

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

Luciano da Cunha Canuto de Oliveira

**DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL DE QUITOSANA/GELATINA/
PROMESTRIENO**

Campina Grande - PB

2018

Luciano da Cunha Canuto de Oliveira

**DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL DE QUITOSANA/GELATINA/
PROMESTRIENO**

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

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

Campina Grande - PB

2018

O48d

Oliveira, Luciano da Cunha Canuto de.

Desenvolvimento de anel intravaginal de quitosana /gelatina /
promestrieno / Luciano da Cunha Canuto de Oliveira. – Campina
Grande, 2018.

70 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) –
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e
Tecnologia, 2018.

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

Referências.

1. Polímeros. 2. Bioatividade. 3. Envelhecimento Urogenital. 4.
Reposição Hormonal. I. Fook, Marcus Vinicius Lia. II. Título.

CDU 678.7 (043)

VITAE DO CANDIDATO

Luciano da Cunha Canuto de Oliveira

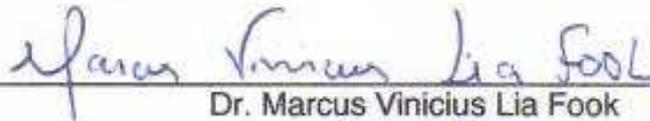
- Graduado em Medicina pela Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa, Paraíba, em 2003.
- Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia no Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB, nos anos de 2007-2010.
- Ginecologista e Preceptor do Internato de Ginecologia e da Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB desde 2014.
- Ginecologista e Obstetra e Preceptor do Internato e Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, desde 2015.
- Preceptor do Internato de Obstetrícia da Faculdade de Medicina do Nordeste - FAMENE, João Pessoa, Paraíba, 2010-2012.
- Preceptor do Internato de Obstetrícia e Residência Médica em Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina do UNIPE, João Pessoa, Paraíba, 2018.

LUCIANO DA CUNHA CANUTO DE OLIVEIRA

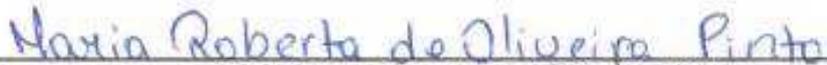
DESENVOLVIMENTO DE ANEL INTRAVAGINAL DE
QUITOSANA/GELATINA/PROMESTRIENO

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



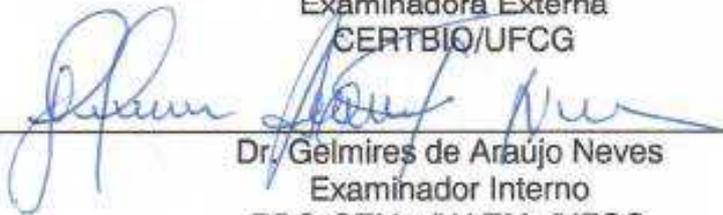
Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEMa/UFCG



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



Dr.ª Rita de Cássia Alves Leal Cruz
Examinadora Externa
CERTBIO/UFCG



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

A Deus, pela sua infinita bondade e por tornar um sonho em realidade, a meus pais por todo o incentivo, **DEDICO**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** primeiramente, pelo dom da vida e da inteligência, pelo ânimo e curiosidade que incutiu em mim, que me impulsiona na vida a sempre questionar e aprender.

Dedico esta dissertação a instituição que tem sido a base da minha vida: minha família.

Ao meu pai, **José Canuto de Oliveira** (in memoriam), meu amigo sertanejo, seu afeto e sua personalidade forjaram o que tenho de melhor em mim. A minha mãe, **Analice da Cunha Oliveira**, pelo exemplo de caráter, persistência e resiliência me guiaram até aqui. Aos meus irmãos **Humberto, Jackson, Adalberto, Eriberto** (in memoriam), **Joberto, Fabiano, Alexsandro, Israel e Joselice**, meus companheiros de vida, de alegrias e cumplicidades.

Ao meu orientador **Professor Doutor Marcus Vinícius Lia Fook** pelo total apoio, disponibilidade, pelo saber que transmitiu, pelas opiniões e críticas e soluções a problemas que surgiram ao longo deste trabalho e pelo incentivo.

Ao professor do CERTBIO, **Professor Doutor Wladymyr Jefferson Bacalhau de Sousa**, pela incansável disponibilidade, seu vasto saber, seu espírito crítico, exigência e rigor e valiosas contribuições decisivas para a concretização desta investigação. Obrigado.

São também dignos de nota os demais professores, funcionários e amigos do CERTBIO, em particular ao **Prof. Dr. Rosseberg Cardoso, Prof. Dr. Josué da Silva Buriti, Profa. Dra. Rita de Cássia Alves Leal, Tânia**, pelo profissionalismo e apoio do trabalho minucioso e dedicado de **André Junior e Thiago Caju**.

Agradeço por fim, aos colegas de mestrado, e demais doutorandos e graduandos, além dos colegas de profissão, familiares e amigos. Meu eterno Obrigado.

*“Aqueles que passam por nós, não vão
sós, não nos deixam sós. Deixam um
pouco de si, leva um pouco de nós”.*

Antoine de Saint-Exupéry.

RESUMO

A terapia de reposição de estrogênio para mulheres menopausadas pode ser administrada por via sistêmica ou vaginal, sendo a última, a via de administração ideal para a atrofia urogenital. Os anéis poliméricos para liberação de hormônios tornam-se um candidato ao tratamento, no entanto, se faz necessária a retirada dos mesmos após o seu período de funcionalidade que é de 21 dias. Diante disso, o uso de polímeros como a quitosana, que possui características de biodegradabilidade, biocompatibilidade, mucoadesão apresenta-se como uma alternativa para desenvolvimento dos anéis. Desta forma, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de anéis biodegradáveis para liberação intravaginal de promestrieno. Os anéis foram desenvolvidos, através da dissolução da quitosana em ácido láctico (1% v/v), para uma concentração final da solução polimérica (5% m/v), seguida da incorporação de gelatina (30% m/m) e 10 mg/g de promestrieno concentração esta utilizada em anéis comerciais em 30 mL da solução de quitosana para produção de um anel. Utilizou-se um molde em formato de anel e foi realizada a coagulação da solução de quitosana/gelatina/promestrieno em hidróxido de sódio 1 M, em seguida ocorreu a lavagem e submersão das amostras em polietilenoglicol (PEG) 400 por 24 horas. Em seguida, as amostras foram submetidas à secagem e caracterizadas por meio das técnicas de Microscopia Óptica (MO), Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Molhabilidade por medida de ângulo de contato e ensaio mecânico de tração. Na MO as amostras apresentaram-se densas, assemelhando-se a amostra do anel comercial. Nos resultados de FTIR demonstraram que o fármaco interagiu quimicamente com a matriz polimérica, possivelmente por pontes de hidrogênio, ligações dipolo-dipolo e dipolo induzido. No ensaio mecânico de tração constatou-se que a incorporação do fármaco possibilitou o aumento na resistência. Na molhabilidade por medida de ângulo de contato, constatou-se que todas as amostras evidenciaram ângulo de contato igual a 0° caracterizando-as como hidrofílicas. Observou-se um aumento do grau de intumescimento com a adição do fármaco. Na análise de biodegradação, observou-se que a mesma é influenciada pela adição de gelatina e principalmente pelo fármaco. Mediante o exposto conclui-se que as amostras confeccionadas apresentaram semelhanças com o comercial e adequada interação química entre os constituintes, por meio da metodologia e técnicas de processamento utilizadas foi possível desenvolver um anel de quitosana/gelatina/promestrieno.

Palavras – Chaves: Bioatividade. Envelhecimento urogenital. Reposição hormonal.

ABSTRACT

Estrogen replacement therapy for menopausal women may be administered systemically or vaginally, the latter being the optimal route of administration for urogenital atrophy. Polymer rings for hormone release become a candidate for treatment, however, it is necessary to remove them after their period of functionality is 21 days. Therefore, the use of polymers such as chitosan, which has characteristics of biodegradability, biocompatibility, mucoadhesion presents as an alternative for the development of the rings. Thus, the present work aimed the development of biodegradable rings for intravaginal release of promestriene. The rings were developed by dissolving the chitosan in lactic acid (1% v / v), to a final concentration of the polymer solution (5% m / v), followed by the incorporation of gelatin (30% w / w) and 10% mg / g of promestriene concentration is used in commercial rings in 30 mL of chitosan solution to produce a ring. A ring-shaped template was used and the chitosan / gelatin / promestriene solution was coagulated in 1M sodium hydroxide, then the samples were washed and submerged in polyethylene glycol (PEG) 400 for 24 h. The samples were then submitted to drying and characterized by optical microscopy (OM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Wettability by contact angle measurement and mechanical tensile testing. In the OM the samples were dense, resembling the commercial ring sample. The FTIR results demonstrated that the drug interacted chemically with the polymer matrix, possibly through hydrogen bonds, dipole-dipole bonds and induced dipole. The mechanical tensile test showed that the incorporation of the drug made possible the increase in resistance. In the wettability by measurement of contact angle, it was verified that all the samples showed contact angle equal to 0 ° characterizing them as hydrophilic. An increase in the degree of swelling with the addition of the drug was observed. In the biodegradation analysis, it was observed that it is influenced by the addition of gelatin and mainly by the drug. It was concluded that the prepared samples presented similarities with the commercial and appropriate chemical interaction between the constituents, through the methodology and processing techniques used it was possible to develop a chitosan/gelatin/promestriene ring.

Keywords: Chitosan. Biomaterials. Medical Applications. Promestriene.

PUBLICAÇÕES

L. C. C. Oliveira^{1*}; T. C. Pedrosa¹; D. K. M. Oliveira¹; L. E. Cavalcante¹; A. G. Bezerra Junior¹; W. J. B. Sousa¹; R. C. Barbosa¹; C.A. Pimentel¹; M. V. L. Fook¹.
Desenvolvimento de anel intravaginal de quitosana/gelatina/ promestrieno. Revista Eletrônica de Materiais e Processos – REMAP. ISSN 1809-8797.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Anatomia Vaginal.	18
Figura 2 – Desenho esquemático da histologia vaginal	19
Figura 3 – Músculos do Diafragma Pélvico e Urogenital.....	22
Figura 4 – Estrutura química do promestrieno.	27
Figura 5 – Estrutura química da quitosana.....	30
Figura 6 – Estrutura dos principais aminoácidos da gelatina	31
Figura 7 – Fluxograma simplificado da elaboração dos anéis de quitosana, gelatina e promestrieno.	40
Figura 8 – Aparelho goniômetro.	42
Figura 9 – Imagens de Microscopia Ótica de todas as amostras com magnificação de 40X.....	45
Figura 10 – Imagens de Microscopia Ótica da amostra AC com magnificação de 40X.	46
Figura 11 – Espectro de FTIR da Quitosana em Pó.....	47
Figura 12 – Espectro de FTIR da Gelatina.....	48
Figura 13 – FTIR das amostras AQ e AQG.....	49
Figura 14 – FTIR da amostra F.	50
Figura 15 – FTIR da amostra AQ e AQF	51
Figura 16 – FTIR da amostra AQGF.	52
Figura 17 – Molhabilidade por medida de ângulo de contato da amostra AC	54
Figura 18 – Molhabilidade por medida de ângulo do contato das amostras	55
Figura 19 – Grau de Intumescimento das amostras.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características de um sistema ideal de liberação intravaginal	33
Tabela 2 – Codificação das amostras.	39
Tabela 3 – Bandas de absorção do pó de quitosana.	47
Tabela 4 – Resistência à tração em relação aos anéis de quitosana e o anel comercial.	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande
CERTBIO - Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
FTIR - Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier
DRX - Difração de Raios X
E1 - Estroma
E2 - 17 Beta-estradiol
E3 - Estriol
TRH - Terapia de Reposição Hormonal
PIA - Pressão Intra-Abdominal
ISSO - *International Organization for Standardization*
DIU - Dispositivos Intra-Uterinos
PBS - *Phosphate Buffered Saline*
MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)
EDS - Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X
GI - Grau de Intumescimento
Mf - Peso Final
Mi - Peso Inicial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Anatomia pélvica feminina	17
2.1.1 Órgãos da cavidade pélvica	17
2.1.2 Cavidade pélvica e estruturas de suporte	20
2.2 Hormônio feminino	22
2.3 Pós-Menopausa	23
2.4 Desordens do Pavimento Pélvico	25
2.4.1. Atrofia vaginal	25
2.5 Terapia Hormonal	26
2.5.1 Promestrieno	27
2.6 Biomateriais	28
2.7.1 Quitosana	29
2.7.2 Gelatina	30
2.8 Liberação de Controlada de Fármacos	31
2.8.1 Anéis Poliméricos para liberação intravaginal	32
2.9 ESTADO DA ARTE	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1 Local da Pesquisa	38
3.2- Materiais	38
3.2.1 Reagentes	38
3.3- Métodos	38
3.3.1 Obtenção dos anéis de quitosana	38
3.3.2 Obtenção dos anéis de quitosana com gelatina	39
3.3.3 Obtenção dos anéis de quitosana com gelatina e promestrieno	39
3.4 Caracterizações	40
3.4.1 Microscopia Óptica (MO)	40
3.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	41
3.4.3 Resistência a Tração	41
3.4.4 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato	42
3.4.5 Grau de Intumescimento	43

3.4.6 Biodegradação.....	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1 Microscopia Ótica	45
4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	46
4.3 Resistência à Tração	52
4.4 Molhabilidade por medida de ângulo de contato.....	53
4.5 Grau de Intumescimento.....	55
4.6 Biodegradação.....	57
5 CONCLUSÕES	59
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1 INTRODUÇÃO

Envelhecer é um processo comum a todos os indivíduos, mas vivenciado de maneiras heterogêneas de acordo com a cultura e a sociedade na qual se vive. No que diz respeito ao envelhecimento das mulheres isso traz alterações anatômicas, fisiológicas e psicológicas importantes (Tomic *et al.*, 2006). Suas queixas comuns apresentam-se durante a menopausa e estão intimamente relacionadas ao declínio acentuado na produção de estrógeno, que exerce um impacto significativo na qualidade de vida (Pinhat, 2017).

