tecido - Emprega tecnologia de ponta no processamento de biomateriais desenvolvendo estruturas que sejam capazes de servir como substrato para cultivo de células "*in vitro*", de forma a desenvolver novo tecido ou órgão.

4.5.1 Conceito de biomateriais

O uso de biomateriais não é recente. Há registros do uso de suturas de linho e de ouro no Egito antigo (2000 A.C.), e evidências de dentes artificiais feitos de conchas, de ferro e de madeira no período da idade média. Na Europa e no Egito Antigo, também há evidências de madeira na substituição de ossos fraturados (RATNER, 2013).

O conceito de biomateriais é definido como: todo material utilizado para substituir, em partes ou completamente, os sistemas biológicos (WILLIAMS, 2009). São classificados como biomateriais órgãos artificiais (como orelhas, fígado, rim, coração, pulmões e pele), materiais implantáveis (como telas ou malhas, lentes intra oculares, fios de suturas, substitutos ósseos, tendões artificiais, válvulas cardíacas, dentes), dispositivos biomédicos (como biossensores, biomarcadores, tubos de circulação sanguínea, tubos de circulação de fluidos corpóreos), dispositivos para a liberação de medicamentos (na forma de filmes, blendas, implantes subdérmicos), dispositivos de organização celular (*scaffolds*, enxertos e substâncias artificiais líquidas), dentre muitos outros. O termo biomateriais vem sendo definido de diferentes formas ao longo dos últimos anos. Em 1999, o termo biomateriais foi então definido como: material destinado a interagir com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer função de tecido, órgão ou corpo. Recentemente, o

termo biomateriais ganhou uma definição complementar, que além de destinar-se a substituir a função de órgãos e tecidos, também se destina a melhorar uma função ou órgão de um sistema biológico (YÜKSEL et al, 2002; TABATA, 2009). A versão mais atual de um biomaterial é descrita por Williams (2009), em que:

Um biomaterial é uma substância projetada para assumir uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, através do controle de interações com componentes de sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico em medicina humana ou veterinária (WILLIAMS, 2009).

Segundo Pires (2015), ao longo da última década, o mercado mundial de biomateriais vem apresentando uma taxa de crescimento superior a 10% ao ano. Já no Brasil e nos países em desenvolvimento, havia uma expectativa de crescimento ainda maior em 2021, se comparado com o ano anterior, com uma projeção de expansão no mercado de biomateriais da ordem de 22%. Esse intenso crescimento pode ser atribuído a três causas principais: ao fenômeno de envelhecimento da população e ampliação da expectativa de vida (ou seja, alteração da pirâmide demográfica nesses países), às melhorias nos indicadores socioeconômicos, tais como aumento do poder aquisitivo e do padrão de vida, que facilitam o acesso ao tratamento, e ainda, aos avanços tecnológicos no diagnóstico e no tratamento de doenças anteriormente vistas como não tratáveis (JAHNO, 2005; CAMPOCCIA et al, 2013).

O mercado relacionado à área de biomateriais apresenta um expressivo crescimento de produção, e uma grande movimentação financeira mundial. Esse mercado apresenta segmentações em dois critérios: tipo de matérias (metais, polímeros, cerâmica, compostos, origem animal), que podem ser manufaturados ou processados para se adequarem à utilização em dispositivos biomédicos que entram em contato proteínas, células, tecidos, órgãos e sistemas orgânicos; e tipo de aplicação (uso ortopédico, oftalmológico, cardiovascular, odontológicos, sistema de liberação de drogas, sistemas gastro intestinais, sistemas hormonais), dentre outros (PIRES et al, 2015).

A medicina regenerativa requer biomateriais reabsorvíveis, capazes, dentre outras funções biológicas e mecânicas, de atuar também na liberação de fármacos no meio fisiológico. No campo da ciência dos biomateriais, o Estado da Arte das pesquisas busca desenvolver melhorias na concepção, no projeto e na execução dos

suportes utilizados para a engenharia de reabilitação. Ao redor do mundo, pesquisadores têm dado especial atenção ao aperfeiçoamento ou ao processamento de novos materiais biocompatíveis, com otimização da microestrutura, da degradabilidade, das propriedades mecânicas e de transporte de massa adequadas no meio fisiológico, incluindo também potencialidade para estimulação do crescimento, de migração, da interação e da diferenciação celular com disponibilização de fatores de crescimento, bem como de outros sinais bioquímicos apropriados para regeneração tecidual. Uma propriedade interessante nos materiais bioabsorvíveis é que eles vão transferindo tensão (esforço mecânico) gradualmente para o tecido em cicatrização, à medida que degradam. Uma outra vantagem é a eliminação de uma segunda cirurgia, necessária para retirar o implante, assim que o local da lesão está reconstituído, o que é um benefício financeiro e psicológico (JAHNO, 2005; CAMPOCCIA et al, 2013).

Para que um material seja considerado como biomaterial, é necessário que ele não cause respostas imunológicas ou tóxicas significativas e, quando degradado, o mesmo deverá gerar somente resíduos que possam ser metabolizados naturalmente. Em muitas aplicações clínicas, não há a necessidade de um implante permanente, e é graças a esse vasto campo de aplicações temporárias, que os polímeros biodegradáveis, bioabsorvíveis ou bioreabsorvíveis são tão requisitados (MAKADIA et al, 2011; CAMPOCCIA et al, 2013).

O maior desafio dos biomateriais é não ocasionar uma resposta inflamatória no tecido receptor (bioinertes), ou apresentarem uma reação ao sistema orgânico (bioativos), ou uma resposta controlada (bioativos) (HELMUS et al, 1995). A escolha do material deve levar em consideração o sítio de aplicação e as principais propriedades como: resistência (capacidade de resistir a inúmeros esforços), o módulo (elasticidade, torção ou flexão), a fadiga (suportar esforços cíclicos sem degradação), a rugosidade (capacidade de promover baixo atrito), a taxa de permeação (como no caso das lentes de contato que necessitam permeabilidade de gases), a molhabilidade (capacidade de absorção de água), a bioestabilidade (onde necessitam ter a capacidade de degradação controlada), e a bioatividade (capacidade de participarem de reações biológicas específicas) (HELMUS et al, 1995; WILLIAMS, 2009).

4.5.2 Polímeros

Os biomateriais são classificados em quatro grupos: metais, cerâmicas, polímeros e orgânicos. Os dispositivos médicos implantáveis com propriedades biodegradáveis podem ser de dois sistemas distintos: matricial ou de reservatório. Em termos de desenvolvimento de biomaterias na oftalmologia, recentemente, os polímeros biodegradáveis e MIGS (polímeros e metais), tornaram-se os principais alvos de novas pesquisas, pela grande capacidade de transporte de drogas e de escoamento de substâncias. O Ozurdex[®] (Polímero biodegradável intra vítreo de liberação controlada de dexametasona), produzido pela Allergan[®], é amplamente usado no tratamento de OVR e RD, como agente antiinflamatório (BUCHAIM, et al, 2013, CONLON et al, 2017; CAMPOCCIA et al, 2013).

Materiais poliméricos derivados dos poli (hidróxi-ácidos) são utilizados frequentemente como matéria-prima na fabricação de dispositivos para implantes de fixação rígida, devido à sua biocompatibilidade com as funções do corpo humano. Os biomateriais poliméricos são solubilizados pela degradação hidrolítica ou hidrólise, que ocorre pela cisão das ligações pela água, ou por degradação enzimática. Esses polímeros são considerados bioreabsorvíveis, pelo fato de os produtos de sua decomposição serem metabolizados e excretados pelo organismo (PAN, 2015; CARVALHO, 2013). Além dos fatores de solubilidade da matriz polimérica, casos onde há incorporação de drogas no biomaterial, podem formar ligações químicas, por exemplo, *crosslink*, que pode resultar na alteração da taxa de degradação destes sistemas (MAKADIA et al, 2011). A degradação dos polímeros ocorre na seguinte cadeia de eventos: hidratação do polímero, ruptura das ligações éster (causando perda da resistência mecânica), liberação de fragmentos poliméricos com consequente perda de integridade da massa, e fagocitose dos fragmentos associado à dissolução do ácido (MAIA et al, 2010).

No âmbito clínico, os biomateriais poliméricos estão entre os mais demandados. De uma forma geral, eles são materiais orgânicos constituídos por macromoléculas de média ou de alta massa molar, formadas pela ligação de unidades de repetição menores (meros) ao longo da cadeia principal. As ligações entre os meros são covalentes, no entanto, ligações de hidrogênio entre diferentes cadeias, assim como interações de van der Waals e reticulações (*crosslink*) por meio de

ligações covalentes podem também ocorrer (MOURA, 2014; ALLEN et al, 2005; DEE et al, 2003).

A ciência, tem-se buscado desenvolver novos biomateriais formados pela combinação entre dois ou mais polímeros. Esses biomateriais têm grande importância no avanço das aplicações odontológicas e oftalmológicas, uma vez que, por meio dessas abordagens, podem ser obtidos dispositivos com propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas melhoradas, quando comparados aos outros polímeros isoladamente. Esse grupo de biomateriais poliméricos podem ser constituídos de complexos poliméricos, por exemplo, na forma coacervados de polieletrólitos, ou na forma de blendas resultantes da mistura física de dois materiais poliméricos distintos (DEE et al, 2003; MOTTA et al, 2006).

Os exemplos desses poliésteres de interesse biológico são o poli (ácido glicólico) (PGA), o poli (ácido láctico) (PLA), o poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), o poli (α -caprolactona) (PCL), seus copolímeros e outros. Em geral, os polímeros biodegradáveis respondem em tempos diferentes de degradação, em função da sua microestrutura cristalina ou amorfa (MOTTA et al, 2006; ALEXIS, 2005).

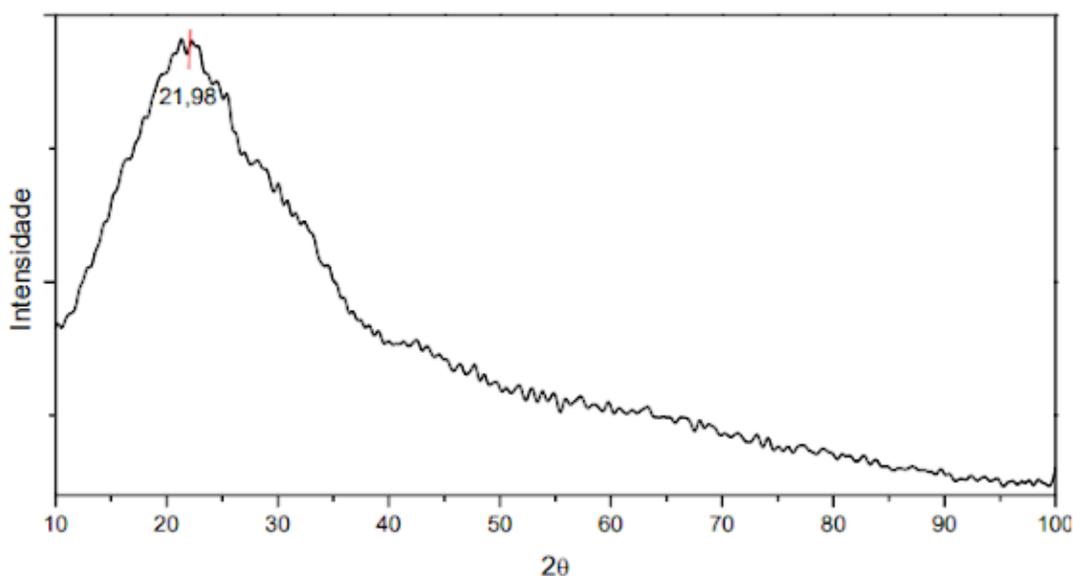
4.5.3 Poli (ácido láctico-co-ácido glicólico): PLGA

A copolimerização aleatória de PLA (nas formas L- e D, L-lactida) com o PGA, dá origem ao PLGA ou poli (ácido láctico-co-ácido glicólico), também conhecido como poli (lactide-co-glicólido), sendo um polímero degradável largamente investigado para aplicações biomédicas, que já tem seu uso consagrado em suturas, formulações de fármacos, e em especial na obtenção de *scaffolds* para a engenharia de tecidos. Uma vantagem particular desse composto polimérico é que o PLA e o PGA têm propriedades significativamente diferentes, e a escolha cuidadosa da composição de copolímero permite a otimização do PLGA para as aplicações pretendidas. A possibilidade de modulação das propriedades mecânicas, assim como das suas características de bioreabsorção são ainda mais significativas para os copolímeros de PLGA, uma vez que uma composição, por exemplo de 25% de PGA e 75% de PLA, resulta em polímeros amorfos, que são muito hidroliticamente instáveis, em comparação com os homopolímeros de outras composições. Estudos evidenciam que a presença do grupo metil no ácido láctico faz com que o poli ácido láctico – PLA - seja

mais hidrofóbico que o poli ácido glicólico – PGA. Dessa maneira, quanto maior for a proporção de PLA no copolímero, menor tende a ser a sua taxa de degradação e sua cristalinidade, com exceção para o PLGA 50/50, que apresenta uma taxa maior de degradação (CURTTS, 2018; MAIA, 2010; HILLERY et al, 2010; CAMPOS, 2016).

O resultado obtido pelo ensaio de Difratoograma de Raios X (DRX), no qual o objetivo é de se avaliar a característica estrutural cristalina do material, realizado por Curtts (2018), mostra um material de natureza amorfa (não cristalino), que possui uma banda com valor máximo em torno de 22° , e não são perceptíveis picos de cristalinidade no material (Figura 10).

Figura 10 - Difratoograma de Raios X PLGA 75:25

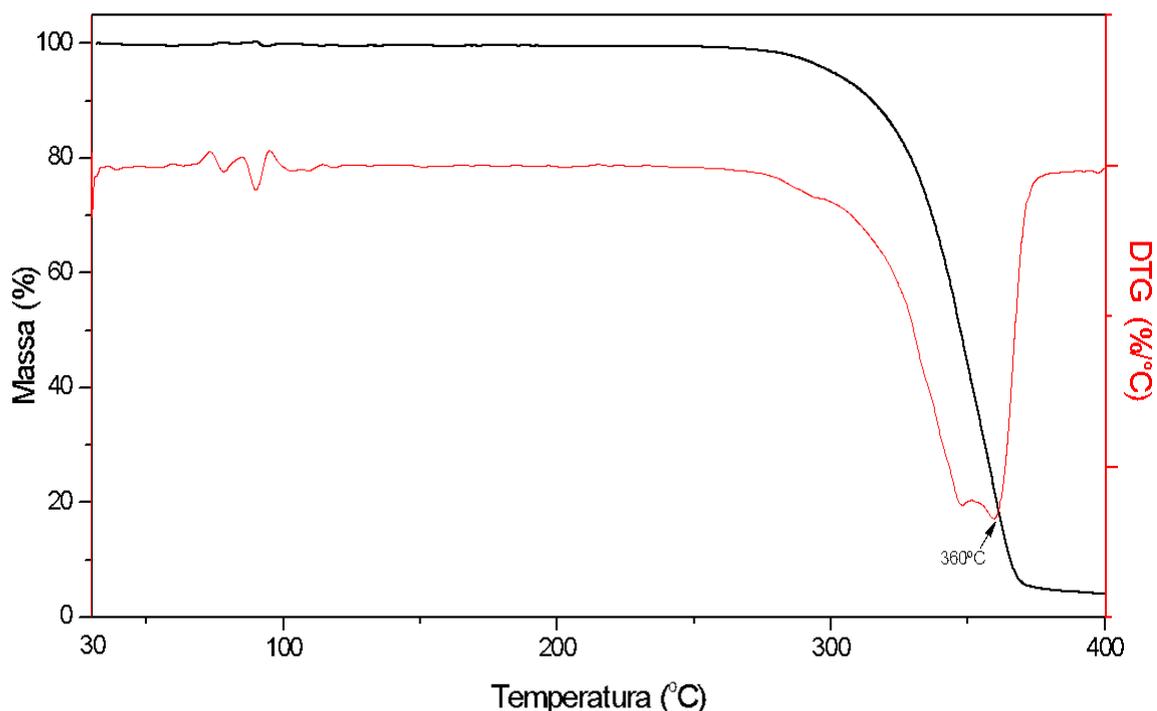


Observa-se uma ausência de picos de cristalinidade no material, caracterizando-o como de natureza amorfa.

Fonte: Curtts (2018).

Em relação à resistência à temperatura, o PLGA, no ensaio de termogravimetria realizado por Curtts (2018), apresenta perda de massa, quando aquecido a partir de 275°C , com transição vítrea a 60°C e carbonização a 360°C , permitindo assim processamento e conformação a uma temperatura entre 30°C e 40°C . Outros trabalhos também evidenciam essas propriedades do PLGA (VIEIRA, 2010; CURTTS, 2018; CAMPOS, 2006) (Figura 11).

Figura 11 - Termogravimetria do PLGA 75:25



Linha preta TG – Perda de massa em relação à temperatura em °C. Linha vermelha DTG - Curva que corresponde à derivada primeira da curva TG, na qual os degraus da primeira curva, são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa sofridas pela amostra. Observamos uma perda de massa pequena até 100°C, com perdas mais significativas a partir de 275°C.

Fonte: Curtts (2018).

Já é bastante consagrado o uso clínico de PLGA no carregamento de drogas, como, por exemplo corticoides, antiangiogênicos e antibióticos, inclusive como protocolo clínico na área oftálmica, *e.g.* o Ozurdex® (Polímero biodegradável intravítreo de liberação controlada de betametasona) (LIU et al, 2010; YASUKAWA et al, 2005; SILVA, 2010).

4.5.4 Colágeno

Colágeno é um componente natural de diversos tecidos, tais como pele, osso, tendões, ligamentos e outros tecidos que sejam de conexão. O colágeno, trata-se de uma proteína fibrosa encontrada no tecido conjuntivo composta de três cadeias de polipeptídeos interligados para formar uma tripla hélice orientada para a direita. O colágeno pode ser isolado de diversos animais e o mesmo possui uma excelente

biocompatibilidade, biodegradação e funcionalidade, combinada com a baixa imunogenicidade, e podem ser isolados 22 tipos diferentes de colágeno no corpo humano. Dentre as 22 isoformas que podem ser encontradas de colágeno, a principal proteína estrutural e funcional é o colágeno tipo I. Em sua condição de matriz extracelular natural, o colágeno tipo I, é insolúvel em água e possui fibras de diâmetro que variam de 50 a 500nm que podem ser isoladas de diversas formas (CAMPOS, 2016; WANG et al, 2014; REDDY et al, 2015). As proteínas, de uma forma geral, em que se enquadra o colágeno, são funcionais para a para liberação de fármacos (KAUSHAL et al, 2004).

Segundo os resultados de Curtts (2018) e Rolim (2013), ao diagrama de Raios X, o colágeno tipo I apresenta estrutura amorfa e halos entre 15° a 35° (Figura 12). Em relação à TG, o colágeno tipo I apresenta uma perda de massa mínima até os 100°C, compatível com a perda de água estrutural. Ocorrem perdas significativas de massa e deterioração do material a temperaturas próximas de 319°C (CURTTTS, 2018; MOREIRA, 2014) (Figuras 12 e 13).

Figura 12 – Difratoograma de Raios X da Matriz de Colágeno tipo I

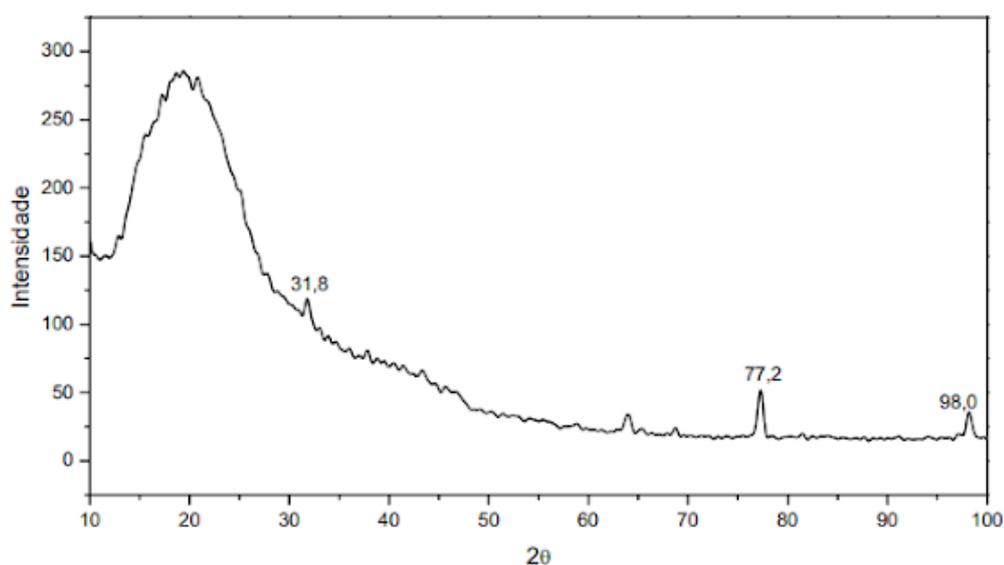
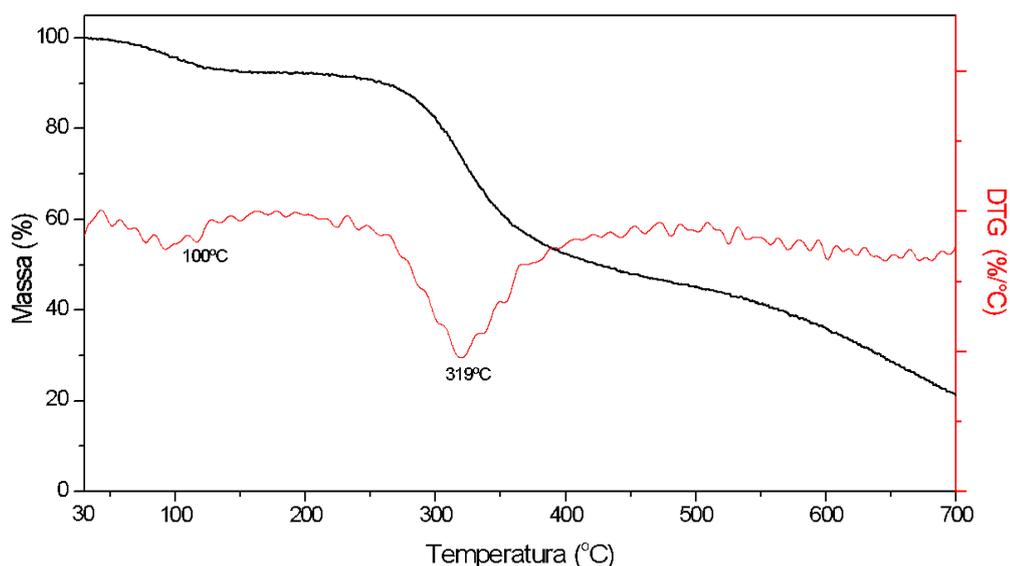


Gráfico de Difratoograma evidenciando a caracterização do colágeno como substância amorfa, com mínimos picos de cristalinidade.

Fonte: Curtts (2018).

Figura 13 - Curvas de Termogravimetria e Derivada Termogravimétrica da Matriz de Colágeno tipo I



Linha preta TG - Perda de massa em relação à temperatura, perda significativa próximo aos 300°C. Linha vermelha DTG - Curva que corresponde à derivada primeira da curva TG, na qual os degraus da primeira curva, são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa sofridas pela amostra. Perda anterior a 100°C, correspondente a perda de umidade.

Fonte: Curtts (2018).

Estudos anteriores descrevem resultados opostos em relação à associação do PLGA com o Colágeno. José (2009) descreve bons resultados com PLLA associado ao colágeno, retardando a hidrólise. Quando foi associado colágeno ao PLGA, em proporção de 50/50 (50% colágeno, 50% PLGA), houve degradação mais lenta, e o fato repetiu-se em concentrações mais elevadas de colágeno (MOTTA et al, 2006; CAMPOS, 2016). Curtts (2018) descreve que a porcentagem de colágeno associado a PLGA determina significativamente o tempo de degradação: quanto mais colágeno, mais rápida a degradação da blenda (CURTTS, 2018; CAMPOS, 2016; SILVA, 2010; MOREIRA, 2014). Ambos os trabalhos, de José (2009) e de Curtts (2018), descrevem que a porcentagem de colágeno associado ao PLGA promove o controle de tempo de degradação do composto em meio aquoso.

Curtts (2018) descreveu resultados de tempo de degradação acima de 28 dias para a concentração do composto de 75:25 (75% PLGA e 25% de colágeno), com o tempo de degradação mais prolongado que o composto 50:50 (50% PLGA e 50% de colágeno).

4.5.5 Implantes poliméricos para liberação controlada de drogas, processamento e conformação de blendas e filmes.

Os implantes podem apresentar-se de várias formas (haste, cilindro, anel e películas), de inúmeros tamanhos, e de tipos de decomposição: biodegradáveis ou não-biodegradáveis. A definição de liberação controlada se trata do uso de um material polimérico com objetivo de liberar drogas incorporadas, com uma taxa controlada, por um período de tempo desejado (MOTTA et al, 2006). Os primeiros implantes estudados eram constituídos de poli acetato de vinila (PVA), e acetato vinilo de etileno (EVA), porém esses implantes não são biodegradáveis (ALEXIS, 2005, LIU et al, 2010; KULKARNI et al, 1966).

O primeiro relato de implante surge na década de 30, em que um comprimido contendo partículas de estradiol foi implantado por via subcutânea em animais. Cinco décadas depois, o conceito de sistemas terapêuticos implantáveis ganha significado, com o desenvolvimento de adesivos subcutâneos de hormônios cristalinos. Essa primeira geração foi produzida por meio do método de compressão, em que os cristais do fármaco eram comprimidos em forma de cilindro e implantados no tecido subcutâneo (MOREIRA, 2014; JOSE et al, 2009; SIEPMANN et al, 2012). Na década de 60, no Laboratório de Pesquisa Biomecânica Médica do Exército dos Estados Unidos, em Washington DC, foram iniciadas as primeiras pesquisas com materiais bioabsorvíveis (KULKARNI et al, 1966). Os primeiros implantes formados de materiais poliméricos surgiram na década de 70, quando receberam a nomenclatura, utilizada até hoje, de *Drug Delivery Systems* (DDS) (ROBINSON et al, 1987).

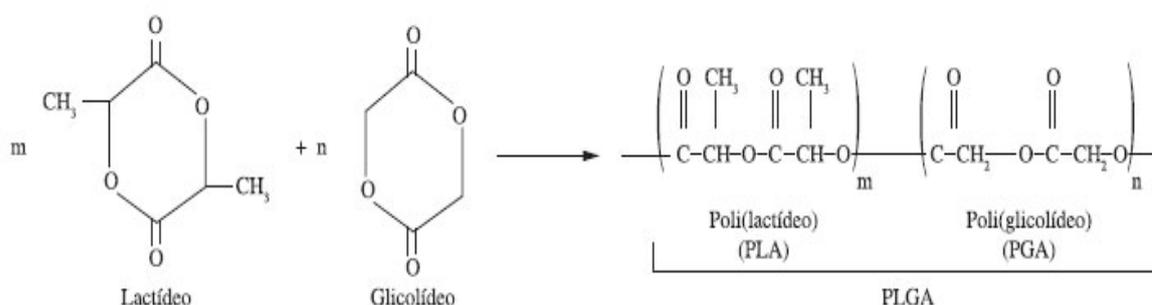
Os sistemas implantáveis de liberação controlada de drogas estão classificados em três categorias: biodegradáveis e não-biodegradáveis, bombas implantáveis, e implantes utilizados nos tratamentos de doenças oculares, neoplásicas e de reconstituição. Esses implantes apresentam vantagens e desvantagens. As vantagens incluem: ação local (ao invés de sistêmica), maior eficácia terapêutica, liberação controlada ou prolongada de drogas, menor toxicidade, redução do número de doses, maior *compliance*, menor percurso de obstáculos biológicos, redução do risco de eventos adversos, mais conforto ao doente. As desvantagens incluem: remoção dos implantes (caso não sejam biodegradáveis), limitação condicionada à potência do fármaco, possibilidade de reações adversas locais, maior custo de

produção, impossibilidade de interrupção imediata, e restrição de material (ROBINSON et al, 1987; SIEPMANN et al, 2012).

Esses implantes podem apresentar-se de duas formas, anteriormente citadas: sistemas reservatório e sistema matricial. O sistema reservatório consiste no encapsulamento do fármaco por uma membrana polimérica, que pode ser realizada por meio de conformação por encapsulamento, moldagem ou micro encapsulamento. No sistema matricial, o fármaco se encontra dissolvido ou disperso em uma matriz polimérica, onde o dissolvido é a condição em que o fármaco é solúvel no material polimérico, e o disperso, parte do fármaco está dissolvido e parte está sobre a matriz. A liberação controlada pode ocorrer também através de difusão pelos poros, onde um polímero hidrofóbico tem seus poros preenchidos por componentes hidrofílicos (JOSE et al, 2009; ROBINSON et al, 1978, SIEPMANN et al, 2012, 2012; BATISTA, 2015).

Um dos compostos que tem despertado muito o interesse da medicina são as blendas de PLGA e Colágeno (adaptado do inglês: *blend* = mistura, utilizado para descrever misturas físicas de dois ou mais polímeros sem ligações químicas entre eles). A vantagem da utilização de blendas é a possibilidade de novos materiais, sem a síntese de um novo polímero, somando as características individuais de cada polímero. Nos sistemas de processamento e conformação de blendas para liberação controlada de drogas, além de sua degradação ser altamente metabolizada, o mesmo pode ser processado de diferentes formas e tamanhos, adaptando-se a cada utilidade pretendida (Figura 14).

Figura 14 - Síntese PLGA



Esquema químico da síntese de dois polímeros PLA e PGA com formação de novo composto polimérico.

Fonte: Erbeta (2011).

O atual desafio no desenvolvimento de blendas incorporadas com fármacos está relacionado à disponibilidade e ao tempo de degradação (FIALHO et al, 2003, 2015; BATISTA, 2015; DASH et al, 1998).

4.6 Dispositivos usados na Oftalmologia

Entre os principais polímeros biodegradáveis em estudos atualmente para serem utilizados na obtenção de sistemas de transporte ou de liberação de drogas no interior do olho, estão os poliésteres, tais como, por exemplo, a poli(ϵ -caprolactona), o PLA e os diferentes tipos de copolímeros do PLGA (razões mássicas de PLA e PGA), sendo que os dois últimos tipos têm sido amplamente investigados. O ácido poli-lático (PLA) e os copolímeros dos ácidos lático e glicólico (PLGA) têm sido muito utilizados e estudados em sistemas de transporte prolongado de drogas para os tecidos oculares. A biodegradação desses polímeros ocorre por erosão, por meio de clivagem da cadeia polimérica ou ainda por hidrólise, liberando os ácidos lático e glicólico no meio fisiológico. Esses debris ácidos do PLGA, por serem metabólitos naturais do organismo, são eliminados pelo ciclo de Krebs, na forma de gás carbônico (CO_2) e água (H_2O). No caso da poli(ϵ -caprolactona) que é um polímero hidrofóbico, a liberação da substância ativa ocorre por meio de erosão/clivagem da cadeia polimérica no meio fisiológico. Assim, por apresentar, em geral, uma taxa de degradação lenta, ele pode promover a liberação de um fármaco por um período de até três anos. Esse polímero é bastante utilizado no preparo de nanocápsulas e, atualmente, também tem sido empregado para o desenvolvimento de outros sistemas de liberação bastante prolongada (FIALHO et al, 2007; SILVA et al, 2010; VIEIRA, 210; CURTTIS, 2018; KIMURA et al, 2001).

Para otimização de degradação de blendas poliméricas, que tenham a capacidade de serem totalmente absorvidas ou eliminadas pelo organismo, há necessidade de controle dos três principais mecanismos de erosão (FIALHO et al, 2017). Segundo Fialho et al (2007):

- *Erosão sem clivagem: mecanismo que ocorre com os polímeros que se tornam hidrossolúveis após reações de hidrólise ou ionização, sem alterações significativas na sua massa molar. Por apresentarem dificuldade de eliminação, tais polímeros não podem ser empregados na forma de implantes. O Eudragit® (copolímero do éter metil vinílico e do anidrido maleico - PVM/MA) é um exemplo de polímero que sofre este tipo de erosão.*

- Erosão/clivagem: nesse mecanismo, os polímeros são transformados em pequenas e solúveis moléculas pela clivagem de suas cadeias. Durante esse processo de degradação eles permitem a liberação da substância ativa. Esse mecanismo é o que está relacionado à definição de biodegradável. Os principais polímeros que sofrem esse mecanismo de erosão são os poliésteres (poli- ϵ -caprolactona, polímeros e copolímeros derivados dos ácidos láctico e glicólico - PLA e PLGA), as poliamidas, os poliaminoácidos, os polialquilacrilatos e os poliortoésteres.
- Difusão simples: esse mecanismo está relacionado aos polímeros solúveis em água e que se tornaram insolúveis devido a uma reação química de "crosslinking". Dessa forma, pode-se dizer que eles são insolúveis em água, mas apresentam uma matriz fortemente hidrofílica. Esses polímeros, portanto, não são adequados para a veiculação de substâncias hidrossolúveis e de baixa massa molar, pois elas se difundem através da rede polimérica, independente da velocidade de degradação matricial. Entre os principais polímeros dessa categoria, destacam-se a gelatina, o colágeno e o álcool polivinílico Fialho et al (2007).

A preparação desses sistemas biodegradáveis requer o controle de um grande número de parâmetros de processamento e conformação, haja visto que a cinética de degradação do polímero, *in vivo*, deve permanecer constante, para que seja obtida uma liberação controlada da droga (FIALHO et al, 2013).

4.6.1 Biomateriais usados em Oftalmologia

O olho, apesar de sua grande complexidade, é um órgão fácil de se observar e foi, também, o primeiro órgão a receber um biomaterial (DASH et al, 1998; HNERIQUES, 2014). O primeiro biomaterial na oftalmologia consistia de um disco de vidro fechado apoiado em uma estrutura de dois anéis sucessivos, formando uma córnea artificial. O objetivo era melhorar a biodegradação. Esse dispositivo foi testado em animais e apresentava toxicidade, que não permitia seu uso por mais de uma semana (KIMURA et al, 2001; CHIRILA et al, 2016; CLAYTON, 2018).

Na Oftalmologia, já é consagrado o uso de biomateriais, sendo que as lentes de contato são os biomateriais mais conhecidos. Embora as primeiras lentes foram produzidas no século XIX, as teorias datam que em 1508, quando Leonardo Da Vinci já havia escrito um método para alterar o poder da córnea, imergindo o olho em água. Em 1888, foi descrito, pela primeira vez, o processamento de obtenção de lentes de contato. Hoje, em uma série de plataformas de materiais, são desenvolvidas e fabricadas em grande escala mundial (JOPKINS et al, 2017; EFRON, 2018; AMATO, 2014).

Biomateriais amplamente utilizados na oftalmologia são as lágrimas artificiais. Essas são substâncias criadas para tratamento do olho seco, muito similares à lágrima fisiológica, são dispensados em forma de colírio ou pomada, e têm a função de reduzir os sintomas de irritação e fricção, aumentando a lubrificação e o filme lacrimal (CLAYTON, 2018).

Os *Inlays*, dispositivos para corrigir erros refracionais, que modificam a curvatura da córnea, foram desenvolvidos em meados de 1940. Os primeiros implantes provaram que não existia nenhum material disponível que fosse biocompatível com as estruturas adjacentes. Na década de 60, a descoberta do polímero de hidrogel permitiu o desenvolvimento dos *inlays* de forma significativa. Nas últimas décadas, os *inlays* tiveram muitos avanços, com a maior disponibilidade de biomateriais inertes e biocompatíveis (WU, 2017).

Outro biomaterial também comumente utilizado é o óleo silicone intra vítreo (OS). Usado na forma líquida, ele substitui o humor vítreo em situações como o descolamento de retina, com função de tampão, pressionando a retina na coroide enquanto a fotocoagulação cicatriza o EPR. Para essa substituição do vítreo, o biomaterial deve ter um número similar de propriedades físico-químicas. O OS, a longo prazo, é abrasivo e tóxico, necessitando de realização de nova intervenção cirúrgica para sua retirada (BAINO, 2011; ATHANASIOU, et al, 1996).

Uma série de biomateriais estão disponíveis para o tratamento do Glaucoma, e muitas pesquisas farmacêuticas ainda buscam o melhor tratamento, com o menor custo (CONLON et al, 2017). O primeiro produto homologado e comercialmente aprovado para uso na oftalmologia, como sistema liberação prolongada de drogas, foi introduzido para o tratamento de glaucoma e destinava-se à liberação da droga para o segmento anterior do olho. No entanto, como já comentado anteriormente, para o segmento posterior, o sistema de transporte deve liberar a droga na cavidade vítrea, nas proximidades da retina ou na coroide, por um período de quatro a oito semanas, mantendo a dose terapêutica nesse local. Diferentes sistemas, tais como os implantes sólidos, as micro e nanopartículas, os lipossomos e a iontoforese, têm sido estudados como potenciais no transporte prolongado de drogas. Há cerca de quinze anos, um sistema de liberação de dexametasona para o tratamento de inflamação após cirurgia de catarata, o Surodex[®] (Oculex Pharmaceuticals, Inc, EUA) foi avaliado clinicamente (fase III, mas ainda aguarda a aprovação da Anvisa para utilização no Brasil). Esse implante foi preparado com PLGA e continha 60 µg de dexametasona, sendo capaz

de promover liberação da droga por um período de, aproximadamente, 7 a 10 dias. Os estudos clínicos (Fases I a III) vêm revelando, que os implantes biodegradáveis, tanto para uso no segmento anterior quanto posterior do olho, foram bem tolerados e efetivos contra as intercorrências ou procedimentos clínicos. Assim, com o Estado da Arte, tem-se procurado por biomateriais biodegradáveis para implantes intravítreos com liberação de drogas antiangiogênicas (e.g. Ácido Rosmarínico) e antiglaucomatosa (e.g. Brimonidina), dentro da faixa terapêutica, por um período de cerca de oito semanas, que não induza alterações nas estruturas oculares e na anatomia desses segmentos, para que sejam preservadas durante e após o período de tratamento (ATHANASIOU et al, 1996; FILAHO et al, 2007; SILVA et al, 2010; TAN et al, 2001).

As LIO, outro material amplamente usado na oftalmologia, permitem a recuperação da visão ocasionada pela catarata (maior causa de cegueira reversível no mundo). As LIO podem ser divididas em dois grupos: polímero de acrílico/metacrilato compreendendo acrílico hidrofóbico, acrílico hidrofílico e hidrogel (rígida ou flexível), e elastômeros de silicone ou silicone hidrofóbico (flexível). Todas as LIO devem ser de materiais inertes, e podem ser fixadas no interior do saco capsular ou na câmara anterior (BURATO et al, 2014). Desde a primeira LIO, implantada em 1949, houve grandes avanços tecnológicos e científicos, permitindo menores incisões, proteção contra raios ultravioleta, e maior poder focal. A tecnologia de LIO busca hoje a maior qualidade focal e a proximidade com as características naturais do cristalino. Atualmente, há uma extensa gama de LIO, que variam entre design, filtros de proteção, interação hídrica e pontos focais. Com o mercado em ascensão e com o aumento da população idosa no mundo, grandes investimentos industriais estão associados às LIO. De 1949 para os dias atuais, houve um salto tecnológico expressivo: LIO antes esféricas e monofocais, que demandavam o uso de óculos de grau após o processo cirúrgico, hoje, disponíveis esféricas e com profundidade de foco e filtros ultra violeta. Na atualidade, o paciente pode optar pelo uso de LIO multifocais (bifocais, ou trifocais), que permitem uma maior independência do uso de óculos no pós-operatório. E para os pacientes que apresentam erros refracionais na córnea (astigmatismo), também é possível utilizar uma LIO que tenha correção em um eixo específico. Essa evolução técnica surge em meio à crescente demanda e necessidade da população, que opera de catarata cada vez mais em idade laboral (NGUYEN et al, 2020; NICOLAI, 2018).

4.7 Processamento e conformação

O processamento dos filmes e a conformação das blendas são etapas importantíssimas na dinâmica de degradação das blendas destinadas à liberação controlada de drogas. Estudo conduzido por Fialho et al (2003), obteve blendas em forma de bastão, de discos e de membranas, empregando o polímero PLGA 50:50 dissolvido em solução de acetonitrila e água destilada (4:1), sob agitação magnética. A solução resultante foi liofilizada, obtendo-se um pó homogeneizado. A conformação foi realizada pelo método de moldagem de extrusão a quente. Esse estudo também descreve o procedimento acima, com incorporação do fármaco, apresentando resultados com picos de liberação, sem controle sistemático.

Fialho e Cunha (2005), obtiveram blendas em formato de bastões de 4 mm por 1 mm, utilizando o polímero PLGA 50:50 incorporado com dexametasona, dissolvido em solução de acetonitrila (4:1), sob agitação constante a 40°C, e o produto obtido foi um pó homogeneizado. A conformação foi realizada através de compressão a quente (100° a 200°C), sob molde de teflon. A degradação das blendas *in vitro* ocorreu acima de quatro semanas.

Saliba et al (2008), obtiveram blendas em forma de bastões com 4 mm por 1 mm, empregando o polímero PLGA 75:25 com Ciclosporina incorporada, em uma solução de acetona e água destilada (4:1), sob agitação magnética a 30°C, e a solução resultante foi liofilizada. O produto da liofilização foi conformado sob extrusão a quente (60°C). Os resultados demonstraram que a ciclosporina se encontrava homogeneamente dispersa na matriz polimérica, e que o fator determinante de liberação do fármaco foi a dispersão dele na matriz.

Vieira (2011), obteve blenda em forma de bastão com 0,5 mm por 2,5 mm, empregando o polímero PLGA 75:25, em uma solução de acetonitrila e água destilada (4:1), sob agitação magnética a 40°C, e a solução resultante foi liofilizada. O produto da liofilização foi, juntamente com os fármacos solubilizados no processo anterior, conformado a quente sob compressão. A avaliação antiangiogênica das blendas produzidas nesse estudo, realizada por meio do ensaio da membrana corioalantóica, apresentou resultados satisfatórios no tratamento de doenças causadoras da neovascularização retiniana.

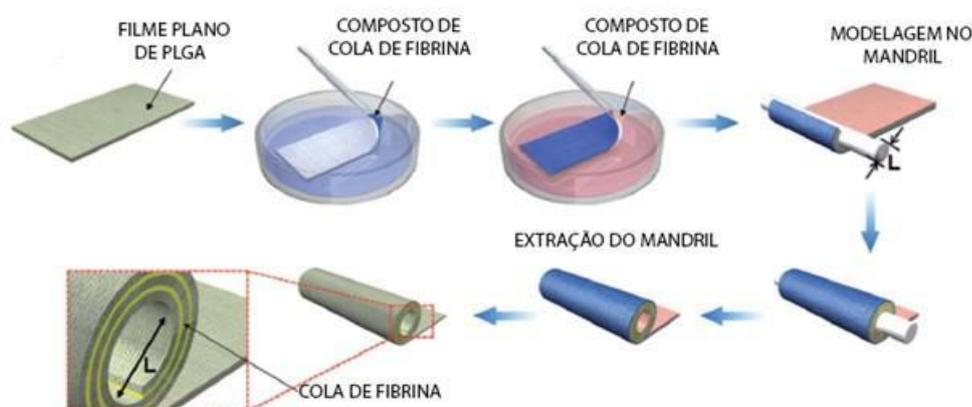
Marques e Santos (2012) obtiveram blendas em formato de filme, empregando o polímero PLGA 84:16 e isopreno, dissolvido em solução de clorofórmio, sob agitação

constante. A solução resultante foi seca em estufa com circulação forçada a 40°C, e o produto obtido foi desmoldado da placa de Petri a 60°C. Os resultados mostraram blendas homogêneas distribuídas, impossibilitando a diferenciação dos materiais. Não foi realizada adsorção de fármaco.

Moura (2014) obteve blendas em forma de filme, empregando polímero PLGA, e descreve o processamento de PLGA 80:20 dissolvido em solução de clorofórmio, sob agitação magnética a 40°C. A solução resultante foi seca em temperatura ambiente. O produto obtido foi uma película resultante do processo de evaporação, desmoldado da placa de Petri a 60°C.

Wang et al (2016) obtiveram tubos tridimensionais, empregando o polímero PLGA 75:25 e 50:50, dissolvidos em solução de acetona e dimetilformamida (DMF) (2:1), sob agitação magnética. O produto obtido foi eletrofiado a 11.5Kv a uma distância de 10 cm. O produto obtido da eletrofição foi dissolvido em diclorometano (CH_2Cl_2) a uma concentração de 5% (p/p). A solução resultante da solubilização foi fundida em um substrato de polidimetilsiloxano (PDMS) com microestruturas, posteriormente evaporadas em um exaustor por 2h, liofilizada por 12h. A conformação foi realizada com o auxílio de cola médica de fibrina (kit de cola médica selante de fibrina), depositada no filme envolto em um mandril de politetrafluoretileno expandido (ePTFE), onde o filme foi enrolado em camadas (Figura 15). O produto apresentou potencial e resistência suficiente para uso como *stent* de vasos.

Figura 15 - Esquema de processamento em camadas do tipo “sanduíche”



Seguindo o fluxo das setas, iniciando na esquerda superior: Filme de PLGA é imerso em placa de Petri com cola de fibrina de ambos os lados, em seguida aderida ao mandril de ePTFE, onde é enrolado e extraído posteriormente, mantendo o composto de fibrina intercamadas.

Fonte: Adaptado de Wang et al (2016).

O estudo conduzido por Curtts (2018) obteve blendas em forma de bastão de 1,5 mm por 0,5 mm, empregando o polímero PLGA 75:25 dissolvido em solução de acetona e água destilada (4:1), sob agitação magnética a 40°C. A solução resultante foi seca em estufa com circulação forçada a 60°C. Esse estudo também descreve o procedimento acima, com incorporação do colágeno, vertido no produto do processamento do PLGA, associado a incorporação de fármaco (ácido rosmarínico), obtendo um pó homogeneizado. A conformação foi realizada pelo método de modelagem a quente com compressão por espátula. Os resultados apresentaram degradação sistemática do polímero (tempo médio de 28 dias), porém não foram realizados testes de liberação do fármaco.

Com exceção dos trabalhos de Moura (2014), e de Marques e Santos (2012), e de Wang et al (2016), o produto do processamento foi um pó em placa de Petri ou em Becker. Há poucas evidências na literatura com relato sobre a conformação de blendas. Os trabalhos acima, sucintamente, descrevem três técnicas de conformação de blendas:

- 1) Compressão: as blendas são preparadas com o pó ou raspado da placa de Petri, usando uma prensa hidráulica a uma pressão de uma tonelada métrica, com um sistema de aço inoxidável especialmente desenvolvido para esta finalidade, e um conjunto de punções de 1 mm de diâmetro.
- 2) Técnica de conformação a quente, na qual o pó ou o raspado foi moldado em hastes, usando uma folha de Teflon[®], aquecido em uma placa quente a uma temperatura de 100 a 120°C.
- 3) É a união das duas técnicas citadas acima, a termo moldagem, e compressão hidráulica associada a um molde sob calor (VIEIRA, 2010, MAKADIA et al, 2011; MOURA, 2014; CURTTS, 2018; FIALHO et al, 2005, 2010, 2013; WANG et al, 2016; GOMES, 2011; SADEGHI-AVALSHAHR et al, 2015; SALIBA et al, 2008). Observa-se no Quadro 1 a diferença entre as técnicas citadas:

Quadro 1 - Processamento e conformação de blendas poliméricas encontradas na literatura

QUADRO DE REFERÊNCIA ESTADO DA ARTE						
Autor	Polímero	Solução	Produto da solução	Conformação	Produto final	Diâmetro das Blendas
Fialho et al.(2003)	PLGA 50:50	Aceronitrila e água destilada (4:1)	Pó Homogeneizado	Extrusão a quente (60°)	Bastão	-
Fialho e Cunha (2005)	PLGA 50:50	Aceronitrila e água destilada (4:1)	Pó Homogeneizado	Compressão a quente em molde de teflon (100 a 120°C)	Bastão	4 mm x 1 mm
Saliba et al.(2008)	PLGA 75:25	Aceronitrila e água destilada (4:1)	Pó Homogeneizado	Extrusão a quente (60°)	Bastão	4 mm x 1 mm
Vieira (2011)	PLGA 75:25	Acetronitrila e água destilada (4:1)	pó Homogeneizado	compressão a quente (60°)	Bastão	0,5 mm x 2,5 mm
Marques e Santos (2012)	PLGA 84:16 + Isopreno	Solução de clorofórmio (4:1)	película	desmoldado a 60°	Filme	-
Moura (2014)	PLGA 80:20	Solução de clorofórmio (4:1)	Película	Desmoldado a 60°	Filme	-
Wang et al.(2016)	PLGA 75:25	Acetona e DMF (3:1)	Película	Enrolado com cola de fibrina	Bastão	3 mm x 17 mm
Curtts (2018)	PLGA 75:25 + Colágeno	Solução de Acetona e Ácido acético (4:1)	Pó Homogeneizado	compressão por espátula a quente (60°)	Bastão	1,5 mm x 0,5 mm

Quadro comparativo dos polímeros, soluções, produtos da solução, conformações dos produtos, produtos finais e diâmetros da literatura.

Fonte: do autor.

A metodologia de processamento e conformação do trabalho de Curtts (2018) e Vieira (2011) com uma matriz de PLGA na proporção de 75% de PLA Poli (ácido láctico) e 25% de PGA Poli (ácido glicólico), e a metodologia de Fialho e Cunha (2005), foram a técnicas que mais se aproximaram de um desfecho favorável, em termos de uso do biomaterial no segmento oftalmológico. Foram utilizados os resultados desses trabalhos consagrados na literatura, como referência à da condução do presente trabalho de pesquisa e desenvolvimento (VIEIRA, 2010; MOURA, 2014; CURTTS, 2018; FIALHO et al, 2010; FIALHO et al, 2013; WANG et al, 2016; SALIBA et al, 2008; FIALHO et al, 2005).

O presente trabalho, no desejo de organizar as etapas e tornar a descrição do trabalho agradável ao leitor, foi organizado em cinco capítulos, que são correspondentes à condução cronológica do trabalho, sendo eles: Capítulo I – Levantamento bibliográfico e aplicação do questionário semiestruturado sobre biomateriais aplicados na área oftalmológica; Capítulo II – Reproduzir o processo de obtenção de blendas copoliméricas conforme Curtts (2018); Capítulo III - Proposta de

um novo método de solubilização e obtenção dos filmes poliméricos e processamento/ conformação de blendas; Capítulo IV – Avaliação da reprodutibilidade da metodologia de processamento dos filmes poliméricos e de conformação pelo método *sanduíche* e *rocambole*, respectivamente; Capítulo V – Caracterizações físico-químicas e morfológica de filmes e blendas poliméricos.

CAPÍTULO I

Levantamento bibliográfico e aplicação do questionário semiestruturado sobre biomateriais aplicados na área oftalmológica

1. Objetivo

Aplicação de um questionário semiestruturado baseado em prévio levantamento bibliográfico realizado sobre o desenvolvimento de novos dispositivos terapêuticos destinados à área oftálmológica.

2. Materiais e Métodos

Preliminar à condução dessa dissertação, foi elaborada uma pesquisa bibliográfica sobre a necessidade de biomateriais do mercado oftálmológico. Devido às extensas opções de desenvolvimento de biomateriais, e aos diversos segmentos oftálmológicos, foram levantadas as publicações atuais, que correlacionavam biomateriais com oftalmologia, no intuito de traçar a linha de pesquisa mais relevante para esse trabalho (APÊNDICE A).

2.1 Materiais

1. Questionário estruturado (*survey* exploratório) de pesquisa impresso, folha A4.
2. Software Microsoft® Excel®, para inclusão de dados do questionário. Software licenciado e disponibilizado para o trabalho pela Oculare® – Hospital de Oftalmologia.
3. Software de análise de dados estatísticos Minitab®, versão estudantil, disponibilizada no laboratório de pós-graduação em Gestão da Qualidade Lean Seis Sigma da faculdade Pitágoras, unidade Venda Nova.
4. Utilização dos sistemas de busca SCIELO, Google Acadêmico, Portal CAPES, Science.gov, repositório digital da UFRGS, UFMG, UFRJ e USP.
5. Utilização da plataforma Sucupira – Qualis Capes, com qualificação de periódicos no último quadriênio válido, 2013 a 2016.

2.2 Método

Para verificação das pesquisas atuais com o tema de “biomateriais em oftalmologia”, utilizaram-se buscas por artigos acadêmicos publicados nos últimos 10 anos, que correlacionavam oftalmologia com biomateriais.

Foram considerados somente artigos publicados em revistas de relevância com nota Qualis Capes de A1 a B3, seguindo a mesma metodologia de publicação de artigos originais do programa de pós-graduação do CEFET-MG.

Para a pesquisa bibliográfica, palavras-chave dos trabalhos, relacionadas à oftalmologia e biomateriais, foram inseridas em uma planilha dinâmica do Microsoft® Excel® e contabilizadas em número de incidência. As palavras-chave mais citadas foram usadas e conduziram aos temas estudados no presente trabalho e na elaboração de um questionário sobre a relevância do uso e desenvolvimento de biomateriais para o mercado de terapêutica oftalmológica. Também foram levados em consideração os temas que tinham potencial para serem realizados no CEFET-MG, durante o curso do mestrado. No questionário estruturado, havia campo para a sugestão de novos temas (APÊNDICE B).

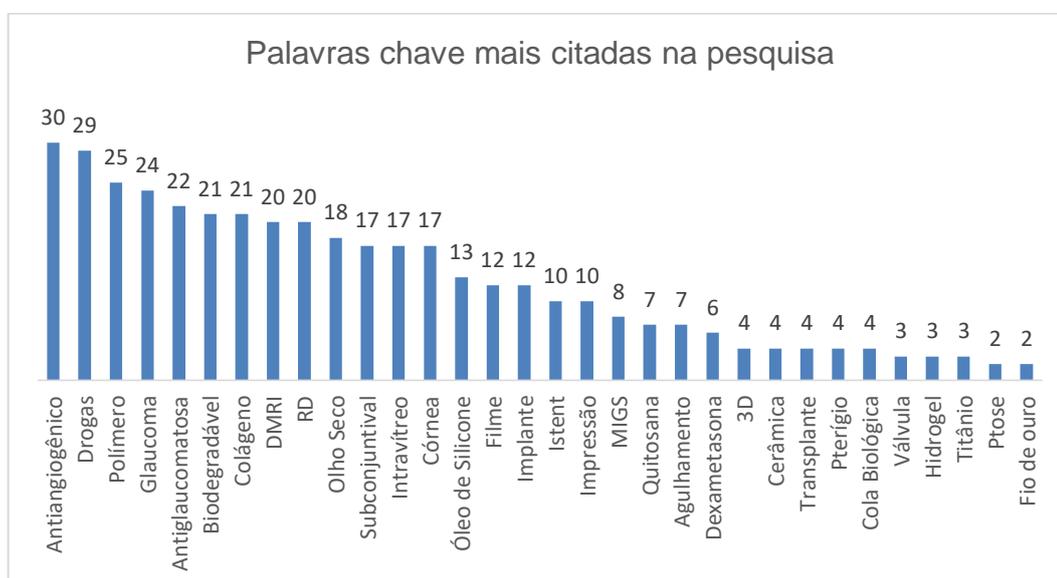
O questionário estruturado foi aplicado em um hospital de oftalmologia especializado localizado em Belo Horizonte, com corpo clínico de diferentes subespecialidades da oftalmologia que prestam serviços tanto no setor público e privado, Para a geração de dados a partir do questionário, cada tema e pergunta permitia a inclusão de nota de 0 a 10 , de acordo com a importância e relevância do uso e desenvolvimento de biomateriais para cada médico-usuário Sendo: zero para tema não relevante, e 10 para tema de máxima relevância. O questionário, não apresentou restrição de notas iguais para temas diferentes e não permitiu a inclusão de dados pessoais ou sensíveis, excluindo a necessidade de submissão deste questionário ao Comitê de Ética em Pesquisa. O resultado do questionário estruturado foi lançado no software Minitab®, para validação estatística e amostra de resultados.

3. Resultados

Dentre os trabalhos pesquisados, foram selecionados 84 trabalhos publicados em revistas classificadas Qualis CAPES de A1 a B3 (APÊNDICE A).

Em 84 trabalhos pesquisados, obteve-se 399 palavras-chave, sendo “antiangiogênico” a mais prevalente delas, com 30 (7,51%), seguida por “drogas” com 29 (7,26%). No gráfico 1 observa-se as 15 palavras-chave mais prevalentes: como antiangiogênico correspondendo 7,51%, drogas 7,26%, polímero 6,26%, glaucoma 6,01%, antiglaucomatosa 5,51%, biodegradáveis 5,26%, colágeno 5,26%, DMRI 5,01%, RD 5,01%, olho seco 4,51%, subconjuntival 4,26%, intravítreo 4,26%, córnea 4,26%, óleo de silicone 3,25%, filme 3%, implante 3,0%.

Gráfico 1 – Principais palavras-chave e sua incidência em trabalhos publicados e levantados pelo presente trabalho



O gráfico mostra as palavras-chave mais utilizadas pelos trabalhos levantados sobre o tema biomateriais e oftalmologia. Não foram inseridos no gráfico, palavras-chave com incidência menor ou igual a um.

Fonte: do autor.

Foram sugeridos cinco temas de trabalhos concatenando as palavras chave: “filme de material biodegradável (PLGA/colágeno) para tratamento de úlcera de córnea”, “implante de polímero biodegradável de antiangiogênico”, “implante de óleo de silicone com antiangiogênico associado”, “implante subconjuntival de polímero biodegradável de medicação antiglaucomatosa”, “desenvolvimento de filme plástico para proteção de olho seco em pacientes acamados ou sedados”.

O questionário estruturado teve a participação de 37 médicos oftalmologista do corpo clínico da Oculare - Hospital de Oftalmologia, em Belo Horizonte, Minas Gerais, provenientes de diferentes sub-especialidades oftálmológicas, entre elas:

retina, catarata, glaucoma, neuro oftalmologia, oftalmo pediatria, plástica, córnea, uveíte, oftalmo oncologia e urgências oculares.

Os resultados de cada um dos 37 médicos foram tabulados na planilha do Microsoft® Excel®, segmentados por especialidade, com atribuição de pontos definida pelos pesquisados, para cada item de pesquisa, conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Tabulação dos dados obtidos pelo questionário de avaliação da relevância do uso e desenvolvimento de biomateriais para o mercado de terapêutica em oftalmologia

TABULAÇÃO DA PESQUISA DE NECESSIDADE DE MERCADO																																						
Especialidade Oftalmológica	Glaucoma					Catarata					Córnea					Retina					Plástica			Urgência			Estrabismo			Oncologia								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	TOTAL
Filme biodegradável (PLGA-Colágeno), para tratamento de úlcera de córnea	4	2	5	6	4	2	3	5	2	5	4	9	10	10	9	9	9	2	8	4	7	8	7	8	8	5	5	6	9	9	5	8	5	6	5	7	7	227
Implante de polímero biodegradável de antiangiogênico	10	8	7	9	10	10	9	10	9	10	10	10	8	8	8	10	10	9	10	10	10	10	9	9	9	8	7	10	9	7	8	7	10	10	6	10	8	332
Implante subconjuntival de polímero biodegradável de medicação antiglaucomatosa	10	10	10	10	9	10	10	9	9	8	9	8	7	9	10	7	8	10	9	9	9	8	10	10	10	8	9	10	10	9	9	9	9	10	7	8	9	335
Filme plástico para proteção de olho seco em pacientes acamados ou sedados	6	2	6	7	7	6	5	8	2	2	5	7	9	7	7	8	0	5	7	5	8	4	10	7	5	9	3	5	7	8	10	7	7	8	7	6	10	232
Implante de óleo de silicone com antiangiogênico associado	2	3	3	5	5	3	6	6	5	1	7	6	3	2	3	2	2	6	6	7	5	5	6	3	6	1	4	8	2	4	2	3	2	4	2	3	3	146

Os dados obtidos foram inseridos em planilha do Excel® e subdivididos na tabela tema e especialidade. Fonte: do autor.

