

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Rua Vinte, 1600. Bairro Tupã. CEP 38304-402, Ituiutaba / MG

Mayara Martins Caetano

Preparação e avaliação físico-química de filmes de amido e sorbitol incorporados com complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ para aplicação em sistemas de liberação modificado.

ITUIUTABA

2019

Mayara Martins Caetano

Preparação e avaliação físico química de filmes de amido e sorbitol incorporados com complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆ para aplicação em sistemas de liberação modificado.

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à Comissão Avaliadora como parte das exigências do Curso de Graduação em Química: Bacharelado do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

ITUIUTABA

2019

Mayara Martins Caetano

Preparação e avaliação físico química de filmes de amido e sorbitol incorporados com complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆ para aplicação em sistemas de liberação modificado.

Monografia de Conclusão de Curso apresentada à Comissão Avaliadora como parte das exigências do Curso de Graduação em Química: Bacharelado do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

DATA DA APROVAÇÃO

16 12 2019

COMISSÃO AVALIADORA:

Profa. Dra. Sabrina Dias Ribeiro

Me. Marcos Vinícius Ferreira

Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

Dedico este trabalho aos meus pais, Regiane Martins e Gerson Caetano,
à minha irmã, Gabrielly ; aos meus avós Maria Tereza e Joaquim.
Obrigada pelo apoio, pelo carinho, compreensão e amor.
Amo muito vocês!

Dedico este trabalho, também, à minha orientadora,
Profa. Dra. Renata Galvão de Lima.

A Renata é um exemplo de mulher e pesquisadora, agradeço de
coração por ter me aceito em seu grupo de pesquisa.

Agradeço também pelos ensinamentos passados durante esses anos,
pela paciência e pelos incentivos

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar presente todos os dias na minha.

A minha família, tios e tias, que sempre esteve por perto me incentivando nos momentos difíceis.

A todos os meus amigos e colegas da Química, Ana, Thais, Isabela, Letícia, Allana, Felipe, Jonathan, Renan, Diego, Matheus, Naiara, Luiz Felipe, João, Sarah e Ellen.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisas em Bioinorgânica, Bianca, Evelyn, Gabriela, Larissa, Luciana, Naiara, Rafaela, Vinicius e Profa. Dra Renata Galvão de Lima, agradeço pela união do grupo, pelo apoio de todos e principalmente pela família que criamos aos longos dos anos.

Aos amigos que se tornaram família, Guilherme, Marcos, Ayeska, Luciana Gabriela, Galete, Carol, Bianca, Alysson, Mateus, Leandro, Letícia Carvalho, Maria Angélica, Jeniffer e Luis Fernando, obrigada por serem minha base em Ituiutaba, por cuidarem de mim nas horas que mais precisei, sem vocês não chegaria ao final.

Aos meus companheiros de casa, Bianca, Marcos, Samuel, Mateus, Maressa, Ester, agradeço a convivência, ao laço que criamos nesses anos e tornado essa jornada de forma leve e alegre.

Aos meus amigos de São José dos Campos, Giuliane, Thais, Jeniffer, Ariane, Andressa, que mesmo de longe sempre se fizeram presente.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação, desde o ensino básico ao ensino superior, em especial, do Curso de Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP). Obrigada por todos os ensinamentos, incentivos e pelo vínculo criado.

Ao Profa. Dra. Sabrina Dias e ao Mestre Marcos Vinícius. Obrigada por aceitarem participar deste importante momento da minha vida acadêmica. É uma honra tê-los na banca examinadora deste TCC.

A minha psicóloga, Vanessa. Por ter me dado apoio nas fases difíceis, ter me incentivado a continuar até o final. O meu muito obrigada.

Aos servidores da Universidade Federal de Uberlândia, do Campus Pontal.

À CNPq, pelas bolsas concedidas nos anos de Iniciação Científica.

“Não são nossos talentos que mostram aquilo que realmente somos,
mas sim as nossas escolhas.”
(Harry Potter e a Câmara Secreta)

RESUMO

Estudos envolvendo processos de liberação de fármacos crescem exponencialmente e a indústria farmacêutica é a mais interessada, visto que estes superam as limitações convencionais, que normalmente estão associadas a velocidade de liberação, o local, duração e degradação do fármaco. As principais vantagens da liberação modificada de fármacos se destacam pela menor concentração do princípio ativo; possibilidade de aplicação do agente diretamente ao sitio de ação que consiste na alta concentração localizada; diminuição de custos devido a quantidade de fármaco utilizada. O enfoque desse trabalho foi desenvolver filmes constituídos por amido de milho e sorbitol em diferentes concentrações, sendo eles, incorporados pelo complexo nitrito de rutênio do tipo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$, a fim de estudar sua composição, propriedades físico-química, estabilidade em saliva artificial para possível aplicação como filme oral para liberação controlada de fármaco. Primeiramente, o complexo inédito de interesse $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$, onde o ligante tpy= 2,2':6',2''- terpiridina e NH.NHq = ácido 3,4-diaminobenzóico foi sintetizado e caracterizado por espectroscopia no (UV-Visível e infravermelho) e por CLAE a pureza do composto. Os filmes de amido de milho e plastificante sorbitol produzidos com e sem complexo foram preparados pelo método “casting” e caracterizados por espectroscopia no (UV-Visível e infravermelho), medidas das espessuras, tempo de desintegração em saliva, morfologia (MEV), pH em solução aquosa, porcentagem do complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ imobilizado ao filme, realizou-se também análise termogravimétrica (TGA) e perfil de liberação do complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$.

Palavras-chave: amido de milho, sorbitol, complexo nitrito de rutênio, liberação modificada.

ABSTRACT

Studies involving drug release processes are growing exponentially and the pharmaceutical industry is the most interested as they overcome conventional limitations, which are usually associated with drug release rate, site, duration and degradation. The main advantages of modified drug release are the lower concentration of the active principle; possibility of application of the agent directly to the action site consisting of high localized concentration; cost savings due to the amount of drug used. The focus of this work was to develop films made of corn starch and sorbitol in different concentrations, which were incorporated by the $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ ruthenium nitrite complex. To study its composition, physicochemical properties, stability in artificial saliva for possible application as oral film for controlled drug release. First, the unpublished complex of interest $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$, where the ligand tpy = 2,2':6', 2''-terpyridine and NH.NHq = acid 3 4,4-Diaminobenzoic acid was synthesized and characterized by (UV-Visible and infrared) spectroscopy and HPLC the purity of the compound. The cornstarch and sorbitol plasticizer films produced with and without complex were prepared by the casting method and characterized by (UV-Visible and infrared) spectroscopy, thickness measurements, saliva disintegration time, morphology (SEM), pH In aqueous solution, percentage of $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ complex immobilized to the film, thermogravimetric analysis (TGA) and release profile of the complex were also performed $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$.

Keywords: corn starch, sorbitol, ruthenium nitrite complex, modified release

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1. Concentração plasmática em função do tempo demonstrado por um sistema de liberação administrado por via oral..... | 17 |
| Figura 2. Perfil plasmático para a liberação convencional e modificada: retardada, prolongada e sustentada..... | 19 |
| Figura 3. Estrutura química da amilose(a) e amilopectina(b)..... | 22 |
| Figura 4. Esquema de ilustração do processo de gelatinização que ocorre com os grânulos de amido. A molécula de amilose(azul) é liberada do grânulo para dar origem à rede que formará o filme. As linhas em vermelho representam a amilopectina..... | 24 |
| Figura 5. Estrutura do plastificante sorbitol utilizado nos filmes de amido | 25 |
| Figura 6. Estrutura química do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ | 27 |
| Figura 7. Esquema da rota sintética para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ | 29 |
| Figura 8. Equipamento utilizado no teste de desintegração dos filmes sem e com complexo. | 33 |
| Figura 9. Ilustração do LED verde utilizado no experimento..... | 35 |
| Figura 10. Cromatograma de separação dos isômeros do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Composição da fase móvel: Tampão fosfato pH=7 a 1% de ácido trifluoracético: Metanol (85:15 v/v). Vazão: 0,8 mL min ⁻¹ . Tempo após a dissolução do complexo: 0 minutos..... | 37 |
| Figura 11. Espectros na região do UV-visível para os isômeros do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ referentes aos picos 1 (-), com tr1=2,50 minutos, e 2 (-), com tr2= 2,74 minutos..... | 38 |
| Figura 12. Representação das estruturas químicas dos isômeros dos complexos de rutênio do tipo $[\text{RuII}(\text{NH.NHq})(\text{tpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ | 39 |
| Figura 13. Espectros na região do IR para os complexos $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ pela técnica de ATR. | 40 |
| Figura 14. Espectro qualitativo do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ solução de saliva artificial pH=6,40 na região do UV-visível. | 42 |
| Figura 15. Aspectos visuais do F1(5%) (a), F2(10%) (b) e F3(0%) (c)..... | 43 |
| Figura 16. Aspectos visuais do F1(5%) (a), F2(10%) (b) e F3(0%) (c) com adição do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ | 44 |

| | |
|--|----|
| Figura 17. Espectros na região do UV Visível para o F2(10%) com adição do complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ (linha verde), complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ em solução aquosa (linha vermelha) e F2(10%) sem complexo (linha preta)..... | 45 |
| Figura 18. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F1(5%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000) | 46 |
| Figura 19. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F2(10%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000). | 47 |
| Figura 20. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F3(0%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000). | 48 |
| Figura 21. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F1(5%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000). | 49 |
| Figura 22. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F2(10%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000). | 50 |
| Figura 23. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F3(0%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000). | 51 |
| Figura 24. Espectros na região do infravermelho dos filmes sem complexo, sendo, F1(5%) - (verde), F2(10%) - (azul) e F3(0%) - (vermelho)..... | 52 |
| Figura 25. Espectros na região do infravermelho dos filmes com complexo, sendo, F1(5%) - (verde), F2(10%) - (azul) e F3(0%) - (vermelho)..... | 53 |
| Figura 26. Filmes com complexo e sem complexo para análise de tempo de desintegração | 55 |
| Figura 27. Análise termogravimétrica do F2(10%) e F3(0%). | 58 |
| Figura 28. Análise termogravimétrica do F2(10%) e F3(0%). | 59 |
| Figura 29. Perfil de liberação do F1(5%), F2(10%) e F3(0%) em relação a absorbância nm por tempo(segundos) | 60 |
| Figura 30. Representação do DAF frente a espécie de NO..... | 61 |
| Figura 31. Perfil de fluorescência do DAF após irradiação com LED verde do complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ em solução. | 62 |
| Figura 32. Perfil de fluorescência do DAF após irradiação com LED verde do filme F3(0%). | 62 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Intervalo das temperaturas de gelatinização de alguns amidos. (BOBBIO e BOBBIO,1995)..... | 23 |
| Tabela 2 - Proporção de sorbitol de cada filme produzido. | 30 |
| Tabela 3. Comparação entre o comprimento de ligação, energia vibracional na região do infravermelho e potencial redox das espécies NO ⁺ , NO ⁰ e NO ⁻ | 39 |
| Tabela 4 - Valores de comprimento de onda, coeficiente de absorvividade molar, e suas devidas atribuições. | 43 |
| Tabela 5 - Medidas de espessura dos filmes sem e com complexo, antes e depois da umidade elevada. | 53 |
| Tabela 6 - Tempo de desintegração dos filmes com e sem complexo. | 56 |
| Tabela 7 - Média dos valores de pH dos F1(5%), F2(10%) e F3(0%) medidos durante vinte minutos em água ultrapura. | 56 |
| Tabela 8 - Valores da porcentagem de rutênio encontrada em cada filme analisado. | 57 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|------|--------------------------------------|
| Tpy | 2,2'-6',2"-terpiridina |
| RMN | Ressonância magnética nuclear |
| TCML | Transferência de carga metal-ligante |
| SLM | Sistema de Liberação Modificado |
| SL | Sistema de Liberação |
| SLC | Sistema de Liberação Convencional |
| SLF | Sistema de liberação de fármacos |
| FF | Formas Farmacêuticas |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |

LISTA DE SÍMBOLOS

ϵ Coeficiente de absorvidade molar

λ Comprimento de onda

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 2. OBJETIVOS..... | 27 |
| 3. PARTE EXPERIMENTAL..... | 28 |
| 3.1 Síntese dos Complexos de Rutênio..... | 28 |
| 3.1.1 Síntese do Complexo [RuCl ₃ (tpy)]..... | 28 |
| 3.1.2 Síntese do Complexo [RuCl(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 28 |
| 3.1.3 Síntese do Complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 28 |
| 3.2 Preparo das soluções filmogênicas | 29 |
| 3.2.1 Preparo da solução filmogênica de amido de milho comercial e sorbitol..... | 29 |
| 3.2.2 Preparo da solução filmogênica de amido de milho comercial/sorbitol incorporadas pelo complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 30 |
| 3.3 Preparação da saliva artificial | 30 |
| 3.4 Caracterização do Complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 31 |
| 3.4.1 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível..... | 31 |
| 3.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho | 31 |
| 3.4.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) | 31 |
| 3.5. Caracterização dos Filmes de Amido/Sorbitol sem e com complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 32 |
| 3.5.1. Espessura..... | 32 |
| 3.5.2.Tempo de desintegração..... | 32 |
| 3.5.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 33 |
| 3.5.4. Espectroscopia na Região do Infravermelho | 33 |
| 3.5.5. Perfil espectroscópico na região UV-visível | 34 |
| 3.5.6 pH dos filmes em água | 34 |
| 3.5.7 Porcentagem do complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ nos filmes | 34 |
| 3.5.8 Análise termogravimétrica (TGA)..... | 34 |
| 3.5.9 Perfil de liberação do complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 35 |
| 3.5.10 Perfil de liberação de NO em LED verde | 35 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 36 |
| 4.1 Caracterização do complexo de rutênio..... | 36 |
| 4.1.1Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)..... | 36 |
| 4.1.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho | 39 |
| 4.1.3 Espectroscopia na Região do ultravioleta visível | 41 |
| 4.2 Caracterização dos Filmes de Amido/Sorbitol sem e com complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 43 |

| | |
|--|----|
| 4.2.1 Aspectos visuais dos filmes com e sem complexos | 43 |
| 4.2.2 MEV dos filmes | 45 |
| 4.2.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho | 52 |
| 4.2.4 Espessura dos filmes com complexo e sem complexo | 53 |
| 4.2.5 Tempo de desintegração dos filmes sem e com complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | 55 |
| 4.2.6 pH dos filmes em água..... | 56 |
| 4.2.7 Porcentagem do complexo de rutênio [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ nos filmes | 57 |
| 4.2.8 Análise termogravimétrica dos filmes (TGA)..... | 58 |
| 4.2.9 Perfil de liberação do complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ em saliva artificial... .. | 60 |
| 4.2.10 Irradiação de NO em LED verde..... | 61 |
| CONCLUSÃO | 64 |
| REFERÊNCIAS | 65 |

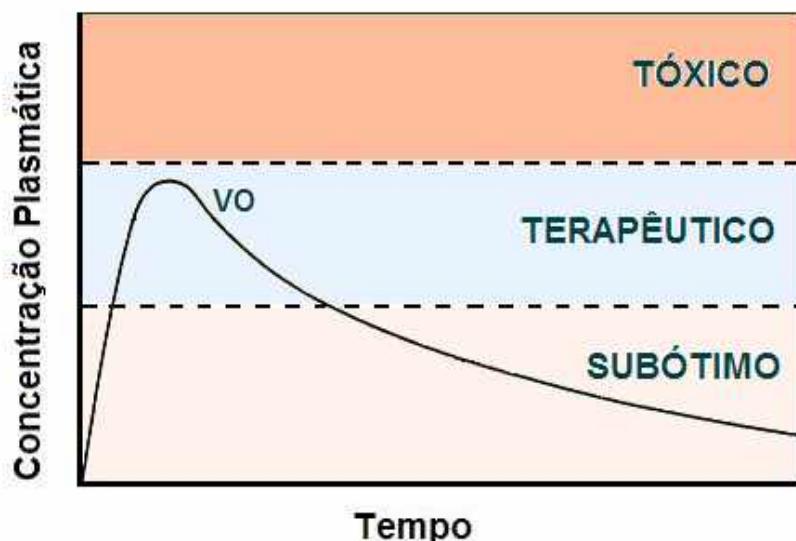
1. INTRODUÇÃO

Os medicamentos são utilizados com finalidade profilática, terapêutica ou diagnóstica que contêm uma ou mais substâncias ativas que devem ser administradas ao paciente, veiculadas em uma forma farmacêutica (PEZZINI *et al.*, 2007).

Sendo assim, sistema de liberação de fármacos (SLF) é um termo que define a forma farmacêutica ou o mecanismo pelo qual um fármaco será disponibilizado no organismo, após sua administração (PEZZINI *et al.*, 2007).

A vantagem do SLF é disponibilizar o fármaco no local específico, tais como tecidos ou órgãos, em determinado período de tempo o qual a concentração do fármaco deve permanecer acima da concentração mínima efetiva e abaixo da concentração tóxica mínima no plasma sanguíneo, o que é chamado de nível terapêutico, como pode ser visto na Figura 1 (ALEXANDRE, et al, 2007).

Figura 1. Concentração plasmática em função do tempo demonstrado por um sistema de liberação administrado por via oral.



Esse sistema exerce um papel fundamental no efeito farmacológico, isto é, efeito do local onde o fármaco interage e produz eficácia terapêutica, sendo assim, age diretamente na velocidade da liberação, local e duração, e ainda podendo reduzir os efeitos colaterais. (PERRIE & RADES, 2012)

As formas farmacêuticas (FF) podem ser classificadas, de acordo com o tipo de liberação do fármaco, em produtos com liberação convencional ou modificada (ANSEL *et al.*, 2000; ASHFORD, 2005).

1.1 Sistema de liberação convencional

Os sistemas de liberação convencional (SLC) são sistemas desenvolvidos para liberar o fármaco rapidamente após a administração, sendo empregados nesses sistemas diluentes solúveis, desintegrantes e/ou outros recursos que favorecem os processos de liberação e dissolução do fármaco (ALDERNORN, 2005).

A administração para o fármaco alcançar o tecido alvo, precisa possuir doses repetidas para que seja eficaz o tratamento. Essa administração traz algumas desvantagens, como o controle do intervalo de tempo correto para injeção do fármaco, consequentemente depende da cooperação do paciente de ingerir no horário correto, aumento da potencialidade tóxica de algumas drogas para que ocorra o efeito desejado, levando assim a efeitos colaterais nas mucosas gástricas. (da SILVA, 2016).

