

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Arthur Cordeiro Gomes Araújo

**MEMBRANAS GELATINOSAS MUCOADESIVAS PARA LIBERAÇÃO DE
ANESTÉSICO LOCAL**

Campina Grande - PB

2018

Arthur Cordeiro Gomes Araújo

**MEMBRANAS GELATINOSAS MUCOADESIVAS PARA LIBERAÇÃO DE
ANESTÉSICO LOCAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.**

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande - PB

2018

A663m Araujo, Arthur Cordeiro Gomes.
Membranas gelatinosas mucoadesivas para liberaçao de anestésico local / Arthur Cordeiro Gomes Araujo. - Campina Grande, 2018.
47 f : il. color.

Dissertaçao (Mestrado em Ciéncia e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciéncias e Tecnologia, 2018.

"Orientaçao: Prof. Dr. Marcus Vinicius Lia Fook".

Referéncias.

1. Anestésico. 2. Gelatina. 3. Bupivacaína. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Titulo.

CDU 615.211(043)

VITAE DO CANDIDATO

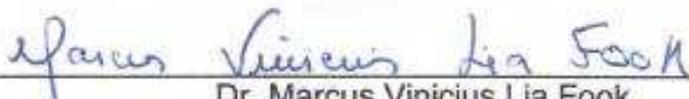
- Graduado em Medicina pelo Centro Universitário Serra dos Órgãos - UNIFESO (2011).
- Especialista em Anestesiologia pela Sociedade Brasileira de Anestesiologia (2015).

ARTHUR CORDEIRO GOMES ARAÚJO

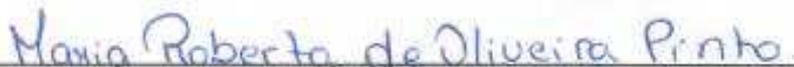
MEMBRANAS GELATINOSAS MUCOADESIVAS PARA LIBERAÇÃO DE
ANESTÉSICO LOCAL

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência e
Engenharia de Materiais como requisito
parcial à obtenção do título de **Mestre
em Ciência e Engenharia de
Materiais**.

Aprovado em: 28/06/2018



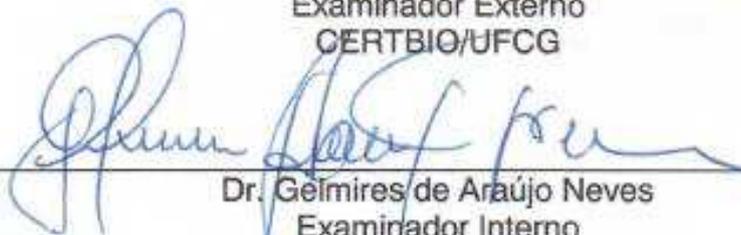
Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



Dr.ª Maria Roberta de Oliveira Pinto
Examinadora Externa
DQ/UEPB



Dr. Wladimir Jefferson Bacalhau de Sousa
Examinador Externo
CERTBIO/UFCG



Dr. Gelmires de Araújo Neves
Examinador Interno
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG

RESUMO

A anestesia local da cavidade oral é uma etapa fundamental na maioria dos procedimentos odontológicos. A administração não invasiva efetiva de anestésicos locais na cavidade bucal visando substituir as doloridas injeções, possibilitaria o aprimoramento de procedimentos rotineiros e cirúrgicos. No entanto, a anestesia profunda e pelo tempo adequado de regiões estratégicas da mucosa oral requer a penetração do anestésico em quantidades efetivas. Neste trabalho utilizou-se o método de evaporação do solvente para obter membranas de gelatina com e sem bupivacaína para aplicação como sistema mucoadesivo anestésico. Foram obtidas membranas com 2%, 2,5% e 3% de gelatina com diversas concentrações de bupivacaína (0,125%, 0,25% e 0,50%). A solução final foi vertida em placas de petri e o solvente evaporado em estufa com circulação de ar a 40°C por 24 horas. As membranas foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), ensaio de biodegradação/intumescimento in vitro e ensaio de molhabilidade. Através de uma avaliação dimensional pode-se observar que quanto maior a concentração de gelatina mais espessa se tornam as membranas. Na análise por MEV pode-se perceber que as membranas de gelatina com e sem bupivacaína apresentam uma superfície homogênea, possivelmente com total incorporação do fármaco. Os espectros de Infravermelho não apresentaram alterações significativas quando da inserção da bupivacaína. O ensaio de biodegradação/intumescimento in vitro demonstrou que as membranas apresentaram alta capacidade de absorção, intumescimento e biodegradação, impedindo a pesagem e verificação das mesmas, tendo em visto que as membranas se fragmentaram em fração de segundos. A hidrofiliabilidade das membranas foi comprovada pelo ensaio de molhabilidade, no qual pode-se observar que todas as membranas não apresentaram valores inferiores a 90°. As membranas produzidas atingiram as expectativas da pesquisa, no entanto, alguns ensaios ainda devem ser realizados para comprovar sua eficácia.

Palavras-chave: Gelatina, Anestésico, Bupivacaína.

ABSTRACT

Local anesthesia of the oral cavity is a fundamental step in most dental procedures. The noninvasive discipline is applied in local anesthetics in the oral cavity in order to replace the painful injections, enabling the improvement of routine and surgical procedures. However, deep anesthesia and the fixed rhythm of the articular regions of the oral mucosa require penetration of the anesthetic into effective particles. In this work the casting process was used to obtain gelatin membranes with and without bupivacaine for application as an anesthetic mucoadhesive system. Membranes with 2%, 2.5% and 3% of gelatin were obtained with various concentrations of bupivacaine (0.125%, 0.25% and 0.50%). The final solution was poured into petri dishes and the oven evaporated with air circulation at 40 ° C for 24 hours. As membranes were characterized by Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), In vitro biodegradation / swelling test and moisture assay. Through a dimensional assessment can be greater than a thicker gelatin concentration become like membranes. SEM analysis can be seen that gelatin and non-bupivacaine membranes exhibit surface homogenization, possibly with total drug uptake. The infra-structure spectra can't be altered when inserting bupivacaine. The assay of biodegradation in vitro shows that membranes are absorbent, swelling and biodegradation, in detecting the weighing and the detection of the same, have been seen membranes have fragmented in fraction of seconds. A hydrophobic membrane is no longer able to do so, it is less than 90 °. Membranes were produced as the research expectations.

Keywords: gelatin, anesthetic, bupivacaine.

PUBLICAÇÕES DA DISSERTAÇÃO

ARAUJO, A. C. G.; LEAL, R. C. A.; FOOK, M. V. L.; CARDOSO, M. J. B.; LEITE, C. E. D. V. OBTENÇÃO DE MEMBRANAS GELATINOSAS MUCOADESIVAS PARA COM BUPIVACAÍNA PARA LIBERAÇÃO LOCAL, 2018. Categoria: Produto. Instituição onde foi depositada: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. País: Brasil. Natureza: Patente de Invenção. Número do registro: BR1020180118471. Data de depósito: 12/06/2018. Depositante/Titular: Universidade Federal de Campina Grande.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação esquemática da mucosa bucal	14
Figura 2 - Fórmula estrutural da molécula de gelatina.....	18
Figura 3 - Fórmula Estrutural da Bupivacaína.	21
Figura 4 - Fluxograma representativo dos passos desenvolvidos nesta pesquisa....	26
Figura 5 - Observação do ângulo de contato formado entre um sólido e um líquido.	28
Figura 6 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 2G; (b) 2G-0,125B; (c) 2G-0,25B e (d) 2G-0,50B com magnificação de 2000x. ...	30
Figura 7 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 2,5G; (b) 2,5G-0,125B; (c) 2,5G-0,25B e (d) 2,5G-0,50B com magnificação de 2000x.	31
Figura 8 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 3G; (b) 3G-0,125B; (c) 3G-0,25B e (d) 3G-0,50B com magnificação de 2000x. ...	32
Figura 9 - Espectros vibracionais de IV do pó da gelatina e da bupivacaína.	33
Figura 10 - Espectros vibracionais de IV das membranas: 2G; 2G-0,125B; 2G-0,25B e 2G-0,50B.	34
Figura 11- Espectros vibracionais de IV das membranas: 2,5G; 2,5G-0,125B; 2,5G- 0,25B e 2,5G-0,50B.	34
Figura 12 - Espectros vibracionais de IV das membranas: 3G; 3G-0,125B; 3G-0,25B e 3G-0,50B.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Identificação adotada para as amostras com adição da bupivacaína.	24
Tabela 2 – Espessura das membranas, média e desvio padrão.	29
Tabela 3 - Ângulo de contato obtido durante o ensaio de molhabilidade \pm desvio padrão.....	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	Mucosa Bucal	14
2.2	Biopolímeros	16
2.2.1	Gelatina	17
2.3	Anestésicos	20
2.3.1	Bupivacaína	21
2.4	Técnica de Evaporação do Solvente	23
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	Local da Pesquisa.....	24
3.2	Materiais	24
3.3	Preparação das membranas de gelatina	24
3.4	Preparação das membranas de gelatina com adição de anestésicos ..	24
3.5	CARACTERIZAÇÃO	26
3.5.1	Avaliação Dimensional.....	26
3.5.2	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	26
3.5.3	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (Ftir)	27
3.5.4	Estudo de Biodegradação e Intumescimento <i>in vitro</i>	27
3.5.5	Ângulo de Contato.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Avaliação dimensional.....	29
4.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	29
4.3	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	33
4.4	Estudo de Biodegradação e Intumescimento <i>In Vitro</i>	36

4.5 Molhabilidade por Ângulo de Contato	36
5 CONCLUSÃO	38
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de anestésicos locais, injetáveis, eficientes e seguros pode ser considerado como um dos principais avanços da área odontológica no século XX (Moore e Hersh, 2010), possibilitando a realização e aprimoramento de procedimentos rotineiros e cirúrgicos, ampliando o acesso ao tratamento dental a milhares de pacientes.

Entretanto, o uso do anestésico injetável representa uma das principais fontes de temor e até de fobia por parte significativa de pacientes (Clark e Yagiela, 2010), fazendo com que a visita ao consultório seja muitas vezes postergada e até evitada (Smith e Heatom, 2003; Sokolowski, Giovannitti e Boynes, 2010; Mcgrath e Bedi, 2004).