O resultado do questionário tabulado no Microsoft® Excel®, foi transferido para o Minitab®, com o intuito de verificar se a especialidade de cada médico interferiu no resultado. Os dados foram analisados usando o teste de *t Student*, com $p < 0,05$, rejeitando a hipótese de a especialidade interferir no resultado.

Os dois itens que tiveram as maiores pontuações foram: desenvolvimento de implante subconjuntival de hipotensor ocular com 335 pontos, seguido por desenvolvimento de implante de polímero biodegradável de antiangiogênico com 332 pontos (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Pontuação da relevância dos temas apresentados no questionário e respondido pela equipe médica

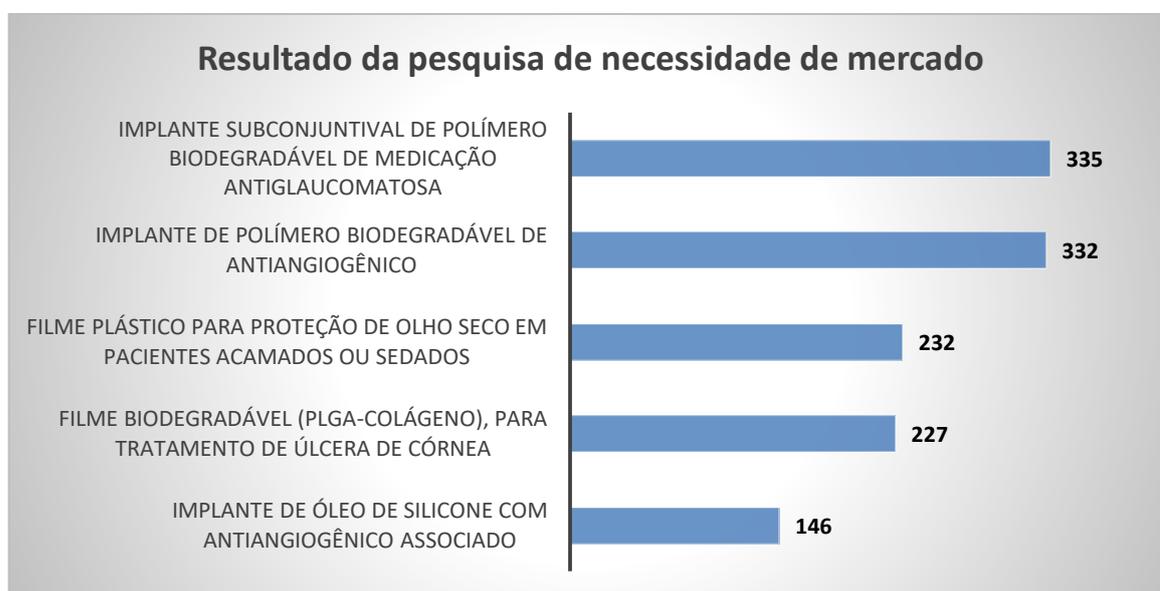


Gráfico com o resultado da pesquisa de necessidade de biomateriais e os mais relevantes para mercado oftalmológico, onde observa-se uma pontuação maior para o implante subconjuntival de polímero hipotensor e de polímero antiangiogênico.

Fonte: do autor.

Os dois temas, desenvolvimento de implante subconjuntival de hipotensor ocular, e desenvolvimento de implante de polímero biodegradável de antiangiogênico, mais relevantes do questionário aplicado, foram inseridos em plataforma de busca que resultou os seguintes trabalhos: Saliba et al (2008), Viera (2011), Marques e Santos (2012), Fialho et al(2013), Souza (2015), Wang et al(2016), e Curtts (2018).

4. Discussão

A inovação tecnológica tem alcançado amplos espectros principalmente na área da biotecnologia, e nos segmentos cardíacos, ortopédicos, oncológicos e oftalmológicos. A incorporação de novas técnicas, e utilização de medicinas alternativas, tem incentivado o desenvolvimento de novos produtos provenientes da demanda da população e dos profissionais da saúde (ARRUDA; VERMULM; HOLLANDA, 2006).

Após pesquisa do estado da arte, com os dois temas mais prevalentes do questionário, optou-se em conduzir esse trabalho de mestrado dando continuidade à

linha de pesquisa dos trabalhos de Saliba et al (2008), Vieira (2011), Marques e Santos (2012), Fialho et al (2013), Souza (2015), Wang et al (2016), e Curtts (2018). Os trabalhos têm como tema o transporte de drogas na área oftalmológica, variando entre utilização de polímero, drogas, processamento, e a conformação de blendas.

Os dois temas, desenvolvimento de implante subconjuntival de hipotensor ocular, e desenvolvimento de implante de polímero biodegradável de antiangiogênico, resultado do questionário semiestruturado, foram associados.

Diante disso, objetivou-se, neste trabalho, a busca de uma estratégia de obtenção blendas poliméricas e optou-se pela continuidade dos estudos já iniciados pelo nosso grupo de pesquisa, Curtts (2018). Optou-se por utilizar drogas de uso oftalmológico para o presente trabalho como maneira canônica de comparar os resultados com a literatura.

5. Conclusão

O levantamento dos dados bibliográficos e obtidos pelo questionário mostram a importância da continuidade das pesquisas sobre o desenvolvimento de biomateriais na área oftalmológica direcionados ao transporte e liberação de drogas ao segmento posterior do olho para o controle da pressão intraocular e angiogênese da retina.

CAPÍTULO II

**Reproduzir o processo de obtenção de blendas copoliméricas conforme Curttis
(2018)**

1. Objetivo

Reproduzir o processo de obtenção de blendas copoliméricas desenvolvidas em trabalhos anteriores por nosso grupo de pesquisa a fim de melhor definir as etapas de produção e verificar possíveis pontos de melhorias.

2. Materiais e métodos

Os materiais e métodos para a reprodução da blenda foi realizada conforme descrito no estudo de Curtts (2018).

2.1 Materiais

1. O Poli (ácido láctico-co-glicólico) ou PLGA Resomer[®] RG 756S P.A. (Sigma Aldrich[®], St. Louis, MO, USA – Data Sheet site www.sigmaaldrich.com). A proporção matemática entre os monômeros utilizados na obtenção do copolímero 75:25 (é de 75% de ácido láctico e 25% de ácido glicólico), disponibilizado pelo Departamento de Engenharia de Materiais (DEMAT) CEFET-MG.
2. Matriz de Colágeno tipo I (Technodry[®], Belo Horizonte, Brasil), doado pelo professor Dr. Ivan Casagrande.
3. Ácido Rosmarínico P.A. com teor de pureza superior a 98% (Sigma Aldrich[®], St. Louis, MO, USA), doado por Ana Luiza Leite, centro de pesquisas biológicas da Universidade de São Paulo (USP).
4. Ácido Acético Glacial P.A. com 99,8% de pureza, grau P.A. (Neon[®], Suzano, Brasil), disponibilizado pelo DEMAT, CEFET-MG
5. Acetona P.A. 99,8% 9 (Sulfal Química[®], Belo Horizonte, Brasil), disponibilizado pelo DEMAT, CEFET-MG
6. Água bidestilada P.A., adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
7. Pipeta volumétrica de 1 mL, adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
8. Três pipetas volumétricas de 10 mL, adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte.
9. Vinte (20) Placas de Petri de 8 cm de diâmetro, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.

10. Vidro de relógio de 12 cm de diâmetro, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
11. Becker graduado de 50 e de 100 mL, boro 3.3, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
12. Erlenmeyer graduado de 50 mL, boro 3.3, com rolha de teflon, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
13. Barra de PTFE de 2 cm, para agitador magnético, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
14. Caixa de luva nitrílica, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
15. Pipetador 10 mL, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
16. Agitador magnético com aquecimento, CienlaB[®], modelo CE1540LA, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
17. Estufa com circulação forçada, Odontécnica[®], modelo Beta B – expertline, adquirido da Odontécnica Desing[®], Rio Claro, São Paulo.
18. Pinça microcirúrgica curva 15, Rhosse[®], aço inox 304, adquirido da Rhosse Instrumentos e Equipamentos Cirúrgicos[®], Ribeirão Preto, SP.
19. Agulha hipodérmica descartável 13x0,30 mm (30 gauge x ½), adquirido da Medix Brasil[®], Joiville, SC.
20. Software de análise de dados estatísticos Minitab[®], versão estudantil, disponibilizada no laboratório de pós-graduação em Gestão da Qualidade Lean Seis Sigma da faculdade Pitágoras, unidade Venda Nova.
21. Cronometro Digital Vollo 003-VL501
22. Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

2.2 Método

O presente grupo de pesquisa tem com uma proposta de produção de blenda poliméricas através da combinação de PLGA/colágeno tipo 1 com objetivo de desenvolver uma plataforma de liberação de drogas.

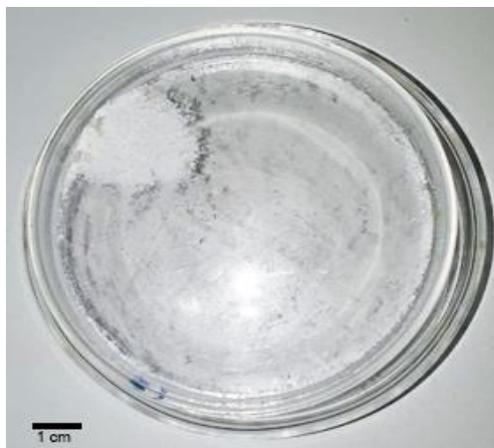
A proporção de PLGA 75:25 foi a que apresentou melhor controle de degradação no trabalho de Curtts (2018), sendo a escolhida para ser reproduzida, e para uso no presente trabalho.

Conforme o trabalho de Curtts (2018), o colágeno tipo I foi dissolvido em uma concentração de 12,5mg de colágeno em uma solução de 10 mL de ácido acético em 40 mL de acetona (4:1), sob agitação magnética a 40°C por 4 horas. Na sequência, no mesmo Bequer, foi adicionado 75mg de PLGA (75:25) solubilizado sob agitação magnética a 40°C por uma hora. A solução foi então vertida em placa de Petri e seca em estufa com circulação forçada a 35°C por 1 hora e 50 minutos. O pó homogêneo foi compactado e conformado sob pressão, nas medidas de 2 mm x 20 mm, a uma temperatura de 30°C.

3. Resultados

A solubilização completa do colágeno deu-se após o período de oito horas, na qual obteve-se uma solução homogênea e de aspecto opaco. Para a matéria prima PLGA, a solubilização ocorreu em período de uma hora, na qual obteve-se uma solução opaca e homogênea. Após a incorporação das matérias primas em placa de petri, secou-se em estufa com circulação forçada, por 1 hora e 50 minutos. O tempo total de processamento do filme polimérico foi de 11 horas resultando em uma estrutura laminar, opaca, aderida à placa de Petri. Não foi possível realizar a extração de filme, devido à forte adesão à placa de Petri, sendo necessária a retirada por raspagem, resultando em um pó branco e homogêneo (Figura 16).

Figura 16 - Aspecto do material raspado da placa de petri, produto da solução Colágeno/PLGA



Na esquerda superior da placa de Petri o material raspado da placa. Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.
Fonte: do autor.

O pó homogêneo foi compactado e conformado sob pressão, com medidas de 2 mm x 20 mm. O resultado final foi uma blenda polimérica, cilíndrica em forma de bastão, com espessura heterogênea (Figura 17).

Figura 17 - Aspecto da blenda reproduzida pelas técnicas de Curtts (2018)

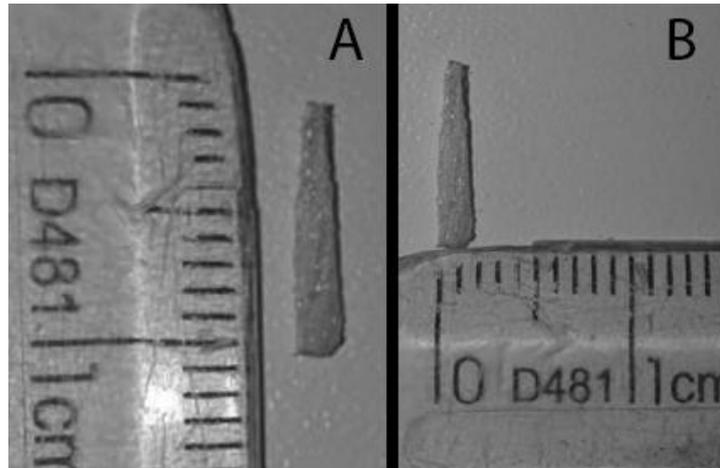
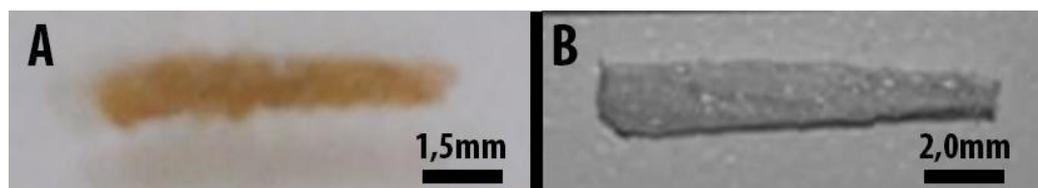


Foto da blenda produzida, medindo 10 mm x 1,5 mm. Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm. A) Comprimento da blenda. B) Espessura da blenda.
Fonte: do autor.

4. Discussão

De acordo com os dados obtidos, observa-se semelhanças morfológicas entre a blenda reproduzida no presente trabalho e as blendas dos trabalhos de Curtts (2018)) (Figura 18).

Figura 18 – Imagem comparativa do aspecto macroscópico da blenda do trabalho de Curtts (2018) e da blenda no presente trabalho



Fotografia das blendas poliméricas

(A): Fotografia do aspecto morfológico macrográfico da blenda de Curtts (2018).

(B): Fotografia do aspecto morfológico macrográfico da blenda reproduzida neste trabalho, segundo a metodologia proposta por Curtts (2018). Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: A: Curtts (2018) B: do autor.

O resultado da reprodução da blenda de Curtts (2018) foi morfológicamente similar, podendo-se afirmar que a técnica é possível de ser realizada. A metodologia de reprodução de de Curtts (2018) tem como produto final uma blenda compacta, conformada em temperaturas acima de 30°C, aderida à placa de Petri, e com elevado tempo de produção. Segundo Ferreira et al (2022), avanços importantes são constantemente feitos a partir uma variação de polímeros sintéticos, porém, devido às complexas demandas dos biomateriais em relação às propriedades individuais, alguns sistemas necessitam de uma combinação de constituintes, objetivando a formação de um composto mais predisposto à sua aplicação. Segundo Amato (2014) e Oréfice et al (2006), os processamentos também necessitam ser mais eficientes, principalmente em relação à aplicação industrial, e devem apresentar boa reprodutibilidade, com técnicas mais fáceis e custos baixos de processamento.

5. Conclusão

A metodologia descrita no trabalho de Curtts (2018) é capaz de desenvolver uma blenda polimérica, porém, devido ao elevado tempo de produção, e a elevada adesão à placa de Petri, o processo industrial de fabricação torna-se mais complexo. No intuito de melhorar as condições fabris e as características do produto em desenvolvimento, sugere-se modificações nas técnicas de solubilização, processamento e conformação, que serão abordadas nos capítulos seguintes.

CAPÍTULO III

Proposta de um novo método de solubilização e obtenção dos filmes poliméricos e processamento/ conformação de blendas

1. Objetivos

Definir uma rota de solubilização do PLGA e do colágeno, e desenvolver uma nova metodologia de processamento e conformação de filmes poliméricos de PLGA/colágeno tipo I pela técnica *sanduiche*, e *rocambole*, a fim de obter blendas copolímeras aplicáveis na área biomédica.

2. Materiais e métodos

A proposta de nova metodologia do presente trabalho é uma variação dos trabalhos de Wang et al (2016) e Curtts (2018), descritos no item 4.7. Apesar do vasto número de drogas hipotensoras intraoculares, o veículo ideal de transporte ainda não foi totalmente estabelecido. Mesmo com a grande relevância do tema, o desenvolvimento de polímeros biodegradáveis associados a drogas antiangiogênicas e antiglaucomatosas, descritos na literatura, apresentam resultados preliminares que ainda não alcançam o objetivo principal. Na literatura, há uma variação entre as diversas formas de processamento e conformação, que conseqüentemente apresentam adsorção de fármacos em diferentes resultados (FIALHO et al, 2003; FIALHO e CUNHA, 2005; SALIBA et al, 2008; VIEIRA, 2011; MARQUES e SANTOS, 2012; MOURA, 2014; WANG et al, 2016; CURTTS, 2018). Para tal, se propõe uma nova metodologia de conjugados poliméricos.

2.1 Materiais

1. O Poli (ácido láctico-co-glicólico) ou PLGA Resomer[®] RG 756S P.A. (Sigma Aldrich[®], St. Louis, MO, USA –). A proporção matemática entre os monômeros utilizados na obtenção do copolímero 75:25 (é de 75% de ácido láctico e 25% de ácido glicólico), disponibilizado pelo Departamento de Engenharia de Materiais (DEMAT) CEFET-MG.
2. Matriz de Colágeno tipo I (Technodry[®], Belo Horizonte, Brasil), doado pelo professor Dr. Ivan Casagrande.

3. Ácido Rosmarínico P.A. com teor de pureza superior a 98% (Sigma Aldrich[®], St. Louis, MO, USA), doado por Ana Luiza Leite, centro de pesquisas biológicas da Universidade de São Paulo (USP).
4. Ácido Acético Glacial P.A. com 99,8% de pureza, grau P.A. (Neon[®], Suzano, Brasil), disponibilizado pelo DEMAT, CEFET-MG
5. Acetona P.A. 99,8% (Sulfal Química[®], Belo Horizonte, Brasil), disponibilizado pelo DEMAT, CEFET-MG
6. Água bidestilada P.A., adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
7. Pipeta volumétrica de 1 mL, adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
8. Três pipetas volumétricas de 10 mL, adquirida da CasaLab[®], Belo Horizonte.
9. Vinte (20) Placas de Petri de 8 cm de diâmetro, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
10. Vidro de relógio de 12 cm de diâmetro, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
11. Becker graduado de 50 e de 100 mL, boro 3.3, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
12. Erlenmeyer graduado de 50 mL, boro 3.3, com rolha de teflon, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
13. Barra de PTFE de 2 cm, para agitador magnético, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
14. Caixa de luva nitrílica, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
15. Pipetador 10 mL, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
16. Agitador magnético com aquecimento, CienlaB[®], modelo CE1540LA, adquirido da CasaLab[®], Belo Horizonte, MG.
17. Estufa com circulação forçada, Odontécnica[®], modelo Beta B – expertline, adquirido da Odontécnica Desing[®], Rio Claro, São Paulo.
18. Pinça microcirúrgica curva 15, Rhosse[®], aço inox 304, adquirido da Rhosse Instrumentos e Equipamentos Cirúrgicos[®], Ribeirão Preto, SP.
19. Agulha hipodérmica descartável 13x0,30 mm (30 gauge x ½), adquirido da Medix Brasil[®], Joiville, SC.
20. Software de análise de dados estatísticos Minitab[®], versão estudantil, disponibilizada no laboratório de pós-graduação em Gestão da Qualidade Lean Seis Sigma da faculdade Pitágoras, unidade Venda Nova.
21. Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

22. Cronômetro Digital Vollo 003-VL501.

23. Microscópio Cirúrgico OPMI Lumera S88, Zeiss, disponível na Oculare – Hospital de Oftalmologia, Belo Horizonte, MG.

2.2 Método

Para a obtenção das blendas poliméricas proposta no presente trabalho, os filmes PLGA/Colágeno tipo I foram desenvolvidos conforme os trabalhos de Curtts (2018) e Wang et al (2016) adaptados, assim como, processados em um conjugado polimérico laminado.

2.2.1 Escolha das matérias primas

Dentre as diversas proporções matemáticas do copolímero PLGA, a proporção escolhida para o presente trabalho foi a proporção de 75:25 (75% PGA e 25% PLA), que além de ser a mais comumente utilizada, foi a que apresentou melhores resultados de degradação nos trabalhos de Vieira (2011), Curtts (2018) e Wang et al (2016). A concentração de PLGA 75:25 na solução segue os modelos de concentração dos trabalhos de Vieira (2011) e Curttis (2018). O PLGA no presente trabalho tem dois objetivos: fornecer um suporte reservatório ao fármaco, e proporcionar menor adesão à placa de Petri, permitindo a retirada do filme, excluindo o processo de raspagem. A retirada do material em forma de filme é essencial para a etapa de conformação da blenda. O processamento do PLGA foi realizado apenas com solvente, sem o uso da água destilada, no intuito de uma secagem mais rápida e uniforme. O solvente escolhido foi a acetona. A justificativa para a escolha desse solvente se deve ao desejo e não utilizar o clorofórmio, utilizado nos trabalhos de Marques e Santos (2012) e Moura (2014), devido à toxicidade maior do que a acetona em organismo humano. O uso da acetona no lugar da acetronitrila se deve à disponibilidade do químico no laboratório, ao sucesso descrito no trabalho Curtts (2018), e à baixa toxicidade da acetona em comparação com a acetoneitrila. O uso do ácido acético deve-se à biocompatibilidade do solvente, aos resultados positivos encontrados nos trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018), e ao fato do colágeno,

ácido rosmarínico e tartarato de brimonidina serem solúveis em ácido acético (VERAS, 2017; MOREIRA, 2014; SOUZA, 2015).

O colágeno neste trabalho tem dois objetivos: fornecer um suporte matricial para o fármaco, e possibilitar o aumento da hidrofobia na blenda, com o objetivo de deixar mais lento o tempo de degradação, conforme os trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018). A proporção de colágeno na solução segue os modelos do trabalho de Curtts (2018), com variações, na concentração do colágeno na solução de ácido acético, que apresentaram melhores resultados.

Para o Glaucoma, foi escolhida a Brimonidina, devido às referências e resultados promissores nos trabalhos de Souza (2015) e Van Der Valk et al (1999), além do baixo índice de reações adversas. Os Tartaratos de Brimonidinas, para o tratamento do Glaucoma, disponíveis no mercado são: Glaub[®] (nome comercial), da Genom[®], e os genéricos da Novartis[®], Aché[®], EMS[®], possuem concentração de 2 mg/mL (0,2% p/v) (RCM GLAUB[®], 2020; RCM Tartarato de Brimonidina 2022, 2021). Toris et al (1999) e Cantor (2006), em seus trabalhos, relatam tratamento eficaz com queda significativa da PIO, com menores efeitos adversos na concentração de 2 mg/mL (0,2% p/v). Souza (2015) relata implante de quitosana e Brimonidina na concentração de 2,5 mg/mL (0,25% p/v), com resultados positivos para queda da PIO. A concentração de Brimonidina escolhida para esse estudo foi de 2 mg/mL (0,2% p/v, 30mg para a solução de 15 mL), igual à dose disponível no mercado.

Para as doenças relacionadas à angiogênese, RD e DMRI, foi escolhido o uso do AR, pela disponibilidade do fármaco no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG, pela facilidade de uso e de manipulação, devido à sua apresentação farmacológica, e pelo baixo índice de efeito colateral. Vieira (2011) e Curtts (2018) utilizaram 1:3 do AR em relação à massa, na solução da blenda (29,16mg). Veras (2017) descreve resultados de absorção estomacal do AR entre 0,90% e 5%, na solução com concentração de 1 mg/mL, por via oral. O AR não é encontrado comercialmente em solução oftálmica injetável ou em gotas. Atualmente, há, no mercado, três medicações antiangiogênicas: Avastin[®] (bevacizumabe) da Roche[®] (medicação *off label*) de concentração 25 mg/mL, Lucentis[®] (ranibizumabe) da Novartis[®] de concentração 10 mg/mL, Eylia[®] (aflibercepte) da Bayer[®] de concentração de 40 mg/mL (RCM AVASTIN[®], 2022; RCM LUCENTIS[®], 2022; RCM EYLIA[®], 2021). No presente trabalho, devido às diferentes concentrações dos produtos antiangiogênicos no mercado e às suas diferentes atuações, diferindo entre anticorpos monoclonais e

receptores, optou-se por utilizar, na solução de AR, a mesma concentração de Brimonidina que foi utilizada na solução de Brimonidina, para fins de cálculo de liberação, uma vez que os excipientes serão os mesmos, utilizando uma concentração próxima da utilizada por Vieira (2011) e Curtts (2018).

2.2.2 Escolha do solvente

No estado da arte, há uma grande variação da concentração do solvente na solução de PLGA, mesmo os trabalhos de Wang et al (2016) e Curtts (2018), que utilizam o mesmo solvente, apresentam uma diferença de concentração respectivamente (3:1) e (4:1). Devido ao trabalho de Curtts (2018) apresentar similaridade no processamento, optou-se por realizar a solubilização do PLGA conforme descrito de 10 mL de ácido acético (P.A. 99.8%) em 40 mL de acetona (P.A. 99,8%). Para definir a melhor solubilização, o PLGA foi dissolvido em duas concentrações de solventes:

- **Solução 1 PLGA** – 75 mg de PLGA em uma solução de 10 mL de ácido acético (P.A. 99.8%) em 40 mL de acetona (P.A. 99.8%) (4:1), sob agitação magnética a 40°C, por uma hora, conforme descrito por Wang et al (2016) e Curtts (2018).
- **Solução 2 PLGA** – 75 mg de PLGA em uma solução de 15 mL de Acetona (P.A. 99.8%), sob agitação magnética a 40°C, por 10 minutos, conforme descrito por Moura (2014) e Marques e Santos (2012), com variação química do solvente trocando acetronitrila por acetona, solução proposta pelo presente trabalho.

O colágeno na aplicação de implantes para transporte de drogas é utilizado como depósito reservatório e/ou matricial, e como controle da taxa de degradação da blenda (TONHI e PLEPIS, 2002). Para definir a melhor solubilização, o colágeno tipo I foi dissolvido em duas concentrações de solventes:

- **Solução 1 Colágeno** – 12,5mg de colágeno, dissolvido em uma solução acetônica de 10 mL de ácido acético (P.A. 99.8%) em 40 mL de acetona (P.A.

99.8%) (4:1), sob agitação magnética a 40°C por quatro horas, conforme descrito por Curtts (2018).

- **Solução 2 Colágeno** – 12,5mg de colágeno, dissolvido em uma solução aquosa de 1,5 mL de Ácido Acético (P.A. 99.8%) em 13,5 mL de água bidestilada, sob agitação magnética a 40°C por uma hora e 30 minutos, adaptado de Jose et al (2009) e Moreira (2014).

A solubilização dos fármacos, junto à Solução Colágeno, tem como objetivo utilizar o colágeno como suporte matricial para o transporte das drogas. O tartarato de Brimonidina foi solubilizado em solução de 11% de ácido acético em água e 12,5mg de colágeno (Solução de Colágeno), sob agitação magnética a 40°C por 30 minutos, solução codificada como Solução 2 Colágeno + BR. O AR foi solubilizado em solução de 11% de ácido acético em água e 12,5mg de colágeno (Solução Colágeno), sob agitação magnética a 40°C por 30 minutos, solução codificada como Solução Colágeno + AR. Os fármacos também são solúveis em água, não sendo necessário realizar testes de solubilidade para os fármacos. As proporções das drogas seguiram os parâmetros de bula da Brimonidina e os padrões encontrados nos trabalhos de Viera (2011) e Curtts (2018).

- **Solução 2 Colágeno + BR** - 13,5 mL de água bidestilada 1,5 mL de Ácido Acético (P.A. 99.8%) (concentração da solução 11%) + 12,5mg de Colágeno tipo I, após solubilização adicionado 30mg de Tartarato de Brimonidina (concentração de 2 mg/mL), concentração total da solução com tartarato de Brimonidina 2,8 mg/mL
- **Solução 2 Colágeno + AR** - 13,5 mL de água bidestilada e 1,5 mL de Ácido Acético (P.A. 99.8%) (concentração da solução 11%) + 12,5mg de Colágeno tipo I, após solubilização adicionado 30 mg de AR (concentração de 2 mg/mL), concentração total da solução com AR e Colágeno 2,8 mg/mL

As metodologias de solubilização da Solução PLGA 1 e Solução PLGA 2, Solução Colágeno 1 e Solução Colágeno 2, foram comparadas em relação a tempo de solubilização, aspecto durante o processo de solubilização, e aspecto final em placa

de petri (visto a *olho nú*, a MO e microscopicamente), onde também foram avaliados a homogeneidade, temperatura e tempo de processamento.

2.2.3 Processamento e conformação das blendas

As soluções foram vertidas separadamente em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, e levadas para secar em estufa de circulação forçada com temperatura variando de 35° a 40°C. Após secagem, o filme com as camadas sobrepostas foi extraído da placa de Petri e conformado em formato cilíndrico, tentando-se obter a forma de bastão com 1,5 mm de diâmetro por 40 mm de comprimento. **A descrição completa da metodologia de processamento e conformação do filme e da blenda fazem parte do objetivo principal desse trabalho, sendo abordados nos resultados desse capítulo.**

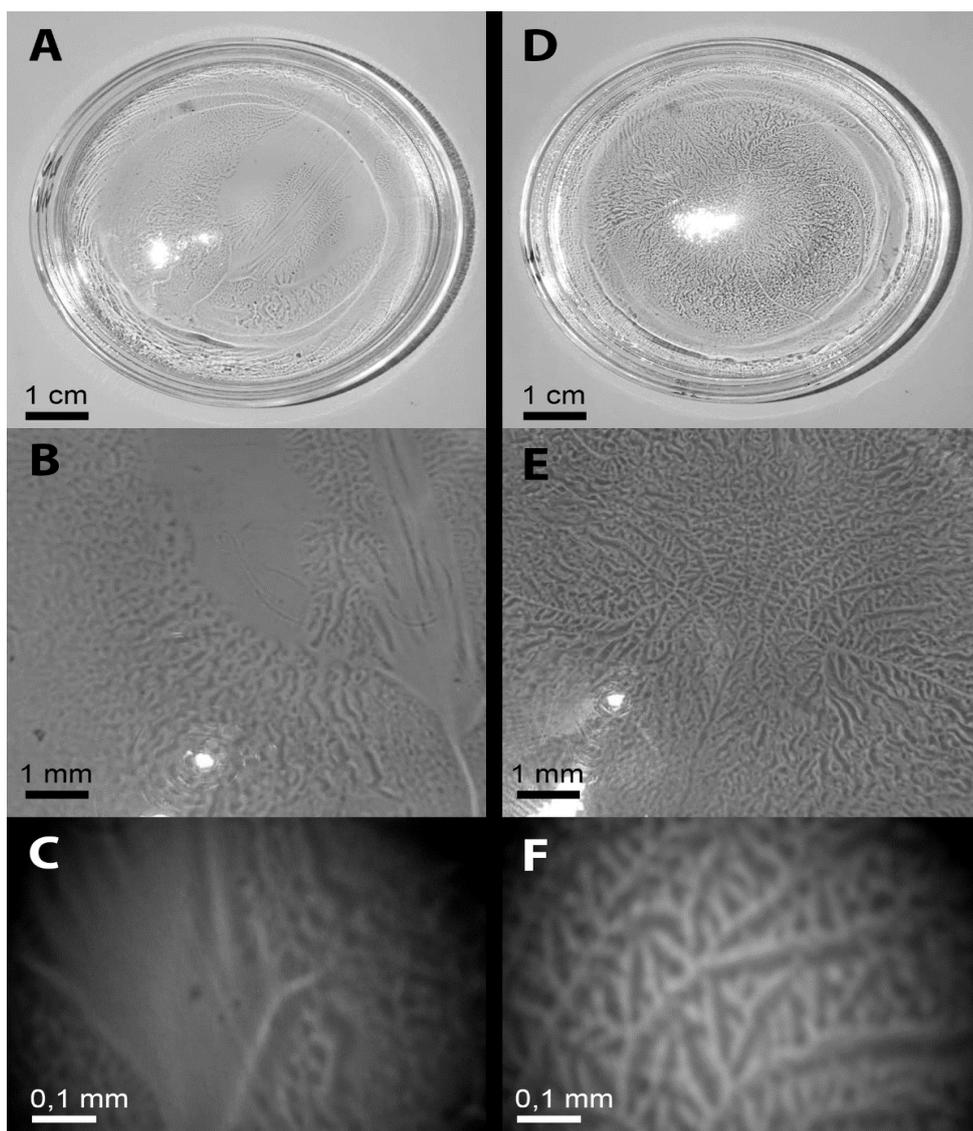
3. Resultados

3.1 Definição da rota de solubilização do PGLA (75:25)

Uma das dificuldades encontradas durante a reprodução da rota de processamento e conformação proposta por Curtts (2018) foi a solubilização do PLGA e do colágeno. A metodologia de solubilização do PLGA descrita por Curtts (2018) denominada **Solução 1 PLGA**, foi comparada com o método de solubilização do PLGA proposta no presente trabalho, denominada **Solução 2 PLGA**. De acordo com o trabalho anterior, a Solução 1 PLGA solubilizava-se em 10 minutos sob agitação magnética a 40°C, porém observou-se que nesse tempo utilizado o aspecto dessa solução ainda permanecia opaca. No presente trabalho, ao reproduzir a solubilização de Curtts (2018), somente após 50 min ($\pm 4,10$) a solução apresentou aspecto transparente. Em vista disso, propondo uma solubilização unitária das matérias primas, conseguiu-se otimizar o tempo dessa etapa. A solubilização do PLGA com Solução 2 PLGA ocorreu em 10 min ($\pm 2,30$) apresentando um aspecto transparente e homogêneo. Após incubação em estufa a 35°C, a solução com Solução 1 PLGA teve o tempo de secagem total de 1 hora e 25 minutos ($\pm 1,3$ minutos). A solução com Solução 2 PLGA teve o tempo de secagem de 35 minutos ($\pm 1,3$ minutos). O tempo

total entre a solubilização e a secagem da Solução 1 PLGA foi de 2 horas e 15 min (± 5), e a Solução 2 PLGA totalizou 45 min (± 4). O aspecto final da solubilização da Solução 1 PLGA, visto em microscopia óptica (MO), mostrou uma desorganização das fibras e da estrutura, após secagem (Figura 19).

Figura 19 – Fotografia com aspecto da solubilização do PLGA em placa de Petri após secagem, comparativo entre solventes

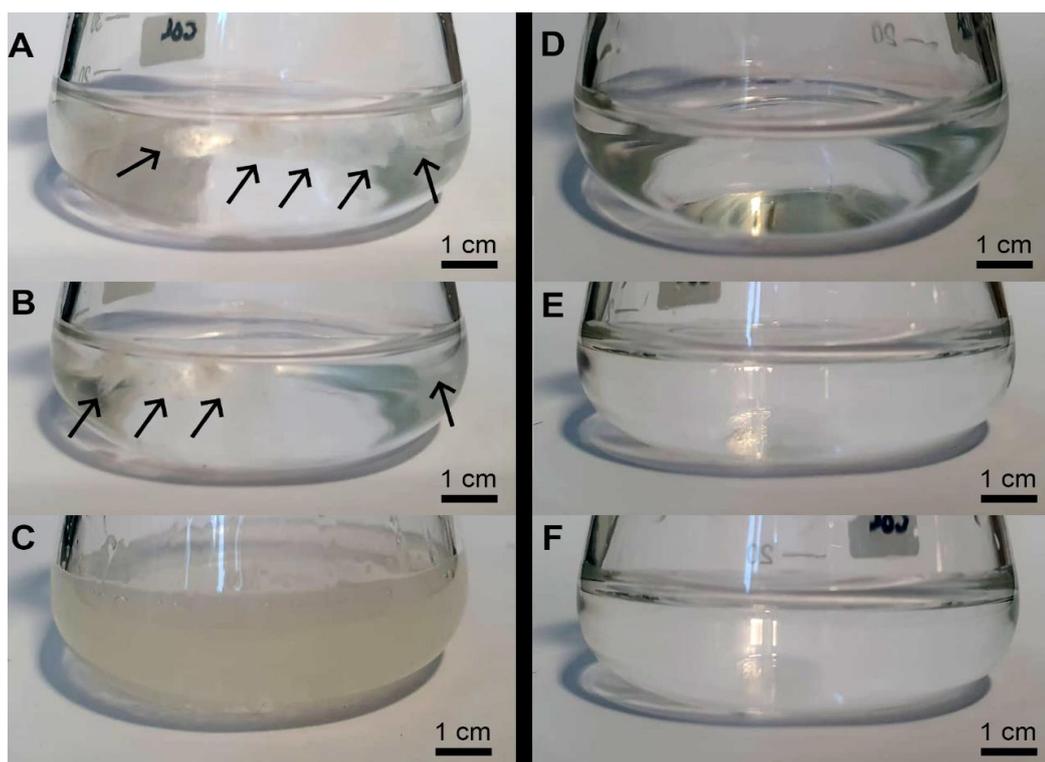


- (A) Foto da placa de Petri com Solução 1 PLGA, seca em estufa.
 (B) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 1 PLGA, seca em estufa, aumento de 10 vezes.
 (C) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 1 PLGA, seca em estufa, aumento de 20 vezes.
 (D) Foto da placa de Petri com Solução 2 PLGA, seca em estufa.
 (E) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 2 PLGA, seca em estufa, aumento de 10 vezes.
 (F) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 2 PLGA, seca em estufa, aumento de 20 vezes.
 Fotografias A e D: Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm. Fotografias B, C E e F: Microscópio cirúrgico OPMI Lumera S88, Zeiss.
 Fonte: autor

3.2 Solubilização do Colágeno tipo I

A Solução 1 Colágeno, após 1 hora e 30 min (± 13) ainda apresentava aspecto opaco com grumos espalhados na solução. Após 4 horas e 12 min (± 22) sob agitação, a solução ainda apresentava aspecto opaco e massa centralizada, provavelmente formada pela união dos grumos. Após 8 horas e 16 min ($\pm 35,2$) sob agitação, não se observava grumos ou massa, solução estava aparentemente homogênea, de cor leitosa. A Solução 2 Colágeno, após 1 hora e 30 min ($\pm 6,4$), apresentou aspecto transparente, aparentemente homogêneo sem precipitados ou formação de grumos, permanecendo com as mesmas características até 8 horas 16 min sob agitação (± 21) (Figura 20).

Figura 20 - Aspecto da solubilização de colágeno, comparativo entre solventes 1 e 2



Solubilização do colágeno:

(A) Solução 1 Colágeno após com 1 hora e 30 min solubilização incompleta (formação de grumos).

(B) Solução 1 Colágeno com 4 horas solubilização incompleta (aparência de massa unificada).

(C) Solução 1 Colágeno após 8 horas solubilização completa (aparência opaca, formação de precipitados).

(D) Solução 2 Colágeno após com 1 hora e 30 min solubilização completa (não se observa formação de grumos, solução transparente).

(E) Solução 2 Colágeno com 4 horas (aparência transparente sem formação de precipitados).

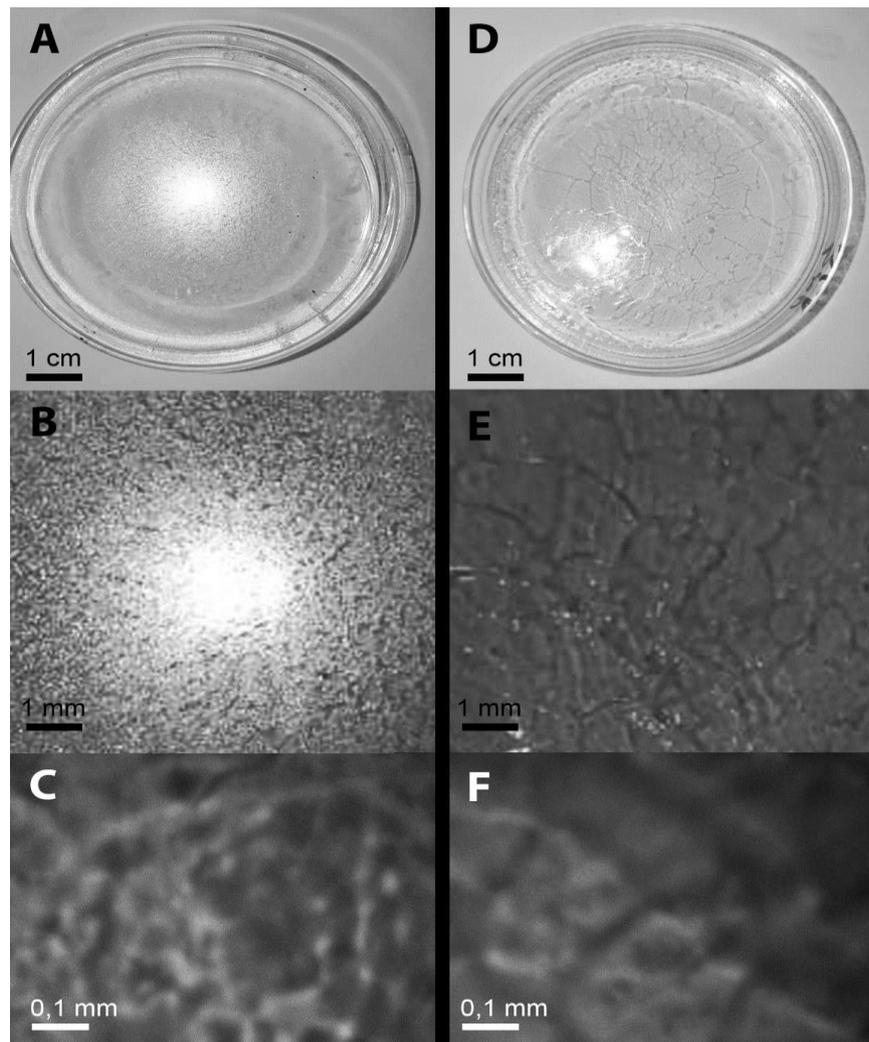
(F) Solução 2 Colágeno após 8 horas (aparência transparente sem formação de precipitados).

Fotografias realizadas com Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

Solução 1 Colágeno teve o tempo de secagem total de 1 e 50 min (± 21). A solução Solução 2 Colágeno teve o tempo de secagem de 2 horas e 25 min (± 17). O aspecto da Solução 1 Colágeno é mais opaco apresentando uma estrutura mais porosa e mais fixada à paca de Petri. A Solução 2 Colágeno teve o aspecto mais transparente, vitrificado, com menor adesão à placa de Petri (Figura 21).

Figura 21 - Aspecto da solubilização de colágeno, após secagem das placas



- (A) Fotografia da placa de Petri com Solução 1 Colágeno, seca em estufa.
 (B) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 1 Colágeno, seca em estufa, aumento de 10 vezes.
 (C) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 1 Colágeno, seca em estufa, aumento de 20 vezes.
 (D) Foto da placa de Petri com Solução 2 Colágeno, seca em estufa.
 (E) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 2 Colágeno, seca em estufa, aumento de 10 vezes.
 (F) Microscopia óptica da placa de Petri com Solução 2 Colágeno, seca em estufa, aumento de 20 vezes. Fotografias A e D: Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm. Fotografias B,C E e F: Microscópio cirúrgico OPMI Lumera S88, Zeiss.

Fonte: autor

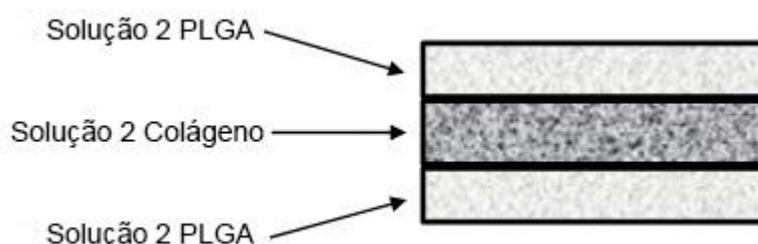
O tempo total de solubilização e secagem da solução Solução 1 Colágeno foi de 11 horas ($\pm 56,5$ minutos). A solução Solução 2 Colágeno apresentou tempo total de solubilização e secagem de 2 horas e 55 minutos ($\pm 24,5$ minutos).

Observou-se, na Figura 21 (B) uma hiperrefletividade à luz maior que a Figura 21 (E). Foram realizadas cinco amostras de cada solução e todas cinco amostras apresentaram o mesmo aspecto à MO. Encontrou-se mesmo aspecto em todos os campos observados da amostra.

3.3 Processamento do filme

Para a confecção do filme e posterior conformação da blenda, foi proposta uma nova metodologia de processamento com formação de um conjugado polimérico, denominado técnica de “sanduíche”. A técnica de “sanduíche”, consiste em depósito de três camadas: primeira camada com uma solução de PLGA, sobreposta a uma segunda camada com solução de colágeno contendo ou não as drogas, sobreposta à uma terceira camada com uma solução de PLGA. Entre as sobreposições, houve a secagem do material depositado na placa de Petri (Figura 22).

Figura 22 - Esquema de processamento em camadas (sanduíche)



Desenho esquemático mostrando as sobreposições de camadas na técnica denominada sanduíche.
Fonte: autor

O método de processamento do filme sem adição de drogas (Filme-0), proposto pelo presente trabalho deu-se na seguinte sequência:

- 1) Foi solubilizado a Solução 2 PLGA
 - 75mg de PLGA em 15 mL de Acetona (5 mg/mL), com agitação a 40°C por 10 min.

- 2) A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, e foi seca em estufa com circulação forçada com temperatura entre 35 a 40°C por 35 min.
- 3) Foi solubilizado a Solução 2 Colágeno
 - 13,5 mL de água + 1,5 mL de Ácido Acético (solução 10%) + 12 mg de colágeno (concentração 0,80 mg/mL), com agitação da solução a 40°C por uma hora e 30 min.
- 4) A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, onde anteriormente havia sido vertida a Solução 2 PLGA, anteriormente, e secou em estufa com circulação forçada entre 35 a 40°C por duas horas e 35 min.
- 5) Foi solubilizada nova Solução 2 PLGA
 - 75 mg de PLGA em 15 mL de Acetona (5 mg/mL), com agitação da solução a 40°C por 10 min.
- 6) A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, anteriormente depositada e seca as soluções anteriores, e secou em estufa com circulação forçada entre 35 a 40°C por 35 min.
- 7) A placa de Petri, permaneceu 24 horas em uma caixa com temperatura de 25°C e umidade do ar em 50%, controladas para diminuir a eletricidade estática, entre o vidro da placa de Petri e o filme.

O resultado final do processamento em “sanduíche” foi um filme em placa de Petri, de aspecto transparente, vitrificado, brilhante e de adesão reduzida à placa (Figura 23).

Figura 23 - Aspecto do filme polimérico depositado em placa de Petri

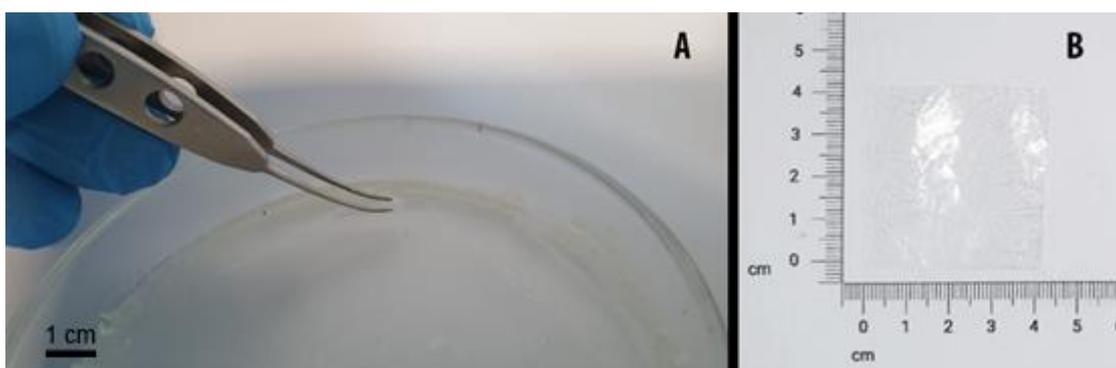


Fotografia da placa de Petri da blenda sem fármaco, após o final do processamento. Fotografia realizada com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

Após o processamento do filme polimérico, realizou um corte (lâminas de bisturi) em formato quadrado de 40 mm x 40 mm, com auxílio de uma pinça curva, retirou-se no sentido das pontas para o meio da placa de Petri, o conjugado polimérico. O resultado do processamento e extração é um filme transparente, brilhante, flexível de aspecto plástico de 40 mm x 40 mm, conforme observado na (Figura 24).

Figura 24 - Extração do filme polimérico (“sanduíche”) da placa de Petri



(A) Fotografia da extração do filme através de uma pinça curva.

(B) Fotografia do filme após ser extraído.

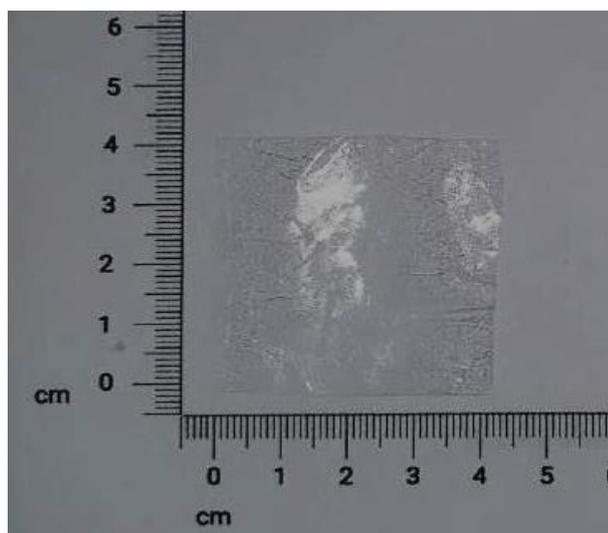
Fotografias realizadas com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

A retirada do filme exigiu a reidratação após o processo de secagem, para que ocorresse a descarga da energia estática gerada na interface entre a placa de Petri e o filme, que impossibilitava sua extração. Após a placa de Petri ter permanecido por

24 horas em ambiente climatizado com temperatura e umidade controladas, e realizada a troca estática com a atmosfera úmida, foi possível a extração sem rompimento do filme (Figura 25).

Figura 25 – Aspecto macroscópico do filme de colágeno e PLGA



Fotografia do Filme-0 extraído da placa de petri. Fotografia realizada com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

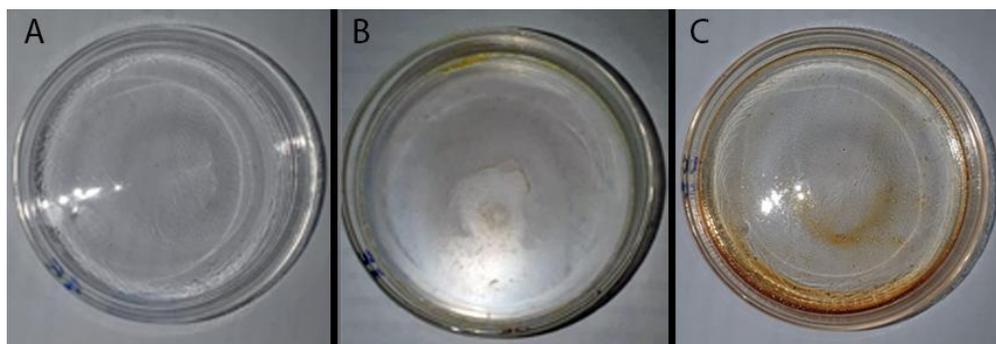
O ponto inicial de extração foi melhor no vértice do quadrado. O filme destacado apresentou aspecto transparente, de aspecto macroscopicamente rugoso, flexível e resistente à manipulação, medindo 40 mm x 40 mm. O método de processamento proposto pelo presente trabalho, com adição de drogas (Filme-BR e Filme-AR), ocorreram na seguinte sequência:

- 1) Foi solubilizada a Solução 2 PLGA
 - 75mg de PLGA em 15 mL de Acetona (5 mg/mL), com agitação a 40°C por 10 min.
- 2) A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, e foi seca em estufa com circulação forçada, na temperatura de 30 a 35°C por 40 min.
- 3) Foi solubilizada a Solução 2 Colágeno
 - 13,5 mL de H₂O + 1,5 mL de Ácido Acético (solução 10%) + 12 mg de colágeno (concentração 0,80mg/mL), com agitação a 40°C por uma hora e 3 min.

- 4) Foi adicionada, à solução 22 mg de Brimonidina ou AR (concentração 0,02 mg/mL, 2%), com agitação a 40°C por 30 min.
- 5) A solução resultante foi vertida em placa de Petri de 8 cm de diâmetro, na qual foi vertida a Solução 2 PLGA anteriormente, e foi seca em estufa com circulação forçada entre 35 a 40°C por duas horas e 35 min.
- 6) Foi solubilizada outra Solução 2 PLGA
 - 75 mg de PLGA em 15 ml de Acetona (5 mg/mL), com agitação a 40°C por 10 min.
- 7) Foi vertido em placa de Petri de 8 cm diâmetro, na qual foram anteriormente depositadas e secas as soluções anteriores, e foi seca em estufa com circulação forçada entre 35° a 40°, por 35 min.
- 8) A placa de Petri permaneceu 24 horas em uma caixa com temperatura de 25° e umidade de 50%, controladas para diminuir a energia estática, entre o vidro da placa de Petri e o filme.

O resultado final do processamento em “sanduíche” com a Brimonidina foi um filme em placa de Petri, de aspecto levemente amarelado, sem brilho, de baixa adesão à placa. O resultado final processamento em *sanduíche* com o ativo AR, apresentou um aspecto levemente marrom, brilhante, com adesão reduzida à placa (Figura 26).

Figura 26 - Aspecto final da placa de Petri



Fotografia dos filmes em placa de Petri.

(A) Aspecto do conjugado sem adição de drogas.

(B) Aspecto do conjugado com adição de Brimonidina.

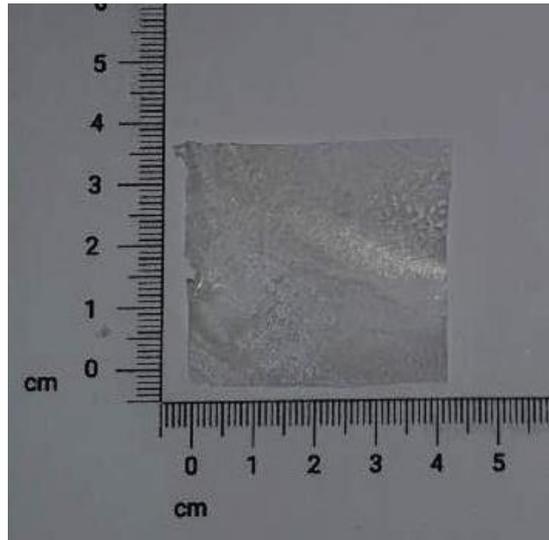
(C) Aspecto do conjugado com adição de AR.

Fotografias realizadas com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

Observa-se que houve diferença nas cores, na refletividade e na opacidade do filme depositado em placa de Petri. Após a placa de Petri contendo Brimonidina ter permanecido 24 horas em ambiente climatizado, com temperatura e umidade controladas, foi possível a extração sem rompimento do filme (Figura 27).

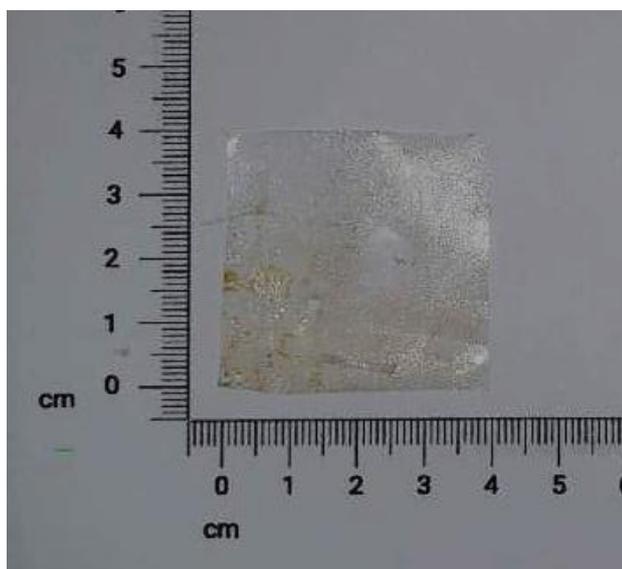
Figura 27 - Filme contendo Brimonidina, após extração da placa de Petri



Fotografia do filme extraído da placa de Petri (Filme-BR).
Fotografia realizada com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.
Fonte: autor

O ponto inicial de extração foi no vértice do quadrado. O resultado da extração do filme de PLGA + Colágeno + Brimonidina foi um filme opaco, sem brilho, em um tom levemente amarelado, flexível de aspecto plástico de 40 mm por 40 mm. Após a placa de Petri contendo AR ter permanecido 24 horas em ambiente climatizado com temperatura e umidade controladas, foi possível a extração sem rompimento do filme (Figura 28).

Figura 28 - Filme contendo Ácido Rosmarínico, após extração da placa de Petri



Fotografia do filme 40 mm x 40 mm, extraído da placa de Petri (Filme-AR). Fotografia realizada com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: autor

O ponto inicial de extração foi no vértice do quadrado. O resultado da extração do filme de PLGA + Colágeno + AR foi um filme opaco, brilhante, em um tom levemente marrom, flexível de aspecto plástico de 40 mm x 40 mm. As análises físicas, químicas e morfológicas detalhadas dos filmes serão abordadas no capítulo IV do presente trabalho.

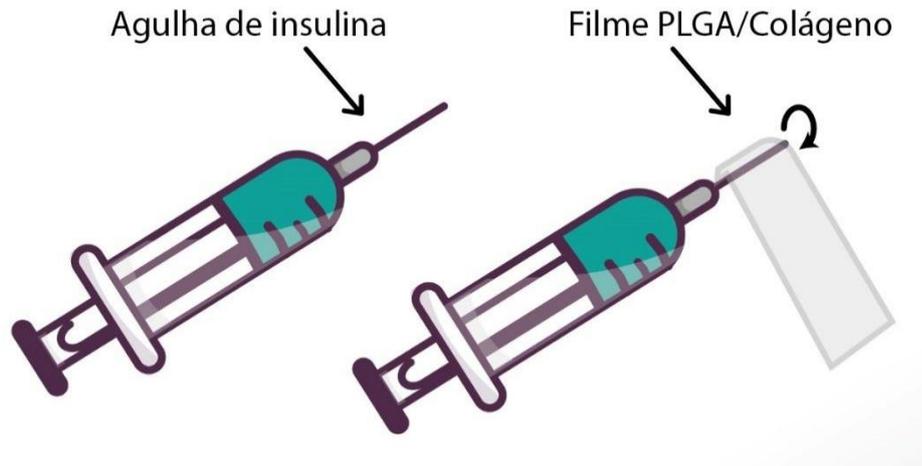
3.4 Conformação das blendas

Os conjugados poliméricos, em formato de filme, extraídos das placas de Petri na etapa anterior, foram conformadas em formato cilíndrico de bastão conforme descrito e adaptado de Wang et al (2016).

Para a conformação das blendas, os filmes foram desmoldados da placa à temperatura ambiente controlada de 25°C, conforme descrito no item anterior. Os filmes resultantes, com 40 mm de comprimento e 40 mm de largura, foram conformados sobre vidro de relógio, em temperatura controlada de aproximadamente 30°C, com a técnica adaptada de Wang et al (2016), denominada “rocambole”. A técnica desenvolvida no presente trabalho, consistiu em fixar um aparato cilíndrico (agulha de insulina), inicialmente aquecida a 40°C, na ponta do filme, que foi, na

sequência, enrolado por 12 voltas completas no eixo da agulha. A agulha foi gentilmente retirada ao final das 12 voltas e as bordas resultantes cortadas (Figura 29).

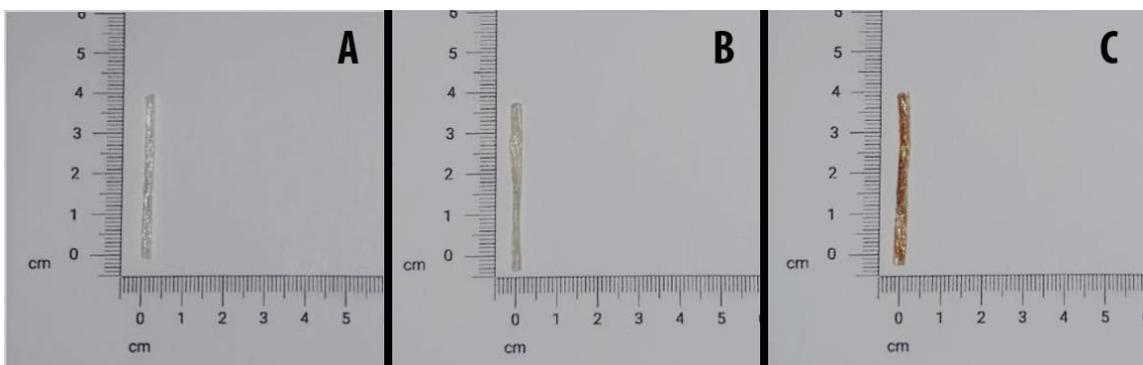
Figura 29 - Desenho esquemático do processo de conformação “rocambolé”



Desenho esquemático com o processo de conformação por rotação no próprio eixo da agulha.
Fonte: autor

Após a conformação, as blendas foram secas em estufa com circulação forçada entre 35° a 40°C, por 30 minutos. O resultado da conformação foram blendas de 40 mm de comprimento por 1,5 mm de diâmetro, conforme a (Figura 30).