Esses sistemas são usados na terapêutica, ou seja, tratamento de doenças, e são disponíveis comercialmente e divide-se em dois tipos de liberação: a muito rápida que se caracteriza pelo tempo e a quantidade que o fármaco é liberada, isto é, 80% do medicamento em 15 minutos; e a imediata, caracterizada pelo tempo de 15 a 60 minutos para liberação de 85% do fármaco (AULTON, 2005; FERREIRA, 2019).

As FF convencionais utilizadas do tipo oral são representadas por cápsulas e comprimidos e o seu processo de administração ocorre em doses sucessivas por um intervalo de tempo definido para que assim consiga um tratamento de doenças através do fármaco efetiva. Existe ainda a FF convencionais utilizadas por via tópicas como as pomadas, emulsões, géis, cremes, que são usadas em tratamentos de feridas causadas por queimaduras e os transdérmicos conhecidos como adesivos, entretanto, apresentam desvantagem como dor intensa ao colocar ou retirar o adesivo, e irritação ao local da aplicação (da SILVA, 2016; OSHIRO *et al.*, 2014).

Em algumas situações, há necessidade de se modular a liberação do fármaco retardando ou prolongando a sua dissolução, para o uso de sistemas de liberação modificada.

1.2 Sistema de liberação modificada

Os sistemas de liberação modificado (SLM) são aquelas que modulam a liberação do fármaco, ou seja, a cinética de liberação nesses sistemas são alterados e podem ser classificadas em: prolongada; retardada e sustentada (AZEVEDO, 2002).

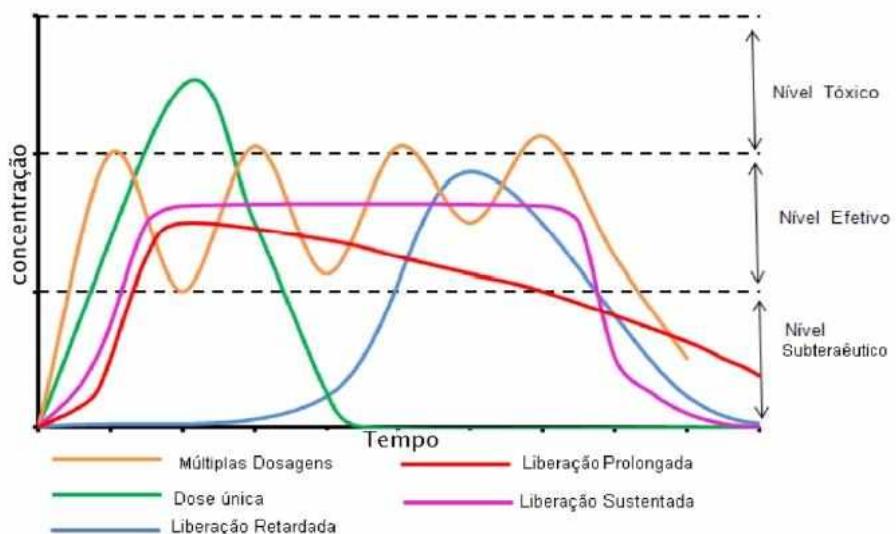
A liberação prolongada se divide em duas doses do fármaco, a primeira produz o efeito farmacológico sem causar danos ao organismo, e a segunda, é liberada gradualmente, sendo assim, reduz os efeitos tóxicos e prolonga a resposta farmacológica (MANADAS *et al*, 2002).

A retardada prolonga o intervalo de tempo entre a administração e a liberação do fármaco no tecido/organismo alvo e após esse intervalo a liberação se torna imediata (MANADAS *et al*, 2002).

A sustentada se classifica por ser uma liberação onde mantém a concentração do fármaco por um período de 8 a 12 horas, e após a administração a liberação do fármaco é gradual e contínua por um tempo estendido (ALBARNEZ, 2012).

Dito isso, a Figura 2 apresenta as diferenças dos perfis de liberação das formas farmacêuticas convencionais e modificada em níveis plasmáticos.

Figura 2. Perfil plasmático para a liberação convencional e modificada: retardada, prolongada e sustentada.



Fonte: FERREIRA, 2019.

Através da análise da Figura 2, que compara a aplicação de um fármaco utilizando uma formulação convencional (dose única e múltiplas doses) com a

aplicação do mesmo fármaco, através de um SLM. Verifica-se que para SLM os níveis se mantêm relativamente constantes, com baixa oscilação, enquanto no método convencional além de ser necessário um maior número de aplicações, são ainda registrados valores de nível plasmático fora da banda efetiva de tratamento, tanto na zona de nível tóxico como no nível sub terapêutico (MOURIÑO, 2010).

Os SLM são constituídos em sua maioria de polímeros, estando ainda assim sujeitos a alguns requisitos para que possam ser utilizados. Estes devem ser biocompatíveis e os seus produtos de decomposição não podem apresentar toxicidade para o organismo onde estão inseridos. As suas propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas são também um fator a considerar, uma vez que uma grande percentagem do corpo humano é constituída por água. Por último, o fator biodegradabilidade assume uma elevada importância na escolha do polímero para uma determinada aplicação, sendo as características pretendidas variáveis dependendo do fim a que se destina (COIMBRA, 2010; FONSECA, 2011).

A administração de um medicamento pode ser classificada por: oral; parenteral e transdermal. A via oral é administrada por comprimidos ou cápsulas; a parenteral é administrada por via intravenosa, subcutânea; a transdermal é aplicação em peles, especialmente em formas de adesivos, cremes e hidrogel (VILLANOVA, *et al*, 2010).

Os filmes de liberação oral ou transdérmica possuem a vantagem da facilidade de transporte e manuseio. Produzidos na forma de desintegração rápida ou mucoadesiva apresentam boa aceitação dos pacientes com dificuldade de deglutição. Podem apresentar diversas funcionalidades como, por exemplo, para tratamento de hipertensão, atividade anti-inflamatória e antimicrobiana (DIXIT & PUTHLI, 2009; ALMEIDA, *et al*, 2012; MOHAMED & MOHAMED, 2011; HIMODA, 2009; DAUD & BONDE, 2011).

Portanto, polímeros formadores de filmes são uma alternativa para SLM visto que o mesmo torna o tratamento mais confortável, podendo ser aplicado em processos de cicatrização de feridas e queimaduras, pode-se também ser usado na forma de desintegração rápido ou muco adesiva, nas quais os pacientes com dificuldade de deglutição terão melhor aceitação (OSHIRO, 2014; CIRRI *et al*, 2001; ORTEGA, 2007.)

Dessa forma os polímeros naturais têm-se destacado como matriz polimérica, sendo os principais materiais naturais como o amido, proteínas, derivado de celulose, alginatos, pectinas e outros polissacarídeos e por serem materiais que detém

características que os habitam ao uso humano devido a sua baixa toxicidade, é capaz de carrear moléculas de fármaco da forma necessária ao controle da entrega (da SILVA, 2016).

1.3 Filmes poliméricos a base de amido de milho e sorbitol

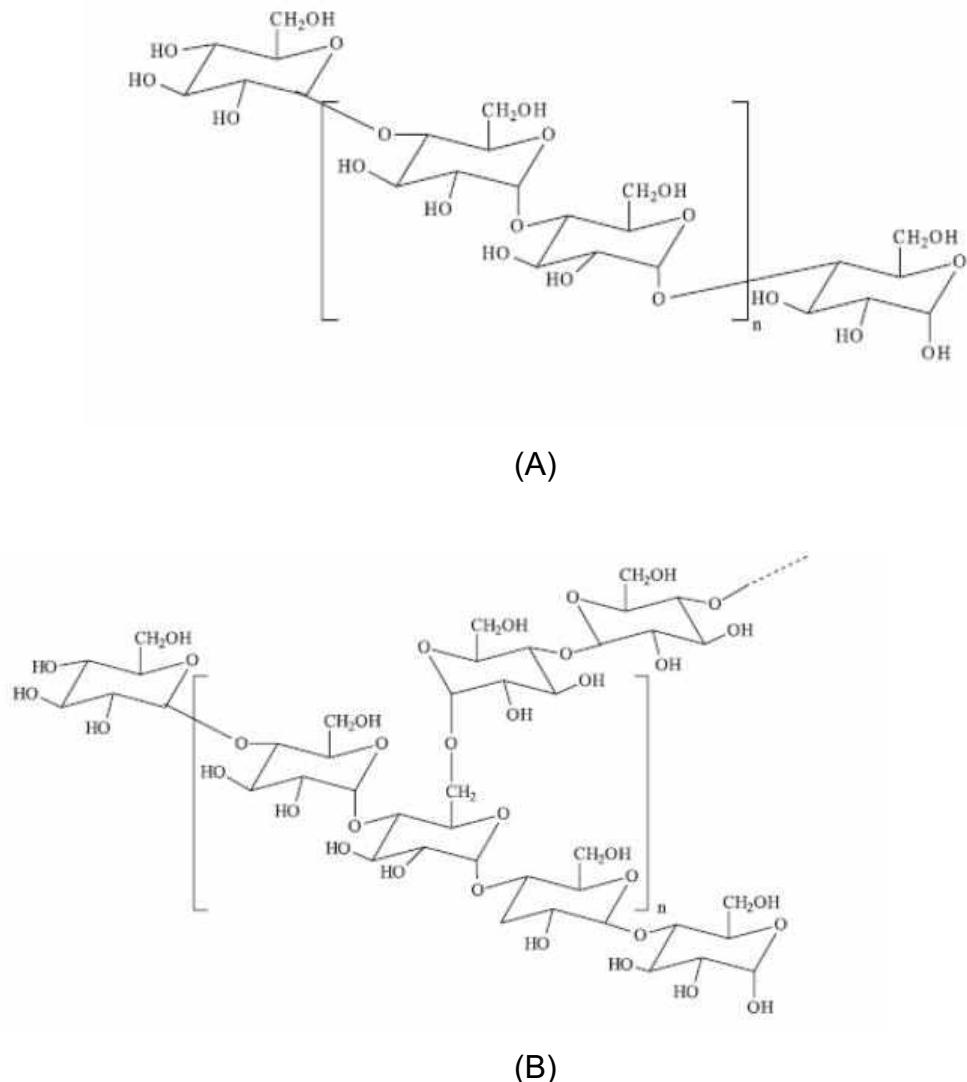
Os polímeros advindos de fontes naturais têm sido frequentemente utilizados para se obter efetivo controle de liberação de fármaco, uma vez que essa alternativa tem proporcionado liberação controlada e precisa do fármaco, com excelente reprodutibilidade. A vantagem da utilização dessa classe como polímeros, constituem da adesão a mucosas como ocular, nasal, urinária, gastrointestinal e vaginal (BUNHAK *et al*, 2007; SEVERINO *et al*, 2009).

O amido é uma das fontes mais promissoras na confecção de filmes, em função de sua capacidade de decomposição sem que seja necessária alguma intervenção humana, baixo custo de obtenção e também da necessidade de agregar valor a esse material (MARQUES, 2005; VICENTINI, 2003).

O amido está armazenado na formula de grânulos e por isso apresenta certo grau de organização molecular e sua principal fonte comercial é o milho, batata, arroz, trigo, mandioca, inhame e aveia (ISSOTON, 2013).

A estrutura do amido é formada por dois tipos de polímeros, a amilose e a amilopectina (Figura 3). A amilose é conhecida pela possibilidade de formação de pastas, géis e filmes, e deve-se a sua linearidade que tende a se orientar paralelamente aproximando-se o suficiente para que se formem ligações de hidrogênio entre hidroxilas de polímeros adjacentes, como resultado, fornece a formação de pastas opacas e filmes resistentes, pois a afinidade do polímero com a água é reduzida (YOUNG, 1984).

Figura 3. Estrutura química da amilose(a) e amilopectina(b).



Fonte: CORRADINI, et al., 2007.

O amido possui algumas propriedades, como a gelatinização, retrogradação e cristalinidade. A propriedade para formação de filmes utilizada nesse trabalho foi a gelatinização, que é o processo de conversão do amido em um material termoplástico. Esse processo ocorre quando o amido está em uma solução contendo excesso de água e acima de uma temperatura característica, pois cada tipo de amido possui uma temperatura de gelatinização, a Tabela 1 apresenta as temperaturas de gelatinização dos amidos (ISSOTON, 2013).

Tabela 1 - Intervalo das temperaturas de gelatinização de alguns amidos.

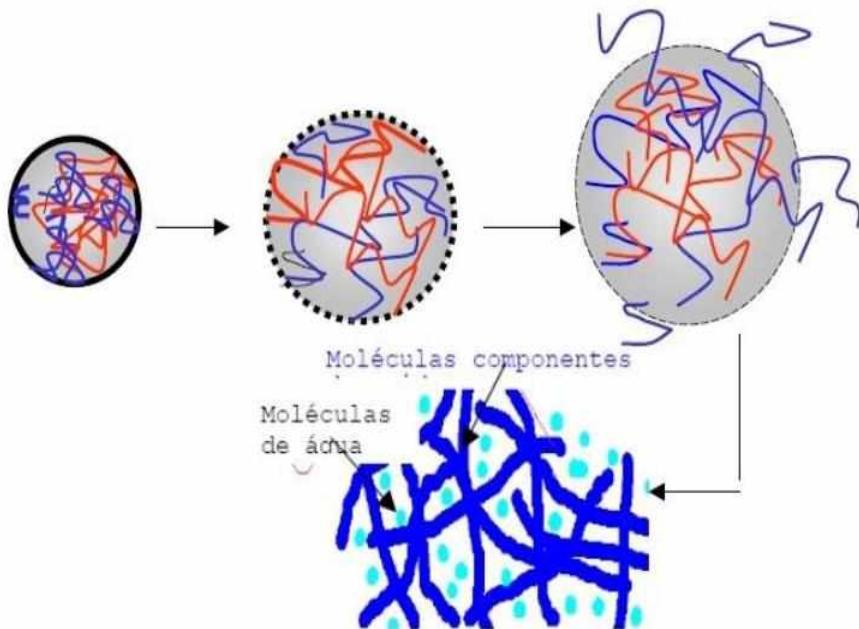
| Amido | Intervalo de temperatura de gelatinização (C°) |
|--------------|---|
| Batata | 56-66 |
| Mandioca | 58-70 |
| Milho | 62-72 |
| Sorgo | 68-75 |
| Trigo | 52-63 |
| Arroz | 61-77 |
| Milho ceroso | 63-72 |

Fonte: BOBBIO e BOBBIO, 1995.

Durante o aquecimento, os grânulos de amido sofrem mudanças estruturais, primeiro ocorre o inchamento dos mesmos e consequentemente a quebra das ligações de hidrogênio que é responsável pela estrutura cristalina interna dos grânulos. Ao prosseguir com o aquecimento, a região cristalina se desfaz e a água incorpora-se na estrutura dos grânulos de amido e amilose, componente mais solúvel, em seguida ocorre a ruptura do amido, perdendo-se assim a birrefringência e ocorrendo a liberação da amilose, que se solubiliza no meio. A Figura 4 está esquematizado o processo de gelatinização (LIU *et al.*, 2009; LOBO *et al.*, 2003; MARQUES, 2005; VICENTINI, 2003).

Na liberação de amilose, as moléculas se orientam paralelamente umas às outras, permitindo assim, o aparecimento de ligações de hidrogênio de moléculas vizinhas, enquanto que as moléculas de amilopectina se sobrepõe no meio da solução contendo amilose. Essa mudança estrutural afeta diretamente na afinidade do polímero pela água, resultando consequentemente em filmes estáveis e flexíveis. As características viscoelástica está diretamente ligada na presença de amilose e amilopectina (BOBBIO & BOBBIO, 1995; VICENTINI, 2003; MARQUES, 2005).

Figura 4. Esquema de ilustração do processo de gelatinização que ocorre com os grânulos de amido. A molécula de amilose (azul) é liberada do grânulo para dar origem a rede que formará o filme. As linhas em vermelho representam a amilopectina.



Fonte: MARQUES, 2005.

Apesar das propriedades do amido para formação de filmes, a introdução de plastificante ao meio torna-os menos frágeis, para contornar esse problema, são adicionados agentes plastificantes, que melhoram as propriedades mecânicas dos filmes gerados. A funcionalidade e o desempenho dos filmes biodegradáveis dependem de suas propriedades ópticas, mecânicas e de barreira. Estas características dependem da sua composição, do processo de formação e do método de aplicação no produto (BANDEIRA, 2012).

1.4 Plastificantes

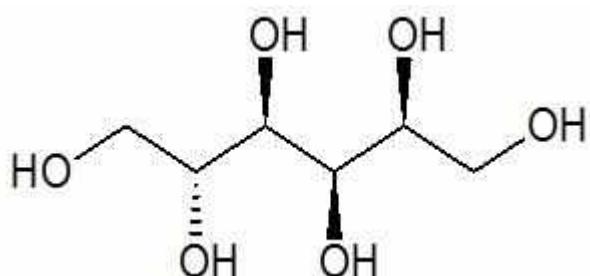
Os plastificantes são aditivos essenciais para a produção de filmes biodegradáveis e/ou comestíveis, pois quando adicionados em outro material provocam certas mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos. São substâncias com alto ponto de fusão e baixa volatilidade. Em termos estruturais, os plastificantes são inseridos na matriz, aumentando o espaço livre entre as cadeias poliméricas, provocando diminuição das forças intermoleculares ao longo

da matriz, produzindo um decréscimo na força de coesão e na força de tensão, redução na temperatura de transição vítreia e aumento na flexibilidade e manuseabilidade, com diminuição de possíveis descontinuidades e zonas quebradiças (ANDREUCCETTI, 2010).

Os plastificantes alteram a mecânica de um polímero, isto é, temperaturas de transição vítreia e fusão, sendo assim, agem neutralizando ou diminuindo as forças intermoleculares, entretanto, não alteram a química do polímero, apenas substituiu as ligações de hidrogênio inter e intramolecular por novas ligações, acarretando assim, na destruição da cristalinidade granular (RABELO, 2000).

A seleção do plastificante é baseada na compatibilidade entre o plastificante e a matriz na retenção pelo filme e na quantidade necessária para plastificação. Sorbitol e glicerol são os plastificantes mais utilizados em filmes à base de amido. (Figura 5) (SOTHORNVIT & KROCHTA, 2005).