Avaliar o impacto deste inconveniente na saúde bucal é difícil por ser subjetivo (Armfield, 2011; Garcha, Shetiya e Kakodkar, 2010; Pohjola, Lahti *et al.*, 2009; Agdal, Raadal *et al.*, 2008; Eitner, Wichmann *et al.*, 2006;), porém, é estimado que aproximadamente 36% da população sofra de algum tipo de ansiedade relativa à execução de tratamentos dentais, enquanto 12% tem medo extremo de procedimentos odontológicos, refletindo de modo negativo na saúde bucal e qualidade de vida (Hill, Chadwick e Freeman, 2013).

Os biomateriais são utilizados de forma ampla e ilimitada na Medicina, Odontologia e Biotecnologia, sendo uma recente área do conhecimento, embora as primeiras aplicações empíricas tenham sido datadas da Era Pré-histórica. A ampla diversidade e sofisticação de materiais utilizados atualmente na área da saúde é a comprovação do significativo avanço científico e tecnológico ocorrido nos últimos 60 anos (Ratner, Hoffman *et al.*, 2004; Abramson, Alexander *et al.*, 2004).

Uma ampla variedade de polímeros tem sido utilizada em dispositivos biomédicos no campo da ortopedia, odontologia, cardiologia e em associação aos tecidos moles do corpo humano. Entre os polímeros de origem natural que possuem papel relevante na área dos biomateriais estão o colágeno e a gelatina. Apesar de esses polímeros apresentarem indubitável importância e uso difundido através de numerosas aplicações, muitas vezes são ofuscados pela grande variedade de polímeros sintéticos utilizados atualmente (Abramson, Alexander *et al.*, 2004).

Dispositivos mucoadesivos podem melhorar a eficácia de drogas, mantendo sua concentração no plasma a níveis terapêuticos durante longos períodos de

tempo, inibindo a diluição da droga nos fluidos corporais. Além disso, a sua capacidade para proteger o agente terapêutico contra a degradação enzimática (nucleases e proteases) os tornam sistemas muito interessantes por aumentar a biodisponibilidade de peptídeos bioativos, proteína e oligonucleotídeos (Bravo-Osuna, Vauthier *et al.*, 2007).

A gelatina, devido às suas propriedades funcionais tem sido explorada em estudos envolvendo a formação de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis (Carvalho e Grosso, 2006; Sobral, 1999; Sobral, Menegalli *et al.*, 2001)

Há que se levar em conta que filmes elaborados a partir de proteínas apresentam boas propriedades mecânicas, ópticas e sensoriais, embora sejam sensíveis à umidade e apresentem elevada permeabilidade a vapor de água (Fakhouri, Fontes *et al.*, 2007). Apesar disto, a gelatina apresenta-se como uma interessante alternativa para a produção de filmes para aplicações alimentares.

A liberação da droga via adesivos bucais evita a sua destruição pelo conteúdo gastrointestinal ou inativação pelo metabolismo de primeira passagem e assegura o contato direto da droga com o sistema biológico para uma melhor absorção (Verma, Kaul *et al.*, 2011; Boddupalli, Mohammad *et al.*, 2010).

As formulações para liberação de fármacos na cavidade oral que combinem características bioadesivas para prolongar o contato com as mucosas e contenham um reservatório central que pode ser de liberação rápida para veiculação de fármacos anestésicos, caracterizam os anseios dos pesquisadores diante da possibilidade de quebra de paradigmas tanto dos cirurgiões dentistas quanto dos pacientes (Franz-Montan, Silva *et al.*, 2007; Moraes, De Matos *et al.*, 2009).

Dentre os anestésicos locais comercializados, os mais utilizados na Odontologia são a lidocaína, a prilocaína, a mepivacaína e a bupivacaína. (Veering, 2003).

A Bupivacaína tem potencial anestésico quatro vezes maior do que a lidocaína, porém apresenta uma toxicidade quatro vezes maior do que a mesma e tem ação em 6 a 10 minutos. A dose máxima é de 1,3 mg/Kg, não excedendo 90 mg ou 10 tubetes. É classificada como anestésico local de longa duração (Malamed, 2004; Ranali e Volpato, 1990).

Dessa forma, tanto o trabalho com formulações para uso tópico que possibilitem um efeito mais preciso para procedimentos superficiais (a exemplo do sistema *patch* contendo lidocaína a 20%), como formulações de aplicação não

invasiva que possibilitem um efeito anestésico mais profundo trariam ganhos significativos para a odontologia.

Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar membranas de gelatina com e sem bupivacaína para aplicação como sistema mucoadesivo anestésico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mucosa Bucal

O que reveste toda a cavidade bucal é a membrana mucosa bucal ou simplesmente, mucosa bucal. Esta mucosa apresenta características estruturais diferentes, dependendo da região considerada. Isto ocorre porque esta mucosa se adapta frente as agressões funcionais frente a modificações evolutivas e também sofre modificações reversíveis em resposta a função e ao uso. A cavidade bucal é inteiramente revestida por membranas mucosas (Figura 1) divididas em: a) epitélio oral do tipo estratificado pavimentoso (escamoso), b) membrana basal, que liga o epitélio e o tecido conjuntivo, c) lâmina própria, que é o tecido conjuntivo subjacente e d) submucosa, camada de tecido conjuntivo frouxo, ou adiposo ou glandular, com vasos sanguíneos calibrosos e nervos importantes, e estes tecidos estão localizados sobre uma camada de músculo ou osso (Washington, Washington e Wilson, 2001).

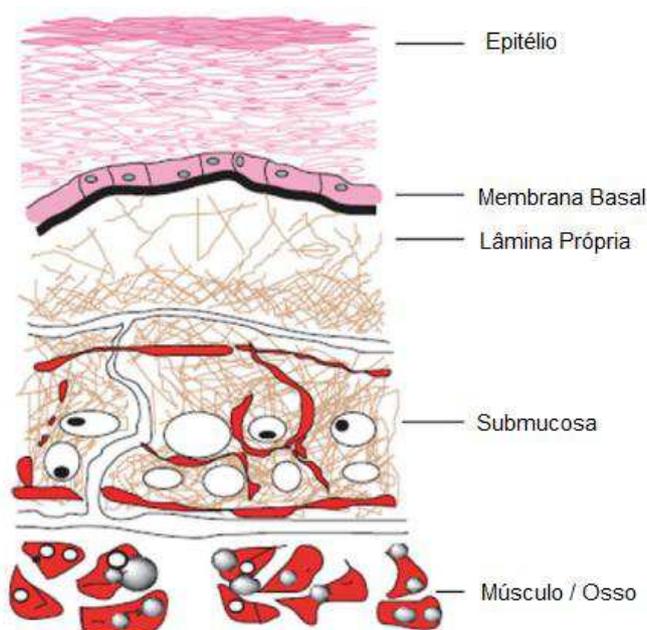


Figura 1- Representação esquemática da mucosa bucal (Patel, Liu e Brown, 2011).

A divisão da mucosa em três grandes grupos está relacionada ao tipo de epitélio que reveste o tecido conjuntivo subjacente. Três tipos de mucosa oral podem ser encontrados na cavidade oral: a mucosa de revestimento, a mucosa especializada e a mucosa mastigatória (Smart, 2004).

- Mucosa mastigatória

Estende-se sobre a região do palato duro e gengiva que circunda os dentes inferiores e superiores. O epitélio que reveste o palato duro é do tipo queratinizado e está sobreposto a uma lâmina própria rica em tecido conjuntivo fibroso. Com exceção da região da rafe palatina, na qual a lâmina própria está diretamente inserida sobre o periósteo, existe uma extensa camada de submucosa entre o osso e a lâmina própria. A composição desta submucosa varia de acordo com a região: na porção anterolateral há o predomínio de tecido adiposo, enquanto na região posterolateral há uma grande concentração de glândulas salivares menores. Já a porção da mucosa mastigatória representada pela gengiva apresenta os três tipos de epitélio: não-queratinizado, localizado na região do sulco gengival e col interdental; paraqueratinizado e queratinizado revestindo a gengiva marginal e inserida.

- Mucosa de revestimento

Composta pela mucosa que reveste internamente os lábios e a bochecha, o ventre da língua, o assoalho da cavidade bucal, o palato mole e parte da porção lingual do processo alveolar mandibular. Tem como característica apresentar uma fina camada de tecido epitelial recobrimo uma lâmina própria bastante vascularizada e menos fibrosa quando comparada à lâmina própria da mucosa mastigatória. Recobre essencialmente tecido muscular e, em função dessa característica, apresenta certa flexibilidade. Na região do palato mole, a submucosa é rica em glândulas salivares menores além de botões gustativos.

- Mucosa especializada

Localizada sobre o dorso da língua. Protege a musculatura lingual e, nos 2/3 anteriores da língua, as papilas filiformes e fungiformes, que são recobertas por epitélio queratinizado e não queratinizado, respectivamente. Na porção lateral e no 1/3 posterior da língua reveste as papilas folheadas e valadas. As papilas valadas, em torno de 8 a 12, situam-se no “v” lingual e têm papel importante para a percepção do sabor. Ao longo das paredes de cada uma destas papilas, que podem variar em número, encontra-se uma grande quantidade de botões gustativos.

A cavidade oral é a porta de entrada para todas as formulações orais. Os fatores que irão determinar a capacidade do fármaco de permear através da mucosa bucal são: a solubilidade, coeficiente de partição, tamanho e peso molecular, grau de ionização e pka do fármaco, pH da formulação, presença de saliva e de promotores de permeação. Moléculas hidrofílicas podem passar entre os poros aquosos adjacentes às cabeças polares dos lipídios ou através do citoplasma. Moléculas lipofílicas por sua vez preferem a rota transcelular, onde a permeação irá depender do coeficiente de partição (Batheja, Thakur e Michniak, 2006).

Além disso, a mucosa oral oferece proteção contra valores baixos de pH, proteases e metabolismo de primeira passagem, sendo atrativa para liberação de fármacos sensíveis, aumentando sua biodisponibilidade. A natureza altamente vascularizada da mucosa é uma vantagem adicional para casos em que o paciente apresenta dificuldade de deglutição e náusea, podendo até mesmo ser utilizada em pacientes inconscientes. Essa rota, por não ser invasiva, aumenta a adesão do paciente ao tratamento, além de diminuir os custos, visto que não necessita de profissional altamente qualificado para a administração (Manohar, Sridhar e Mallikarjuna, 2012).