Não surpreendentemente, algumas das queixas mais comuns entre as mulheres na menopausa consistem em sintomas urogenitais, que incluem secura vaginal, dispareunia, disúria e infecções vaginais e urinárias recorrentes. Estes sintomas podem afetar gravemente a qualidade de vida e a atividade sexual feminina. A terapia de reposição de estrogênio administrado por via sistêmica (oral, transdérmica, implantes) ou vaginal (comprimidos, anéis, cremes, supositórios) é o tratamento padrão para a atrofia urogenital. O tratamento local através do princípio ativo chamado de promestrieno é bem mais tolerado do que a administração por via sistêmica e, portanto, preferido pelas mulheres, principalmente hoje pelo temor do câncer de mama (Palacios *et al.*, 2005; Castelo-Branco *et al.*, 2005; Pompei, Fernandes e Melo, 2010).

O promestrieno é um diéster de estradiol com evidências de praticamente não ser absorvido por via vaginal ou através da pele. Essa característica faz dele o estrogênio vaginal ideal, com ação trófica local e sem ação sistêmica. Entretanto não existe este fármaco na forma de anel intravaginal, que possibilitaria doses controladas e mais baixas de estrogênios quando comparado as pomadas e cremes vaginais. A utilização do anel possibilitará relações sexuais, além de extinguir manipulação diária do creme vaginal, que pode induzir infecções locais, dor durante a aplicação e sangramentos além de sujar as roupas íntimas das mulheres (Lage, 2013; Anvisa, 2015).

De modo a atenuar esses problemas, o desenvolvimento de novos sistemas de liberação ou adequação dos já existentes, como é o caso de anéis poliméricos de liberação de hormônios, tem sido uma alternativa. Esses tipos de anéis com outros fármacos já são comercializados, no entanto, em sua grande maioria são compostos de polímeros não biodegradáveis e, se faz necessário a retirada dos mesmos após o

seu período de funcionalidade (Nuvaring, 2017). Além disso, não existe um produto (anel biodegradável) comercial composto por promestrieno, o que possibilita novas alternativas no tratamento de mulheres menopausadas.

Diante deste contexto observa-se a necessidade da obtenção de um material que exerça sua função e em seguida seja solubilizado ou biodegradado sem que haja a necessidade da sua retirada. Polímeros naturais e biodegradáveis como a quitosana e gelatina atendem esse critério devido as suas características. Ambos são estudados em aplicações diversas na área de saúde (Nwe, Furuike e Tamura, 2009). Desta forma, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de anéis de quitosana/gelatina e promestrieno para liberação intravaginal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Anatomia pélvica feminina

A região pélvica é constituída dos ossos íliaco, ísquio, púbis e sacro, sendo interligados por fibras musculares lisas, por ligamentos densos e por condensações faciais. Trata-se de uma região de grande importância funcional por participar da proteção e sustentação dos órgãos pélvicos, além de atuar como ponto de fixação para os músculos do períneo e dos membros inferiores e por influenciar ativamente na transferência do peso corpóreo (Stephenson e Connor, 2004; Moreno, 2009).

A pelve feminina trata-se de uma região de grande importância funcional sendo constituída por adaptações especiais que favorecem ao período gestacional, além de possuir a função sensualista da mulher. O trato urogenital feminino é composto por órgãos genitais internos e externos, onde os órgãos genitais internos são caracterizados por ovários, tubas uterinas, útero e a vagina e, os órgãos genitais externos são caracterizados por estruturas da vulva feminina e pelo períneo (Baracho, 2007).

2.1.1 Órgãos da cavidade pélvica

Os órgãos internos da cavidade pélvica compõem-se por ovários, tubas uterinas, útero e vagina, a organização estrutural desses órgãos é composta pela ação simultânea da fáscia (tecido conectivo), dos ligamentos e dos músculos, onde a integridade desta é imprescindível para o bom funcionamento dos órgãos (Silva, 2012).

No que se diz respeito à ligação entre os órgãos internos pélvicos e os órgãos externos pélvicos, se refere à vagina. Órgão este de grande importância, por ser caracterizado um canal fibromuscular, na qual se estende do colo do útero até o vestíbulo do orifício vaginal, podendo medir cerca de 8 a 10 cm de comprimento, como se apresenta na Figura 1 (Baracho, 2007).

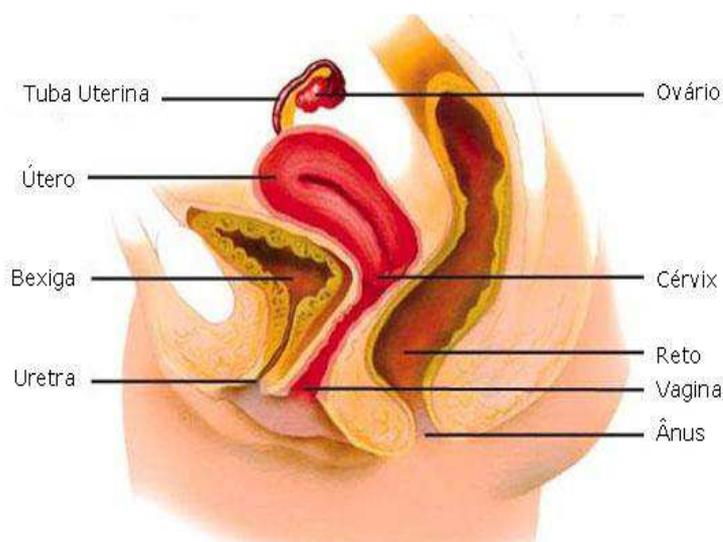


Figura 1 – Anatomia Vaginal (Henscher, 2007).

Didaticamente, a vagina se divide em compartimentos anterior, apical e posterior no qual se podem identificar diversas patologias em cada compartimento, entretanto, a vagina é suspensa anteriormente pelo ligamento pubo-uretal, superiormente pelo arco tendíneo da fáscia endopélvica e posteriormente pelo ligamento uterosacral, na qual, junto com sua força elástica promove equilíbrio durante os movimentos de contração (Moreno, 2009; Lazarini, 2010).

A mesma apresenta um excelente grau de elasticidade, devido à presença de fibras elásticas no seu revestimento muscular, sendo este verificado durante o repouso, onde há existência de contrações lentas dos músculos pubocóccigeo e levantador do ânus, na qual respectivamente, tracionam a vagina e esticando-a (Etienne e Waitman, 2006).

Em termos histológicos, a vagina é constituída por quatro camadas distintas, sendo elas: a camada mais superficial constituída por um epitélio escamoso estratificado e plano, porém não secretor, composto por células ricas em glicogênio; a segunda camada chamada de túnica e constitui-se de colágeno e elastina, além de conter uma grande quantidade de canais vasculares e linfáticos; a terceira uma delgada camada muscular lisa, constituída por fibras musculares lisas em ambas as direções, circulares e longitudinais. A última camada refere-se a mais externa, chamada de adventícia, constituída por tecido conjuntivo areolar e um grande plexo de vasos sanguíneos, conforme verificado na Figura 2 (Souza, 2010).

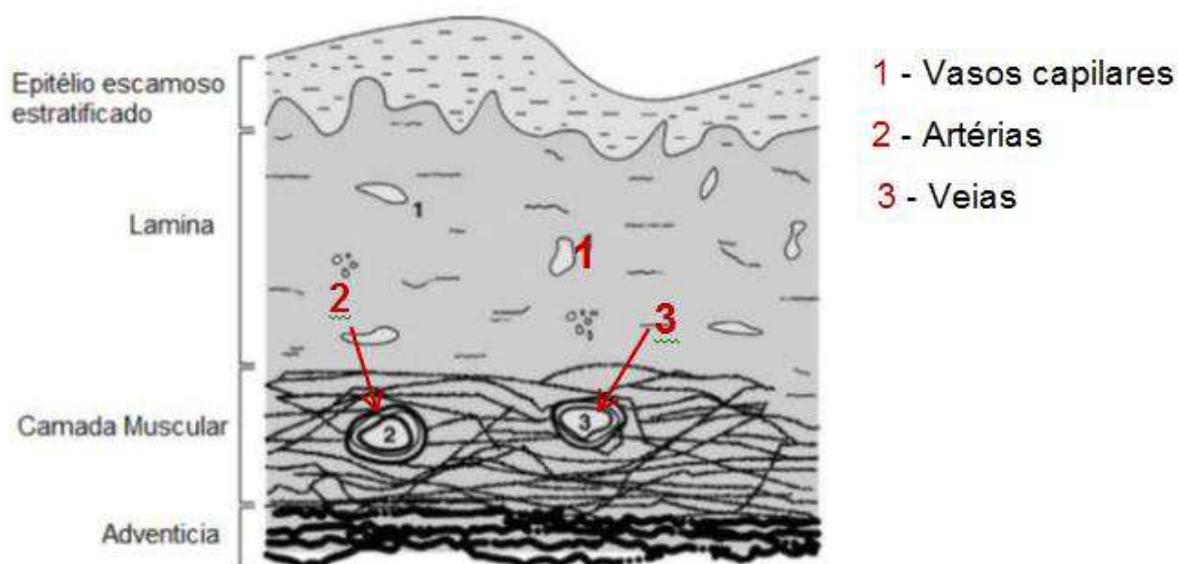


Figura 2 – Desenho esquemático da histologia vaginal (Adaptado de Neves e Bahia, 2006).

As estruturas apresentadas, se dispõem da seguinte maneira: uma túnica fibrosa que envolve uma túnica muscular, na qual, interiormente é revestida por uma túnica mucosa e uma superfície plana. A superfície mucosa da vagina, apresenta ainda duas cristas longitudinais medianas, uma disposta anteriormente e outra posteriormente, onde a partir destas, estendem-se numerosas rugas bilaterais transversas, divididas por sulcos de profundidades variáveis, para permitir assim o enchimento da bexiga, a penetração peniana, a distensão do reto e a passagem da cabeça do feto. Tais estruturas são desprovidas de glândulas, onde suas secreções provem do colo uterino (Souza, 2010).

As grandes quantidades de glicogênio são lançadas na luz do canal vaginal quando essas células naturalmente descamam, sendo estas células ainda metabolizadas por bactérias chamadas de bacilos de Döderlein, posteriormente formando o ácido láctico, responsável este pelo pH baixo normal da vagina (Souza, 2010). A formação de glicogênio é promovida através do estrogênio, que confere a coloração rosa normal e aspecto úmido na vagina, além de ajudar a manter a espessura das multicamadas do epitélio escamoso (Silva, 2012).

Sendo assim, nas mulheres com idade reprodutiva saudáveis, o pH normal da vagina varia de 3,8 a 4,2, podendo ainda variar tanto pela falta de estrogênio como na presença de sêmen e produtos de higiene feminina (Vermani e Garg, 2000; Alexander *et al.*, 2004).

O pH vaginal torna-se um parâmetro importante no que se refere a aquisição de patologias e na eficácia dos sistemas de liberação de fármacos. Com isso, durante o processo de envelhecimento, as mulheres na menopausa sofrem alterações significativas na fisiologia vaginal, tais como o aumento do pH vaginal (6,0-7,5) e uma diminuição na quantidade da produção de secreções vaginais, o que pode desencadear a atrofia progressiva do epitélio vaginal (Neves e Bahia, 2006).

2.1.2 Cavidade pélvica e estruturas de suporte

Entende-se por cavidade ou pavimento pélvico, como um complexo conjunto de estruturas (músculos, ligamentos e fâscias) que suportam tanto as vísceras pélvicas como as abdominais. Situa-se no limite inferior da cavidade pélvica e no limite superior do períneo e estende-se desde o púbis ao cóccix. Tal estrutura pélvica é atravessada por três orifícios, à frente pela uretra e vagina e ao centro pelo reto. Deste modo, a contração do complexo tem a propriedade de auxiliar a continência urinária e fecal, como também a função sexual (Silva, 2012).