Figura 5. Estrutura do plastificante sorbitol utilizado nos filmes de amido



Fonte: Autora.

1.5 Complexos de rutênio doadores de óxido nítrico

A ação do óxido nítrico (NO) foi encontrada em diferentes células e tecidos nos quais ela exibe várias funções como neurotransmissão, inibição da agregação plaquetária e controle da resposta imunológica (MATSUBARA *et al.*, 2015).

Desse modo, devido à grande importância biológica do NO e considerando que muitas doenças estão associadas à deficiência de NO, como pré-eclâmpsia, diabetes, hipotireoidismo e hipertensão gestacional, pró fármacos baseados em complexos metálicos são sintetizados com o objetivo de desenvolver agentes doadores de óxido nítrico (ALLARDYCE & DYSON, 2001.; de LIMA *et al.*, 2014; da SILVA *et al.*, 2015).

Dentre os complexos metálicos, em especial, destacam-se os complexos nitrosilos de rutênio que apresentam capacidade de controle na liberação de NO através da redução química bem como estímulo luminoso. Estes agentes devem liberar lentamente o NO em baixas concentrações para que possam proporcionar os benefícios terapêuticos adequados no controle da hipertensão.

Os complexos metálicos baseado em rutênio, como $[\text{Ru}(\text{NH.NHq})(\text{tpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$, $[\text{RuCl}([\text{15-ane}]\text{N}_4)\text{NO}]$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{py})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$, tem apresentado resultados promissores no controle da pressão arterial sem efeitos colaterais, além do efeito benéfico em outras alterações circulatórias como trombose por inibir a agregação plaquetária (de LIMA *et al.*, 2014, da SILVA *et al.*, 2015).

O rutênio também apresenta características químicas semelhantes às do ferro presente nas enzimas dos sistemas biológicos, além de ser termodinamicamente estável em condições fisiológicas (de LIMA *et al.*, 2014).

Comparado ao nitroprussiato de sódio, o complexo $[\text{Ru}(\text{NH.NHq})(\text{tpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ tem efeito hipotensor mais duradouro e não resulta em reflexo de taquicardia. Experimentalmente, seus efeitos foram maiores em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e ratos com hipertensão renal do que em ratos normotensos, o que contribui para sua segurança no tratamento da hipertensão durante a gestação quando a pressão sistólica se normaliza (BENDHACK *et al.*, 2009).

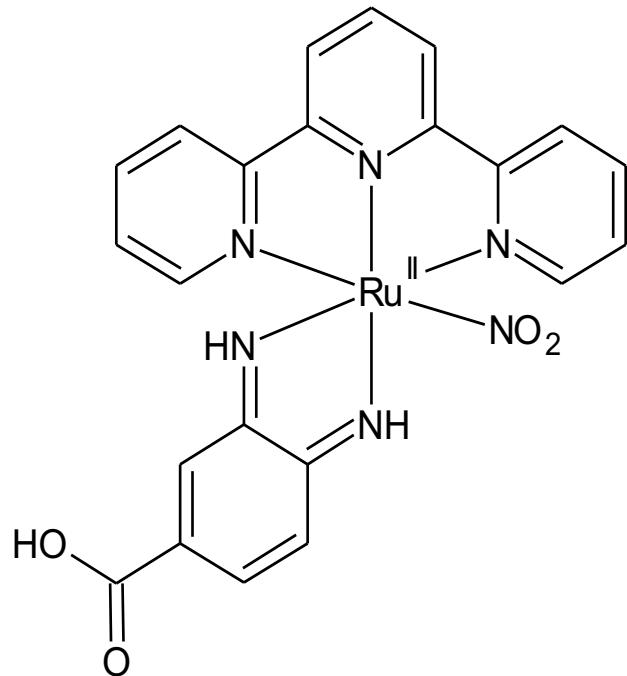
Em condições fisiológicas e fisiopatológicas, o NO_2^- pode ser convertido a NO pela reação com hemoglobina, mioglobina, xantina oxi-redutase, enzimas contendo grupos heme ou tiol e por redução ácida. A potência dos nitrovasodilatadores em induzir relaxamento vascular está relacionada à sua capacidade de liberar NO (GLADWIN *et al.*, 2005).

O complexo cis-[$\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{py})\text{NO}_2(\text{PF}_6)$] (Rubpy) difere dos demais por conter em sua estrutura química o ligante NO_2^- que pode ser convertido a NO, o que poderia caracterizá-lo como doador de NO_2^- . O complexo RuBPY, possui baixa toxicidade, é capaz de induzir vasodilatação em aorta de ratos e reduzir a pressão arterial de animais hipertensos. Portanto, este composto parece ser promissor para o tratamento da hipertensão arterial e de outras doenças cardiovasculares (PEREIRA *et al.*, 2011).

2. OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho proposto foram a síntese e caracterização físico-química do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (Figura 6) utilizado como fármaco modelo em filmes de amido com porcentagens diferentes de plastificante sorbitol.

Figura 6. Estrutura química do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.



Fonte: Autora.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Síntese dos Complexos de Rutênio

3.1.1 Síntese do Complexo [RuCl₃(tpy)]

O complexo [RuCl₃(tpy)] foi sintetizado conforme metodologia descrita por Sullivan e colaboradores. Em um balão de 50 mL foram colocados 0,3244 g de cloreto de rutênio (RuCl₃.nH₂O) (1,57 mmol), posteriormente foram adicionados 0,2912 g do ligante 2,2'-6',2"-terpiridina (tpy) (1,25 mmol) dissolvido em 30 mL de metanol. Observou-se a formação de um precipitado marrom. A solução foi mantida sob aquecimento e refluxo ($T=\pm 65^{\circ}\text{C}$) durante 3 horas. Em seguida, a solução permaneceu 1 hora em temperatura ambiente ($\approx 30^{\circ}\text{C}$). O precipitado obtido foi filtrado e seco à vácuo (SULLIVAN *et al*, 1980).

Rendimento: 61,18%

3.1.2 Síntese do Complexo [RuCl(NH.NHq)(tpy)]PF₆

Em um balão de 50 mL foi colocada uma mistura de 40 mL de etanol e água destilada (75 % de etanol e 25 % de água destilada). Foram adicionados 0,1783 g do complexo precursor [RuCl₃(tpy)] (0,40 mmol), 0,0173 g do ligante ácido 3,4-diaminobenzóico (NH.NHq) (0,11 mmol), 20 mg de cloreto de lítio (LiCl) e 0,1 mL de trietilamina (Et₃N). Observou-se a mudança de coloração da solução, de marrom para roxa. A solução foi mantida sob aquecimento e refluxo ($T=\pm 80^{\circ}\text{C}$) durante 4 horas. Após, foi adicionado 1 g de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆). Em seguida, a solução permaneceu 24 horas sob refrigeração. O precipitado obtido foi filtrado e seco à vácuo.

Rendimento: 28,03%.

3.1.3 Síntese do Complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆

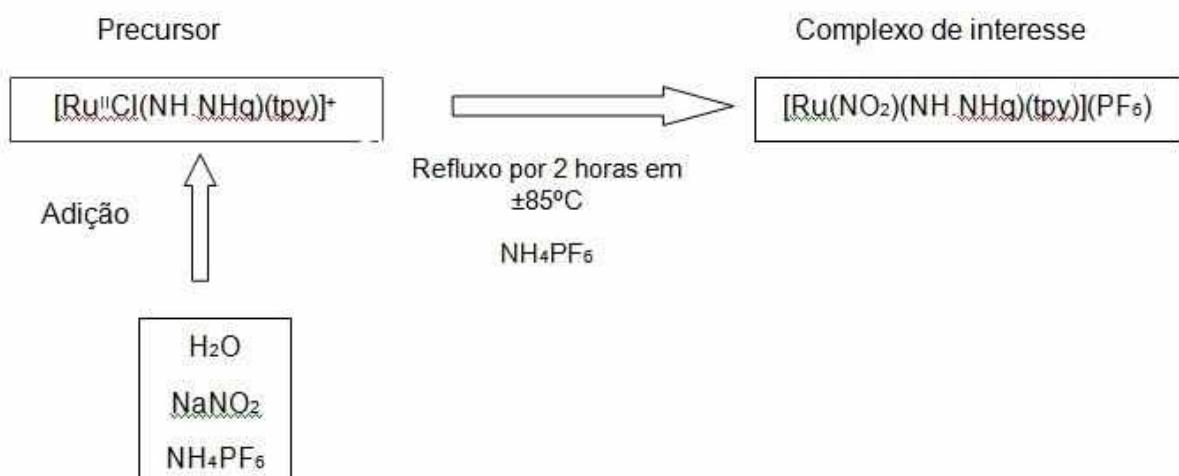
Em um balão de 50 mL foram colocados 30 mL de água destilada. Foram adicionados 0,2009 g do complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆ (0,302 mmol) e 0,1105 g de nitrito de sódio (NaNO₂) (1,57 mmol). Observou-se a mudança de coloração da solução, de roxa para vermelha. A solução foi mantida sob aquecimento e refluxo ($T=\pm 85^{\circ}\text{C}$) durante 2 horas. Em seguida, foi adicionado 1 g de NH₄PF₆ como

contra íon. Observou-se a formação de um precipitado marrom avermelhado. Após, ainda, a solução permaneceu 48 horas sob refrigeração. O precipitado obtido foi filtrado e seco à vácuo.

Rendimento: 54,78%.

A Figura 7 esquematiza o procedimento realizado para a síntese do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

Figura 7. Esquema da rota sintética para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.



Fonte: Autora.

3.2 Preparo das soluções filmogênicas

3.2.1 Preparo da solução filmogênica de amido de milho comercial e sorbitol

Para formulação da solução filmogênica dissolveram-se 2 gramas de amido de milho comercial da marca Maisena® em 100 gramas de água destilada, e cada filme com diferentes quantidades de sorbitol (Sigma Aldrich). Foram preparadas três soluções filmogênicas que são detalhadas na Tabela 2. Os valores utilizados foram definidos a partir dos primeiros ensaios, nos quais verificou que as mesmas formariam filmes de melhores qualidades.

Tabela 2 - Proporção de sorbitol de cada filme produzido.

| Filme | Sorbitol(gramas) | % de sorbitol | Amido(gramas) |
|-------|------------------|---------------|---------------|
| 1 | 0,15 | 5,00 | 2,00 |
| 2 | 0,30 | 10,00 | 2,00 |
| 3 | 0,00 | 0,00 | 2,00 |

Fonte: Autora

Os filmes de amido de milho comercial e sorbitol foram preparados utilizando a técnica “casting”. A solução de amido de milho comercial e água destilada foram agitadas durante 1 hora na temperatura 80-85°C, em seguida, adicionou-se as devidas proporções de sorbitol e deixou-se sob agitação por mais 10 minutos, garantindo assim uma homogeneização completa. Por fim, a solução filmogênica foi alocada em placas de vidro forradas com filme comercial de poliéster, sendo vertidos nas placas 25 mL da solução, posteriormente, foram secos em estufa com circulação de ar a 50°C durante 24 horas. Essa metodologia de pregar está descrita em diversos trabalhos, tais como, MARQUES, 2005, LIMA, 2006, COIMBRA 2010, dentro outros.

3.2.2 Preparo da solução filmogênica de amido de milho comercial/sorbitol incorporadas pelo complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆

Para a preparação dos filmes de amido de milho comercial e sorbitol, em presença de do complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆ foi utilizado o procedimento do item 3.2.1, no entanto após homogeneização do plastificante sorbitol, foi adicionado 5 mg do complexo, sob agitação durante 15 minutos.

3.3 Preparação da saliva artificial

Para o preparo da saliva artificial foram dissolvidos 4,5 g cloreto de sódio, 0,3 g cloreto de potássio, 0,4 g cloreto de amônio e 0,3 g sulfato de sódio anidro, em 1000 mL de água, sendo ela, ajustada para pH 6,5 utilizando hidróxido de sódio (0,1 mol L⁻¹), posteriormente, estocou-se a saliva em um frasco sob refrigeração, o tempo de estoque para a saliva artificial é de aproximadamente um mês (LETICIA, et al., 2013).

3.4 Caracterização do Complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆

3.4.1 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível

As análises na região do ultravioleta-visível foram realizadas em um espectrofotômetro da marca UV-Vis.-NIR Cary Series, da marca Agilent Technologies® e foram realizadas no Laboratório de Equipamentos Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal- LEMUP.

As amostras foram submetidas à varredura espectrofotométrica de 800 a 200 nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo de 1,000 cm de caminho óptico.

3.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range – MIR da Perkin Elmer, na região compreendida entre 4000 e 220 cm⁻¹. As análises das amostras foram feitas no estado sólido, com a utilização do acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante e foram realizadas no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da UFU.

3.4.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para análise de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizado um equipamento da marca Varian ProStar® (Palo Alto, CA, EUA); com um sistema binário de bombeamento de solventes, de modelo ProStar 210 pump; com detector diode array, de modelo ProStar 325, a 290 nm; e com injetor manual da marca Reodhyne®, de modelo 7725i. A coluna é da marca Aligent®, de modelo Eclipse XDB-C18 (150 x 4,6 mm d.i.), constituída por partículas de 5 µm. Para a obtenção dos dados foi utilizado o programa GalaxieTM.

Para a execução da análise o meio utilizado foi solução uma solução tampão fosfato 1% de ácido trifluoracético (pH=6,95), sendo constituído de 0,6076 g de NaH₂PO₄, 0,8580 g de Na₂HPO₄ e 0,5 mL de ácido trifluoracético. A fase móvel foi uma mistura da solução tampão fosfato 1% de ácido trifluoracético (pH=6,95) e metanol (85:15) (v/v).

A eluição da fase móvel foi isocrática e o fluxo foi mantido em 0,8 mL min⁻¹. As amostras foram dissolvidas na respectiva fase móvel e foram injetados volumes de 20 µL.

Por fim, as análises foram realizadas no Laboratório de Equipamentos Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia, campus Pontal- LEMUP.

3.5. Caracterização dos Filmes de Amido/Sorbitol sem e com complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆

3.5.1. Espessura

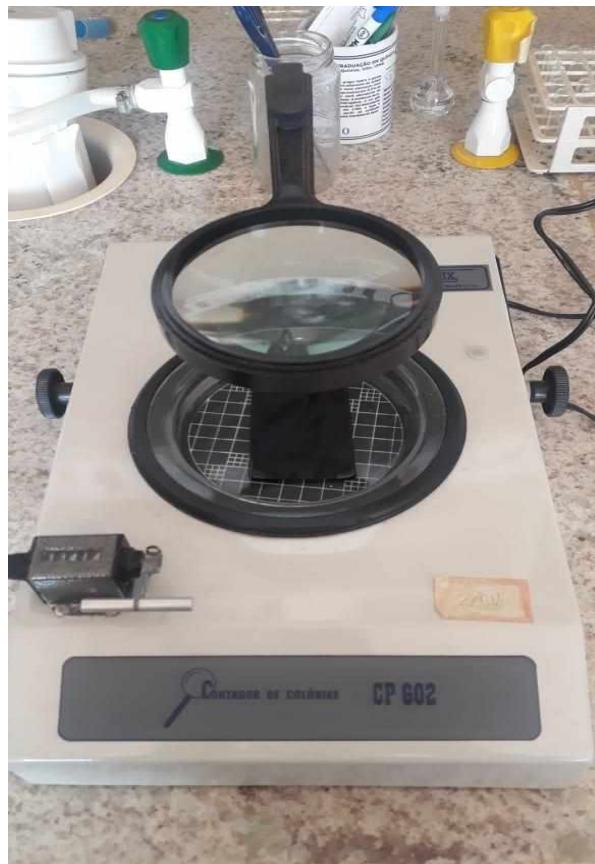
As espessuras dos filmes com e sem complexo foram medidas com o auxílio de um micrômetro de disco da marca Mitutoyo com escala de 0 a 0,25 mm com precisão de 0,01 mm.

Inicialmente os filmes foram cortados em dimensões iguais (2x1 cm), logo em seguida realizaram-se as medidas de espessura em três pontos distintos, e após, os mesmos foram padronizados na umidade 97% utilizando uma solução salina de nitrato de amônio durante 24 horas em um dessecador, ao final dessa padronização realizou-se uma nova medida de espessura dos filmes. Por fim, tiraram-se as médias aritméticas de cada filmes, pois os mesmos não apresentam uma uniformidade.

3.5.2. Tempo de desintegração

O tempo de desintegração de cada filme foi realizado pelo processo de cronometragem com a ajuda do equipamento contado de colônias CP 602, apresentado na Figura 8. Inicialmente, os filmes foram cortados em tamanhos iguais (2x1 cm), sendo realizado em triplicata, para obter um menor erro experimental. Os filmes foram padronizados antes da análise em um dessecador com umidade 97% a temperatura 27°C durante 24 horas e foi utilizado 5µL de saliva artificial a temperatura 37°C, a temperatura da saliva foi ajustada em uma incubadora. Após a saliva artificial ser introduzidas aos filmes, o cronômetro foi ativado e o tempo de desintegração foi devidamente anotado após cada análise.

Figura 8. Equipamento utilizado no teste de desintegração dos filmes sem e com complexo.



Fonte: Autora.

3.5.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A caracterização morfológica dos filmes foram realizadas no Laboratório Multiusuários do Instituto de Química de Universidade Federal de Uberlândia (IQ-UFU), as amostras foram adicionadas e metalizadas com uma fina camada de ouro em um porta amostra metálico e ouro modelo Quorum QR 150ES e analisadas por um microscópio eletrônico de varredura modelo VEGA3, TESCAN, operando a 10kV.

3.5.4. Espectroscopia na Região do Infravermelho

As análises na região do infravermelho foram utilizadas um espectrofotômetro da marca FTIR Cary 630, da marca Agilent Technologies®.

As amostras foram analisadas em estado sólido, com o auxílio de um acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante, sendo submetidas à varredura espectrofotométrica de 4000 a 400 cm⁻¹.

O espectrofômetro utilizado pertence ao Laboratório e Equipamentos Multiusuários do Pontal (LEMUP), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

3.5.5. Perfil espectroscópico na região UV-visível

Os perfis espectroscópicos foram realizados no espectrofômetro da marca UV-Vis.-NIR Cary Series, da marca Agilent Technologies no Laboratório de Equipamentos Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal-LEMUP. Os filmes sem e com complexos foram analisados separadamente, cortou-se um pedaço retangular dos mesmos e esses foram colocados em suporte de filmes sólidos, posteriormente, a varredura foi realizada pela absorbância de 200 a 800 nm.