2.2 Biopolímeros

Biopolímeros são polímeros ou copolímeros produzidos através de matérias-primas de fontes renováveis, tais como: milho, cana-de-açúcar, celulose, quitina, gelatina dentre outras. Possui importantes aplicações sob a área médica, representando ainda uma das classes de materiais que vem mudando o cotidiano da sociedade (Galaev e Mattiasson, 1999). Com isso, os biopolímeros ou polímeros naturais, vêm se destacando por ser caracterizados biodegradáveis e por oferecerem excelente biocompatibilidade (Oliveira, 2007).

O trabalho de (Oliveira, 2007) ressalta a existência de uma lista com os biopolímeros biodegradáveis e os não-biodegradáveis, investigados a respeito de sua aplicação e a liberação de fármacos.

A junção entre a ciência de polímeros com as ciências farmacêuticas resultou em grandes inovações no sistema de liberação de fármacos. Com tudo, um número representativo do biopolímeros vem sendo produzidos com finalidades

comerciais, através de variados métodos de processamento para que o ingrediente ativo seja disperso ou dissolvido. No que concernem por uma produção industrial os polímeros podem ser classificados em três grupos: os naturais, oriundos da fermentação de substratos naturais; os semi-sintéticos e sintéticos (Oliveira, 2007; Vargas, 2014).

Os biopolímeros sintéticos biodegradáveis são constantemente utilizados pela indústria farmacêutica, como por exemplo, o poliésteres poli (ácido láctico) e poli (ácido glicólico). Contudo, ainda consta que é possível modificar as mecânicas, as térmicas e as biológicas do poli (ácido láctico) através da alteração de sua estereoquímica, sendo ainda possível o ajuste da biodegradabilidade da molécula com o copolímero (Oliveira, 2007).

Derivados de fontes renováveis, tais como, plantas, animais e microorganismos, os polímeros naturais utilizados como arcabouços oferecem vantagens devido à sua excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Além disso, apresentam componentes similares a matriz extracelular (MEC) nativa, que podem também evitar o estímulo de inflamação crônica ou reações imunológicas e toxicidade, geralmente detectada com polímeros sintéticos (Yang *et al.*, 2010; Griffith *et al.*, 2005). Os polissacarídeos (quitina, quitosana, ácido hialurônico, alginato, amido etc), as proteínas (colágeno, gelatina, fibrina, etc) e poliésteres naturais produzidos por bactérias (polihidroxibutirato, polihidroxicvalerato, etc.) destacam-se na aplicação em engenharia de tecidos e liberação controlada de fármacos, com diferentes topografias, quer como materiais puros ou em combinação com polímeros sintéticos ou substâncias inorgânicas (Balaji *et al.*, 2012; She *et al.*, 2008; Kim, Kim e Salih, 2005).

2.2.1 Gelatina

A gelatina é uma proteína obtida por meio da desnaturação química ou física do colágeno, é um material que possui alto peso molecular (Vroman e Tighzert, 2009). Os principais agentes de desnaturação são: pH (altera as interações eletrostáticas entre aa carregados); concentração do sal – força iônica (devido à mesma razão) e temperatura (altas temperaturas reduzem a força das ligações de hidrogênio). Em alguns casos é possível a renaturação do colágeno, ou seja, a recuperação de sua estrutura em tripla hélice (Sena, 2004).

tânico, dimetil suberimidato, carbodiimidaz, e azida de acilo (Chen, Kuo e Yao, 2009).

A gelatina possui um caráter higroscópico, podendo absorver água dependendo da umidade de armazenamento (Nur Hanani, Roos e Kerry, 2014). Isso faz com que a gelatina inche quando em contato com água, na temperatura abaixo da fusão dessa proteína, adquirindo cerca de dez vezes o seu peso. Essa propriedade pode variar de acordo com a distribuição granulométrica da amostra, isto é, conforme a área superficial disponível. Entretanto, quando aquecida acima do ponto de fusão, a gelatina hidratada irá se romper e criar uma suspensão, formando um gel quando a temperatura arrefecer (Mariod e Fadul, 2013). Esse comportamento faz com que os filmes oriundos desse material sejam facilmente dissolvidos quando imersos em água a temperaturas acima do ponto de fusão da gelatina.

De forma geral tal polímero possui habilidade em formar um gel termo-reversível, através do seu ponto de fusão, sendo assim, quando a mesma é submetida há temperaturas acima do seu ponto de fusão, ela se hidrata e se dissolve, processo este chamado de gelatinização. Já, quando a mesma é exposta a temperatura baixas forma se um gel, processo este chamado de gelificação (Norziah *et al.*, 2009).

A gelatina pode ser utilizada no aumento da elasticidade, na consistência e estabilidade de produtos alimentícios, onde este deve se apresentar boas propriedades reológicas, podem atuar também como filme externo para a proteção contra desidratação, luz e oxigênio (Bueno, 2008). Ela possui grande participação na indústria alimentícia, sendo a mesma amplamente consumida como alimento por ser facilmente assimilável, como também por auxiliar no processo digestivo, formando emulsão para as gorduras e proteínas. Existe também uma grande participação da indústria farmacêutica, por meio da fabricação de capsulas e também utilizando a gelatina reticulada com genipina objetivando atribuir a mesma maior estabilidade térmica e menor solubilização em água (Tavakolipour, 2011).

2.3 Anestésicos

Antes da descoberta da anestesia, procedimentos odontológicos invasivos, tais como a exodontia, eram realizados sem que houvesse nenhum medicamento eficaz para amenizar a severa dor experimentada pelo paciente (Lopez-Valverde, DE Vicente e Cutando, 2011).

Os anestésicos locais são definidos como drogas que têm por função bloquear temporariamente a condução nervosa em parte do corpo, determinando perda das sensações sem ter perda da consciência. Estas substâncias produzem a abolição de funções autonômicas e sensitivas motoras, pois o comprometimento das fibras periféricas obedece à seguinte sequência: primeiro as autonômicas, depois as responsáveis pela sensibilidade térmica, dolorosa e tátil, a seguir as relações de pressão e vibração e por último as proprioceptivas e motoras. A recuperação de tais funções se dá pela ordem inversa (Ferreira, 1999).

Estes anestésicos provocam uma perda de sensibilidade ao atuarem na membrana celular dos nervos, impedindo a geração e condução de impulsos nervosos. Isto ocorre através da ligação dos anestésicos locais em receptores específicos de canal de sódio, diminuindo ou impedindo a permeabilidade destes íons na membrana e conseqüentemente a despolarização por estes provocada.

De acordo com (Malamed, 2004) é desejável que um anestésico local tenha ação rápida, baixa toxicidade sistêmica e não seja irritante e nem provoque alterações permanentes no tecido ao qual é aplicado.

Anestésicos locais ideais para uso clínico em odontologia devem apresentar algumas características, tais como: ação não irritante; pequena ou nenhuma alergenicidade; rápido início de ação e duração adequada de anestesia, a qual deve ser reversível; mínima toxicidade sistêmica e seletividade às rotas nociceptivas. Em odontologia clínica, os fármacos anestésicos do tipo amida satisfazem esses critérios e são os mais utilizados há mais de 20 anos (Moore e Hersh, 2010). O tipo de anestésico local frequentemente utilizado atualmente refere ao grupo das amidas, devido à redução do potencial alergênico, como por exemplo, a lidocaína, prilocaína, mepivacaína e a bupivacaína (Andrade, 2013).

No tocante ao estudo de novas formulações, a maioria deles visa prolongar o efeito anestésico e minimizar o risco de efeitos tóxicos sistêmicos durante o tratamento da dor aguda e crônica, especialmente em condições pós-operatórias.

Nesses casos, a principal estratégia é a encapsulação do fármaco em lipossomas ou em partículas poliméricas (micro/nano), veiculadas na forma injetável (De Melo *et al.*, 2011; Moraes *et al.*, 2009; Cereda *et al.*, 2006).

Várias formulações são utilizadas com propósito pré-anestésico, visam minimizar o desconforto do paciente que será posteriormente submetido à administração do anestésico local injetável ou para realização de procedimentos específicos e menos invasivos.

De acordo com Couto (2015) tanto o desenvolvimento de formulações a serem administradas topicamente de maneira não invasiva que possibilitem o controle meticoloso da dor em procedimentos superficiais, quanto daquelas que propiciem efeitos anestésicos mais perspicazes trariam ganhos consideráveis para a odontologia, sobretudo em virtude da redução de custos, maior submissão dos pacientes, facilidade de aplicação e redução dos riscos de contaminações e intoxicações.

Os anestésicos tópicos estão disponíveis em diversas formas farmacêuticas e também em vários sabores, tais como morango, laranja e menta. A concentração de anestésico é tipicamente maior do que quando utilizado na forma injetável, uma vez que são incapazes de atravessar a mucosa intacta, desta forma a concentração maior facilita a difusão do anestésico no tecido (Ogle e Mahjoubi, 2012).

2.3.1 Bupivacaína

A bupivacaína (ou cloridrato de bupivacaína) (Figura 3), que tem estrutura similar à lidocaína, é um potente agente anestésico capaz de produzir anestesia mais prolongada que a mesma, e foi introduzida no mercado em 1963 (Faria e Marzola, 2001).

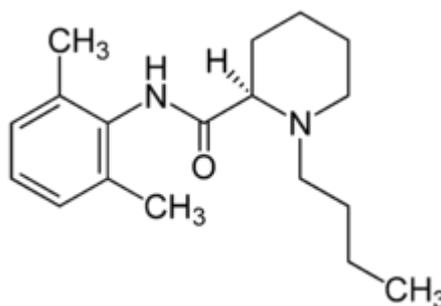


Figura 3 - Fórmula Estrutural da Bupivacaína.

Em 1955, ocorre a síntese da Bupivacaína, sendo este o único sal anestésico considerado de longa duração, apesar do tempo de latência de 6 a 10 minutos não ser interessante. Sua indicação principal está vinculada aos procedimentos onde a expectativa de dor pós operatória é marcante, diminuindo a dimensão desse sintoma (Malamed, 2006).