O pavimento pélvico divide-se ainda em dois tipos de estruturas musculares: o diafragma pélvico e diafragma urogenital. O primeiro complexo representa o sistema muscular que cobre inferiormente a pélvis, entendendo-se do púbis ao cóccix e, lateralmente, entre as paredes do pavimento pélvico, já o diafragma urogenital refere-se a camada mais superficial e distal do pavimento pélvico, sendo este responsável pela ação voluntária da continência (Stephenson e Connor, 2004; Uchôa, 2011).

O diafragma pélvico é formado por uma camada profunda, composto por fâscias e por músculos espessos e largos que estão dispostos bilateralmente fechando a abertura inferior da pelve, permitindo apenas a passagem dos orifícios uretral e retal em ambos os sexos e pelo orifício vaginal nas mulheres. Os músculos incluem funções de sustentação das vísceras pélvicas e de resposta as variações da Pressão Intra-Abdominal (PIA) de maneira elástica (passiva) e tônica (ativa), sendo assim, constituindo-se por meio dos músculos coccígeo e levantador do ânus (Germain, 2005).

O músculo coccígeo origina-se nas margens da espinha isquiática, na face profunda do ligamento sacro-espinhal e na porção posterior da fâscia do músculo obturador interno. Dirigindo-se a margem lateral e à face anterior do cóccix e do sacro (Moreno, 2009). Levantador do ânus é responsável por resistir ao aumento da PIA e

por sustentar as vísceras, sendo ele compreendido por três fascículos: o pubococcígeo, o puborretal e o iliococcígeo. O músculo pubococcígeo origina-se na face posterior do púbis e vai para trás, quase horizontalmente; o músculo puborretal origina-se na face interna do osso púbico, abaixo da origem do músculo pubococcígeo onde os dois lados se fundem atrás do reto, e o músculo iliococcígeo origina-se na fáscia acima do músculo obturador interno, prolongando-se até a espinha isquiática, inserindo-se ao cóccix (Henscher, 2007).

Quanto ao diafragma urogenital é formado por uma camada externa ao diafragma pélvico composto por uma lâmina fina de músculos estriados que forma dois triângulos (um anterior e outro posterior) a partir do arco púbico (Germain, 2005). O triângulo urogenital é composto pela porção mais anterior do períneo, estendendo-se entre os dois lados do arco púbico compreendendo os órgãos genitais externos e os seguintes músculos: o transversal profundo do períneo origina-se na face medial do ramo do ísquio e se insere no corpo do períneo; músculo transversal superficial do períneo origina-se no ramo do osso isquiático acima do músculo isquicavernoso seguindo transversalmente e se inserindo ao períneo; músculo isquicavernoso origina-se no ramo do osso isquiático, inserindo-se ao clitóris; músculo bulbocavernoso origina-se no corpo perineal contorna a vagina e uretra se insere no clitóris e no músculo esfíncter externo da uretra onde uma parte de suas fibras circunda a uretra e a outra parte funde-se com as paredes anterior e lateral da vagina (Baracho, 2007; Henscher, 2007). Sendo assim, o triângulo urogenital ainda é responsável pela sustentação geral do diafragma urogenital, fechamento do introito vaginal, pela excitação sexual e por permitir a continência, entretanto, é uma das áreas de maior stress do corpo devido a disfunções lombo sacras e alterações fisiológicas do sistema urinário, ginecológico e digestivo (Stephenson e Connor, 2004; Wetzel, 2012).

Consequentemente o triângulo anal segundo Moreno (2009) é composto pela porção mais posterior do períneo, tendo como estrutura central o canal anal, que em seu término é circundado pelo músculo esfíncter externo do ânus. Originando-se no corpo do períneo e inserindo-se a derme ao redor do ânus, sendo responsável pela continência fecal (Figura 3).

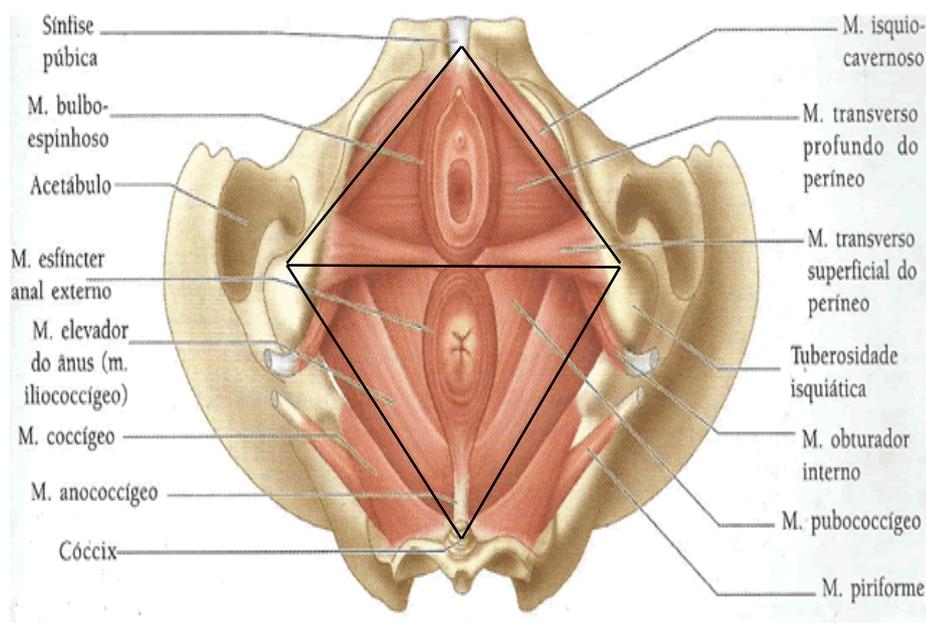


Figura 3 – Músculos do Diafragma Pélvico e Urogenital (Henscher, 2007).

2.2 Hormônio feminino

Os hormônios são responsáveis por manter a constância da composição do meio interno do organismo e a integridade da funcionalidade dos sistemas, nesse contexto, os hormônios femininos mediam o desenvolvimento e o comportamento sexual, além de promover outras funções referentes a reprodução como também a não reprodução.

Hormônios são substâncias químicas produzidas pelo próprio organismo, através de glândulas, neurônios ou órgãos, atuando dentro das células para que possa permitir o transporte de informações entre elas, como também para que possa regular determinadas funções corporais. Os hormônios sexuais femininos importantes para a saúde da mulher são o estrogênio, a progesterona e a testosterona, sendo estes sintetizados pelos ovários (Oliveira *et al.*, 2016).

O estrogênio é o principal hormônio feminino, cuja ação está relacionada ao controle da ovulação e ao desenvolvimento das características femininas, entre elas: o crescimento e o desenvolvimento de células epiteliais vaginais para compor a sua espessura e tolerar um ambiente úmido, flexível e elástico; revestimento do endométrio; aumento da libido e a massa muscular da região íntima. Este hormônio

também produz outros efeitos importantes no organismo, contribuindo para o sistema cardiovascular e para a composição óssea (Silva, 2012; Oliveira *et al.*, 2016).

Em mulheres não grávidas, o estrogênio produzido pelos ovários pode ser encontrado por meio de três tipos: Estroma (E1), 17 Beta-estradiol (E2) e o Estriol (E3). Sabe-se que o principal estrogênio circulante durante os anos reprodutivos se refere ao E2 (Yakabe, 2004). É considerado o hormônio dominante no ciclo reprodutivo feminino, onde sua maior concentração encontra-se durante a fase proliferativa. Sua atuação ocorre particularmente no endométrio, na qual desencadeia uma proliferação do estroma endometrial e um aumento do desenvolvimento das glândulas endometriais, para assim preparar o tecido para a ação do hormônio da progesterona (Silva *et al.*, 2016).

Com o decorrer da idade, várias mudanças fisiológicas ocorrem, dentre eles a redução dos níveis de estrogênio produzidos pelo próprio organismo, no qual, sua deficiência implica na etiologia de sinais e sintomas do trato urogenital (Smith e Wein, 2008). Accorsi e colaboradores (2006) ressaltam ainda que em longo prazo, as manifestações tardias decorrentes do hipoestrogenismo, determinam as alterações na pele e nos órgãos urogenitais, bem como o aparecimento de doenças cardiovasculares e osteoporose.

Em relação às alterações dos órgãos urogenitais devido ao hipoestrogenismo, o enfraquecimento do assoalho pélvico é responsável por afetar a qualidade de vida da mulher, por ocasionar diminuição de força e massa muscular, decorrente de uma diminuição na irrigação tecidual local como também diminuição da pressão uretral, favorecendo ao desenvolvimento de patologias. Essa deficiência encontra-se comumente associada ao processo natural de envelhecimento, propiciando sintomas ainda mais desagradáveis que acaba implicando na piora da qualidade de vida da mulher (Accorsi *et al.*, 2006).

2.3 Pós-Menopausa

A deficiência de estrogênio altera a fisiologia dos órgãos que são comumente estimulados por ele, levando ao surgimento de sinais e sintomas decorrentes da fase de climatério, promovendo assim distúrbios que alteram acentuadamente o estado de saúde da mulher. Com isso, a menopausa é considerada uma alteração fisiológica que ocorre no organismo feminino, caracterizada por uma redução intensa dos

hormônios sexuais femininos, principalmente do estrogênio decorrente da diminuição progressiva dos folículos ovarianos, no qual posteriormente leva a sua atrofia (Accorsi *et al.*, 2006; Oliveira, 2008; Botelho *et al.*, 2015). Yakabe (2004) complementa ainda que a menopausa pode ser caracterizada pelo baixo nível de estradiol no soro, sendo este considerado inferior a 100pmol/L, em contrapartida, eventualmente ocorre um aumento no nível do hormônio luteinizante (LH).

Após fase da menopausa constitui-se a pós-menopausa, caracterizada por meio de duas etapas, onde a primeira etapa é definida como os primeiros cinco anos após o último período menstrual, proporcionado pelo declínio e flutuações intermitentes dos hormônios ovarianos. A segunda etapa decorre após passado os últimos cinco anos do último período menstrual, permanecendo até o final da vida da mulher (Silva, 2012).

Estima-se que de 75 a 85% das mulheres experimentam alguns ou todos os sintomas da menopausa, onde aproximadamente 10 a 30% dessas mulheres continuarão a sentir os sintomas na pós-menopausa, o que acaba representando uma parcela significativa na população. Entretanto, a existência dos sintomas está associada a pontos específicos ao longo do tempo com as alterações decorrentes da transição da menopausa (Silva, 2012).

A principal forma do hormônio estrogênio circulante em mulheres na pós-menopausa refere-se ao estroma, na qual é sintetizada através da conversão periférica da androstenediona (Silva, 2012). Sendo o principal estrogênio circulante o E1, excedendo o E2 cerca de quatro vezes a mais, sendo este ainda derivado da conversão periférica da androstenediona através da enzima aromatase extra glandular (Yakabe, 2004). O hipoestrogenismo acarreta, em geral, atrofia das estruturas responsáveis pela estática pélvica, decorrente da frouxidão e menor elasticidade no aparelho de suspensão e de sustentação (Accorsi *et al.*, 2006).

Com isso, outras alterações urogenitais decorrentes da diminuição do estrogênio no organismo geram uma diminuição das secreções vaginais, uma modificação da flora vaginal e o aumento do pH, favorece a uma maior sensibilidade das terminações nervosas, o ressecamento vaginal progressivo e entre outros (Corleta e Kalil, 2010; Oliveira *et al.*, 2010). Com a redução da massa muscular e o aumento da concentração de colágeno e suas ligações cruzadas no local, observa-se o aparecimento de várias patologias, dentre elas o prolapso genital, a incontinência urinária, a atrofia vaginal, dentre outros (Botelho *et al.*, 2015).

2.4 Desordens do Pavimento Pélvico

A deficiência estrogênica na pós-menopausa acarreta em modificações significativas no pavimento pélvico, sendo consideradas as mais importantes a atrofia do sistema geniturinário e a instabilidades vasomotoras. O hipoestrogenismo é um fator determinante em sintomas psicológicos, nos quais a insatisfação sexual encontra-se comumente associada com os outros sintomas descritos (Yakabe, 2004).

O tecido vaginal, como os tecidos da uretra e os da base da bexiga são considerados como estrogênio-sensível, onde diversos sintomas podem ser encontrados em ambos tecidos. Os sintomas vaginais incluem o ressecamento, dispareunia possibilitando a infecções vaginais recorrentes, podendo ainda ocorrer eventuais sangramentos. Entre os sintomas urinários estão relacionados a disúria, infecção no trato urinário e a incontinência urinária decorrente do aumento da resistência periuretral, do aumento da sensibilidade dos receptores alfa-adrenérgicos no músculo liso e do relaxamento dos receptores adrenérgicos do músculo detrusor (Yakabe, 2004; Lage, 2013).