Figura 30 - Foto macroscópica das blendas conformadas



(A) Blenda-0 sem associação de drogas (colágeno + PLGA).
(B) Blenda-BR com associação de Brimonidina (colágeno + PLGA + Brimonidina).
(C) Blenda-AR com associação de Ácido Rosmarínico (colágeno + PLGA + Ácido Rosmarínico).
Fotografias realizadas com câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.
Fonte: autor

Macroscopicamente, as blendas obtidas apresentaram semelhanças na forma e no diâmetro e com aspecto cilíndrico. Houve variação de cores correspondente à presença da substância ativamente incorporada. A blenda sem adição de fármaco (Blenda-0) apresentou leve transparência, brilhante, de, e aparência plástica. A blenda incorporada com Brimonidina (Blenda-BR) apresentou coloração amarelada, opaca, e aparência plástica. A blenda com AR (Blenda-AR), apresentou coloração marrom, brilhante, e aparência plástica.

As blendas foram seccionadas em quatro partes iguais, de 10 mm x 1,5 mm, e submetidas aos processos de caracterização física, química e morfológica, mais detalhadamente descritas no capítulo V.

4. Discussão

Ao final da solubilização do PLGA com Solvente 1 e Solvente 2, ambas soluções apresentaram boa solubilização, homogêneas, sem deposição de partículas. A solução Solução 2 PLGA teve a solubilização 20% mais rápida que a Solução 1 PLGA. A deposição da Solução 2 PLGA aparentou ser mais uniforme que a Solução 1 PLGA, na MO com aumento de 20 vezes, tendo-se observado uma malha bem estruturada na placa. A Solução 2 PLGA obteve um tempo de secagem 41,72% mais rápido que a Solução 1 PLGA. O PLGA é um composto polimérico que solubiliza com compostos orgânicos nítricos ou cetônicos (CHANDRA, 1998; MANO, 1991; Data sheet – 719919, 2020). Apesar das solubilizações realizadas com Acetonitrila e água destilada nos trabalhos de Fialho et al (2003), Fialho e Cunha (2005), Saliba et al (2008) e Vieira (2011), optou-se por utilizar a acetona, conforme os trabalhos de Wang et al (2016) e Curttts (2018). O principal motivo pela escolha da acetona é o critério de que um biomaterial deve apresentar a menor ou nenhuma toxicidade ao organismo humano (CALLISTER, 2002). A acetonitrila é moderadamente tóxica em pequenas doses e altamente tóxica após o metabolismo humano. Por outro lado, a acetona apresenta uma toxicidade leve, mesmo em altas doses (ZHANG et al, 2016). Apesar de haver a secagem, optou-se por um solvente menos tóxico. O motivo secundário é a disponibilidade de acetona no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG. A solução proposta nesse trabalho (75 mg de PLGA em 15 mL de Acetona), variação da solução proposta por Cutts (2018) e Wang et al (2016), deve-se, principalmente, ao fato de que volatilidade da acetona sem a presença do ácido acético é maior, promovendo

uma secagem mais rápida. Em relação ao aspecto final após secagem em placa de Petri, observa-se que a solução proposta nesse trabalho, ao MO, apresentou uma característica macroscópica mais uniforme, sugestiva de estrutura rugosa, permitindo assim um filme mais íntegro. Não foi possível realizar MEV nessa estrutura isolada, devido a acesso restrito ao equipamento. Ambas as condições, menor tempo de processamento e maior organização foram fatores importantes na escolha por essa solubilização do PLGA.

Ao final da solubilização do colágeno com Solvente 1 e Solvente 2, ambas soluções apresentaram boa solubilização, ficando homogêneas, sem deposição de partículas. A deposição da Solução 1 Colágeno, na MO com aumento de 20 vezes, aparentou ser menos cristalizada, em comparação à Solução 2 Colágeno. Ambas as soluções apresentaram uma malha bem estruturada na placa. A Solução 2 Colágeno teve a solubilização 81,9% mais rápida que a Solução 1 Colágeno. Em relação ao tempo de secagem, a solução Solução 1 Colágeno obteve um tempo de secagem 68,2% mais rápido que a Solução 2 Colágeno. O tempo total de solubilização e secagem da Solução 2 Colágeno foi 61,2% mais rápida. Segundo Liu et al (2014) a Amida I, presente no colágeno, pode sofrer variação no comprimento de onda em uma relação proporcional ao período de solubilização ácida, sendo que, quanto maior o período de solubilização ácida do colágeno, maior será seu comprimento de onda, degradando o colágeno. Para tal, faz-se importante a redução do tempo de solubilização ácida do colágeno. Observou-se no Filme-BR uma hiperrefletividade à luz maior que no Filme-0.

Ambos os fármacos são compatíveis com os solventes: Ácido acético, Acetona e acetonitrila, em diferentes concentrações conforme os trabalhos Souza (2015), Van Der Valk et al (1999), Vieira (2011), Curttts (2018) e Veras (2017). Os fármacos também são solúveis em água, não sendo necessário realizar testes de solubilidade para os fármacos. O resultado da Solução de Colágeno + BR e Solução de Colágeno + AR, foram soluções homogêneas de aspecto levemente amarelado e aspecto transparente respectivamente.

Em relação ao método de modelagem para obtenção das blendas, a literatura descreve três tipos: por compressão, térmica, e por compressão e térmica. De acordo com Fialho et al (2007), Vieira (2011), Silva (2012), e Cutts (2018), após a formação dos filmes, o material é obtido por meio de “raspagem” com a finalidade de separar o material, resultando um material em forma de “pó”. Em alguns estudos, as blendas

obtidas em formato cilíndrico são confeccionadas por meio de um processo de fricção do pó em chapa térmica ou compressão em molde. A tendência dos processamentos já consagrados é de uma blenda muito compactada.

Nos trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018), também se observou o padrão de cores amarronzada para o AR, após processamento. O aspecto amarelado e opaco do filme com incorporação de Brimonidina em placa de Petri, assemelha-se ao aspecto da blenda com incorporação de Atenolol, desenvolvida no trabalho de Silva (2012). Em 2007, Fialho descreveu uma blenda branca e cilíndrica, com incorporação de dexametasona. Pode-se definir que a mudança de cor estava diretamente associada à presença de determinado fármaco. Não foram encontradas referências de trabalhos contendo filmes ou blendas com Brimonidina.

A conformação das blendas proposta no presente trabalho foi realizada a partir de uma adaptação do trabalho de Wang et al (2016), diferentemente das conformações apresentadas no estado da arte. O processo de produção e extração de um conjugado polimérico (filme) permitiu que a conformação fosse realizada em baixa temperatura, com o mínimo de compressão, sem que houvesse uma possível degradação pela raspagem ou temperatura do material. Macroscopicamente, as blendas conformadas apresentaram resultados compatíveis aos trabalhos de Curtts (2018), Vieira (2011), Fialho et al (2007), Fialho e Cunha (2005) e Silva (2012). As blendas seguiram o mesmo padrão de forma e medidas, apenas com de alteração de cores, relacionado ao fármaco associado. A blenda de AR assemelhou-se muito às características de cores e de brilho das blendas realizadas nos trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018), que também utilizaram Ácido Rosmarínico. Apesar da Brimonidina ser um agonista alfa-adrepérgico e o Atenolol ser um antagonista Beta-1-adrenérgico, houve uma similaridade nas características macroscópicas das blendas do presente trabalho com a blenda realizada no trabalho de Silva (2012). Os resultados, em termos macroscópicos da blenda produzida por Fialho (2007) e Fialho e Cunha (2013), com associação de dexametasona, foram estruturalmente iguais, porém de cores diferentes.

5. Conclusão

Foi definida e parametrizada uma nova metodologia de processamento e conformação de filmes poliméricos de PLGA/Colageno com a criação de nova técnica de processamento denominada *sanduíche*, e nova técnica de conformação denominada *rocambole*. Ambas técnicas permitiram a confecção de blendas com possibilidade de transporte de drogas.

Para validar a metodologia de processamento e conformação das blendas, é necessário avaliar a reprodutibilidade do método. No próximo capítulo foi realizado um estudo de reprodutibilidade com as amostras realizadas após o estabelecimento da metodologia proposta pelo presente trabalho.

CAPÍTULO IV

Avaliação da reprodutibilidade da metodologia de processamento dos filmes poliméricos e de conformação pelo método *sanduíche* e *rocambole*, respectivamente

1. Objetivo

Avaliar a reprodutibilidade da produção de filmes PLGA/Colágeno tipo I pela nova rota de processamento pela técnica *sanduíche*, com a incorporação ou não das substâncias ativas, e obtenção das blendas pela técnica *rocambolé*.

2. Materiais e métodos

Os dispositivos implantáveis para liberação de drogas têm, como objetivo primário, a obtenção de produtos mais estáveis, com pouco ou nenhum efeito colateral, que proporcione conforto ao paciente, além de garantir a manutenção de concentrações terapêuticas no local do implante. Além das dessas características, os dispositivos implantáveis, também têm que proporcionar condições de reprodutibilidade, meios de produção industriais em ampla escala, e produtos com a menor variação possível (NIKOLOVA et al, 2019; CALLISTER, 2002; PANDURANGA, 1995).

Um passo importante para o processo de validação de uma metodologia é a estimativa da precisão (repetitividade e reprodutibilidade), que embora sejam negligenciados, servem para estimar a robustez e a transferência de métodos entre pesquisadores e indústrias (CAMPOS et al, 2009).

2.1 Materiais

Os materiais necessários para a realização da metodologia proposta acima são:

1. Paquímetro FortG® FG8331.
2. Balança de precisão Mettler XPR204 S/A.
3. Software Microsoft® Excel®, para inclusão de dados do questionário. Software licenciado e disponibilizado para o trabalho pela Oculare® – Hospital de Oftalmologia.
4. Software de análise de dados estatísticos Minitab®, versão estudantil, disponibilizada no laboratório de pós-graduação em Gestão da Qualidade Lean Seis Sigma da faculdade Pitágoras, unidade Venda Nova.

2.2 Método

As 46 amostras de blendas foram mensuradas, individualmente, com auxílio de um paquímetro quanto ao diâmetro e o comprimento em milímetros. Para a medida de peso, devido à incorporação de 22 g de drogas, as blendas foram divididas em três grupos, classificados pelo tipo de incorporação, são: Blendas-0, Blendas-BR e Blendas-AR, e os grupos analisados separadamente. 21 amostras Blenda-0, 12 amostras Blenda-BR e 13 amostras Blenda-AR foram pesadas em balança de precisão, totalizando 46

Os dados foram digitalizados em planilhas do Excel[®] e posteriormente submetidos a análise estatística através do software estatístico Minitab[®], onde obteve-se média, teste de normalidade *Andersons Darling* com valor-p, variância, desvio padrão, e obtenção de gráficos contendo a curva Gaussiana de normalidade. O teste de normalidade de Andersons Darling compara a função de distribuição acumulada dos dados amostrais com a distribuição esperada, sendo que, se essa diferença for $> 0,05$, rejeita-se a hipótese nula de normalidade da população (BONETT, 2006). Comparações paramétricas entre os grupos sem incorporação de drogas (Blenda-0) e com incorporação de drogas (Blenda-BR e Blenda-AR) foram feitas usando o teste *t-Student*, seguido de teste *Student Newman Keuls* Foram considerados significativos resultados de “p” inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

Segundo Werkema (2004) produtos destinados a aplicações industriais de larga escala, no contexto do planejamento, devem ter suas probabilidades de erro definidas em uma escala sigma. O termo LEAN, criado na década de 80, é uma filosofia criada e difundida no sistema de produção Toyota[®], que visa eliminar desperdícios. O Seis Sigma, implantado pela Motorola[®], é uma cultura de negócio, que estabelece métricas nos processos de produção, através do monitoramento dos defeitos, com o objetivo de eliminar as principais fontes de variação e defeitos dos produtos. Na última década, os termos LEAN e Seis Sigma foram amplamente difundidos na indústria no controle de produção em larga escala (WOMARK, JONES e ROOS, 1992; SHINGO, 1996; HARRY, 1998; FERREIRA e TEIXEIRA, 2019). Para definir as amostras com defeito fora dos limites superiores (LS) e inferiores (LI) foi realizado no Minitab[®], um gráfico de distribuição e probabilidade. Conforme os trabalhos de Breyfogle e Juran (1992) para garantir uma qualidade de produção o peso de um produto não deve variar mais que 40% do peso médio do lote. Segundo os trabalhos de Linderman et al (2003),

Harry (1998) e Montgomery (2003), também, para garantir uma qualidade de produção e a amostra não ser considerada com defeito, o comprimento e diâmetro não devem passar 0,25% e 13% do valor da média do lote.

O grupo de resultados que apresentaram medidas fora do Limite Inferior (LI) Limite Superior (LS) foram calculados em Defeitos por Milhão de Oportunidades (DPMO). Conforme Harry (1998), para o cálculo do DPMO deve-se dividir o número de defeitos pela multiplicação da oportunidade de defeitos por peça com o número de peças produzidas. O resultado da equação anterior deverá ser multiplicado por milhão.

$$DPMO = \frac{n^{\circ} \text{ de defeitos}}{n^{\circ} \text{ de oportunidades de defeitos por peças} \times n^{\circ} \text{ de peças}} \times 1.000.000$$

Os resultados de DPMO, foram avaliados na escala Seis Sigma para definir o grau de confiança de produção industrial por milhão de blendas.

3. Resultados

A amostras obtidas pelo presente trabalho foram: 22 Blenda-0, 13 Blenda-BR, 13 Blenda-AR, totalizando 48 amostras. Cada amostra produzida em placa de Petri, resulta em um filme de 40 mm de comprimento por 40 mm de largura. O filme é subdividido em quatro filmes de 10 mm de comprimento por 40 mm de largura conformados em formato de blenda e posteriormente divididos em quatro blendas de 10 mm de comprimento por 1,5 mm de diâmetro, totalizando 16 blendas por amostra.

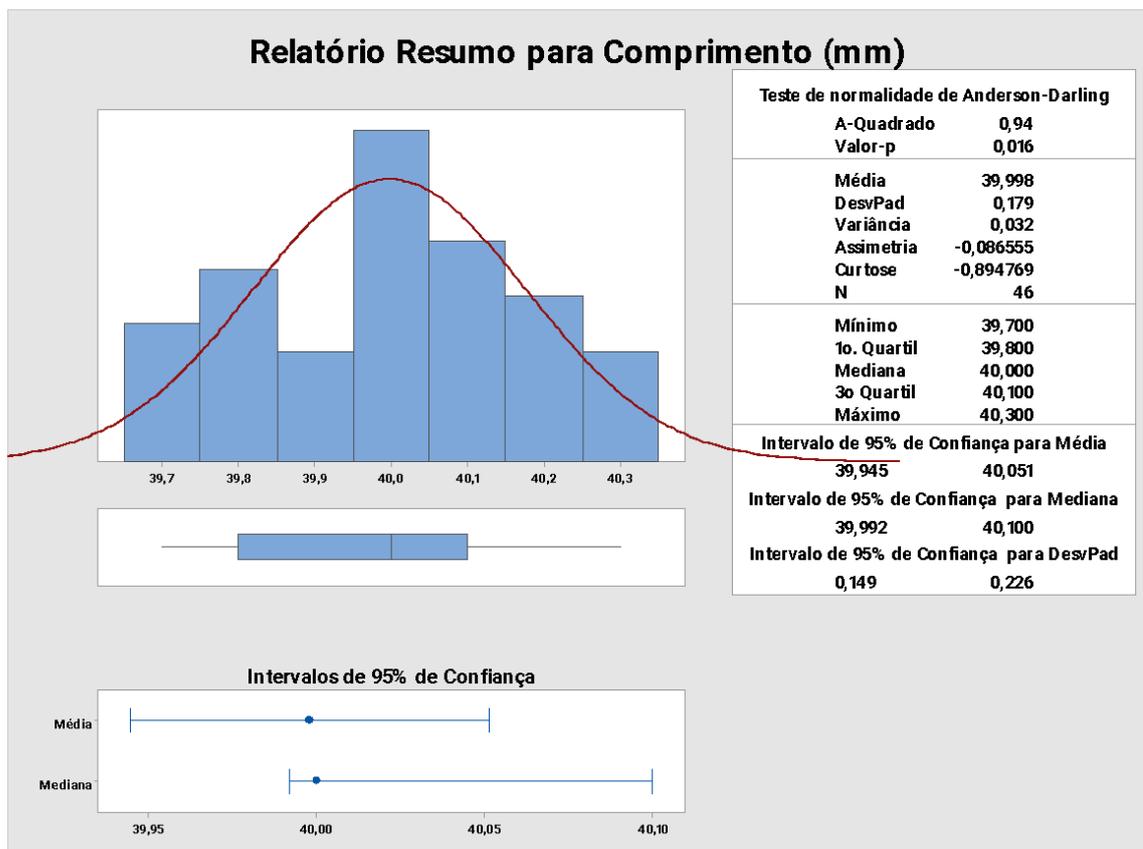
Duas amostras (4,16%) foram descartadas durante o processamento e conformação, por não apresentarem os resultados esperados, impossibilitando a produção da blenda. A causa dos descartes foram:

- Amostra 03 – Blenda-0. Durante a secagem da Solução 2 Colágeno a estufa estava desalinhada e o resultado foi um filme em placa de aspecto heterogêneo. A amostra foi descartada.
- Amostra 12 – Durante a retirada do filme com Brimonidina, a placa de Petri caiu da bancada, quebrando a placa e danificando o material. A placa e o material que foram descartados.

3.1 Comprimento das amostras

O comprimento das 46 amostras de blendas, tabulados no Minitab® (Apêndice C), resultaram em uma média de 40,00 mm ($\pm 0,18$). O teste de normalidade para o comprimento das amostras, resultou em $p > 0,05$ (0,016) (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Relatório resumo para o comprimento das amostras de blenda



Relatório resumo para o peso das amostras gerado a partir das medidas no Minitab®. Observa-se medidas importantes para o presente trabalho: média (40,00 mm), desvio padrão (0,18 mm), valor-p (0,016), variância (0,03 mm).

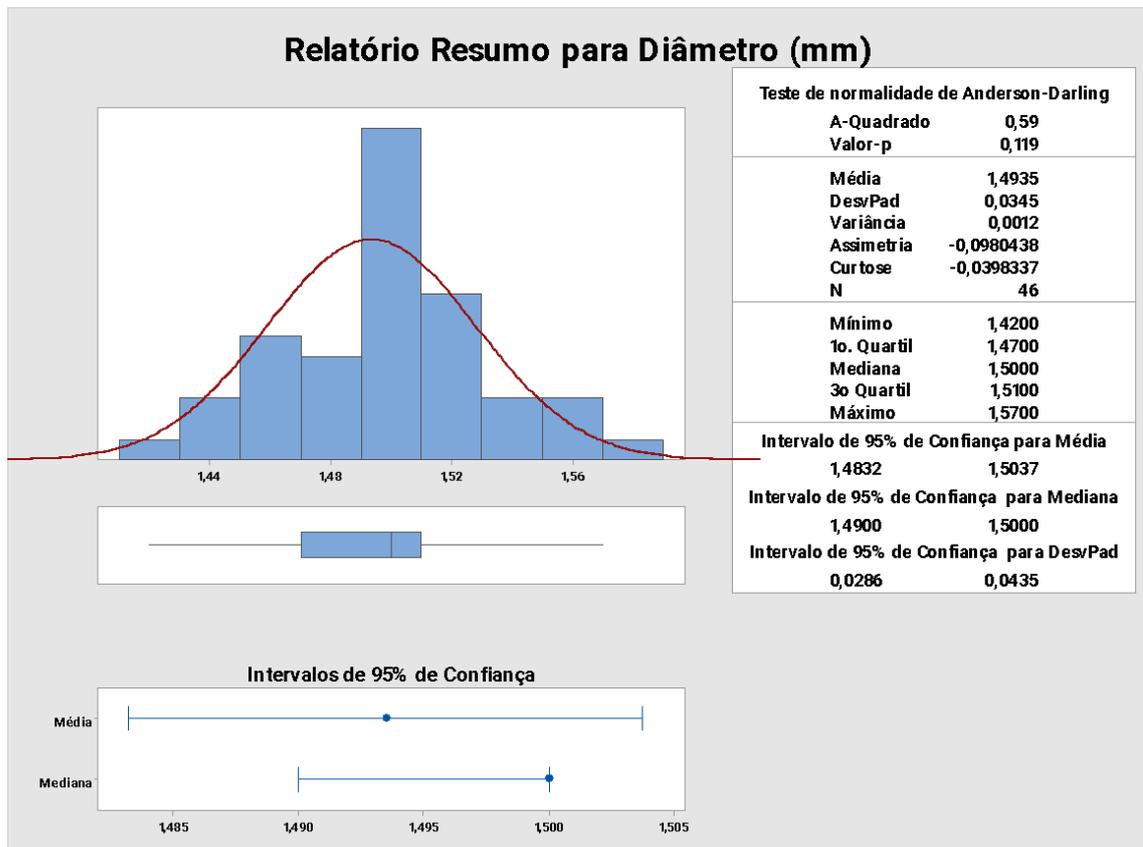
Fonte: autor

Observa-se no gráfico uma curva tipicamente gaussiana. Considerando a média de 40,00 mm, foi estabelecida uma margem de erro de $\pm 0,1$ mm no comprimento das blendas, correspondente a 0,25% da média do peso das amostras, conforme citado na metodologia. O gráfico de distribuição e probabilidade resultou em 39,65 mm (LI) e 40,35 mm (LS) (Apêndice D). Nenhuma amostra ultrapassou o LI e LS, sendo todas as amostras consideradas satisfatórias, sem que haja condições de estabelecer erro por milhão de blendas produzidas.

3.2 Diâmetro das amostras

O diâmetro das 46 amostras de blendas, tabulados no Minitab® (Apêndice E), resultaram em uma média de 1,49 mm, e desvio padrão de 0,04 mm. O teste de normalidade para o diâmetro das amostras, resultou em $p > 0,05$ (0,12) (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Relatório resumo para o diâmetro das amostras de blenda



Relatório resumo para o peso das amostras gerado a partir das medidas no Minitab®. Observa-se medidas importantes para o presente trabalho: média (1,49), desvio padrão (0,04), valor-p (0,11), variância (0,01).

Fonte: autor

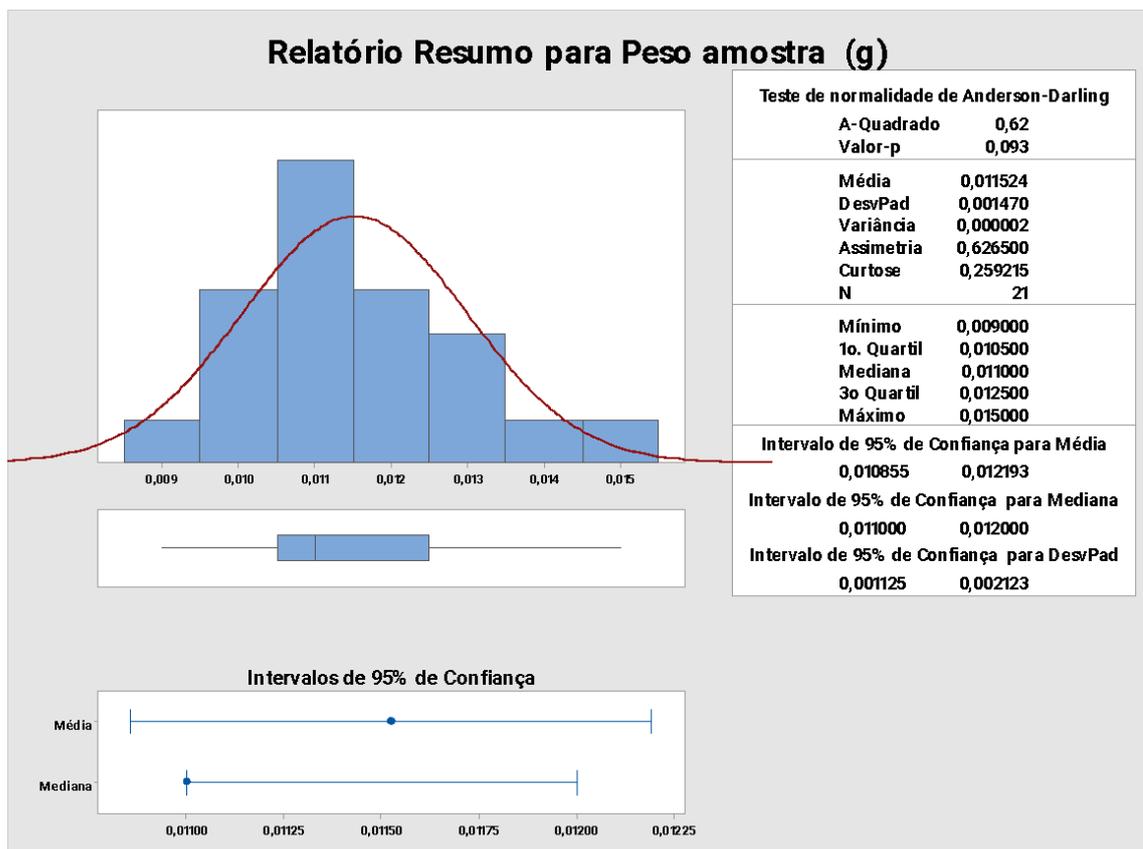
Observa-se no gráfico uma curva tipicamente gaussiana. Considerando a média de 1,49 mm, foi estabelecida uma margem de erro de $\pm 0,2$ mm no diâmetro das blendas, correspondente a 13% da média do peso das amostras, conforme descrito na metodologia. O gráfico de distribuição e probabilidade resultou em 1,34 mm (LI) e 1,65 mm (LS) (Apêndice F). Nenhuma amostra ultrapassou o LI e LS, sendo

todas as amostras consideradas satisfatórias, sem que haja condições de estabelecer erro por milhão de blendas produzidas.

3.3 Peso das amostras

O peso das 21 amostras de Blenda-0, tabulados no Minitab® (Apêndice G), resultaram em uma média de 0,012g e desvio padrão de 0,002g. O teste de normalidade para o peso das amostras da Blenda-0, resultou em $p > 0,05$ (0,093) (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-0



Relatório resumo para o peso das amostras gerado a partir das medidas no Minitab®. Observa-se medidas importantes para o presente trabalho: a média (0,012g), desvio padrão (0,002g), valor-p (0,093), variância (0,001).

Fonte: autor

Observa-se no gráfico acima uma curva gaussiana de distribuição normal. Considerando a média de 0,012g, foi estabelecida uma margem de erro de $\pm 0,005g$ no peso das amostras de blendas, correspondente a 40% da média do peso das

amostras, conforme descrito na metodologia. O gráfico de distribuição e probabilidade resultou em 0,007g (LI) e 0,016g (LS) (Apêndice H). Todos os pesos estão dentro do LI e LS, onde não foram encontrados defeitos ou oportunidades de defeitos, para a variação de 0,05g.

O peso das 12 amostras de Blenda-BR, tabulados no Minitab® (Apêndice I), resultaram em uma média de 0,014g, e desvio padrão de 0,008g. O teste de normalidade para o peso das amostras da Blenda-BR, resultou em $p > 0,05$ (0,012) (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-BR



Relatório resumo para o peso das amostras gerado a partir das medidas no Minitab®. Observa-se medidas importantes para o presente trabalho: média (0,014g), desvio padrão (0,002g), valor-p (<0,05), variância (0,001).

Fonte: autor

Observa-se no gráfico acima que mesmo com um valor de $p < 0,05$, onde não se observa uma curva gaussiana tipicamente normal. Considerando a média de 0,014g, foi estabelecida uma margem de erro de $\pm 0,005g$ no peso das amostras de blendas, correspondente a 40% da média do peso das amostras, conforme descrito

na metodologia. O gráfico de distribuição e probabilidade resultou em 0,009g (LI) e 0,018g (LS) (Apêndice J). A amostra 15 (0,008g) apresentou resultado abaixo do limite inferior e foi considerada amostra com defeito.

O peso das 13 amostras de Blenda-AR, tabulados no Minitab® (Apêndice K), resultaram em uma média de 0,015g, e desvio padrão de 0,001g. O teste de normalidade para o peso das amostras da Blenda-AR, resultou em $p > 0,005$ (0,029) (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Relatório resumo para peso das amostras Blenda-AR



Relatório resumo para o peso das amostras gerado a partir das medidas no Minitab®. Observa-se medidas importantes para o presente trabalho: média (0,015g), desvio padrão (0,001g), valor-p (0,029), variância (0,001).

Fonte: autor

Observa-se no gráfico uma curva tipicamente gaussiana. Considerando a média de 0,015g, foi estabelecida uma margem de erro de $\pm 0,05g$ no peso das amostras de blendas. O gráfico de distribuição e probabilidade resultou em 0,013g (LI) e 0,017g (LS) (Apêndice L). Nenhuma amostra ultrapassou o LI e LS, sendo todas as amostras

consideradas satisfatórias, sem que haja condições de estabelecer erro por milhão de blendas produzidas.

A comparação entre o comprimento e diâmetro do grupo sem incorporação de drogas (Blenda-0) e grupo com incorporação de drogas (Blenda-BR + Blenda-AR), resultaram em $P > 0,05$.

3.4 Cálculo do nível Sigma e teste de grupos

As medidas de comprimento, diâmetro e peso geram 3 oportunidades de erro por blenda em uma produção de 46 blendas. Tivemos 1 erro no peso da amostra 15 (Blenda-BR) totalizando 1 erro em 46 blendas produzidas:

Quantidade de erros: 1

Oportunidades de erros por blenda: 3

Número de blendas: 46

$$DPMO = \frac{1}{3 \times 46} \times 1.000.000 = 7.246$$

O resultado do DPMO para as 46 blendas produzidas foi de 7.246 (0,007246) blendas com erro por milhão de blendas produzidas.

4. Discussão

Durante a produção industrial ou experimental, segundo o sistema industrial de produção da Toyota®, há sete perdas a serem consideradas: perdas por superprodução, por transporte, por processamento em si, por fabricação de produtos defeituosos, por movimentação, por espera e por estocagem (SHINGO, 1996; GHINATO, 1996; OHNO, 1997). No presente trabalho houve um erro de produção, ocasionando defeito no produto durante o processo (amostra 03), e um erro de transporte e movimentação, com quebra do produto (amostra 12).

Em relação ao comprimento das blendas, através do método Anderson Darling, identificou-se tratar de dados normais, no qual permitiu a comparação entre o

comprimento do grupo sem incorporação de drogas (Blenda-0), e grupo com incorporação de drogas (Blenda-BR + Blenda-AR). Observou-se $p > 0,05$ indicando que a incorporação de drogas não interfere no comprimento das blendas (WERKEMA, 2004; GOFFNETT, 2004; SAHIN, 2008). Nenhuma das 46 amostras de comprimento ultrapassaram o limite LI ou LS, indicando, segundo a filosofia Lean Seis Sigma, uma produção de baixa variação. Devido à todas as amostras estarem dentro do LI e LE não foi possível identificar DPMO.

Em relação ao diâmetro das amostras, os dados foram identificados como normais, no qual permitiu a comparação entre o diâmetro do grupo sem incorporação de drogas (Blenda-0), e grupo com incorporação de drogas (Blenda-BR + Blenda-AR). Observou-se $p > 0,05$, indicando que a incorporação de drogas não interfere no comprimento e diâmetro das blendas (WERKEMA, 2004; GOFFNETT, 2004; SAHIN, 2008). Nenhuma das 46 amostras de comprimento e diâmetro ultrapassaram o limite LI ou LS, indicando, segundo a filosofia Lean Seis Sigma, uma produção de baixa variação.

O valor do desvio padrão para a massa, comprimentos e diâmetros foram baixos. Segundo Werkema (2012) quando o valor do desvio-padrão é alto, há pouca uniformidade, o que resulta em muita variação entre os resultados da amostra. Quando o desvio-padrão é baixo, ocorre grande uniformidade o que resulta em pouca variação entre os resultados, garantindo melhor qualidade. Para os três tipos de amostras de blendas, as variações foram baixas, e as oscilações de desvio padrão das amostras foram devidas a causa comuns, ou causas especiais, e podem ocorrer em grupos de amostras dentro de um padrão de qualidade, a baixa variação está diretamente ligada à reprodutibilidade de um processo (WERKEMA, 2012).

Segundo Goffnett (2004), todos os testes partem como hipótese inicial o princípio da normalidade dos dados, retornando um valor “p” maior que 0,05. As amostras de peso dos dois grupos (Blenda-0, Blenda-AR) tiveram resultados de $p > 0,05$, porém a Blenda-BR apresentou um valor de $P < 0,05$, sem uma curva Gaussiana típica, o que levou ao cálculo de DPMO para estabelecer o nível Sigma.

Observou-se que a amostra 15 estava fora do limite inferior em 0,001g, e de acordo com Sahin (2008) e Goffnett (2004), peças fora do LI ou LS indicam defeito na produção, onde deve-se ser mensurado o DMPO. Segundo Werkema (2004), quando se identifica um produto de um determinado lote com defeito, é necessário calcular o nível sigma, a fim de mensurar o erro por milhão de unidades.

De acordo com Werkema (2004) e Trad e Maximiliano (2009), conclui-se que se obteve um nível sigma próximo a 4, com 7,2% de taxa de erro (Tabela 2).

Tabela 2 - Escala Sigma

Taxa de Acerto	Taxa de Erro	Defeitos por Milhão de Oportunidades (DPMO)	Escala Sigma
30,9%	69,1%	691.462	1,0
69,1%	30,9%	308.538	2,0
93,3%	6,7%	66.807	3,0
99,38%	0,62%	6.210	4,0
99,977%	0,023%	233	5,0
99,99966%	0,00034%	3,4	6,0

Taxa de acerto (Probabilidade de acerto em porcentagem), taxa de erro (probabilidade de erro em porcentagem), Defeitos por Milhão de Oportunidades – DPMO (defeitos por milhão de peças produzidas), Escala sigma (nível de qualidade sigma).

Fonte: TRAD (2009)

O resultado do DPMO do processamento e da conformação das blendas na metodologia proposta está dentro de um nível sigma satisfatório para a indústria. O objetivo do Seis Sigma é não alcançar mais que 3,4 defeitos por milhão de oportunidades, porém esse nível Sigma 6 ainda não foi alcançado nem mesmo pela aviação comercial. Os resultados sigma entre 3,0 e 6,0, refletem uma boa reprodutibilidade por milhão aplicado nas principais indústrias mundiais (RODRIGUES, 2014). Todas as mostras de blendas apresentaram reprodutibilidade evidenciando a possibilidade de produção em escala industrial, preenchendo um nível sigma aceitável.

5. Conclusão

Segundo a metodologia proposta no presente trabalho, foi possível obter blendas com baixa variação fabril. Observou-se baixa variação nas amostras quando comparadas ao mesmo grupo. Não houve diferença significativamente estatística entre o comprimento e diâmetro das blendas quando se comparou grupos diferentes.

Uma amostra apresentou limite inferior abaixo do padrão de qualidade, representando um nível sigma 4. Considera-se a técnica proposta reprodutível de baixa variabilidade.

No capítulo seguinte, serão abordadas as caracterizações físicas, químicas e morfológicas dos biomateriais produzidos pela metodologia proposta no presente estudo, onde foi avaliado, principalmente, se a técnica de processamento e conformação alteraram as propriedades das matérias primas.

CAPÍTULO V

Caracterizações físico-químicas e morfológica de filmes e blendas poliméricos

1. Objetivos

Caracterizar físico-quimicamente os filmes obtidos com ou sem a incorporação das substâncias ativas;

- Determinar o método analítico para avaliar a quantidade de substância ativa liberada em decorrer do tempo;
- Avaliar a hidrofilia por meio da molhabilidade dos filmes e das blendas produzidas no ensaio de ângulo de contato;
- Avaliar o comportamento térmico por meio da análise de Termogravimetria (TGA);
- Identificar as fases amorfa e cristalinas das blendas e das matérias primas por meio de Difração de Raios X (DRX);
- Avaliar a degradação hidrolítica das blendas processadas e conformadas por meio do Ensaio de Degradação;
- Identificar a composição química elementar por Espectrometria de Fluorescência de Raios X (FRX);
- Identificar componentes químicos moleculares por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR);
- Caracterizar morfológicamente os filmes conformados com e sem a incorporação do Ácido Rosmarínico e da Brimonidina, avaliando a forma, a distribuição, o tamanho e a espessura dos filmes por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);

2. Materiais e métodos

Os ensaios de caracterizações têm como objetivo conhecer as composições físicas, químicas e morfológicas dos materiais. O conhecimento dessas características traz importantes informações sobre as propriedades dos materiais, revelando detalhes da estrutura química, identificação de fases, estado químico, defeitos da estrutura, topografia, e ainda, identificar compostos e suas presenças (BRUNDLE, 1992). As técnicas microscópicas e espectroscópicas, amplamente utilizadas na caracterização dos materiais, são produzidas através de sensores que captam sinais emitidos da

amostra, decorrentes da colisão de um feixe primário, que pode ser: luz visível, infravermelho, laser, raios-x, raios-gama e elétrons livres (BRUNDLE, 1992; LEWIS, 2001). As caracterizações físico-químicas foram realizadas nas matérias primas filmes e blendas laminadas poliméricas, conforme o Quadro 2.

Quadro 2 – Relação de Caracterizações

Quadro de Caracterizações		
Tipo de Caracterização	Nome	Amostras
Físicas	Molhabilidade (ângulo de contato)	Blenda
	Termogravimetria (TG e DTG)	Matéria prima / Filme / Blenda
	Difratometria de Raios-X (DRX)	Matéria prima / Blenda
	Degradação	Blenda
Químicas	Flourescência de Raios-X (FRX)	Blenda
	Espectrometria de Infravermelho de Fourier (FTIR)	Matéria prima / Blenda
Morfológicas	Microscopia eletrônica de Varredura (MEV)	Filme / Blenda

Quadro mostrando o fluxo de ensaios e caracterização para a matéria prima, filme e blenda.

Fonte: do autor.

2.1 Materiais

Os materiais necessários para a realização da metodologia proposta acima são:

1. Goniômetro (Kruss[®], DAS-100[®]), disponível no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG.
2. Termogravímetro DTG-60/60H da Shimadzu[®], disponível no Laboratório do Departamento de Química do CEFET/MG.
3. Difratômetro XDR-6000[®], da marca Shimadzu[®], disponível no Laboratório de Caracterização do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG.
4. Espectrometro EDX-720[®] da marca Shimadzu[®], disponível no Laboratório de Caracterização do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG.

5. Microscópio Eletrônico de Varredura (Carl Zeiss Microscopy[®], SIGMA VP[®], disponível no Laboratório de Caracterização do CEFET-MG.
6. Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL[®], InTouchScope[®], JSM-IT300, disponível no Laboratório de Caracterização da PUC-Minas.
7. Metalizador SC-70[®]1, da Sanyu Electron[®], disponível no Laboratório de Caracterização do CEFET-MG.
8. Microscópio cirúrgico S88[®] da Carl Zeiss[®], de uso cirúrgico oftalmológico, com iluminação incandescente, e aumento de 12,5x, disponível na Oculare Hospital de Oftalmologia, em Belo Horizonte, MG.
9. Varioscan Lux Multimode Microplate Reader (Thermo Scientific[®], Waltham, MA USA), disponível na faculdade de Farmácia da UFMG.
10. Software Adobe[®] Photoshop[®], versão 13.0, disponível no laboratório de informática da faculdade Pitágoras Venda Nova.
11. Solução tampão PBS, 500 mL, PH 7,4, adquirida da Nova Biotecnologia, São Paulo, SP. Concentração: Fosfato de sódio hidratado 4,5g, Fosfato de potássio 0,2g, Cloreto de sódio 8,0g, Água destilada 500 mL.
12. Papel filtro quantitativo faixa azul, marca Unifil[®], adquirido da Prolab[®], São Paulo, SP.

2.2 Método

2.2.1 Determinação do método analítico para quantificação de substâncias incorporadas nas blendas

Para o desenvolvimento do método analítico e posterior quantificação das substâncias, foram utilizados espectrofotômetro Varioscan Lux Multimode Microplate Reader (Thermo Scientific[®], Waltham, MA USA). Foi realizada a varredura das substâncias ativas entre os comprimentos de onda de 200 a 500 nm para definir o comprimento de onda de detecção para análise (máxima absorção). Para isso, foi utilizada uma solução de 125 µg/mL de BR e AR em tampão PBS pH 7,4.

Para obtenção das curvas analíticas foram preparadas duas soluções estoque de BR e AR a concentração de 1 mg/mL em tampão PBS pH 7,4, a partir das quais, por meio de diluições seriadas, foram obtidas 7 concentrações teóricas (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 e 7,81 µg/mL). Os dados obtidos foram tratados estatisticamente

para determinação da equação da reta (método dos mínimos quadrados) e dos coeficientes de correlação (r) e (r^2), utilizando o software Microsoft Excel®. A curva de calibração foi construída plotando-se os valores referentes às áreas dos picos no eixo das ordenadas e as respectivas concentrações do analito no eixo das abscissas.

Além disso, estudo de liberação *in vitro* do BR e AR a partir das blendas foi realizado em frascos de vidro contendo 2 mL de PBS pH 7,4 sob agitação e temperatura mantidas constantes em 30 rpm (± 1) e 37° C ($\pm 0,2^\circ$ C), respectivamente. Foram utilizados blendas-0 e contendo BR ou AR, totalizando 15 amostras ($n=5$ para cada grupo analisado). Em intervalos de tempo pré-determinados, o meio de incubação das blendas foi totalmente retirado para posterior quantificação e a solução tampão dos frascos foi renovada. A substância liberada no meio de incubação foi quantificada por espectrofotometria, de acordo com o método analítico previamente desenvolvido.

2.2.2 Avaliação da molhabilidade

Sabendo que o corpo humano é composto por 70% de água, parte importante do desenvolvimento de um biomaterial degradável é a sua afinidade com a água, sendo o ensaio de ângulo de contato o principal método para medir a essa afinidade. O conceito de molhabilidade é definido pela habilidade de um líquido manter contato com uma superfície sólida através de suas interações moleculares (PIRES et al, 2015; CAMPOCCIA et al, 2013; ORÉFICE et al, 2006).

As amostras foram avaliadas quanto à sua hidrofília. Foi utilizado o goniômetro (Kruss®, DAS-100®), disponível no Laboratório de Biomateriais do CEFET-MG, para a medição do ângulo de contato, com o intuito de verificar a molhabilidade das blendas. Esse ensaio foi realizado, em temperatura e atmosfera ambientes, em que foi depositado, sobre o material, 5 μ L de água destilada. As medições foram realizadas pelo Método da Gota Sessão, em que uma gota é posta sobre a superfície plana do material com auxílio de uma seringa e o ângulo é medido, e registrado por uma câmera acoplada ao equipamento, conforme os trabalhos de Wang et al (2016), Ferreira (2017), Curtts (2018) e Ferreira (2022).

Foram medidos os ângulos de contato em 3 amostras de cada lote de blenda medindo 10 mm de comprimento por 1,5 mm, totalizando 9 amostras. As médias por

lote foram definidas e os resultados foram descritos como média \pm erro padrão, analisados por ANOVA através do Minitab®, seguido pelo teste de Bonferroni, conforme realizado por Ferreira (2017).

As comparações paramétricas entre os ângulos dos dois grupos (Blenda-0 e Blenda-AR + Blenda-BR) foram feitas usando o teste *t-Student*, seguido de teste *Student Newman Keuls*, foram considerados significativos resultados de “p” inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

2.2.3 Avaliação do perfil térmico

A termogravimetria (TG) é uma técnica de caracterização que avalia a variação de massa de uma amostra em função da temperatura em um determinado tempo, permitindo, de forma gráfica, observar as alterações por decomposição térmica, que são de fundamentais para materiais que são processados e conformados a uma determinada temperatura (PIRES et al, 2015; CAMPOCCIA et al, 2013; ORÉFICE et al, 2006). Nesse trabalho, além de conhecer o perfil térmico da matéria prima e do composto, a termogravimetria permitiu validar o processamento e a conformação do material em relação às temperaturas utilizadas no processo. Esse ensaio, também permitiu verificar a presença da matéria prima no composto final, comparando as identidades termogravimétricas da matéria prima com o composto.

As amostras das matrizes, filmes e blendas foram avaliadas por meio do ensaio de TG, utilizando o equipamento DTG-60/60H da Shimadzu®, disponível no Laboratório do Departamento de Química do CEFET/MG. O Ensaio foi realizado com cadinho de Alumínio, atmosfera de Nitrogênio (50 mL/min) e com velocidade e elevação da temperatura em 10° C/min, conforme os trabalhos de Vieira (2011), Curtt (2018) e Ferreira et al (2022). No intuito de evidenciar as transformações de massa ocorridas durante a alteração de temperatura, foram traçadas, junto às curvas de TG, uma derivada da termogravimetria (DTG) que mostra mais claramente os pontos de variação importantes na porcentagem de massa da amostra, podendo ser definido com uma aproximação numérica de temperatura (OHLWEILER, 1978). A DTG foi obtida pelo software Origin®. Os resultados deste ensaio foram comparados aos resultados dos ensaios encontrados na literatura. Foram realizadas TG nas amostras de filme sem associação de drogas (Filme-0), filme com Brimonidina (Filme-BR) e

filme com AR (Filme-AR), no intuito de avaliar o comportamento térmico dos filmes antes de serem submetidos à conformação, elucidando se o composto manteve ou alterou sua atividade térmica.

2.2.4 Caracterização molecular estrutural

A Difração de Raios-X (DRX) é uma técnica frequentemente aplicada em estruturas cerâmicas, e tem como objetivo determinar a estrutura atômica e molecular de um cristal. O ensaio de DRX permite descrever a disposição física dos átomos de uma substância determinando sua estrutura cristalina. Os diferentes arranjos atômicos cristalinos fazem com que um feixe de raios-X incidente difrate em muitas direções específicas, imprimindo uma identidade para cada arranjo. O ensaio de DRX tem como princípio o fenômeno ondulatório da física, conhecido como interferometria, em que as difrações sofridas pelos feixes de raios X são registrados em suas posições angulares, determinando a identidade do plano atômico dos átomos (AZEVEDO, 2010). No ensaio com polímeros, o DRX tem como objetivo verificar se a estrutura é amorfa ou cristalina, caracterizando assim o material (CIENFUEGOS et al, 2000).

As análises de DRX foram realizadas com o objetivo de avaliar o comportamento estrutural da blenda, após o processamento e conformação das matérias primas. No presente trabalho, as amostras de matéria prima e blenda foram submetidas ao ensaio, com o objetivo primário de caracterizar as amostras em amorfas ou cristalinas. Também, foram avaliados se os compostos permaneceram com as mesmas propriedades das matérias primas, comparando a similaridade dos gráficos, verificando se houve a formação de novos subprodutos.

A Difração de Raios-X (DRX) foi realizada no equipamento XDR-6000®, da marca Shimadzu®, disponível no Laboratório de Caracterização do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG. O ensaio foi realizado com velocidade de 3°C/min, variação de ângulo de 10° a 100°, utilizando radiação de cobre, voltagem de 40kV e corrente de 30mA, conforme os trabalhos de Vieira (2011) Curtts (2018), e Ferreira et al (2022). Foi calculado um índice de cristalinidade através de uma baseline no software Origin®.

2.2.5 Ensaio de degradação

O ensaio de degradação, tem como objetivo verificar o tempo de degradação dos polímeros e estabelecer uma estimativa de liberação dos fármacos. Um dos objetivos deste trabalho é estabelecer uma rota de conformação que permita a degradação controlada, igual ou melhorada, em relação a dos trabalhos de Fialho et al (2003, 2005 e 2007), Silva et al (2010), Vieira (2011), Buchaim et al (2013) e Curtts (2018).

Previamente, determinou-se a porcentagem de perda de massa final a partir do ensaio de liberação in vitro após 4 dias de incubação com solução de PBS. Também, foi realizado um teste de degradação observados em um tempo mais prolongado de 5 dias, 15 dias, 30 dias, 45 dias, 60 dias, 75 dias, 90 dias. Um total de sete amostras de branco, sete amostras de blenda com Brimonidina e sete de blenda com AR, em triplicata cada uma, totalizando 63 amostras no total. A escolha de tempo de degradação foi baseado no trabalho de Curtts (2018),

As amostras de blendas foram pesadas (Tempo 0) e imersas separadamente em solução tampão de fosfato (PBS), mantidas em banho-maria à temperatura de 37°C. O volume da solução foi definido conforme o trabalho de Curtts (2018) sendo 1 mL por 1mg de material. Utilizou-se filtro quantitativo faixa azul para separar a parte sólida do PBS com os produtos da degradação. O material sólido e o filtro foram levados à estufa a 35°C, por 24 horas, para secagem. Após a secagem, o material foi pesado e subtraída a tara do filtro definida antes do depósito do material. O resultado foi expresso em porcentagem (%) de perda de massa em relação à massa inicial, com a utilização do software Origin®.

2.2.6 Caracterização de elementos químicos

O ensaio de fluorescência de raios-X (FRX) tem, como objetivo, medir as intensidades dos raios-X característicos emitidos pelos elementos químicos que constituem a amostra. Quando os átomos dos elementos químicos são excitados pelos elétrons, prótons ou íons produzidos em aceleradores de partículas, é possível determinar elementos químicos presente no material, qualitativamente e quantitativamente (MISRA et al, 2002). Apesar dos instrumentos de fluorescência de

Raios-X produzem análises quantitativas e qualitativas de materiais complexos, há uma limitação para números atômicos abaixo de 11 e acima de 92. Os elementos com número atômico baixo apresentam baixa sensibilidade analítica e baixa energia de emissão, sendo, portanto, mais difíceis de serem determinados pela técnica (SKOOG et al, 2009).

No presente trabalho, as amostras de matéria prima, filme e blenda foram examinadas, com o objetivo de comparar se os elementos químicos presentes na amostra da matéria prima ainda estavam presentes no composto, evidenciando não ter tido perda das características da matéria prima e/ou degradação, durante o processamento ou conformação.

A Espectroscopia de Fluorescência de Raios-X foi realizada no equipamento EDX-720[®] da marca Shimadzu[®], disponível no Laboratório de Caracterização do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG. O ensaio foi realizado em atmosfera de vácuo, com colimador de 10 mm, conforme os trabalhos de Vieira (2011), Curtis (2018) e Ferreira et al (2022). Os resultados deste ensaio foram comparados com os resultados encontrados na literatura.

2.2.7 Caracterização das ligações químicas

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) tem como princípio o fenômeno da física atômica, na qual as ligações químicas de cada substância possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem aos níveis de energia da molécula. Essas vibrações diferenciadas permitem, por meio de um banco de dados, identificar a presença de grupos funcionais presentes na estrutura de uma substância. Por meio das ligações químicas, podemos identificar um composto, ou definir sua composição química (LOPES et al, 2004; BARBOSA, 2008).

No presente estudo, as amostras de matéria prima, filme e blenda foram examinadas com o objetivo de comparar se as ligações químicas presentes na matéria prima ainda estavam presentes no composto, evidenciando não ter tido perda das características da matéria prima e/ou degradação, durante o processamento ou conformação.

As matérias primas, filmes e blendas foram caracterizadas pela técnica de FTIR, utilizando o equipamento IR-Prestige-21[®] da marca Shimadzu[®], disponível no

Departamento de Química do CEFET-MG. O ensaio foi executado em todas as amostras sob técnica de ATR (do inglês *Attenuated Total Reflectance*), conforme trabalho de Curttis (2018) e Ferreira et al (2022). Os resultados deste ensaio foram comparados com os resultados encontrados na literatura.

2.2.8 Caracterização morfológica microscópica

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) tem como princípio de funcionamento a utilização de um feixe de elétrons de pequeno diâmetro, que defletidos por um sistema de bobinas, faz uma varredura na superfície da amostra, por linhas sucessivas, transmitindo o sinal a um receptor, que forma as imagens. Quanto maior o número de linhas, maior a resolução ou a ampliação. O objetivo da MEV é avaliar a morfologia dos materiais, interfaces de blendas, linhas de fusão, trincas, superfícies irregulares e porosidade (MANNHEIMER, 2002; CALLISTER, 2000).

As amostras foram avaliadas quanto à forma, à espessura, à fusão de camadas e à porosidade, utilizando os Microscópios Eletrônicos de Varreduras (MEV) (Carl Zeiss Microscopy®, SIGMA VP®) acoplado à Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) (Bruker Nano GmbH®, XFlash 410-M®), disponível no Laboratório de Caracterização do CEFET-MG, (JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300), disponível no Laboratório de Caracterização da PUC-Minas. Foram realizadas as amostras e ampliações conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3 - Plano de resolução da microscopia Eletrônica de Varredura

Microscopia Eletrônica de Varredura						
Resolução	PLGA Colágeno (Filme-0)	PLGA Colágeno (Blenda -0)	PLGA Colágeno Brimo (Filme-BR)	PLGA Colágeno Brimo (Blenda-BR)	PLGA Colágeno AR (Filme-AR)	PLGA Colágeno AR (Blenda-AR)
20µm (600x)	-	1	-	-	-	-
50µm (500x)	1	1	1	1	1	1
100µm (200X)	1	1	1	1	1	1
200µm (80x)	-	1	-	-	-	-
500µm (40x)	-	3	-	-	-	-
Total de ensaios	2	7	2	2	2	2
Total de ensaios geral	17					

Tabela com a Resolução do MEV por amostra e incidência.
Fonte: do autor.

Devido à emissão dos elétrons, os materiais orgânicos e os polímeros podem sofrer carbonização, assim recomenda-se a metalização da amostra com ouro (MANNHEIMER, 2002; CALLISTER, 2000), nesse trabalho utilizou um metalizador SC-70[®]1, (Sanyu Electron[®], Japão).

A espessura da camada do filme, foi medida em corte transversal da blenda, e calculado através do tratamento de imagem com o software Adobe[®] Photoshop[®].

3. Resultados

3.1 Caracterizações físicas

3.1.1 Determinação do método analítico para quantificação de substâncias incorporadas nas blendas

Através da varredura realizada em espectrofotômetro na faixa de 200 a 500 nm, utilizando uma solução de BR na concentração de 125 µg/mL, determinou-se o comprimento de onda λ de maior absorção do fármaco como sendo de 313 nm, que foi utilizado (Gráfico 8). No entanto, não foi possível determinar a absorbância máxima para ácido rosmarínico (Gráfico 9).

Gráfico 8 - Espectro de varredura da Brimonidina no ultravioleta, λ máximo de absorção em 313 nm



Gráfico com o espectro de varredura da Brimonidina no ultravioleta. Observa-se máximo de absorção em 313nm.

Fonte: do autor.

Gráfico 9 - Espectro de varredura do ácido rosmarínico no ultravioleta

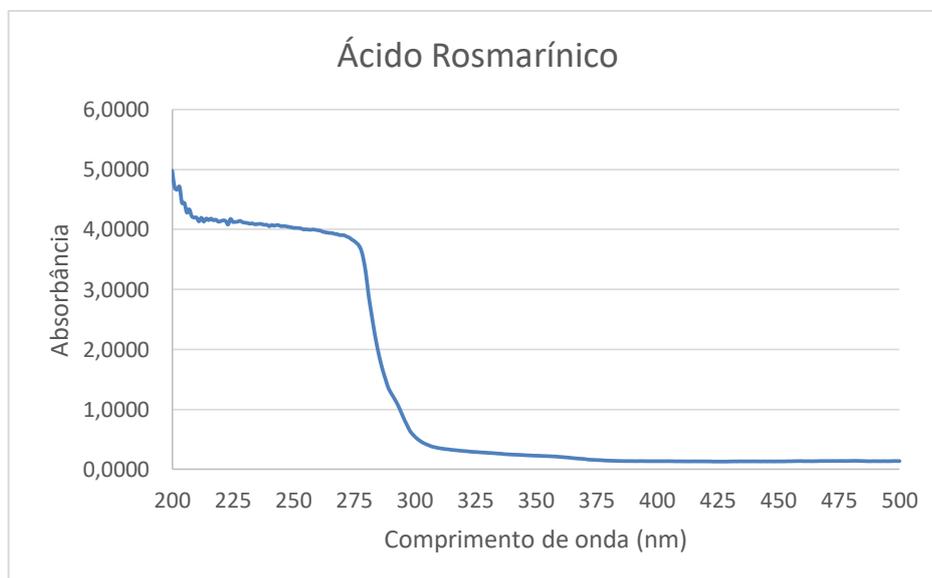


Gráfico com o espectro de varredura do AR no ultravioleta. Não se pode determinar a absorção.

Fonte: do autor.

Para a determinação da linearidade do método foi construída uma curva analítica a partir dos valores obtidos nas corridas de sete diferentes concentrações do BR (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 e 7,81 $\mu\text{g/mL}$), realizadas em triplicata (Tabela 4). No

Gráfico 10 os resultados são mostrados na curva obtida, assim como o coeficiente de correlação linear e a equação da reta são apresentados.

Tabela 4 - Dados utilizados na construção da curva de calibração da Brimonidina

Concentração de BR ($\mu\text{g/mL}$)	Média das áreas \pm DP
7,81	0,2622 \pm 0,0138
15,6	0,2796 \pm 0,00723
31,25	0,31660 \pm 0,0025
62,5	0,3713 \pm 0,00219
125	0,4687 \pm 0,0192
250	0,6886 \pm 0,0077
500	1,2118 \pm 0,0036

Tabela com os valores de concentração da Brimonidina, médias de áreas e desvio padrão.
Fonte: do autor.

Gráfico 10 - Curva analítica de BR

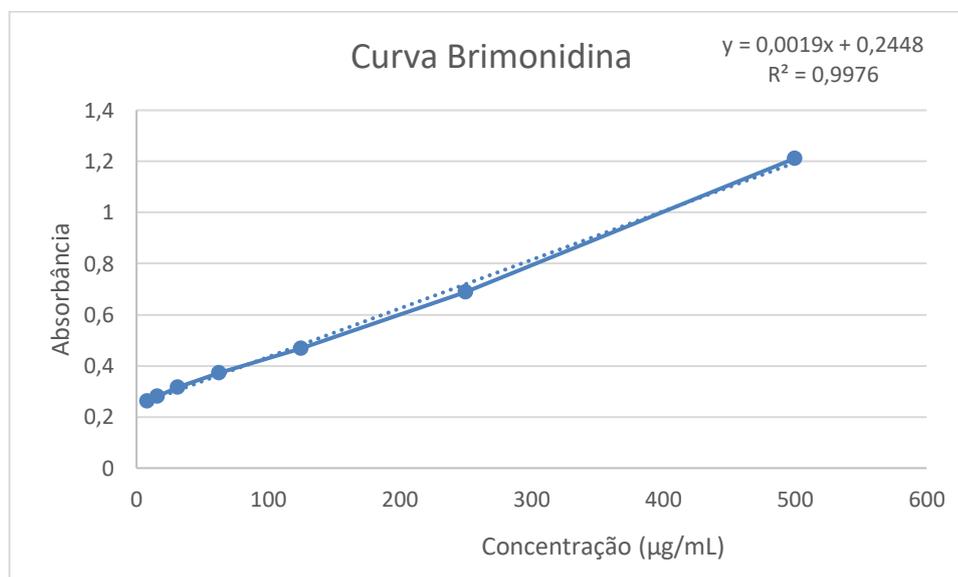


Gráfico com a curva analítica da Brimonidina.
Fonte: do autor.

A curva construída apresentou linearidade na faixa de trabalho especificada, sendo o coeficiente de correlação linear igual a 0,9976. Em vista disso, determinou-se o perfil de liberação da brimonidina através da quantificação do analito por espectrofotometria (Gráfico 11).