No Brasil, dentre os anestésicos de longa duração, somente o cloridrato de bupivacaína está disponível comercialmente. Apresenta potência quatro vezes maior que a lidocaína e uma toxicidade quatro vezes maior. Inicia sua ação por volta de 6 a 10 minutos. Apresenta uma dose máxima recomendada de 1,3mg/ kg, não devendo ultrapassar 90mg ou 10 tubetes. Quanto ao tempo de duração, a anestesia mandibular pode persistir de 5 a 9 horas (Paiva e Cavalcanti, 2005).

Os estudos sobre sua toxicidade mostram que ocorrem devido à superdosagem ou por injeção acidental do anestésico nos vasos sanguíneos, não sendo essas reações diferentes das que ocorrem com os outros anestésicos locais. Em tubetes anestésicos é encontrado na concentração de 0,5%, porém em ampolas de 20ml podem ser encontrados nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 0,75% (com ou sem vasoconstritor). É o anestésico mais utilizado em recintos hospitalares (DEF, 2004; Malamed, 2004; Ranali e Volpato, 1990).

Entre os anestésicos locais que são usados com mais frequência para o alívio da dor, lidocaína e bupivacaína são membros do grupo amida, mas o tempo de ação da lidocaína é cerca de metade daquele de bupivacaína (McLure e Rubin, 2005).

Com base no tempo de duração da ação anestésica, as drogas de curta duração são aquelas geralmente sem vasoconstritor (lidocaína e mepivacaína 3%). As de média duração é principalmente lidocaína, mepivacaína, prilocaína e articaína (todos com vasoconstritor) e as de longa duração bupivacaína (Malamed, 2008).

Tal como Lo et al. (2009), Grishko et al. (2010) testaram a condrotoxicidade da bupivacaína, ropivacaína e lidocaína, mas com diferentes doses (bupivacaína a 0.25% e 0.5%, ropivacaína a 0.2% e 0.5%, e lidocaína a 0.5%, 1% e 2%) e em células de origem humana, in vitro, com uma exposição de 1h, examinadas após 24h. Estes autores encontraram citotoxicidade devastadora (quase todas as células mortas) para a lidocaína a 2% e citotoxicidade estatisticamente significativa para lidocaína a 1% e bupivacaína a 0.5%. As restantes concentrações de anestésicos, incluindo as duas testadas da ropivacaína, não provocaram condrotoxicidade.

2.4 Técnica de Evaporação do Solvente

A técnica de produção de filmes por evaporação do solvente é bastante aplicada no meio científico pela sua praticidade e agilidade na obtenção das amostras de estudo. Conforme descreve (Rusling, 2003), essa técnica consiste na dispersão da solução polimérica sobre uma superfície (geralmente uma placa com propriedades antiaderentes), a qual é submetida a determinada condição de secagem, para formação do filme através da evaporação do solvente.

De acordo com Colla (2004), o método de evaporação do solvente é o mais utilizado na elaboração de películas biodegradáveis, compreendendo o preparo de uma solução coloidal da macromolécula e dos aditivos. Nesta técnica, a macromolécula é hidratada e submetida a um processo de gelatinização, através do tratamento térmico. Ao serem resfriadas, as suspensões de proteína e amido gelatinizadas sofrem a gelificação.

Fakhouri *et al.*, (2007) citam que o interesse pelo desenvolvimento de bioplásticos flexíveis comestíveis ou degradáveis biologicamente tem crescido muito nos últimos anos devido à procura por alimentos de alta qualidade e materiais de embalagem cujos resíduos tenham mínimo impacto ambiental, o que desperta um grande potencial para novas pesquisas nessa área.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO.

3.2 Materiais

- Gelatina tipo A - Sigma Aldrich;
- PBS - *Phosphate Buffered Saline* (PBS) - Fornecida pela Sigma Aldrich®, pH = 7,4;
- Cloridrato de bupivacaína (racêmica) - Cristália Ind. Quím. Farm. Ltda;
- Corante e aroma alimentício de morango.

3.3 Preparação das membranas de gelatina

As soluções de gelatina foram preparadas a partir da dissolução do polímero em água, para obter-se soluções com concentração final da solução polimérica 2,0 %, 2,5% e 3% (m/v), sob agitação magnética a 40°C, sob agitação constante por 20 minutos.

Para a formação do filme, foi utilizado o método de evaporação do solvente, onde 25 mL da solução foram vertidos em placas de acrílico com 9 cm de diâmetro. As membranas foram secas em estufa com temperatura de 40°C por 24 horas.

3.4 Preparação das membranas de gelatina com adição de anestésicos

As membranas com a incorporação de anestésicos em sua composição foram confeccionadas de forma muito similar às já descritas (ver item 3.3). Após a etapa de diluição da gelatina sob agitação magnética, houve o acréscimo do anestésico bupivacaína.

A Tabela 1 apresenta a identificação adotada para as amostras com adição da bupivacaína e suas respectivas concentrações.

Tabela 1 - Identificação adotada para as amostras com adição da bupivacaína.

Concentração da	Concentração da	Identificação
-----------------	-----------------	---------------

gelatina	bupivacaína	
2%	-	2G
	0,125%	2G-0,125B
	0,25%	2G-0,25B
	0,50%	2G-0,50B
2,5%	-	2,5G
	0,125%	2,5G-0,125B
	0,25%	2,5G-0,25B
	0,50%	2,5G-0,50B
3%	-	3G
	0,125%	3G0,125B
	0,25%	3G-0,25B
	0,50%	3G-0,50B

O esquema representativo do processo de desenvolvimento desta pesquisa pode ser ilustrado de maneira simplificada através do fluxograma apresentado na Figura 4.

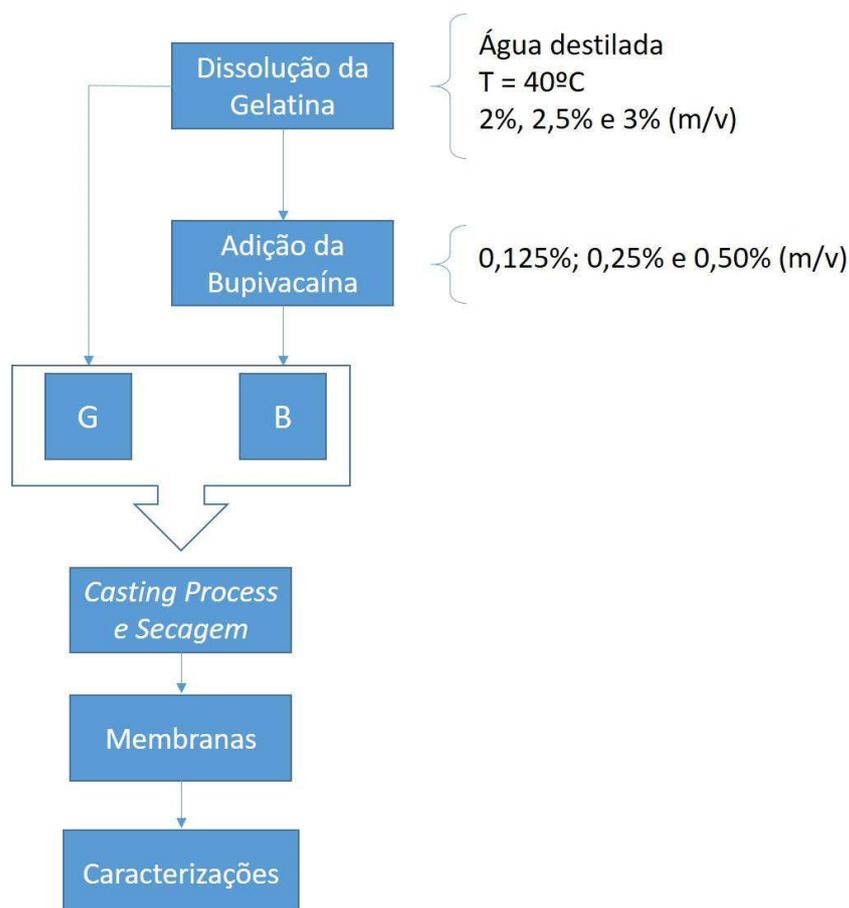


Figura 4 - Fluxograma representativo dos passos desenvolvidos nesta pesquisa.

3.5 CARACTERIZAÇÃO

3.5.1 Avaliação Dimensional

Após estarem totalmente secas, as espessuras das membranas foram medidas com um micrômetro digital (*Mitutoyo, 0-25mm, 0.001mm*).

3.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é um equipamento capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000 X) e resolução. A microscopia eletrônica fornece informação morfológica e topográfica sobre superfícies de sólidos, necessária para se entender o comportamento de superfícies.

As membranas foram avaliadas com um aumento de 2000x pelo microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo TM-1000, HITACHI. As análises foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Avaliação de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO.

3.5.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de FTIR em modo de absorbância foi utilizada para caracterizar os materiais de partida e as membranas após a sua obtenção.

A espectroscopia no infravermelho fornece informações sobre vibrações moleculares presentes no material. A transformada de Fourier da espectroscopia no infravermelho oferece uma alta razão entre sinal e ruído e alta acurácia espectral (Ratner et al., 2004). É um método analítico padrão, frequentemente usado para caracterizar a estrutura de polímeros.

A caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier foi realizada em um espectrômetro modelo Spectrum 400 FT Mid-IR PerkinElmer, Para cada amostra foram obtidos cinco espectros entre 4000 e 650 cm^{-1} , após serem realizados 16 varrimentos com uma resolução de 4000 cm^{-1} .

3.5.4 Estudo de Biodegradação e Intumescimento *in vitro*

Para os ensaios de biodegradação *in vitro*, as amostras foram submetidas a um meio que mimetize o uso futuro pretendido, que é o meio bucal. Sendo assim, a Saliva Artificial foi produzida de acordo com a Farmacopeia Brasileira e os ensaios procedidos em triplicata. As membranas foram seccionadas em dimensões pré-estabelecidas de 10x20mm e as pesagens em balança analítica foram feitas antes da imersão em saliva artificial e a cada 10 minutos após o início do ensaio, até completar a primeira hora. Em seguida, as amostras foram pesadas de hora em hora até sua total degradação. Antes de cada pesagem as amostras foram ligeiramente secas em papel absorvente, evitando o excesso de líquido. O objetivo destes ensaios foi analisar o tempo necessário para que as membranas processadas sejam degradadas quando imersas em um meio específico e o quanto são capazes de absorver o líquido deste meio.