2.4.1. Atrofia vaginal

Na pós-menopausa há redução nos níveis hormonais, o que leva a inúmeras manifestações clínicas tanto genitais como extragenitais (Corleta e Kalil, 2010). Na atrofia vaginal constitui-se uma condição crônica, ocasionada frequentemente neste tipo de mulheres.

A atrofia vaginal é considerada um sintoma que aparece em médio prazo mais frequente, levando a alterações que modifica o epitélio vaginal, atrofiando as glândulas endocervicais, causando a proeminência dos pequenos lábios, estreitando o seu canal e diminuindo o calibre dos orifícios externos. Proporcionando assim disfunções vesicais, sexuais e o aumento do risco de infecções secundárias (Silva, 2015).

O esfregaço vaginal com tal sintoma mostra frequentemente sinais de menor maturação celular, ou seja, ocorre um aumento da participação proporcional das células basais e uma redução das células intermediárias e as células superficiais do epitélio (Pompei, Fernandes e Melo, 2010).

Ao contrário das ondas de calor que são temporárias e desaparecem mesmo na ausência de tratamento, os problemas associados à atrofia urogenital aumentam com a idade e não regridem espontaneamente, levando a essas mulheres um tempo de sofrimento prolongado e silencioso, afetando ainda o humor e a autoestima (Fernandes, 2013).

Segundo a Sociedade Americana de Menopausa, os sintomas relacionados à atrofia urogenital afetam aproximadamente 40% das mulheres, porém, apenas 25% das mulheres sintomáticas recebem tratamento medicamentoso. Contudo, as mulheres que precisam de tratamento quanto à melhora dos sintomas, mostra-se a eficácia da terapia hormonal, podendo ser administrada via oral e via vaginal (Faro e Russo, 2017).

2.5 Terapia Hormonal

A terapia hormonal tem sido descrita desde o início dos anos de 1960 através do reconhecimento da perda de estrogênio na menopausa, tem como finalidade combater os sintomas indesejáveis da menopausa (Silva, 2012). O tratamento proposto inicial se referia a reposição de estrogênio, podendo ainda ser sob forma isolada ou conjugada a outros hormônios (Oliveira, 2008).

A terapêutica com hormônios é indicada no alívio daqueles sintomas indesejáveis, onde gerará diminuição dos sintomas vasomotores, conservação do trofismo urogenital, preservação da massa óssea e do colágeno, melhorando assim o bem-estar e a sexualidade feminina (Clapauch *et al.*, 2005). Entretanto, existe contraindicação para pacientes nos quais foram diagnosticados com: neoplasias dependentes de estrogênio ou em pacientes que apresentam alto risco em desenvolvê-los (Oliveira, 2008).

Sendo assim, as terapias convencionais com a utilização dos hormônios sob forma exógena, possui variadas formas para sua utilização, incluindo comprimidos, pomadas, lubrificantes, hidratantes e adesivos (Faro e Russo, 2017). Vale ressaltar que a dosagem hormonal pode variar de acordo a associação com outros hormônios, ou a própria manipulação do princípio ativo, como no caso do promestrieno, levando-se em consideração ainda o ajuste de acordo com as necessidades e individualidade de cada mulher (Rosa-Silva e Melo, 2010).

2.5.1 Promestrieno

Os hormônios sexuais femininos importantes são o estrogênio, a progesterona e a testosterona, sendo estes sintetizados nos ovários (Fernandes, 2013). Os hormônios femininos podem ser utilizados sob forma transdérmica através de adesivos ou sobre forma tópica através de aplicações direta por meio de pomadas ou géis (Faro e Russo, 2017). O uso da terapia tópica intravaginal é a forma mais comum de sua aplicação, além de ser considerada a melhor via para sua utilização por justamente o canal vaginal ser altamente vascularizado, significando em uma ótima via de absorção sem degradação imediata do hormônio, favorecendo a uma redução dos sintomas (Fernandes, 2013).

O promestrieno apresenta-se como um princípio ativo análogo do estradiol, tendo como fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_2$ e estrutura química correspondente na Figura 4. Hormônio esse é proveniente do estrogênio sintético, onde sua absorção é mínima (inferior a 1%) na fase inicial de tratamento devido ao fato da mucosa vaginal atrófica ser fina e apresentar microfissuras, contudo, com tratamento continuado a absorção diminui (Lage, 2013).

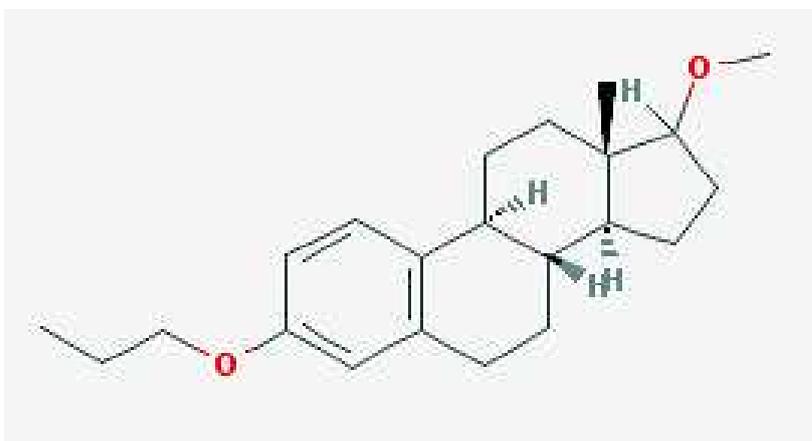


Figura 4 – Estrutura química do promestrieno (Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Promestriene#section=Top>, 2017).

O promestrieno é fracamente absorvido através da vagina, não afetando os níveis hormonais sistêmicos, no qual, evita a estimulação de órgãos estrogênicos dependentes, como é o caso do endométrio e da mama (Anvisa, 2015). A baixa atividade metabólica na parede vaginal permite o uso de hormônios naturais, em vez dos sintéticos, sendo este fato clinicamente relevante por evitar potenciais efeitos adversos dos esteróides sintéticos (Lage, 2013).

O tempo médio para ação terapêutica do promestrieno no organismo, ocorre em torno de sete dias, e a sua vida biológica é de 24 horas, sem possuir efeitos acumulativos para que seu mecanismo de ação seja eficaz, restaurando o trofismo da mucosa do trato genital (Lage, 2013; Anvisa, 2015).

Atualmente as utilizações de fármacos associados com biomateriais vêm se mostrando de bastante eficácia, tanto no modo de utilização como no controle para sua liberação, no qual promove certo conforto e conseqüentemente uma melhor qualidade de vida.

2.6 Biomateriais

A utilização dos biomateriais não é recente e sua aplicação na correção dos mais diversos tipos de problemas relacionados à saúde humana remonta à antiguidade. São definidos como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos, podendo ser constituídos de compostos de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos quanto de géis, pastas ou mesmo líquidos (Ratner, 2013 Pires, Bierhalz e Moraes, 2015).

O campo da ciência dos biomateriais abrange quatro classes principais do ponto de vista da Engenharia de Materiais: poliméricos, cerâmicos, metálicos e compósitos. Estes materiais são amplamente utilizados na ginecologia, obstetrícia, odontologia, oftalmologia, ortopedia, ou seja, em diversas aplicações médicas e biológicas. Além das considerações acerca das classes dos materiais, um fator considerado primordial na utilização ou combinação desses, para que possam atuar em sistemas *in vivo* de forma eficiente e/ou reparadora em determinada perda ou patologia, é a biocompatibilidade (Ratner *et al.*, 2005; Oréfice, Pereira e Mansur, 2012).

A biocompatibilidade é definida como a capacidade de um material apresentar resposta apropriada, quando aplicado, não causando reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade. Ela gira em torno da interação celular com o biomaterial. Além da biocompatibilidade, a biodegradabilidade e a bioabsorção, são outras características importantes na utilização dos mesmos (Santos Júnior e Wada, 2007; Attaf, 2011).

Sabendo disso, os biomateriais poliméricos estão dentre os mais empregados no âmbito médico. Dentre suas principais características apresentam-se as propriedades físico-químicas, sua versatilidade estrutural, que permite adequá-los a cada aplicação específica, geralmente baixo custo de fabricação de dispositivos, a diversidade de polímeros sintéticos e naturais e a relativa facilidade de obtenção. Além de serem funcionalmente ativos, ou seja, cumprirem com sucesso suas funções dentro do corpo (Ratner *et al.*, 2005; Jalili *et al.*, 2009). Para adequar a aplicação a que se destina podemos obter compósitos de polímeros que alia suas diferentes propriedades (mecânicas, térmicas e viscoelásticas) para obter o melhor resultado pretendido nas diversas aplicações (Andrade, Oliveira e Cunha, 2009).

Para tanto, a utilização de biomateriais à base de quitosana e gelatina são uma realidade na área da saúde, e sua aplicação vem sendo estudada em vários campos, desde a indústria farmacêutica, até a engenharia tecidual. Tendo em vista que esses polímeros naturais possuem grupos funcionais (como grupamentos amino, grupos carboxílicos e hidroxilas) disponíveis para modificações químicas (hidrólise, oxidação, redução, esterificação, ligações cruzadas, etc.) e enzimáticas e que também interagem com outras moléculas, através destes pode-se obter uma vasta variedade de produtos com propriedades adaptáveis (Gomes *et al.*, 2013; Spin-Neto *et al.*, 2008).

2.7.1 Quitosana

A quitosana é um biopolímero, pertencente à família dos polissacarídeos e é comumente encontrada no exoesqueleto de crustáceos. Esta se apresenta como um copolímero com unidades aleatórias ou blocos distribuídos ao longo da cadeia de biopolímero de N-acetilglucosamina e N-glucosamina. A porcentagem das unidades N – glucosamina é definida como grau de desacetilação (GD) da quitosana (Jiang *et al.*, 2014).

A quitosana é derivada da desacetilação parcial da quitina. A quitina é o segundo polímero natural mais abundante, perdendo apenas para a celulose. A mesma é biodegradável, atóxica e encontrada no exoesqueleto de artrópodes e nas paredes celulares de alguns fungos e bactérias. É usualmente obtida do descarte de processamento de alimentos provenientes do mar, principalmente das cascas de caranguejos, camarões e lagostas, a fórmula química da quitina e quitosana está ilustrada na Figura 5 (Jiang *et al.*, 2014; Jayakumar, 2017).

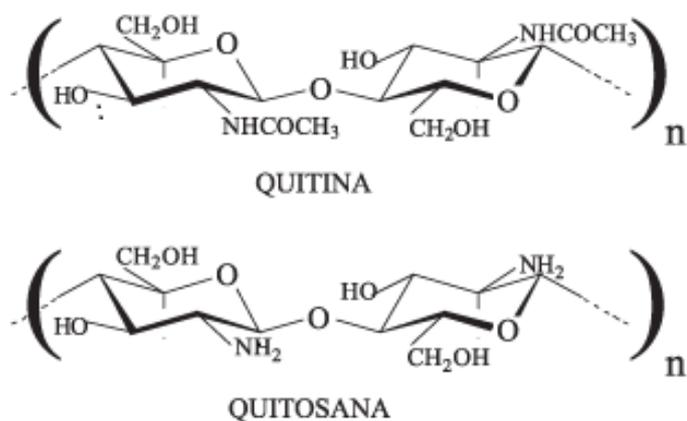


Figura 5 – Estrutura química da quitosana (Adaptado Battisti e Campana-Filho, 2008).

De forma geral, a quitosana oferece amplas possibilidades para engenharia de tecidos (Hu *et al.*, 2013). Matrizes para cultura celular podem ser desenvolvidas na forma de géis, esponjas, fibras, arcabouços porosos com incorporação de cerâmicas ou outros materiais poliméricos, tais como, colágeno ou gelatina, no intuito de ajustar propriedades químicas e comportamento mecânico de acordo com o tecido de aplicação (Chenite *et al.*, 2000; Risbud *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2009). Estudos prévios têm mostrado que a gelatina exibe importantes características para engenharia de tecidos tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa antigenicidade e alta resistência à tração (Rocha *et al.*, 2002).

2.7.2 Gelatina

A Gelatina é uma proteína solúvel derivada da desnaturação parcial do colágeno. O colágeno é a proteína mais difundida no corpo ocorrendo na pele, cartilagem, osso e tecido conectivo e constitui a maior parte das matrizes extracelulares nos animais. No entanto, o colágeno apresenta antigenicidade devido a sua origem animal (Lien *et al.*, 2010). Assim como o colágeno, a gelatina apresenta biocompatibilidade e osteocondutividade, como biomaterial possui vários atrativos, entre eles, a não-antigenicidade em condições fisiológicas e, além disso, é completamente reabsorvida *in vivo*. Suas propriedades de adesividade e plasticidade tornam a gelatina uma matriz adequada para compósitos (Liu *et al.*, 2006).