Gráfico 11 - Curva de liberação de Brimonidina por 96 horas após a incubação

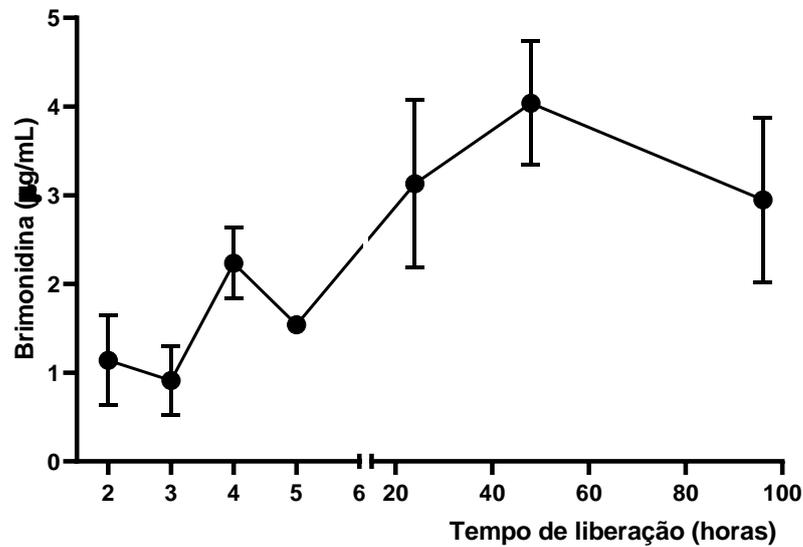


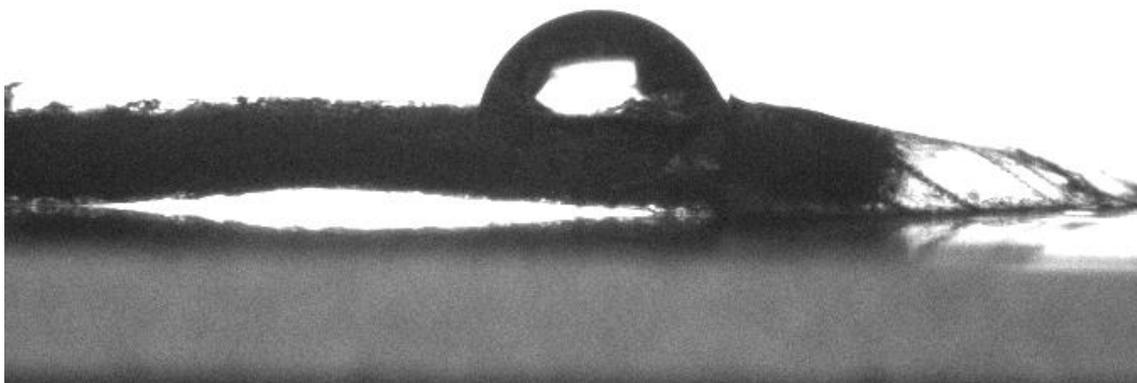
Gráfico com a curva analítica da Brimonidina.
Fonte: do autor.

O sistema liberou aproximadamente 1mg da substância ativa já nas primeiras horas após a incubação, observou-se também que no tempo de 48 horas identificou-se que a maior liberação foi significativa no tempo de 48 horas ($4,36 \pm 1,39 \mu\text{g/mL}$).

3.1.2 Molhabilidade – Ângulo de Contato

A absorção de fluidos está diretamente relacionada à capacidade de biocompatibilidade e de bioabsorção do material pelo organismo, principalmente no sítio de implante do biomaterial. O resultado do ângulo de contato da Blenda-0 foi uma média de $75,4^\circ (\pm 1,1)$, onde observou-se espalhamento intermediário da gota depositada na blenda (Figura 31).

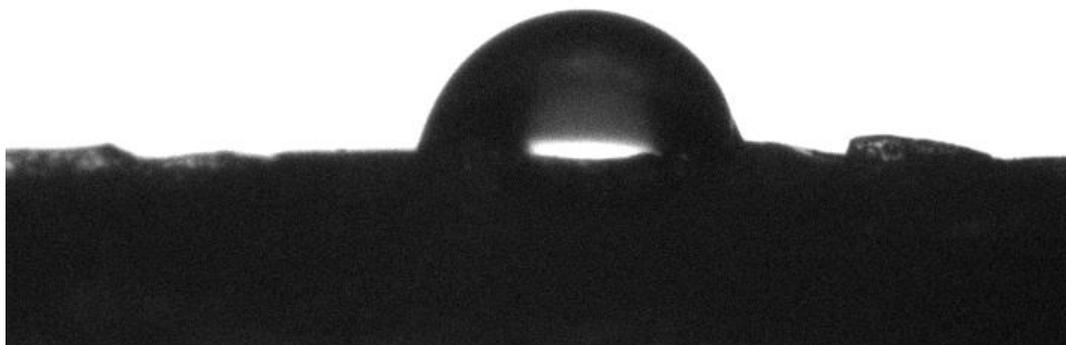
Figura 31 - Ângulo de contato Blenda-0



Fotografia do ângulo de contato da Blenda-0, onde observa-se uma hidrofília intermediária.
Fonte: autor

O resultado do ângulo de contato da Blenda-BR foi uma média de $74,6^\circ (\pm 0,7)$ (Figura 32).

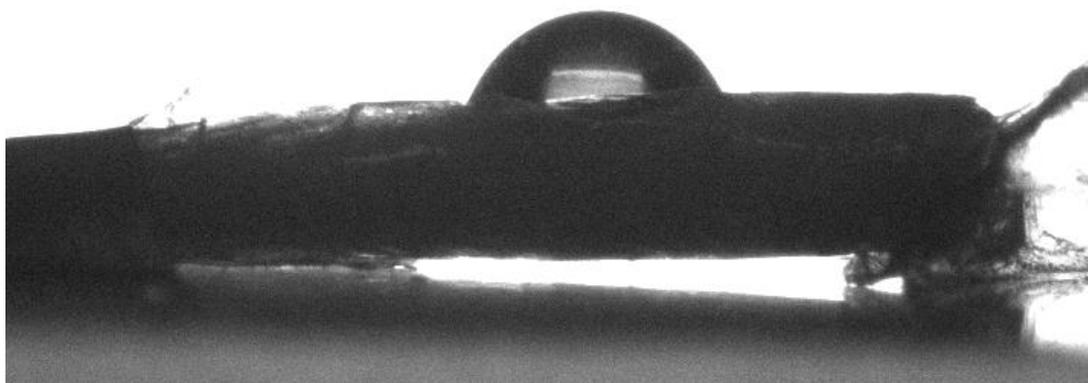
Figura 32 - Ângulo de contato Blenda-BR



Fotografia do ângulo de contato da Blenda-BR, onde observa-se uma hidrofília intermediária.
Fonte: autor

O resultado do ângulo de contato da Blenda-AR foi uma média de $74,8^\circ (\pm 0,8)$ (Figura 33).

Figura 33 - Ângulo de contato Blenda-AR



Fotografia do ângulo de contato da Blenda-AR, onde observa-se uma hidrofília intermediária.
Fonte: autor

De acordo com os resultados, os três grupos de blendas apresentaram similares valores de ângulo de contato com um espalhamento intermediário da gota. Observou-se que não houveram alterações significativas no ângulo de contato entre o grupo sem droga e o grupo com droga (Tabela 4).

Tabela 5 - Ângulo de Contato das blendas

Medidas do ângulo de contato	
Amostra	Média do ângulo de contato
BLENDA-0	75,4 ± 1,1
BLENDA-BR	74,6 ± 0,7
BLENDA-AR	74,8 ± 0,8

Blenda-0: blenda sem incorporação de droga. Blenda-BR: blenda com incorporação de Brimonidina. Blenda-AR: blenda com incorporação de AR.
Fonte: autor

As comparações paramétricas entre os ângulos dos grupos Blenda-0 e Blenda-BR, realizadas através do teste *t-Student*, seguido de teste *Student Newman Keuls*, não obtiveram diferenças com significância estatística com $p > 0,05$ (0,235). As comparações paramétricas entre os ângulos dos grupos Blenda-0 e Blenda-AR, realizadas através do teste *t-Student*, seguido de teste *Student Newman Keuls*, não obtiveram diferenças com significância estatística com $p > 0,05$ (0,172).

3.1.3 Termogravimetria (TG/DTG)

De uma forma geral, a aplicação da TG em polímeros deu-se em função da necessidade de se conhecer a estabilidade térmica e oxidativa, importantes no processamento do material. Observa-se na Figura 34 o perfil termogravimétrico da matriz de PLGA realizado até 900°C.

Figura 34 - Termogravimetria da matéria-prima PLGA

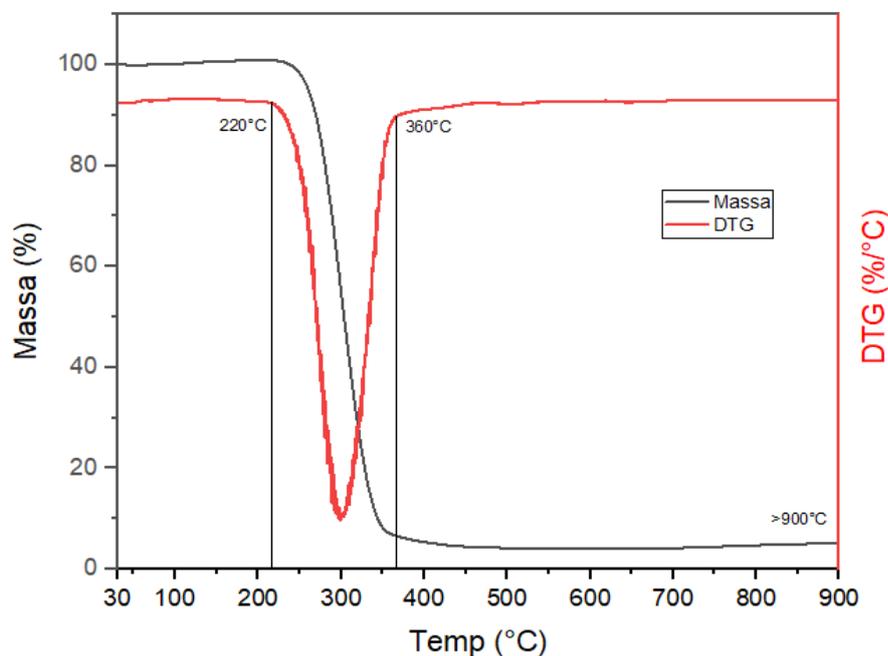


Gráfico de relação porcentagem de massa versus temperatura em graus Celsius. A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha o A derivada da porcentagem de massa por temperatura). Observa-se um evento significativo de perda de massa, correspondente à decomposição do material orgânico a partir de 220°C. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor

Por meio do resultado da TG do PLGA, observa-se um evento de perda de massa do material que sugere a ocorrência térmica: de 220 a 360°C, observou-se perda significativa de massa sugestivo de decomposição do material orgânico. Após 360°C observa-se massa residual e discreto aumento que ocorreu provavelmente por meio da perda de CO₂ e geração dos respectivos óxidos, resultado da carbonização do material. Pôde-se observar que não ocorreu perda de massa de 30 a 220°C (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultado do ensaio de termogravimetria do PLGA com porcentagem de perda de massa.

Porcentagem massa PLGA	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 220	0
220 a 360	95
360 a 900	0

°C: Graus Celsius. % Porcentagem.

Fonte: do autor

Na Tabela 6, observaram-se as perdas de massa a partir das faixas térmicas, onde observou-se perda de massa somente de 200 a 360°C. Observa-se na Figura 35 a TG e DTG da matriz de Colágeno tipo I, para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 35 - Termogravimetria do colágeno tipo I

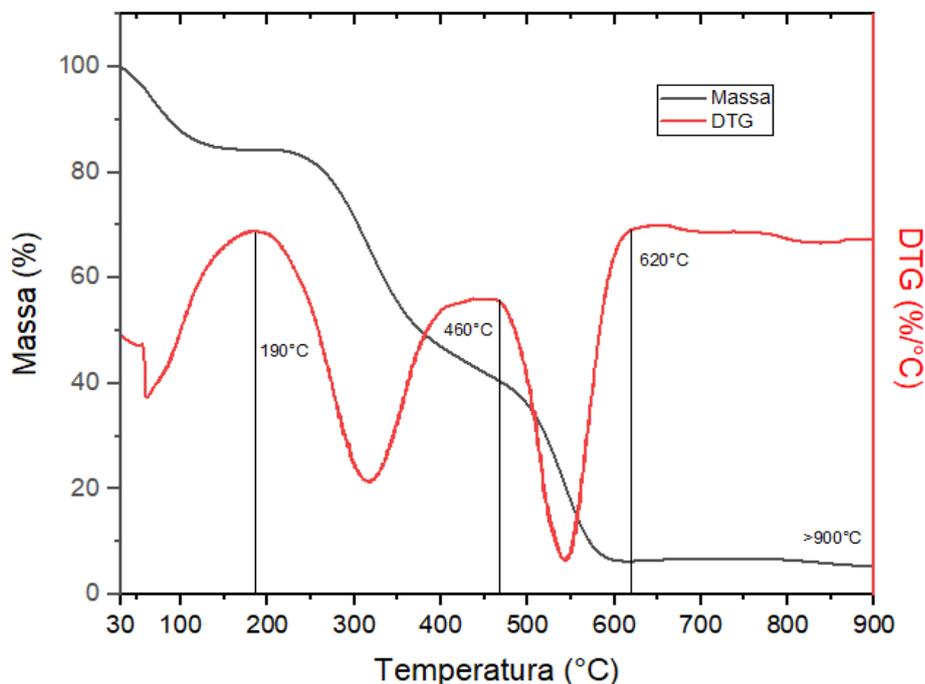


Gráfico de relação porcentagem de massa por temperatura em graus Celsius. A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observa-se três perdas significativas de massa correspondentes à perda de água livre, perda de água estrutural e decomposição da matéria orgânica. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor

Por meio do resultado da TG do colágeno, observaram-se quatro eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 até 190°C correspondente à perda de água livre; 190 a 460°C correspondente à perda de água estrutural; e, de 460 a 620°C correspondente à decomposição da matéria orgânica. Após 620°C, massa residual que tem aumento discreto de massa ocorrido por meio da perda de CO₂ e geração dos respectivos óxidos, resultado da carbonização do material (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Colágeno com porcentagem de perda de massa.

Porcentagem massa colágeno	
Temperatura °C	Perda de massa %
30 a 190	18
190 a 460	27
460 a 620	47

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor

Na Tabela 7, observaram-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, onde a maior perda ocorreu na faixa de 460 a 620°C. Observa-se na Figura 36 a TG e DTG da matriz de Bimonidina para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 36 - Termogravimetria da substância ativa Brimonidina

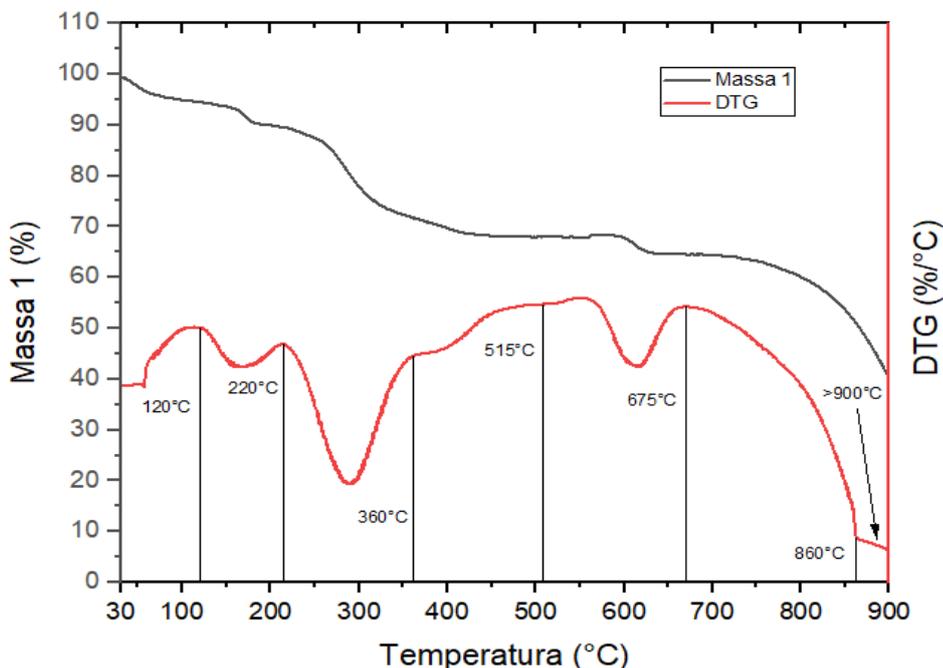


Gráfico de relação porcentagem de massa versus temperatura em graus Celsius. A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se seis perdas significativas de massa, correspondentes à perda de água livre, perda de água estrutural, água estrutural, perda do arranjo cristalográfico com liberação de umidade enclausurada, perda pela degradação orgânica do Carbono, Hidrogênio e Nitrogênio e perda correspondente a degradação do Bromo. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG da Brimonidina, observaram-se seis eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 até 120°C, correspondente à de perda de água livre; de 120 a 220°C, correspondente à de perda de água estrutural; de 220 a 360°C, correspondente à de mudança do arranjo cristalográfico liberando umidade na enclausurada; de 360 a 515°C, correspondente à degradação orgânica do Carbono, Nitrogênio e Hidrogênio; de 515 a 675°C, correspondente à degradação do Bromo; e de 675 a 860°C, perda de massa correspondente à carbonização do material que não foi completa até os 900°C (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado do ensaio de termogravimetria da substância ativa Brimonidina com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Brimonidina	
Temperatura °C	Perda de massa %
30 a 120	5
120 a 220	5
220 a 360	19
360 a 515	5
515 a 675	2
675 a 900	24

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor.

Na tabela, observaram-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda correspondente à degradação ocorreu de 220 a 360°C. Observa-se na Figura 37 a TG e DTG da matriz de AR para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 37 - Termogravimetria do Ácido Rosmarínico

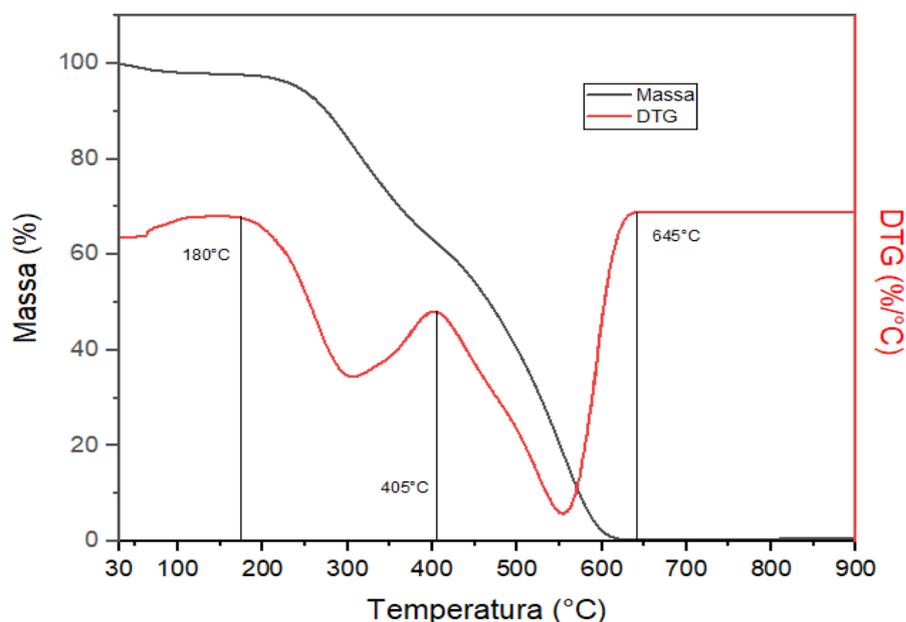


Gráfico de relação entre porcentagem de massa por temperatura em graus Celsius. A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se três perdas significativas de massa: a primeira correspondente a perda e água livre; a segunda, correspondente a perda de água estrutural; e a terceira, correspondente à degradação do AR. Observa-se carbonização do AR sem resíduos. DTG: Derivada da Termogravimetria.
Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG do AR, observaram-se três eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 até 180°C, correspondente à perda de água livre; de 180 a 405°C, correspondente à perda de água estrutural; e de 405 a 645°C, correspondente à degradação orgânica do AR (Tabela 9). Observou-se perda total de massa sem resíduos de carbonização até 645°C.

Tabela 9 - Resultado do ensaio de termogravimetria da substância ativa Ácido Rosmarínico com porcentagem de perda de massa

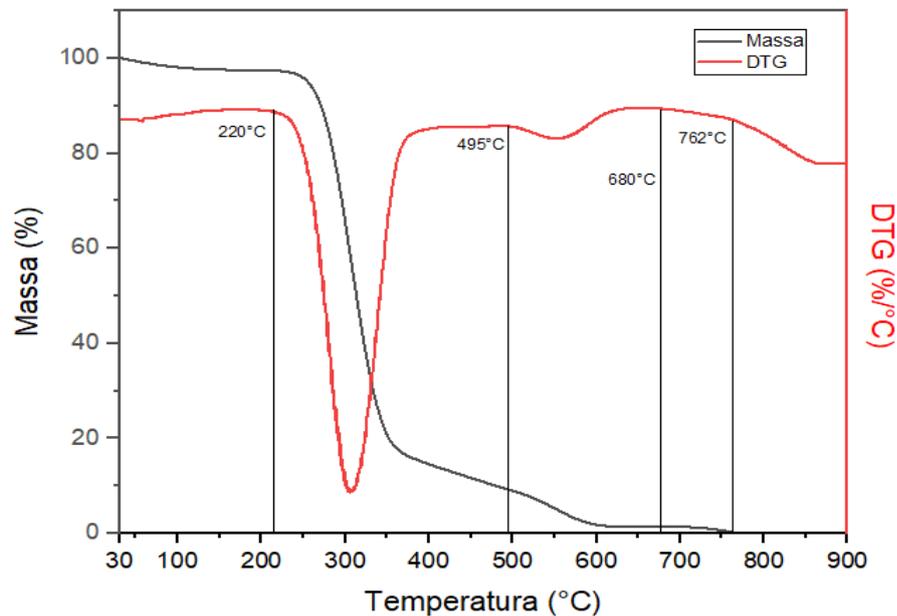
Porcentagem massa Ácido Rosmarínico	
Temperatura °C	Perda de massa %
30 a 180	5
180 a 405	35
405 a 645	60

°C: Graus Celsius. % Porcentagem

Fonte: do autor

Na Tabela 9, observaram-se as porcentagens de perda da massa versus temperatura, em que a maior perda ocorreu de 405 a 645°C. Foram realizadas TG nas amostras de filmes Filme-0, Filme-BR e Filme-AR, no intuito de avaliar o comportamento térmico dos filmes antes de serem submetidos à conformação. Observa-se na Figura 38 a TG e DTG do filme sem incorporação de drogas (Filme-0), para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 38 - Termogravimetria do Filme-0



A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se quatro perdas significativas de massa: a primeira, correspondente à água livre do colágeno; a segunda, correspondente a água estrutural do colágeno e degradação do PLGA; a terceira, correspondente a degradação do colágeno, a quarta, correspondente à carbonização total do material. DTG: Derivada da Termogravimetria. Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG, observaram-se quatro eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 a 220°C, correspondente à perda de água livre do colágeno; de 220 a 495°C correspondente à perda de água estrutural do colágeno e degradação orgânica do PLGA; de 495 a 680°C, correspondente à degradação orgânica do colágeno; e de 680 a 762°C, correspondente à carbonização total do material sem resíduos (Tabela 10).

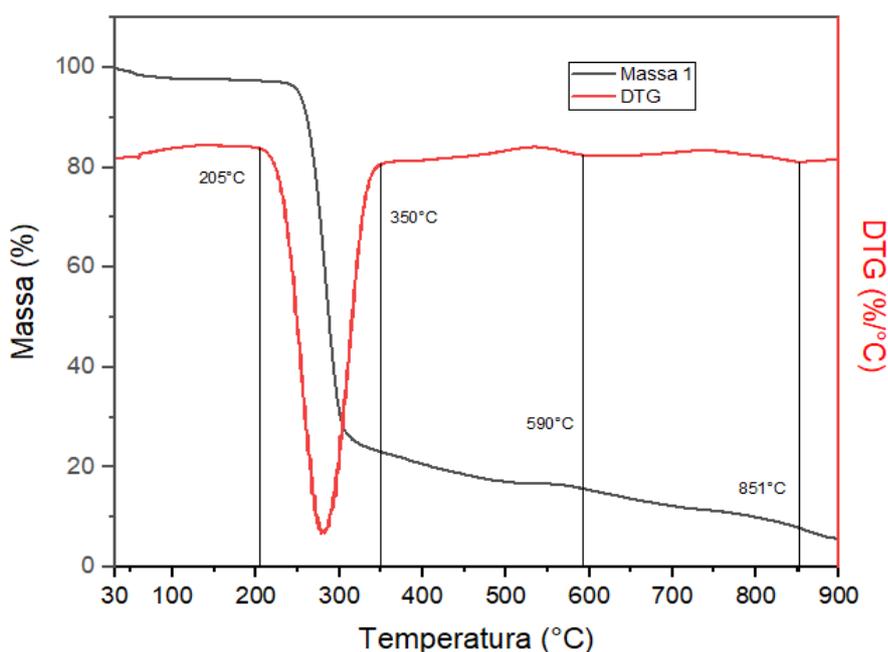
Tabela 10 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-0 com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Filme-0	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 220	5
220 a 495	85
495 a 680	8
680 a 762	2

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor.

Na Tabela 10, observaram-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 220 a 495°C. Foram observadas as presenças das identidades térmicas das matrizes no filme. A temperatura inicial de degradação, permitiu a conformação do Filme-0 há 25°C sem degradação. Observe-se na Figura 39 a TG e DTG do filme com Brimonidina (Filme-BR), para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 39 - Termogravimetria do Filme-BR



A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se quatro perdas significativas de massa: a primeira correspondente à perda de água livre do colágeno e da Brimonidina; a segunda correspondente a perda e água estrutural do colágeno e Brimonidina e degradação do PLGA; a terceira correspondente à degradação do colágeno; a quarta correspondente à degradação do Bromo. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG do Filme-BR, observaram-se quatro eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 a 205°C, correspondente à perda de água livre do colágeno e da Brimonidina; de 205 a 350°C, correspondente à perda de água estrutural do colágeno e da Brimonidina, e degradação do PLGA; de 350 a 590°C, correspondente à degradação do colágeno, de 590 a 851°C, correspondente à degradação do Bromo. Foi observado que, assim como com a Brimonidina, a carbonização completa ocorreu acima de 900°C (Tabela 11).

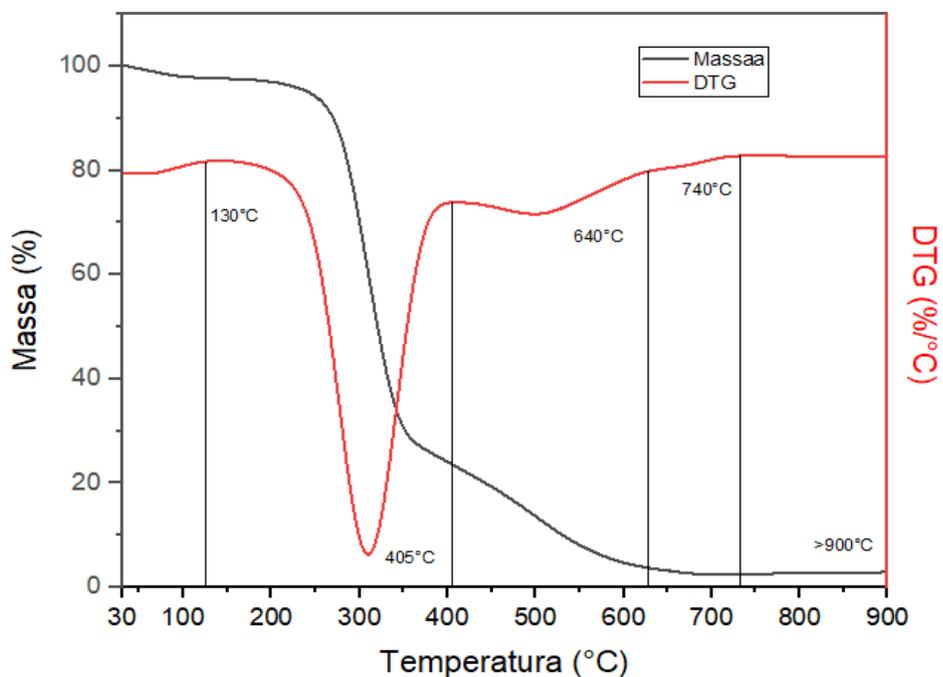
Tabela 11 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-BR com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Filme-BR	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 205	5
205 a 350	15
350 a 590	61
590 a 851	9

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor.

Na Tabela 11, observaram-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 350 a 590°C. Observa-se na Figura 40 a TG e DTG do filme com AR (Filme-AR), para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 40 - Termogravimetria do Filme-AR



A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se quatro perdas significativas de massa: a primeira, correspondente à perda e água livre do colágeno e AR; a segunda, correspondente à perda de água estrutural do colágeno e AR e degradação do PLGA; a terceira, correspondente à degradação colágeno e AR; e a quarta correspondente à carbonização do AR. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG do Filme-AR, observaram-se quatro eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 a 130°C, correspondente com a perda de água livre do colágeno e do AR; de 130 a 405°C, correspondente com a perda de água estrutural do colágeno, água estrutural do AR, e degradação do PLGA; de 405 a 640°C, correspondente à degradação do colágeno e degradação do AR, de 640 a 740°C carbonização total do AR com massa residual do colágeno e PLGA, e discreto aumento que ocorre por meio da perda de CO₂ e geração dos respectivos óxidos (Tabela 12)

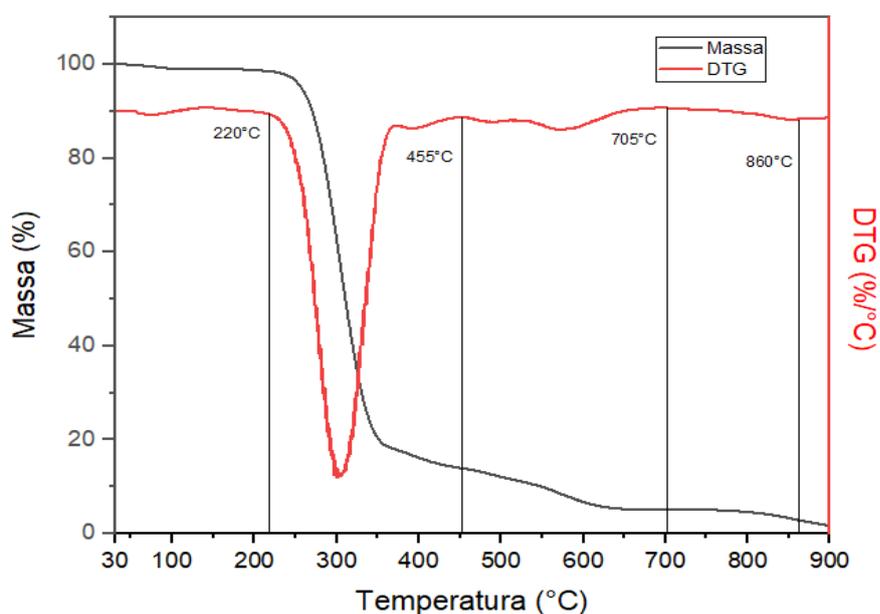
Tabela 12 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Filme-AR com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Filme-AR	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 130	5
130 a 405	23
405 a 640	66
640 a 740	2

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor.

Na Tabela 12, observaram-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 405 a 640°C. No intuito de verificar se houve modificações após a conformação, foram traçados os perfis térmicos das blendas. Observa-se na Figura 41 a TG e DTG da Blenda-0 para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 41 - Termogravimetria da Blenda-0



A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se quatro perdas significativas de massa: perda de água livre do colágeno, perda de água estrutural e degradação do PLGA, degradação do colágeno, e carbonização. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: do autor.

Por meio do resultado da TG da Blenda-0, observaram-se quatro eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 a 220°C, correspondente à perda de água livre do colágeno; de 220 a 455°C, correspondente à perda de água estrutural e degradação do PLGA; de 445 a 705°C, correspondente à degradação do colágeno; e de 705 a 860°C correspondente à carbonização que ocorreu após 900°C (Tabela 13).

Tabela 13 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-0 com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Blenda-0	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 220	5
220 a 455	83
445 a 705	7
705 a 860	3

°C: Graus Celsius. % Porcentagem

Fonte: do autor.

Na Tabela 13, observam-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 220 a 455°C. Observa-se na Figura 42 a TG e DTG da Blenda-BR para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 42 - Termogravimetria da Blenda-BR

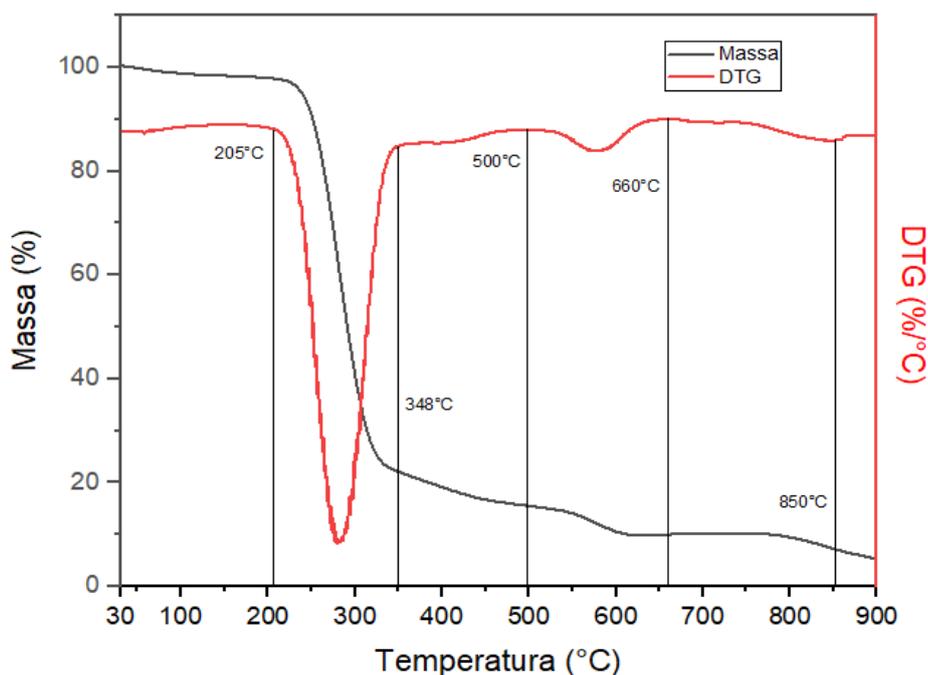


Gráfico de relação porcentagem de massa por temperatura em graus Celsius. A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se cinco perdas significativas de massa: perda de água livre do colágeno e Brimonidina, degradação do PLGA e perda de água estrutural do colágeno, perda de água estrutural da Brimonidina, degradação do colágeno e Bromo, e carbonização do PLGA e Colágeno. DTG: Derivada da Termogravimetria.
Fonte: Autor

Por meio do resultado da TG da Blenda-BR, observaram-se cinco eventos de perda de massa do material que sugerem as ocorrências térmicas: de 30 a 205°C, correspondente à perda e água livre; de 205 a 348°C, correspondente à perda e água estrutural do colágeno e degradação do PLGA; de 348 a 500°C, correspondente à perda de água estrutural da Brimonidina; de 500 a 660°C, correspondente à degradação do colágeno e degradação do Bromo; e de 660 a 850°C, correspondente à carbonização do colágeno e PLGA. Observou-se que a carbonização total da blenda ocorreu acima de 900° (Tabela 14).

Tabela 14 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-BR com porcentagem de perda de massa

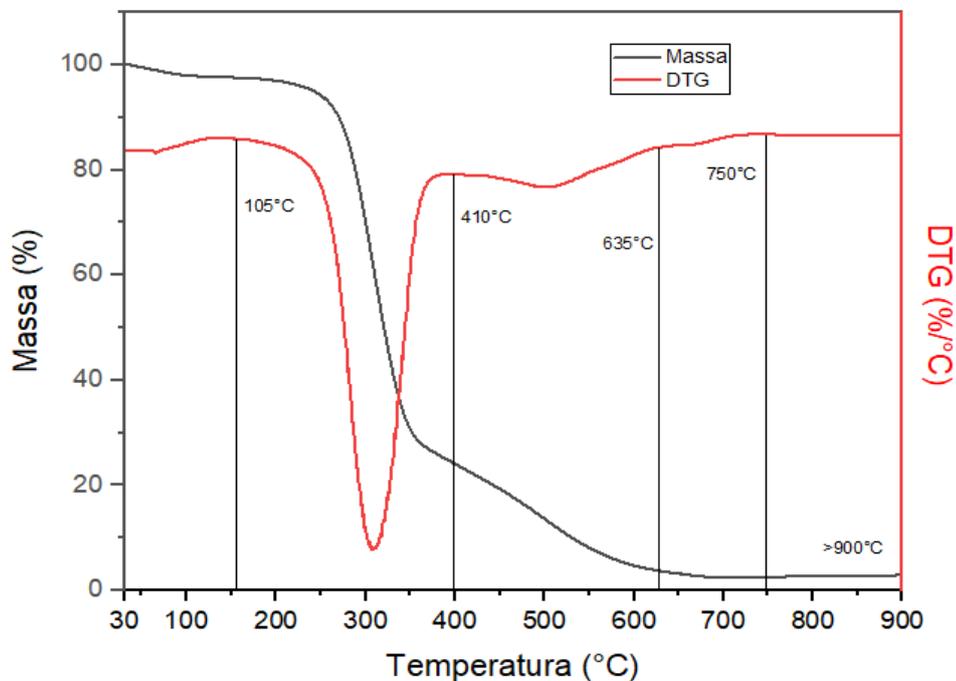
Porcentagem massa Blenda-BR	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 205	5
205 a 348	74
340 a 500	5
500 a 660	3
660 a 850	2

°C: Graus Celsius. % Porcentagem

Fonte: do autor.

Na Tabela 14, observa-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 205 a 340°C. Observa-se na Figura 43 a TG e DTG da Blenda-AR para as temperaturas de 30 a 900°C.

Figura 43 - Termogravimetria do Blenda-AR



A linha preta representa a massa amostra. A linha vermelha a derivada da porcentagem de massa por temperatura. Observam-se quatro perdas significativas de massa: Perda de água livre do colágeno e AR, perda de água estrutural do colágeno e AR, degradação do colágeno, carbonização do AR. DTG: Derivada da Termogravimetria.

Fonte: Autor

Por meio do resultado da TG da Blenda-AR, observou-se variações com perda de massa do material em quatro eventos: de 30 a 105°C, correspondente à perda de água livre do colágeno e do AR; de 105 a 400°C, sugestivo à perda de água estrutural do colágeno e AR; de 400 a 635°C, similar à degradação do colágeno e início da degradação do AR; e de 635 a 750°C correspondente à carbonização total do AR com residual de carbonização do colágeno e PLGA (Tabela 15).

Tabela 15 - Resultado do ensaio de termogravimetria do Blenda-AR com porcentagem de perda de massa

Porcentagem massa Blenda-AR	
Temperatura (°C)	Perda de massa (%)
30 a 105	5
105 a 400	16
400 a 635	76
635 a 750	1

°C: Graus Celsius. % Porcentagem
Fonte: do autor.

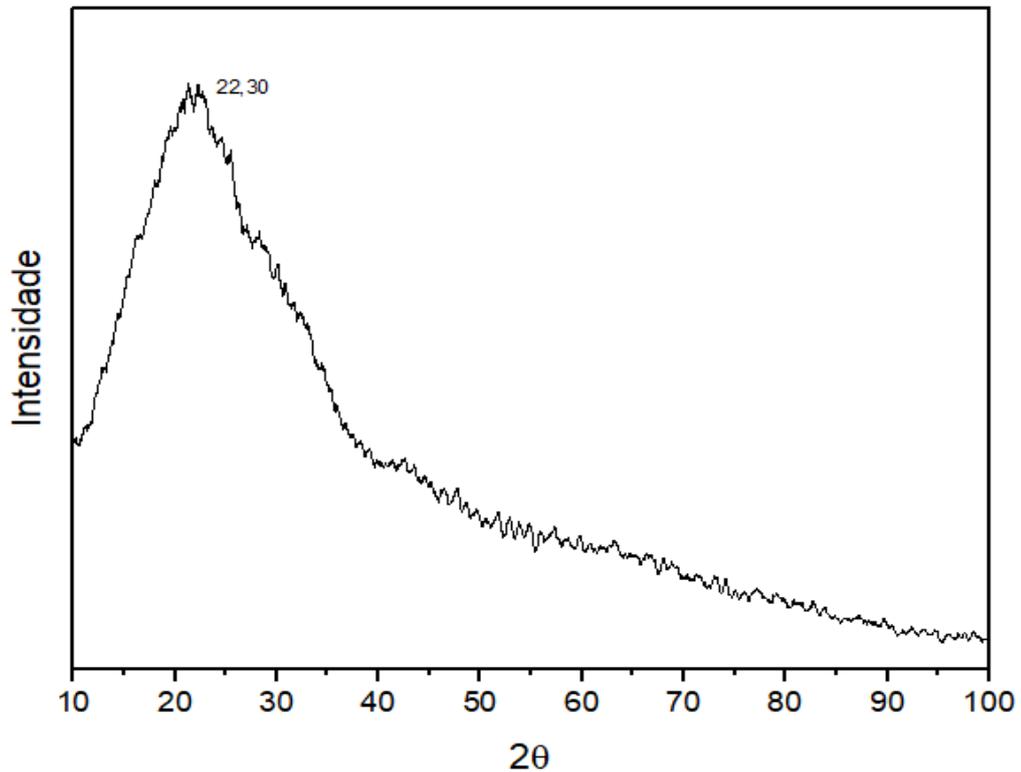
Na Tabela 15, observam-se as porcentagens de perda da massa pela faixa de temperatura, em que a maior perda ocorreu de 400 a 635°C. Não foram observadas alterações termogravimétricas, com redução da temperatura de degradação para os filmes e blendas em comparação com as matrizes. Não se observou discrepância entre as identidades termogravimétricas dos filmes, em relação às identidades termogravimétricas das blendas. A temperatura de degradação mais baixa foi de 130°C. Segundo Campoccia et al (2013), determinados planos cristalográficos podem interferir na indentidade termogravimetrica do material, no que diz respeito à perda de água estrutural, e, para tal, foi realizada a DRX.

3.1.4 Difractometria de Raios-x (DRX)

O ensaio de DRX permite descrever a disposição física dos átomos de uma substância determinando sua estrutura natureza cristalina. As análises de DRX foram realizadas com o objetivo de avaliar o comportamento estrutural da blenda, após o

processamento e conformação das matérias primas. Observa-se na Figura 44 o difratograma da matriz de PLGA.

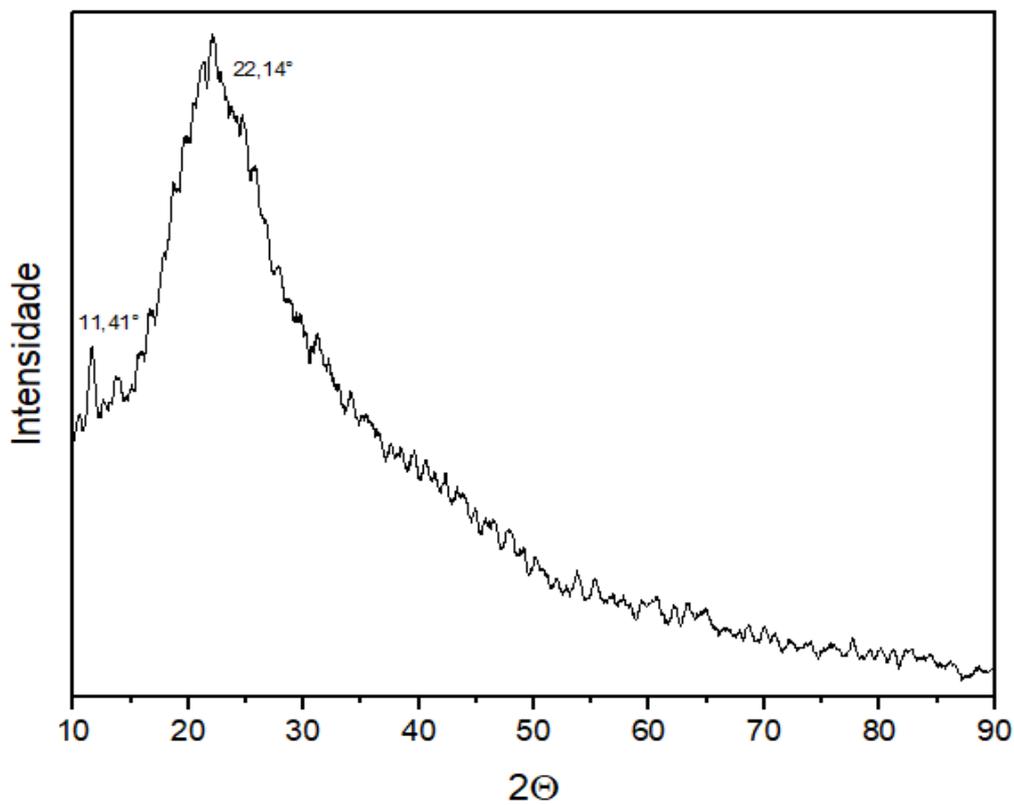
Figura 44 - Difratograma do PLGA



DRX da matriz de PLGA. Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza amorfa.
Fonte: do autor.

O resultado da amostra de PLGA, obtido pelo ensaio, apresenta um material de natureza amorfa com uma banda de valor máximo em torno de 22,30°. Não foram evidenciados picos de cristalinidade no material. Observa-se na Figura 45 o difratograma da matriz de Colágeno.

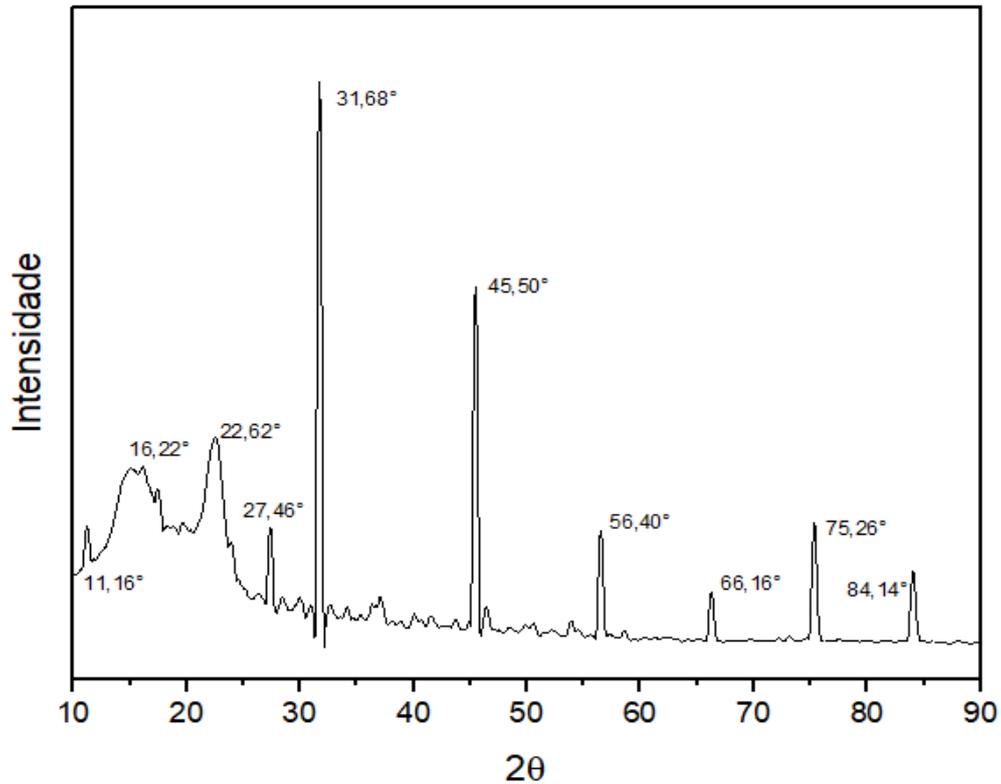
Figura 45 - Difratoograma do Colágeno tipo I



DRX da matriz de colágeno. Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza amorfa.
Fonte: do autor.

O resultado da matriz de colágeno apresenta uma natureza amorfa, com um halo próximo de 15° seguindo até aproximadamente 50° . Observa-se dois picos, sendo o primeiro em $11,41^\circ$ e o segundo em $22,14^\circ$. Na Figura 46 observa-se o difratograma da matriz de Brimonidina.

Figura 46 - Difratoograma da Brimonidina

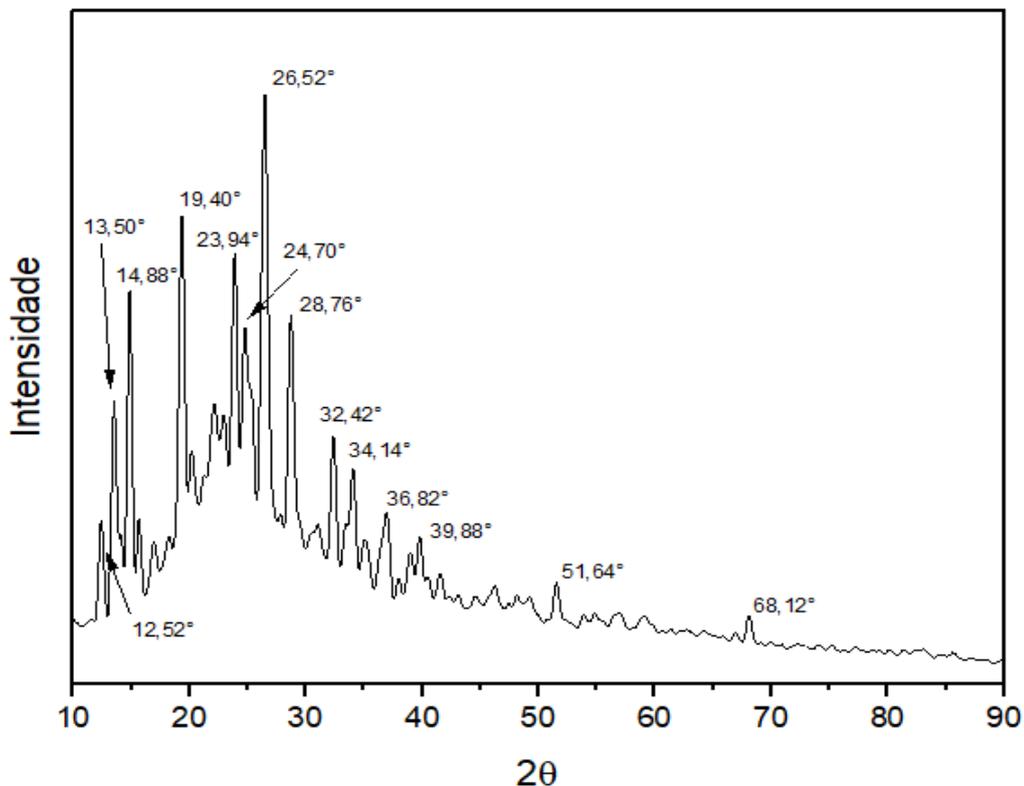


DRX da matriz de Brimonidina. Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza semicristalina.

Fonte: do autor.

O resultado da matriz de Brimonidina apresentou uma natureza semicristalina, com uma região de halo amorfo entre 10° e 25° aproximadamente, com alguns picos semicristalinos nesse intervalo. A partir de 10° picos cristalinos em 11,16°, 22,62°, 27,46°, 31,68°, 45,50°, 56,40°, 66,16°, 75,26°, 84,14°. Pico de maior intensidade em 31,68°. Foi calculado um índice de cristalinidade da ordem de 15% para a Brimonidina, através de uma baseline no software Origin®. Observa-se na Figura 47 o difratograma da matriz de AR.

Figura 47 - Difratoograma do Ácido Rosmarínico



DRX da matriz de Ácido Rosmarínico. Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza semicristalina da amostra.
Fonte: do autor.

O resultado da matriz de AR apresentou um material semicristalino com banda de amorfismo variando de 12° a 50°, com picos de cristalinidade em toda a extensão do ensaio de 10° a 90°. Foi calculado um índice de cristalinidade de 19,2% para o AR por meio da criação de uma baseline no software Origin®. Observa-se na Figura 48 o difratograma da Blenda-0.

Figura 48 - Difratoograma da Blenda-0

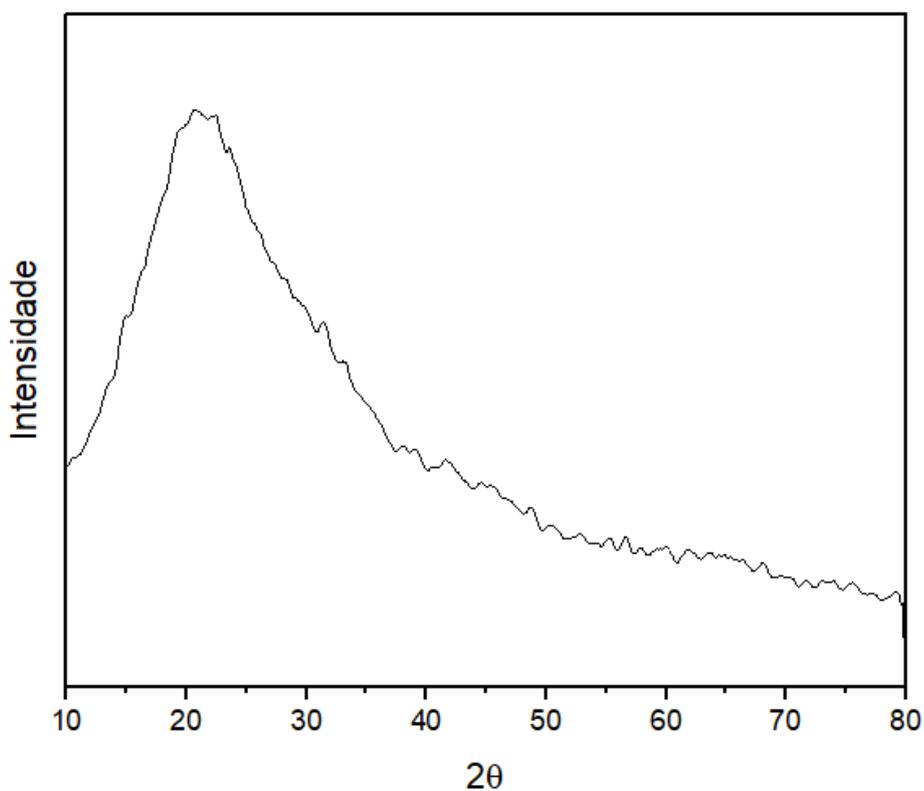


Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza amorfa da amostra. Fonte: do autor.

O resultado do DRX da Blenda-0 apresentou uma natureza amorfa, com halo de 10° a 35°, sem alteração da cristalinidade das matrizes. Observou-se a fusão dos picos do colágeno e PLGA. Observa-se na Figura 49 o difratograma da Blenda-BR.

Figura 49 - Difratoograma da Blenda-BR

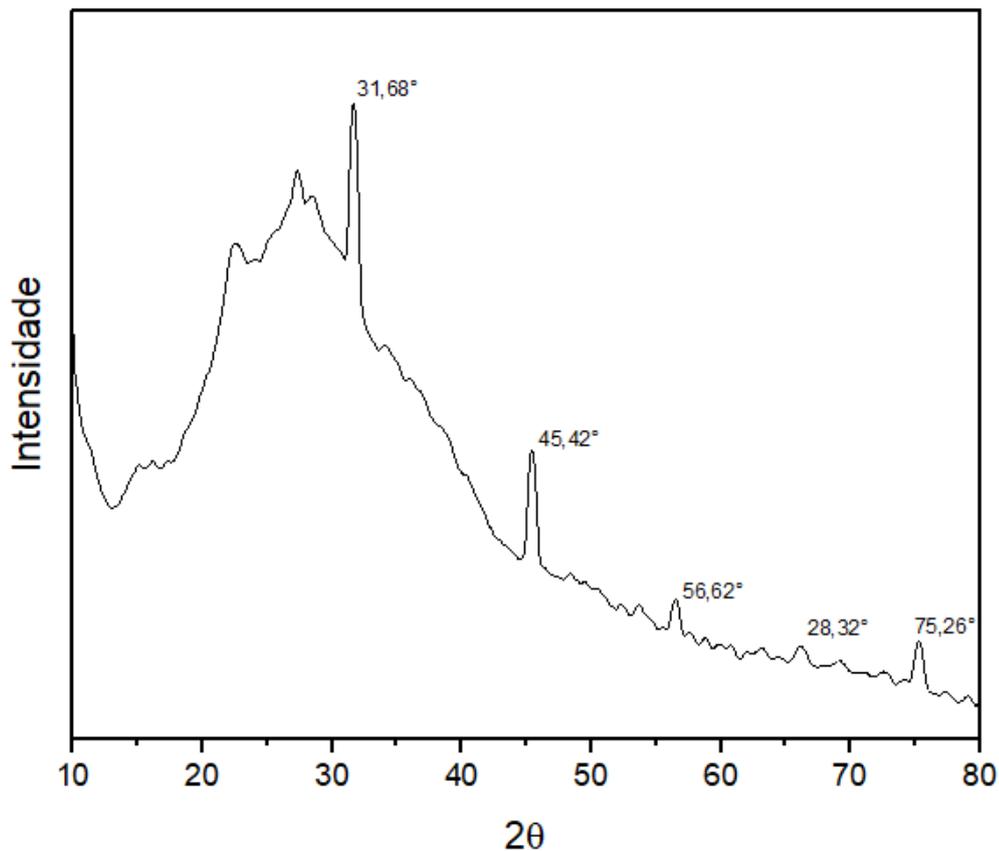


Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza semicristalina da amostra.

Fonte: do autor.

O resultado com a amostra de Blenda-BR apresentou natureza semicristalina, com uma banda amorfa na região de 18° a 45°, e picos de cristalinidade com intensidades importantes em 31,38°, 45,42°, 56,62°, 28,32° e 75,26°. Foi calculado um índice de cristalinidade de 10,5% para a Blenda-BR, por meio da criação de uma baseline no software Origin®. Observa-se na Figura 50 o difratograma da Blenda-BR.

Figura 50 - Difratoograma da Blenda-AR

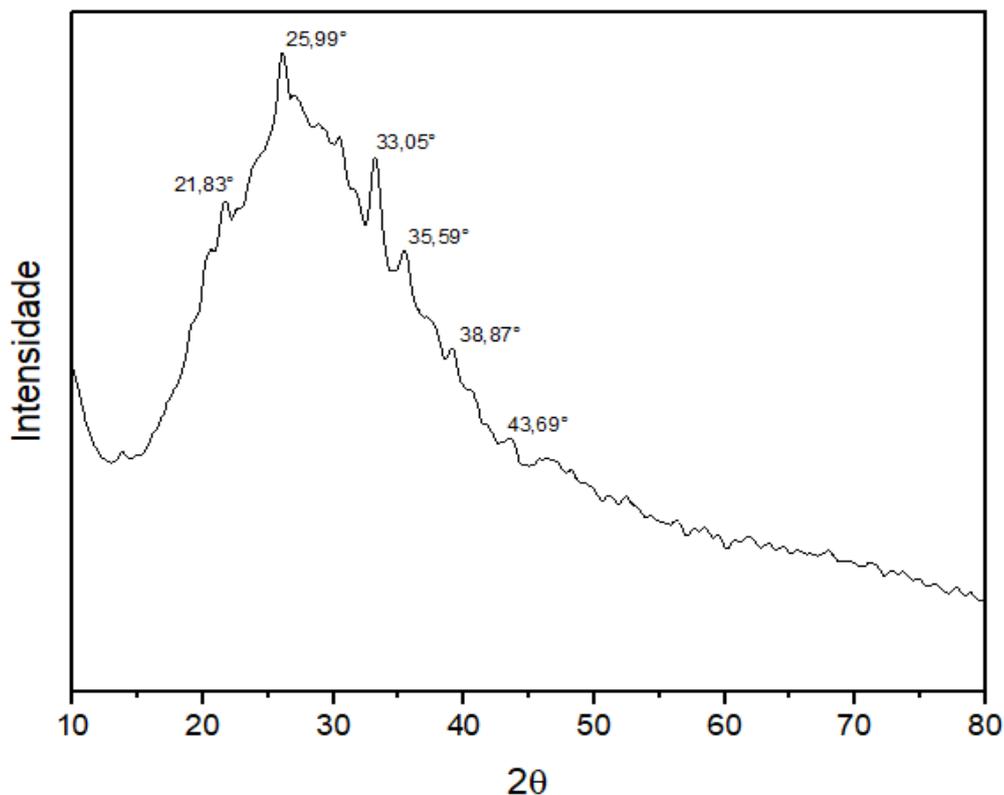


Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observa-se uma natureza semicristalina da amostra.