3.5.5 Ângulo de Contato

O ensaio de ângulo de contato foi realizado com o objetivo de avaliar a molhabilidade das membranas de gelatina. Para a realização desta análise foi efetuada o gotejamento de água deionizada na superfície das membranas. O ângulo de molhabilidade foi medido entre a gota de água e a superfície da membrana.

A afinidade é identificada através do formato da gota quando em contato com a superfície, sendo o material classificado como hidrofílico quando o ângulo de contato é inferior a 90° e hidrofóbico quando excede 90° (Figura 5 - Observação do ângulo de contato formado entre um sólido e um líquido. Figura 5).

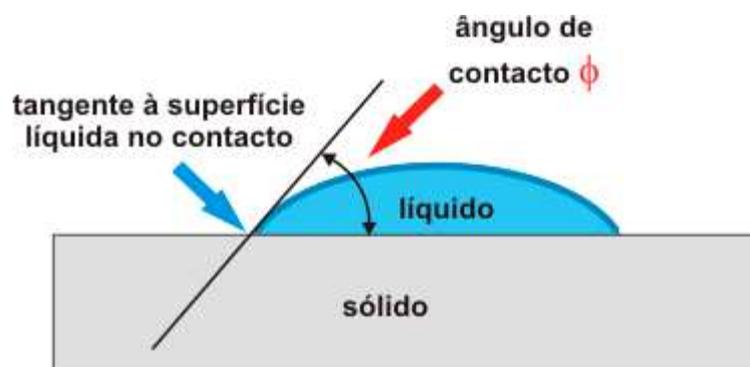


Figura 5 - Observação do ângulo de contato formado entre um sólido e um líquido.

Para a realização desta análise foi utilizado um goniômetro desenvolvido por técnicos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da UFCG (Universidade Federal de Campina Grande).

Utilizou-se o software *angle calculator*, para isolar as imagens e calcular o ângulo de contato. Foi realizada uma média de 5 amostras para cada tipo de membrana estudada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dimensional

Quanto a espessura, na Tabela 2 a encontram-se sumarizados os resultados das medições efetuadas para todas as formulações.

Tabela 2 – Espessura das membranas, média e desvio padrão.

Amostra	Espessura (mm)	
	Média	Desvio padrão
2G	0,057	0,0023
2G-0,125B	0,059	0,0137
2G-0,25B	0,064	0,0123
2G-0,50B	0,102	0,0310
2,5G	0,065	0,0084
2,5G-0,125B	0,077	0,0184
2,5G-0,25B	0,09	0,0279
2,5G-0,50B	0,100	0,0181
3G	0,070	0,0085
3G0,125B	0,071	0,0150
3G-0,25B	0,082	0,0078
3G-0,50B	0,084	0,0261

Analisando os dados apresentados na Tabela 2, é possível observar que quanto maior a concentração de gelatina mais espessa se tornam as membranas. Outro fator importante que podemos observar é a inserção da bupivacaína, provocando um aumento na espessura dessas membranas.

Estes valores mostram que a metodologia de elaboração dos filmes foi adequada para aplicações como biomaterial, pois obteve-se valores de espessura que se aproxima aos valores encontrados por autores que também analisaram filmes biodegradáveis, como Oliveira e Cavalcanti (2007) que encontraram $0,09 \pm 0,01$ mm e Fakhouri et al. (2007), $0,063 \pm 0,002$ mm.

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Análises por microscopia eletrônica de varredura foram realizadas para as membranas de gelatina e também para todas as composições de gelatina e bupivacaína. Os resultados podem ser observados nas Figuras 6, 7 e 8.

A Figura 6 (a, b, c e d) ilustra as micrografias das membranas de gelatina (2%) com e sem bupicavaína.

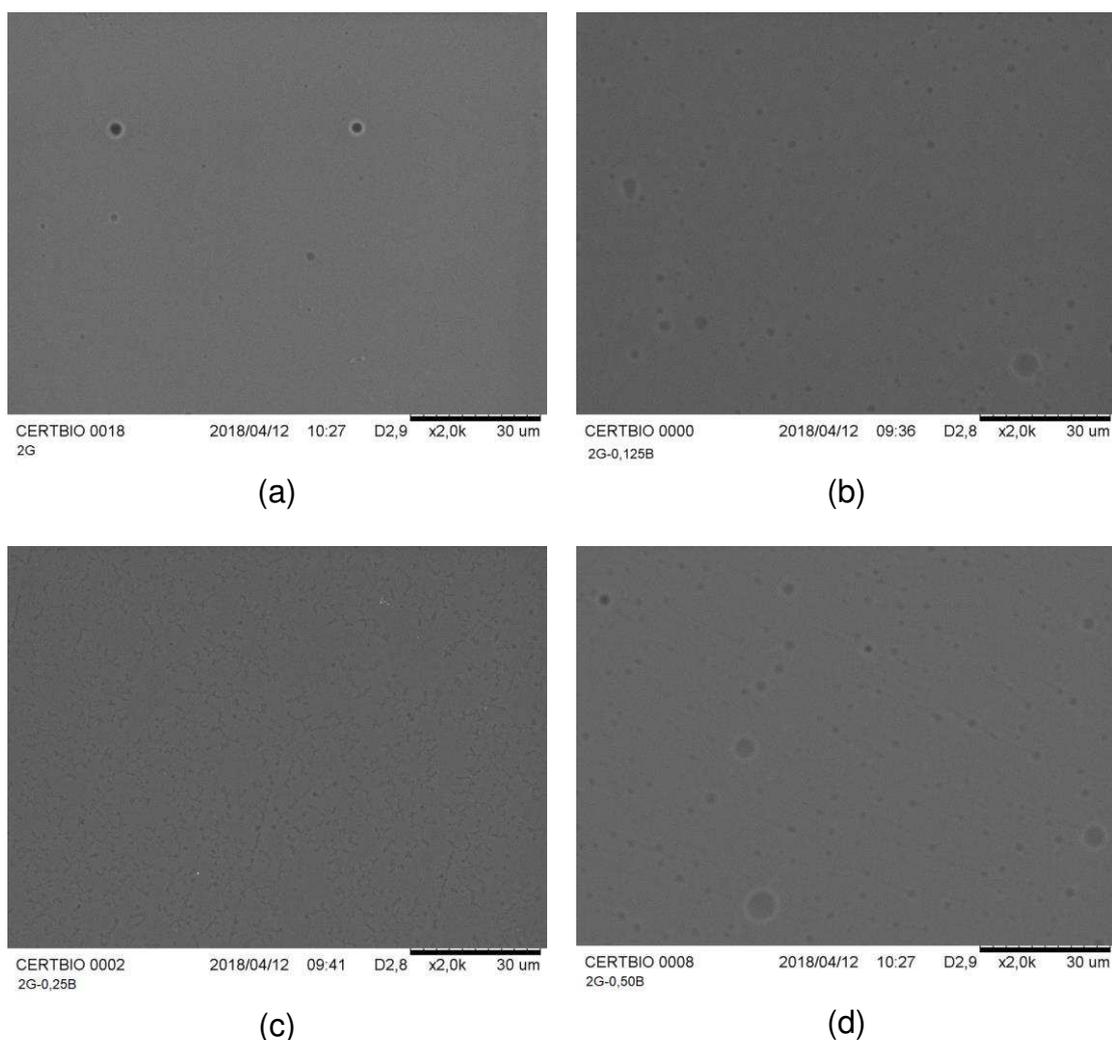


Figura 6 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 2G; (b) 2G-0,125B; (c) 2G-0,25B e (d) 2G-0,50B com magnificação de 2000x.

Analisando as Figuras 6(a, b, c e d) podemos perceber pequenas cavidades na superfície das membranas, que podem ser oriundas do processo de agitação, no qual ocorreu formação de bolhas, como também uma pequena alteração na superfície quando da adição da bupivacaína (Figura 5c).

A Figura 7 (a, b, c e d) apresenta as micrografias das membranas de gelatina (2,5%) com e sem bupicavaína.

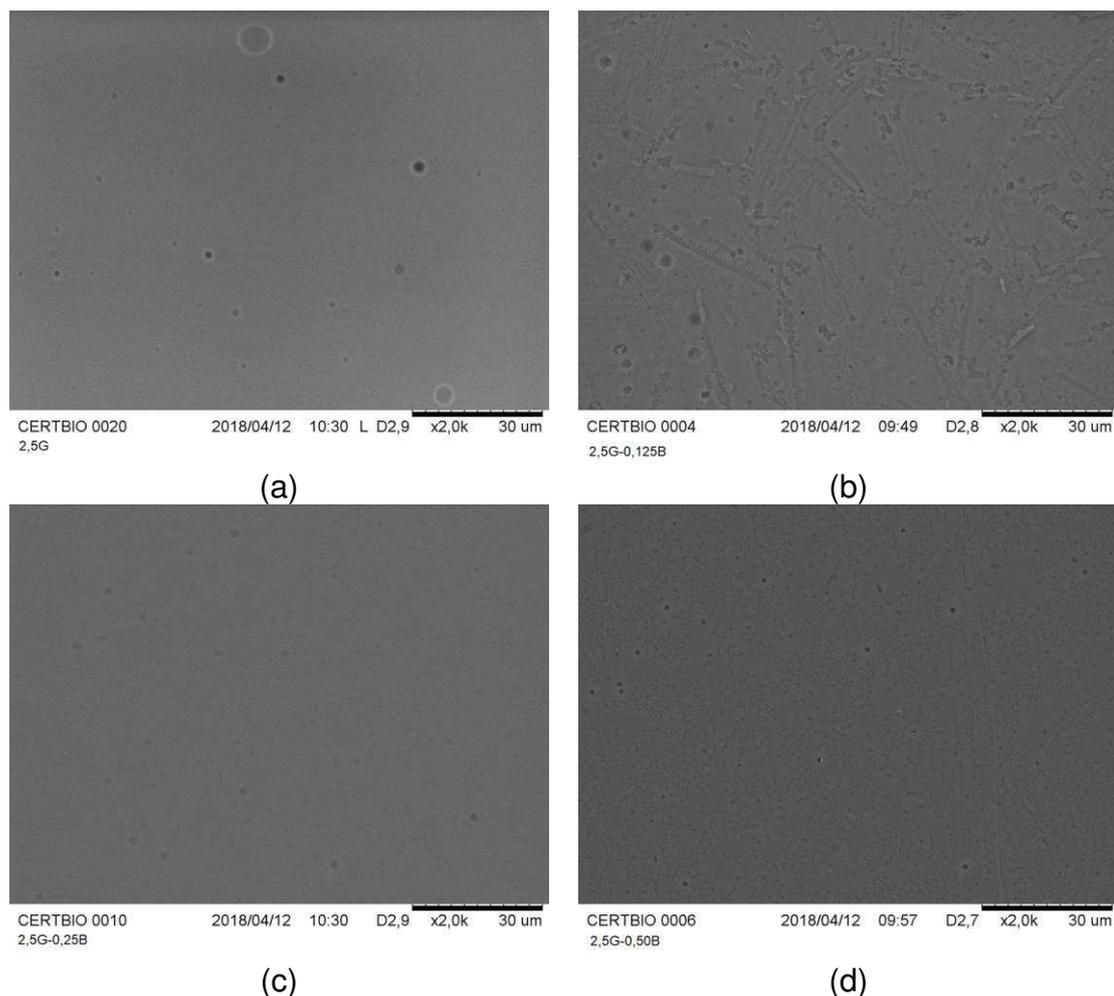


Figura 7 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 2,5G; (b) 2,5G-0,125B; (c) 2,5G-0,25B e (d) 2,5G-0,50B com magnificação de 2000x.