3.5.6 pH dos filmes em água

As medidas de pH (pHmetro GEHAKA da PG200) foram realizadas para os filmes com e sem complexo foram cortados nas dimensões 2x1 cm e imersos em aproximadamente 10 mL de água ultrapura. Sendo obtida medidas a cada cinco minutos, o tempo total da análise foi de 20 minutos.

3.5.7 Porcentagem do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ nos filmes

Os cálculos da porcentagem do complexo incorporados aos filmes, foram analisados via espectroscopia na região do UV visível. Inicialmente, os filmes foram pesados com massas aproximadas e cortados em cinco pedaços distintos, em seguida dissolvidos em 5 mL de saliva artificial durante 5 minutos em um banho ultrassom, após, a solução foi filtrada com uma pipeta volumétrica juntamente com uma ponteira com o auxílio de um algodão e realizado a varredura do espectro.

As concentrações do complexo obtido a partir dos filmes foi obtida utilizando-se os valores de coeficiente de absorvidade molar do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em solução aquosa.

3.5.8 Análise termogravimétrica (TGA)

As propriedades térmicas dos filmes foram avaliadas por termogravimetria, sendo utilizado um TGA 55, da TA Instruments. Para cada filme pesou-se cerca de 5 mg, para ser aquecido em um porta alumínio com a temperatura de 25 até 600 °C, na razão de aquecimento de 10°C/min, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 cm³

min^{-1} . As análises foram realizadas no Laboratório de Equipamentos Multiusuários da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal- LEMUP.

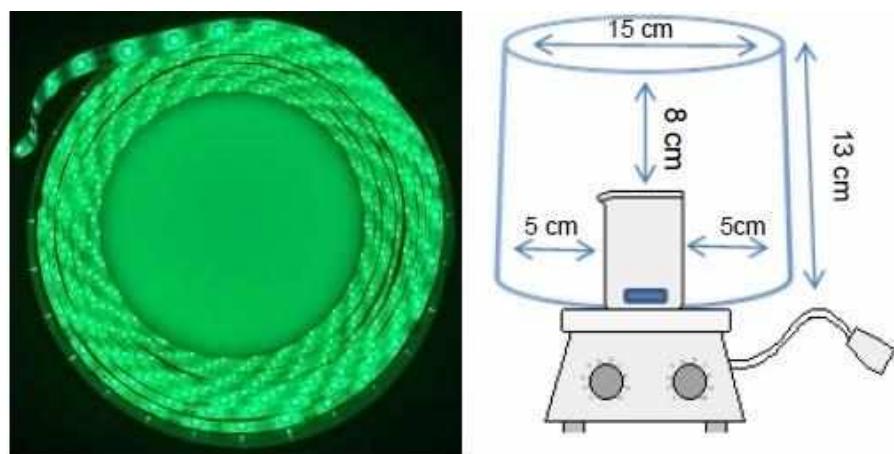
3.5.9 Perfil de liberação do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

Os perfis espectrais na região do UV-visível para liberação do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ a partir dos filmes de amido e sorbitol, foram obtidos em um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo UV 1800. Os filmes foram cortados com áreas semelhantes ($2 \times 1\text{cm}$) e pesados. Em seguida, os filmes foram imersos em $3000\text{ }\mu\text{L}$ de saliva artificial e na temperatura controlada de 37°C , sendo analisado de tempos em tempos, para observar a liberação do complexo.

3.5.10 Irradiação do complexo para liberação de NO em LED verde

As medidas de detecção de NO a partir a solução aquosa do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e do F3 (0%), foram realizadas utilizando-se a sonda diacetato de fluoresceína (DAF) e uma fonte de irradiação de LED verde (530 nm) (Figura 9). O resultado de liberação de NO avaliado através de perfil de emissão de fluorescência da sonda DAF com excitação em 495 nm e emissão em 515 nm.

Figura 9. Ilustração do LED verde utilizado no experimento.



Fonte: Autora.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os complexos precursores de rutênio foram sintetizados conforme descrito na literatura por Lima e colaboradores sendo o complexo de interesse $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ inédito. (de LIMA, 2006).

Os complexos nitrosilos de rutênio ($\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}^+$) em meio fisiológico pH=7,4, podem converter o ligante nitrosil em nitrito coordenado ao metal rutênio ($\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}_2$) (Equação I)



A reatividade do ligante nitrosil envolve o ataque nucleofílico da espécie hidroxila juntamente com ao grupo nitrosil (NO^+) (de LIMA *et al.*, 2014)

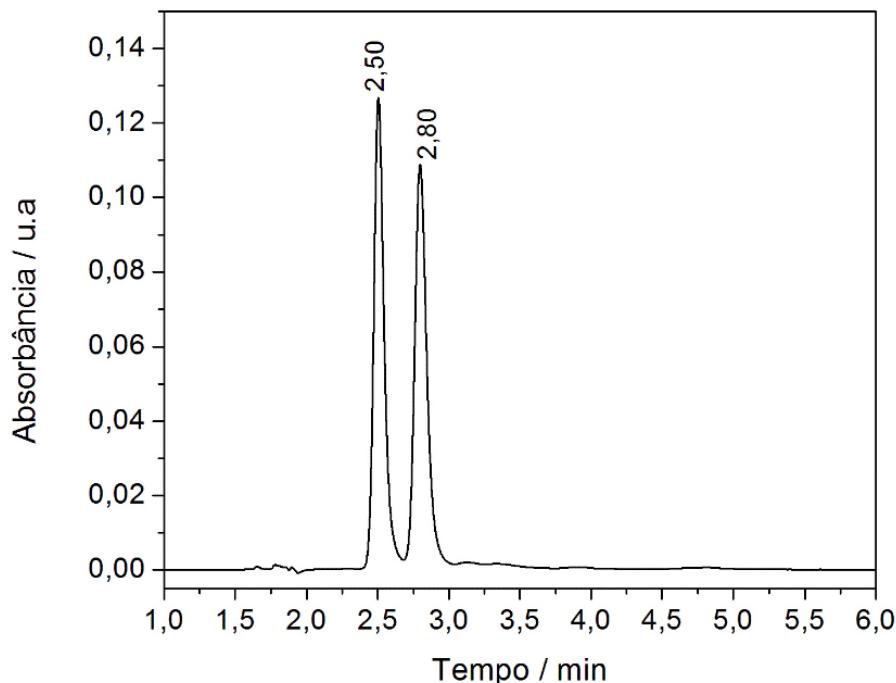
Nitrosilos e nitrito rutênio complexos apresentam atividade vasodilatadora e antitumoral sendo considerados possíveis pró-fármacos, sendo assim, o complexo sintetizado foi caracterizado como apresentados nas etapas seguintes. (de LIMA *et al.*, 2006).

4.1 Caracterização do complexo de rutênio

4.1.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Após a realização da síntese do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foi avaliado sua pureza via técnica cromatografia líquida de alta eficiência(CLAE). O cromatograma para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ está apresentado na Figura 10.

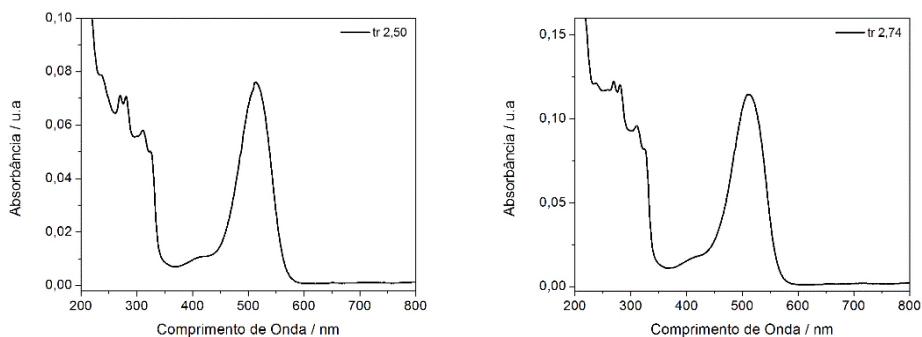
Figura 10. Cromatograma de separação dos isômeros do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Composição da fase móvel: Tampão fosfato pH=7 a 1% de ácido trifluoracético: Metanol (85:15 v/v). Vazão: 0,8 mL min⁻¹. Tempo após a dissolução do complexo: 0 minutos.



Fonte: Autora.

Os dois picos observados no cromatograma da Figura 10, sendo eles com tempo de retenção, $t_{r1}=2,50$ e $t_{r2}= 2,80$ minutos, apresentam perfis espectrais semelhantes, como pode ser observado no espectro na região do UV-visível, conforme mostra a Figura 11.

Figura 11. Espectros na região do UV-visível para os isômeros do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ referentes aos picos 1 (-), com $\text{tr1}=2,50$ minutos, e 2 (-), com $\text{tr2}=2,74$ minutos.

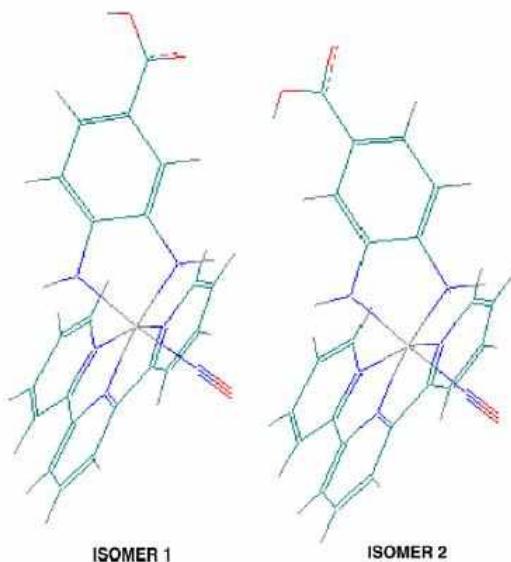


Fonte: Autora.

O cromatograma de separação dos isômeros do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentaram dois picos, como observado na Figura 11, o cromatograma realizado neste trabalho também apresentou dois picos, sendo eles com tempos de retenção de 2,50 e 2,74 minutos (de OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Verificou-se que os picos 1 e 2, sendo eles com tempo de retenção 2,50 e 2,74, respectivamente, fazem referência aos isômeros de posição do complexo, considerando o ligante ácido 3,4-diaminbenzoico (NH.NHq) que possuem o substituinte carboxila ($-\text{COOH}$) em sua estrutura, o complexo depende da sua posição, sendo assim considera-se as diferentes conformações espaciais do mesmo, a Figura 12 apresenta os isômeros de posição.

Figura 12. Representação das estruturas químicas dos isômeros dos complexos de rutênio do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{NH.NHq})(\text{tpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$



Fonte: (de OLIVEIRA *et al.*, 2009)

O resultado obtido via CLAE mostra que o complexo está puro. Tendo em vista a verificação somente de dois picos de retenção no cromatograma, podemos inferir que o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ na fase móvel de trabalho esteja em maior prevalência na forma de $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}_2^-$.

4.1.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho

Os complexos nitrosilos de rutênio normalmente são caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho através da banda de estiramento do NO.

Os valores da energia vibracional para o óxido nítrico em seus três possíveis estado de oxidação estão relacionados na Tabela 3.

Tabela 3. Comparaçāo entre o comprimento de ligação, energia vibracional na região do infravermelho e potencial redox das espécies NO^+ , NO^0 e NO^- .

| | NO^+ | NO^0 | NO^- |
|-----------------------------------|--------------------|---------------|--------------------|
| Distância N–O (Å) | 1,06 | 1,15 | 1,26 |
| $\nu(\text{NO}) (\text{cm}^{-1})$ | 2377 | 1875 | 1470 |
| Potencial vs EPH (V) | +1,21 ^a | — | +0,39 ^b |

a) $\text{NO}^{0/+}$, b) $\text{NO}^{0/-}$. Fonte: KOPPENOL, 1996.

A energia vibracional é influenciada pela intensidade da retro doação $d_{\pi}(M) \rightarrow \pi^*(NO^+)$, que quanto maior, menor é a força de ligação do NO ao íon metálico.

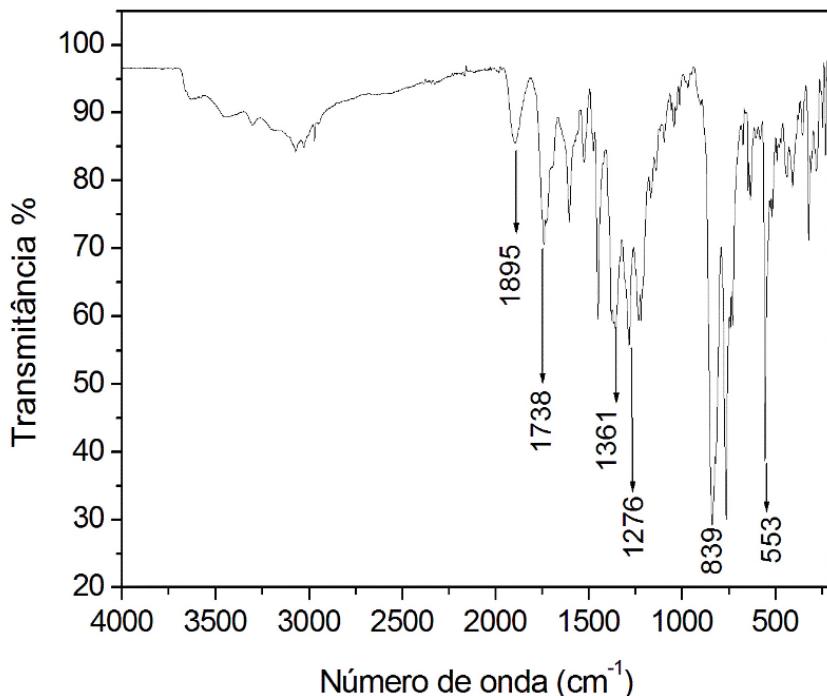
De acordo com Richter-Addo e Legzdins (1992) existem vários fatores que afetam a intensidade em relação a retro doação, como o efeito eletrônico dos ligantes, estado de oxidação do centro metálico e a estrutura do complexo (efeito estérico).

No caso do complexo de rutênio coordenado ao ligante nitrito, o NO_2^- pode estar coordenado ao metal de várias formas. Na forma monodentada pelo átomo doador nitrogênio ou através dos átomos doadores de oxigênio de maneira bidentada ou em ponte (de LIMA *et al.*, 2014).

A obtenção de complexo nitrito de rutênio pode ser confirmada pela observação de bandas de forte intensidade em 1349 cm^{-1} características de estiramento assimétrico do ligante NO_2^- e outra banda em 1298 cm^{-1} para o estiramento assimétrico (de LIMA *et al.*, 2014).

O espectro de IR para o complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$, está apresentado na Figura 13

Figura 13. Espectros na região do IR para os complexos $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ pela técnica de ATR.



Fonte: Autora.

As bandas de estiramentos obtidas para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentadas na Figura 13 foram próximos aos seguintes valores, $\nu=1738 \text{ cm}^{-1}$ estiramento C=N referente ao ligante ácido 3,4 diaminobenzóico, $\nu=839 \text{ cm}^{-1}$ referente ao contra íon PF_6^- e $\nu=553 \text{ cm}^{-1}$ o estiramento referente a ligação $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{N}$.

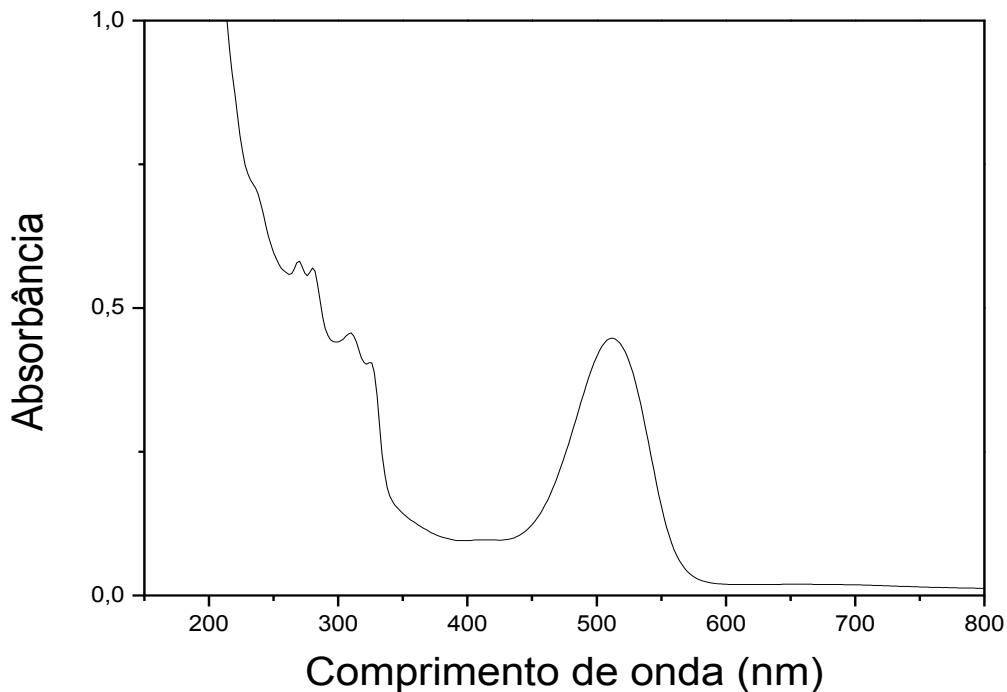
Na região de $\nu=1895 \text{ cm}^{-1}$ observa-se estiramento do ligante nitrosil (NO^+) coordenado ao íon metálico Ru^{II} . No entanto, em $\nu=1361 \text{ cm}^{-1}$ e 1276 cm^{-1} , apresentam estiramentos assimétricos e simétricos do ligante nitrito (NO_2^-), respectivamente (de BASTOS *et al.*, 2014; de LIMA, 2006)

Em estado sólido, se vê o estiramento referente a ligação NO^+ , pois provavelmente durante a síntese, o contra íon NH_4PF_6 hidroliza em meio aquoso alterando o pH do meio reacional o que faz com que a solução reacional esteja ligeiramente ácida. Sendo assim, faz-se que isolemos uma mistura de complexo na forma de $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^+$ e $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}_2^-$. Tal evidência não desabona a continuidade do trabalho já que o complexo em solução aquosa se encontra na forma de $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}_2$.