A gelatina é uma proteína purificada obtida por hidrólise ácida parcial (Tipo A) ou hidrólise alcalina parcial (Tipo B) do colágeno animal e pode ser constituída por uma mistura dos dois tipos. Sua estrutura química e os seus principais aminoácidos estão ilustrada na Figura 6.

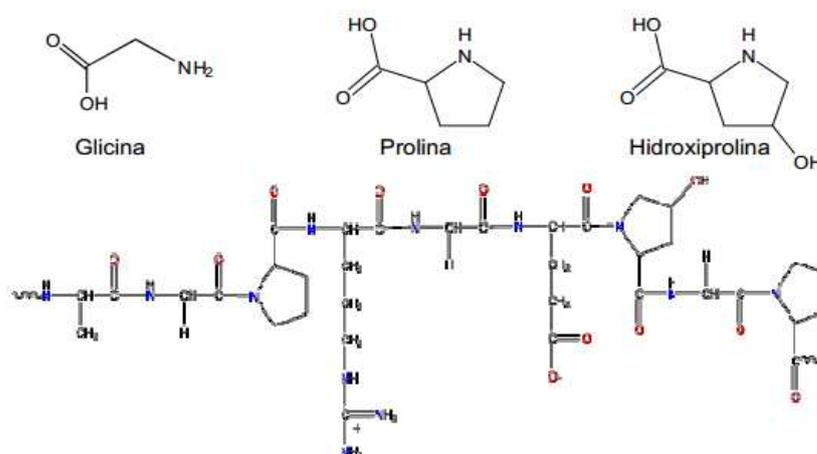


Figura 6 – Estrutura dos principais aminoácidos da gelatina (Djagny, 2001).

A gelatina é um produto heterogêneo que tem uma mistura de peptídeos derivados do colágeno. Trata-se de um biopolímero, biocompatível, biodegradável, e solúvel em pH fisiológico (próximo a 7,0) à temperatura ambiente, o que a torna ideal para aplicações farmacêuticas. Na construção de biomateriais a gelatina tem sido preferida em relação ao colágeno, por ser desnaturada, tem mais baixa antigenicidade. Além disso, a gelatina é muito mais viável economicamente que o colágeno (Lien, Li e Huang, 2008). Suportes porosos a base de gelatina estão sendo desenvolvidos para aplicações em diferentes áreas da engenharia de tecidos, dentre eles a liberação controlada de fármacos (Wu *et al.*, 2010; Peter *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2013).

2.8 Liberação Controlada de Fármacos

A concepção e o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos envolvem conhecimentos multidisciplinares que utilizam os mais recentes avanços nas ciências biológicas, farmacêuticas, químicas, físicas e das engenharias sendo vitais para o sucesso do desenvolvimento de produtos (Del Valle *et al.*, 2009).

Nos métodos convencionais de liberação, o nível de fármaco é liberado 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 (Pezzini, Silva e Ferraz, 2007; Klauss, 2010).

Já em sistemas de liberação controlada, o fármaco pode ser liberado através do dispositivo de maneira sustentada, retardada, pulsátil e prolongada oferecendo várias vantagens quando comparados a liberação convencional, permitindo que o agente terapêutico seja administrado em intervalos regulares, a fim de manter a sua concentração no plasma dentro da janela terapêutica, mantendo-se constante entre os níveis máximo e mínimo (Pezzini, Silva e Ferraz, 2007; Junior, 2007; Klauss, 2010; Bader e Putnam, 2014).

Os vários sistemas transportadores de fármacos sejam em forma de arcabouços, membranas, anéis entre outros formatos, são capazes de compartimentar a substância ativa e direcioná-la para os sítios onde deverá exercer seu efeito farmacológico, além de poder controlar a velocidade de liberação, sem alterar a estrutura química da molécula transportada (Oliveira *et al.*, 2004).

2.8.1 Anéis Poliméricos para liberação intravaginal

Os sistemas de liberação intravaginal incluem uma série de formas farmacêuticas, dentre elas, preparações aquosas, comprimidos, cápsulas, óvulos, preparações líquidas, filmes vaginais, anéis vaginais, espumas e tampões (Vermani e Garg, 2000).

Um sistema ideal de liberação intravaginal para efeito tópico é aquele que apresenta as características ilustradas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características de um sistema ideal de liberação intravaginal

CARACTERÍSTICAS	FUNÇÕES
Fácil aplicabilidade	Não interfira, diretamente, no cotidiano do paciente
Indolor ao paciente	Alta biodisponibilidade e pouca variabilidade
Não requiera nenhuma intervenção médica	Não apresente nenhuma interferência a outros medicamentos
Discreto	Distribuição uniforme por toda cavidade vaginal
Reversível	Caso ocorra algum efeito indesejado

Fonte: Adaptado de Alexander *et al.* (2004)

A utilização de formas farmacêuticas de liberação intravaginal não só minimizam a toxicidade sistêmica como também permitem a utilização de mecanismos de liberação prolongada, liberação contínua, e liberação de baixas doses diárias (Alexander *et al.*, 2004).

Intervalos mais longos entre as doses são geralmente bem recebidos pelos pacientes como uma alternativa mais conveniente para consumo diário. Os esforços para desenvolver sistemas alternativos de liberação prolongada estão em andamento e incluem injetáveis, implantes, Dispositivos Intra-Uterinos (DIU), sistema transdérmico semanal e o anel (Vanic e Skalko-Basnet, 2013).

Han e colaboradores (2007) desenvolveram anéis vaginais de liberação sustentada de hormônios contraceptivos utilizando copolímeros mucoadesivos e verificaram que após os 28 dias eles mantiveram uma concentração de liberação constante de cerca de 3 mg/ml.

Segundo Nuvaring (2017) uma das vantagens da utilização do anel para liberação de fármaco é possível inserção do dispositivo no órgão sexual feminino, que está localizado na região pélvica, além de manter relações sexuais sem nenhum incomodo.

2.9 ESTADO DA ARTE

Pompei e colaboradores (2010) realizaram uma revisão de literatura relatando os sintomas derivados da atrofia vulvovaginal. Nessa pesquisa foram incluídos 16 estudos sobre artigos médicos nas bases de dados Medline (via Pubmed), SciELO, LILACS e Biblioteca Cochrane (via Bireme) por meio dos termos “promestrieno”, “promestriene”, “promestr*” (Pubmed) e “promestr\$” (Bireme). Referências citadas em artigos, entre 1976 e 2009, que avaliaram a eficácia do promestrieno no alívio dos sintomas decorrentes da atrofia vulvovaginal, ou que investigaram seus efeitos na citologia vaginal, e também aqueles que avaliaram a absorção do promestrieno quando empregada topicamente. As evidências encontradas confirmaram a eficácia do promestrieno, utilizado localmente no tratamento das afecções atróficas genitais femininas decorrentes do hipoestrogenismo, aliada a absorção sistêmica desprezível. Dos 16 estudos realizados nesta revisão, 4 tiveram delineamento duplo-cego, randomizado, placebo-controlado. Nove foram ensaios clínicos não-controlados, sendo um deles multicêntrico. Houve ainda um ensaio clínico comparativo (não está claro se teve delineamento randomizado duplo-cego) e dois estudos de farmacocinética.

Del Pup e colaboradores (2012) avaliaram o efeito do tratamento com promestrieno vaginal nos níveis séricos de sulfato de estrona em pacientes com câncer durante um mês em escala piloto. O promestrieno vaginal foi testado em pacientes com câncer ginecológico que sofriam de secura vaginal grave e dispareunia. Esse estudo teve a participação de 17 pacientes que foram submetidas ao tratamento com um supositório vaginal suave de 10mg por dia durante um mês. Os níveis plasmáticos de sulfato de estrona (E1S), utilizados como marcadores de estrogenicidade global foram medidos por cromatografia líquida em combinação com espectrometria de massa. Com isso, foi observado que antes da terapia, o nível plasmático basal médio de E1S era de 533 pg/ml \pm 741 DP (variação de 22 a 2920). Após um mês de tratamento, o nível plasmático médio foi de 374 pg/ml \pm 255 DP (81-856). A variação não foi estatisticamente significativa (teste de Wilcoxon $p = 0,39$). Com base nos resultados, nos pacientes com câncer ginecológico altamente sintomático, o nível de sulfato de estrona circulante não foi significativamente afetado pelo tratamento total com promestrieno vaginal, mas uma

ampla gama de níveis foi observada antes e após o tratamento em pacientes individuais.

Salmon e colaboradores (2013) estudaram a absorção percutânea *ex vivo* do promestrieno no prepúcio infantil exposto à formulação comercial carregada de promestrieno como um pré-requisito para mais testes clínicos em crianças no tratamento da hipospádia, que é um defeito congênito no qual a abertura do trato urinário não está na ponta do pênis e a cirurgia de hipospádia é frequentemente complicada por deficiências de cicatrização durante 24h. Nesse caso, a absorção percutânea de promestrieno através do prepúcio foi investigada *ex vivo* a fim de avaliar sua biodisponibilidade cutânea após exposição de pele de 24 h a formulação comercial dosada a $10 \mu\text{g mg}^{-1}$. Os ensaios de promestrieno foram realizados por HPLC para os conteúdos de esteróides na solução de epiderme, derme e fluido receptor. Com isso, nenhum conteúdo de promestrieno foi detectado, no presente estudo, para dentro dos compartimentos do receptor (limite de detecção de $1,83 \mu\text{g ml}^{-1}$) e a penetração do promestrieno no prepúcio infantil foi tratado com emulsão comercial de óleo em água ($10 \mu\text{g mg}^{-1}$) durante 24 horas, apresentando propriedades de liberação controlada, permitindo concentração epidérmica mais de seis vezes maior que a concentração dérmica ($4,13 \pm 2,46 \text{ mg g}^{-1}$) versus $0,62 \pm 0,84 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente). Além disso, os fluxos de promestrieno aparente na pele e através da pele (ou seja, $1,5 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ e $<0,89 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$, respectivamente) foram calculados de (i) quantidade de droga retido na epiderme e na derme, ou (ii) o limite de detecção no fluido receptor. Com base nos ensaios realizados menos de 2% da dose inicial foi absorvida dentro de 24h, comparada a outros esteróides aplicados topicamente em sistemas coloidais. A permeação do promestrieno através do prepúcio montado em células verticais de difusão estática não foi detectada. No entanto, a penetração de esteróides na epiderme e na derme foi quantificada. Essa permeabilidade foi encontrada de acordo com estudos anteriores sobre a absorção cutânea de esteróides.

Holm e colaboradores (2014) em seus estudos avaliaram os padrões de uso da terapia hormonal (HT) além de preparações vaginais de estrogênio em mulheres com idade igual ou superior a 45 anos na Finlândia. Para preparar as sistêmicas foi adicionado adesivos de estrogênio, géis e comprimidos, tibolona, preparações de combinação contínua e preparações de combinação sequenciais. Aos estrogênios vaginais prescritos foi incluído um anel vaginal e comprimidos vaginais. As mulheres

foram classificadas como usuárias de TH se pelo menos uma das prescrições fossem dispensadas durante o curso de um único ano. As mulheres, que usaram vários tipos de preparações durante um único ano, foram classificadas como usuárias de cada classe TH. Com base nos estudos realizados os autores observaram que a prevalência total de uso de TH prescrito permaneceu relativamente constante (26-27%) durante todo o período estudado, porém a participação de mulheres em preparações sistêmicas diminuiu de 21% para 12%, por outro lado teve um aumento da porcentagem de mulheres que usaram estrogênios vaginais de 9% para 19%. Também foi observado reduções em todas as classes de preparações sistêmicas (de 4,9% para 1,6%) e comprimidos de estrogênio (de 5,2% para 2,9%). As preparações combinadas contínuas permaneceram como os tipos de preparação sistêmica mais comumente usados (5,4 a 4,2%). O uso sistêmico de TH diminuiu na maioria das mulheres entre 45 e 49 anos (9,5% a 4,3%), enquanto o uso de estrogênios vaginais aumentou mais entre os que tinham 65 anos ou mais. Dessa forma, foi verificado que, desde 2009, o estrogênio vaginal é mais comumente prescrito que o TH sistêmico.