Analisando as Figuras 7(a, b, c e d) podemos perceber um aumento na quantidade das pequenas cavidades na superfície das membranas. Este aumento pode estar relacionado ao aumento na concentração da solução de gelatina, como também podem ser oriundas do processo de agitação, no qual ocorreu formação de bolhas, como também uma pequena alteração na superfície quando da adição da bupivacaína (Figura 6b).

A Figura 8 (a, b, c e d) apresenta as micrografias das membranas de gelatina (3%) com e sem bupivacaína.

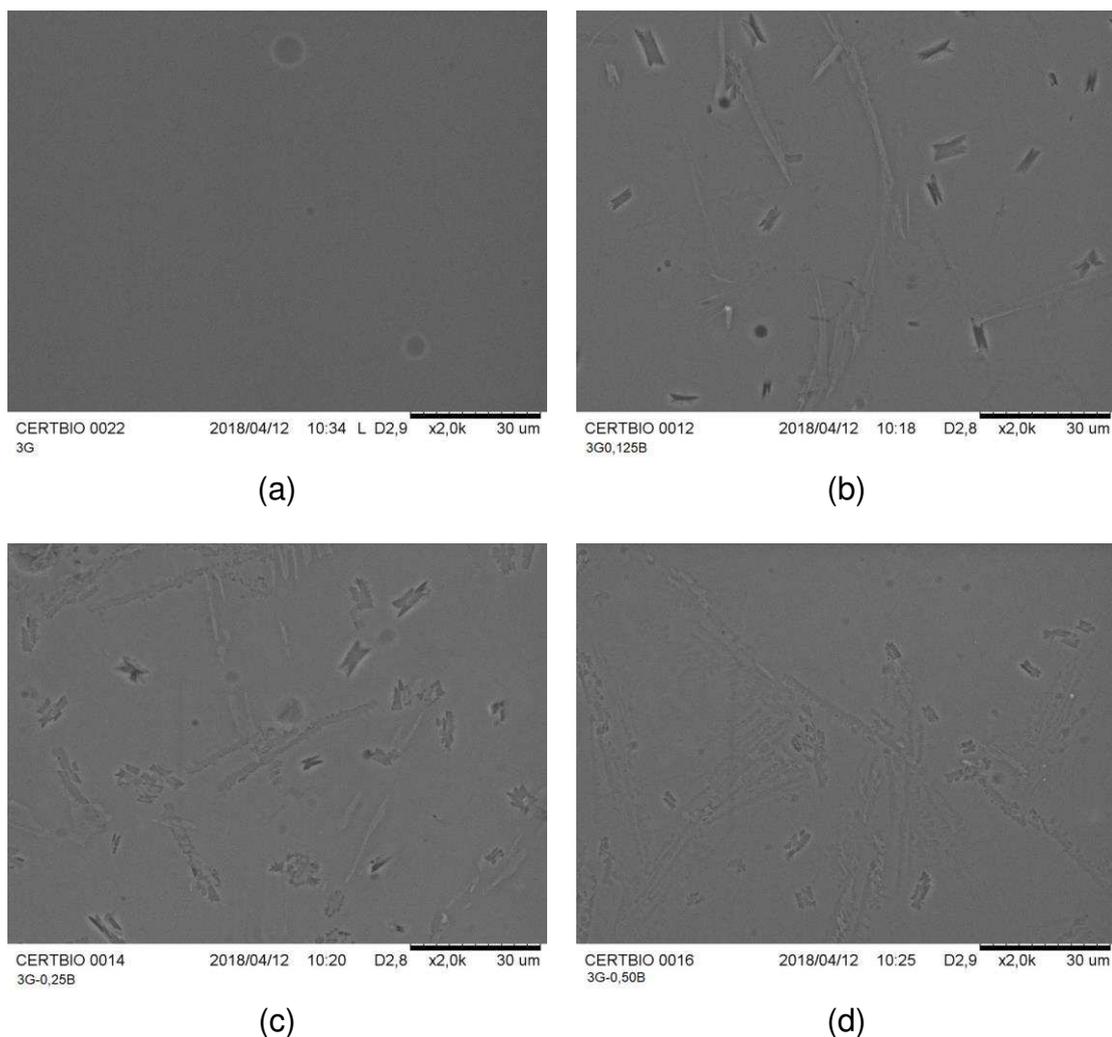


Figura 8 - Micrografias (MEV) das membranas de gelatina com e sem bupivacaína: (a) 3G; (b) 3G-0,125B; (c) 3G-0,25B e (d) 3G-0,50B com magnificação de 2000x.

Analisando as Figuras 8(a, b, c e d) podemos perceber um aumento na quantidade das pequenas cavidades com formatos irregulares na superfície das membranas. Este aumento pode estar relacionado ao aumento na concentração da solução de gelatina, como também podem ser oriundas do processo de homogeneização do fármaco com a solução de gelatina.

Todas as membranas de gelatina com e sem bupivacaína apresentaram-se transparente. A adição da bupivacaína provocou um discreto aspecto turvo na membrana, o que aumentou de acordo com o aumento da concentração de gelatina e de bupivacaína.

4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Com o intuito de avaliar possíveis interações entre os polímeros e o fármaco nas formulações, foi realizada a análise dos biomateriais por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A Figura 9 ilustra os espectros dos pós da gelatina e da bupivacaína.

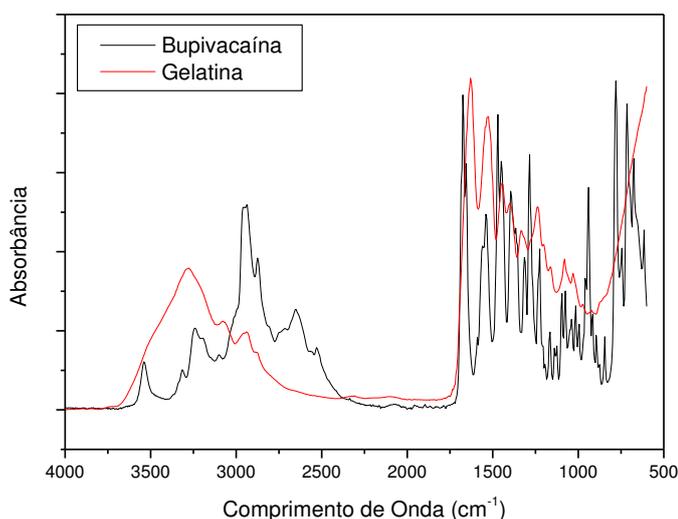


Figura 9 - Espectros vibracionais de IV do pó da gelatina e da bupivacaína.

Analisando a Figura 9 observou-se as seguintes bandas referentes ao espectro de gelatina, em 3290 cm^{-1} referente ao estiramento O-H, na região 1656 cm^{-1} referente ao estiramento da carbonila (amida I), em 1556 cm^{-1} vibrações no plano da ligação N-H e ao estiramento C-H (amida II), esses resultados corroboram com os encontrados neste trabalho, confirmando assim os grupos característicos da molécula de gelatina.

No espectro da bupivacaína (Figura 9) estão presentes suas bandas principais, onde a banda forte em 1662 cm^{-1} refere-se à amida monossubstituída, as bandas médias em 1290 e 1204 cm^{-1} referem-se à amina terciária e a banda média em 1086 cm^{-1} e em 726 cm^{-1} referem-se ao anel aromático. As duas bandas em torno de 3350 e 3180 cm^{-1} são referentes ao estiramento N-H de amidas primárias.

As Figuras 10, 11 e 12 ilustram os espectros vibracional das membranas obtidas.

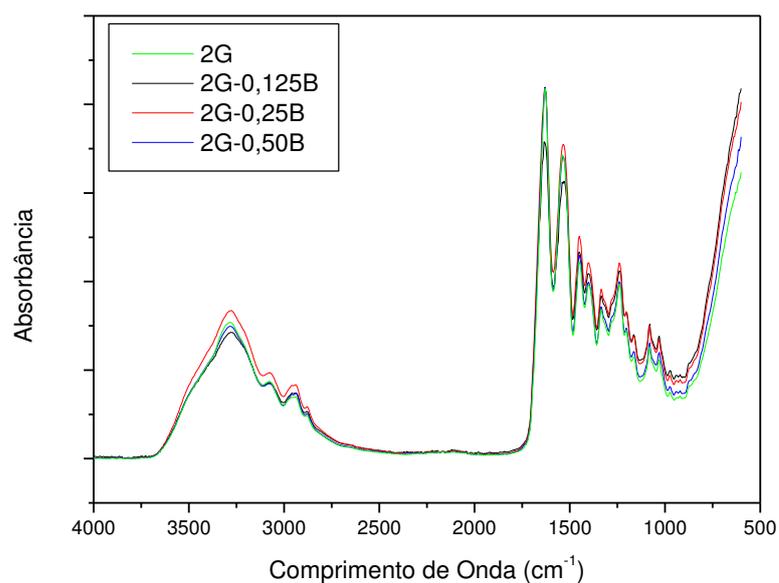


Figura 10 - Espectros vibracionais de IV das membranas: 2G; 2G-0,125B; 2G-0,25B e 2G-0,50B.