Fonte: do autor.

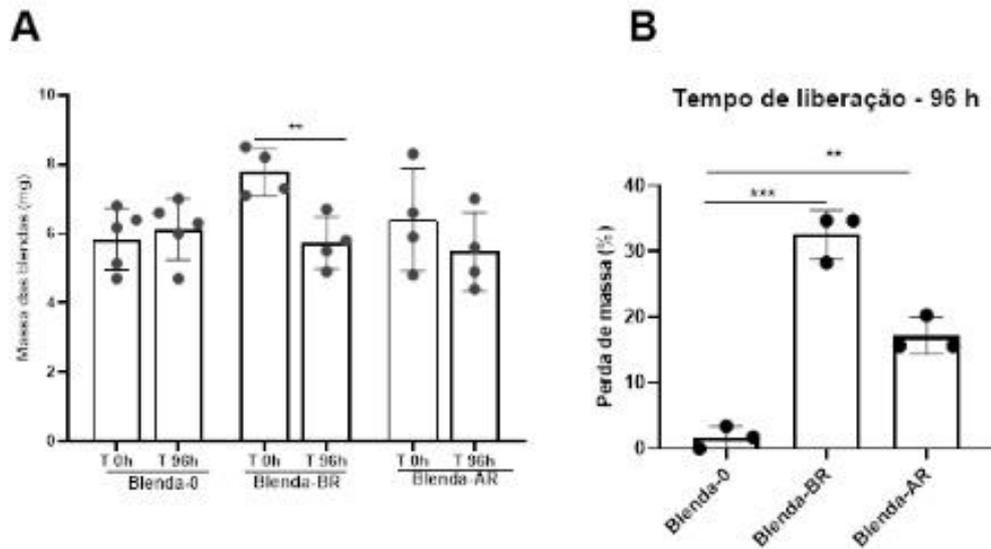
O resultado da amostra de Blenda-AR apresentou uma natureza semicristalina, com uma banda amorfa na região de 15° a 45°, e picos de cristalinidade com intensidades importantes em 21,83°, 25,99°, 30,05°, 35,59°, 38,87° e 43,69°. Foi calculado um índice de cristalinidade de 9,12% para a Blenda-BR, por meio da criação de uma baseline no software Origin®. Os filmes e blendas apresentaram caráter semicristalino, sem alterações em relação às matrizes.

3.1.5 Ensaio de degradação

Em estudos prévios realizados em ensaio de liberação *in vitro*, foi possível, ao final do ensaio, medir as massas das amostras após 96 horas de incubação à 37°C. Observou-se perda significativa de massa das blendas incorporadas com brimonidina ($5,73 \pm 0,75\text{mg}$) (Gráfico 12A). A porcentagem de perda após 96 horas em relação ao

tempo 0 foi de 32,58% ($\pm 3,71$) para Blenda-BR, e 17,19% ($\pm 2,7$) para Blenda-AR (Gráfico 12B).

Gráfico 12 - Perda de massa das blendas após 96 horas de incubação



(A) Gráfico de perda de massa das blendas ao final do ensaio de liberação *in vitro*.

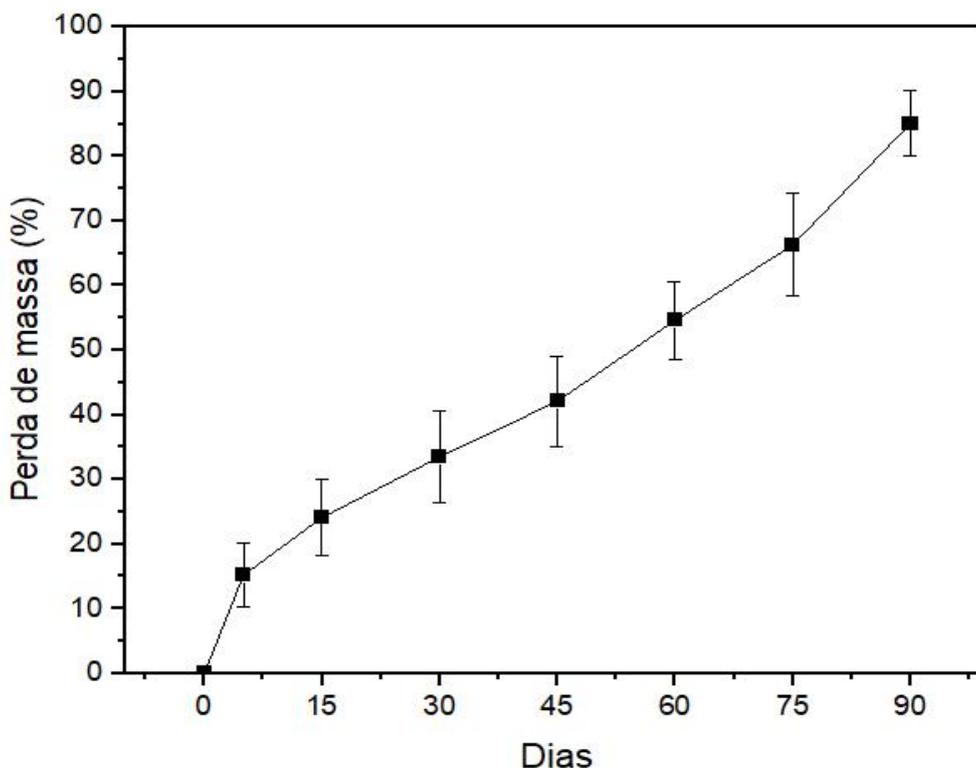
(B) Gráfico da perda de massa expresso em porcentagem.

Blenda-0 (sem droga); Blenda-BR (incorporada com Brimonidina) e Blenda-AR (incorporada com ácido rosmarínico).

Fonte: do autor.

Para o teste, foram estabelecidos os intervalos de 1 hora, 1 dia, 5 dias, 15 dias, 30 dias, 60 dias, 90 dias, sendo: sete amostras de Blenda-0, sete amostras de Blenda-BR e sete de Blenda-AR, todas em triplicatas, somando um total de 63 amostras. A degradação com perda de massa da Blenda-0, está representada na Figura 51.

Figura 51 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-0, no ensaio de degradação



Perda de massa da Blenda-0, por dia, em PBS. Linha: corresponde a perda percentual de massa. Barra vertical: desvio padrão. Observa-se o aumento da perda de massa, mais acentuado de 60 a 90 dias. Fonte: do autor.

A blenda-0 apresentou perda e 15,2% ($\pm 5,2$) no 5º dia, 24,2% ($\pm 6,7$) no 15º dia, 33,5% ($\pm 7,3$) no 30º dia, 42,1% ($\pm 6,9$) no 45º dia, 54,6% ($\pm 5,9$) no 60º dia, 66,3% ($\pm 8,0$) 75º dias, e 85,1% ($\pm 5,1$) no 90º dia. A perda de massa total da Blenda-0 ao final de 90 dias foi de 85,1% ($\pm 5,1$) (Tabela 16).

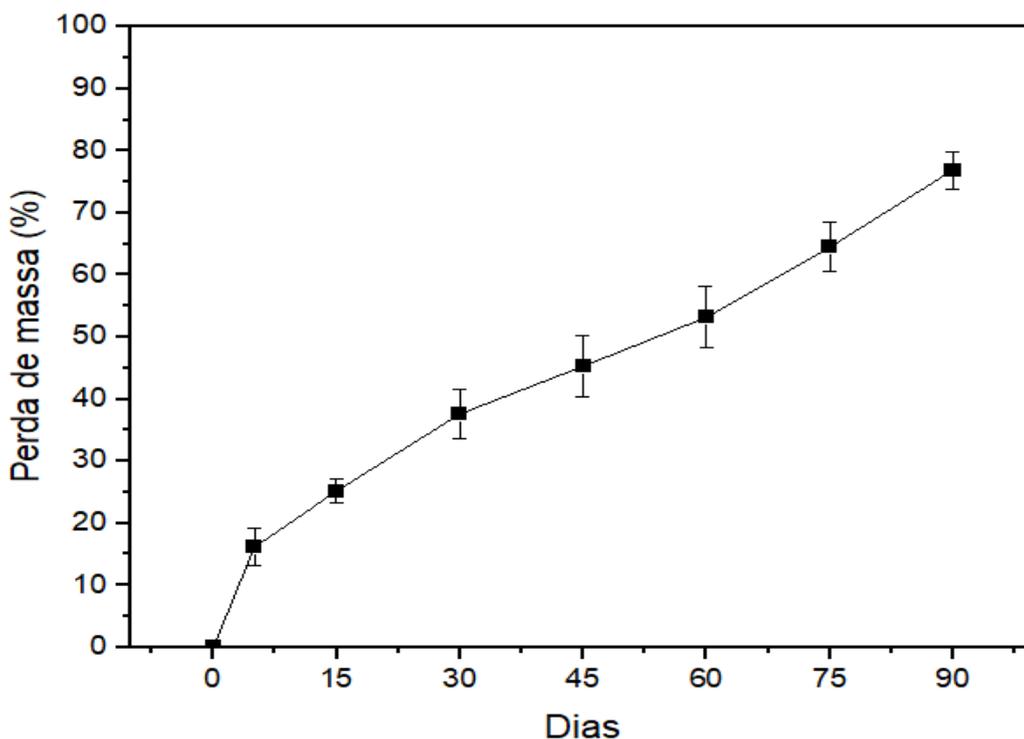
Tabela 16 - Porcentagem de peso por dia e por blenda

	5 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Blenda -0	15,2 \pm 5,2%	24,2 \pm 6,7%	33,5 \pm 7,3%	42,1 \pm 6,9%	54,6 \pm 5,9%	66,3 \pm 8,0%	85,1 \pm 5,1%
Blenda-BR	16,1 \pm 3,1%	25,2 \pm 2,1%	37,6 \pm 4,2%	45,3 \pm 5,5%	53,2 \pm 5,2%	64,5 \pm 4,1%	76,9 \pm 3,0%
Blenda-AR	17,2 \pm 4,3%	27,5 \pm 3,0%	38,9 \pm 1,8%	45,8 \pm 4,4%	54,6 \pm 1,8%	64,7 \pm 3,2%	81,6 \pm 4,4%
Valor <i>p</i>	0,12	0,08	0,09	0,10	0,15	0,12	0,01

Tabela com os valores de perda de massa por dia, estratificados por blenda. Observa-se variações na perda de massa e desvio padrão pelo tipo de blenda. Fonte: Autor

A degradação com perda de massa da Blenda-BR, está representada na Figura 52.

Figura 52 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-BR, no ensaio de degradação

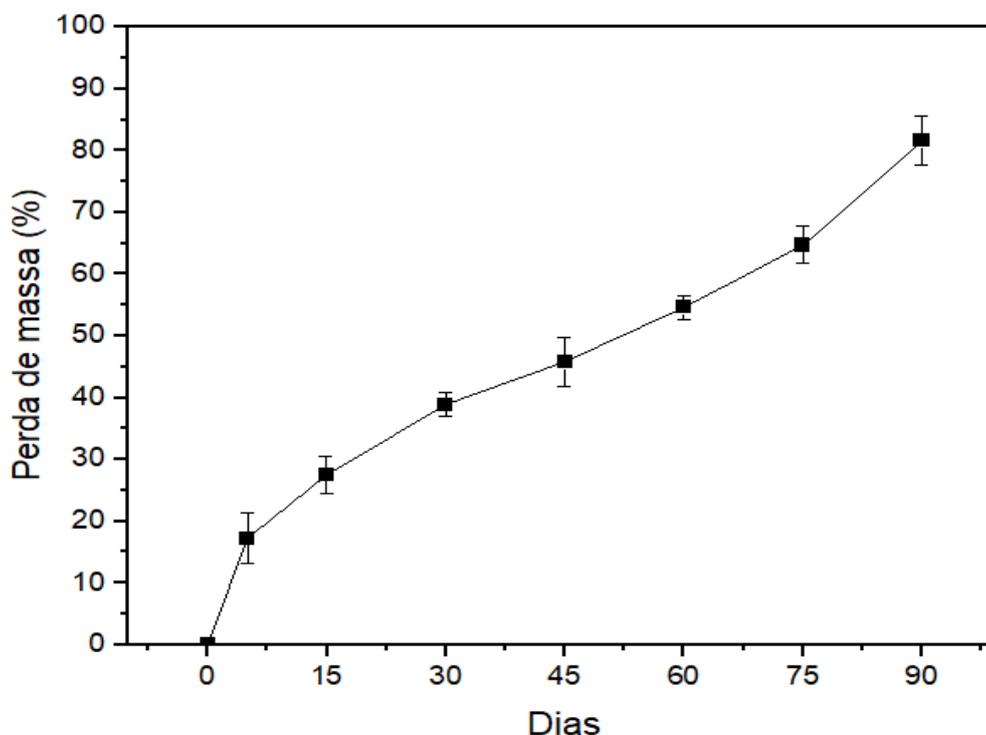


Perda de massa da Blenda-BR, por dia, em PBS. Linha: corresponde a perda percentual de massa. Barra vertical: desvio padrão. Observa-se o aumento da perda de massa maior de 0 a 30 dias, com estabilização após 45 dias.

Fonte: do autor.

A Blenda-BR apresentou perda e 16,1 ($\pm 3,1$) no 5º dia, 25,2% ($\pm 2,1$) no 15º dia, 37,6% ($\pm 4,2$) no 30º dia, 45,3% ($\pm 5,5$) no 45º dia, 53,2% ($\pm 5,2$) no 60º dia, 64,5% ($\pm 4,1$) 75º dias, e 76,9% ($\pm 3,0$) no 90º dia. A perda de massa total da Blenda-0, ao final de 90 dias, foi de 76,9% ($\pm 3,0$) (Tabela 16). A degradação com perda de massa da Blenda-AR, está representada na Figura 53.

Figura 53 - Porcentagem de perda de massa em solução tampão fosfato da Blenda-AR, no ensaio de degradação



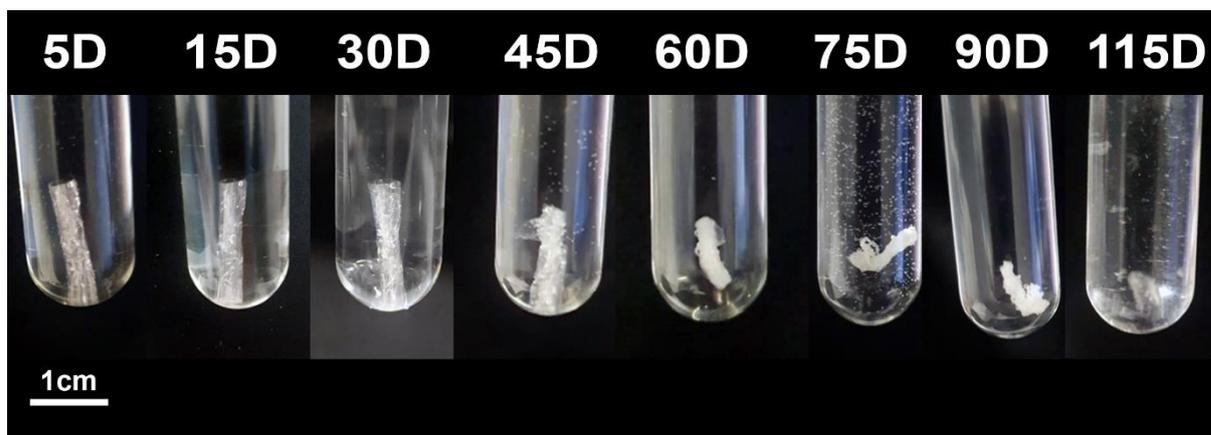
Perda de massa da Blenda-AR, por dia, em PBS. Linha: corresponde a perda percentual de massa. Barra vertical: desvio padrão. Observa-se o aumento da perda de massa maior de 0 a 30 dias, com estabilização após 45 dias e novo aumento de 75 a 90.

Fonte: do autor.

A Blenda-AR apresentou perda de 17,3 (±4,3) no 5º dia, 27,5% (±3,0) no 15º dia, 38,9% (±1,8) no 30º dia, 45,8% (±4,4) no 45º dia, 54,6% (±1,8) no 60º dia, 64,7% (±3,2) 75º dias, e 81,6% (±4,4) no 90º dia. A perda de massa total da Blenda-AR ao final de 90 dias foi de 81,6% (±4,4) (Tabela 16).

Os resultados dos dias 5, 15, 30, 45, 60, e 75 de degradação das amostras, quando comparados em triplicata pelo método de variância ANOVA não apresentaram significância estatística com $p > 0,05$. No intervalo de 90 dias, quando comparado em triplicata pelo método ANOVA, apresentou significância estatística com $P < 0,05$. Precebeu-se que houve alteração na degradação das blendas relacionado à incorporação de fármaco, somente no último intervalo de 75 a 90 dias, onde a blenda já está em estado avançado de degradação com aproximadamente 85% da sua massa degradada. Todas as blendas estavam totalmente decompostas impedido a pesagem em 115 dias (Figura 54).

Figura 54 – Foto da degradação da blenda-0 por dia.



Legenda: foto da blenda degradando em PBS nos intervalos de dia. Câmera Canon EOS M200 com lente EF-M 15-45 mm.

Fonte: do autor.

3.2 Caracterizações Químicas

3.2.1 Fluorescência de Raios-X (FRX)

Devido às características químicas e moleculares do colágeno, PLGA e AR, o ensaio foi realizado somente na matriz de Brimonidina e Blenda-BR, de para verificar a presença de Bromo (Br).

O ensaio na matriz de Brimonidina e da Blenda-BR identificaram os seguintes elementos químicos conforme Tabela 17.

Tabela 17 – Elementos quimicos da matriz de Bromo e Blenda-BR

	Br	Na	CL	Ca	S	Fe	Nb	Cu	K	Ti
Matriz BR	65,23% (±0,06)	18% (±0,18)	15,32% (±0,01)	0,99% (±0,01)	0,24% (±0,01)	0,11% (±0,01)	0,07% (±0,01)	0,04% (±0,01)	-	-
Blenda- BR	51,42% (±0,06)	23,30% (±0,18)	16,18% (±0,01)	1,42% (±0,01)	0,32% (±0,01)	0,24% (±0,01)	0,07% (±0,01)	-	0,99% (±0,01)	0,06% (±0,01)

Legenda: Br (Bromo), Na (Sódio), Cl (Cloro), Ca (Cálcio), S (Enxofre), Fe (Ferro), Nb (Nióbio), Cu (Cobre), K (Potássio), Ti (Titânio). Tabela com resultados em porcentagem e desvio padrão dos elementos químicos.

Fonte: do autor.

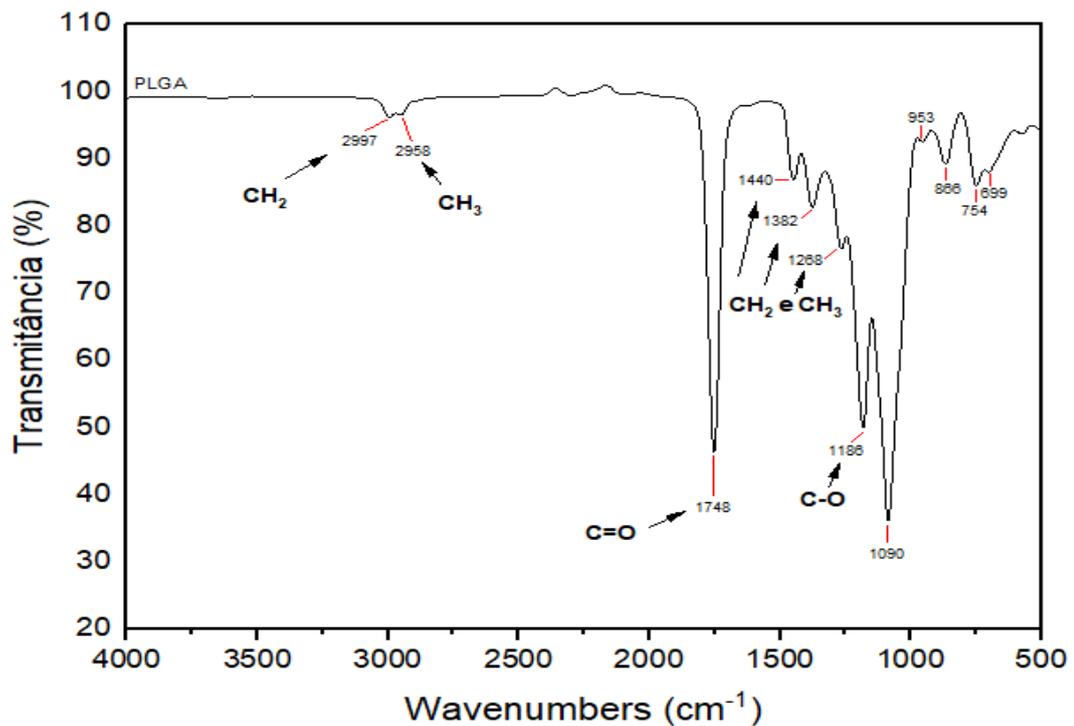
Obsevou-se a presença de Bromo na amostra de blenda-BR. Segundo Barbosa (2008), além da composição química, as ligações químicas podem sofrer alterações

em decorrência de temperatura ou de uma solubilização muito ácida ou muito básica. Para tal, foi realizado FTIR.

3.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Com o objetivo de confirmar ou descartar uma possível interação entre os polímeros e as drogas, foi realizado o ensaio de FTIR. Para identificação das bandas características do PLGA, o espectro no FTIR foi obtido a partir da amostra da matriz de PLGA (Figura 55).

Figura 55 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de PLGA

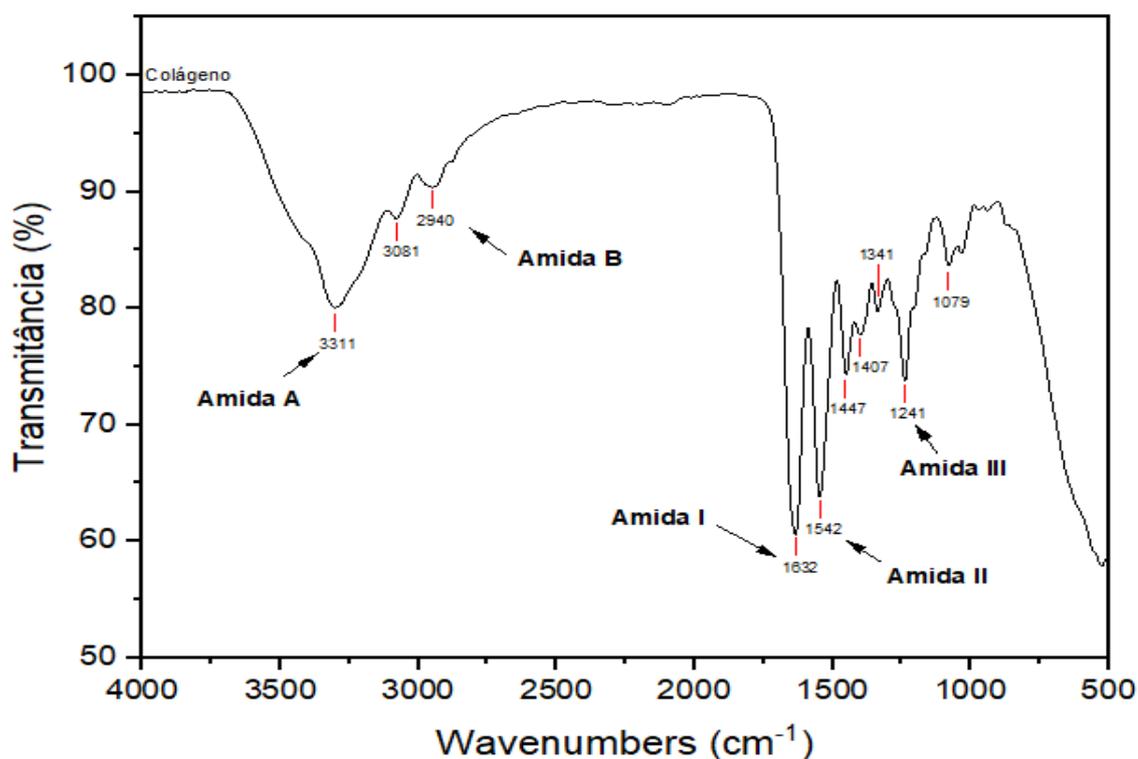


Na espectroscopia observa-se a presença de grupos metila, carbonila, presença de deformação dos grupos metila, e estiramento do grupo C-O.
Fonte: do autor.

No espectro do PLGA, observaram-se bandas na região entre 3000 e 2900 cm⁻¹ característica de estiramento dos grupos metila (CH, CH₂, CH₃), entre 1740 e 1750 cm⁻¹, estiramento da carbonila (C=O), entre 1250 e 1500 cm⁻¹ características da

deformação dos grupos (CH_2 e CH_3), entre 1150 e 1300 cm^{-1} características do estiramento referentes ao grupo (C-O). Não houve presença de estiramento do grupo hidroxila (O-H). Para identificação das bandas características do colágeno, o espectro no FTIR foi obtido a partir da amostra da matriz de colágeno (Figura 56).

Figura 56 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de colágeno tipo I



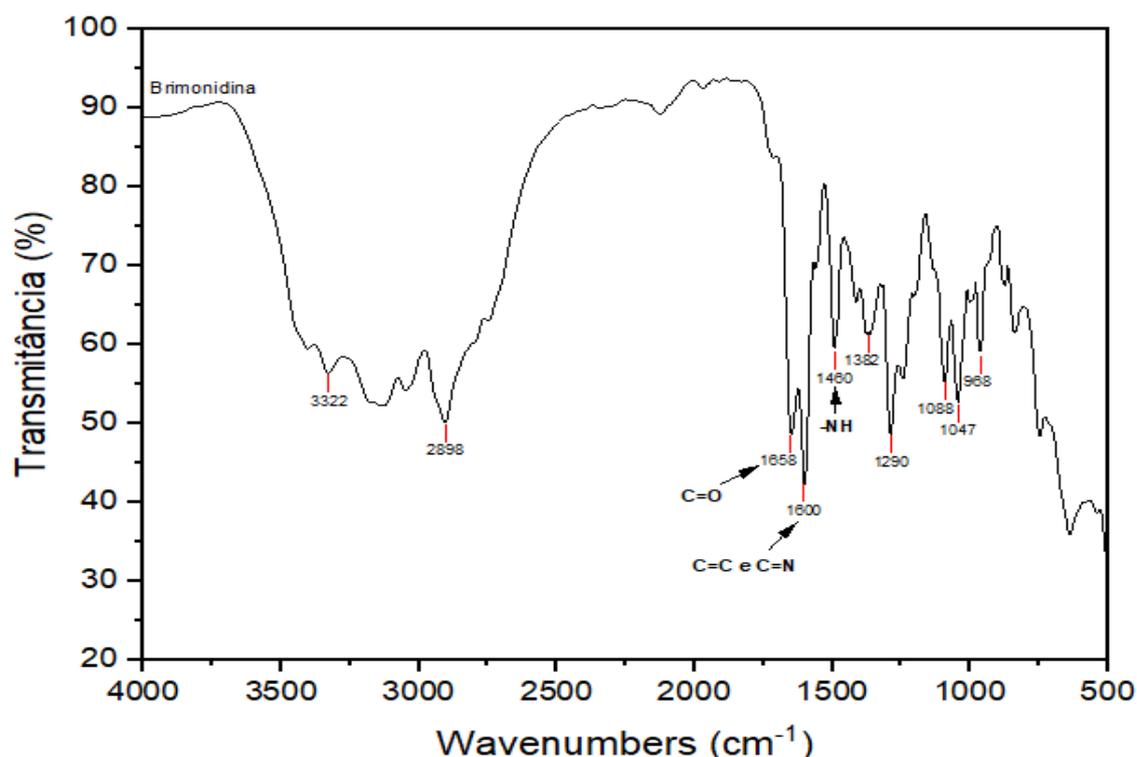
Espectroscopia do colágeno observa-se a presença dos grupos Amida A, Amida B, Amida I, Amida II e Amida III.

Fonte: do autor.

A análise do FTIR do colágeno revelou que o seu espectro possui cinco bandas principais na região de infravermelho: banda amida A (3311 cm^{-1}), amida B (2940 cm^{-1}), amida I (1632 cm^{-1}), amida II (1542 cm^{-1}), amida III (1241 cm^{-1}). Também foram identificadas bandas de amida II (3081 cm^{-1}), deformação assimétrica dos grupos metila CH_2 e CH_3 (1447 cm^{-1}), grupos carboxila dissociados $-\text{COO}^-$ (1407 cm^{-1}), estiramento de $-\text{C-H}$ e $-\text{N-H}$ no plano (1341 cm^{-1}), deformação de N-H (1079 cm^{-1}), e larga banda entre 3600 e 3200 cm^{-1} , correspondente aos grupos hidroxila (O-H). Para

identificação das bandas características da Brimonidina, o espectro no FTIR foi obtido a partir da amostra da matriz de Brimonidina (Figura 57).

Figura 57 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de Brimonidina

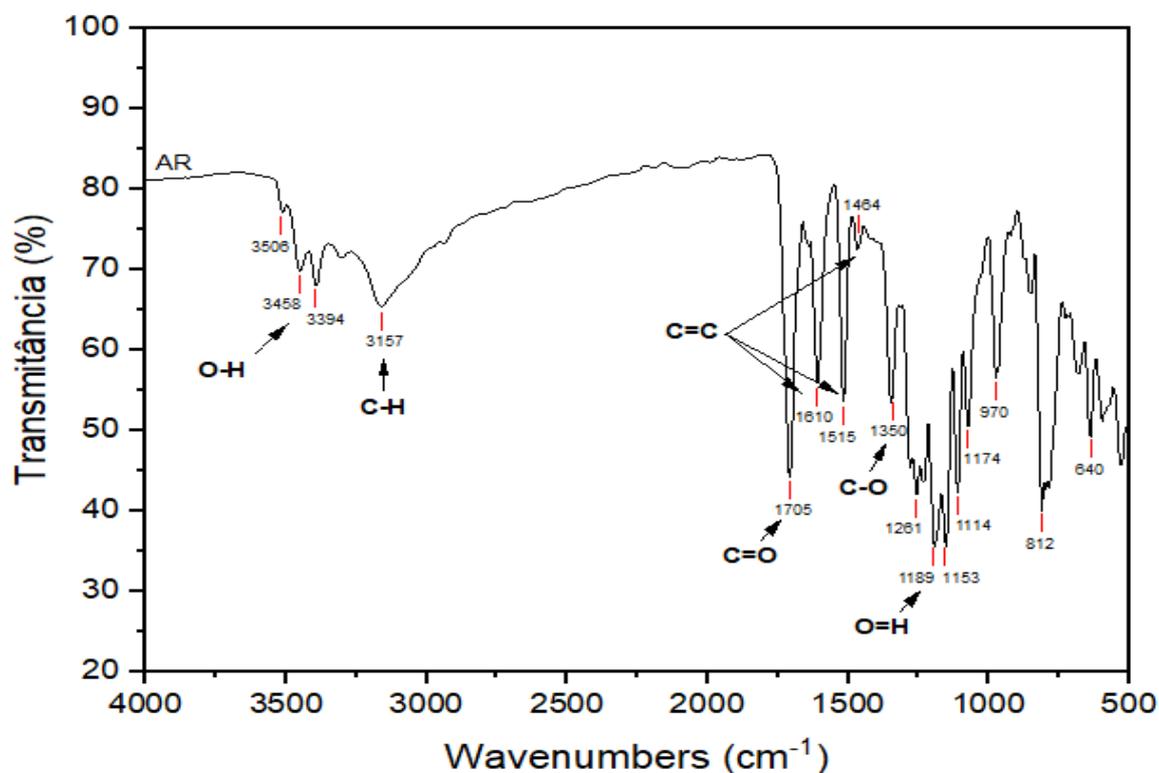


Espectroscopia da Brimonidina observa-se a presença dos grupos C=O, C=C e C=N e -NH, característicos da Brimonidina.

Fonte: do autor.

O espectro da matriz de Brimonidina identificou bandas no comprimento de onda de 1658 cm^{-1} característica do alongamento do grupo carbonila C=O, em 1600 cm^{-1} característica de alongamento vibracional dos grupos C=C e C=N, e em 1460 cm^{-1} correspondente à deformação angular -NH. Também foram identificadas as bandas 3322 cm^{-1} correspondente ao grupo O-H, em 2898 cm^{-1} correspondente ao grupo C-H, em 1382 cm^{-1} correspondente à função alquila, em 1290 cm^{-1} correspondente à função éter, e em 1047 cm^{-1} correspondente ao álcool primário. Para identificação das bandas características do AR, o espectro no FTIR foi obtido a partir da amostra da matriz de AR (Figura 58).

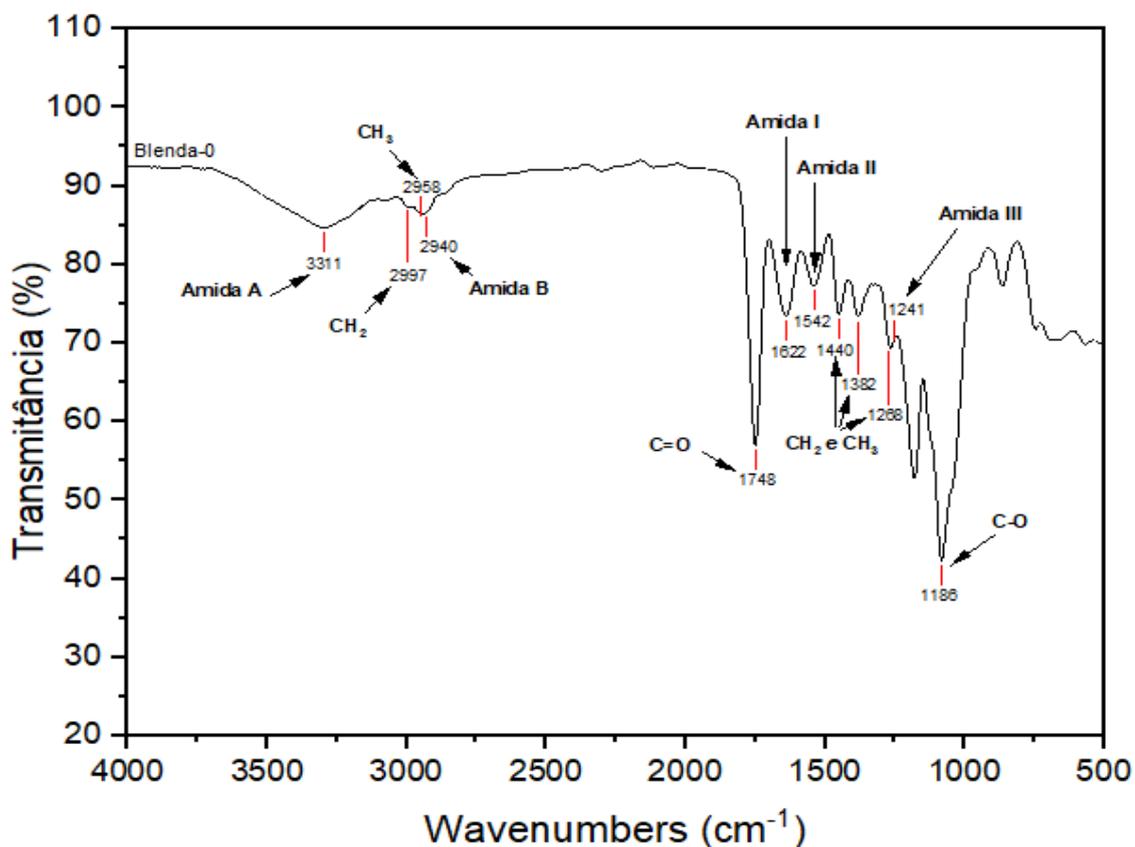
Figura 58 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da matriz de Ácido Rosmarínico



Na espectroscopia do Ácido Rosmarínico, observa-se a presença dos grupos O-H, C-H, C=C, C=O, C-O, característicos do Ácido Rosmarínico
Fonte: do autor.

O espectro da matriz de AR identificou bandas no comprimento de onda de 3157 cm⁻¹, característica do estiramento das ligações (C-H) aromáticas e das bandas das ligações carboxílica e fenólicas (O-H), em 1705 cm⁻¹ correspondente aos grupos carbonílicos (C=O), em 1610, 1515 e 1464 cm⁻¹ correspondente ao estiramento dos anéis aromáticos (C=C), em 1172 a 1350 cm⁻¹ bandas típicas de grupos fenólicos resultantes dos estiramentos de (C-O) e (O=H). Para verificar as bandas características da Blenda-0, o espectro no FTIR foi obtido (Figura 59).

Figura 59 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0

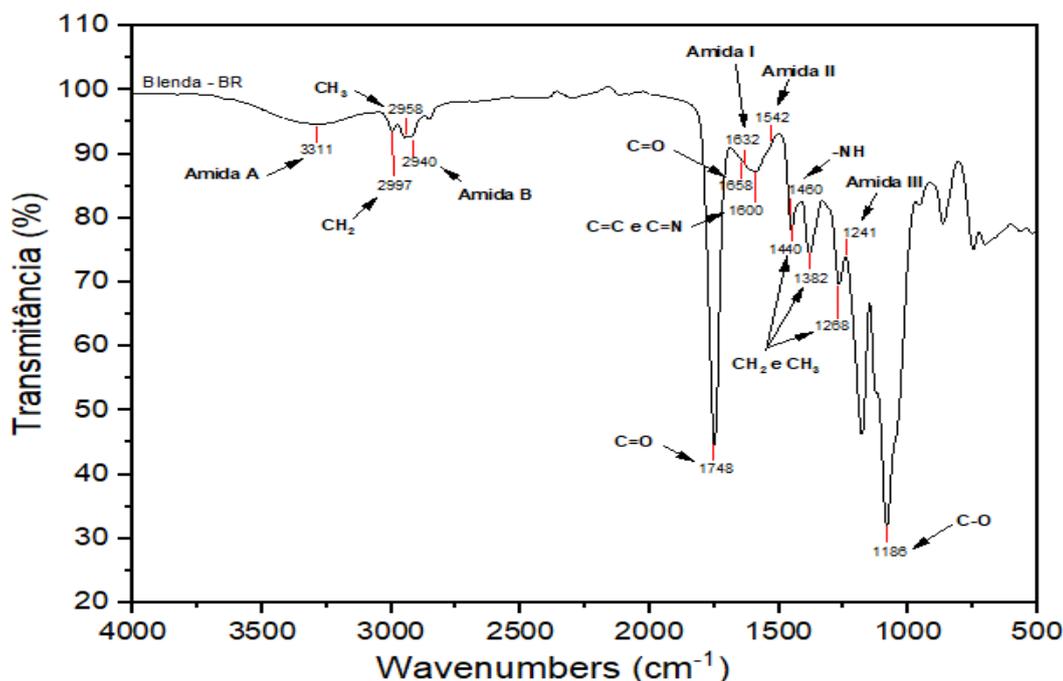


Espectroscopia da Blenda-0, observa-se a presença das ligações químicas dos grupos metila, carbonila, C-O, e de amidas.

Fonte: do autor.

No espectro da Blenda-0, identificou-se banda em 3311 cm^{-1} correspondente à Amida A, em 2997 cm^{-1} e 2958 cm^{-1} há estiramento dos grupos metila (CH , CH_2 , CH_3). Observou-se em 2940 cm^{-1} espectro compatível com Amida B, em 1748 cm^{-1} estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$). Em 1622 e 1542 cm^{-1} , espectro correspondente a Amida I e a Amida II respectivamente. Entre 1250 e 1500 cm^{-1} , espectro com características da deformação dos grupos (CH_2 e CH_3). Em 1241 cm^{-1} observou-se espectro característico da Amida III. Entre 1150 e 1300 cm^{-1} , espectro com características do estiramento referentes ao grupo ($\text{C}-\text{O}$). Observou-se, também, atenuada banda entre 3600 e 3200 cm^{-1} correspondente aos grupos hidroxila ($\text{O}-\text{H}$). Para verificar as bandas características da Blenda-BR, o espectro no FTIR foi obtido (Figura 60).

Figura 60 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR

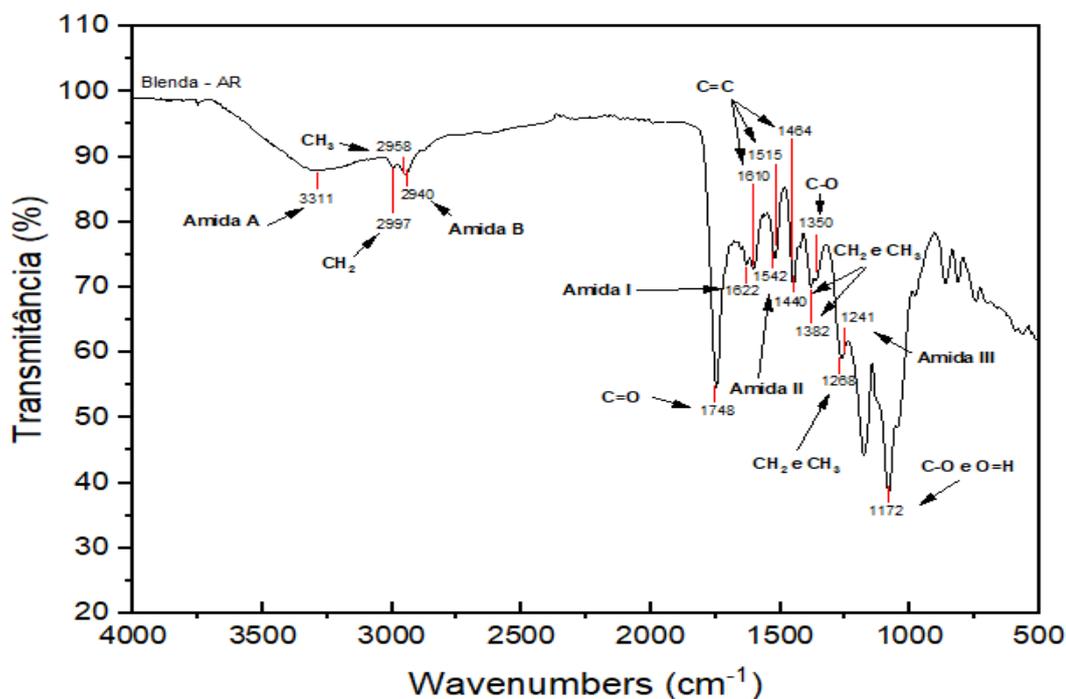


Na espectroscopia da Blenda-BR, observa-se a presença das ligações químicas da Blenda-0 associada à da matriz de Brimonidina.

Fonte: do autor.

No espectro da Blenda-BR, identificou-se banda em 3311 cm^{-1} correspondente a Amida A, em 2997 e 2958 cm^{-1} há estiramento dos grupos metila (CH , CH_2 , CH_3). Observou-se em 2940 cm^{-1} espectro compatível com Amida B, em 1748 cm^{-1} estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$). Em 1658 cm^{-1} , banda característica da Brimonidina correspondendo ao estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$). Em 1632 cm^{-1} e 1542 cm^{-1} , espectro correspondente a Amida I e Amida II respectivamente. Em 1600 cm^{-1} , banda característica de alongamento vibracional dos grupos $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$, e em 1460 cm^{-1} correspondente à deformação angular $-\text{NH}$. Entre 1250 e 1500 cm^{-1} espectro com características da deformação dos grupos (CH_2 e CH_3). Em 1241 cm^{-1} , observou-se espectro característico da Amida III. Entre 1150 e 1300 cm^{-1} espectro com características do estiramento referentes ao grupo ($\text{C}-\text{O}$). Observou-se, também, atenuada banda entre 3600 e 3200 cm^{-1} , correspondente aos grupos hidroxila ($\text{O}-\text{H}$). Para verificar as bandas características da Blenda-AR, o espectro no FTIR foi obtido (Figura 61).

Figura 61 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR



Na espectroscopia da Blenda-AR, observa-se a presença das ligações químicas da Blenda-0 associada à da matriz de AR.

Fonte: do autor.

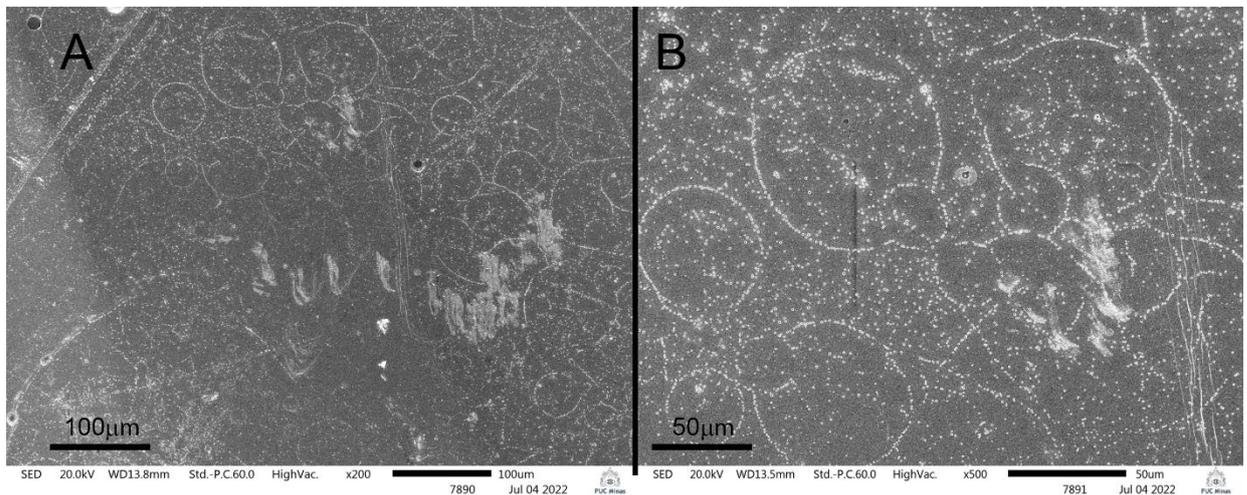
No espectro da Blenda-AR, identificou-se banda em 3311 cm^{-1} , correspondente à Amida A, e em 2997 e 2958 cm^{-1} correspondente ao estiramento dos grupos metila (CH , CH_2 , CH_3). Observou-se em 2940 cm^{-1} , espectro compatível com Amida B, em 1748 cm^{-1} estiramento da carbonila ($\text{C}=\text{O}$). Em 1622 e 1542 cm^{-1} , espectro correspondente à Amida I e a Amida II respectivamente. Em 1610 , 1515 e 1464 cm^{-1} , correspondente ao estiramento dos anéis aromáticos ($\text{C}=\text{C}$) do AR 1610 cm^{-1} . Entre 1250 e 1500 cm^{-1} , espectro com características da deformação dos grupos (CH_2 e CH_3). Em 1350 cm^{-1} , bandas típicas de grupos fenólicos resultantes dos estiramentos de ($\text{C}-\text{O}$) e ($\text{O}-\text{H}$). Em 1241 cm^{-1} observou-se espectro característico da Amida III. Entre 1150 e 1300 cm^{-1} espectro com características do estiramento referentes ao grupo ($\text{C}-\text{O}$ e $\text{O}=\text{H}$). Observou-se, também, atenuada banda entre 3600 e 3200 cm^{-1} , correspondente aos grupos hidroxila ($\text{O}-\text{H}$).

3.3 Caracterização Morfológica

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras de filme e de blenda foram avaliadas quanto à forma, à espessura, à fusão de camadas e à porosidade, utilizando os Microscópios Eletrônicos de Varredura (MEV) (Carl Zeiss Microscopy®, SIGMA VP®) acoplados à Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) (Bruker Nano GmbH®, XFlash 410-M®), e (JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300). Para verificar a morfologia do Filme-0, foi realizada MEV na ampliação de 200 e de 500 vezes (Figura 62).

Figura 62 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-0



(A) ampliação de 200x.

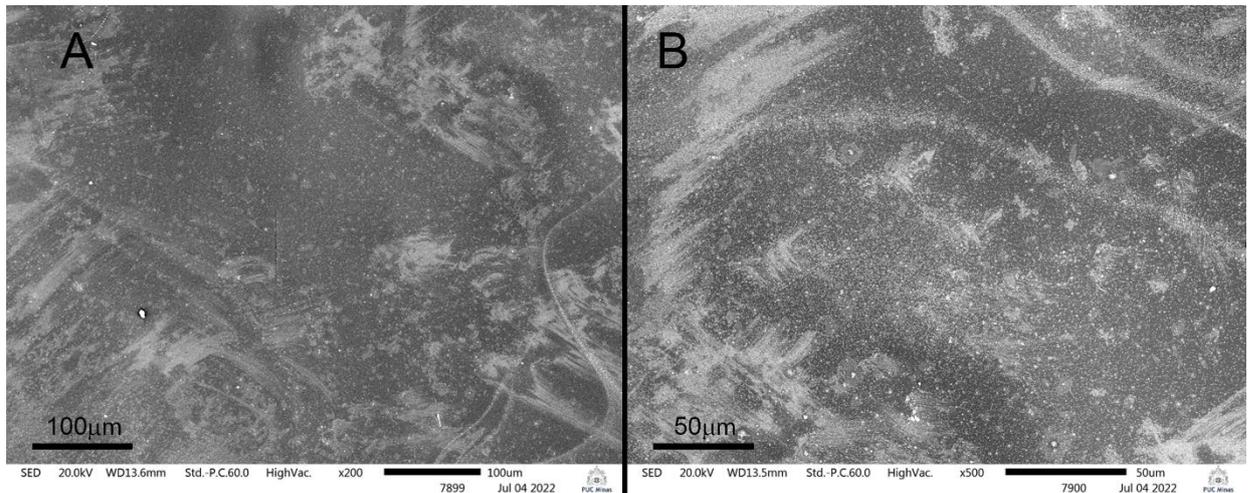
(B) ampliação de 500x.

Observa-se estrutura uniforme e organizada, sem evidências de camadas ou poros, sugestivamente fibras de colágeno. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300.

Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou uma superfície uniforme e organizada, sem evidências de camadas ou poros, não sendo possível também estabelecer a espessura. Observaram-se pontos de hiperrefletividade organizados em círculos. Para verificar a morfologia do Filme-BR, foi realizada MEV, na ampliação de 200 e de 500 vezes (Figura 63).

Figura 63 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-BR



(A): ampliação de 200x.

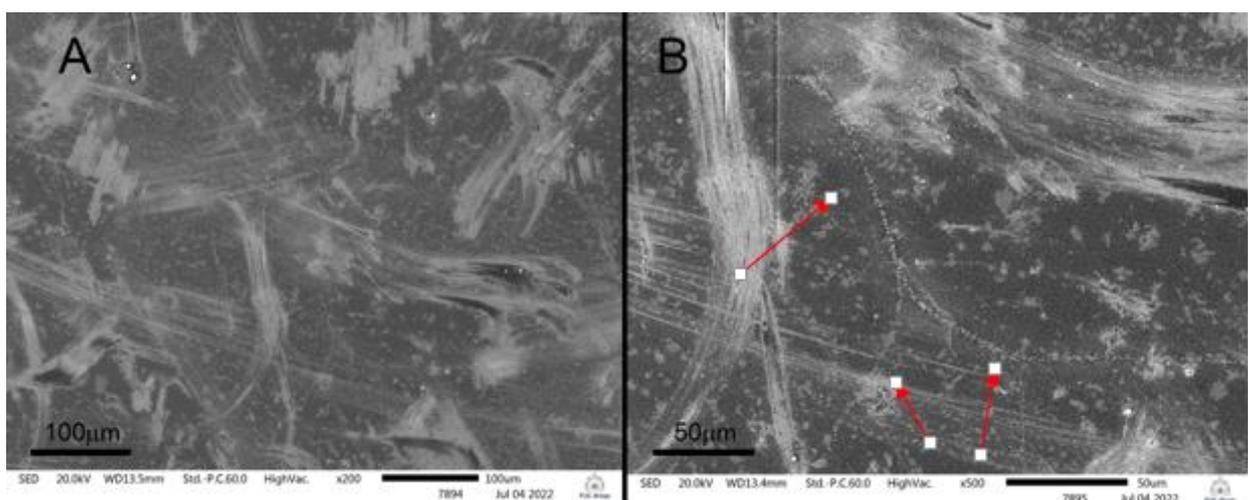
(B): ampliação de 500x.

Observa-se superfície heterogênea, sem evidências de camadas ou poros, sinais hiperrefletivos sugerindo formação de cristais. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300.

Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou uma superfície heterogênea, onde observa-se sinais de hiperrefletividade, compatíveis com a formação de cristais. Para verificar a morfologia do Filme-AR, foi realizada MEV, na ampliação de 200 e de 500 vezes (Figura 64).

Figura 64 - Microscopia eletrônica de varredura do Filme-AR



(A): ampliação de 200x.

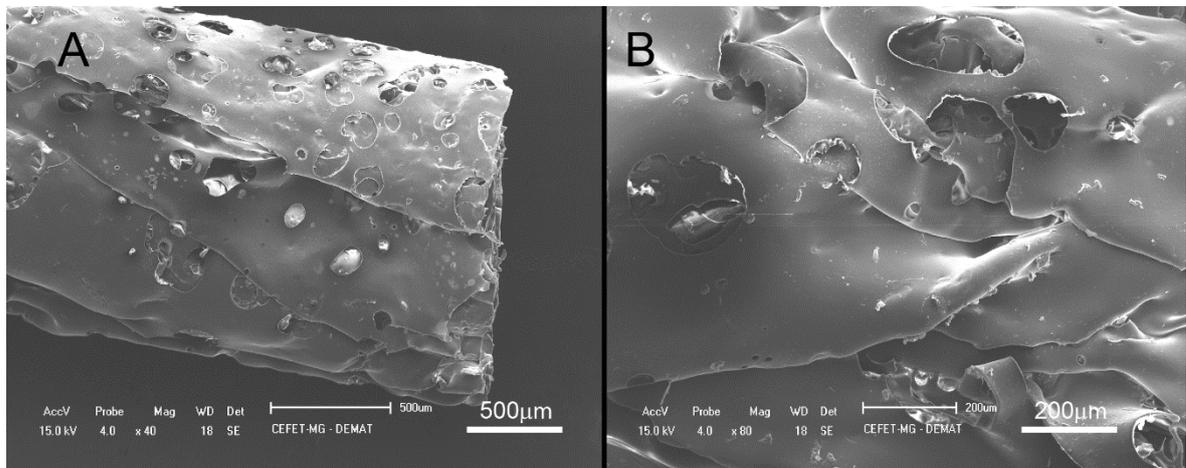
(B): ampliação de 500x.

Observa-se superfície heterogênea, sem evidência de camadas ou poros, sinais hiperrefletividade compatíveis com formação de cristais. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300.

Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou uma superfície heterogênea, sem evidências de camadas ou poros, não sendo possível estabelecer a espessura. Observaram-se sinais de hiperrefletividade esparsas, similares à formação de cristais. Na ampliação de 500 vezes, houve evidências de organização de fibras. Para verificar a morfologia da Blenda-0, foi realizada MEV, na ampliação de 40 e 80 vezes, em corte longitudinal, com EDS (Figura 65).

Figura 65 - Microscopia eletrônica de varredura logitudinal da Blenda-0 com EDS



(A): ampliação de 40x.

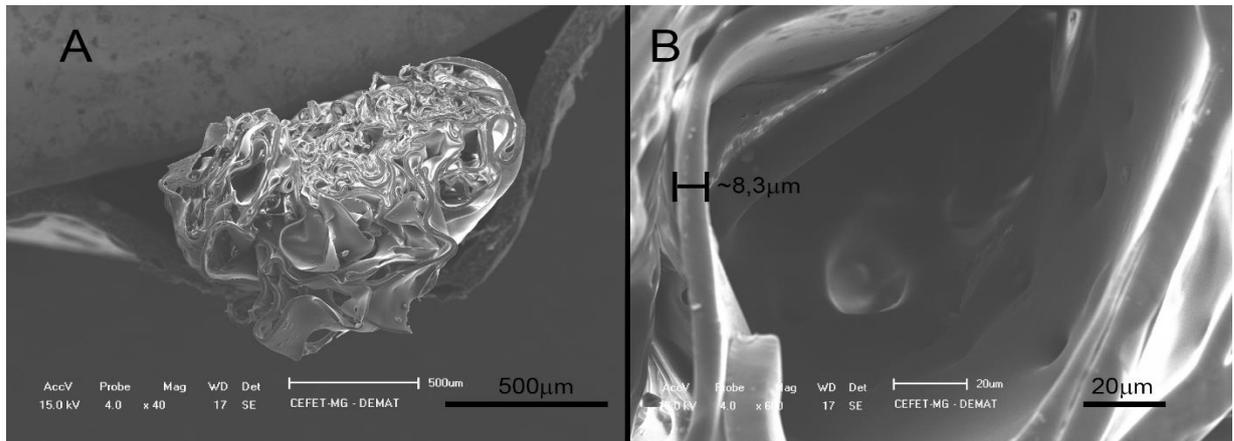
(B): ampliação de 80x.

Observam-se cavernas, e poros na estrutura da blenda e formação de camadas sobrepostas. Microscópio Carl Zeiss Microscopy®, com EDS, SIGMA VP®, acoplado à EDS Bruker Nano GmbH®, XFlash 410-M®.

Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou um material heterogêneo, com sobreposição de camadas, formação de poros com grande polimorfismo e polimegatismo, e cavernas intercomunicantes. Não foi observada fusão ou compactação de camadas. Ao EDS foi identificada e quantificada a composição química: Carbono (65,6%), Oxigênio (33,7%), Sódio (0,5%), e Potássio (0,2%). Para verificar a morfologia da Blenda-0, foi realizada MEV na ampliação de 40 e 80 vezes em corte transversal (Figura 66).

Figura 66 - Microscopia eletrônica de varredura transversal da Blenda-0

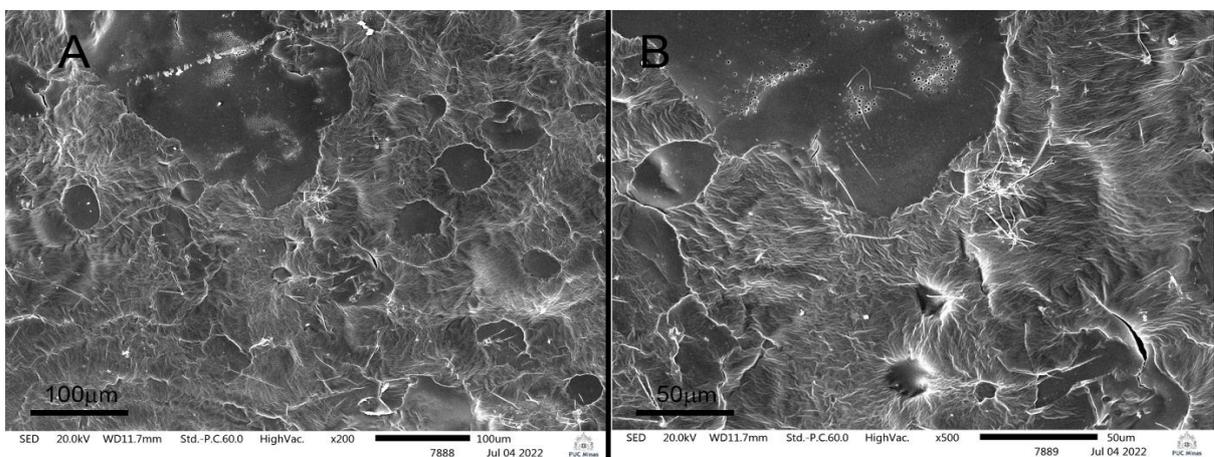


(A): ampliação de 40x. (B): ampliação de 600x.