Sun e colaboradores (2016) em seus estudos realizam um comparativo entre os efeitos da terapia pré e pós-operatória com VE para a incidência de exposição em malha em mulheres na pós-menopausa após cirurgia transvaginal reconstrutiva pélvica (SPR) com tela. Para o desenvolvimento dos experimentos foi feito um estudo randomizado de um único cirurgião de noninferiority de 186 mulheres com POP grave. Noventa e três mulheres (grupo VE) receberam 0,5 g de creme de promestrieno duas vezes por semana por via transvaginal durante 6 semanas antes da PRS com tela e 93 mulheres (grupo não VE) submeteram-se a ERP com malha 6 semanas após a inclusão sem preparação farmacológica. Foi realizada uma análise de intenção de tratar, a proporção de participantes que experimentaram exposição de malha foi de 16,1% (15 de 93) no grupo VE versus 12,9% (12 de 93) no grupo não-VE ($P = 0,024$ para não inferioridade). Tanto a exposição quanto o tempo de exposição não diferiram entre os dois grupos. Da mesma forma, não foram encontradas diferenças detectáveis no mês 12 em termos de sucesso anatômico. O resultado demonstrou que mulheres pós-menopáusicas com POP grave que foram submetidas a SPR transvaginal com malha, a terapia não VE antes da cirurgia foi não inferior à terapia VE no que diz respeito à taxa de exposição de malha dentro de 1 ano.

Pinhat (2017) avaliou os efeitos de três diferentes tipos de cremes vaginais estrogênicos comparando seus efeitos em relação ao placebo, as mudanças das queixas climatéricas sistêmicas e urogenitais, os efeitos na citologia hormonal vaginal e o impacto e segurança endometrial. Para o desenvolvimento desse estudo, foi necessário a participação de 69 pacientes que foram divididas de forma aleatória em 4 grupos e submetidas ao uso de 1g/dia de: promestrieno, estriol, estrogênio conjugado e hidratante vaginal não hormonal, utilizado como grupo controle. Todas as pacientes tiveram citologia hormonal coletada antes e após o tratamento com os cremes, além da avaliação endometrial ultrassonográfica e de queixas urogenitais e sistêmicas. A partir dos tratamentos realizados, foi constatado que todos os cremes proporcionaram melhora de queixas, local ou sistêmica, porém, o promestrieno foi o creme que apresentou melhora das queixas locais, sistêmicas e correspondência na citologia hormonal, sem espessar endométrio. Dessa forma, todos os cremes possibilitaram melhora das queixas urogenitais, no entanto, o promestrieno foi o que apresentou melhor perfil de segurança endometrial e de melhora de queixas.

Haaland e colaboradores (2017) realizam estudos para medir os níveis de hormônio contraceptivo residual presentes nos anéis vaginais como um marcador de aderência para verificar a utilização do produto em ensaios clínicos. Foram avaliados os níveis residuais de etonogestrel e etinilestradiol dos anéis da marca NuvaRings® composto por um anel flexível e transparente de acetato de poli (vinil-etileno) com 54mm de diâmetro e uma espessura de 4mm, contendo etonogestrel e EE Libertação contínua de 120 µg de etonogestrel + 15 µg de EE. Esse estudo contou com a colaboração de 26 mulheres aderentes relatadas pelo próprio, inscritos em um ensaio clínico de aceitabilidade do anel vaginal, foram comparados com o ensaio feito com 16 mulheres que usaram o NuvaRing® durante 21 dias. Foi extraído o etonogestrel residual e etinilestradiol de NuvaRings® utilizando acetado de etila, medindo a quantidade de hormônios sintéticos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. Com base nos ensaios realizados foi observado que oitenta e um (81%) ensaios clínicos apresentaram níveis hormonais contraceptivos dentro dos padrões utilizados atualmente como opção contraceptiva. Dessa forma, os níveis residuais de fármacos no anel vaginal contribuíram para a adesão em ensaios clínicos.

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

- Quitosana (NHCOCH_3) 90% desacetilada CERTBIO
- Gelatina tipo A - Sigma Aldrich®

3.2.1 Reagentes

- Ácido acético (CH_3COOH) - Vetec®
- Hidróxido de sódio (NaOH) - Vetec®
- Polietilenoglicol 400 (PEG 400) - Vetec®
- Lisozima - Sigma Aldrich®
- *Phosphate Buffered Saline* (PBS) - Sigma Aldrich®, pH = 7,4
- Promestrieno ($\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_2$) - Eurofarma

3.3- Métodos

3.3.1 Obtenção dos anéis de quitosana

A solução de quitosana foi preparada através da dissolução de 5 g de quitosana em 100 mL de ácido acético a 1% (v/v) sob agitação mecânica a temperatura ambiente por 3 horas.

Posteriormente, a solução foi colocada em moldes com formato de anel, onde em seguida foram imersas em uma solução de hidróxido de sódio 1M, para coagulação da solução de quitosana no formato de anel por 24 horas. Após essa etapa os anéis foram retirados do molde e lavados em água destilada para que houvesse a

retirada do excesso da solução coagulante. Em seguida os mesmos foram submergidos em polietilenoglicol por 24 horas, posteriormente foram lavados em água destilada, secos em temperatura ambiente e caracterizados.

3.3.2 Obtenção dos anéis de quitosana com gelatina

Os anéis de quitosana com gelatina foram preparados através da metodologia anteriormente citada, sendo acrescida na solução de quitosana 30 % (m/m) de gelatina, referente ao valor da massa da quitosana.

3.3.3 Obtenção dos anéis de quitosana com gelatina e promestrieno

Inicialmente, utilizou-se o fármaco promestrieno na proporção de 10 mg/g para 30 mL de solução de quitosana com e sem gelatina obtida através das etapas anteriores, por meio da agitação magnética até a total homogeneização das substâncias, conforme fluxograma (Figura 7).

Após o desenvolvimento dos anéis os mesmos foram codificados de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 – Codificação das amostras.

Codificação	Amostras
AC	Anel comercial
AQ	Anel de Quitosana
AQG	Anel de Quitosana e Gelatina
AQF	Anel de Quitosana e Fármaco
AQGF	Anel de Quitosana, Gelatina e Fármaco
F	Promestrieno

Fonte: Própria

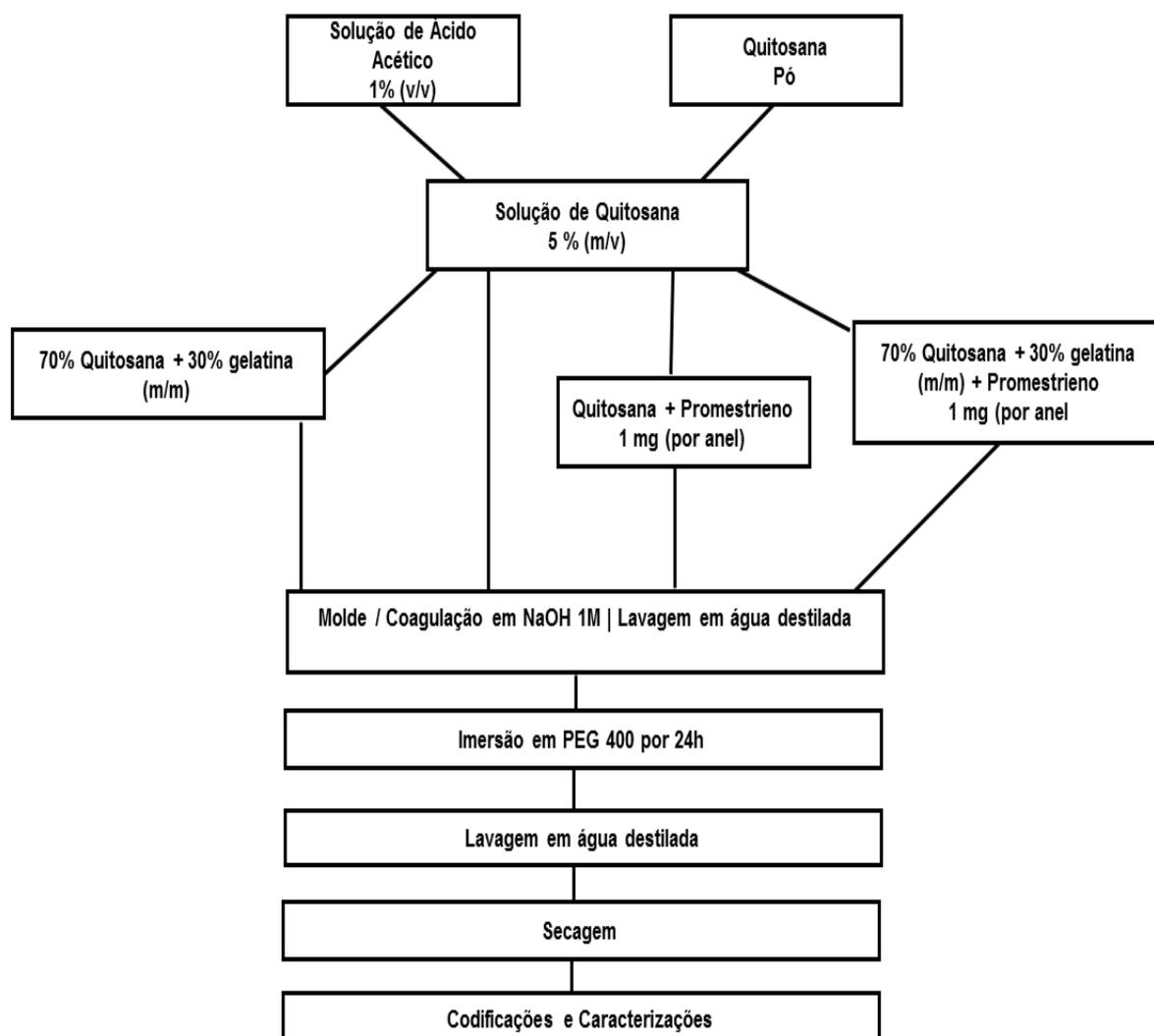


Figura 7 – Fluxograma simplificado da elaboração dos anéis de quitosana, gelatina e promestrieno (Fonte: Própria).

3.4 Caracterizações

Todas as amostras foram submetidas aos ensaios de Microscopia Óptica, Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Tração, Molhabilidade por Medida de Ângulo de Contato, Grau de Intumescimento e Biodegradação.

3.4.1 Microscopia Óptica (MO)

A técnica por MO, foi utilizada para avaliar a morfologia da superfície dos anéis, através do Microscópio Óptico Hirox de reflexão e transmissão, sendo este acoplado

a uma estação de análise para as imagens produzidas. As imagens foram obtidas através dos aumentos de 40x.

3.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise através do FTIR realizou-se no equipamento da Perkin Elmer Spectrum 400, de acordo com a norma, onde foi utilizada uma faixa de varredura na região do infravermelho médio de 4000 a 400 cm^{-1} . A técnica FTIR objetivou-se na identificação das bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras, através da utilização das faixas de varredura de 4000 a 650 cm^{-1} .

3.4.3 Resistência a Tração

O ensaio de tensão-deformação forneceu uma indicação da resistência e também da tenacidade do material em teste. Em geral, os resultados do ensaio de tensão-deformação são apresentados como tensão *versus* deformação de engenharia. A curva típica foi obtida a partir das medições de carga (F) e da alongação (ΔL). A tensão nominal ou de engenharia (σ_N) foi determinada pela divisão da carga aplicada (F) pela área da seção transversal inicial do corpo de prova (A_0). A deformação nominal ou de engenharia (ϵ) foi obtida através da leitura do extensômetro, ou seja, a divisão da variação do comprimento de referência (ΔL) pelo comprimento de referência inicial, L_0 , na qual representou a área útil do corpo de prova (Silva, 2012).

A tensão de engenharia foi definida através da força por unidade de área da amostra não deformada enquanto que a tensão verdadeira, foi através da força por unidade de área mínima da amostra sob carregamento. Como a seção transversal da amostra diminui com o aumento da carga, de acordo com a razão de Poisson, a área efetiva sob carga sempre diminui com o aumento da carga. Portanto, a tensão verdadeira (σ_V) é sempre igual ou maior que a tensão de engenharia (σ_N), podendo ser representada por $\sigma_V = \sigma_N(\epsilon_N + 1)$. Analogamente, a deformação de engenharia (ϵ_N) é dada pelo aumento do comprimento em relação ao comprimento inicial da amostra enquanto que a deformação verdadeira (ϵ_V) é a variação instantânea da deformação em um instante qualquer em relação ao comprimento inicial, e pode ser

dada pelo logaritmo natural da razão do comprimento total pelo inicial da amostra, podendo ser expressa por $\epsilon V = \ln(\epsilon N + 1)$ (Lotti, 2004).

Os ensaios de tração foram realizados por meio de uma máquina chamada de Máquina Universal Instron, modelo 3366 e, teve como base as normas ASTM D638 e ASTM D638.

3.4.4 Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato

A técnica consiste na medida do ângulo de contato da superfície da amostra na análise do formato da gota. O ângulo de molhabilidade entre a água com tensão superficial conhecida e a superfície sólida depende da relação entre as forças coesivas e adesivas da água com os filmes obtidos, de modo que as gotas se espalhem sobre a superfície.

As análises de ângulo de contato foram efetuadas no goniômetro (Figura 5), após o gotejamento de água destilada sobre a superfície dos corpos de prova. Onde se utilizou uma câmera digital para capturar a imagem. Posteriormente essas imagens foram remetidas a um computador que possui um programa específico para ser feita a medida do ângulo. Foram realizadas três gotas sobre diferentes áreas para cada amostra e feito cinco medidas de cada gota para obtenção da média.