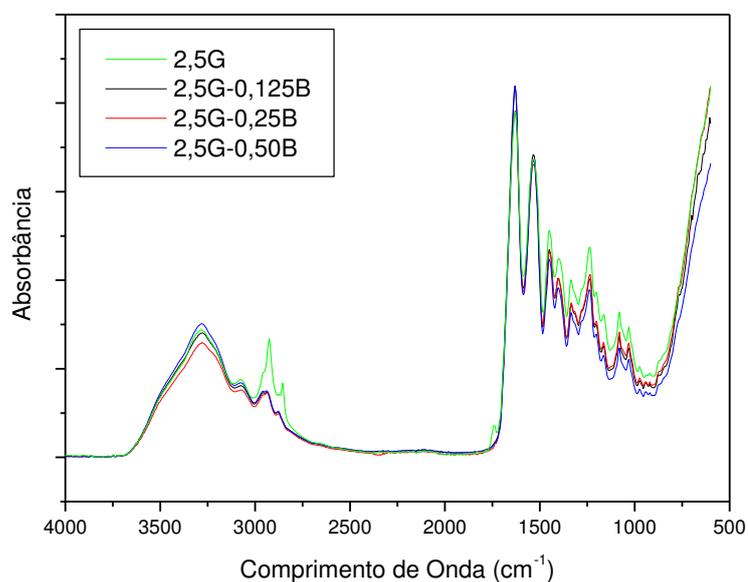


Figura 11- Espectros vibracionais de IV das membranas: 2,5G; 2,5G-0,125B; 2,5G-0,25B e 2,5G-0,50B.

Analisando a Figura 10 é possível observar uma pequena redução nas absorções das bandas em 2890cm⁻¹.

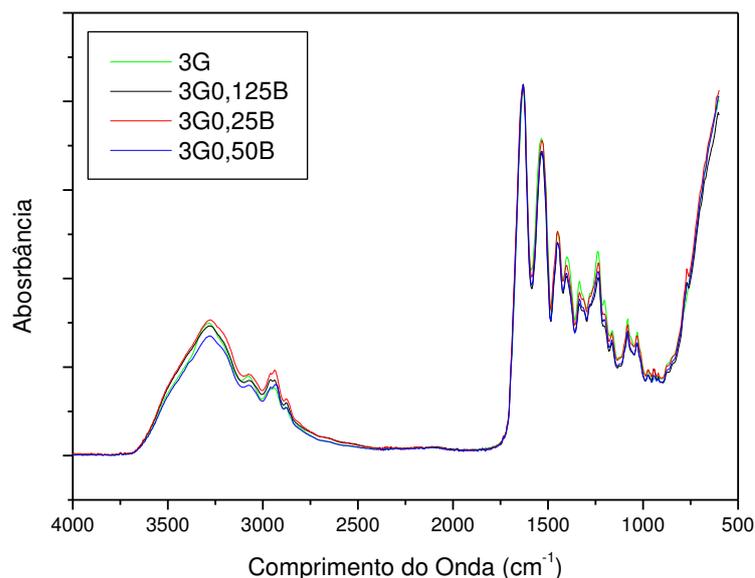


Figura 12 - Espectros vibracionais de IV das membranas: 3G; 3G-0,125B; 3G-0,25B e 3G-0,50B.

Observando os espectros de Infravermelho das membranas de gelatina (com ou sem bupivacaína) apresentados nas Figuras 10, 11 e 12 pode-se perceber a presença de bandas de absorção típicas da vibração de estiramento da ligação -NH e -OH em 3280 cm^{-1} . A banda em 3060 cm^{-1} é característica da ligação -CH. As bandas em 2947 cm^{-1} (menor intensidade) e 2878 cm^{-1} (maior intensidade) são atribuídas às vibrações de estiramento do grupo $-\text{CH}_2$ (assimétrico) e $-\text{CH}_3$ (simétrico), respectivamente. As bandas em 1625 , 1530 e 1442 cm^{-1} são características da amida I ($-\text{C}=\text{O}$), amida II ($-\text{NH}$) e amida III ($-\text{CN}$ e $-\text{NH}$) similares ao espectro do colágeno (Ficai *et al.*, 2010). A região em 1329 cm^{-1} apresenta uma banda característica ao grupo COO^- de aminoácidos da estrutura da gelatina. A banda de absorção na região de 1021 cm^{-1} corresponde a vibrações de estiramento de das ligações glicosídicas (C-O-C).

Os espectros apresentados nas Figuras 10, 11 e 12 demonstram que a presença da bupivacaína não provoca alterações significativas no espectros das membranas de gelatina, tendo em vista que as bandas de absorções da gelatina e da bupavacaína são em regiões semelhantes.

Conforme (Prestes *et al.*, 2013) a hidroxiprolina está ligada à propriedade de gelificação da gelatina. O fato de seu pico característico (1436 cm^{-1}) aparecer após a formação de membranas, justifica a utilização da gelatina na produção das mesmas.

4.4 Estudo de Biodegradação e Intumescimento *In Vitro*

As propriedades hidrofílicas das membranas obtidas foram estudadas por medidas de taxa de intumescimento/biodegradação em função do tempo.

Para a realização do ensaio de intumescimento, as membranas secas foram cortadas do mesmo tamanho e pesadas para posterior imersão na solução de PBS.

As membranas de gelatina com e sem bupivacaína apresentaram alta taxa de intumescimento/biodegradação impossibilitando a pesagens das membranas após serem imersas na solução de PBS, tendo em vista que as mesmas fragmentaram-se em tempos inferiores a 5 segundos.

Estes resultados são favoráveis a possível aplicação do material, tendo em vista que a aplicação das membranas é para anestesia local rápida em mucosa oral, devido as propriedades mucoadesivas.

Segundo os autores, (Rattanaruengsrikul, Pimpha e Supaphol, 2009) sem a reticulação uma membrana de gelatina pode sofrer processo de degradação muito rápido em meio aquoso.

4.5 Molhabilidade por Ângulo de Contato

A molhabilidade é a medida da afinidade de um líquido por um sólido, mensurada a partir do espalhamento de uma gota na superfície do material alvo da pesquisa. O líquido padrão para tal ensaio é a água, havendo a possibilidade de emprego de outro líquido de acordo com a necessidade do teste.

Os valores dos ângulos de contato podem ser observados na Tabela 3, onde é considerada face lisa a que permaneceu em contato com o ar durante o processo de secagem das amostras.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 2, observa-se que todas as membranas apresentam comportamento hidrofílico. Esse fato se justifica pela presença de banda em 1633 cm^{-1} característica do grupo carboxílico no espectro da gelatina. Esse grupo químico apresenta afinidade por água. Valores próximos aos encontrados nessa pesquisa foram encontrados por Rabello (2017), no qual o mesma produziu membranas de gelatina com triancinolona para tratamento de aftas.

Tabela 3 - Ângulo de contato obtido durante o ensaio de molhabilidade \pm desvio padrão.

Amostra	Ângulo da Face Lisa	Desvio padrão
2G	63,33667	2,633709
2G-0,125B	58,47667	4,090333
2G-0,25B	54,96667	0,778774
2G-0,50B	61,60333	5,58165
2,5G	58,41	1,809383
2,5G-0,125B	66,93333	4,688613
2,5G-0,25B	63,24	2,407281
2,5G-0,50B	60,03667	2,858838
3G	64,31	1,78574
3G0,125B	63,8	1,852692
3G-0,25B	62,17333	3,247053
3G-0,50B	66,01	0,972522

Pode-se observar que a presença do princípio ativo (bupivacaína) não alterou significativamente o comportamento das membranas, pois todas as composições apresentaram ângulo de contato inferior a 90°C.

5 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo, nas condições em que foi realizado, permite as seguintes conclusões:

- A gelatina é um biopolímero adequado a ser utilizado na formação de membranas, principalmente quando se deseja membranas flexíveis.
- As condições de processamento para obtenção das membranas de gelatina com e sem anestésico foram eficazes no desenvolvimento desta pesquisa.
- Os resultados obtidos para as análises de espectros demonstraram que não houve interação química entre as moléculas do polímero e da bupivacaína. Constatou-se, todavia, que eles interagiram fisicamente resultando em uma maior mobilidade da cadeia polimérica sem que ocorressem alterações na estrutura química da mesma.
- O aumento da concentração da solução de gelatina provocou alterações na superfície das membranas, assim como, o aumento da concentração de bupivacaína, tornando a superfície das membranas rugosas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar o comportamento das membranas através de ensaios *in vitro* e *in vivo*;
- Reduzir o tempo de secagem, tendo em vista que algumas membranas apresentaram-se quebradiças;
- Avaliar o tempo de ação anestésica da membrana;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON, S. et al. Classes of Materials Used in Medicine. In: RATNER, B. D., et al. Biomaterials Science. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. p. 68-233.

AGDAL, M. L. et al. Oral health and oral treatment needs in patients fulfilling the DSM-IV criteria for dental phobia: Possible influence on the outcome of cognitive behavioral therapy. *Acta Odontológica Scandinavica*, v. 66, p. 1-6, 2008.

ANDRADE, E. D. Terapêutica Medicamentosa em Odontologia. 3. ed. [S.l.]: Artes Médicas, 2013. 256 p.

ARMPFIELD, J. M. Australian population norms for the Index of Dental Anxiety and Fear. *Australian Dental Journal*, v. 56, p. 16-22, 2011.

BALAJI, S. et al. Preparation and comparative characterization of keratin–chitosan and keratin–gelatin composite scaffolds for tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering C*, v. 32, p. 975-982, 2012. ISSN 4.

BATHEJA, P.; THAKUR, R.; MICHNIAK, B. Basic Biopharmaceutics of buccal and. In: TOUITOU, E.; BARRY, B. W. Enhancement in Drug Delivery. Boca Raton: CRC Press, 2006.

BODDUPALLI, B. M. et al. Mucoadhesive drug delivery system an overview. *J Adv Pharm Tech Res*, v. 1, p. 381-387, 2010.

BRAVO-OSUNA, I. et al. Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly(isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Biomaterials*, v. 28, p. 2233-2243, 2007.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Properties of Chemically Modified Films. *Brazilian Chemical Journal of Chemical Engineering*, v. 23, p. 45-53, 2006. ISSN 1.