Observa-se cavernas, e poros na estrutura da blenda e formação de camadas sobrepostas. Microscópio Carl Zeiss Microscopy®, com EDS, SIGMA VP®, acoplado à EDS Bruker Nano GmbH®, XFlash 410-M®. Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou um material heterogêneo, com evidências de sobreposição de camadas em formato cilíndrico (rocambole), formação e sobreposição de poros com grande polimorfismo e polimegatismo, cavernas intercomunicantes, e fusão discreta de camadas. A espessura média do filme foi de aproximadamente 8,3 micrômetros. Observa-se na Figura 67 a MEV da Blenda-0, em corte longitudinal, nas resoluções de 200 e 500 vezes.

Figura 67 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-0 corte longitudinal

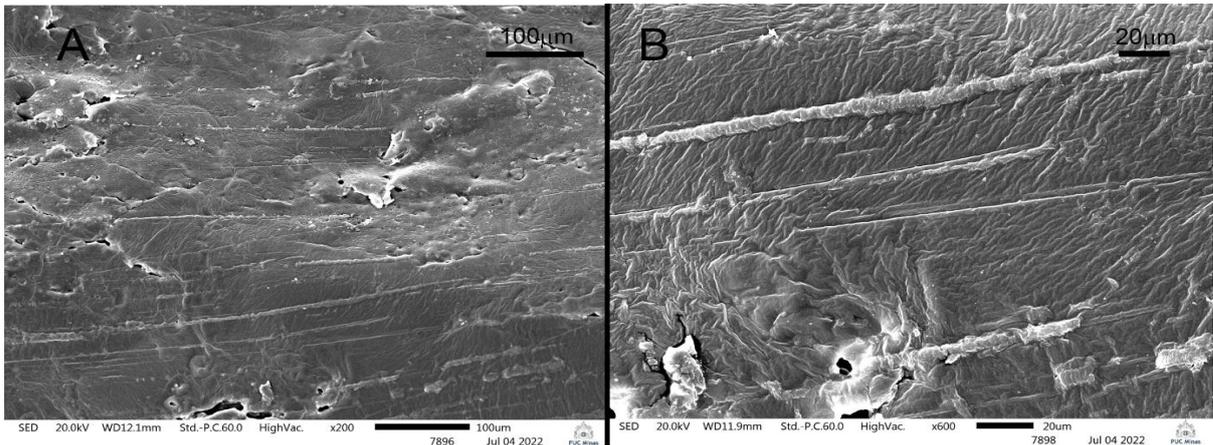


(A): ampliação de 200x. (B): ampliação de 500x.

Observa-se topografia heterogênea, com formação de poros e cavernas. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300. Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou um material de topografia heterogenea com poros e cavernas, sobre material mais homogêneo. Observa-se na Figura 68 a MEV da Blenda-BR, em corte longitudinal, nas resoluções de 200 e 500 vezes.

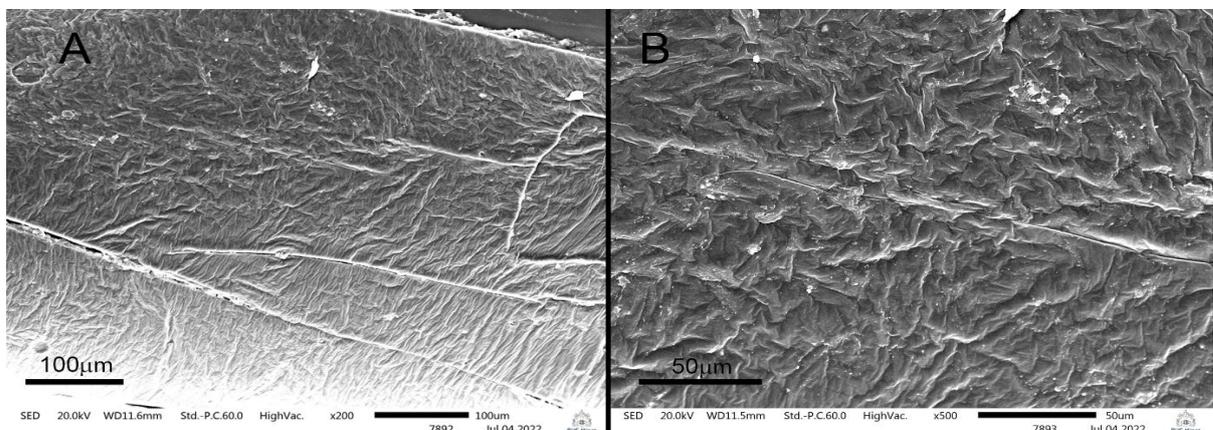
Figura 68 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-BR corte longitudinal



(A): ampliação de 200x. (B): ampliação de 500x. Observa-se topografia homogênea, sem evidências de poros ou cavernas. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300. Fonte: do autor.

A imagem da microscopia revelou um material de topografia heterogênea, sem evidências de poros ou cavernas. Observou-se organização da superfície, sugestiva de reticulação das fibras. Observa-se na Figura 69 a MEV da Blenda-AR, em corte longitudinal, nas resoluções de 200 e 500 vezes.

Figura 69 - Microscopia eletrônica de varredura da Blenda-AR corte longitudinal



(A): ampliação de 200x. (B): ampliação de 500x. Observa-se topografia homogênea, sem evidências de poros ou cavernas. Microscópio JEOL®, InTouchScope®, JSM-IT300. Fonte: do autor.

A imagem do MEV revelou um material homogêneo, sem evidências de cavernas ou poros. Observou-se organização da superfície, compatível com a reticulação das fibras. Os resultados dos ensaios foram concatenados na conclusão deste capítulo.

4. Discussão

4.1 Caracterizações físicas

4.1.1 Avaliação da molhabilidade

A molhabilidade é classificada em cinco níveis: 1) Superfície super-hidrofóbica, quando em contato com água apresenta ângulo maior que 140° ; 2) Hidrofóbica, quando em contato com água apresenta ângulo abaixo de 140° e acima de 90° ; 3) hidrofília intermediária, quando em contato com água apresenta ângulo abaixo de 90° e acima de 30° ; 4) Hidrofílica, quando em contato com água apresenta ângulo abaixo de 30° e diferente de 0° ; 5) Super-hidrofílica, quando em contato com água apresenta ângulo igual a 0° , ou impossível (Fonner et al. 2008; Lui et al, 2012) (Quadro 3).

Quadro 3 - Ângulo de contato da Blenda-0

Classificação da superfície pelo ângulo contato	
Ângulo de Contato ($^\circ$)	Superfície
= 0°	Super-hidrofílica
< 30°	Hidrofílica
30 - 90°	Intermediária
90 - 140°	Hidrofóbica
> 140°	Super-hidrofóbica

Da esquerda para a direita: ângulo de contato encontrado no ensaio de molhabilidade, (superfície) característica da superfície do objeto estudado.

Fonte: Adaptado de Fonner et al (2008)

Segundo Kalaskar et al (2008) e Silva (2008), de uma maneira geral, quando o ângulo de contato estiver acima de 90° ocorre a condição de não-molhabilidade ou

hidrofobia, quando estiver abaixo de 90° ocorre a condição de molhabilidade ou hidrofília.

Os polímeros sintéticos biodegradáveis, como o PLA e o PLGA, são naturalmente hidrofóbicos, inibindo a absorção de água e de fluidos (KHANG, 2012; ASTM, 2013). Em contrapartida, polímeros não sintéticos de origem animal são naturalmente hidrofílicos, como o colágeno. Compostos formados pela junção desses dois polímeros alteram molhabilidade do material, permitindo controlar sua hidrofília, o que conseqüentemente implicará na taxa de degradação. (BRODIE 2006; KHANG, 2012).

Esposito et al (2017), em seu trabalho, descreve resultados de molhabilidade do PLGA isolado variando de $92,9^\circ$ e $62,1^\circ$. Nos trabalhos de Burrows (2010) e Freitas (2020), o colágeno isolado apresentou ângulo de molhabilidade variando de 37° a 62° . Os trabalhos com compostos poliméricos de PLGA, sem colágeno, realizados por Marques (2015), Ferreira (2017) e De Maria (2017) apresentaram um ângulo de contato em torno de 77° a 81° . No trabalho de Curtts (2018) e Ferreira (2022), que estudaram o mesmo composto da blenda, sob a mesma técnica de molhabilidade, no mesmo equipamento, não foi possível determinar o ângulo de contato devido ao comportamento super-hidrofílico da blenda, que foi estimada ser menor que 5° .

A Blenda-0 apresentou um resultado de molhabilidade diferente dos resultados de Curtts (2018), porém, com resultados muito similares aos dos trabalhos de Marques (2015), Ferreira (2017) e De Maria (2017), confirmando a coerência do resultado encontrado. Em relação à Blenda-BR, na literatura, há escassez de informações sobre o ângulo de contato da Brimonidina, porém, a bula descreve uma taxa de solubilização em água de 1,5 mg/ml. Na Blenda-AR, o valor do ângulo de contato foi similar ao valor da Blenda-BR, resultado diferente, também, do resultado encontrado por Curtts (2018), em que não foi possível estabelecer o ângulo, devido à super-hidrofília. A diferença entre os resultados de Curtts (2018) e os resultados do presente trabalho devem-se, provavelmente, ao tipo de processamento e de conformação, onde, no trabalho de Curtts, havia uma mistura heterogênea do colágeno com o PLGA e no presente trabalho, o colágeno encontra-se entre camadas de PLGA. Segundo Kalaskar et al (2008) e Silva (2008), de uma maneira geral, quando o ângulo de contato estiver acima de 90° ocorre a condição de não-molhabilidade ou hidrofobia, quando estiver abaixo de 90° ocorre a condição de molhabilidade ou hidrofília. Dessa

maneira, podemos considerar as blendas de caráter hidrofílico, por apresentarem um ângulo menor que 90°.

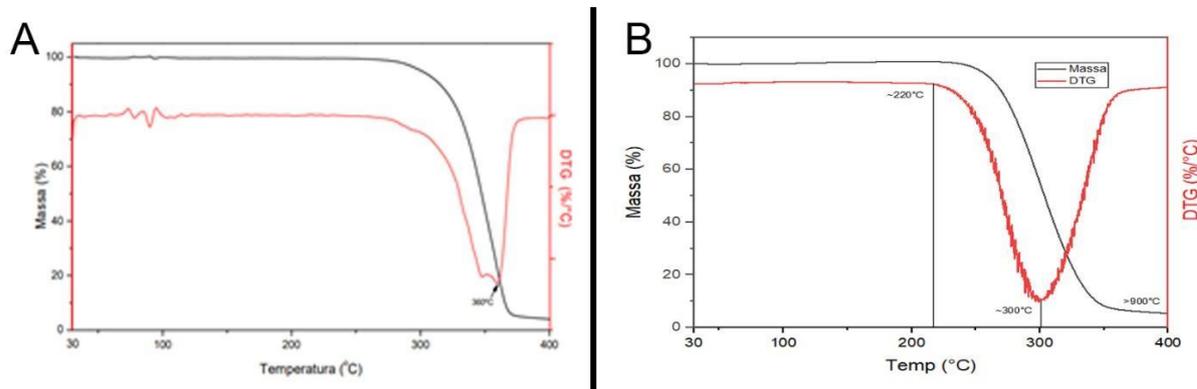
As comparações paramétricas entre os ângulos dos dois grupos, indicaram que não houve diferença estatística na hidrofília entre o grupo com incorporação de droga e o grupo sem drogas. A diferença entre os grupos, poderia ocorrer devido aos ácidos fenólicos presentes nas matrizes de Brimonidina e AR. Os ácidos fenólicos são de natureza hidrofílica, e podem aumentar a hidrofília do composto (RAMANAUSKIENE, RAUDONIS e MAJIENE, 2016). A hidrofília de um material está diretamente ligada à sua degradação por temperatura, materiais com hidrofília maior apresentam troca gasosa de umidade, o que lhes confere maior resistência (IONASHIRO, 2005).

4.1.2 Avaliação do perfil térmico

Os resultados da TG podem elucidar a determinação da pureza, níveis de umidade, composição do material, marcadores de presença de compostos químicos, volatilidade do material, cinética das reações e estabilidade térmica do material (OHLWEILER, 1978; BETTA et al, 2011). O presente trabalho, como descrito na metodologia, utiliza, no processamento e conformação, temperaturas que variam de 25 a 35°C. Para tal, é importante conhecer as propriedades termográficas das matérias primas e do composto, avaliando, se o processamento e a conformação proposta nesse trabalho podem degradar o produto, mudando suas características funcionais.

O resultado da TG do PLGA foi compatível com os resultados encontrados na literatura: Dias (2017) descreve um início de perda de massa a uma temperatura de 203°C com perda máxima em 314°C. Campos (2016) identifica degradação inicial aproximadamente a 302°C. Silva (2015) descreve degradação inicial, após perda e água do material, em 240°C com carbonização a 380°C. Curtts (2018), descreve uma perda inicial a 275°C com carbonização 360°C (Figura 70).

Figura 70 - Comparação entre termogravimetrias do PLGA



(A): termogravimetria do PLGA de Curtts (2018).

(B): termogravimetria do presente trabalho.

Fonte: A: Curtts (2018) B: do autor

Observou-se que no trabalho de Curtts houve uma variação de massa inicial até 100°C, ocorrida pela perda de umidade da amostra. No presente trabalho não se observou essa perda, pois o processamento e conformação tem como atividade final a secagem em estufa com circulação forçada, o que provavelmente retirou a umidade presente no material. O comportamento térmico do PLGA apresenta apenas um estágio de perda do material. O único estágio de perda de massa do PLGA é uma característica térmica que ocorre indiferentemente de suas proporções de ácido láctico e ácido glicólico, variando de 220 a 340°C, correspondente a degradação orgânica do PLGA (REZENDE e DUEK, 2003; VIEIRA, 2011; CURTTS, 2018). Os copolímeros PLGA 50/50, 70/25, 70/30, e 82/20 mostraram-se estáveis termicamente, até aproximadamente 240°C (ERBETTA et al, 2011). Os resultados termogravimétricos do PLGA evidenciam que não ocorre degradação nas temperaturas de processamento e conformação propostas no presente trabalho.

Em relação à TG do colágeno, os trabalhos de Moreira (2014), Souza (2015) e Curtts (2018) apresentaram resultados semelhantes, com três estágios de perda em temperaturas similares. A primeira perda, que ocorreu de 30 a 190°C, está relacionada à perda de 13% de água livre fisicamente adsorvida, que é evaporada de 25 a 120°C (FERNANDES et al, 2011; PEDROSO, 2009). A segunda perda de massa, ocorrida de 190 a 460°C, está relacionada à perda de água estrutural. A terceira perda de massa, ocorrida de 460 a 545°C, está relacionada à decomposição térmica estrutural do colágeno, e está relacionada à carbonização do colágeno. Após 620°C, a massa residual tem aumento discreto de massa que ocorre por meio da perda de CO₂ e

geração dos respectivos óxidos, resultado da carbonização do material (PEDROSO, 2009; CURTTS, 2018). A DTG mostrou que a perda de massa mais significativa ocorreu quando o colágeno foi submetido a temperatura acima de 460°C. Os resultados encontrados foram similares aos encontrados nos trabalhos de Pedroso (2009), Fernandes (2011) e Curtts (2018). Os resultados termogravimétricos do colágeno evidenciaram que não ocorreu degradação nas temperaturas de processamento e conformação propostas no presente trabalho.

Em relação à TG da Brimonidina, o primeiro episódio de degradação de 30 a 120°C ocorreu devido à perda de água livre. A segunda perda, de 120 a 220°C, ocorreu devido à mudança com perda de arranjo cristalográfico da amostra, liberando água estrutural, resultados compatíveis com os trabalhos de Toris et al (1999) e Souza (2015) (Figura 7). A terceira perda ocorreu de 220 a 360°C, correspondente à degradação do PLGA e à perda de água estrutural do colágeno, e a quarta degradação ocorreu de 360 a 515°C, correspondente à perda de água estrutural da Brimonidina, por mudança no arranjo cristalográfico. A quinta perda, ocorrida de 515 a 675°C, está associada a degradação do Bromo (ZHAO et al, 2022). Esses resultados foram compatíveis com os resultados de Zhao et al (2022), onde descrevem perdas significativas entre 260 a 555°C. Os resultados termogravimétricos da Brimonidina evidenciaram que não ocorre degradação nas temperaturas de processamento e conformação, propostas no presente trabalho.

O resultado da TG para o AR mostrou que há uma perda de massa, de 30 a 180°C, que está associada à perda de água livre. As perdas de massa significativas ocorrem partir de 180 a 405°C, ligadas a um pico de fusão do AR com perda da água estrutural. A degradação térmica do fármaco ocorre de 405 a 645°C, e em 645°C, ocorre carbonização total do material, sem resíduos. Resultados compatíveis com os resultados de Vieira (2011) e Curtts (2018). As quatro matérias primas: PLGA, colágeno, Brimonidina, e AR não apresentam sinais de degradação até 55°C o que permite o método de processamento e modelagem que ocorre em uma faixa de 25° a 40°C, em que não existe nenhum sinal de degradação, exceto perda de água livre (umidade).

Em relação ao Filme-0, observou-se uma perda inicial até de 30 a 220°C, que se deu pela perda de umidade da amostra, com perda de água livre de característica idênticas à perda do colágeno, compatível com os trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018). Observou-se uma perda da massa de 220 a 495°C, similares à identidade

térmica do PLGA e do colágeno, compatíveis com degradação do PLGA e perda de água estrutural do colágeno, respectivamente. Na faixa de temperatura de 495 a 680°C, ocorreu perda de massa não presente na matriz de PLGA, porém presente na identidade térmica da matriz de colágeno a 545°C, correspondente a degradação térmica do colágeno. Observou-se a carbonização total de 680 a 720°C. Resultados compatíveis com o trabalho de Curtts (2018) (Figura 71).

Figura 71 - Derivadas PLGA, Colágeno e composto (Filme-0)

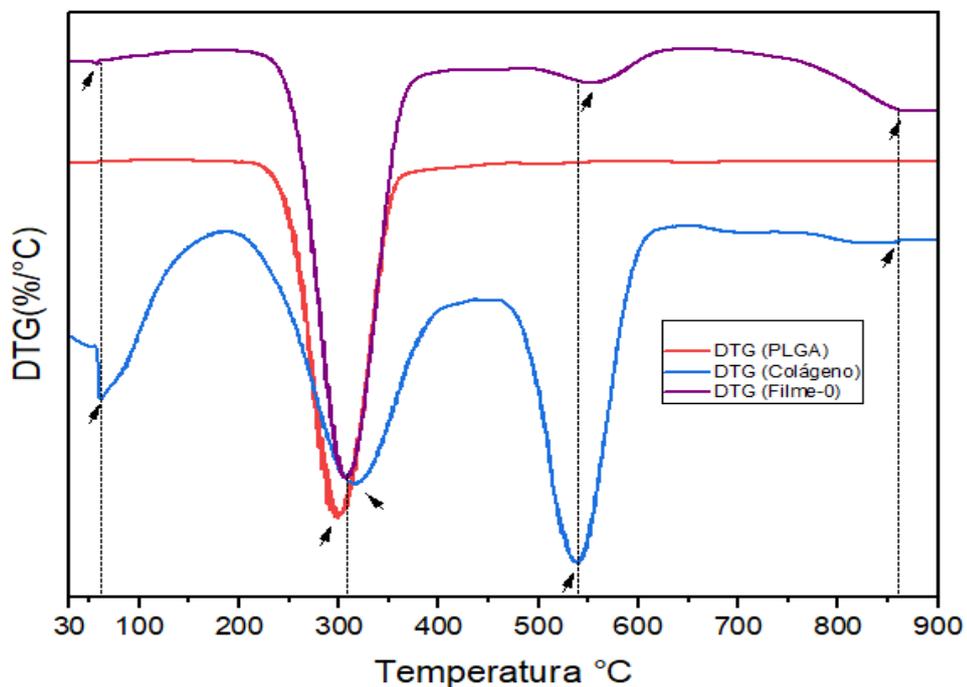


Imagem comparativa entre as derivadas do PLGA, Colágeno e do Filme-0. °C: grau Celsius. DTG: Derivada da Termogravimetria. %: percentual. Filme-0: filme sem incorporação de fármacos. PLGA: Poli (ácido lático-co-ácido glicólico). As setas mostram os marcadores térmicos do PLGA e Colágeno, presentes no Filme-0.

Fonte: Autor

Pode-se afirmar que o resultado da TG e DTG do Filme-0 representou a somatória das identidades termogravimétricas das matérias primas. Em relação ao Filme-BR, na faixa de temperatura de 30 a 205°C, observou-se uma perda de massa que ocorreu pela perda de umidade da amostra, com perda de água livre do colágeno e da Brimonidina. Observou-se identidade termogravimétrica idêntica à perda de água livre do colágeno, e também, idêntica à perda de água livre da Brimonidina, não evidenciada na amostra da matriz de PLGA. Observou-se uma perda da massa, de 205 a 350°C, similar a identidade térmica de degradação do PLGA, também, similar a

perda de água estrutural do colágeno e da Brimonidina. Há uma perda de 350 a 590°C não presente na matriz de PLGA, porém presente na matriz de colágeno correspondente a degradação térmica do colágeno. Na matriz de Brimonidina, há uma perda em 620°C, correspondente à degradação térmica do Bromo, corroborando com o aumento da faixa de perda e matrizes presentes no filme. Observou-se também o valor de carbonização da blenda acima de 900°C, condizentes com os valores de carbonização da matriz de Brimonidina (Figura 72).

Figura 72 - Derivadas PLGA, Colágeno e Brimonidina (Filme-BR)

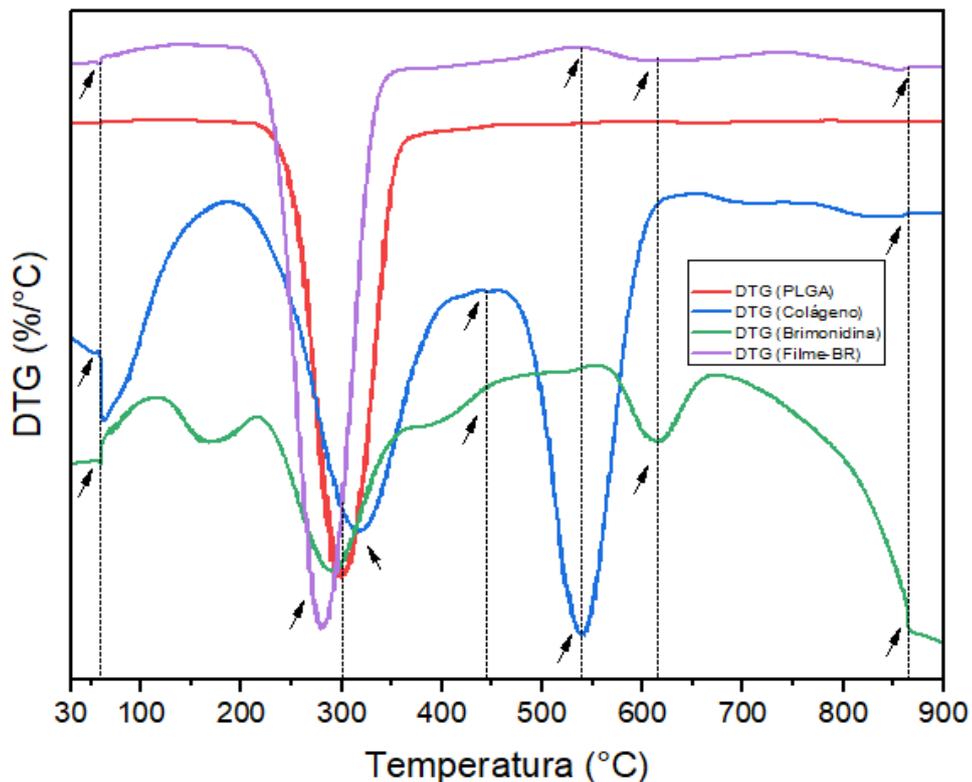


Imagem comparativa entre as derivadas do PLGA, Colágeno e do Filme-BR. °C: grau Celsius. DTG: Derivada da Termogravimetria. %: percentual. Filme-BR: filme com incorporação de Brimonidina. PLGA: Poli (ácido lático-co-ácido glicólico). As setas mostram os marcadores térmicos do PLGA e Colágeno, presentes no Filme-BR.
Fonte: Autor

O resultado da TG e da DTG do Filme-BR representa a somatória das identidades termogravimétricas das matérias primas. Observou-se que, na faixa próxima a 150°C e a 550°C, as características termogravimétricas das matrizes se anularam no filme. Entretanto, próximo a 300°C, as características somaram e as temperaturas de carbonização se igualaram próximas a 850°C. O Filme-BR

apresentou, também, perda de massa acentuada próximo a 300°C, mantendo-se estável até a carbonização, próximo a 850°C. Na literatura, há escassez de dados sobre a termogravimetria de filmes poliméricos de Brimonidina.

Em relação ao Filme-AR, na faixa de 30 a 130°C, pode-se observar que há uma perda de massa que ocorreu pela perda de água livre do colágeno e do AR, de identidade térmica similar à perda de umidade do colágeno e do AR, não evidenciada na amostra da matriz de PLGA. De 130 a 405°C, observou-se uma perda de massa compatível com a identidade térmica de degradação do PLGA, perda de água estrutural do colágeno e do AR. De 405 a 640°C, houve uma perda não presente na matriz de PLGA, porém presentes na matriz de colágeno e na matriz de AR, correspondente a degradação térmica dos dois materiais (Figura 73).

Figura 73 - Derivadas PLGA, Colágeno e Ácido Rosmarínico (Filme-AR)

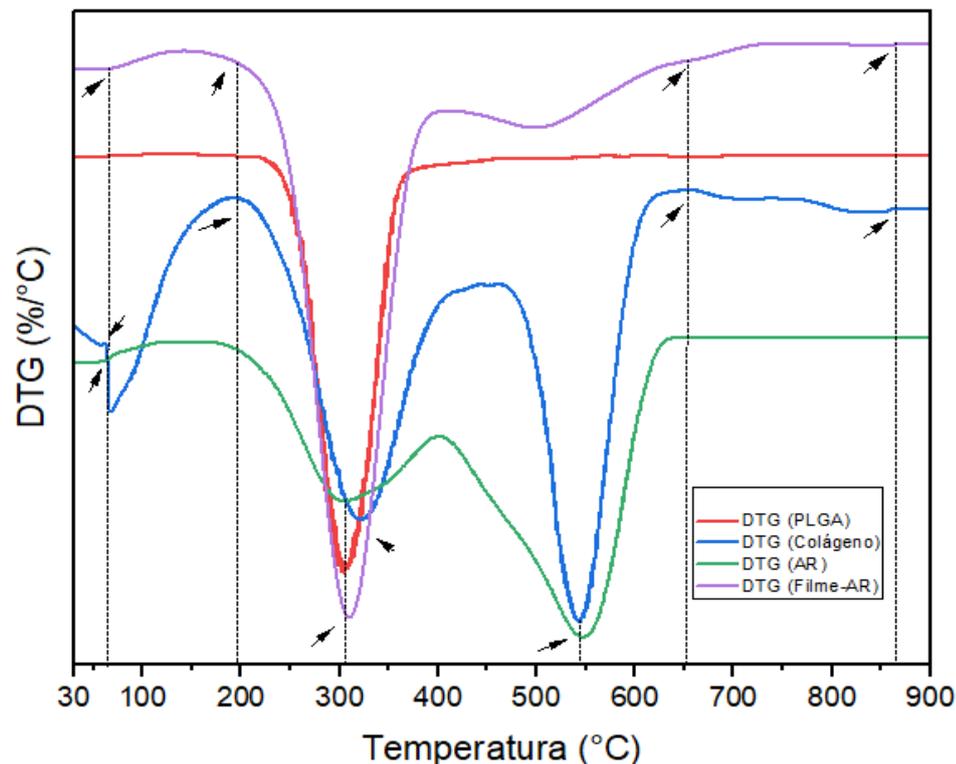


Imagem comparativa entre as derivadas do PLGA, Colágeno e do Filme-AR.
 °C: graus Celsius. DTG: Derivada da Termogravimetria. %: percentual. Filme-AR: filme com incorporação de Ácido Rosmarínico. PLGA: Poli (ácido lático-co-ácido glicólico)
 As setas mostram os marcadores térmicos do PLGA e Colágeno, presentes no Filme-AR.
 Fonte: Autor

Observou-se, também, uma perda de 640 a 740°C, correspondente à carbonização do AR. Após 740°C, observou-se um discreto aumento, que ocorre por

meio da perda de CO₂ e geração dos respectivos óxidos (PEDROSO, 2009; CURTTS, 2018). Os resultados foram similares ao trabalho de Curtts (2018), em que a maior degradação ocorreu de 350 a 550°C, representando 51% de perda da massa.

O resultado da TG e DTG do Filme-AR representou a somatória das identidades termogravimétricas das matérias primas. Observou-se que, na faixa entre 150 e 200°C, as características termogravimétricas das matrizes somaram-se e apareceram discretamente no filme. O mesmo aconteceu próximo a 300°C, onde, acentuadamente, a degradação amplificou e a temperatura de carbonização igualou-se próxima a 860°C. Pode-se dizer que, na faixa de 405 a 640°C, o Filme-AR apresentou perda de massa acentuada e manteve-se estável até a carbonização acima de 900°C. Os resultados encontrados foram similares aos encontrados nos trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018), com perda de umidade próximo a 130°C, perda de massa acentuada, de 350C a 560°C.

É importante ressaltar que os três filmes (Filme-0, Filme-BR e Filme-AR) não apresentam sinais de degradação até 55°C, o que permitiu que o método de conformação dos filmes em blendas pudesse ser realizado à 35°C, sem que ocorresse degradação do material, com exceção da perda de umidade.

Em relação à Blenda-0, observou-se perda de 30 a 220°C, que se deu pela perda de umidade da amostra. A perda de umidade, com perda de água livre do colágeno, ocorreu na blenda a uma temperatura maior que a do filme, provavelmente devido à forma cilíndrica e enrolada, que dificultou a perda de umidade das camadas mais profundas (Wang et al, 2016). Observou-se uma perda da massa de 220 a 455°C, similar à identidade térmica do Filme-0. Houve uma perda de 445 a 705°C semelhante à do filme-0. A perda pela carbonização do material iniciou-se em 705°C e finalizou em 860°C, onde, observou-se o atraso da carbonização do material, provavelmente também, devido à forma cilíndrica de camadas. Os resultados foram similares aos trabalhos de Vieira (2011) e Curtts (2018). O resultado termogravimétrico da Blenda-0 foi similar à identidade térmica do Filme-0, indicando que a conformação não alterou as propriedades termogravimétricas do conjugado.

Em relação à Blenda-BR, na faixa de 30 a 205°C, observou-se uma perda de massa que ocorreu devido à perda de umidade da amostra, com perda de água livre do colágeno e Brimonidina, similar à perda da termogravimétrica do Filme-BR. De 205 a 340°C, observou-se uma perda da massa similar à identidade térmica do Filme-BR, que corresponde à degradação do PLGA e à perda de água estrutural do colágeno.

De 340 a 500°C, observou-se uma perda mais significativa do que no Filme-BR semelhante à perda de água estrutural da Brimonidina. Essa perda provavelmente não foi evidente no filme, devido à estrutura plana que facilitou a perda de água estrutural. Já na blenda, dificultada pelas camadas, na faixa de 500 a 660°C, observou-se uma perda de massa compatível com a perda no Filme-BR, que ocorreu entre 350 a 590°C, correspondente à degradação do colágeno e do Bromo. A perda pela carbonização do material iniciou-se em 660°C e finalizou após 900°C, correspondente à carbonização da matriz de Brimonidina e ao Filme-BR. Observou-se o atraso da degradação do colágeno e do Bromo, provavelmente ocorrido pelo formato cilíndrico em camadas. Porém, não é possível afirmar isso, devido à possibilidade de o atraso ter ocorrido por variação analítica de compensação atmosférica. Os resultados foram similares à identidade térmica do Filme-BR, sugerindo que o formato cilíndrico e em camadas não diminuiu a resistência térmica do material. As referências literárias relacionadas a blendas poliméricas de Brimonidina são escassas.

Em relação ao filme AR, observou-se perda de 30 a 150°C que ocorreu pela perda de umidade da amostra, em decorrência da perda de água livre do colágeno e AR, similar à perda de massa do Filme-AR e aos trabalhos de Vieira (2011) e Curttts (2018). De 105 a 400°C, e de 400 a 635°C, observaram-se perda de massa similares à identidade térmica do Filme-AR, também similar ao trabalho de Curttts (2018). O evento de perda, de 635 a 750°C, deveu-se à carbonização completa do AR. Observou-se um residual de massa, devido à geração dos respectivos óxidos, resultado da carbonização do material (PEDROSO, 2009; VIEIRA, 2011; CURTTTS, 2018). O resultado foi similar à identidade térmica do Filme-AR, sugerindo que o formato cilíndrico e em camadas não diminuiu a resistência térmica do material.

O resultado, analisado à luz das informações gráficas, sugeriu que o formato cilíndrico em camadas conferiu ao material maior de resistência térmica em relação à degradação orgânica. Porém, não se pode afirmar que houve interferência do formato da blenda no comportamento térmico, pois podem ter ocorrido derivações nos marcadores durante a realização do teste. Segundo Ohlweiler (1978) e Ionashiro (2005), os valores termogravimétricos devem ser lidos como parâmetros aproximados, podendo haver deslocamentos nas temperaturas de perda devido troca gasosa durante a realização do teste. Nenhuma das blendas apresentaram degradação nas temperaturas de processamento e conformação do material, exceto por perda de

umidade. Observou-se que as blendas apresentaram caráter térmicos similares aos trabalhos Fialho e Cunha (2005), Vieira (2011), Dias (2016) e Curtts (2018).

4.1.3 Difractometria de Raios-x (DRX)

Os polímeros podem ser divididos em duas classes: 1) amorfos: que não possuem regiões cristalinas em sua estrutura; ou 2) cristalinos: que são, na verdade, semicristalinos, pois todos eles possuem uma quantidade amorfa em sua estrutura. A região amorfa de um polímero cristalino deve-se ao fato de sua natureza macromolecular possuir reticulações físicas entre as cadeias, conferindo característica amorfas (SPERLING, 2006). Polímeros com estruturas regulares são mais susceptíveis à cristalinidade. O aumento da quantidade de cristais pode ocorrer em detrimento de variações de processamento ou pós-tratamento de um material. O aumento da cristalinidade altera proporcionalmente suas propriedades como: resistência ao escoamento, dureza e elasticidade (CANEVAROLO JR, 2002).

Em relação ao difratograma do PLGA, foi encontrada uma natureza amorfa, onde foi identificado um pico a $22,30^\circ$, também identificado nos trabalhos de outros autores, que ocorrem devido à natureza cristalina do L-lactídeo presente no PLGA. A variação do pico correspondente ao L-lactídeo pode ocorrer em uma variação de até 7° , em decorrência do processo de fabricação e tratamentos térmicos do PLGA (PARK e KANG, 2013; ADHIKARI et al, 2014; CURTTS, 2018). Nos trabalhos de Ogawa (2004), Zhang et al (2005) observaram-se picos bem definidos de valor igual a 21° , em que se predomina a forma amorfa do material, sendo que as diferentes formulações do PLGA não alteram a natureza amorfa do material (ADHIKARI et al, 2014). Os resultados de DRX do PLGA foram similares aos trabalhos de outros autores, que também apresentaram estrutura semicristalina (SALIBA et al, 2008; ELSAID et al, 2012; KANGH et al, 2015; CAMPOS, 2016).

Para o resultado da matriz de colágeno, observaram-se picos cristalinos a partir de 30° , e uma natureza amorfa, com um halo que próximo de 15° seguindo até aproximadamente 50° , similar ao trabalho de Curtts (2018). Observaram-se dois picos, o primeiro em $11,41^\circ$ e o segundo em $22,14^\circ$, também evidenciado nos resultados do trabalho de Rolim (2013) e Curtts (2018). Segundo Allegretti (2009) o colágeno,

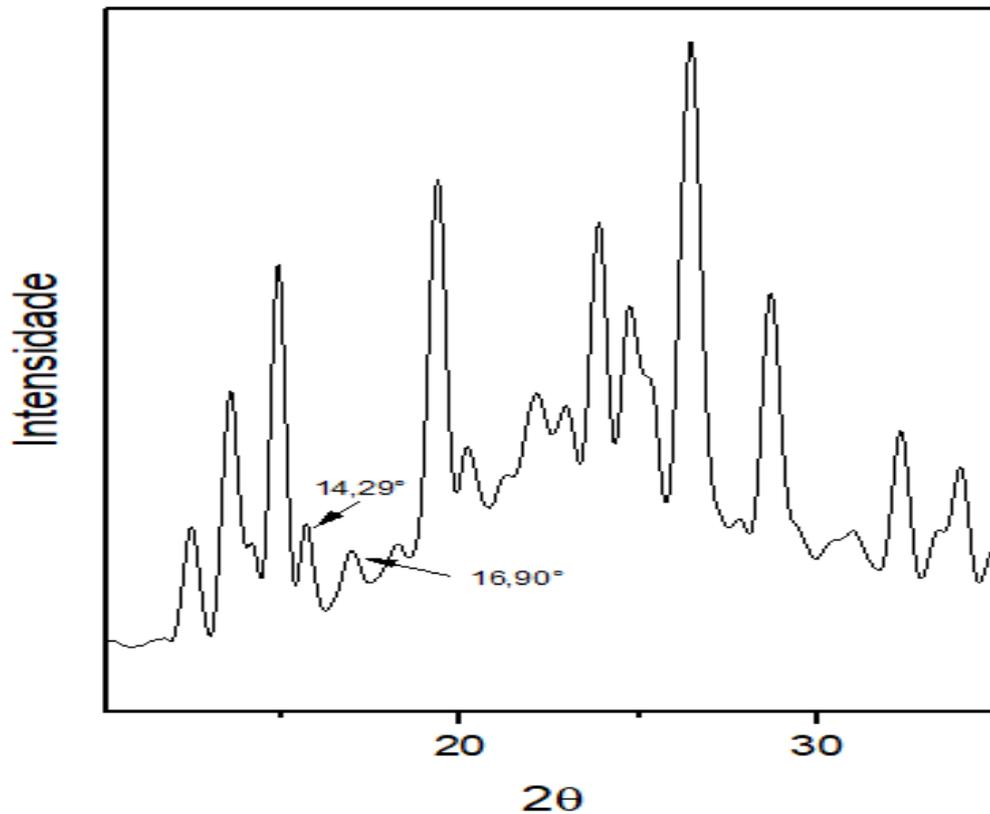
quando submetido a DRX, apresenta, em sua identidade difratométrica um halo largo em 2 Theta de 15 a 50°, com curva típica de material amorfo.

O resultado da matriz de Brimonidina apresentou uma natureza semicristalina, com uma região de halo amorfo entre 10° e 25°, com alguns picos semicristalinos nesse intervalo e índice de cristalinidade de 15%. A quinoxalina, um heterociclo formado pela fusão de dois anéis aromáticos (benzênico e pirazínico) também conhecida como benzopirazina, é um componente sintético utilizado para a composição de fármacos como Quinacilina, Vareniclina e a Brimonidina. A presença do heterociclo quinoxalina na Brimonidina está relacionada como um dos elementos chave na estrutura molecular. O DRX da quinoxalina apresenta maior pico em 2 theta próximo a 32°, compatível com o pico em 31,68° do DRX da Brimonidina do presente trabalho (FRANCO et al, 2018, IMANISHI et al, 2017; SCHUMAN, 2002). Apesar da literatura sobre difração da Brimonidina ser escassa, os resultados mostraram-se compatíveis com os achados da Quinoxalina.

Em relação ao DRX da matriz de AR, observou-se um material semicristalino com banda de amorfismo variando de 12° a 50°, com picos de cristalinidade em toda a extensão do ensaio de 10° a 90° e índice de cristalinidade de 19,2%. O resultado foi similar ao trabalho de Curtts (2018). Os autores não destacam graficamente os picos cristalinos e não abordam o grau de cristalinidade para comparação.

O trabalho de Barauskaite et al (2018) também apresentou um gráfico similar com um resultado semicristalino para o AR, com halo de amorfismo entre 10° e 50°, sendo os resultados similares aos do presente trabalho. Os picos de 14,29° e 16,90°, citados em Curtts (2018) e Barauskaite (2018), também foram encontrados no presente trabalho (Figura 74).

Figura 74 - Difratoograma do Ácido Rosmarínico em detalhe

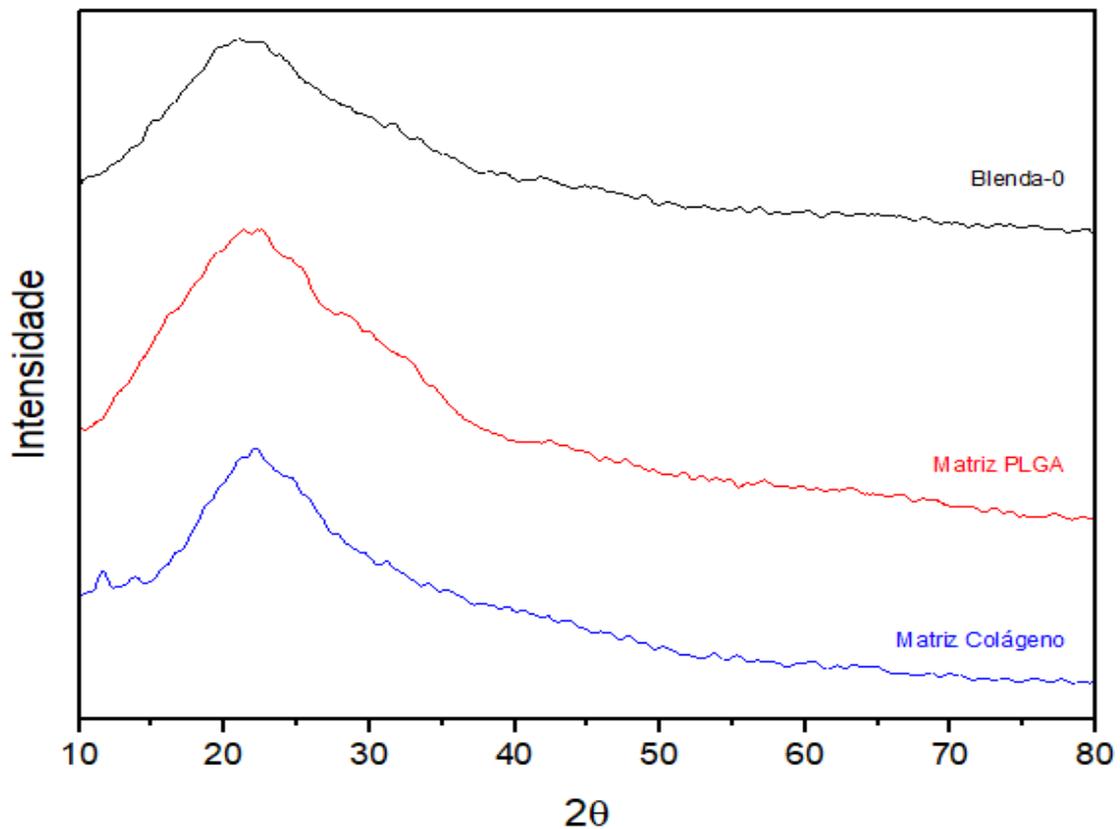


O difratograma da matriz de Ácido Rosmarínico zoom de 10° a 35°. Gráfico com relação de intensidade por ângulo Theta. Observam-se picos descritos na literatura.

Fonte: Autor

Em relação ao DRX da Blenda-0, observou-se que a temperatura de processamento e de conformação, proposta no presente trabalho, não alteraram a estrutura do material. A banda de amorfismo da Blenda-0 assemelha-se mais à banda de amorfismo do PLGA do que a banda de amorfismo do colágeno, que ocorreu supostamente devido à baixa concentração de colágeno, e à conformação da blenda com concentração de colágeno entre as camadas de PLGA (Figura 75).

Figura 75 - Difratoograma da Blenda-0 e das matrizes



Difratograma das matrizes. Blenda-0: blenda sem incorporação de drogas. DRX: difratograma de Raios X. Em preto: DRX da Blenda-0. Em vermelho: DRX da Matriz de PLGA. Em azul: DRX da matriz de colágeno.

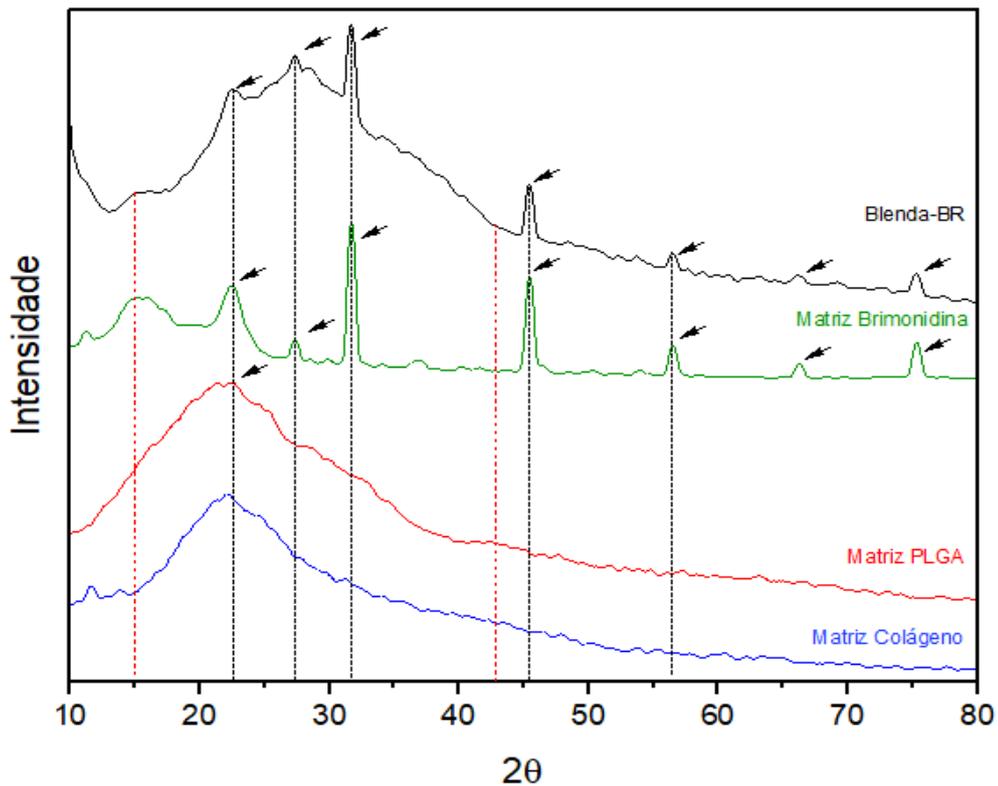
Fonte: Autor

O resultado foi similar aos resultados dos trabalhos de Vieira (2011) e Curttts (2018). Segundo Loo et al (2005), o grau de cristalinidade do PLGA aumenta, se o material for aquecido, por pelo menos 30 minutos a 115°C , devido às condições favoráveis para o posicionamento de cadeias poliméricas em uma orientação ordenada, possibilitando regiões cristalinas na estrutura. Observa-se que não ocorre aumento do grau de cristalinidade da blenda em relação à matriz de PLGA, sugerindo que não houve mudança da natureza cristalográfica por uso de temperatura.

Em relação ao resultado com a amostra de Blenda-BR, observou-se natureza semicristalina com uma banda amorfa na região de 18° a 45° e picos de cristalinidade com intensidades importantes em $31,38^\circ$, $45,42^\circ$, $56,62^\circ$, $28,32^\circ$ e $75,26^\circ$, e índice de cristalinidade de 10,5%. Observou-se um padrão na Blenda-BR, similar à junção das

características amorfas do colágeno e PLGA, e cristalinas da Brimonidina, indicando que há presença da droga na blenda (Figura 76).

Figura 76 - Difratoograma da Blenda-BR e das matrizes



Difratograma das matrizes. Blenda-BR: blenda com incorporação de Brionidina. DRX: difratograma de Raios X. Matriz de PLGA: poli (ácido láctico-co-ácido glicólico). Em preto: DRX da Blenda-BR. Em verde: DRX da Matriz de Brimonidina. Em vermelho: DRX da matriz de PLGA. Em azul: DRX da matriz de colágeno.

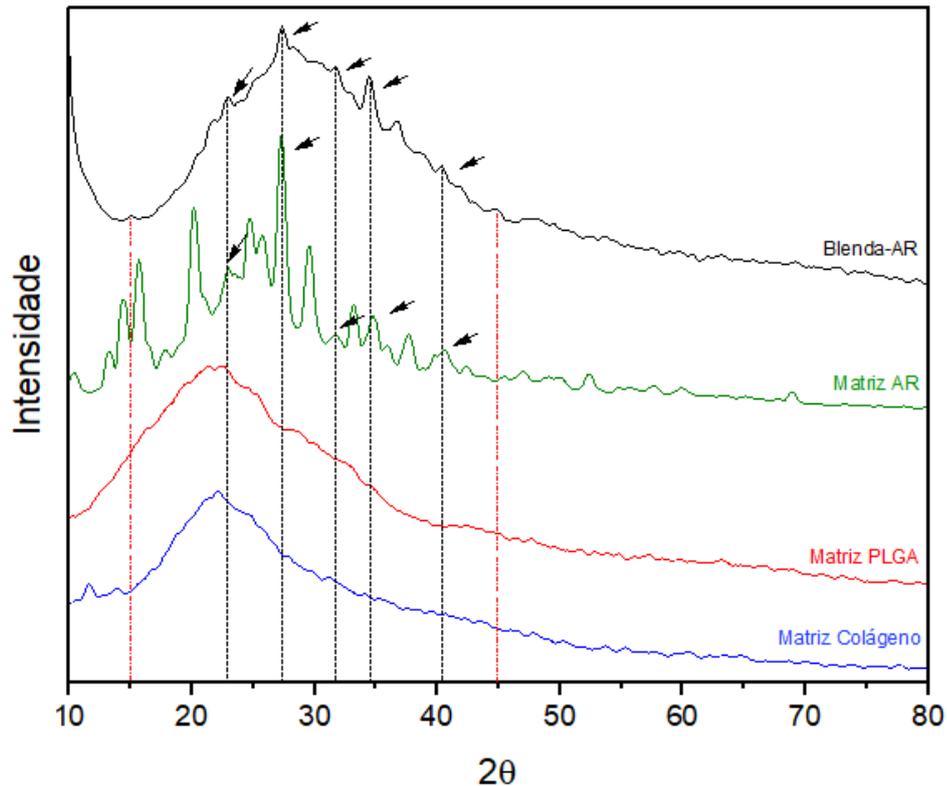
Fonte: Autor

Na literatura, há escassez de referências sobre DRX de blendas ou filmes de Brimonidina. Porém, como relacionado anteriormente, o heterociclo quinoxalina, que está presente na Brimonidina, apresenta pico mais intenso próximo a 32° , que pode ser observado na Blenda-BR do presente trabalho (FRANCO et al, 2018, IMANISHI et al, 2017).

O resultado da amostra de Blenda-AR apresentou uma natureza semicristalina com uma banda amorfa na região de 15° a 45° , e picos de cristalinidade com intensidades importantes em $21,83^\circ$, $25,99^\circ$, $30,05^\circ$, $35,59^\circ$, $38,87^\circ$ e $43,69^\circ$, sendo que o índice de cristalinidade foi de 9%. Observou-se um padrão similar da Blenda-

AR com o das matrizes, sugerindo que houve uma somatória das características amorfas do colágeno e PLGA, com as cristalinas do AR, indicando a presença da droga na composição da blenda (Figura 77).

Figura 77 - Difratoograma da Blenda-AR e das matrizes



Difratograma das matrizes. Blenda-AR: blenda com incorporação de Ácido Rosmarínico. DRX: difratograma de Raios X. Matriz de PLGA: poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Matriz AR: matriz de Ácido Rosmarínico. Em preto: DRX da Blenda-AR. Em verde: DRX da Matriz de AR. Em vermelho: DRX da matriz de PLGA. Em azul: DRX da matriz de colágeno.

Fonte: Autor

Os resultados obtidos na literatura com a Blenda-AR, conformada com as mesmas matérias primas, revelam similaridade na banda de amorfismo, em que a faixa de amorfismo apresentou uma intensidade mais elevada que a blenda sem as drogas. (CURTTS, 2018). Observou-se diferença na presença de picos cristalinos do presente trabalho com a literatura (CURTTS, 2018; BARANAUSKAITEA et al, 2018). De acordo com Imanish et al (2017) o processo de cristalização dos polímeros, difere do processo de sólidos convencionais devido às cadeias moleculares longas. Os cristalitos dos polímeros possuem cadeias muito menores do que as regiões

cristalográficas normais, com imperfeições e interconexões amorfas, o que pode diminuir consideravelmente a sensibilidade de uma análise de difração de Raios-X (IMANISHI et al, 2017). Em relação a diferença na evidência de picos de cristalinidade, quando comparados aos resultados de Curtts (2018), pode-se sugerir que ocorreu devido à sensibilidade do ensaio, ou mesmo, a análise após o ensaio com atenuação de ruído. Pode-se sugerir também, que as divergências com o trabalho de Curtts (2018) podem ter ocorrido pelos processos de conformação, ou pela análise após a caracterização devido à sensibilidade do equipamento.

4.1.4 Ensaio de degradação

Em estudos de liberação *in vitro*, observou-se a perda significativa de massa das blendas incorporadas com Brimonidina, liberando aproximadamente 1mg da substância ativa nas primeiras horas, tendo pico de liberação em 48 horas. Não foi possível realizar o mesmo ensaio com o AR, pois sua absorvância se confunde com a do PBS. Para tal, sugere-se para trabalhos futuros a realização de HPLC.

Observou-se que as Blenda-0, Blenda-BR e Blenda-AR apresentaram perda de massa similares ao longo dos 90 dias. Ocorreram variações na porcentagem de perda, sendo a Blenda-0 com menor variação de perda entre os intervalos de 15 dias. As blendas com incorporação de drogas apresentaram uma tendência de perda de massa mais acentuada entre 0 e 30 dias, e entre 75 a 90. Observou-se um desvio padrão menor nas blendas com incorporação de drogas. Os valores altos de desvio padrão deveram-se à pouca precisão de pesagem, devido ao peso de 0,012mg da blenda, sem degradação. As blendas apresentaram degradação satisfatória em relação ao tempo de degradação que espera para a liberação controlada de até 90 dias.

Teoricamente, a liberação do fármaco ocorrerá como decorrência da degradação do suporte matricial e reservatório da blenda, pode então, sugerir que as blendas apresentaram potencial para prolongar o período de reinjeções com liberação em 90 dias. No trabalho de Vieira (2011), que também utilizou o AR, os tempos de degradação acompanharam os tempos de liberação do fármaco. Há três etapas de liberação do fármaco definidos pela literatura. A primeira ocorre com uma alta taxa de liberação devido à droga difundida na superfície da blenda. Em uma segunda etapa

ocorre, a difusão do fármaco da matriz para o meio externo, seguido da terceira etapa, relacionada ao processo de desintegração da matéria (KNOLL et al, 1999).

Não foi possível realizar Cromatografia Líquida (HPLC), sugerida no final do presente estudo como trabalho futuro. Para evidenciar a presença dos compostos farmacológicos na blenda, foi realizado o ensaio de FRX.

4.2 Caracterizações Químicas

4.2.1 Caracterização e elementos químicos (FRX)

O ensaio na matriz de Brimonidina identificou e quantificou o Bromo, como sendo o maior constituinte da amostra com 65,23% ($\pm 0,06$), resultado compatível com os resultados de Van Der Valk et al (2005) e Schuman (2002), que descrevem o bromo ligado a um anel aromático na fórmula molecular da Brimonidina (Figura 6). Segundo Aleksic et al, (2013), a presença de cloro, sódio, cálcio e enxofre estão ligados ao processo de produção da brimondina. Os metais encontrados podem ser provenientes de contaminação do campo de ensaio, também descritos no trabalho de Curtts (2018).

O ensaio da Blenda-BR identificou e quantificou o Bromo como um dos elementos mais presentes, com 51,42% ($\pm 0,06$), seguido pelo sódio (Na) 29,30% ($\pm 0,18$), e cloro (Cl) 16,18% ($\pm 0,01$). O resultado da Blenda-BR apresentou um índice de bromo significativo, que identifica a presença de Brimonidina na blenda, aparentemente atenuada em relação à medida da matriz. O resultado sugere que o composto permaneceu inserido na blenda, mesmo após o processamento e a conformação, validando a metodologia proposta pelo presente trabalho. Os metais encontrados na amostra podem ser provenientes de contaminação do campo de ensaio, também descritos no trabalho de Curtts (2018).

4.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os resultados do espectro de PLGA foram semelhantes aos encontrados na literatura (VIEIRA, 2011; CURTTS, 2018; MARQUES E SANTOS, 2012; SILVA, 2015; MOTTA E DUEK, 2006). A não identificação do grupo hidroxila no espectro do PLGA, identificado em espectro de outros trabalhos, deve-se à ausência de umidade na

amostra da matriz de PLGA do presente trabalho (ERBETTA et al, 2011; YANG et al, 2007).

Em relação ao FTIR da matriz de colágeno, a banda amida A, que apresentou comprimento de onda igual a 3311 cm^{-1} , pode ser encontrada no intervalo de 3304 a 3315 cm^{-1} , corresponde à vibração de estiramento de N-H ligado a um hidrogênio (KITTIHATTANABAWON et al, 2010; SAI e BABU, 2001). A amida B relativa a estiramento CH₂, identificada no comprimento de onda 3940 cm^{-1} , pode ser encontrada no intervalo de 3600 a 3950 cm^{-1} (KITTIHATTANABAWON et al, 2010). A banda amida I, identificada no comprimento de onda de 1632 cm^{-1} , pode ser encontrada no intervalo de 1600 a 1700 cm^{-1} , atuando na formação da estrutura secundária das proteínas (MUYONGA et al, 2004; LIU et al, 2014). A banda amida II, que apresentou comprimento de onda 1542 cm^{-1} , pode ser encontrada no intervalo de 1550 a 1600 cm^{-1} , e está relacionada com a deformação angular de N-H e estiramento C-N na formação da tripla hélice do colágeno, no qual valores menores de comprimento indicam um número maior de pontes de hidrogênio (LIU et al, 2014). A banda amida III, identificada no comprimento de onda 1241 cm^{-1} , pode ser encontrada no intervalo de 1200 a 1305 cm^{-1} , e relaciona-se com a deformação angular de N-H acoplada com o estiramento C-N e alongamento de C-H (LIU et al, 2014; SANTOS et al, 2013). A banda larga identificada entre 3600 e 3200 cm^{-1} corresponde aos grupos hidroxila (O-H), e ocorre devido à presença de umidade na amostra (LIU et al, 2014). Os resultados do espectro de colágeno foram semelhantes aos encontrados na literatura (CURTTS, 2018; LIU et al, 2014, SANTOS et al, 2013, KITTIHATTANABAWON et al, 2010; SAI e BABU, 2001).