4.1.3 Espectroscopia na Região do ultravioleta visível

As análises espectroscópicas na região do UV-Visível do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em saliva artificial, o mesmo apresentou bandas de absorção na região do ultravioleta (270 nm e 310 nm) e na região no visível (512 nm) (Figura 14)

Figura 14. Espectro qualitativo do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ solução de saliva artificial pH=6,40 na região do UV-visível.



Fonte: Autora.

Os espectros de absorção na região do UV-visível (Figura 15), foram observados uma banda e um ombro com energias próximas em 270 nm e 310 nm, respectivamente, atribuída a transição de $\pi \rightarrow \pi^*$ do complexo, características de transições eletrônicas intra-ligante.

Na região do visível (de 400 a 800 nm) observou-se a formação de uma banda, aproximadamente, 512 nm sendo atribuída às transições $d\pi(\text{Ru}^{II}) \rightarrow \pi^*(\text{NH.NHq})$, transição de eletrônica do tipo transferência de carga.

Os máximos de absorção apresentadas no espectro da Figura 15 foram utilizados para calcular o coeficiente de absorvidade molar. Os dados de coeficiente de absorvidade molar (ϵ), encontram-se descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de comprimento de onda, coeficiente de absorvidade molar, e suas devidas atribuições.

| λ (nm) | ϵ (mol L ⁻¹ cm ⁻¹) | Atribuições |
|----------------|--|--|
| 271 | 13.395 | $\pi \rightarrow \pi^*$ |
| 281 | 13.091 | $\pi \rightarrow \pi^*$ |
| 310 | 10.504 | $\pi \rightarrow \pi^*$ |
| 326 | 9.060 | $\pi \rightarrow \pi^*$ |
| 512 | 10.223 | d π Ru ^{II} $\rightarrow \pi^*$ (tpy, NH.NHq) |

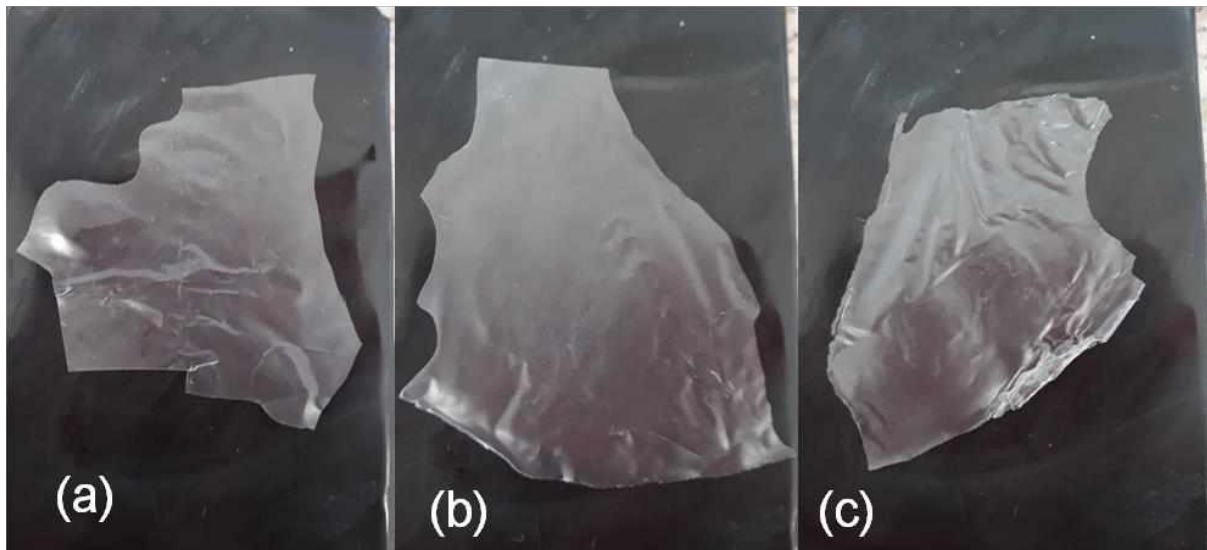
Fonte: Autora.

4.2 Caracterização dos Filmes de Amido/Sorbitol sem e com complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆

4.2.1 Aspectos visuais dos filmes com e sem complexos

Os filmes com e sem complexo apresentaram propriedades visuais como, cor, brilho e consistência. A Figura 15 apresenta a aparência visual do F1(5%), F2(10%) e F3(0%) sem adição do complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆.

Figura 15. Aspectos visuais do F1(5%) (a), F2(10%) (b) e F3(0%) (c).



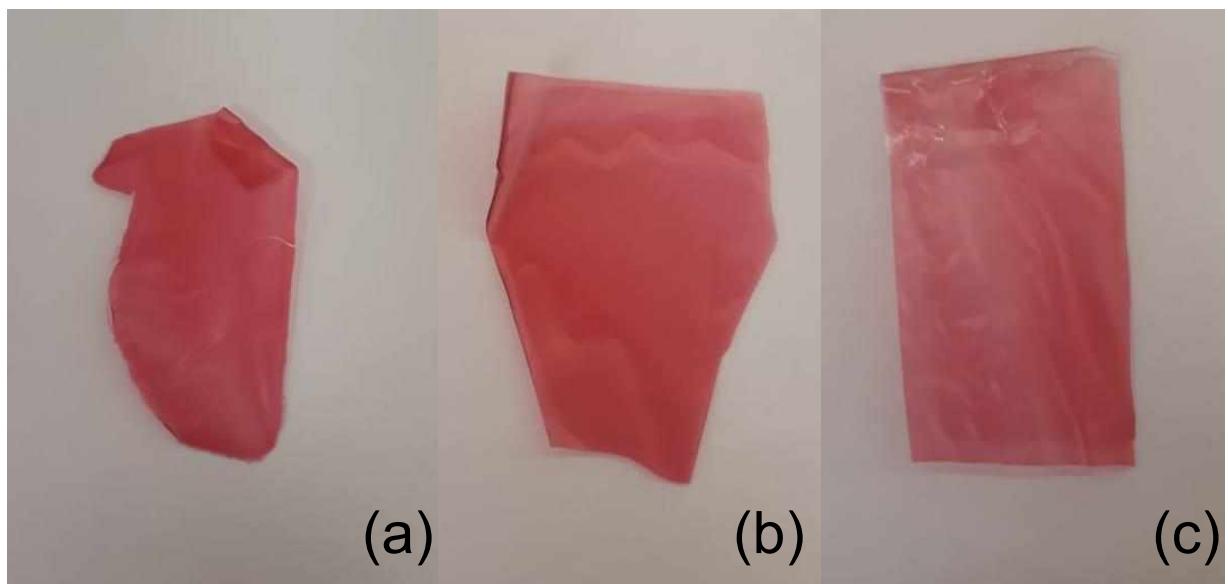
Fonte: Autora.

Como pode ser visto na Figura 15 os filmes sem adição do complexo [Ru(NO₂)(NH.NHq)(tpy)]PF₆ apresentam uma coloração opaca, aparência homogênea e pode-se observar também que o F3(0%) Figura 14(c) apresenta uma rugosidade entre os demais, o F2(10%) Figura 14(b) aparenta estar sem rugosidade,

liso em relação aos demais filmes e ainda, não se observa diferença de coloração nos filmes contendo uma concentração maior de sorbitol.

Ao incorporar os filmes com complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, sua coloração visual foi alterada, como pode ser vista na Figura 16.

Figura 16. Aspectos visuais do F1(5%) (a), F2(10%) (b) e F3(0%) (c) com adição do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

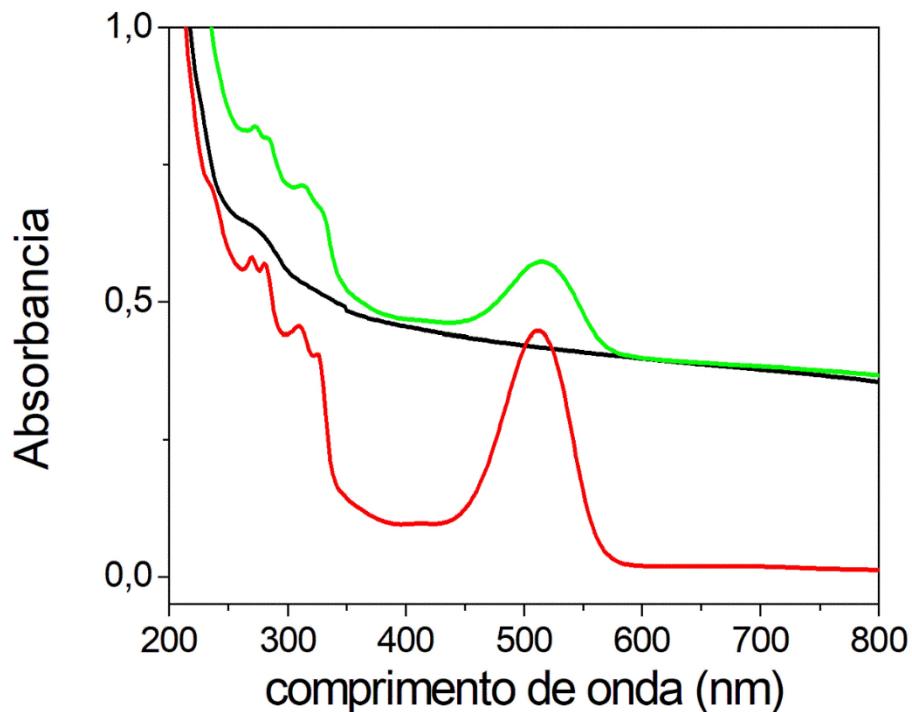


Fonte: Autora.

Os filmes com adição do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentam uma coloração rosada, e ainda pode-se observar que o F3(0%) Figura 16(c) apresenta uma aparência não homogênea quando comparado aos outros filmes, uma justificativa se deve pelo meio não conter sorbitol, isto é, não ocorre a dissolução do complexo ao meio, sendo assim, o sorbitol no meio da solução facilita a dissolução.

Após a observação dos aspectos visuais, realizou-se análise do F2(10%) na região do UV-visível, o espectro está apresentado na Figura 17, sendo apresentado os espectros do F2 com e sem complexo, e ainda, o complexo em solução.

Figura 17. Espectros na região do UV Visível para o F2(10%) com adição do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (linha verde), complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em solução aquosa (linha vermelha) e F2(10%) sem complexo (linha preta).



Fonte: Autora.

Conforme mostra a Figura 17, o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ mantém suas propriedades espectroscópicas na região do UV-visível quando incorporado na matriz sólida (meio heterogêneo) semelhante em meio aquoso (meio homogêneo).

4.2.2 MEV dos filmes

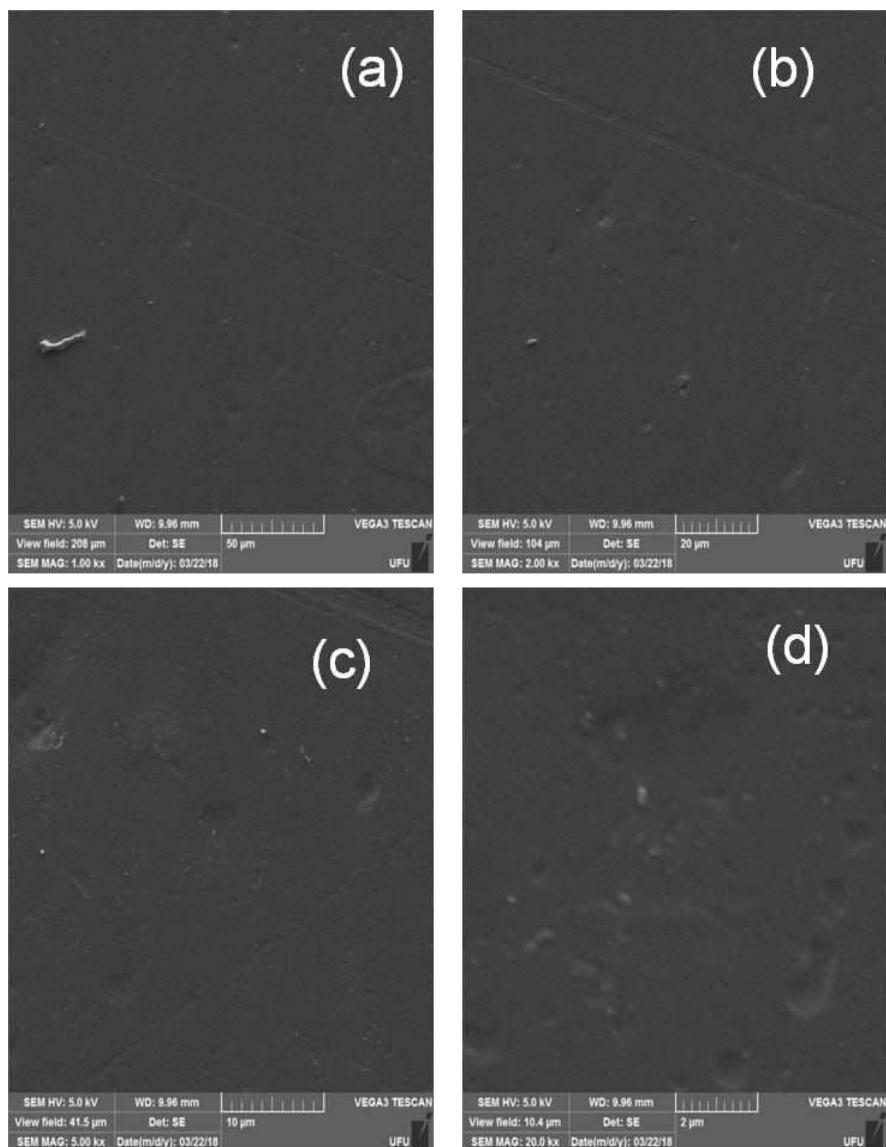
As análises por MEV para avaliar a morfologia dos filmes de amido, possibilitando a investigação das possíveis imperfeições, porosidades e separação dos componentes que constituem os filmes em estudo. As possíveis falhas que podem aparecer acarretam na propriedade mecânica do material e na presença de rugosidade, modifica o aspecto visual do filme polimérico, sendo assim, pode afetar diretamente a adesão de um tratamento farmacológico pelo paciente (BERWING, 2006).

MEV dos filmes sem complexo

Nas análises realizadas por MEV nos filmes sem complexo de rutênio apresentaram uma matriz coesa, entretanto, apresentaram partículas dispersas em seu material. Essas partículas não homogeneizadas são decorrentes do processo de formação dos filmes, no entanto, não prejudica o desempenho dos mesmos.

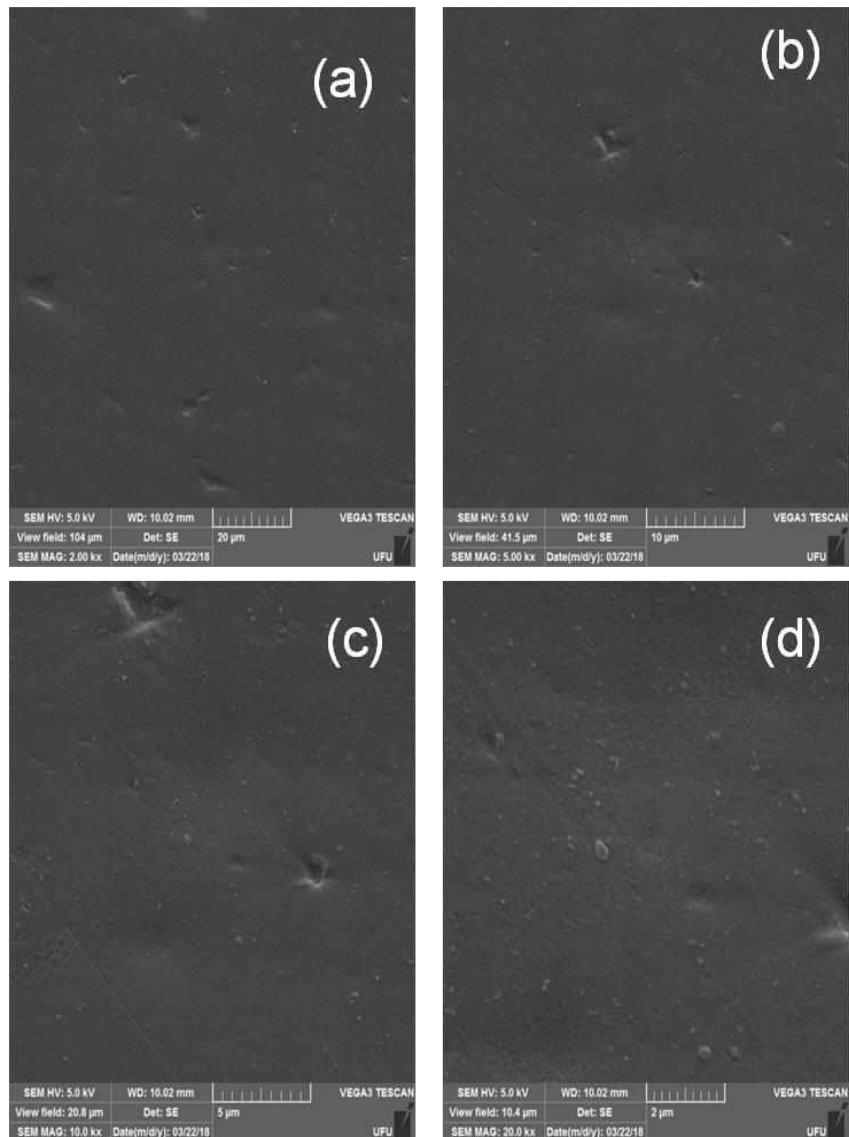
As Figuras 18, 19 e 20 apresentam imagens de superfície do F1(5%), F2(10%) e F3(0%), respectivamente.

Figura 18. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F1(5%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000) .