CEREDA, C. M. S. et al. Liposomal formulations of prilocaine, lidocaine and mepivacaine prolong analgesic duration. *Canadian Journal of Anesthesia*, v. 53, p. 1092-1097, 2006.

CHAPLIN, M. *Water structure and science*, 2014. Disponível em: <<http://www1.lsbu.ac.uk/water/gelatin.html>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

CHEN, Y. S.; KUO, S. M.; YAO, C. H. review for gelatin used for artificial nerve and bone implants - 10-year retrospection. *Biomedical Engineering*, Singapore, v. 21, p. 233-238, 2009.

CHU, C.R., et al., The in vitro effects of bupivacaine on articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br*, v. 90, p. 814-20, 2008.

CLARK, T. M.; YAGIELA, J. A. *Advanced Techniques and Armamentarium for Dental Local Anesthesia*. *Dental Clinics of North America*, v. 54, p. 757-768, 2010.

COLLA, E. *Biofilmes de farinha de amaranto adicionados de ácido esteárico: elaboração e aplicação em morangos frescos (Fragaria ananassa)*. 2004. 54 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

COUTO, R. O. *Desenvolvimento de filmes mucoadesivos para liberação de fármacos anestésicos na cavidade bucal*. 2015, 92f. Tese(Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

DE MELO, N. F. S. et al. Poly(Lactide-co-Glycolide) Nanocapsules Containing Benzocaine: Influence of the Composition of the Oily Nucleus on Physico- Chemical Properties and Anesthetic Activity. *Pharmaceutical Research*, v. 28, p. 1-11, 2011.

DEF. *Dicionário de especialidades farmacêuticas*. 33. ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Científicas, 2004.

EITNER, S. et al. Dental anxiety - An epidemiological study on its clinical correlation and effects on oral health. *Journal of Oral Rehabilitation*, v. 33, p. 588-593, 2006.

FAKHOURI, F. M. et al. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, p. 369-375, 2007.

FARIA, F. A. C.; MARZOLA, C. Farmacologia dos anestésicos locais – considerações gerais. *BCI, Curitiba*, v. 8, p. 19-30, 2001. ISSN 29.

FARRIS, S.; SONG, J.; HUANG, Q. Alternative Reaction Mechanism for the Cross-Linking of Gelatin with Glutaraldehyde. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 2010. 988-1003.

FERREIRA, M. B. C. Anestésicos locais. In: WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. *Farmacologia clínica para dentistas*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. p. 104-116.

FRANZ-MONTAN, M. et al. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesth Analg*, v. 104, p. 1528-1531, 2007.

GALAEV, I. Y.; MATTIASSON, B. ‘Smart’polymers and what they could do in biotechnology and medicine. *Trends in biotechnology*, v. 17, p. 335-340, 1999.

GARCHA, V.; SHETIYA, S. H.; KAKODKAR, P. Barriers to oral health care amongst different social classes in India. *Community Dental Health*, v. 27, p. 158-162, 2010.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. FISH GELATIN: A RENEWABLE MATERIAL FOR DEVELOPING ACTIVE BIODEGRADABLE FILMS. *Trends Food Sci. Technol*, v. 20, p. 3-16, 2009.

GRIFFITH, C. K. et al. Diffusion limits of an in vitros thick prevascularized scaffold. *Tissue Eng*, v. 11, p. 257–266, 2005.

GRISHKO, V. et al. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine, v. 92, p. 609-18, 2010.

HILL, K. B.; CHADWICK, B.; FREEMAN, R. Adult Dental Health Survey 2009: relationships between dental attendance patterns, oral health behaviours and the current barriers to dental care. *Br Dent J*, v. 214, p. 25-32, 2013.

KALASKAR, D. M. et al. Controlling cell morphology on amino acid-modified cellulose, v. 4, p. 1059-1065, 2008.

KIM, H.; KIM, H.; SALIH, V. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin–hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*, v. 26, p. 5221–5230, 2005.

LO, I. K. et al. Local anesthetics induce chondrocyte death in bovine articular cartilage disks in a dose- and duration-dependent manner, v. 25, p. 707-15, 2009.

LOPEZ-VALVERDE, A.; DE VICENTE, J.; CUTANDO, A. The surgeons Halsted and Hall, cocaine and the discovery of dental anaesthesia by nerve blocking, v. 211, p. 458-487, 2011.

MALAMED, S. F. Cartilha de anestesia local. Rio de Janeiro: DFL, 2008.

MALAMED, S. F. Local anesthetics: dentistry's most important drugs, clinical update 2006. *J Calif Dent Assoc*, v. 34, p. 971-976, 2006.

MALAMED, S. F. Manual de anestesia local. 5. ed. São Paulo: Elsevier, 2004.

MANOHAR, S. D.; SRIDHAR, D. A.; MALLIKARJUNA, S. C. Drug Delivery from the Oral Cavity: a focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems, v. 66, p. 466-500, 2012.

MARIOD, A. A.; FADUL, H. Review: gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, v. 12, p. 135-147, 2013. ISSN 2.

MCGRATH, C.; BEDI, R. The association between dental anxiety and oral healthrelated quality of life in Britain. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, v. 32, p. 67-72, 2004.

MCLURE, A.; RUBIN, A. P. Review of local anaesthetic agents, v. 71, p. 59-74, 2005.

MOORE, P. A.; HERSH, E. V. Local Anesthetics: Pharmacology and Toxicity. Dental Clinics of North America, v. 54, p. 587-599, 2010.

MORAES, et al. Benzocaine loaded biodegradable poly-(d,l-lactide-co-glycolide) nanocapsules: factorial design and characterization. Materials Science and Engineering: B, v. 165, p. 243-246, 2009.

NORZIAH, M. H. et al. Characterization of fish gelatin from surimi processing wastes: Thermal analysis and effect of transglutaminase on gel properties. Food Hydrocolloids, v. 23, p. 1610-1616, 2009.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. Int J Biol Macromol, v. 71, p. 94-102, 2014.

OGLE, O. E.; MAHJoubI, G. Local anesthesia: agents, techniques and complications, v. 56, p. 133-148, 2012.

OLIVEIRA, F. M.; CAVALCANTI, O. A. Pré-Bióticos na Formação de Filmes Isolados de Eudragit® RS 30 D. Avaliação das Propriedades de Intumescimento e Permeabilidade, v. 26, p. 325-331, 2007.

OLIVEIRA, R. B. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. Revista eletrônica de farmácia, v. 3, p. 29-35, 2007. ISSN 1.

PAIVA, L. C. A.; CAVALCANTI, A. L. ANESTÉSICOS LOCAIS EM ODONTOLOGIA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa, v. 11, p. 35-42, 2005. ISSN 2.

PATEL, V. F.; LIU, F.; BROWN, M. B. Advances in oral transmucosal drug delivery. Journal of Controlled Release, v. 153, p. 106-11, 2011.

POHJOLA, V. et al. Dental fear and subjective oral impacts among adults in Finland. *European Journal of Oral Sciences*, v. 117, p. 268-272, 2009.

PRESTES, R. C. et al. CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA DE COLAGENO, GELATINA E COLAGENO HIDROLISADO. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 15, p. 375-382, 2013. ISSN 4.

RABELLO, I. P. DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE GELATINA PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS EM ULCERAÇÕES DE MUCOSA ORAL. 2017. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

RANALI, J.; VOLPATO, M. C. Bupivacaína – anestésico local de longa duração: revisão sobre sua farmacologia e uso clínico em Odontologia. *RBO*, v. 47, p. 36-40, 1990. ISSN 6.

RATNER, B. D. et al. *Biomaterials Science*. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004.

RATTANARUENGSRIKUL, V.; PIMPHA, N.; SUPAPHOL, P. Development of gelatin hydrogel pads as antibacterial wound dressings. *Macromolecular Bioscience*, v. 9, p. 1004-1015, 2009. ISSN 10.

RUSLING, J. F. *Biomolecular Films: Design, Function, and Applications*. New York: CRC Press, v. 111, 2003. 640 p.

SAGMA - Associação dos Fabricantes de Gelatina da América do Sul. SAGMA, 2004. Disponível em: <<http://www.sagma-gelatina.com>>. Acesso em: 30 mar. 2018.

SENA, L. A. **Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatita – colágeno para aplicações biomédicas**. 2004. 107 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto Alberto Luiz Coimbra, Rio de Janeiro, 2004.

SHE, Z. et al. Preparation and in vitro degradation of porous three-dimensional silk fibroin/chitosan scaffold. *Polymer Degradation and Stability*, v. 93, p. 1316–1322, 2008.

SMART, J. D. Lectin-mediated drug delivery in the oral cavity. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 56, p. 481–489, 2004.

SMITH, T. A.; HEATOM, L. J. Fear of dental care: Are we making any progress? *Journal of the American Dental Association*, v. 134, p. 1101-1108, 2003.

SOBRAL, P. J. A. et al. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOBRAL, P. J. A. Propriedades funcionais de biofilmes de gelatina em função da espessura. *Ciência & Engenharia*, v. 8, p. 60-67, 1999. ISSN 1.

SOKOLOWSKI, C. J.; GIOVANNITTI, J. A.; BOYNES, S. G. Needle Phobia: Etiology, Adverse Consequences, and Patient Management. *Dental Clinics of North America*, v. 54, p. 731-744, 2010.

TAVAKOLIPOUR, H. Extraction and evaluation of gelatin from silver carp waste. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3, 2011. 10-15.

VARGAS, P. C. C. **Produção de bioprodutos por *Xanthomonas campestris* pv *campestris* a partir do glicerol**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

VEERING, B. Complications and local anaesthetic toxicity in regional anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol*, v. 16, p. 455-459, 2003.

VERMA, S. et al. An overview on buccal drug delivery system. *Ind J Pharm Sci Res*, v. 2, p. 1303-1321, 2011.

VROMAN, I.; TIGHZERT, L. Biodegradable Polymers. *Materials*, v. 2, n. 2, p. 307-344, 2009.

WASHINGTON, N.; WASHINGTON, C.; WILSON, C. G. *Physiological Pharmaceutics Barriers to Drug Absorption*. 2. ed. New York: Taylor & Francis Group, 2001.

YANG, C. et al. A green fabrication approach of gelatin/CM-chitosan hybrid hydrogel for wound healing. *Carbohydrate Polymers*, v. 82, p. 1297–1305, 2010.