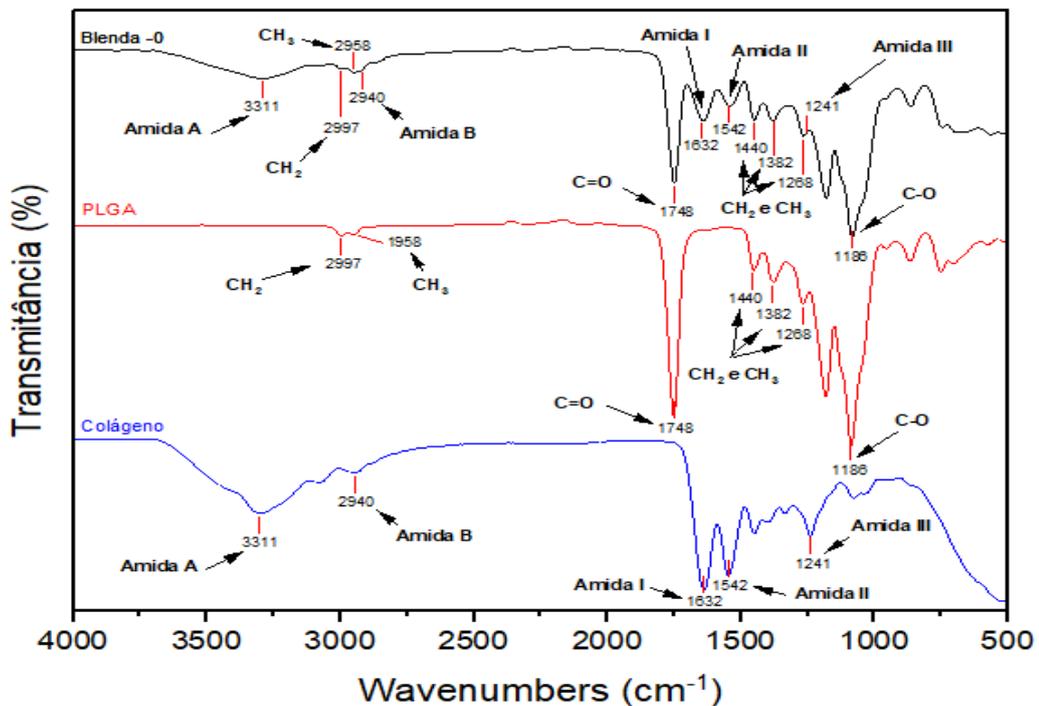
Em relação ao FTIR da matriz de Brimonidina, houve concordância com as bandas descritas nos trabalhos de Cetinus e Altum (2007) e Aburahma e Mahmoud (2011). A banda característica grupo carbonila C=O (1658 cm^{-1}) identificada no presente estudo, pode ser encontrada na faixa de comprimento de onda de 1650 a 1750 cm^{-1} . Em relação ao alongamento vibracional dos grupos C=C e C=N (1600 cm^{-1}), também identificada no presente estudo, pode ser encontrada entre 1580 e 1620 cm^{-1} (ABURAHMA e MAHMOUD, 2011). Para a deformação angular – NH foram encontrados valores similares na literatura (TORRES et al, 2005; ALTUN, 2007).

Em relação ao FTIR da matriz de AR, houve concordância com as bandas descritas nos trabalhos de Vieira (2011), Silvia et al (2015) e Curtts (2018). A banda do estiramento das ligações (C-H) aromáticas pode ser encontrada dentro da faixa de

comprimento de 3150 a 3170 cm^{-1} . Em relação aos grupos carbonilas (1705 cm^{-1}), identificada no presente estudo, pode ser encontrada no intervalo de 1700 a 1706 cm^{-1} (STEHFEST et al, 2004). Os resultados do espectro de colágeno foram semelhantes aos encontrados na literatura (VIEIRA, 2011; CURTTS, 2018).

Em relação ao FTIR da matriz da Blenda-0, observou-se que as ligações químicas das matrizes foram preservadas na blenda, com evidências das características do PLGA e colágeno, não havendo formação de novas bandas (Figura 78).

Figura 78 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0 comparada a das matrizes



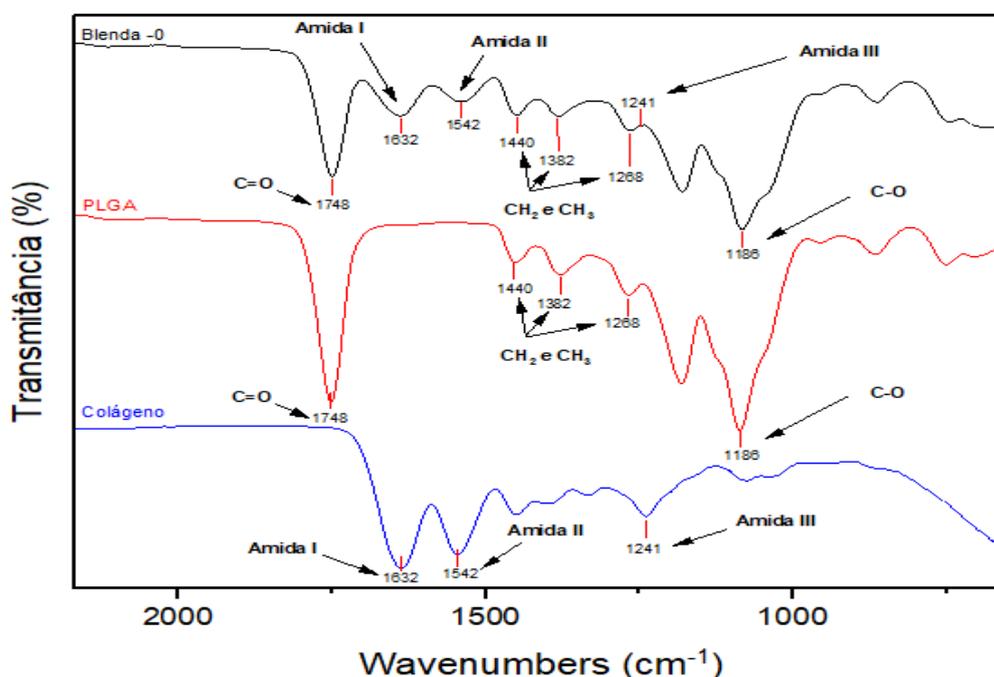
Blenda-0: blenda sem incorporação de drogas. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observa-se a presença das ligações químicas da matriz de colágeno e matriz de PLGA. Em preto: Blenda-0. Em vermelho: matriz de PLGA. Em azul: matriz de colágeno. Fonte: do autor.

Pode-se dizer que o produto do processamento e conformação é a soma da solubilização das matrizes. Em relação à rota de processamento e conformação proposta no presente estudo, pode-se dizer que não alterou as características químicas do produto. Houve concordância com as bandas descritas nos trabalhos de

Vieira (2011), Silvia et al (2015) e Curtts (2018), que utilizaram outras metodologias de processamento e conformação.

De acordo com Liu et al (2014), a Amida I, presente no colágeno, pode apresentar comprimento de onda de 1600 a 1700 cm^{-1} , onde há uma relação proporcional ao período de solubilização ácida do colágeno e o comprimento de onda, sendo que, quanto maior o período de solubilização ácida do colágeno, maior será seu comprimento de onda. Na Figura 80, observa-se que não houve aumento ou redução do comprimento de onda, indicando que solubilização ácida do colágeno não alterou as características da matéria prima. Segundo Kittiphattanabawon et al (2010), o colágeno, quando submetido ao processo de solubilização e extração a temperaturas que levam à degradação, tem a amplitude da amida I e II aumentadas. Observou-se que a amplitude das amidas I e II está reduzida na Blenda-0, sugerindo que não houve degradação (Figura 79).

Figura 79 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-0 ampliada



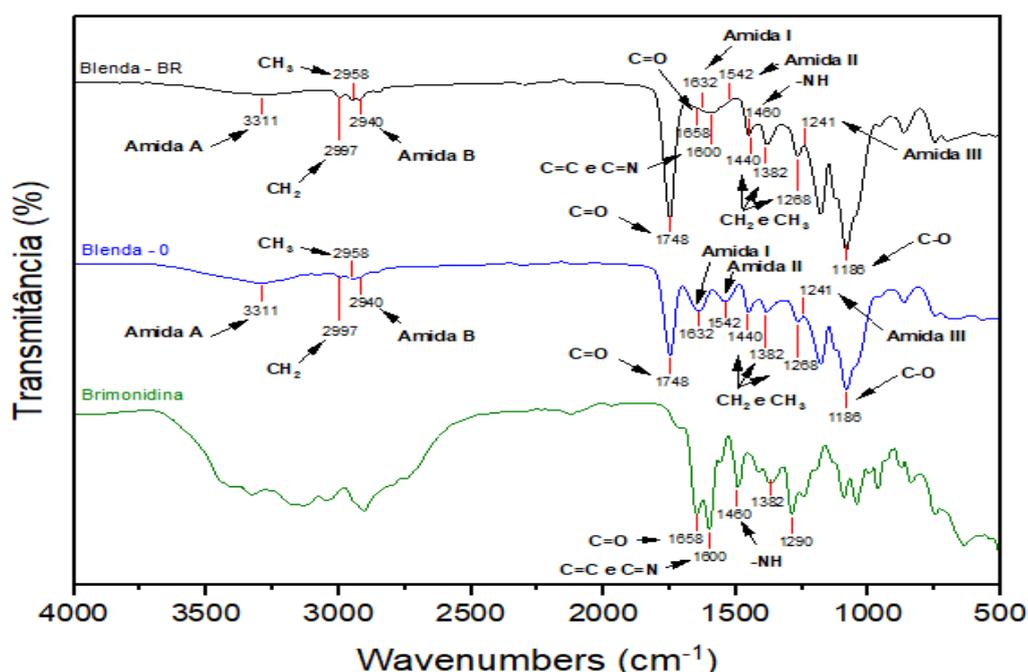
Blenda-0: blenda sem incorporação de drogas. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observam-se a presença das ligações químicas da matriz de colágeno e matriz de PLGA sem deslocação do comprimento de onda e com redução da transmitância das Amidias I e II. Em preto: Blenda-0. Em vermelho: matriz de PLGA. Em azul: matriz de colágeno.

Fonte: do autor.

Somente com os dados da amplitude, não se pode afirmar se houve ou não degradação, pois a associação de PLGA tende a diminuir a amplitude das amidas no FTIR da blenda. A evidência de que não houve degradação do colágeno, pelo uso de temperatura no processamento e conformação, é constatada pela união dos ensaios de termogravimetria, DRX e FTIR.

Em relação ao FTIR da matriz da Blenda-BR, observou-se que as ligações químicas da Blenda-0 foram preservadas na Blenda-BR, com evidências das características de bandas correspondente à matriz de Brimonidina, não havendo formação de novas bandas (Figura 80).

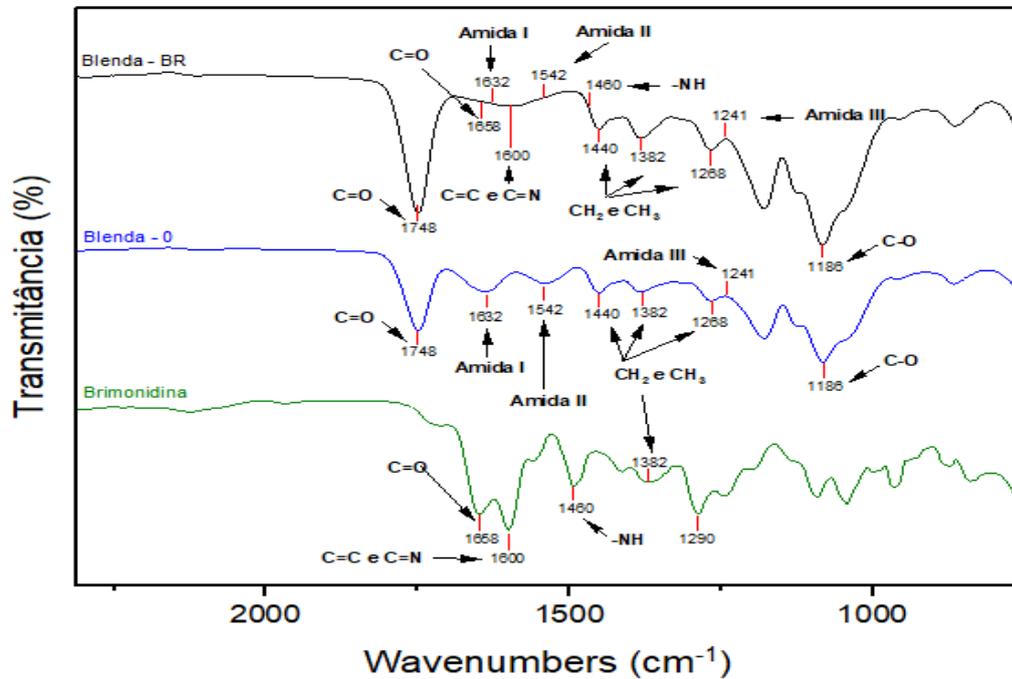
Figura 80 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR comparativo com matrizes



Blenda-BR: blenda com incorporação de brimonidina. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observam-se a presença das ligações químicas da Blenda-BR associada à da matriz de Brimonidina. Em preto: Blenda-BR. Em azul: Blenda-0. Em verde: matriz da Brimonidina. Fonte: do autor.

Observa-se que ocorreu uma fusão dos sinais de transmitância da Blenda-0 e da matriz de Brimonidina na região 1748 e 1382 cm^{-1} , com a evidência do alongamento vibracional dos grupos C=C e C=N em 1600 cm^{-1} (Figura 81).

Figura 81 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-BR comparativo com matrizes ampliado

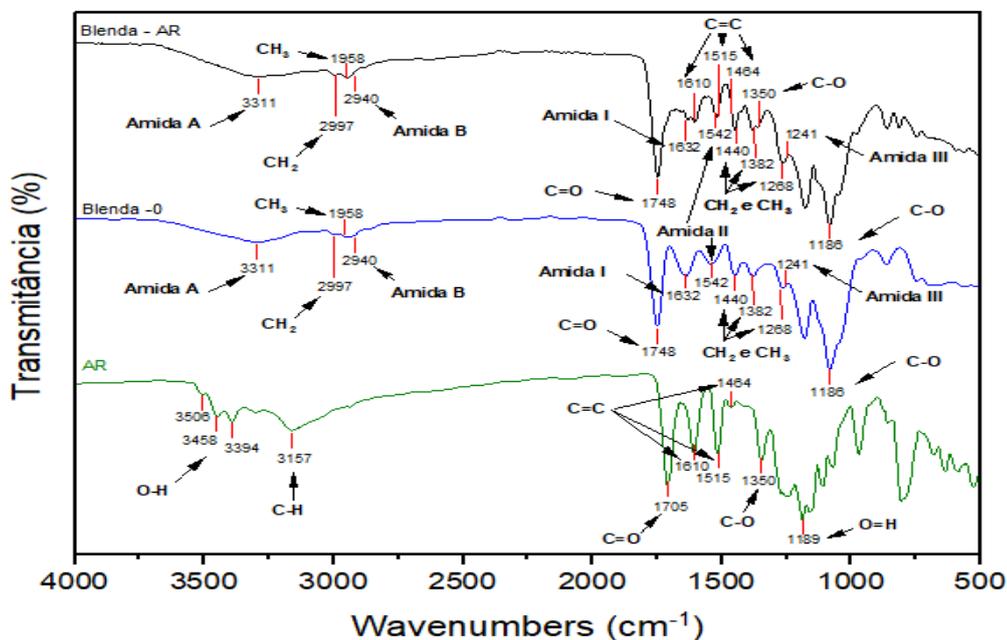


Blenda-BR: blenda com incorporação de brimonidina. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observam-se a presença das ligações químicas da Blenda-BR associada à da matriz de Brimonidina. Em preto: Blenda-BR. Em azul: Blenda-0. Em verde: matriz da Brimonidina. Fonte: do autor.

Pode-se dizer que o produto do processamento e conformação é a soma da solubilização da blenda-0 e da matriz de Brimonidina. Há uma escassez de trabalhos que apresentem resultados de FTIR para blends de PLGA, colágeno e Brimonidina.

Em relação ao FTIR da matriz da Blenda-AR, pode-se observar que as ligações químicas da Blenda-0 foram preservadas na Blenda-AR, com evidências das características de bandas correspondente à matriz de AR, não havendo formação de novas bandas (Figura 82).

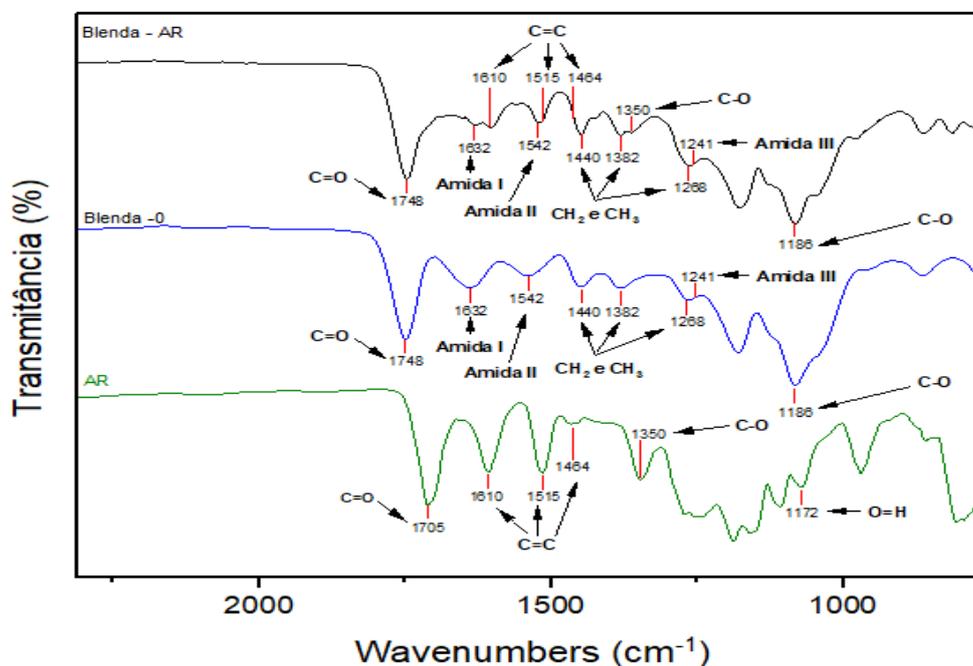
Figura 82 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR comparativo com matrizes



Blenda-AR: blenda com incorporação de Ácido Rosmarínico. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observa-se a presença das ligações químicas da Blenda-0 associada à da matriz de Brimonidina. Em preto: Blenda-AR. Em azul: Blenda-0. Em verde: matriz de AR. Fonte: do autor.

Não se evidenciou banda característica em 1705 cm^{-1} correspondente aos grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$), e em 1172 cm^{-1} bandas típicas de grupos fenólicos resultantes dos estiramentos de ($\text{C}-\text{O}$) e ($\text{O}=\text{H}$). Provavelmente, não foi possível identificar as bandas separadamente, devido à sensibilidade do ensaio, porém, evidenciaram-se os grupos em regiões similares. Pode-se dizer que o processamento e a conformação das blendas com AR preservaram a estrutura química da Blenda-0, apesar de terem sido observadas a presença de bandas da matriz de AR nas bandas da Blenda-AR (Figura 83).

Figura 83 - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier da Blenda-AR comparativo com matrizes ampliado



Blenda-AR: blenda com incorporação de Ácido Rosmarínico. DRX: Matriz de PLGA: matriz de poli (ácido lático-co-ácido glicólico). Observa-se a presença das ligações químicas da Blenda-0 associada à da matriz de Brimonidina. Em preto: Blenda-AR. Em azul: Blenda-0. Em verde: matriz de AR. Fonte: do autor.

Observou-se uma redução das bandas de Amida I e Amida II na Blenda-AR em relação à Blenda-0, em decorrência da associação do AR. A redução de da amplitude das Amidas I e II indicam que não houve degradação decorrente das temperaturas durante o processamento e conformação da Blenda-AR (KITTIPHATTANABAWON et al, 2010). Os resultados do espectro de colágeno foram semelhantes aos encontrados na literatura (VIEIRA, 2011; CURTTS, 2018).

Em relação à rota de processamento e conformação proposta no presente estudo, podemos dizer que não alterou as características químicas do produto.

4.3 Caracterização Morfológica

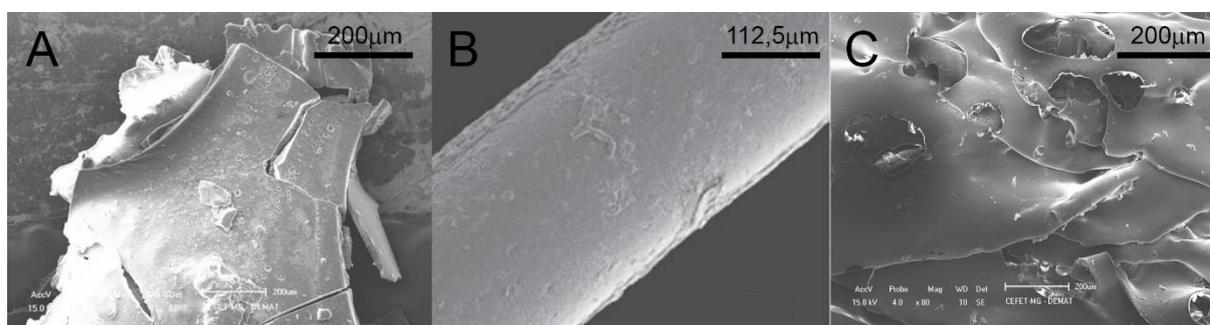
4.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Observou-se, na microscopia do Filme-0, uma superfície homogênea, com textura de aspecto rugoso, com organização circular de pontos hiperfluorescentes,

compatíveis com as fibras do colágeno (USHIKI, 2002; DUARTE, 2014). Observou-se na microscopia do Filme-BR, uma superfície heterogênea, com áreas de hiperfluorescência de aspecto cristalino. Não se observou a organização compatível com as fibras de colágeno presentes no filme-0. Em relação ao Filme-AR, observou-se uma superfície heterogênea, sem evidências de camadas ou poros, onde não foi possível estabelecer a espessura. Observou-se sinais hiperfluorescentes esparsos similares à formação de cristais e sinais de organização de fibras similares às do Filme-0. Devido à espessura manométrica do filme, há dificuldade de obtenção das imagens com detalhes. Estruturas muito finas podem ter o foco prejudicado na MEV, sendo necessário o uso da Microscopia eletrônica de Transmissão (TEM) (GOLDSTEIN et al, 1994). Devido aos recursos disponibilizados, não foi possível realizar o ensaio de TEM.

Em relação à MEV da Blenda-0, observou-se, um material heterogêneo com sobreposição de camadas não compactadas, além da formação de poros com grande polimorfismo e polimegatismo, também, foram observadas numerosas cavernas intercomunicantes. Nos trabalhos de referência, que utilizam a conformação por compressão, foram evidenciadas blendas de materiais homogêneos compactos, sem a presença de poros e cavernas (VIEIRA, 2011, CURTTS, 2018, FIALHO E CUNHA, 2005) (Figura 84).

Figura 84 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo com a literatura –
Blenda - 0



(A): blenda de PLGA-Colágeno do trabalho de Curtts (2018).

(B): blenda de PLGA do trabalho de Vieira (2011).

(C): blenda de PLGA e colágeno do presente trabalho.

Observa-se à microscopia a blenda do presente trabalho ter aparência menos compactada.

Fonte: A: adaptado de Curtts (2018). B: adaptado de Vieira (2011). C: do autor.

Observou-se que não houve similaridade com as blendas dos trabalhos de Curtts (2018) e Vieira (2011), onde a blenda do presente trabalho aparenta, à MEV, uma estrutura menos compactada, mais próxima dos resultados com eletrofiação do trabalho de Wang et al (2016). No corte transversal da Blenda-0, observou-se, de maneira não organizada, a sobreposição de camadas em formato cilíndrico (rocambolé), onde foram observados a formação e a sobreposição de poros com grande polimorfismo e polimegatismo, além de extensas cavernas intercomunicantes. A literatura é escassa de informações de MEV em cortes transversais de blendas poliméricas. No sistema de conformação por eletrofiação, observou-se a disposição em camadas, levemente fundidas, similares ao perfil em camadas encontrado no presente trabalho (WANG et al, 2016) (Figura 85).

Figura 85 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo (Wang e Blenda-0)

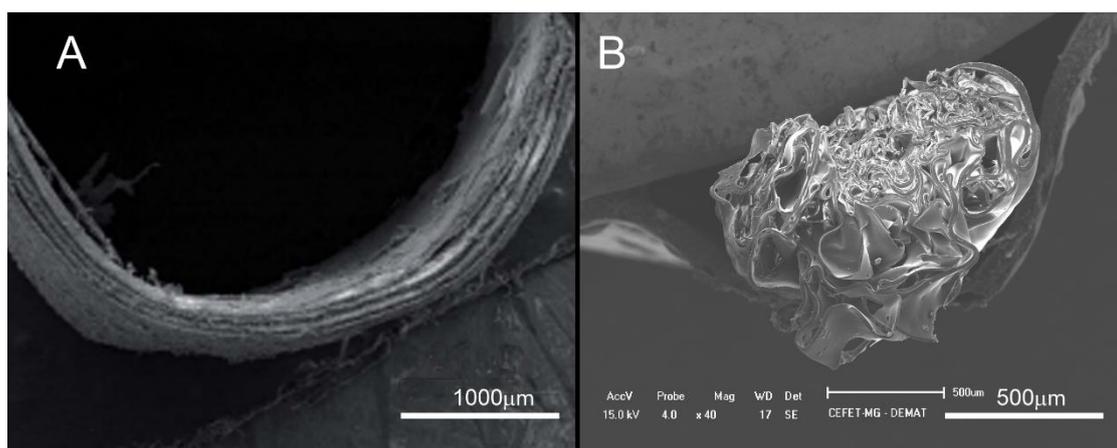


Figura comparativa da Microscopia Eletrônica de Varredura MEV do tubo de PLGA 75:25 conformados por Wang et al (2016) e blenda-0 do presente trabalho.

(A): corte transversal do tubo de PLGA com formação por camadas (Wang et al, 2016).

(B): corte transversal da blenda-0 do presente trabalho.

Observam-se a deposição e camadas sobrepostas em ambas as blendas com área de fusão entre as camadas.

Fonte: A: adaptado de Wang et al (2016). B: do autor.

Observou-se que a conformação por eletrofiação proposta por Wang et al (2016), apresentou menor fusão entre as camadas de filme, que a metodologia do presente trabalho. Porém, apresenta menor número de cavernas e poros.

Os resultados do EDS da Blenda-0 foram compatíveis com os resultados encontrados na literatura, e com as matrizes de colágeno e PLGA, na qual têm, em suas composições, cadeias de aminoácidos, hidroxilas e grupos metilas (VIEIRA,

2011; MAKADIA E SIEGEL, 2011). Os resultados da morfologia da Blenda-0 foram diferentes dos resultados encontrados na literatura. Essa diferença provavelmente ocorreu devido à metodologia de conformação, que aplica a menor quantidade de pressão sobre a blenda, evitando que ocorresse a fusão de camadas, e consequente fechamento de poros. Os trabalhos de referência trabalham com a conformação a quente por molde sob pressão, o que contribuiu para a fusão das camadas Curttts (2018), Vieira (2011), Fialho et al (2007), Fialho e Cunha (2005) e Silva (2012).

Em relação à Blenda-BR e Blenda-AR, observou-se que ambas formações com fármacos não apresentaram poros e cavernas, onde sugere-se que as drogas foram incorporadas pela estrutura, preenchendo os poros (Figura 86).

Figura 86 - Microscopia eletrônica de varredura comparativo Blenda-0, Blenda-BR, Blenda-AR

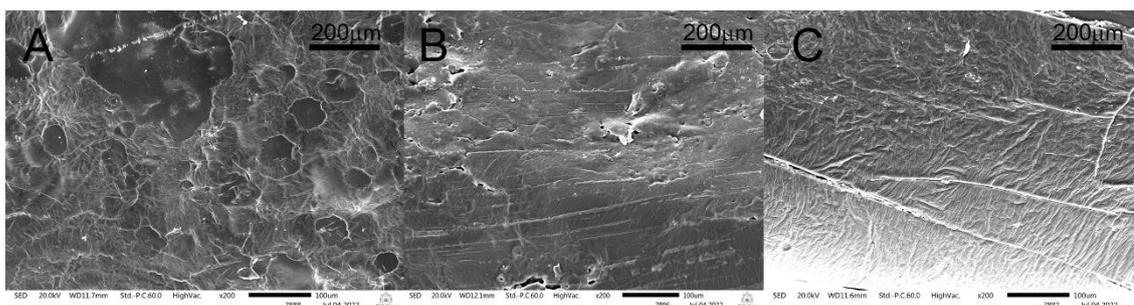


Figura comparativa com a Microscopia Eletrônica de Varredura EV das blendas.
 (A): corte longitudinal da Blenda-0 (blenda sem incorporação de droga).
 (B): corte longitudinal da Blenda-BR (blenda com incorporação de Brimonidina).
 (C): corte longitudinal da Blenda-AR (blenda com incorporação de Ácido Rosmarínico).
 Observa-se que as blendas com incorporação de drogas não apresentam poros e cavernas.
 Fonte: do autor.

Apesar de ter sido evidenciado, no FTIR e na TG, a presença dos fármacos nas blendas, não se pode afirmar ao certo, que um dos sítios está no preenchimento dos poros pelos fármacos. Para fortalecer essa possibilidade, seria necessário à realização de EDS na superfície das blendas com as drogas. Também, seria necessária a realização de um ensaio de área superficial (BET). Ambos ensaios não foram realizados, devido à indisponibilidade dos equipamentos, e serão sugeridos na continuidade do estudo. Observou-se, em relação à morfologia das blendas com drogas, que a presença da droga promoveu, às imagens morfológicas, uma organização da estrutura que se assemelhou ao aspecto final das blendas propostas descritas na literatura (FIALHO e CUNHA, 2005; VIEIRA, 2011).

Morfologicamente à estrutura da blenda do presente trabalho apresentou características diferentes da blenda desenvolvida por Curtts (2018). Em Curtts (2018), a estrutura teve um aspecto de placas sobrepostas uniformes, aparentemente densas, sem interligação de camadas ou por poros e cavernas. O resultado de Curtts, pode estar relacionado ao processamento com raspagem e conformação a quente, que provavelmente fundiu as camadas de PLGA e Colágeno. A blenda desenvolvida neste trabalho, morfologicamente, sugere mais afinidade pela absorção de fármaco em sua estrutura, podendo funcionar em dois sistemas, matricial e reservatório.

5. Conclusão

As blendas produzidas pela nova metodologia de processamento e conformação proposta pelo presente trabalho foram caracterizadas quando a molhabilidade e apresentaram caráter hidrofílico intermediário.

Os resultados termogravimétricos das matrizes de PLGA, colágeno, Brimonidina e AR, não evidenciam degradação em temperaturas menores que 130°C. As temperaturas de processamento e conformação da metodologia proposta no presente trabalho, não degradam os compostos, exceto pela perda de água livre (umidade).

As matrizes PLGA e o colágeno, apresentaram natureza amorfa, já as matrizes de Brimonidina e AR, apresentaram natureza cristalina. Observou-se que a solubilização e as temperaturas de processamento e conformação propostas na metodologia do presente trabalho, não alteraram as características difratométricas dos compostos. As blendas contendo drogas apresentaram natureza semicristalina, compatíveis com a soma das naturezas das matrizes.

No ensaio de degradação as blendas tiveram a degradação total após o período de 90 dias, sugerindo que a metodologia de processamento e conformação auxiliaram no controle de degradação.

No ensaio de FRX, a blenda com Brimonidina, apresentou índice significativo de bromo na composição indicando a presença da droga na blenda.

Os espectros de FTIR das matrizes de PLGA, colágeno, Brimonidina e AR, foram semelhantes aos encontrados na literatura. Observou-se que nas blendas com

incorporação ou não de drogas, as ligações químicas foram preservadas, onde a solubilização ácida e o processamento térmico, não formaram novos compostos.

Observou-se diferenças morfológicas nas microscopias dos filmes e blendas do presente estudo, em relação à literatura. A morfologia das blendas sem incorporação de drogas apresentou um caráter menos compacto, em camadas, com formação de poros e cavernas intercomunicantes, com baixa evidência de fusão. A morfologia das blendas com incorporação de drogas, apresentou um caráter heterogêneo, com imagens sugestivas de organização estrutural, sem evidências de poros ou cavernas, de aspecto mais compacto, sugestivo de adsorção das drogas na estrutura porosa.

4. CONCLUSÃO FINAL

Após o resultado do questionário estruturado e da avaliação da literatura sobre os temas mais prevalentes, foi possível estabelecer o direcionamento do objetivo principal do presente trabalho, onde ficou definida a elaboração de uma nova metodologia de processamento e de conformação de blendas poliméricas, com variação das metodologias descritas em trabalhos de referência, permitindo uma nova alternativa de transporte de drogas. O questionário estruturado, contribuiu significativamente para o escopo desse trabalho, elucidando as aplicações de biomaterial na oftalmologia, demanda de mercado e as possibilidades de trabalhos futuros.

O tempo total de processamento do PLGA e do colágeno da literatura de referência foi de aproximadamente 11 horas, no qual o resultado do processamento e conformação foi um filme aderido à placa de Petri retirado pelo método de raspagem. Após a conformação, obteve-se uma blenda compactada de 10 mm de comprimento por 1,5 mm de diâmetro. O produto com as características apresentadas pela referência foi possível após 11 tentativas de confecção do biomaterial.

As soluções de PLGA e de colágeno propostas no presente trabalho tiveram a temperatura e o tempo de processamento e conformação menores que os praticados pela literatura de referência. O processamento em *sanduíche*, com sobreposição de soluções poliméricas, proporcionou a retirada de um conjugado polimérico PLGA/Colágeno em formato de filme. A conformação do conjugado em técnica de *rocambóle* permitiu a sobreposição cilíndrica das camadas sem uso de processo de compactação, e com baixa temperatura. Os aspectos macrográficos dos filmes e das blendas foram similares aos resultados encontrados na literatura.

Observou-se que não houve interferência da incorporação das drogas nas medidas de comprimento e diâmetro das blendas. Todos os grupos de amostras, apresentaram desvio padrão baixo e baixa variação indicando um processo de boa reprodutibilidade. Foi observada uma amostra com defeito, resultando em um nível sigma de 3,0 para 4,0. A metodologia proposta no presente trabalho, foi reprodutível em 46 amostras com baixa variabilidade, cumprindo os requisitos de aplicabilidade em escala industrial.

As blendas processadas e conformadas pela metodologia proposta no presente trabalho apresentaram caráter hidrofílico intermediário. A incorporação do colágeno

aumentou o caráter hidrofílico da blenda, assim como a presença do PLGA aumentou o caráter hidrofóbico. Os resultados termogravimétricos das matrizes de PLGA, colágeno, Brimonidina e AR, não evidenciam degradação em temperaturas menores que 130°C. As temperaturas de processamento e de conformação da metodologia proposta no presente trabalho, não degradam os compostos, exceto pela perda de água livre (umidade). As características termogravimétricas das matérias primas foram mantidas após o processamento do filme e conformação das blendas. A incorporação de drogas não alterou a resistência das blendas à degradação térmica. O formato cilíndrico das blendas conferiu uma maior resistência térmica em relação à perda de água estrutural por degradação do arranjo cristalográfico. As matrizes PLGA e o colágeno apresentaram natureza amorfa, ao passo que as matrizes de Brimonidina e AR apresentaram natureza cristalina. Observou-se que a solubilização, e as temperaturas de processamento e conformação propostas na metodologia do presente trabalho não alteraram as características difratométricas dos compostos. As blendas contendo drogas apresentaram natureza semicristalina, compatíveis com a soma das naturezas das matrizes. No ensaio de degradação, as blendas tiveram a degradação total somente após 90 dias, sugerindo que a metodologia de processamento e conformação auxiliaram no controle de degradação. No ensaio de FRX, a blenda com Brimonidina apresentou índice significativo de bromo na composição, levemente atenuada, indicando a presença da droga na blenda. Os espectros de FTIR das matrizes de PLGA, colágeno, Brimonidina e AR, foram semelhantes aos encontrados na literatura. Observou-se, que nas blendas com e sem incorporação de drogas, as ligações químicas foram preservadas, onde a solubilização ácida e o processamento térmico, não formaram novos compostos. Os resultados de FTIR das blendas foram correspondentes à somatória dos espectros das matrizes. Observou-se diferenças morfológicas nas microscopias dos filmes e blendas do presente estudo, em relação à literatura. A morfologia das blendas sem incorporação de drogas apresentou um caráter menos compacto, em camadas, com formação de poros e cavernas intercomunicantes, com baixa evidência de fusão. A morfologia das blendas com incorporação de drogas apresentou um caráter heterogêneo, com imagens sugestivas de organização estrutural, sem evidências de poros ou cavernas, de aspecto mais compacto, sugestivo de adsorção das drogas na estrutura porosa.

O presente trabalho contribui cientificamente para o desenvolvimento e biomateriais voltados ao segmento oftalmológico, onde, no futuro, o resultado do questionário, a proposta de solubilização, a metodologia de processamento e conformação, e as caracterizações, possam ser usados como referência para novas propostas de aplicabilidade em biomateriais.

5. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

Como sugestão de trabalhos futuros, podem ser melhor exploradas técnicas de aperfeiçoamento da metodologia proposta no presente trabalho. Sugerem-se o ensaio de cromatografia líquida (HLPC) nas blendas poliméricas, de forma que possa traçar o perfil de liberação das drogas, e o ensaio de EDS nas amostras de blendas com incorporação de drogas. Sugere-se, também, a realização de testes biológicos de citotoxicidade e biocompatibilidade pelo método de difusão em ágar, além do ensaio de angiogênese na membrana corioalantóica de embrião de galinha para avaliar o sistema de angiogênese da blenda com AR.

Outra sugestão para trabalhos futuros seria a incorporação de outros fármacos de outras áreas do segmento clínico. O biomaterial também pode ser testado e aplicado em outros sítios oftalmológicos ou não, que demandem o controle de degradação, envolvendo ou não o uso de drogas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABURAHMA M. H., MAHMOUD A. A. Biodegradable ocular inserts for sustained delivery of brimonidine tartrate: preparation and in vitro/in vivo evaluation. **AAPS Pharm Sci Tech.** v. 12, n. 4, 2011.

ADAMIS, A. P.; MILLER, J. W.; BERNAL, M. T.; D'AMICO, D. J., et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. **Am J Ophthalmol.** v. 118, p. 445-50, 1994.

ADHIKARI, A. R. et al. Thermal property and assessment of biocompatibility of poly(lactic-co-glycolic) acid/graphene nanocomposites. **Journal of Applied Physics.** v. 115, n. 5, 2014.

AIELLO, L. P. et al. Evolving guidelines for intravitreal injections. **Retina.** v. 24, p. S3-19, 2004.

ALEKSIĆ, M. M. et al. An extensive study of electrochemical behavior of brimonidine and its determination at glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta.** v. 106, p. 75-81, 2013.

ALEXIS, F. Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly(lactic acid) and poly [(lactic acid)-co-(glycolic acid)]. **Polymer International.** v. 54, p. 36-46, 2005.

ALISEDA, D.; BERÁSTEGUI, L. Retinopatía diabética. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra.** v. 31, 2008.

AL-KINANI, A.; GHADA Z.; ELSAID, N.; SEYFODDIN, A.; ALANI, A.; ALANY, R. Ophthalmic gels: past, present and future. **Advanced Drug Delivery Reviews,** v.126, p. 113-126, 2017.

ALLEN, L., POPOVICH, N., ANSEL, H. **Ansel's Pharmaceutical Dosage forms and Drug Delivery Systems.** New York: Lippincott Williams & Wilkins. 8. ed, 2005,

ALLEGRETTI, L. J. M. Estudo da formação de fosfatos de cálcio pela mineralização de matrizes de colágeno. [S.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2009.

ALLINGHAM, R. R.; DAMJIM K. F.; FREEDMAN, S. F.; MOROI, S. E.; RHEE, D. J.; SHIELDS, B. **Shields textbook of glaucoma.** 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.

AMATO, S.; EZZEL, R. **Regulatory affairs for biomaterials and medical devices.** Woodhead Publishing. New York: Elsevier, 2014.

ANDERSON, D. R. Trabeculectomy compared to goniotomy for glaucoma in children. **Ophthalmology.** v.90, p.805-806, 1983.

ANDRADE, A. L.; FERREIRA, J. M. F.; DOMINGUES, R. Z. Zeta potential measurement in bioactive collagen. **Materials Research**, v. 7, n. 4, p. 631-634, 2004.

ANSARI, E. An Update on implants for minimally invasive glaucoma surgery (MIGS). **Ophthalmol Ther**, v.6, p.233-41, 2017.

AMERICAN ACADEMY OF OPHTHALMOLOGY Glaucoma Panel [Internet]. Preferred practice pattern guidelines. **Primary Open-Angle Glaucoma, 2010**. Disponível em: <http://one.aao.org/preferred-practice-pattern/primary265>. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas openangle-glaucoma-ppp--october-2010 Acessado em 20 jan 2022.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Older adults: **Standards of Medical Care in Diabetes**. EUA, 2019. Disponível em: http://care.diabetesjournals.org/content/42/Supplement_1/S139.abstract. Acesso em: 05 nov 2021.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. Standard guide for characterization and testing of biomaterial scaffolds used in tissue-engineered medical products. **ASTM F2150-19 (2013)**. West Conshohocken, PA, USA. 2019.

AREDS - AGE-RELATED EYE DISEASE STUDY RESEARCH GROUP. The Effect of five-year zinc supplementation on serum zinc, serum cholesterol and hematocrit in persons randomly assigned to treatment group in the age-related. Eye Disease Study: AREDS Report n.7. **J Nutr**. v. 132, p. 697-702, 2002.

ARRUDA, M.; VERMULM, R.; HOLLANDA, S. **Inovação tecnológica no Brasil: a indústria em busca da competitividade global**. São Paulo: ANPEI, 2006

ATHANASIOU, K. A.; NIEDERAUER, G. G.; AGRAWAL, C. M. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. **Biomaterials**. v.17, p. 93-102, 1996.

AVASTIN (bevacizumabe). **[Bula]**. Solução oftálmica injetável. Responsável Técnico Liana Gomes de Oliveira – CRF-SP nº 32.252. São Paulo: Laboratório Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A, Registro MS – 1.0100.0637, 2022. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/405159?nomeProduto=AVASTIN> Acesso em: 21 abr. 2022.

AWANG, M. A. et al., Cytotoxic evaluation of biomechanically improved crosslinked ovine collagen on human dermal fibroblasts. **Bio-Medical Materials and Engineering**. v. 24, p. 1715-1724, 2014.

AZEVEDO, L. M. S. **Síntese do niobato de sódio a partir do óxido de nióbio e nióbio metálico**. Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro. p. 97. 2010.

BAINO, F. Towards an ideal biomaterial for vitreous replacement: historical overview and future trends. **Acta Biomaterialia**, v.7, p. 233-41. 2011.

BARANAUSKAITEA, J.; KOPUSTINSKIENEA, D.; MASTEIKOVAB, R.; GAJDZIOKB, J.; BARANAUSKASA, A.; BERNATONIENEA, J. Effect of liquid vehicles on the enhancement of rosmarinic acid and carvacrol release from orégano extract liquid compact. **Colloids and Surfaces**, v. 539, p. 280-290, 2018.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho**. UFV: Minas Gerais, 2008.

BATISTA, J. G. S. **Desenvolvimento de matrizes poliméricas biodegradáveis à base de quitosana e possíveis blendas, como sistema de liberação controlada de fármacos**. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais), USP, São Paulo, 2015.

BEER, P. M.; WONG, S. J.; HAMMAD, A. M.; FALK, N. S.; O'MALLEY, M. R.; KHAN, S. Vitreous levels of unbound bevacizumab and unbound vascular endothelial growth factor in two patients. **Retina**. v.26, p. 871-6, 2016

BENZ, M. S.; NGUYEN, Q. D.; CHU K, C. A.; GRIMES, I.; INGERMAN, A. CLEAR-IT-2: Interim results of the phase II, randomized, controlled dose-and interval-ranging study of repeated intravitreal VEGF trap administration in patients with neovascular age-related macular degeneration. **Invest Ophthalmol Vis Sci.**, v. 48, p. 4549, 2007.

BIETTI, G. Surgical Interventions on the ciliary body: new trends for the relief of glaucoma. **JAMA**. v.142, p. 889-96, 1950.

BONNET, D. G. Approximate confidence interval for standart deviation os nonnormal distributions. **Computacional Statistics & Data Analysis**, v. 50, p. 775-782, 2006.

BOYER, D. S.; ANTOSZYK, A. N.; AWH, C. C.; BHISITKUL, R. B.; SHAPIRO, H.; ACHARY, A. N. R. MARINA Study Group. Subgroup analysis of the MARINA study of ranibizumab in neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v. 116, p. 15-23, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Saúde. **Parecer técnico Nº 51/GEAS/GGRAS/DIPRO. Cobertura:** tratamento ocular quimioterápico com antiangiogênico / medicamento Ranibizumabe. Brasília, Agência Nacional de Saúde, 2018.

BRESSLER, N. M. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. **JAMA**, v. 291, p. 1900-1, 2004.

BREYFOGLE. F. Six Sigma Methods to ensure organization's health. **Quality Progress**, New York, v. 45, n. 4, p. 28-29, 2003.

BRODIE, J. C.; MERRY, J.; GRANT, M. H. The mechanical properties of calcium phosphate ceramics modified by collagen coating and populated by osteoblasts. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 1, p. 43–48, 2006.

BRON, A.M.; EMMERICH, K. H. Latanoprost versus combined timolol and dorzolamide. **Surv Ophthalmol**, v.47, p. 148-54, 2002.

BROWN, D. M.; KAISER, P.K.; MICHELS, M.; SOUBRANE, G.; HEIER J. S.; KIM, R. Y.; SCHNEIDER, S. ANCHOR Study Group. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. **N Engl J Med.**, v. 355, p. 1432-44, 2006.

BROWN, D. M.; MICHELS, M.; KAISER, P. K.; HEIER, J. S.; SY, J. P.; IANCHULEV, T. ANCHOR Study Group. Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: two-year results of the ANCHOR study. **Ophthalmology**, v. 116, p. 57-65, 2009.

BRUNDLE, C. R.; EVANS, C. A.; WILSON, S. **Encyclopedia of materials characterization: surfaces, interfaces and thin films**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, 1992.

BRUNETON, J. **Farmagonosia, fitoquímica, plantas medicinales**. Espanha. ACRIBIA S.A/ Zaragoza, 2. ed, 2001.

BUCHAIM, G.; REZENDE M. P.; MAIA, M. Implante intravítreo de liberação crônica de dexametasona (Ozurdex®) para o tratamento de edema macular por retinose pigmentar: relato de caso. **Arq Bras Oftalmol.**, v. 76, p. 377-9, 2013.

BURATTO, L., BRINT, S. F.; BOCCUZZI, D. (Ed.). **Cataract surgery and intraocular lenses**. Slack Incorporated, p. 7-13, 2014.

BURROWS, M. C. **Suportes híbridos de PET e colágeno como modelo para enxertia vascular**. Dissertação (Mestre em Engenharia de Materiais). Universidade São Paulo, São Paulo, 2010.

CALLISTER, W. D. **Materials science and engineering**. 5. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2000.

CALLISTER, W. D. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. 5. ed. Rio de Janeiro, Brasil: LCT, 2002.

CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L.; ARCIOLA, C. R. A Review of the biomaterialstechnologies for infection-resistant surfaces. **Biomaterials**, v. 34, p. 8533-54, 2013.

CAMPOS. M. S. T. **Caracterização de implantes poliméricos biodegradáveis contendo sirolimus e avaliação de sua estabilidade em condições de estresse químico**. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2016.

CAMPOS, P. M.; MUNIZ, J. A.; OLIVEIRA, M. S.; FERREIRA, D. F. Estimativa da repetibilidade e da reprodutibilidade de laboratórios e sua aplicação no controle de qualidade de análises do solo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.2, p.404-409, 1999.

CANTOR, L. B. Brimonidine in the treatment of glaucoma and ocular hypertension. **Ther Clin Risk Manage**, v.2, p.337-346, 2006.

CAO, J. et al. Systemic or intravitreal administration of VEGF Trap suppresses vascular leak and leukostasis in the retinas of diabetic rats. **ARVO Meeting Abstracts**, v.47, p. 1626, 2006.

CAPP, C.; ZENNING, N.; WAJNER, S.; MAIA, A. L. Papel do fator de crescimento endotelial vascular nos carcinomas de tireóide. **Revista HCPA**, Porto Alegre, v. 29, n. 1, 2009.

CARNAVEOLO JR, S. V. **Ciência dos polímeros**. 2. ed. São Paulo: Artliber, 2002.

CARVALHO, A. C. M. D. **Síntese e caracterização do poli(ácido láctico) para potencial uso em sistemas de liberação controladas de fármacos**. (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Programa de pós-graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande Do Norte, 2013.

CETINUS, S.A.; ALTUM, G.D. Immobilization of pepsin on chitosan beads. **Food Chem**, v. 100, n. 3, p. 964-971, 2007.

CHANDRA, R. R. Biodegradable Polymers. **Prog Polymer Science**, v. 23, p. 1273, 1998.

CHIRILA, T. V.; HARKIN, D. G. (Ed.). **Biomaterials and regenerative medicine in ophthalmology**. 2. ed. Woodhead Publishing, p. 1-14, 2016.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

CLAYTON, J.A. Dry Eye. **The New England Journal of Medicine**, v. 378, p. 2212-2223, 2018.

COLQUITT, J. L.; JONES, J.; TAN, S. C.; TAKEDA, A.; CLEGG, A. J.; PRICE, A. Ranibizumab and pegaptanib for the treatment of age-related macular degeneration: a systematic review and economic evaluation. **Health Technol Assess**, 2009

COLTHURST, M. J. et al. Biomaterials used in the posterior segment of the eye. **Biomaterials**, v.21, p. 649-65, 2000.

CONLON, R., SAHEB, H. E.; AHMED, I. I. K. Glaucoma treatment trends: a review. **Canadian Journal of Ophthalmology**, v.52, p. 114-124, 2017.

CRAVEN, E. R.; WALTERS, T. R.; WILLIAMS, R.; CHOU, C.; CHEETHAM, J. K.; SCHIFFMAN, R. Brimonidine and timolol fixed-combination therapy versus monotherapy: a 3-month randomized trial in patients with glaucoma or ocular hypertension. **J Ocul Pharmacol Ther**, v.21, p. 337-48, 2005.

CURTTS, A. F. R. **Processamento, caracterização e avaliação de biocompatibilidade de blendas de PLGA e Colágeno com potencial utilização para sistema de liberação controlada.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais), Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET/MG), 2018.

DAMICO, F. M. Angiogênese e doenças da retina. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**. v. 70, p. 547-53, 2007.

DASH, A. K.; CUDWORTH, G. C. Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. **J Pharmacol Toxicol Methods**, v,40, pp.1-12, 1998.

DATA SHEET – **719919** - Resomer® RG 752 H; Poly (D,L-Lactide-co-glycolide), CAS 26780-50-7, Sigma-Aldrich, São Paulo, 2020.

DEE, K. C., PUELO, D. A., BIZIOS, R. **Na introduction to tissue-biomaterial interaction.** Nova Iorque: Wiley, 2003.

DE MARIA, A. D. M. **Estudo do revestimento de modelos de stents coronários biorreabsorvíveis de PLLA com PLDLA/PLGA e ácido hialurônico.** Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais). Universidade São Paulo, São Paulo, 2017.

DEMARCO, A. L. G.; RODRIGUES, M. L. V.; DEMARCO, L. A. Perfil oftalmológico de pacientes ingressantes no Setor de Glaucoma de um serviço universitário. **Medicina** v.35, p. 478-486, 2002.

DHINGRA, S.; KHAW, P. T. The Moorfields safer surgery system. **Middle East Afr J Ophthalmol**, v.16, p. 112-115, 2009.

DIAS, L. W. **Preparação de filmes poliméricos biodegradáveis para aplicação em embalagens para cosméticos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) - PUC-RS, Porto Alegre, 2017.

DONATI, S. et al. Vitreous Substitutes: The Present and the Future. **BioMed Research International**, v.14, p. 1-12, 2014.

DUARTE, A. A. P. S, **Avaliação da degradação de matrizes poliméricas biodegradáveis (PLGA), associadas com hormônio do crescimento humano recombinante (RHGH): Estudo in vitro.** Dissertação (Mestrado em Odontologia - área de concentração: Cirurgia e Traum. Buco-Maxilo Facial). Faculdade de Odontologia, PUC-RS, 2014.

EFRON, N. **Contact lens practice.** 3. ed. Elsevier, 2018.

ERBETTA, C. D. C. et al. Síntese e caracterização térmica e química do copolímero Poli (D,L-lactídeo-co-glicolídeo). **Polímeros**, v. 21, n. 5, p. 376-382, 2011.

ESPOSITO, A. R.; LUCCHESI, C.; FERREIRA, B. M. P.; DUEK, E. A. R. Estudo da interação células Vero/PLGA após a modificação da superfície por plasma de oxigênio. **Revista Matéria**, v. 12, n. 1, p. 164 – 172, 2007.

EYLIA (aflibercepte). **[Bula]**. Solução oftálmica injetável. Responsável Técnico Dra. Dirce Eiko Mimura CRF-SP nº 16532. São Paulo: Laboratório Bayer S.A, Registro MS – 1.7056.0097, 2021. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/783746?nomeProduto=Eylia> Acesso em: 20 abr 2022.

FERNANDES, L. L et al. Cytocompatibility of citosan and collagen-citosan scaffolds for tissue engineering. **Polímeros**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2011.

FERREIRA, C. L. **Síntese de nanocompósitos poliméricos PCL/PLG/Nanofibras de polipirrol para aplicação em conduto biocompatível para regeneração nervosa**. Dissertação (Mestrado em engenharia de materiais) - PUC-RS, Faculdade de Engenharia, 2017.

FERREIRA, A. B.; TEIXEIRA, R. R. C. Reestruturação de núcleo de segurança do paciente com aplicação da metodologia lean seis sigma. **Revista de Administração em Saúde**, v. 19, p. 1, 2019.

FERREIRA, A. B.; SALES, A. F. R.; DA SILVA, S. N.; FREITAS, K. M. Influência do colágeno tipo I na propriedade físico-química, morfológica e biológica de blendas poliméricas de PLGA para aplicação oftálmica. **Revista Matéria**, v. 27, n. 1, 2022.

FIALHO, S. L., REGO, M. G. B., CARDILLO, J. A., SIQUEIRA, R. C. et al. Implantes biodegradáveis destinados à administração intra-ocular. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 66, p. 891-896, 2003.

FIALHO, S. L.; CUNHA, A. S. Sistemas de transporte de drogas para o segmento posterior do olho: bases fundamentais e aplicações. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.70, p.173-9, 2007.

FIALHO, S. L.; CUNHA, A. S. Manufacturing techniques of biodegradable implants intended for intraocular application. **Drug Delivery**, v.12, p.109-116, 2013.

FONNER, J. M.; Forciniti, L.; Nguyen, H.; Byrne, J. D.; KouL, Y.; Nawaz, J. S. Biocompatibility implications of polypyrrole synthesis techniques. **Biomed.Mater.**, v. 3, p. 1 – 12, 2008.

FRANCO, M. S. F. et al. Palladium-catalyzed C – H alkenylation of quinoxaline N -oxide enabled by a mono- N -protected amino acid. **Tetrahedron Letters**, v. 59, p. 2562–2566, 2018.

FREITAS, A. K. V. **Desenvolvimento de método para a extração do colágeno a partir do resíduo da indústria do processamento carnes de rã-touro e avaliação do produto para uso industrial**. Dissertação (Mestrado em Química) - CEFET-MG, Belo Horizonte, 2020.

FUNG, A. T.; REID, S. E.; JONES, M. P.; HEALEY, P. R.; MCCLUSKEY, P. J.; CRAIG, J. C. Meta-analysis of randomised controlled trials comparing latanoprost with brimonidine in the treatment of open-angle glaucoma, ocular hypertension or normal-tension glaucoma. **Br. J. Ophthalmol.**, v.91, p.62-8, 2007.

GARCIA FILHO, C. A. A.; PENHA, F. M.; GARCIA, C. A. A. Tratamento da DMRI exsudativa: revisão das drogas antiangiogênicas. **Rev. Bras Oftalmol.**, v. 71, p. 63-9, 2012.

GEDDE, S. J. et al. Treatment outcomes in the Tube Versus Trabeculectomy (TVT) study after five years of follow-up. **Am J Ophthalmol**, v.153, p.789-803, 2012.

GEITZENAUER, W.; MICHELS, S.; PRAGER, F.; KORNEK, G.; VORMITTAG, L.; ROSENFELD, P.; SCHMIDT-ERFURTH, U. Early effects of systemic and intravitreal bevacizumab (avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration. **Klin Monbl Augenheilkd**, v.223, p. 822-7, 2006.

GEITZENAUER, W.; MICHELS, S.; PRAGER, F.; ROSENFELD, P. J.; KORNEK, G.; VORMITTAG, L.; SCHMIDT-ERFURTH, U. Comparison of 2.5 mg/kg and 5 mg/kg systemic bevacizumab in neovascular age-related macular degeneration: twenty-four week results of an uncontrolled, prospective cohort study. **Retina**, v. 28, p. 1375-86, 2008.

GHINATO, P. **Sistema Toyota de produção**: mais do que simplesmente Just-in-time. Caxias do Sul: Ed. da UCS, 1995.

GLAUB (tartarato de Brimonidina). **[Bula]**. Solução oftálmica em gotas. Responsável Técnico Florentino de Jesus Krencas, CRF-SP: 49136. São Paulo: Laboratório UNIÃO QUÍMICA FARMACÊUTICA NACIONAL S/A, Registro MS – 1.0497.1350, 2020. Disponível em:
<https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/496274?nomeProduto=glaub>. Acesso em: 30 maio 2022.

GOFFNETT, S. P. Understanding Six Sigma: implication for industry and education. **Journal of Industrial Technology**, v. 20, n. 4, 2004.

GOLDSTEIN, J. I. et al. **Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis**. 2. ed. New York: Plenum, 1994.

GONÇALVES, M. R.; GUEDES, M. M.; CHAVES, M. A. P.; PEREIRA, C. C. L.; OTTON, R. Análise dos fatores de risco e epidemiologia em campanha de prevenção da cegueira pelo glaucoma em João Pessoa, Paraíba. **Rev Bras Oftalmol.**, v.72, p. 396-9, 2013.

GOMES, A. L. **Preparação de blendas de poli(3-hidroxi-butirato) com derivados de celulose**. Dissertação (Mestrado em química e materiais) -Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química Dep. de Física, 2011.

HASHIZOE, M. et al. Scleral plug of biodegradable polymers for controlled drug release in the vitreous. **Arch Ophthalmol.**, v.112, p. 1380-4, 1994.

GRAHAM, N. B. Polymeric inserts and implants for the controlled release of drugs. **British Polymer Journal**, v. 10, n. 4, p. 260-66, 1978.

GRILL, A. Electrical and optical properties of diamond-like carbon. **Thin Solid Films**, v. 355, p. 189-193, 1999.

GUEDES, R. A. P. As estratégias de prevenção em saúde ocular no âmbito da saúde coletiva e da Atenção Primária à Saúde - APS. **Revista APS**, v.10, p. 66-73, 2007.

GUIMARÃES, H. C.; GERENUTTI, M. Alternativas terapêuticas para o tratamento da degeneração macular relacionada à idade: um desafio para a saúde pública. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, p. 459-468, 2013.

HARRY, M. J. Six Sigma: a breakthrough strategy for profitability. **Quality Progress**, New York, v.31, n.5, p.60-64, May 1998.

HELMUS, M. N.; TWEDEN, K. **Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering**, part A. v. 1. New York: Marcel Dekker, Inc, 1995.

HENRIQUES, A. S. R.; **Sistemas terapêuticos implantáveis de liberação prolongada de fármacos**. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde. 2014.

HERRERO-VANRELL, R.; REFOJO, M. F. Biodegradable microspheres for vitreoretinal drug delivery. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, v. 52, p. 5-16, 2001.

HILLERY, A., LLOYD, A., SWARBRICK, J. **Drug delivery and targeting for pharmacists and pharmaceutical scientists**. New York: Taylor & Francis, 2001.

HOLASH, J. et al. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 99, p. 11393-8, 2002.

HOPKINS, G.; PEARSON, R. **Ophthalmic drugs: diagnostic and therapeutic uses**. 5. ed. Butterworth-Heinemann, 2017.

HUANG, S.; ZHENG, R. Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro. **Cancer Letters**, v. 239, p. 271-280, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Demográfico 2010**, Rio de Janeiro: IBGE, 2012.

IMESCH, P. D.; BINDLEY, C. D.; WALLOW, I. H. L. Clinicopathologic correlation of intraretinal microvascular abnormalities. **Retina**, v. 17, p. 321-9, 1997.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Diabetes atlas**. 8.ed., EUA, 2017. Disponível em: https://diabetesatlas.org/upload/resources/previous/files/8/IDF_DA_8e-EN-final.pdf. Acesso em: 5 de Apr. 2022.

IMANISHI, M. et al. Sequential synthesis, olfactory properties, and biological activity of quinoxaline derivatives. **ACS Omega**, v. 2, p. 1875–1885, 2017.

IONASHIRO, M. G. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial.** São Paulo: Giz, 2005.

ISAAC, D. L. **Comparação do perímetro da hiperacuidade preferencial e a tela de amsler em diferentes estágios da degeneração macular relacionada à idade.** Dissertação (Ciências e Saúde – Oftalmologia Retina e Vítreo) - Universidade Federal de Goiás, 2007.