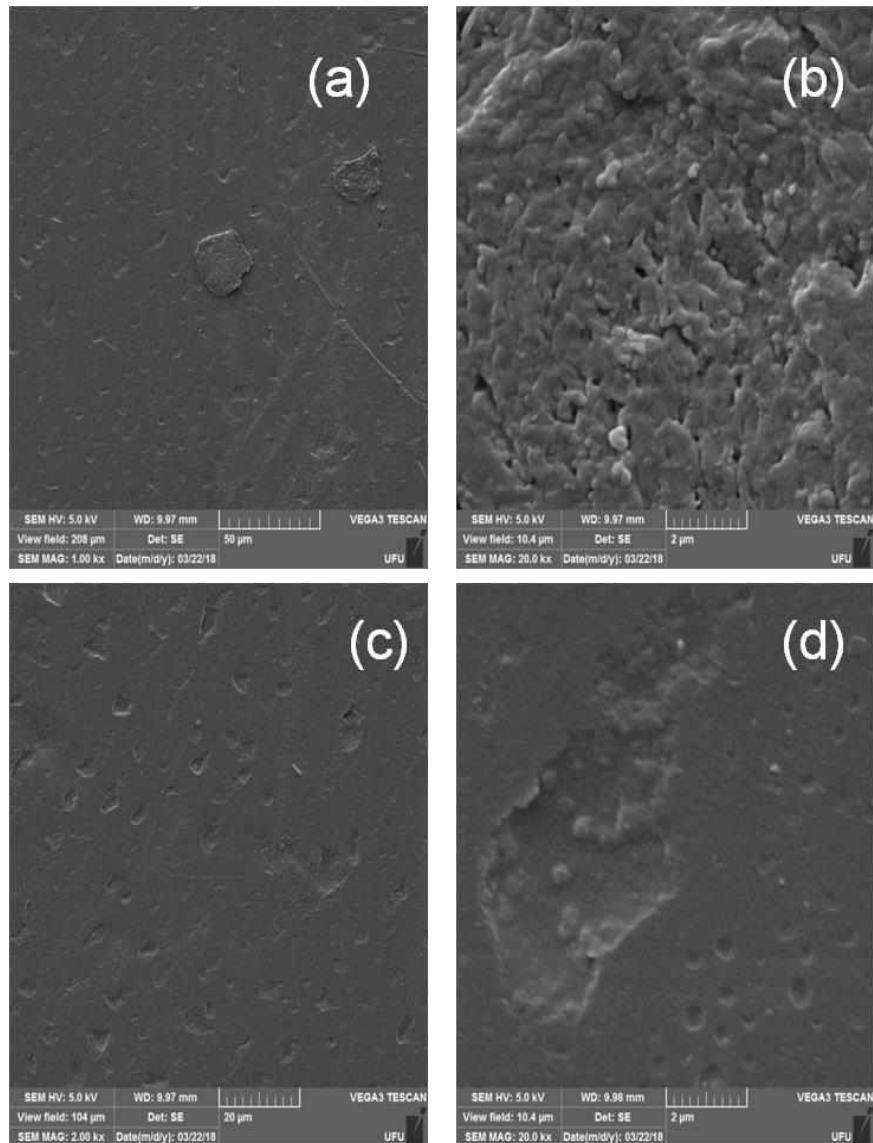
Fonte: Autora.

Figura 19. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F2(10%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000).



Fonte: Autora.

Figura 20. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F3(0%) sem complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000).



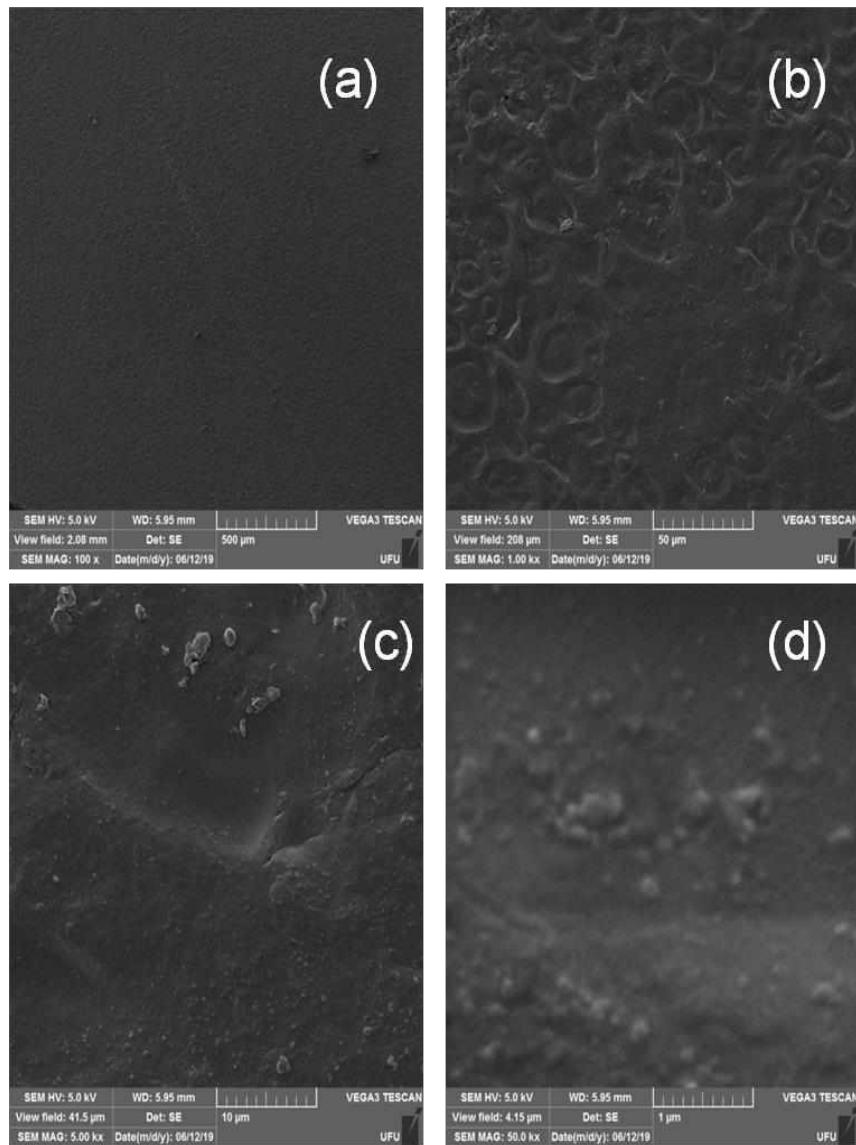
Fonte: Autora.

Analizando as imagens obtidas por MEV dos filmes apresentados nas Figuras 18, 19 e 20, verifica-se que a superfície contínua, no entanto percebe-se que o plastificante sorbitol influência no processo de dispersão do amido na solução filmogênica. Na Figura 20 que se refere a ao filme F3(0%) se vê um aumento da rugosidade na superfície do filme que indica a dificuldade de dispersão do amido.

MEV dos filmes com complexo

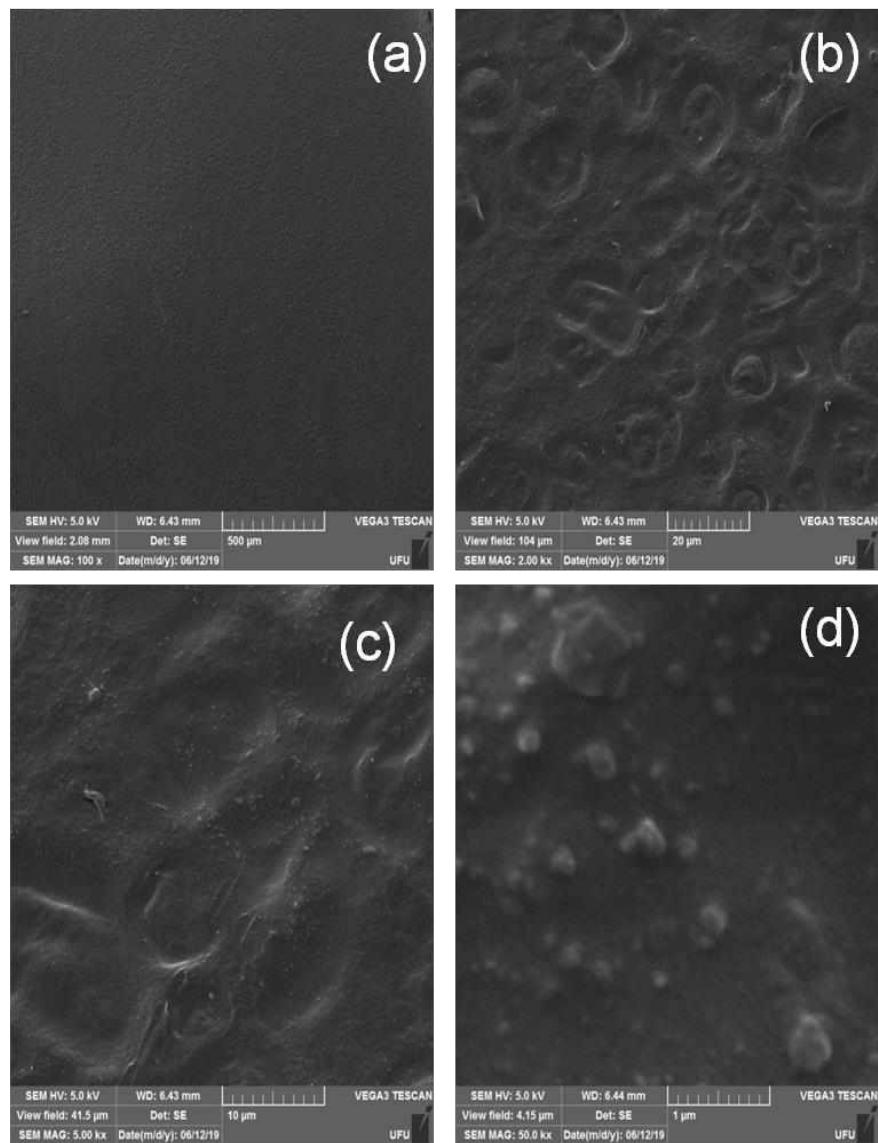
A morfologia dos filmes com complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ produzidos foram avaliados por MEV. As Figuras 21, 22 e 23 refere-se aos F1(5%), F2(10%) e F3(0%), respectivamente.

Figura 21. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F1(5%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000).



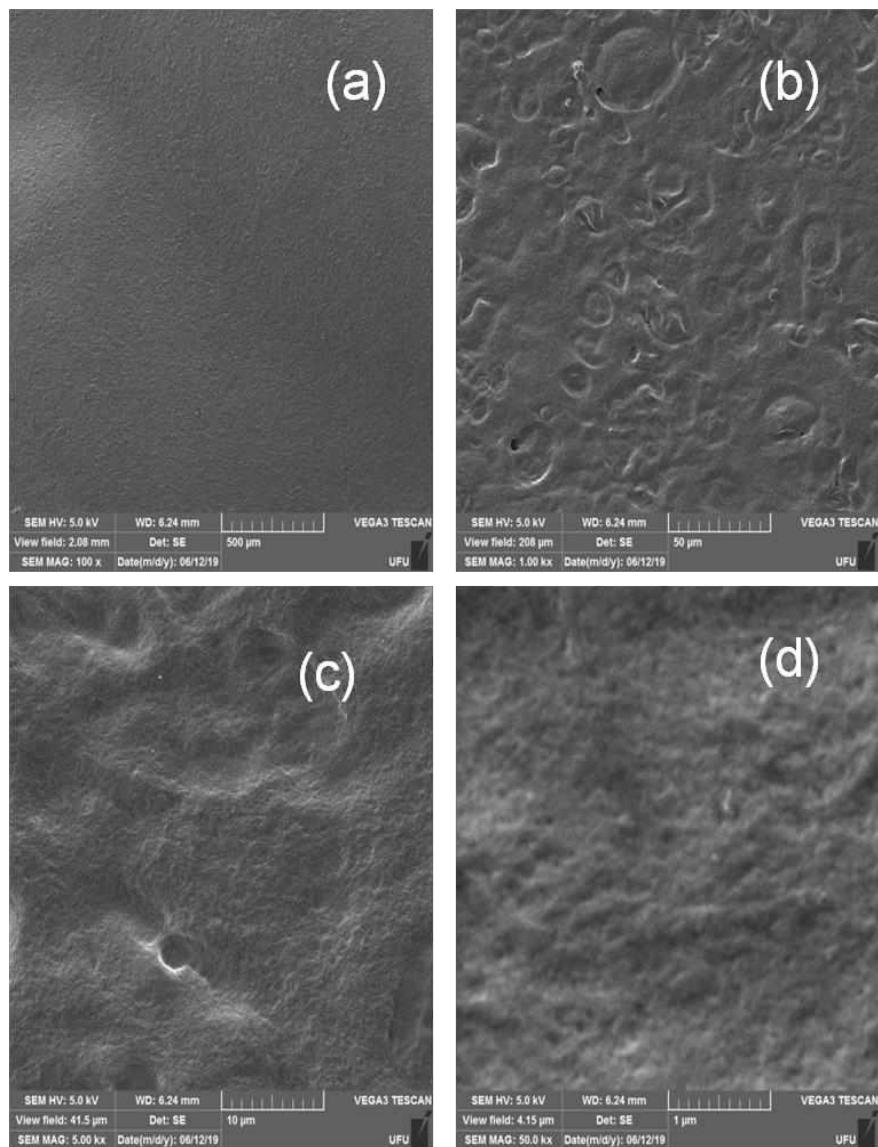
Fonte: Autora.

Figura 22. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F2(10%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000).



Fonte: Autora.

Figura 23. Imagens por MEV obtidas para a superfície do F3(0%) com complexo nas ampliações (a) – (x1000), (b) – (x2000), (c)- (x5000) e (d) – (x20000).



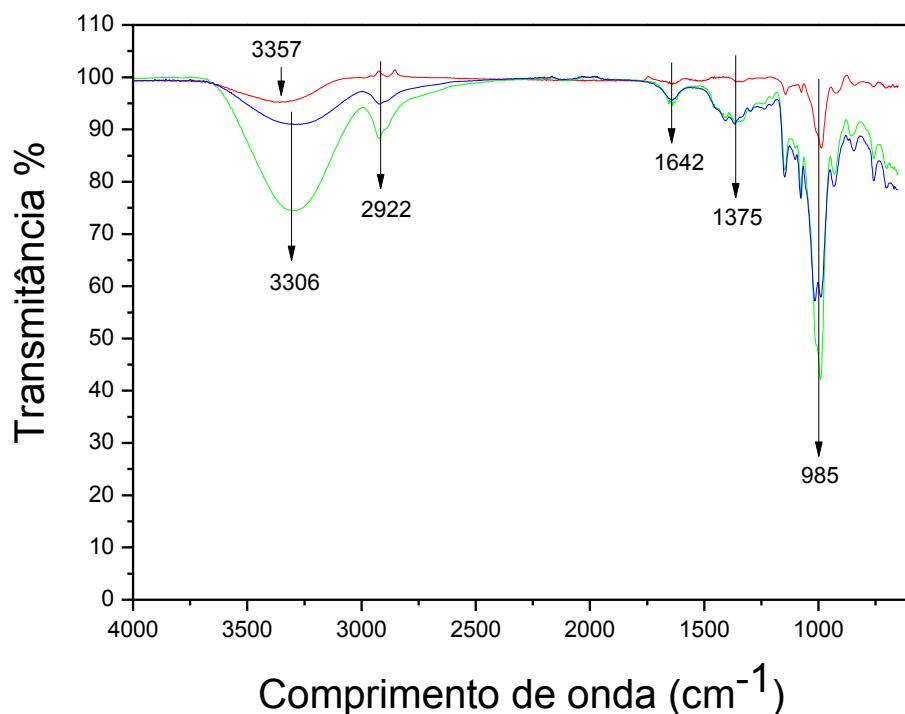
Fonte: Autora.

Analisando as imagens obtidas por MEV dos filmes verifica-se que todos apresentam uma estrutura lisa e contínua, F1(5%) e F2(10%) (Figura 21 e 22) apresentam morfologia semelhantes com alguns poros em sua superfície e partículas de amido não solubilizadas, a adição do complexo ao meio da solução filmogênica não alterou em sua homogeneidade, uma vez que as imagens de MEV dos mesmos sem complexo são semelhantes. O F3(0%) (Figura 23) não apresenta partículas dispersas em seu material, evidenciando que as partículas dispersas dos outros filmes sejam relacionadas ao amido.

4.2.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho para os filmes com e sem complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ na região do IR, com o objetivo de observar mudanças na intensidade dos filmes devido a concentração de sorbitol contido em cada um deles. As Figuras 24 e 25 refere-se aos filmes sem e com complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectivamente.

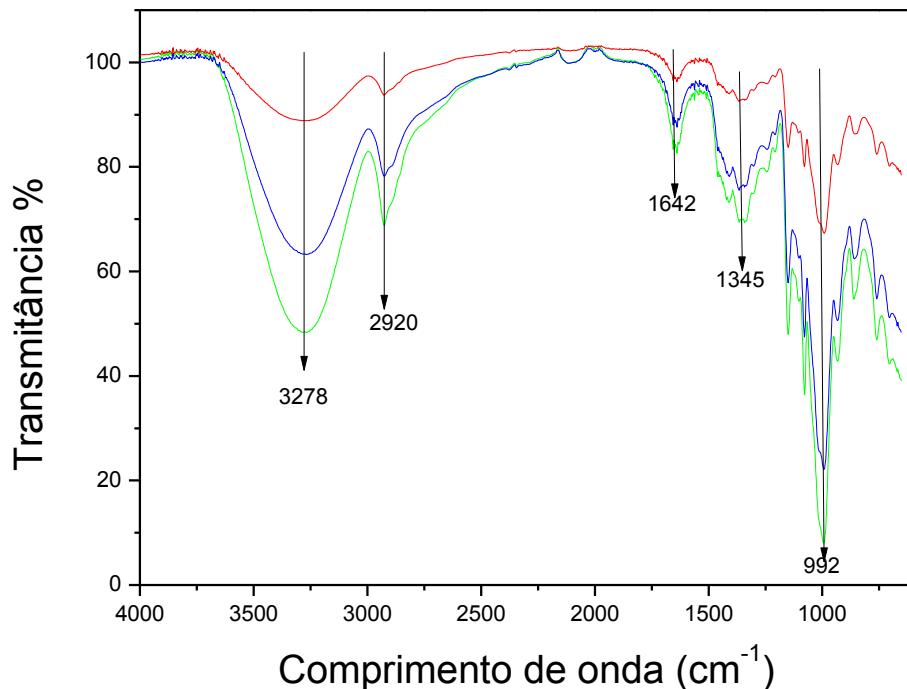
Figura 24. Espectros na região do infravermelho dos filmes sem complexo, sendo, F1(5%) - (verde), F2(10%) - (azul) e F3(0%) - (vermelho).