Figura 8 – Aparelho goniômetro.

3.4.5 Grau de Intumescimento

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar o intumescimento das amostras obtidas. As mesmas inicialmente foram pesadas e mantidas em solução de soro fisiológico por 24 horas. Em seguida, foram retiradas da solução e colocadas sobre papel filtro para retirada do excesso da solução e pesadas em balança digital. O intumescimento de cada amostra será calculado no tempo t , de acordo com a Equação 1.

Todas as amostras foram medidas tanto antes como após o intumescimento para verificar o quanto o biomaterial aumentou de tamanho.

$$GI = \frac{WT - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

Wt: é o peso da amostra no tempo t

W₀: é o peso inicial da amostra.

3.4.6 Biodegradação

O ensaio de biodegradação foi realizado para observar a degradação dos anéis durante os períodos de 7, 14 e 21 dias.

Este ensaio teve como base a norma ASTM F1635-11 Standard test Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants (2011).

As amostras obtidas foram pesadas em balança digital tanto antes como após a submissão do ensaio de biodegradação, para verificar a perda de massa das mesmas. Em seguida, as mesmas foram divididas em dois grupos, um contendo a solução de PBS sob concentração de 1mg/mL e tendo como controle pH próximo de 7, o outro grupo continha a solução de PBS com Lisozima. Já o pH da solução foi verificado tanto no início como no término do ensaio, para avaliação das possíveis variações do mesmo.

Cinco amostras foram feitas para cada tipo de anel, tanto para a solução de PBS quanto para solução com lisozima. O material foi em seguida incubado na estufa microbiológica, sob à temperatura de 37 °C, onde foram retiradas após 7, 14 e 21 dias,

seguido de um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24 horas em estufa a 50 °C e pesadas em balança analítica. Os resultados da biodegradação foram obtidos a partir da razão entre peso final (Mf) pelo peso inicial (Mi), como apresentando na Equação 2.

$$MR = \frac{Mf}{Mi}$$

Equação 2

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Microscopia Ótica

Na Figura 9 estão ilustradas as imagens de MO de todas as amostras. As mesmas apresentaram-se lisas e sem poros, caracterizadas como densas.

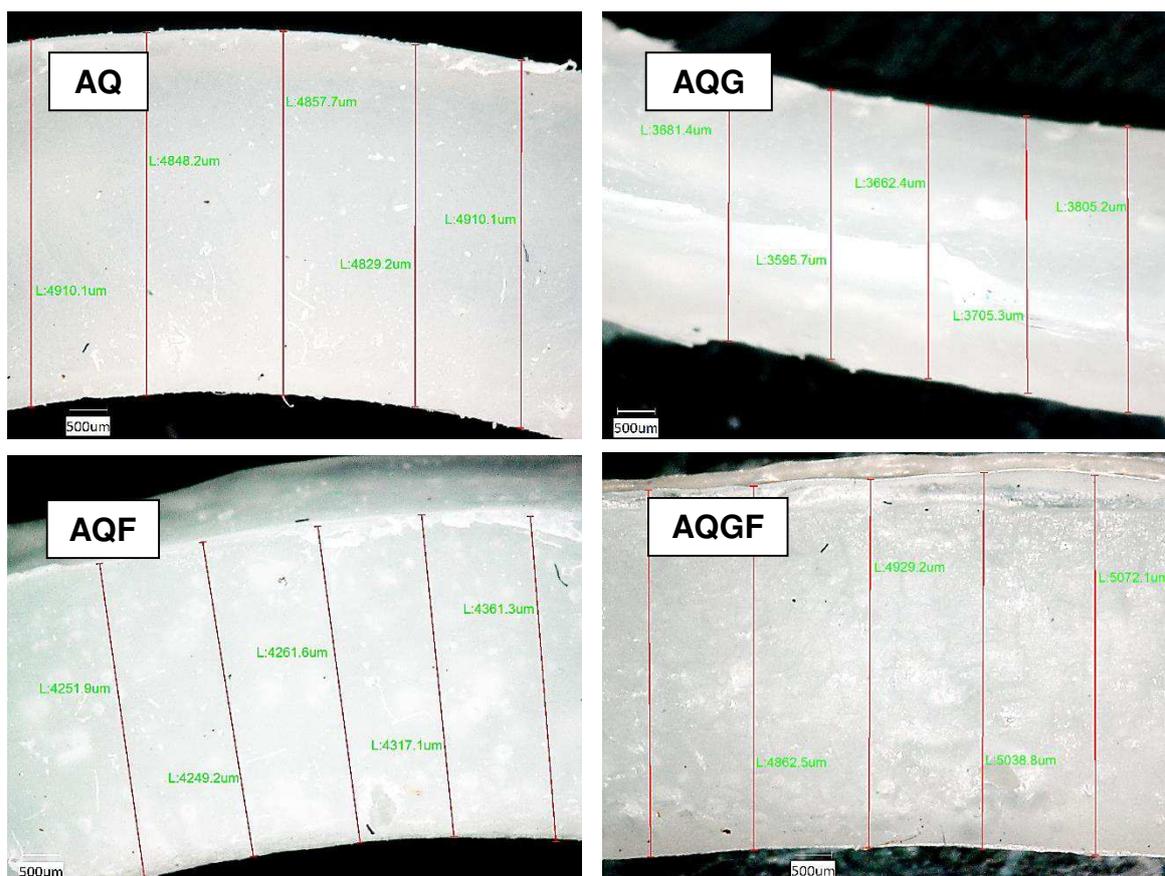


Figura 9 – Imagens de Microscopia Ótica de todas as amostras com magnificação de 40X.

Lucena (2017) na produção de tubos de quitosana utilizou técnicas de processamentos semelhantes às desse trabalho e conseguiu resultados semelhantes na microscopia ótica das amostras, caracterizando suas amostras como densas. Além disso, o mesmo conseguiu obter tubos com espessura homogênea pela técnica de *dip-coating* adaptada.

A partir das imagens obtidas, pode-se observar as medidas da espessura dos anéis analisados, onde foi possível constatar que comparativamente as amostras não apresentaram diferenças relevantes quanto à homogeneidade da espessura do anel.

Entretanto quando comparadas com a amostra AC (Figura 10) em relação à superfície, as mesmas apresentam-se ser mais irregulares.

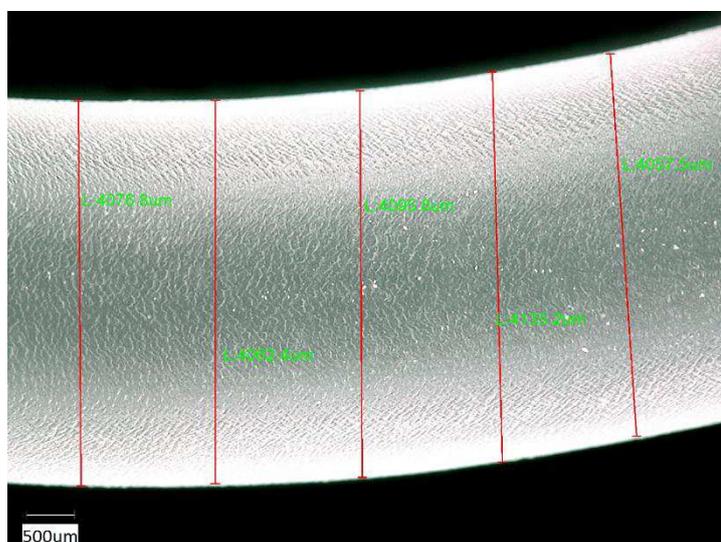


Figura 10 – Imagens de Microscopia Ótica da amostra AC com magnificação de 40X.

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

A técnica de FTIR é proposta como uma maneira possível para avaliar se ocorreu a interação entre os grupos funcionais das moléculas que compõem essa pesquisa.

Analisando o espectro de infravermelho da quitosana verificou-se que ele está de acordo com Barbosa (2011) e Ponciano (2010), (Tabela 3) pois o espectro apresentou todas as absorções relativas a quitosana podendo ainda afirmar que a mesma não é 100% desacetilada, pois possui uma banda característica da amida ($O = C - NHR$), como pode ser visualizado na Figura 11.

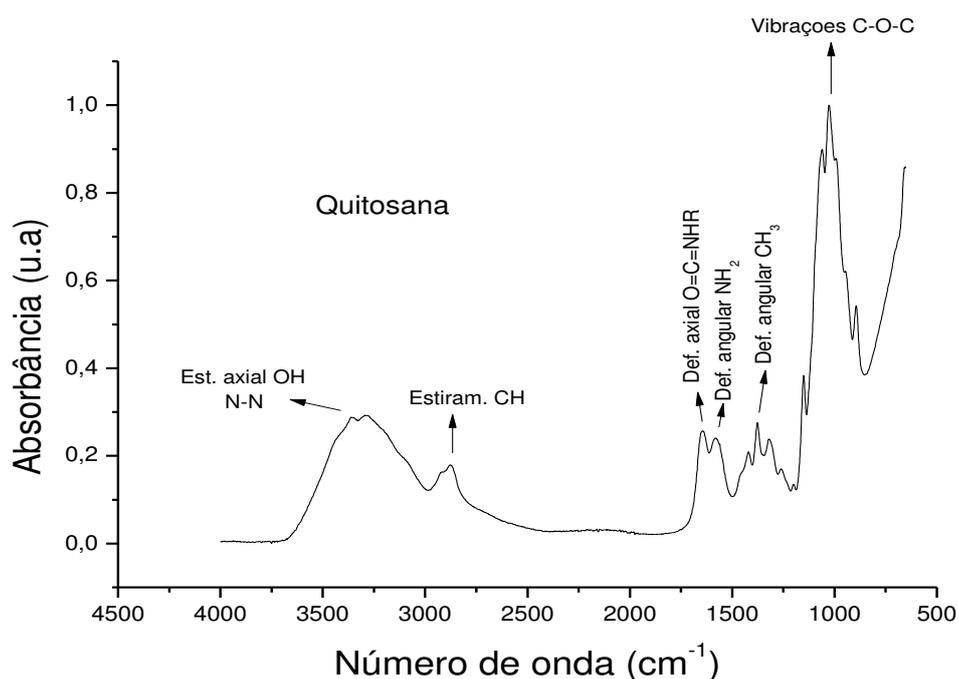


Figura 11 – Espectro de FTIR da Quitosana em Pó.

Tabela 3 – Bandas de absorção do pó de quitosana.

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH₂
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH₂ e CH₃
1652	Deformação axial de RHN-C= O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH₂ (amina)
1423 e 1319	Deformação angular de O-H e deformação angular de C-H do anel glicosídico
1377	Deformação angular do C-H de CH₃
1150,1062 e 1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: Ponciano, 2010.

A Figura 12 ilustra o espectro referente a amostra de gelatina, onde pode-se observar na banda 3278 – 2926 cm⁻¹ os picos referentes ao estiramento O-H e a vibração no plano C-N do grupamento amida da molécula. O pico referente ao ponto 1632 cm⁻¹ corresponde a vibração C=O da amida I. No pico 1532 cm⁻¹, 1448 cm⁻¹, 1334 cm⁻¹ e 1234 cm⁻¹, apresentam-se respectivamente vibrações da amida II, vibrações dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina, deformação C-N amina

e as vibrações da amida III. O pico 1082 cm^{-1} corresponde a deformação axial C-N (Bet, Goissis e 2001; Silvestrin e Alencastro, 2007).

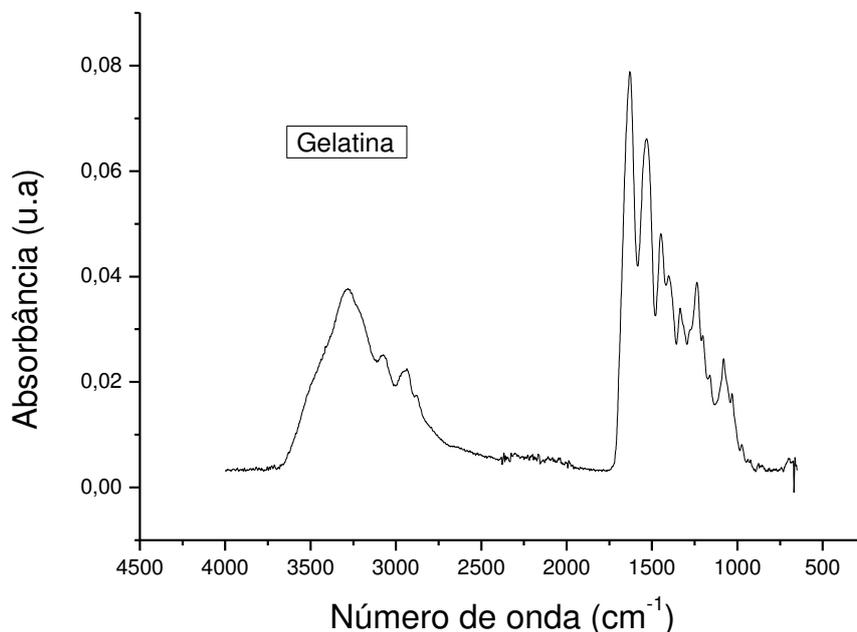


Figura 12 – Espectro de FTIR da Gelatina.