JAHNO, V. D. **Síntese e caracterização do Poli (l-ácido láctico) para uso como biomaterial.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais –PPGEM) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

JAISSE, G. B.; SZURMAN, P.; BARTZ-SCHMIDT, K. U. German Retina Society; German Society of Ophthalmology; German Professional Association of Ophthalmologists. [Recommendation for the implementation of intravitreal injections - statement of the German Retina Society, the German Society of Ophthalmology (DOG) and the German Professional Association of Ophthalmologists (BVA)]. **Klin Monatsbl Augenheilkd**, v.222, p. 390-5, 2005.

JURAN, J. M., GRYNA, F. M. **Controle da qualidade handbook: métodos estatísticos clássicos e aplicados à qualidade.** 4. ed. São Paulo: Makron Books, v.6, 1992.

JING, C.; JUN, W. Syntheses of amphiphilic biodegradable copolymers of poly (ethyl ethylene phosphate) and poly (3-hydroxybutyrate) for drug delivery. **Science in China Series**. v. 52, p. 961-968, 2009.

JOSE, M. V., THOMAS, V., DEAN, D. R., NYAIRO, E. Fabrication and characterization of aligned nanofibrous PLGA/Colagen blends as bone tissue scaffolds. **Polymer**. v. 50, p. 3778-3785, 2009.

KALASKAR, D. M. et al. Controlling Cell Morphology on Amino Acid-Modified Cellulose. **Soft Matter**. v. 4. p. 1059-1065, 2008.

KAUSHAL, A. M., GUPTA, P., BANSAL, A. K. Amorphous drug delivery systems: molecular aspects, design, and performance. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 21, 2004.

KHANG, G. Handbook of intelligent scaffolds for tissue. **Engineering and Regenerative Medicine**. [S.I.] CRC Press, 2012.

KHAW, P. T.; WELLS, A. P.; LIM, K. S. Surgery for glaucoma in the 21ST century. **Br. J. Ophthalmol.**, v.86, 710-711, 2002.

KHOUBEHI, B.; STRADTMANN, M. O.; PEYMAN, G. A.; ALY, O. M. Clearance of sodium fluorescein incorporated into microspheres from the vitreous after intravitreal injection. **Ophthalmic Surg.**, v. 22, p.175-90, 1991.

KIMURA, H.; OGURA, Y. Biodegradable polymers for ocular drug delivery. **Ophthalmologica**, v.215, p.143-55, 2001

KIM, G. D.; PARK, Y. S.; JIN, Y. H.; PARK, C. S. Production and applications of rosmarinic acid and structurally related compounds. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 2083-2092, 2015.

KIM, J. H., LEE, B. J., KIM, J. H., YU, Y. S., KIM, M. Y., KIM, K. W. Rosmarinic acid suppresses retinal neovascularization *via* cell cycle arrest with increase of p21^{WAF1} expression. **European Journal of Pharmacology**, v. 615, p. 150-154, 2009.

KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H.; SHAHIDI, F. Isolation and characterisation of collagen from the skin of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium Punctatum*). **Food Chemistry**, v. 119, p. 1519–1526, 2010.

KLEIN, R.; KNUDTSON, M. D.; LEE KE, G. R.; KLEIN, B. E. K. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XXII. **The Twenty-Five-Year Progression of Retinopathy in Persons with Type 1 Diabetes**. v. 6, p. 1249–54, 2009.

KLIFFEN, M.; SHARMA, H. S.; MOOY, C. M.; KERKVLIT, S.; JONG, P. T. Increased expression of angiogenic growth factors in age related maculopathy. **Br. J. Ophthalmol.**, v.81, p.154-62, 1997.

KOST, J.; LANGER, R. Responsive polymeric delivery systems. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, v. 64, p. 327-341, 2012.

KNOLL, A. et al. A comparison of two controlled-release delivery systems for the delivery of amiloride to control angiogenesis. **Microvascular Research**, v. 58, p. 1-9, 1999.

KROHNE, T. U.; ETER, N.; HOLZ, F. G.; MEYER, C. H. Intraocular pharmacokinetics of bevacizumab after a single intravitreal injection in humans. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 146, p. 508-12, 2008.

KULKARNI, R. K.; PANI, K. C.; NEUMAN, C.; LEONARD, F. Polyactic acid for surgical implants. **Arch, Surg.**, v. 93, p. 839-43, 1966.

KUMARI, R. et al. Intra ocular lens technology - a review of journey from its inception. **Ophthalmology Research: An International Journal.**, p. 1-9, 2020.

KURZ, D.; CIULLA, T. A. Novel approaches for retinal drug delivery. **Ophthalmol. Clin. North. Am.**, v.15, p.405-10, 2002.

LALWANI, G. A.-. et al. A variable-dosing regimen with intravitreal ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: year 2 of the pronto study. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 148, p. 43-58, 2009.

LEUNG, D. W. et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. **Science**, v.246, p.1306-9, 1989.

LEWIS, I. R.; EDWARDS, H. G. M. **Handbook of RAMAN spectroscopy**: from the research laboratory to the process line. Nova Iorque: Science; 2001.

LOON, S. C.; LIEW, G.; FUNG, A.; REID, S. E.; CRAIG, J. C. Meta-analysis of randomized controlled trials comparing timolol with brimonidine in the treatment of glaucoma. **Clin. Experiment. Ophthalmol.**, v.36, p. 281-9, 2008.

LIMA, V. C. W; MELLO, O. A. A; PRATA JUNIOR, J. A. Ciclotocoagulação com laser diodo em glaucoma refratário, resultado a longo prazo. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v. 66, p. 449-52, 2003.

LINDERMAN, K. et al. Six sigma: a goal-theoretic perspective. **Journal of Operations Management.**, v. 21, n. 2, p.193-203, 2003.

LIU, D.; S.; LIANG, L.; REGENSTEIN, J.; M.; ZHOU, P. Extraction and characterization of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). **Revista Food Chemistry**. p. 1441–1448, 2012.

LIU, H.; WANG, S.; QI, N. Controllable structure, properties, and degradation of the electrospun PLGA / PLA-blended nanofibrous scaffolds. **Polymer Science**, v. 125, p. E468 – E476, 2012.

LIU, Q.-et al., In vitro and in vivo study of thymosin alpha 1 biodegradable in situ forming poly(lactide-co-glycolide) implants. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 397, p. 122-129, 2010.

LOO, S. C. J. et al. Effect of isothermal annealing on the hydrolytic degradation rate of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA). **Biomaterials**, v. 26, p. 2827–2833, 2005.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 27, p. 670, 2004.

LUCENTIS (ranibizumabe). **[Bula]**. Solução oftálmica injetável. Responsável Técnico Flavia Regina Pegorer – CRF-SP N° 18.150. São Paulo: Laboratório Novartis Biociências S.A., Registro MS – 1.0068.1056, 2022. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/511427?nomeProduto=LUCENTIS>. Acesso em: 23 maio 2022.

MAESTRINI, H. A. **Recuperação tardia da trabeculectomia através do agulhamento com mitomicina C**. Dissertação (Doutorado em Medicina – Oftalmologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

MAIA, M. et al. Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v.25, p.7-10, 2010.

MAKADIA, H. K., SIEGEL, S. J. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery Carrier. **Polymers**, n. 3, p. 1377-1397, 2011.

MANNHEIMER, W. A. **Microscopia dos materiais: uma introdução**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2002.

MANO, E. B. **Polímeros como materiais de engenharia**. São Paulo: Editora Edgar Blucher LTDA, 1991.

MARQUES, R. D.; SANTOS, L. A. **Caracterização de blenda de Poli (Ácido Láctico-co-Glicólico) Poliisopreno para aplicação como biomaterial**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Brasil, 2012.

MARQUES, D. R. **Fibras de Poli(Ácido láctico-co-glicólico)/Poliisopreno para aplicação em engenharia de tecidos**. Tese (Doutorado em engenharia de materiais) - Porto alegre UFRS, 2015.

MARTIN, D. F., MAGUIRE, M. G., YING, G., GRUNWALD, J. E. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. **The New England Journal of Medicine**, v. 364, n. 20, p. 1897-1908, 2011.

MICHELLE, R. G.; MARIELLE, M. R. G.; MARIO, A. P. D. C.; CARLA, C. L. P.; ROSEMARI, O. Análise dos fatores de risco e epidemiologia em campanha de prevenção da cegueira pelo Glaucoma em João Pessoa. , v.72. p. 20-5, 2013.

MICHELS, S.; ROSENFELD, P. J.; PULIAFITO, C. A.; MARCUS, E. N.; VENKATRAMAN, A. S. Systemic bevacizumab (Avastin) therapy for neovascular age-related macular degeneration twelveweek results of an uncontrolled open-label clinical study. **Ophthalmology**, v. 112, p 1035-47, 2005.

MISRA, N. L.; SINGH MUDHER, K. D. Total reflection X-ray fluorescence: a technique for trace element analysis in materials. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 45, n. 1-2, p. 65- 74, 2002.

MOHAMED, Q.; GILLIES, M. C.; WONG, T. Y. Management of diabetic retinopathy. **JAMA**, v. 298, p. 902, 2017.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística. aplicada e probabilidade para engenheiros** 2. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2003.

MOREIRA, C. D. F. **Avaliação da adição de colágeno tipo I e nanopartículas de vidro bioativo a hidrogéis termossensíveis de quitosana para uso na engenharia de tecido**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MORITERA, T. et al. Microspheres of biodegradable polymers as a drug-delivery system in the vitreous. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v.32, p. 1785-90, 1991.

MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Síntese, caracterização e degradação “*in vitro*” do poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico). **Revista Matéria**, v. 11, n. 3, p. 340-350, 2006.

MOURA, L. M. **Produção, caracterização e avaliação da biocompatibilidade de blendas de PLGA e PHB**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MUYONGA, J.; H.; COLE, C.; G.; B.; DUODU, K.; G. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v. 86, p. 325–332, 2004.

NATHAN, D. M. Long-term complications of Diabetes Mellitus. **N Engl J Med**. v.328, p. 1676-85, 1993.

NEHEMY, M. B. Degeneração macular relacionada à idade: novas perspectivas. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.69, p. 955-8, 2006.

NEHEMY, M. B. Retinopatia diabética. **Arqv. Bras. Oftal.**, v. 61, p. 366-77, 1998.

NGUYEN, Q. D.-et al. A phase I study of intravitreal vascular endothelial growth factor trap-eye in patients with neovascular age-related macular degeneration. **Ophthalmology**, v.116, p.2141-8, 2009.

NGUYEN, Q. H. Primary surgical management refractory glaucoma: tubes as initial surgery. **Curr. Opin. Ophthalmol.**, v. 20, n. 2, p. 122-5, 2009.

NGUYEN, J.; WERNER, L. **Intraocular lenses for cataract surgery**. New York: Webvision: The Organization of the Retina and Visual System, 2017.

NICOLAÏ, M. **Biomateriais em oftalmologia**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, 2018.

NIKOLOVA, M. P.; CHAVALI, M. S. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: a review. **Bioactive Materials**, v. 4, pp. 271–292, Dec. 2019.

OGAWA, K. et al. Three D structures of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 34, p. 1-8, 2004.

OHLWEILER, O. A. **Métodos instrumentais de análise química**. São Paulo: Livros Técnicos e Científicos, 1978.

OHNO, T. **O sistema Toyota de produção: Além da produção em larga escala**. Porto Alegre: Bookman, 1997.

OLIVEIRA, J. A. D. M. M. **Implante laminar de drenagem para o tratamento cirúrgico de glaucoma refratário em olhos cegos dolorosos: técnica cirúrgica, efeitos sobre a pressão intraocular, sobre a dor e complicações pós-operatórias**. Dissertação (Doutorado em Medicina- Oftalmologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Média, 2006.

OTAVIANO, J. A. A.; ÁVILA, M. P.; UMBELINO, C. C.; TALEB, A. C. As condições de saúde no Brasil. CONSELHO BRASILEIRO DE OFTAMOLOGIA (CBO). Rio de Janeiro, **Anais ...**, 2019. Disponível em:

https://www.cbo.com.br/novo/publicacoes/condicoes_saude_ocular_brasil2019.pdf.

Acesso em: mar. 2022.

OZAL, S. A. et al. Uma inovação na cirurgia de glaucoma: implante de endoprótese de gel XEN45. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.80, p. 382-385, 2017.

PALLETA, R. A. Cirurgias micro-invasivas do glaucoma. Vale a pena? **Rev. Bras. Oftalmol.**, v.78, p. 217-8, 2019.

PAN, J. **Modelling degradation of bioresorbable polymeric medical devices**. Elsevier, p.265, 2015.

PANDURANGA, R. A. O. Recent developments of collagen-based materials for medical applications and drug delivery systems. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 7, n. 7, pp. 623–645, 1995.

PHAM, T. Q.; ROCHTCHINA, E.; MITCHELL, P.; SMITH, W.; WANG, J. J. Sunlight-related factors and the 10-year incidence of age-related maculopathy. **Ophthalmic Epidemiol.**, v.16, p. 136-41, 2009.

PEDROSO, M. G. V. **Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA**. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

PIRES, A. L. R., BIERHALZ, A. C. K., MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v.38, p.957-971, 2015.

QADEER, S. A. Acrylic gonio-subconjunctival plates in glaucoma surgery. **Br. J. Ophthalmol.**, v. 38, n. 6, p. 353-6, 1954.

QUIGLEY, H. A.; BROMAN, A. T. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. **Br. J. Ophthalmol.**, v.90, p. 262-7, 2006.

RAMALHO, C. M.; RIBEIRO, L. N.; OLIVIERI, L. S.; SILVA, J. A.; VALE T. C.; DUQUE, W. Perfil socioeconômico dos portadores de glaucoma no serviço de oftalmologia do hospital universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora - Minas Gerais - Brasil. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.70, p. 809-13, 2007.

RAMANAUSKIENE, K.; RAUDONIS, R.; MAJIENE, D. Rosmarinic acid and melissa officinalis extracts differently affect glioblastoma cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 10, 2016.

RATNER, B. D. History of biomaterials. In: RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; Lemons, J. E. (Eds). **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. Oxford: Elsevier, 2013, cap. 8.

RAWAS-QLAJI, M.; WILLIAMS, C. Advances in ocular drug delivery. **Current Eye Research**, v. 37, p. 345-356, 2012.

RCM Ozurdex® (2010). **Resumo das características do medicamento (RCM) Ozurdex**. EMEA. Disponível em: <http://www.infarmed.pt>. Acesso em: 05 maio 2022.

REDDY, N., REDDY, R., JIANG, Q. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. **Trends in Biotechnology**, p. 1-8, 2015.

REGILLO, C. D.; BROWN, D. M.; ABRAHAM, P.; YUE H, I. V. T.; SCHNEIDER, S.; SHAMS, N. Randomized, double-masked, shamcontrolled trial of ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration: PIER Study year 1. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 145, p. 239-248, 2008.

RESNIKOFF, S.; KOCUR, I.; ETYA'ALE, D.E; UKETY, T. O. Vision 2020 — the right to sight. TROPICAL MEDICINE & PARASITOLOGY, **Anais...**, 2020. Disponível em: Citations: Vision 2020 — the Right to Sight (tandfonline.com). Acesso em: Jan. 2022.

REZENDE, C. A.; DUEK, E. A. R. - Blendas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)/poli ácido láctico: degradação in vitro. **Polímeros: ciência e tecnologia**. v. 13, n. 1, p. 36-44, 2003.

ROBINSON, J.; LEE, V. **Controlled drug delivery: fundamentals and application**. New York. Marcel Dekker INC, 2. ed. v.29, p. 482-523; p. 556-571, 1987.

RODRIGUES, E. B. et al. Técnica para injeção intravítrea de drogas no tratamento de doenças vítreoretinianas. **Arq. Bras. Oftalmol.**, v.71, p. 902-7, 2008.

RODRIGUES, T. C. et al. Caracterização de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 do sul do Brasil: complicações crônicas e fatores associados. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 56, p. 67-73, 2010.

RUBSAMEN, P. E. et al. Prevention of experimental proliferative vitreoretinopathy with a biodegradable intravitreal implant for the sustained release of fluorouracil. **Arch. Ophthalmol.**, v.112, p. 407-13, 1994.

ROLIM, A. E. H. **Estudo in vivo de materiais biomiméticos, associados ou não à administração enteral de estrôncio, para reparo de defeito ósseo**. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

RODRIGUES, M. V. **Entendendo, aprendendo e desenvolvendo sistemas de qualidade Seis Sigma**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

SADEGHI-AVALSHAHR, A.; NOKHASTEH, S.; MOLAVI, A. M.; KHORSAND-GHAYENI, M. Synthesis and characterization of collagen/PLGA biodegradable skin scaffold fibers. **Regenerative Biomaterials**, v. 4, p. 309-314, 2015.

SAHIN, A. Design for Six Sigma (DFSS): lessons learned from world-class companies. **International Journal of Six Sigma and Competitive Advantage**, v. 4, n. 1, 2008.

SAI, K. P.; BABUU, M.; SAI, K. P.; BABU, M. Studies on Rana tigerina skin collagen. Comparative biochemistry and physiology part B. **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 128, p. 81–90, 2010.

SALIBA, J. B.; FARACO, A. A. G.; YOSHIDA, M. I.; VASCONCELOS, W. L.; CUNHA, A. S.; MANSUR, H. S. Development and characterization of na intraocular biodegradable polymer system containing cyclosporine-a for the treatment of posterior uveitis. **Materials Research**, v. 11, n. 2, p. 207-211, 2008.

SANTOS, M. H. et al. Extraction and characterization of highly purified collagen from bovine pericardium for potential bioengineering applications. **Materials Science and Engineering**, v. 33, n. 2, p. 790–800, 2013.

SCHRÖDER, S.; PALINSKI, W.; SCHMID-SCHÖNBEIN, S. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. **Am. J. Pathol.**, v. 139, p. 81-98, 1991

SENGER, D. R.. et al. Purification and NH₂-terminal amino acid sequence of guinea pig tumor-secreted vascular permeability factor. **Cancer Res.**, v.50, p.1774-8, 1990.

SHAFFER, R. N.; WEISS, D. I. Infantile glaucoma: diagnosis and differential diagnosis. In: CONGENITAL AND PEDIATRIC GLAUCOMAS, 1970. **Proceddings...**The C. V. Mosby, St. Louis, p. 37-59, 1970.

SHARMA, A.; SHARMA, U. S. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. **Int. J. Pharm.**, v.154, p.123-40, 1997.

SHINGO, S. **O Sistema Toyota de produção do ponto de vista da engenharia de produção**.2. ed. Porto Alegre: Bookman, 1996.

SIEPMANN, J.; SIEGEL, R.; RATHBONE, M. Fundamentals and applications of controlled release drug delivery. London. **Springer**, v.107, p.289-328, 2012.

SILVA, J. S. P. **Estudo das características físico-químicas e biológicas pela adesão de osteoblastos em superfície de titânio modificadas pela nitretação em plasma**. Tese (Doutorado em Medicina rRegenerativa) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SILVA, R. et al. Implants as drug delivery devices for tratment of eye diseases. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.46, p. 585-595, 2010.

SILVA, A. T. C. R. et al. Synthesis, characterization, and study of PLGA copolymer in vitro degradation. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, v. 6, n. 1, p. 8-19, 2015.

SILVA, A. T.C.R. **Síntese e caracterização do copolímero PLGA e estudos in vitro de sua degradação e liberação do fármaco Atenolol**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - UFMG, Belo Horizonte, 2015.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, p. 31-36; p. 317-342, 2009

SOUZA, T. T. et al. Perfil clínico epidemiológico de pacientes com glaucoma encaminhados ao serviço de oftalmologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Epidemiological profile of patients with glaucoma sent to HU-UFSC ophthalmology service. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 40, P. 132-41, 2011.

SOUZA, J. F. **Desenvolvimento e Análise de Eficácia de Implantes Oculares Biodegradáveis à Base de Quitosana e Tartarato de Brimonidina para Tratamento de Glaucoma**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de São João Del-Rei, 2015.

SPAETH, G. L.; BERNSTEIN, P.; CAPRIOLI, J.; SCHIFFMAN, R. M. Control of intraocular pressure and fluctuation with fixed-combination brimonidine-timolol versus brimonidine or timolol monotherapy. **Am. J. Ophthalmol.**, v.93, p.93-9, 2011.

SPERLING, L. **Introduction to physical polymer Science**. 4. ed. Estados Unidos: Wiley, 2006.

STEHFEST, K. et al. Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool to determine rosmarinic acid in situ. **Journal Of Plant Physiology**, v. 161, p. 151-6, 2004.

STEVENS, G. A. et al. Global prevalence of vision impairment and blindness: magnitude and temporal trends, 1990-2010. **Ophthalmology**, v. 120, n. 12, p. 2377-2384, 2013.

TA, C. N. Minimizing the risk of endophthalmitis following intravitreal injections. **Retina**, v.24, p. 699-705, 2004.

TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications. **J. R. Soc. Interface.**, v. 6, p.311-324, 2009.

TAN, D. T. H. et al. Randomized clinical trial of surodex steroid drug delivery system for cataract surgery. **Ophthalmology**, v. 108, n. 12, p. 2172 – 2181, 2001.

Tartarato de Brimonidina. **[Bula]**. Solução oftálmica em gotas. Responsável Técnico Dra. Telma Elaine Spina, CRF-SP nº 22.234., São Paulo: Laboratório EMS S/A, Registro MS – 1.0235.1386, 2022. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/1299292?nomeProduto=TARTARATO%20DE%20BRIMONIDINA>. Acesso em 30 maio 2022.

Tartarato de Brimonidina. **[Bula]**. Solução oftálmica em gotas. Responsável Técnico Gabriela Mallmann - CRF-SP nº 30.138. São Paulo: Laboratório Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A, Registro MS – 1.0573.0614, 2021. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/1300774?nomeProduto=TARTARATO%20DE%20BRIMONIDINA> Acesso em 01 jan 2022.

Tartarato de Brimonidina. **[Bula]**. Solução oftálmica em gotas. Responsável Técnico Flavia Regina Pegorer – CRF-SP Nº 18.150. São Paulo: Laboratório Novartis Biociências S.A., Registro MS – 1.0068.1085, 2021. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/880476?nomeProduto=TARTARATO%20DE%20BRIMONIDINA>. Acesso em: 01 jan. 2022.

THITISET, T. et al. Development of collagen/demineralized bone powder scaffolds and periosteum-derived cells for bone tissue engineering application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 2056-2071, 2013

TIEN, Y.; WONG, CHUI MING, G. C. M. L.; SHARMA, S.; SIMÓ, R. Diabetic retinopathy. **Nat. Rev. Dis. Prim.**, v.30, p.306-309, 2016.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p.943-948, 2002.

TORRES, M. A.; VIEIRA, R. S.; BEPPU, M. M.; SANTANA, C. C. Produção e caracterização de microesferas de quitosana modificadas quimicamente. **Polímeros**, v.15, n.4, p.306-312, 2005.

TORIS, C. B.; CAMRAS, C. B.; YABLONSKI, M. E. Acute versus chronic effects of brimonidine on aqueous humor dynamics in ocular hypertensive patients. **Am J Ophthalmol**. v.128, p.08-14, 1999.

TRAD, S.; MAXIMILIANO, A. C. A. Seis Sigma: fatores críticos de sucesso para sua implantação. **RAC**. v. 13, n. 4, art. 7, p. 647-662, 2009.

USHIKI, T. Collagen fibers, reticular fibers, elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. **Arch. Histol. Cytol**, v.65, n.2, p. 109-126, 2002.

VAN DER VALK, R.; WEBERS, C A.; SCHOUTEN, J. S.; ZEEGERS, M. P.; HENDRIKSE, F.; PRINS, M. H. Intraocular pressure-lowering effects of all commonly used glaucoma drugs: a meta-analysis of randomized clinical trials. **Ophthalmology**, v.112, p .1177-85, 2005.

VARMA, R. et al. Prevalence of and risk factors for diabetic macular edema in the United States. **JAMA Ophthalmol.**, v. 132, p, 1334–40, 2014

VERAS, K. S. **Ácido rosmarínico**: complexação com ciclodextrinas, avaliação do potencial antioxidante in vitro e estudo de compatibilidade com excipientes com vistas ao desenvolvimento de formulação sólida oral. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017.

VIDOTTI, V. G.; COSTA, V. P.; SILVA, F. R.; RESENDE, G. M.; CREMASCO, F.; DIAS, M.; GOMI, E. S. Sensitivity and specificity of machine learning classifiers and spectral domain OCT for the diagnosis of glaucoma. **European Journal of Ophthalmology**, v. 23, p. 61-69, 2013.

VIEIRA, L.C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada de Ácido Rosmarínico para o tratamento de doenças oculares causadoras de neovascularização**: obtenção e caracterização dos sistemas. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

VIEIRA, L. C et al. Rosmarinic acid intravitreal implants: a new therapeutic approach for ocular neovascularization. **Planta Med.**, v. 86, n. 17, p. 1286-1297, 2020.

WANG, N. T. et al. A strategy for rapid and facile fabrication of controlled, layered blood vessel-like structures. **RSC Adv.**, v. 6, p. 55054–63, 2016.

WEBERS, C. A.; VAN DER VALK, R.; SCHOUTEN, J. S.; ZEEGERS, M. P.; PRINS, M. H.; HENDRIKSE, F. Intraocular pressure-lowering effect of adding dorzolamide or latanoprost to timolol: a meta-analysis of randomized clinical trials. **Ophthalmology**, v.114, p. 40-6, 2007.

WELLS, J. A. et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in the vitreous of patients with subretinal neovascularisation. **Br. J. Ophthalmol.**, v.80, p. 363-6, 1996.

WERKEMA, M. C. **Lean Six Sigma: Introdução às ferramentas do Lean Manufacturing**. Nova Lima: Werkema, v. 4, 2004.

WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v.30, p. 5897- 909, 2009.

WOMACK, J. P.; JONES, D.T.; ROOS, D. **A máquina que mudou o mundo**. 14. ed. Rio de Janeiro: Campus; 1992

WU, E. I. H. Review of corneal inlays for presbyopia. **Advances in Ophthalmology and Optometry**, v.2, p. 355-65, 2017.

YANG, J. et al. Antibody conjugated magnetic PLGA nanoparticles for diagnosis and treatment of breast cancer. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, p. 2695-2699, 2007.

XIE, X.H. et al. Biofabrication of a PLGA–TCP-based porous bioactive bone substitute with sustained release of icaritin. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 9, n. 8, p. 961–972, 2015.

YANNUZZI, L. A. et al. Retinal angiomatous proliferation in age-related macular degeneration. **Retina**, v. 21, p. 416-34, 2001.

YASUKAWA, T., OGURA, Y., SAKURAI, E., TABATA, Y., KIMURA, H. Intraocular sustained drug delivery using implantable polymeric devices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 2033-2046, 2005.

YÜKSEL, N. et al. A comparison of the short-term hypotensive effects and side effects of unilateral brimonidine and apraclonidine in patients with elevated intraocular pressure. **Ophthalmologica**, v. 216, p.45-49, 2002.

ZHANG, Y.; XUE, C.; XUE, Y.; GAO, R.; ZHANG, X. Determination of the degree of deacetylation of chitin and chitosan by X-ray powder diffraction. **Carbohydrate Research**, v.340, p. 1914–1917, 2005.

ZHANG, S. et al. Beyond solvents and electrolytes: ionic liquids-based advanced functional materials. **Progress in Materials Science**, v. 77, p. 80–124, 2016.

ZHAO, Yet al. Sustained release of brimonidine from BRI@SR@TPU implant for treatment of glaucoma. **Drug Delivery**, v. 29, n.1, p. 613-623. 2022.

ZHU, Q.; ZIEMSEN, F.; HENKE-FAHLE, S.; TATAR, O.; SZURMAN, P.; AISENBREY, S.; SCHNEIDERHAN-MARRA N.; XU, X. Tübingen Bevacizumab Study Group, Grisanti S. Vitreous levels of bevacizumab and vascular endothelial growth factor-A in patients with choroidal neovascularization. **Ophthalmology**, v.115, p. 1750-5, 2008.

APÉNDICES

APÊNDICE A - QUADRO DE AVALIAÇÃO DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

AVALIAÇÃO DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA								
Qualis Capes	Ano	Tema	Palavras chave					
B1	2013	Implante biodegradáveis intraoculares	Implante	Biodegradável	Colágeno	Quitosana	Hidrogel	Córnea
A2	2012	Sistema polimérico de entrega de drogas	Polímeros	Drogas	Biodegradável	Antiangiogênico	Intravítreo	
A2	2012	Tratamento com drogas antiangiogênicas	Drogas	Antiangiogênico	Colágeno	DMRI	RD	
B1	2015	Polímeros em oftalmologia	Polímeros	Biodegradável	Colágeno	RD	Antiangiogênico	
B3	2017	Silicone intra vítreo no transporte de drogas	Silicone	Drogas	DMRI	Intravítreo	Óleo de Silicone	
A1	2020	Dispositivos microinvasivos para Glaucoma	Microinvasivos	Glaucoma	Drogas	antiglaucomatosa		
B2	2016	Implante de dispositivo para liberação controlada de drogas	Liberação controlada	Drogas	Antiangiogênico	Biodegradável	DMRI	Intravítreo
B3	2015	Transporte de drogas para o Glaucoma	Drogas	Glaucoma	Transporte	antiglaucomatosa	Biodegradável	Intravítreo
B1	2017	Implante de filme biodegradável na córnea	Biodegradável	Córnea	Filme	Drogas	Polímero	
A2	2018	Impressão de córnea 3D	Impressão	Córnea	3D	Polímero	Biodegradável	
B2	2014	Lente terapêutica biodegradável	lente	Biodegradável	Polímero	Colágeno	Olho seco	
B3	2015	Polímero para regeneração de córneas ulceradas	Polímero	Córnea	Regeneração	Biodegradável	Olho seco	
A2	2017	Implante subconjuntival antiglaucomatosa	Implante	antiglaucomatosa	Polímero	Glaucoma	Subconjuntival	
A1	2019	Dispositivo antiglaucomatosa para liberação de drogas	Dispositivo	Liberação de drogas	Antiangiogênico	DMRI	RD	Intravítreo
B2	2015	Polímero biodegradável de dexametasona	Polímero	Dexametasona	Biodegradável	Drogas	Antiangiogênico	
A3	2015	Implante de silicone incorporado com vancomicina	Implante	Silicone	Vancomicina	Intravítreo	Óleo de Silicone	
B3	2017	Implante de antiangiogênico em RD	Implante	Antiangiogênico	RD	DMRI	Intravítreo	
B2	2018	Implante de duto de Hidrogel	Glaucoma	Hidrogel	antiglaucomatosa	Subconjuntival	Intravítreo	
B3	2015	Filme de colágeno com antiangiogênio	Filme	Colágeno	DMRI	Antiangiogênico	Subconjuntival	
B3	2013	Óleo de silicone com antiangiogênico incorporado	DMRI	Antiangiogênico	Polímero	Biodegradável	RD	Óleo de Silicone
B2	2017	Impressão de válvula subconjuntival para fluxo do humor aquoso	Córnea	Olho seco	Filme	Impressão	Glaucoma	3D

B2	2016	Filme de quitosana para revertimento de válvula	antiglaucomatosa	Glaucoma	Filme	Quitosana	Válvula	
A1	2020	Implante subconjuntival de drogas	Antiangiogênico	Drogas	DMRI	RD	Subconjuntival	
A2	2020	Filme de quitosana para tratamento do pterígio	Quitosana	Filme	Pterígio	Olho seco		
A3	2019	Scaffold para glaucoma	Colágeno	Polímero	Biodegradável	Agulhamento	Subconjuntival	Glaucoma
A1	2020	Dispositivo microinvasivo para glaucoma	Glaucoma	Subconjuntival	antiglaucomatosa	Istent	Agulhamento	
B2	2018	Antiangiogênico incorporado a PLA	DMRI	RD	Intravítreo	Antiangiogênico	PLA	
B3	2015	Dexametasona intravítrea com colágeno	Colágeno	RD	Drogas	Intravítreo	Dexametasona	
A2	2015	Impressão de filme de colágeno	Colágeno	Olho seco	Córnea	Impressão	3D	
B3	2017	Drogas incorporadas em óleo de silicone	Drogas	Antiangiogênico	Óleo de Silicone			
B2	2014	Comparativo entre válvulas e Istents	Istent	Microinvasivos	Glaucoma	antiglaucomatosa	Válvula	
B2	2019	Comparação entre procedimento microinvasivo e agulhamento	Glaucoma	Microinvasivos	antiglaucomatosa	Agulhamento		
B3	2014	Proposta de válvula subconjuntival	Istent	Subconjuntival	Glaucoma	Microinvasivos	Válvula	
A1	2018	Antiangiogênico incorporado em óleo de silicone	Antiangiogênico	Drogas	Óleo de Silicone			
B3	2020	Uso de quitosana subconjuntival após agulhamento	Agulhamento	Quitosana	Subconjuntival	Glaucoma		
B2	2020	Scaffold para pterígio	Polímero	Biodegradável	Colágeno	Subconjuntival	Pterígio	
B3	2013	Drogas intravítreas para glaucoma	Intravítreo	Glaucoma	antiglaucomatosa			
B3	2014	Polímero de liberação de antiangiogênico	Polímero	DMRI	Drogas	Antiangiogênico	RD	
A2	2015	Polímero para liberação de antiangiogênico e dexametasona	Antiangiogênico	DMRI	RD	Intravítreo	Dexametasona	
A1	2016	Dispositivos microinvasivos	Istent	Glaucoma	Microinvasivos	antiglaucomatosa		
B3	2014	Implante de colágeno e quitosana para tratameno da RD	Colágeno	RD	Quitosana	Dexametasona		
B2	2017	Polímero com implante de antiangiogênico	Polímero	DMRI	Antiangiogênico	Ácido Rosmarínico	Colágeno	
A2	2019	Cola biológica de colágeno para pterígio	Olho seco	Colágeno	Subconjuntival	Córnea	Pterígio	Cola Biológica
B2	2015	Tranposte de drogas com Hidrogel e Quitosana	Antiangiogênico	Drogas	Quitosana	Hidrogel		
B2	2019	Polímero para regeneração de córneas ulceradas	Polímero	Biodegradável	Olho seco			
B3	2020	Incorporação de dexametasona	Polímero	RD	Intravítreo	Óleo de Silicone	Dexametasona	

		em óleo de silicone						
A2	2019	Farmacocinética de antiangiogênico em óleo de silicone	DMRI	RD	Intravítreo	Drogas	Antiangiogênico	Óleo de Silicone
B3	2016	Revestimento de Istent	Istent	antiglaucomatosa	Glaucoma	Agulhamento	Titânio	Heparina
B3	2017	Comparativo entre agulhamento e Microinvasivos	Glaucoma	Istent	Microinvasivos	antiglaucomatosa	Agulhamento	
A2	2015	Técnica cirúrgica de MIGS	antiglaucomatosa	Glaucoma	Microinvasivos			
B3	2013	Impressão de tubo para via lacrimal	Titânio	Colágeno	Olho seco	Córnea	Impressão	
B3	2014	Polímero para tratamento de RD	RD	Antiangiogênico	Drogas	Polímero		
A2	2015	Dispositivos microinvasivos	Glaucoma	Istent	antiglaucomatosa	Microinvasivos		
B3	2016	Implante de colágeno e quitosana para transporte de fármaco	Subconjuntival	Colágeno	Quitosana	Antiangiogênico		
B2	2018	Impressão de matriz para transplante de córnea	Polímero	Colágeno	Biodegradável	Impressão	Cola biológica	Transplante
B3	2014	Implante de óleo de silicone intravítreo com dexametasona	RD	Intravítreo	Óleo de Silicone	Dexametasona		
B3	2018	Dispositivo microinvasivo para aplicação de droga antiangiogênica	Antiangiogênico	DMRI	Titânio	Microinvasivo		
B3	2018	Revestimento de Istent	Istent	antiglaucomatosa	Glaucoma	Microinvasivos	Titânio	
B2	2014	Cerâmica para substituição temporária de córnea	Olho seco	Córnea	Cerâmica	Transplante	Fio de ouro	
A1	2020	Impressão 3D de Filme para córnea	Córnea	Olho seco	Filme	3D	Pterígio	
B2	2019	Implante de polímero biodegradável para liberação de drogas	Polímero	Biodegradável	Antiangiogênico	DMRI	RD	Drogas
B3	2018	Implante de polímero biodegradável para liberação de drogas	Polímero	RD	Intravítreo	Dexametasona		
A2	2017	Uso de cola biológica após agulhamento	Istent	antiglaucomatosa	Agulhamento	Cola Biológica		
A1	2016	Impressão de córnea	Córnea	Olho seco	Filme	Impressão	Colágeno	
B3	2018	Uso de fio de ouro para correção da ptose	Olho seco	Subconjuntival	Fio de ouro	Ptose		
B3	2018	Polímero com fármaco na substituição do óleo de silicone	Antiangiogênico	Drogas	Polímero	Óleo de Silicone		
B3	2015	Dispositivo para retirada de óleo de silicone	Subconjuntival	Óleo de Silicone	Trocater			
B2	2017	Polímero para tratamento da RD	Polímero	RD	Biodegradável			

A2	2017	Dispositivo micro invasivo para controle do Glaucoma	Glaucoma	antiglaucomatosa	Istent	Microinvasivos		
B3	2014	Incorporação de drogas no óleo de silicone	Antiangiogênico	Intravítreo	Óleo de Silicone	Drogas		
B3	2013	Scaffold para glaucoma	Glaucoma	Subconjuntival	antiglaucomatosa	Agulhamento		
B3	2015	Quitosana com incorporação de antiangiogênico	Antiangiogênico	RD	Drogas	Quitosana		
A1	2017	Impressão 3D de filme para córnea	Colágeno	Olho seco	Filme	Impressão	3D	Pterígio
B3	2013	Polímero subconjuntival para tratamento do glaucoma	Glaucoma	Polímero	Biodegradável	Subconjuntival	antiglaucomatosa	
B3	2014	Implante cerâmico	Implante	Istent	Glaucoma	Microinvasivos	Cerâmica	
B2	2016	Filme de polímero e colágeno para transplante subconjuntival	Polímero	Colágeno	Filme	Subconjuntival	Transplante	
B3	2019	Efeito de drogas intravítreas em olhos com óleo de silicone	DMRI	Drogas	Intravítreo	Óleo de Silicone		
A2	2020	Impressão de scaffold de colágeno para glaucoma	Colágeno	Implante	Impressão	Glaucoma		
A2	2015	Polímero de quitosana com colágeno para transporte de drogas antiangiogênicas	Antiangiogênico	Polímero	Colágeno	RD	Quitosana	
A1	2020	Impressão 3D de filme para córnea	Olho seco	Subconjuntival	Córnea	Filme	Impressão	3D
B3	2014	Colágeno no transporte de drogas	Antiangiogênico	Drogas	Colágeno	DMRI		
B2	2014	Polímero para pós operatório de pterígio	Polímero	Colágeno	Olho seco	Córnea	Transplante	Pterígio
B3	2016	Scaffold subconjuntival para agulhamento	Glaucoma	antiglaucomatosa	Subconjuntival	Agulhamento		
B3	2012	Transporte de drogas antiangiogênicas	DMRI	Antiangiogênico	Drogas	Intravítreo	Transporte	

Quadro com os 84 trabalhos. Da esquerda para a direita: classificação Qualis CAPES, ano de publicação, tema, palavras chave.

Fonte: Do autor.

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO DE PESQUISA DO TEMA POR RELEVÂNCIA

Questionário e pesquisa

Nome: _____

Especialidade: _____

Qual pesquisa seria mais relevante, gentileza dar nota de 0 a 10, sendo 10 mais relevante.

Filme de material biodegradável (PLGA – Colágeno), para tratamento de úlcera de córnea.

NOTA _____

Implante de polímero biodegradável de antiangiogênico

NOTA _____

Implante de óleo de silicone com antiangiogênico associado.

NOTA _____

Implante subconjuntival de polímero biodegradável de medicação antiglaucomatosa

NOTA _____

Criação de filme plástico para proteção de olho seco em pacientes acamados ou sedados

NOTA _____

Caso haja outra demanda favor descrever aqui: _____

Questionário estruturado aplicado ao corpo clínico, solicitando a inclusão de nota de 0 a 10 para relevância do tema.

Fonte: do autor.

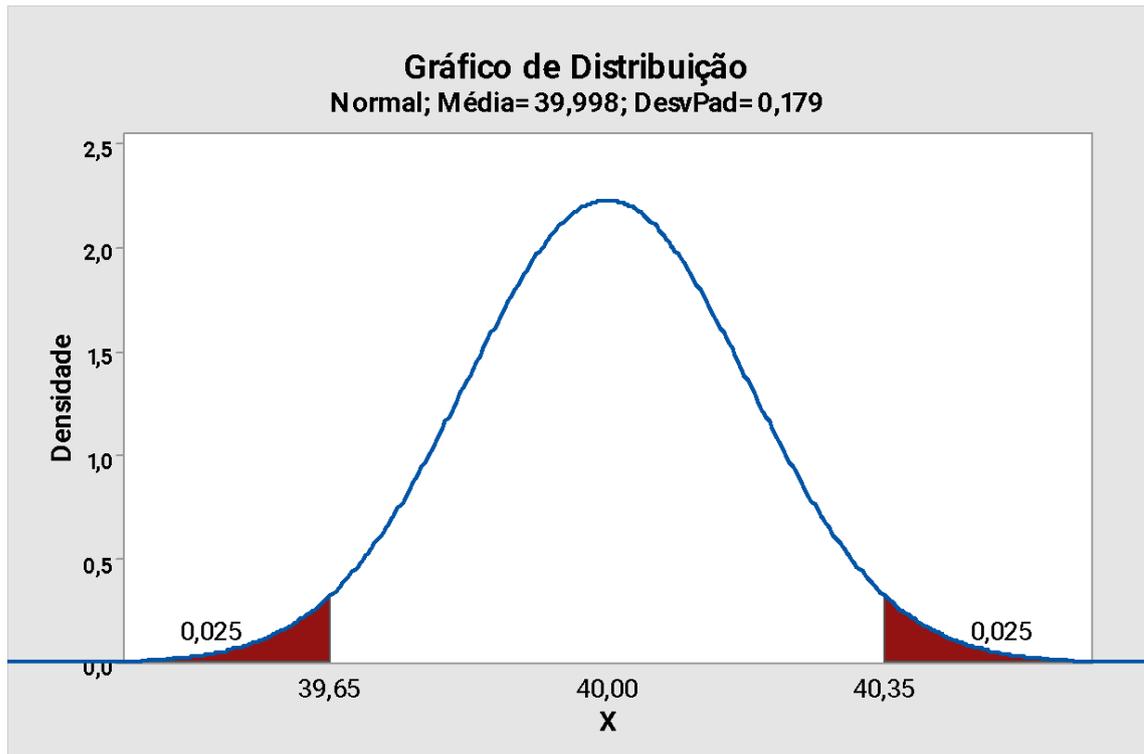
APÊNDICE C – RESULTADO DO COMPRIMENTO DAS BLENIDAS

Comprimento das amostras de blenda	
N° Amostra	Comprimento (mm)
Amostra 01	39,8
Amostra 02	40,0
Amostra 04	40,1
Amostra 05	40,2
Amostra 06	40,1
Amostra 07	40,0
Amostra 08	39,8
Amostra 09	39,8
Amostra 10	39,7
Amostra 11	40,1
Amostra 13	40,3
Amostra 14	40,0
Amostra 15	39,9
Amostra 16	40,0
Amostra 17	40,0
Amostra 18	39,8
Amostra 19	39,9
Amostra 20	39,8
Amostra 21	39,7
Amostra 22	40,2
Amostra 23	40,3
Amostra 24	40,2
Amostra 25	39,9
Amostra 26	40,0
Amostra 27	40,1
Amostra 28	40,2
Amostra 29	40,0
Amostra 30	39,7
Amostra 31	40,3
Amostra 32	40,2
Amostra 33	40,1
Amostra 34	39,8
Amostra 35	40,0
Amostra 36	39,9
Amostra 37	40,0
Amostra 38	40,0

Amostra 39	40,1
Amostra 40	40,3
Amostra 41	39,7
Amostra 42	39,8
Amostra 43	40,1
Amostra 44	39,7
Amostra 45	40,0
Amostra 46	40,0
Amostra 47	40,1
Amostra 48	40,2

Tabela com tabulação dos comprimentos das amostras de blenda, "n" = 46.
Fonte: autor

APÊNDICE D - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE DO
COMPRIMENTO DAS BLENDAS



O gráfico de probabilidade com a variação de 0,1 mm para cima ou para baixo, obteve-se o limite inferior de 39,65 mm e o limite superior de 40,35 mm, índice Z (variação amostral com erro) 0,3 mm em cada extremidade.

Fonte: autor

APÊNDICE E - RESULTADO DO DIÂMETRO DAS BLENIDAS

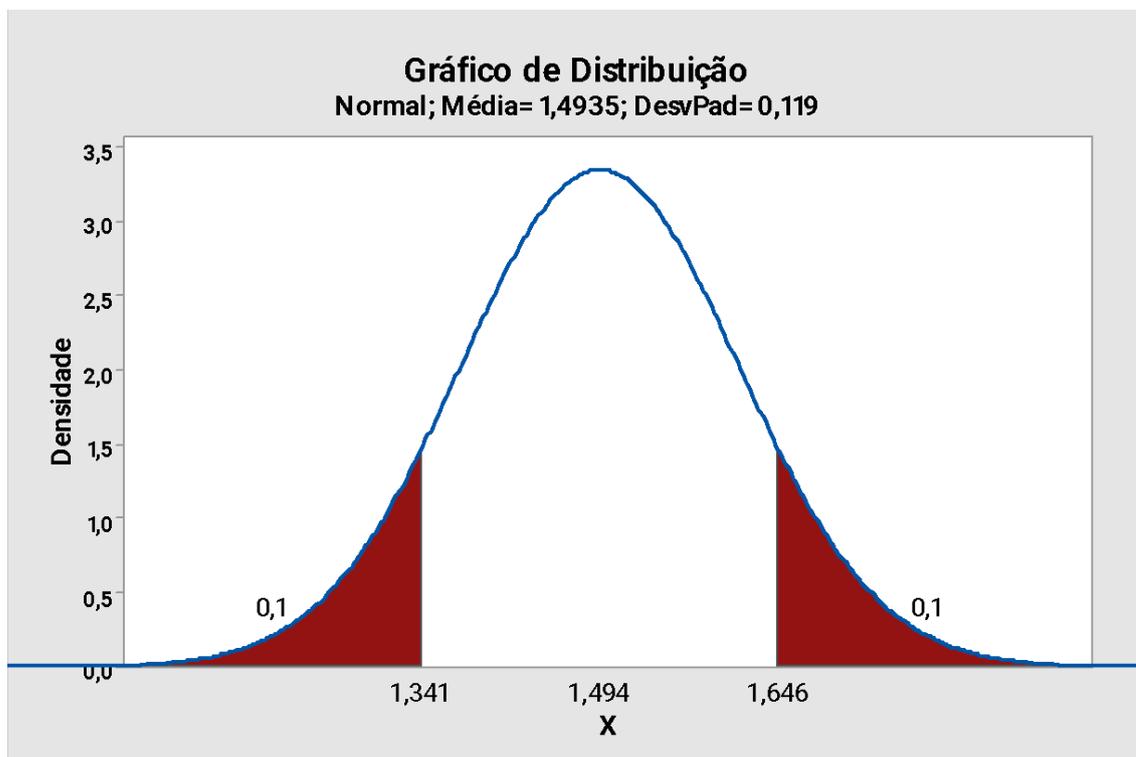
N° Amostra	Diâmetro (mm)
Amostra 01	1,45
Amostra 02	1,48
Amostra 04	1,50
Amostra 05	1,51
Amostra 06	1,43
Amostra 07	1,45
Amostra 08	1,52
Amostra 09	1,56
Amostra 10	1,57
Amostra 11	1,48
Amostra 13	1,49
Amostra 14	1,50
Amostra 15	1,47
Amostra 16	1,50
Amostra 17	1,51
Amostra 18	1,49
Amostra 19	1,52
Amostra 20	1,46
Amostra 21	1,45
Amostra 22	1,53
Amostra 23	1,52
Amostra 24	1,53
Amostra 25	1,50
Amostra 26	1,50
Amostra 27	1,49
Amostra 28	1,54
Amostra 29	1,55
Amostra 30	1,46
Amostra 31	1,43
Amostra 32	1,42
Amostra 33	1,43
Amostra 34	1,50
Amostra 35	1,49
Amostra 36	1,51
Amostra 37	1,50
Amostra 38	1,51
Amostra 39	1,48
Amostra 40	1,49

Amostra 41	1,55
Amostra 42	1,47
Amostra 43	1,46
Amostra 44	1,51
Amostra 45	1,50
Amostra 46	1,5
Amostra 47	1,49
Amostra 48	1,50

Tabela com tabulação dos diâmetros das amostras de blenda, "n" = 46.

Fonte: autor

APÊNDICE F - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE DO DIÂMETRO DAS BLENIDAS



O gráfico de probabilidade com a variação de 0,2 mm para cima ou para baixo, obteve-se o limite inferior de 1,34 mm e o limite superior de 1,65 mm, índice Z (variação amostral com erro) 0,1 mm em cada extremidade.

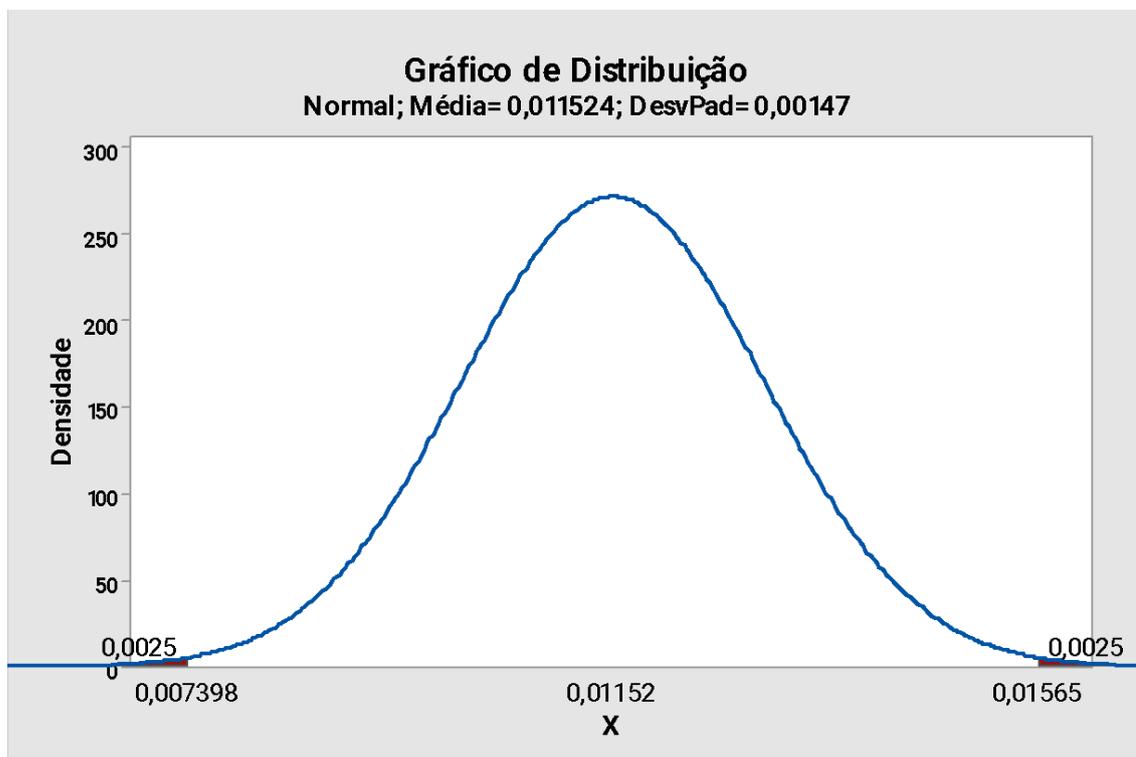
Fonte: autor

APÊNDICE G - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLENDAS-0

Peso das Blendas-0	
N° Amostra	Peso amostra (g)
Amostra 1	0,011
Amostra 2	0,013
Amostra 5	0,011
Amostra 6	0,010
Amostra 7	0,012
Amostra 8	0,011
Amostra 9	0,015
Amostra 11	0,013
Amostra 13	0,012
Amostra 21	0,011
Amostra 22	0,010
Amostra 25	0,011
Amostra 26	0,011
Amostra 33	0,010
Amostra 36	0,012
Amostra 37	0,014
Amostra 38	0,009
Amostra 39	0,010
Amostra 42	0,011
Amostra 43	0,012
Amostra 44	0,013

Tabela com tabulação dos pesos das amostras de blenda sem associação de droga, “n” = 21.
Fonte: autor

APÊNDICE H - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND-A-0



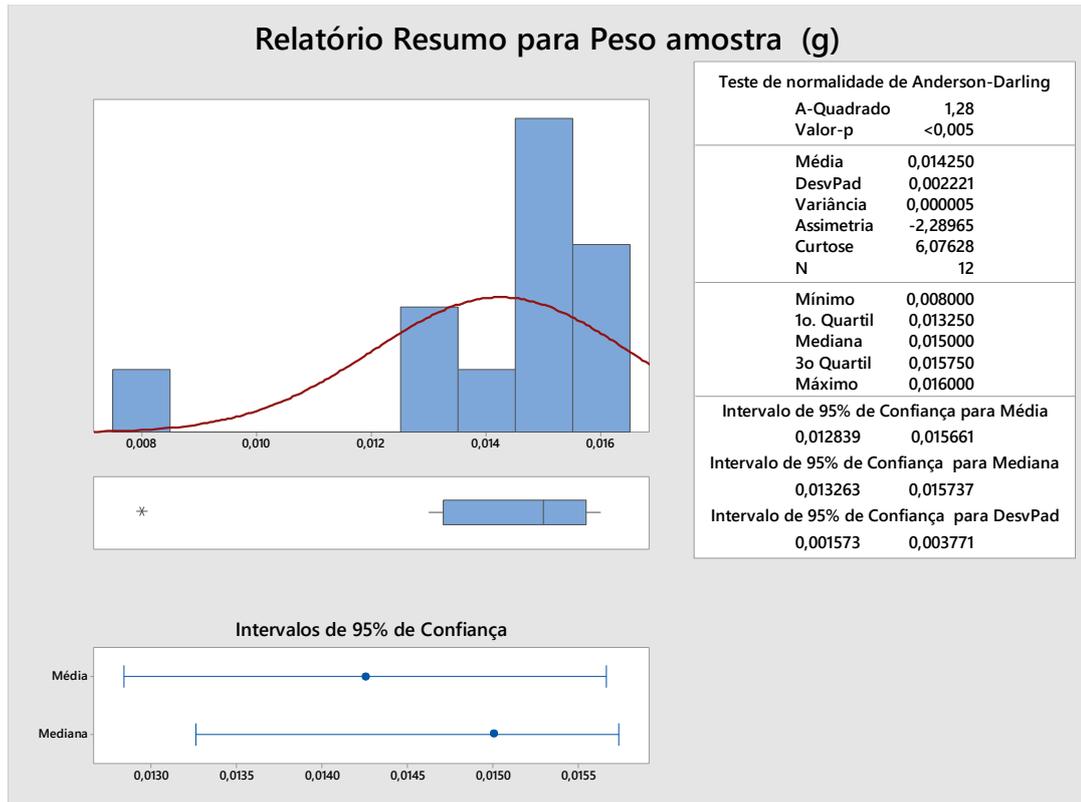
O gráfico de probabilidade com a variação de $\pm 0,05g$, obteve-se o limite inferior de 0,007398g e o limite superior de 0,01565g, índice Z (variação amostral com erro) 0,025 em cada extremidade.
Fonte: autor

APÊNDICE I - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLENDA-BR

Peso das Blendas-BR	
N° Amostra	Peso amostra (g)
Amostra 10	0,015
Amostra 04	0,013
Amostra 15	0,008
Amostra 17	0,011
Amostra 19	0,012
Amostra 27	0,011
Amostra 29	0,015
Amostra 31	0,013
Amostra 35	0,012
Amostra 41	0,011
Amostra 46	0,011
Amostra 47	0,011

Tabela com tabulação dos pesos das amostras de blenda com incorporação de Brimonidina, "n" = 12.
Fonte: autor

APÊNDICE J - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND-VR



O gráfico de probabilidade com a variação de $\pm 0,05g$ para cima ou para baixo, obteve-se o limite inferior de 0,0110g e o limite superior de 0,0178g, índice Z (variação amostral com erro) 0,025 em cada extremidade.

Fonte: autor

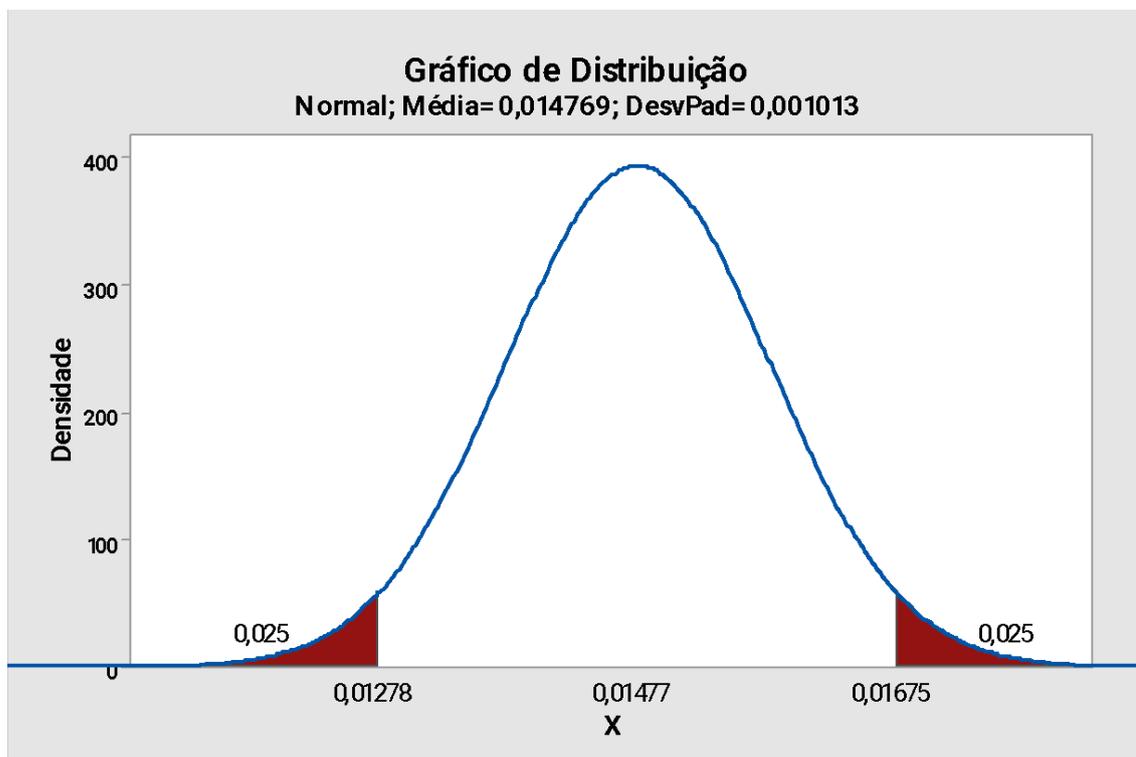
APÊNDICE K - RESULTADO DO PESO DAS AMOSTRAS DE BLENDAS-AR

Peso das Blendas-AR	
N° Amostra	Peso amostra (g)
Amostra 14	0,016
Amostra 16	0,015
Amostra 18	0,013
Amostra 20	0,015
Amostra 19	0,016
Amostra 23	0,016
Amostra 24	0,015
Amostra 28	0,014
Amostra 30	0,013
Amostra 32	0,015
Amostra 34	0,015
Amostra 40	0,014
Amostra 48	0,015

Tabela com tabulação dos pesos das amostras de blenda com incorporação de Ácido Rosmarínico, “n” = 13.

Fonte: autor

APÊNDICE L - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO E PROBABILIDADE BLEND-AR



O gráfico de probabilidade com a variação de 0,05g para cima ou para baixo, obteve-se o limite inferior de 0,01278g e o limite superior de 0,01775g, índice Z (variação amostral com erro) 0,025 em cada extremidade.

Fonte: autor