Fonte: Autora.

Os espectros obtidos para os filmes sem complexo apresentaram vibrações na faixa de 3000, 2900, 1600, 1300 e 900 cm^{-1} . Como reportado na literatura, o amido apresenta bandas nas regiões de 2900 e 3000 cm^{-1} , características do estiramento C-H. A banda em 985 cm^{-1} é referente a deformações C-OH e CH₂ e a banda em 1642, 3306 e 3357 cm^{-1} são referentes às deformações moleculares que existem na molécula do amido. O perfil espectral obtido para os filmes contido amido de milho e sorbitol são semelhantes ao encontrado na literatura. (LIMA, et al,2012).

Figura 25. Espectros na região do infravermelho dos filmes com complexo, sendo, F1(5%) - (verde), F2(10%) - (azul) e F3(0%) - (vermelho).



Fonte: Autora.

Os modos vibracionais relacionados ao complexo não foram observados nesse espectro, uma justificada é devido a concentração adicionada em cada filme, ou seja, a concentração de matriz é muito maior que a concentração do complexo.

4.2.4 Espessura dos filmes com complexo e sem complexo

A espessura dos filmes foi estimada em dois momentos, sendo eles, em temperatura ambiente (65% umidade, T= 26°C) e umidade elevada (94% umidade, T= 28°C), onde os filmes ficaram 24 horas em um dessecador para controle de umidade.

A Tabela 5 apresenta os valores de espessuras(mm) de cada filme sem os complexos e com complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

Tabela 5 - Medidas de espessura dos filmes sem e com complexo, antes e depois da umidade elevada, em triplicata.

| Filmes | Temperatura 28°C, sem umidade elevada | | Temperatura 28°C, 94% umidade | |
|---------------|--|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| | com complexo | sem complexo | com complexo | sem complexo |
| F1 | 0,053 ±0,002 | 0,086 ±0,006 | 0,095 ±0,064 | 0,140 ±0,005 |
| F2 | 0,080 ± 0,004 | 0,074 ± 0,006 | 0,113 ± 0,005 | 0,096 ± 0,009 |
| F3 | 0,061 ± 0,002 | 0,082 ± 0,004 | 0,088 ± 0,006 | 0,127 ± 0,005 |

Fonte: Autora.

Analizando os valores de espessuras observa-se que os filmes não são uniformes, uma vez que, usando a técnica de “casting” fica difícil o controle de espessura linear, conforme visto na literatura por Sobral ainda mais neste trabalho, que as placas utilizadas não se apresentaram planas para o controle das espessuras dos mesmos. Dessa maneira, para as análises subsequentes foi utilizado partes dos filmes com valores próximos de espessuras (SOBRAL, 2009).

Entretanto, pode-se observar um aumento na espessura de todos os filmes após 24 horas na umidade elevada, com isso, infere-se que o mesmo em umidade elevada absorve água, isso se deve, a sua cadeia polimérica constituída por ligações de hidrogênio, e percebe-se ainda que o F2(10%) com a adição do sorbitol, o valor de espessura resulta em um menor aumento em relação aos demais filmes. A adição do complexo, embora resulte, em uma espessura maior do que em relação ao filme sem complexo, também apresenta menor espessura em relação aos outros filmes.

Por fim, ao analisar as medidas de cada filme, os mesmos foram utilizados para o experimento de tempo de desintegração.

4.2.5 Tempo de desintegração dos filmes sem e com complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

O tempo de desintegração de um filme é o momento em que ocorre uma mudança em sua estrutura, ou seja, uma quebra quando está em contato com a saliva, conforme visto pela literatura (GONÇALVES, 2013).

Tendo os filmes padronizados em umidade elevada (94%) durante 24 horas e medidos conforme visto na Tabela 6, os mesmos foram utilizados para o experimento de tempo de desintegração, esse tempo foi determinado utilizando 20 uL de saliva a 37°C em contato com o filme com a finalidade de observar uma mudança, como mostra a Figura 26, vale ressaltar que para essa análise, foram realizados testes em triplicatas, garantido assim, um menor erro experimental e uma menor variação dos tempos.

Figura 26. Filmes com complexo e sem complexo para análise de tempo de desintegração



Fonte: Autora.

Conforme descrito na literatura, os filmes de rápida desintegração são caracterizados por desintegrarem-se em uma faixa de 30 segundos. Portanto, feito as análises, os filmes estudados nesse experimento apresentaram tempos mais elevados como mostra a Tabela 6, sendo assim, não podem ser classificados como filmes de desintegração rápida, no entanto, não pode ser descartado a aplicação

desses filmes como sistema de liberação de fármaco, tendo em vista que trata-se de um filme constituído com materiais biocompatíveis (GONÇALVES, 2013).

Tabela 6 - Tempo de desintegração dos filmes com e sem complexo.

| Filmes sem complexo | Tempo(segundos) | Filmes com complexo | Tempo(segundos) |
|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| F1 | 615 | F1 | 196 |
| F2 | 489 | F2 | 328 |
| F3 | 150 | F3 | 389 |

Fonte: Autora.

Para os filmes sem complexo, a adição do sorbitol pode-se relacionar ao aumento do tempo de desintegração entre os F3(0%) E F1(5%). Para o F2(10%) a adição do sorbitol diminuiu o tempo de desintegração.

4.2.6 pH dos filmes em água

A determinação do pH dos filmes em água ultrapura foi determinada a fim de analisar se haveria alteração ao meio, essa caracterização é de extrema importância pois pH externos podem causar irritação a mucosa bucal, como visto na literatura (AIMOTO, 2007).

A Tabela 7 apresentam as médias dos valores de pH medidos durante vinte minutos.

Tabela 7 - Média dos valores de pH dos F1(5%), F2(10%) e F3(0%) medidos durante vinte minutos em água ultrapura.

| Filmes sem complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | pH | Filmes com complexo [Ru(NO ₂)(NH.NHq)(tpy)]PF ₆ | pH |
|---|-----------|---|-----------|
| F1 | 4,47±0,18 | F1 | 4,41±0,16 |
| F2 | 4,54±0,13 | F2 | 4,50±0,18 |
| F3 | 4,51±0,40 | F3 | 4,30±0,41 |

Fonte: Autora.

A partir dos valores de pH obtidos, observou-se que ocorre uma normalidade entre eles. O sorbitol é constituído de 6 carbonos ligados a 6 hidroxilos, o que faz com

que tenha a maior capacidade de interação com o amido, diminuindo a mobilidade das cadeias formadoras da matriz dos filmes e, consequentemente, diminuindo sua afinidade com a água. Portanto, os valores de pH obtidos neste trabalho estão coerentes com os descritos nas literaturas, isto é, não ocorre uma mudança bruscas nos valores de pH, sendo assim, é improvável que venha causar irritação ou desconforto na mucosa da pessoa (AIMOTO, 2007).

4.2.7 Porcentagem do complexo de rutênio $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ nos filmes

A porcentagem do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foi analisada a fim de obter a quantidade do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ presente em cada filme.

A partir dos espectros obtidos no UV-Visível, foi possível calcular as porcentagens do complexo de rutênio em cada filme analisado, sendo assim, foram encontrados os valores de absorbância obtidos no comprimento de onda igual a 512 nm, obteve-se a concentração do complexo no filme

Na Tabela 8 estão apresentados os valores do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ obtidos em cada filme a partir dos cálculos realizados.

Tabela 8 - Valores da porcentagem do complexo de rutênio encontrada em cada filme analisado.

| Filmes | Porcentagem do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em cada filme(%) |
|--------|---|
| F1 | 48,8 |
| F2 | 49,4 |
| F3 | 42,2 |

Fonte: Autora.

Tendo em vista que partiu-se de 0,005 g de complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ dissolvido no volume inicial (100mL), foram usados 25 mL para preparação dos filmes sólidos, portanto, os valores apresentados na Tabela 8 faz referência aos 25 mL utilizados na preparação dos filmes. Entre eles o que apresentou maior porcentagem foi F2 constituído de 10% de sorbitol, nesse estudo consegue-se descrever a influência do sorbitol com a porcentagem do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

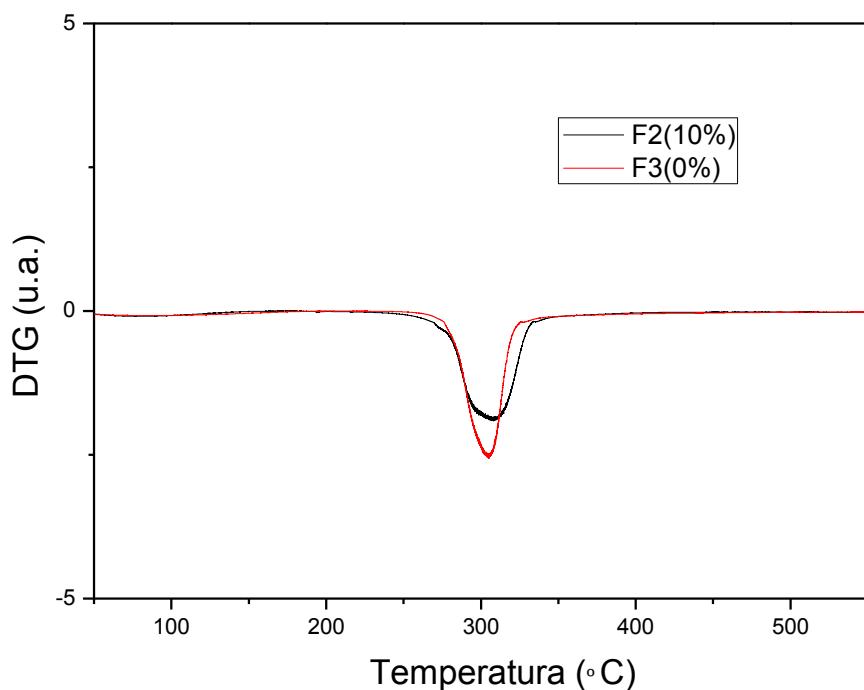
mobilizado ao filme, visto que segue uma normalidade de valores em relação a proporção de sorbitol adicionada em cada filme.

4.2.8 Análise termogravimétrica dos filmes (TGA)

Os filmes produzidos foram caracterizados pelo seu comportamento térmico pela análise de TGA. Essas técnicas são de extrema importância, uma vez que permite analisar a interação polímero/fármaco e como a adição do fármaco altera o comportamento térmico dos filmes juntamente com a sua degradação (FERREIRA,2019).

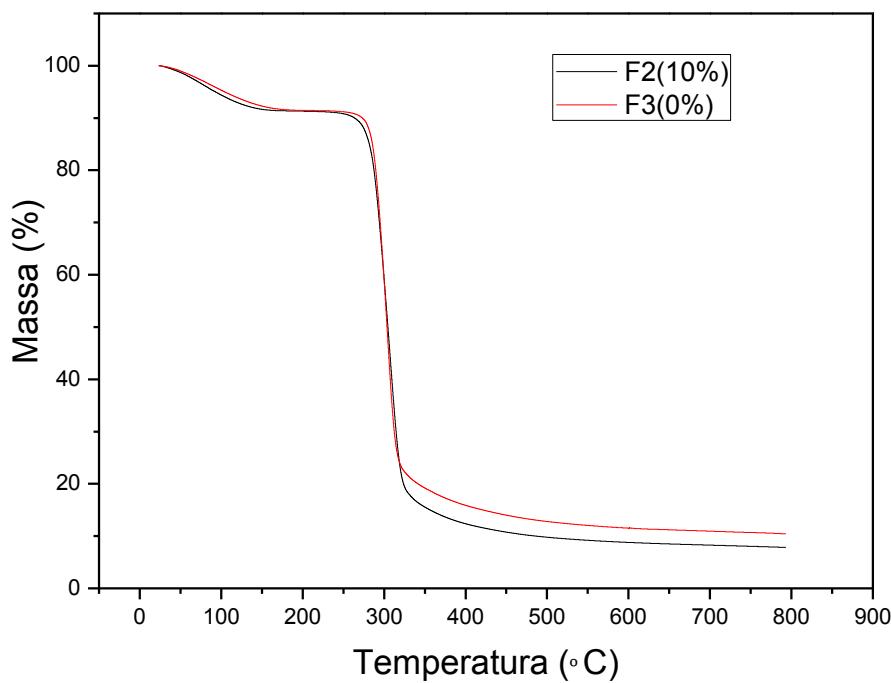
Os resultados obtidos para os estudos de termogravimetria (TG) e derivada (DTG) estão representados nas Figuras 27 e 28.

Figura 27. Análise termogravimétrica do F2(10%) e F3(0%).



Fonte: Autora.

Figura 28. Análise termogravimétrica do F2(10%) e F3(0%).



Fonte: Autora.

Nas duas formulações, F2(10%) e F3(0%) ambos incorporados com complexo de rutênio, pode-se observar que no intervalo entre 50° e 180 °C ambos os filmes são termicamente estáveis. A partir dessa temperatura teve início a decomposição térmica do material, vale ressaltar que o mesmo é composto por amido de milho, sorbitol, água e complexo de rutênio.

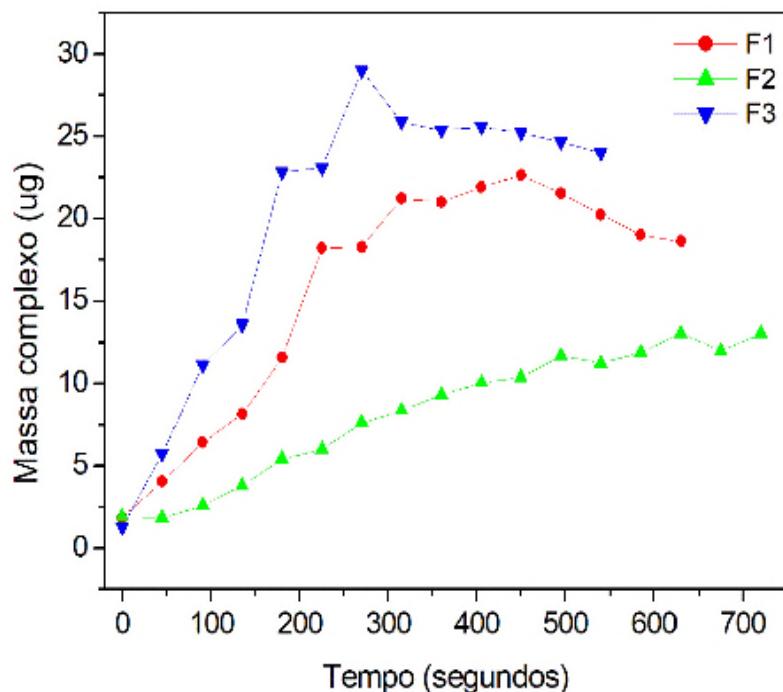
A perda de massa significante nesse material pode ser vista no intervalo de 250° a 325°, o mesmo se relaciona a decomposição da matriz, que nesse caso se apresenta bastante uniforme, isto é, possui uma ótima interação entre a matriz, plastificante e complexo. Após essa temperatura (325°C), observa-se uma fase constante, ou seja, massa constante do material. Os filmes de amido ocorre na presença de dois estágios, sendo o primeiro em torno de 60°C a 70°C e se encerra em torno de 183°C, característico da umidade presente no material, após essa temperatura ocorre um segundo estágio, que consiste na variação de massa, que é concluído na faixa de 595,2°C e a temperatura de taxa mínima de decomposição do amido é em torno de 354,0°C (MACHADO, 2014.)

Portanto, com essa análise consegue observar o comportamento térmico dos filmes de amido, que como descrito, está coerente com a literatura e pode-se dizer ainda que o complexo adicionado não interfere termicamente na matriz dos mesmos.

4.2.9 Perfil de liberação do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em saliva artificial

A avaliação do perfil de liberação do complexo em saliva artificial foi avaliada pela técnica de espectroscopia no UV-Visível em relação as proporções de sorbitol adicionadas em cada filme. O resultado obtido está apresentado na Figura 29.

Figura 29. Perfil de liberação do F1(5%), F2(10%) e F3(0%) em relação a absorbância 512 nm por tempo(segundos).



Fonte: Autora.

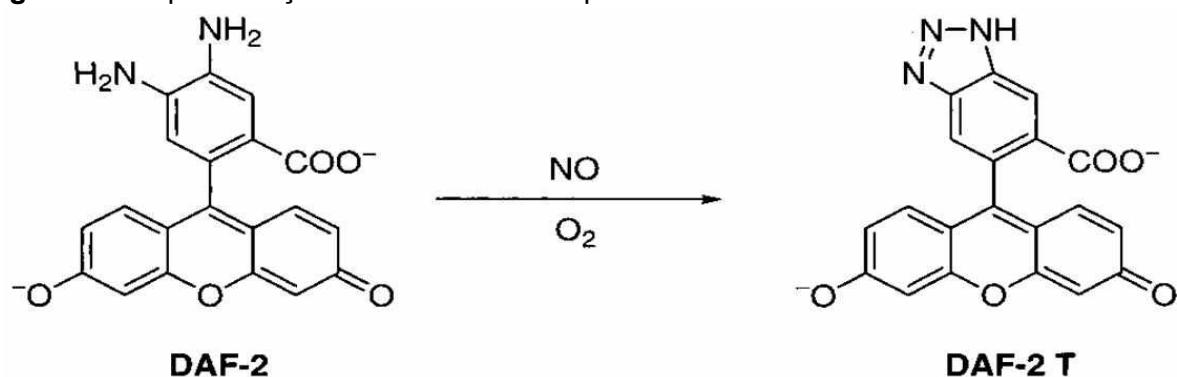
Como se vê na Figura 29, o perfil de liberação para o F2(10%) apresenta um potencial incentivo para estudos e aplicação como sistema de liberação modificados, visto que o mesmo apresenta uma liberação gradativa. Os outros F1(5%) e F3(0%), indicam-se uma liberação do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ maneira rápida

(cerca de 4 minutos) nas condições de estudos, o que limitam sua aplicação como esperado na proposta do trabalho. Vale ressaltar, que há necessidade de estudos de modelos matemáticos cinéticos que possam confirmar que o F2(10%) pode ser aplicado como sistema de liberação controlada para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

4.2.10 Irradiação do complexo para liberação do NO em LED verde

Para avaliação da irradiação do NO, utilizou-se método fluorescente, devido a sensibilidade de detecção dos mesmos e um LED verde. A sonda fluorescente utilizada nesse experimento foi o DAF, a mesma possui uma alta sensibilidade da espécie NO e o LED verde por irradiar no comprimento de onda de 500 a 700 nm. Sendo assim, inicialmente analisou-se a irradiação do complexo puro, ou seja, sem estar imobilizado ao filme e após, analisou-se a irradiação do NO imobilizado ao filme, vale ressaltar, que para esse experimento, apenas o F3(0%) foi avaliado. A Figura 30 representa a estrutura da sonda e sua detecção frente ao NO. (SILVEIRA, 2004).

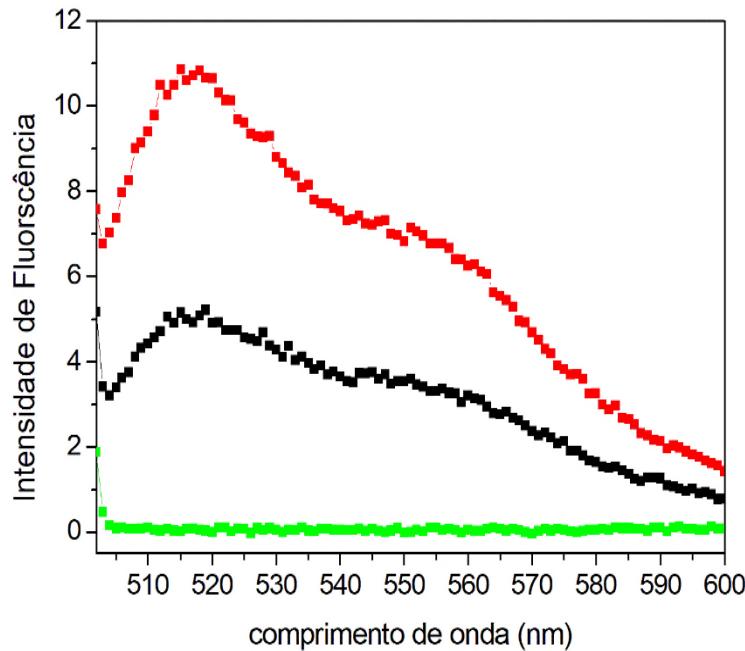
Figura 30. Representação do DAF frente a espécie de NO.



Fonte: (PLANCHET & KAISER, 2006.)

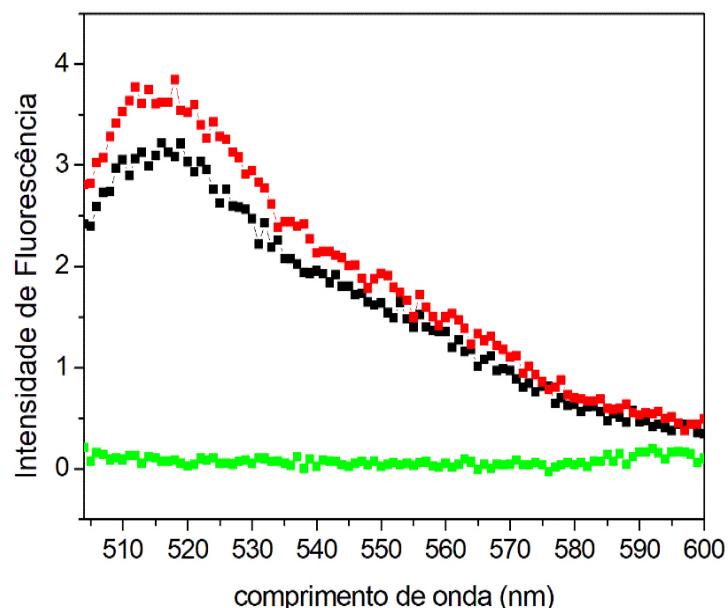
O perfil de irradiação obtido pelo complexo puro e no filme imobilizado está apresentado nas Figuras 31 e 32.

Figura 31. Perfil de fluorescência do DAF após irradiação com LED verde do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em solução.



Fonte: Autora.

Figura 32. Perfil de fluorescência do DAF após irradiação do filme F3(0%) com o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{NH.NHq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em LED verde



Fonte: Autora.

A irradiação com LED verde em presença DAF como sonda fluorescente de NO (Figuras 31 e 32) mostrou o perfil qualitativo de liberação de NO através do aumento da banda de emissão em 515nm ($\lambda_{exc}= 495\text{nm}$). Pode-se observar ainda, que o perfil de liberação é semelhante, tanto no complexo puro, quanto no complexo imobilizado, sendo assim, infere-se que a imobilização do mesmo é eficiente.

CONCLUSÃO

Este trabalho possibilitou o estudo da aplicação do filme de amido de milho e sorbitol incorporado ao complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$.

Dito isso, realizou-se análises para o complexo sintetizado que se apresentou como fármaco modelo e análises para o complexo imobilizado aos filmes preparados.

Para o complexo sintetizado foram realizadas análises de cromatografia, com o objetivo de observar a pureza dos mesmos. Espectroscopia de infravermelho, para verificar as vibrações do complexo, sendo ele, $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$. Espectroscopia na região do UV-Visível em saliva artificial, para observar a região de absorção e a realização do cálculo de absorvidade molar. Após imobilização do complexo aos filmes, os mesmos foram analisados quanto à aparência visual, isto é, a diferença de coloração dos filmes contendo complexo e os filmes que não continha. As análises realizadas para o complexo $[Ru(NO_2)(NH.NHq)(tpy)]PF_6$ no infravermelho apresentaram bandas de estiramento 1349 cm^{-1} características de estiramento assimétrico do ligante NO_2^- e outra banda em 1298 cm^{-1} . E os espectros obtidos na região do UV-Visível apresentaram bandas em 512 nm sendo atribuída às transições $d\pi(Ru^{II}) \rightarrow \pi^*(NH.NHq)$ e bandas em 270 nm e 310 nm . Os dados obtidos nos experimentos para os filmes com e sem complexo apresentaram medidas de espessuras semelhantes, portanto, os filmes imobilizados com complexo não alteram as medidas de espessura e não se observou diferenças de espessuras em filmes com maior quantidade de sorbitol. As medidas de pH realizadas foram satisfatórias visto que os mesmos não apresentam variação ao meio, no entanto, apresentaram-se resistência no experimento de desintegração, isto é, não se desintegraram-se em saliva artificial. Os demais experimentos realizados (MEV e TGA) apresentaram a morfologia dos filmes e comportamento térmico dos mesmos e o perfil de liberação demonstrou-se um potencial incentivo para estudos e aplicação como sistema de liberação modificada.

REFERÊNCIAS

- AIMOTO, S. A.; MALI, S.; EIRAS, G. M.V. **Efeito dos plastificantes e antiplastificantes do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca.** Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 1, p. 79-88, jan./mar, 2007.
- ALEXANDRE, R.F.; BAGATINI, F.; SIMÕES, C, M, O. **Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos á base de ginkso e ginseng.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 2008.
- ALBANEZ, R. **Recobrimento gastrorresistente de de pellets de diclofenaco de sódio em leite fluidizado tipo wurster.** Tese (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Química, 2012.
- ALDERBORN, G. **Comprimidos e compressão.** Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, cap.27, p.403-443, 2005.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSSON, P. J. **Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects.** Platinum Metals Review, p. 42-49, 2001.
- ALMEIDA, N. M. G.; LOPES, T. J.; CHAUD, M. V. **Desenvolvimento de uma formulação de cloridato de metoclopramida sob a forma de filme hidrogelatinoso.** Revista Brasileira de Farmácia, Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, p. 114-119, 2012.
- ANDREUCCETTI, C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais.** 2010. 244 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G., ALLEN JR. L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** 6.ed. São Paulo: Premier, P 568, 2000.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- ASHFORD, M. **Biodisponibilidade - fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica.** Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, cap.17, p.245-263, 2005.
- AZEVEDO, M. M. **Nanoesferas e a liberação controlada de fármacos.** Monografia (Graduação em Química). Laboratório de Química do Estado Sólido, Instituto de Química, UNICAMP, 2002.
- BANDEIRA, E.I. **Cinética de liberação controlada de um fármaco modelo em filmes de amido.** Monografia (Graduação em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2012.

BENDHACK, L. M.; RODRIGUES, G. J.; de LIMA, R. G.; MELO, M. C. **Potencial Hypotensive Compound Reduces Arterial Pressure Only In Hypertensive Rats.** Journal of physiological sciences, p. 407, 2009.

BERWING, H., **Preparação e caracterização de filmes de poliuretano com potencial de aplicação na liberação controlada de fármacos.** Tese(Mestrado em Fisico Quimica) .Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

BOBBIO F.O.; BOBBIO P.A. **Introdução a química de alimentos.** 2 ed. São Paulo: Livraria Varrela, 1995.

BODMEIER, R.; PAERATAKUL, O. **Plasticizer uptake by aqueous colloidal polymer dispersions used for the coating of solid dosage forms.** International Journal of Pharmaceutics, Amsterdam; v.152, p.17-26, 1997.

BUNHAK, J.E.; MENDES, E.S; PERREIRA, N.C.; CALVACANTI, O.S. **Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água.** Química Nova. Vol. 30, No. 2, p 312-317, 2007.

CIRRI, M.; MURA, P.; MORA, P. C. **Liquid spray formulations of xibornol by using self-microemulsifying drug delivery systems.** International Journal of Pharmaceutics, Amsterdam, v. 340, n. 1-2, p. 84-91, 2001.

COIMBRA, P. M. A. **Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural.** 2010.

CORRADINI, E.; TEIXEIRA E.M.; AGNELLI J.A.; MATTOSO. L.H. **Amido termoplástico.** São Carlos Embrapa Instrumentação Agropecuária. 2007.

da SILVA, G.T. **Blendas poliméricas de poli(álcool vinílico) e carboximetilcelulose com aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos.** Tese (Mestrado em Química). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

da SILVA, R. S.; LIMA, R.G.; de MACHADO, P.S. **Design, reactivity, and biological activity of ruthenium nitrosyl complexes.** Advances in Inorganic Chemistry, p. 265-294, 2015.

DAUD, A. S.; SAPKAL, N. P.; BONDE, M. N. **Development of Zingiber officinale in oral dissolving films: effect of polymers on in vitro, in vivo parameters and clinical efficacy.** Asian Journal of Pharmaceutics, Madhya Pradesh, v. 5, n. 3, p. 183-189, 2011.

de BASTOS, T. M.; BARBOSA, M. I. F.; SILVA, M. M.; JÚNIOR, J. W. C.; MEIRA, C. S.; GUIMARAES, E. T.; JAVIER, E.; MOREIRA, D. R. M.; BATISTA, A. A.; SOARES, M. B. P. **Nitro/Nitrosyl-Ruthenium Complexes Are Potent and Selective Anti-Trypanosoma cruzi Agents Causing Autophagy and Necrotic Parasite Death.** Jornal ASM, v. 58, 2014.

de Lima, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B.; PIERUCCI. A. P. T. **Estudo de amido do amido de farinhas comerciais comestíveis.** Polímeros, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

de LIMA, R. G., **Reatividade química e fotoquímica de complexos nitrosilos de rutênio do tipo (Ru(terpy)(L)(NO))⁺.** Tese (Doutorado em Química). Faculdade de Filosofia, Ciencias, Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

de LIMA, R. G.; SAUAIA, M. G.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A. C.; BENDHACK, L. M.; DA SILVA, R. S. **Influence of ancillary ligand in the nitric oxide photo-release from the (Ru(L)(tpy)NO]⁺³ complex and its vasodilator activity based on visible light irradiation.** Inorganic Chimica Acta, v. 359, p. 2543-2549, 2006.

de LIMA, R.; SILVA, B.; da SILVA, R.; BENDHACK, L. **Ruthenium Complexes as NO Donors for Vascular Relaxation Induction.** Molecules, v. 19, p. 9628-9654, 2014.

de OLIVEIRA, A. R. M.; MARQJOUELE, O. F.; de SANTANA, D. C. A. S.; NILOLAOU, S.; BONATO, P. S.; da SILVA, R. S. **HPLC separation, NMR and QTOF/MS/MS structure elucidation of a prominent nitric oxide donor agent based on an isomeric composition of a nitrosyl ruthenium complex.** Inorganic Chemistry Communications, vol. 12, p. 343-346, 2009.

DIXIT, R. P.; PUTHLI, S. P. **Oral strip thecnology: Overview and future potential.** Journal of Controlled Release, Amsterdam, v. 139, p. 94-107, 2009.

FERREIRA, M.V. **Produção de membranas de acetato de celulose simétricas e assimétricas para aplicação na liberação dos fármacos ibuprofeno e naproxeno.** Tese (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2019.

FONSECA, I. A. D. **Modificação Superficial de Ossos para Aplicações em Ortopedia.** 2011.

GLADWIN, M. T.; SCHECHTER, A. N.; KIM-SHAPIRO, D. B.; PATEL, R. P.; HOGG, N.; SHIVA, S.; CONNON, R. O.; KELM, M.; WINK, D. A.; ESPEV, M. G.; OLFIELD, E. H.; PLUTA, R. M.; FREEMAN, B. A.; LANCASTER, J. R.; FEELISCH, M.; LUNDBERG, J. O. **The emerging biology of the nitrite anion.** Nature Chemical Biology , v. 1, p. 308–314, 2005.

GONÇALVES, J. B. **Desenvolvimento de filmes de desintegração oral para liberação de compostos bioativos.** Tese (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos de São Paulo, Pirassununga, 2013.

ISSOTON, F.S. **Desenvolvimento e caracterização de amido de milho esterificado com plastificante glicerol, sorbitol e poli (álcool vinílico).** Tese (Mestrado em Engenharia de Processos e Tecnologias). Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2013.

KOPPENOL, W. H. **Thermodynamics of reactions involving nitrogen-oxygen compounds.** Nitric Oxide. Part A: sources and detection of NO; NO synthase. Methods in Enzymology. Califórnia, Academic Press, v. 268, cap. 2, p. 7-12, 1996.

LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. **Thermal processing of starch-based polymers.** Progress in Polymer Science, China, v.34, p 1348-1368, 2009.

LOBO, A.R.; SILVA, G.M.L. **Amido resistente e suas propriedades físicoquímicas.** Rev. Nutr., v. 16, n. 2, Campinas, abr/jun, 2003

MACHADO, A ,S, B.; REIS, J, H, O.; da SILVA, J.B.; CRUZ, S, L.; NUNES, L, I.; PEREIRA, V, F.; DRUZIAN, I, J. **Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificado com glicerol.** Química Nova, Vol. 37, No. 8, p. 1275-1282, 2014.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. **A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.38, n.4, 2002.

MARQUES, P. T. **Propriedades térmicas, mecânicas e reológicas de filmes de amido de mandioca: efeito da adição de plastificante e de agentes reticulantes.** Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MATSURA, K.; HIGAKI, T.; MASTSURA, Y.; NAWA, A. **Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species in the Pathogenesis of Preeclampsia.** International Journal of Molecular Sciences, p. 4060-4614, 2015.

MOHAMED, M. I.; HAIDER, M.; MOHAMED ALI, M. A. **Bucal mucoadhesive films containing antihypertensive drugs: In vitro/ in vivo evaluation.** Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, Rajasthan, v. 3, p. 665-686, 2011.

MOURIÑO, V. A. R. B. **Bone tissue engineering therapeutics: controlled drug delivery in three-dimensional scaffolds.** Journal of the Royal Society, p. 209–227, 2010.

ORTEGA, K. L. **Effect of a topical antimicrobial paste on healing after extraction of molars in HIV positive patients: randomized controlled clinical trial.** British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Edinburgh, v. 45, p. 27-29, 2007.

OSHIRO JUNIOR.; J. A.; SHIOTA, L. M.; CHIAVACCI, L. A. **Desenvolvimento de formadores de filmes poliméricos orgânico-inorgânico para liberação controlada de fármacos e tratamento de feridas.** Revista Matéria, v.19, n.01, p. 24-32, 2014.

PLANCHET, E.; KAISER, W. M. **Nitric oxide (NO) detection by DAF fluorescence and chemiluminescence: a comparison using abiotic and biotic NO sources.** Journal of Experimental Botany, v. 57, p. 3043–3055, 2006

PEREIRA, A. C.; FORD, T. C.; da SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. **Ruthenium-nitrite complex as pro-drug releases NO in a tissue and enzyme-dependent way.** Nitric Oxide, v.24, p. 192- 198, 2012.

RABELO, M. **Aditivação de Polímeros.** São Paulo: Artlibler, 2000.

RADES, T .; PERRIE, Y. **Farmacêutica: a entrega de drogas e direcccionamento.** Pharmaceutical Press, n. 2, p. 239, 2012.

RUNGSINNE, S.; KROCHTA, J.M. **Plasticizers in edible films and coatings.** Science Direct, p. 403-443, 2005.

SEVERINO, A. J. **Elaboração e caracterização de filmes finos de amido de milho e parafinas.** Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SEVERINO, P; SANTANA, M.H.A.; MALMONGE, S.M.; SOUTO, E.B. **Polímeros usados como sistemas de transporte de princípios ativos.** Polímeros, vol.21, n.5, p.361-368, 2011.

SHIMODA, H. et al. **Preparation of a fast dissolving oral thin film containing dexamethasone: A possible application to antiemesis during cancer chemotherapy.** European Journal os Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 73, p. 361-365, 2009.

SILVEIRA, L. R. **Considerações críticas e metodológicas na determinação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em células musculares durante contrações.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, vol 48, n. 6,p. 812-822, 2004.

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J. M. **Plasticizer effect on oxygen permeability of blactoglobulina films.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v.48, n.12, p. 6298-6302, 2000.

SULLIVAN, B. P.; CALVERT, J. M.; MEYER, T. J. **Cis-trans isomerism in (trpy)(PPh₃)RuCl₂. Comparasions between the chemical and physical properties of a cis-trans isomeric pair.** Inorganic Chemistry v. 19, p. 1404-07, 1980.

VILLANOVA, J. C.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA. A. S. **Aplicações Farmacêuticas de Polímeros.** Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 20, p. 51, 2010.

YOUNG, H.; WHISTLER, R.L; MILLER, J. N; PASCHALL, **Starch Chemistry and Technology.** Academic Press, n.2, p 249-283, 2019.