Ficai e colaboradores (2010) observaram resultados semelhantes ao encontrado nesta dissertação onde as bandas em 2920 cm^{-1} (menor intensidade) e 2867 cm^{-1} (maior intensidade) as quais são atribuídas às vibrações de estiramento do grupo $-\text{CH}_2$ (assimétrico) e $-\text{CH}_3$ (simétrico), respectivamente. As bandas em 1633, 1544 e 1447 cm^{-1} são características da amida I ($-\text{C}=\text{O}$), amida II (NH) e amida III ($-\text{CN}$ e $-\text{NH}$) similares ao espectro da molécula de colágeno.

Fook (2012) observou que na região em 1334 cm^{-1} apresenta uma banda característica ao grupo COO^- de aminoácidos da estrutura da gelatina e que a banda de absorção na região de 1038 cm^{-1} corresponde a vibrações de estiramento das ligações glicosídicas (C-O-C).

A Figura 13 ilustra os espectros obtidos para as amostras AQ e AQQ. Observam-se nos espectros as vibrações características da quitosana, onde na região 3400 cm^{-1} e 2874 cm^{-1} evidencia-se vibrações do tipo deformação axiais referentes aos grupos O-H resultante da associação polimérica da quitosana e C-H de carbonos alifáticos. Em 1648 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} nota-se vibrações do tipo deformação axial de $\text{C}=\text{O}$ de amidas associadas e deformação angular de CH_2 . Na região de 1370 cm^{-1} deformação

angular de CH_3 e em 1240 cm^{-1} deformação angular de C-N de alifáticos. Na banda 1090 cm^{-1} deformação axial do grupo C-O em 940 cm^{-1} deformação angular fora do plano da C=O de ácidos carboxílicos. Um dado a ser observado é a alta intensidade da banda referente a ligação C-H de carbonos alifáticos, a qual pode estar associada a imersão da amostra em PEG 400 nas etapas finais de processamento.

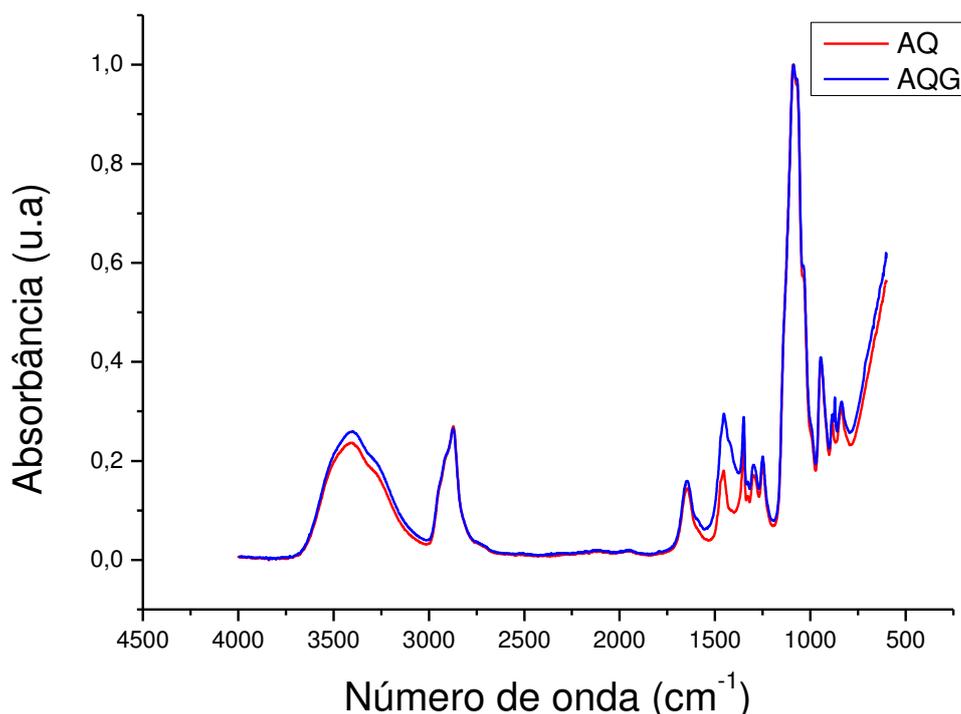


Figura 13 – FTIR das amostras AQ e AQG.

Oliveira (2013) encontrou resultados semelhantes para o espectro de membranas de quitosana com bandas de absorção em 1080 cm^{-1} referente ao estiramento C-O característica dos anéis piranosídicos de quitosana; 1380 cm^{-1} deformações angulares de C-H; 1556 cm^{-1} relacionada a deformação angular N-H (amida II); 1652 cm^{-1} correspondente ao grupo C=O da amida I; 3370 cm^{-1} região associada ao N-H, a ligação hidrogênio e ao estiramento O-H.

Diante dos espectros sobrepostos da amostra AQ e AQG (Figura 13), foi possível identificar a intensificação das bandas 3400 cm^{-1} referente a deformação axial do grupo O-H associado, 1450 cm^{-1} da deformação axial de C=O de amidas associadas e 1370 cm^{-1} referente a deformação angular de CH_3 . Essa intensificação ocorre devido a incorporação de gelatina nas amostras.

Denari (2014) observou a ocorrência de deslocamento da banda 3396 cm^{-1} para 3437 cm^{-1} após a incorporação de gelatina em membranas de quitosana, esse deslocamento segundo o mesmo, ocorre devido as interações hidrogênio no grupo N-H nessa vibração.

Segundo Braga (2013) o aumento na intensidade da banda 1450 cm^{-1} pode indicar as ligações do tipo interações eletrostática entre gelatina e quitosana.

O espectro da Figura 14 é referente às vibrações características do fármaco (Promestrieno). Na banda de $2914 - 2850\text{ cm}^{-1}$ evidencia-se vibrações do tipo deformação axial de C-H de alifáticos. Em 1740 cm^{-1} verifica-se vibrações do tipo deformação axial do grupo C=O de aldeídos e na região 1470 cm^{-1} e 1370 cm^{-1} deformação angular dos grupos CH_2 e CH_3 . Em 1020 cm^{-1} verifica-se vibrações do tipo deformação angular do grupo éteres aromáticos e, na banda 720 cm^{-1} nota-se vibrações do tipo deformação angular de cadeia de $-(\text{CH}_2)_n-$.

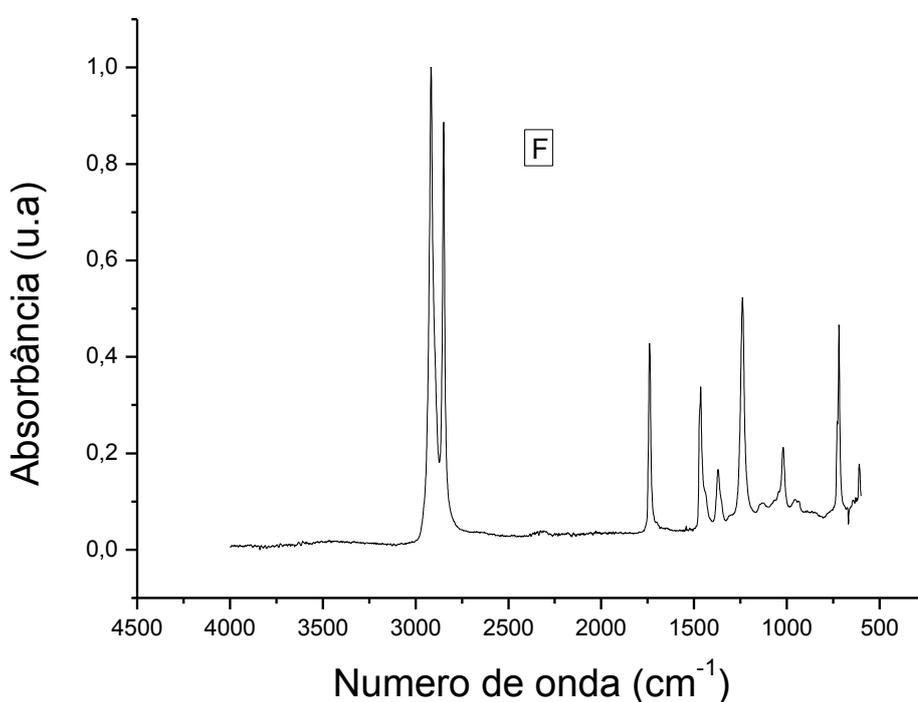


Figura 14 – FTIR da amostra F.

De acordo com Borah e Devi (2018) ao analisar o espectro no infravermelho do estradiol, o mesmo observou vibrações de estiramento da cadeia lateral C-H nas

bandas 2919 cm^{-1} e 2873 cm^{-1} , esses resultados corroborando os achados nessa pesquisa, tendo em vista que o promestrieno trata-se de um análogo do estradiol.

Os resultados comparativos entre as amostras AQ e AQF (Figura 15) revelam que a introdução do fármaco na matriz intensificou as bandas 1450 cm^{-1} e 1370 cm^{-1} referente a deformação angular de CH_2 e da deformação angular de CH_3 . Nota-se também um aparecimento de uma nova banda em 1740 cm^{-1} , referente a deformação axial do grupo $\text{C}=\text{O}$ de aldeídos presentes no fármaco.

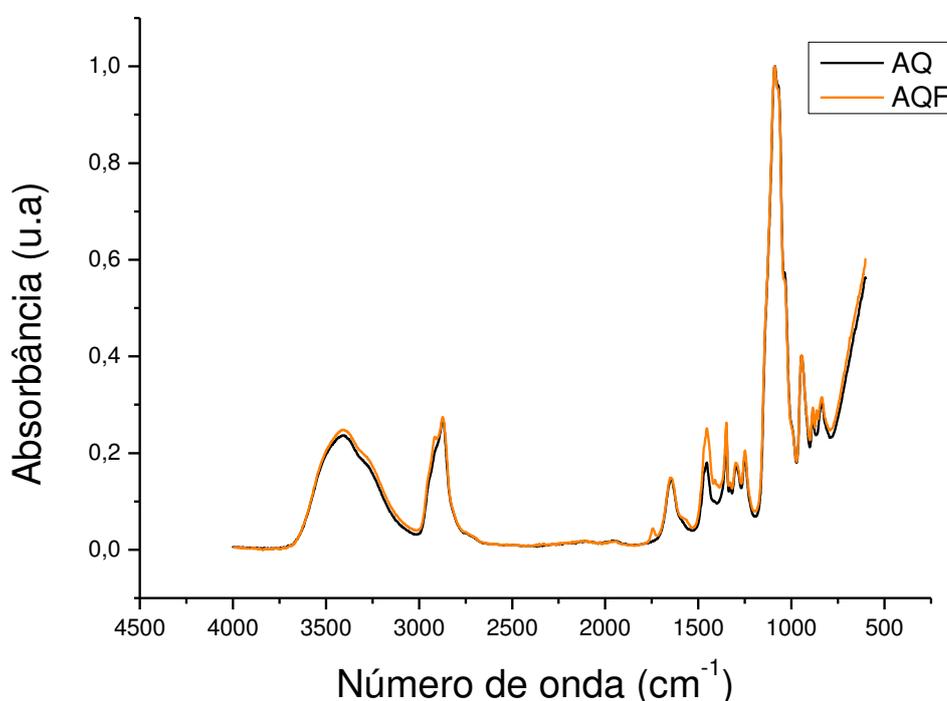


Figura 15 – FTIR da amostra AQ e AQF.

A Figura 16 ilustra o espectro da amostra AQGF, onde se verifica que após a incorporação do fármaco na blenda houve uma intensificação das bandas em 3400 cm^{-1} referente a deformação axial dos grupos O-H associado, 1648 cm^{-1} referente a deformação axial de $\text{C}=\text{O}$ de amidas associadas e em 1370 cm^{-1} referente a deformação angular de CH_3 . Observa-se também o aparecimento de uma nova banda de baixa intensidade em 1740 cm^{-1} , referente a deformação axial do grupo $\text{C}=\text{O}$ de aldeídos. Além disso, evidenciou-se a redução das bandas 1450 cm^{-1} referente à deformação angular de CH_2 e em 1090 cm^{-1} referente à deformação axial do grupo $\text{C}-\text{O}$. Também foi possível identificar a bifurcação da banda em 2874 cm^{-1} com o

aparecimento de duas bandas, uma em 2914 cm^{-1} e a outra em 2850 cm^{-1} referentes a deformação axial de C-H de alifáticos.

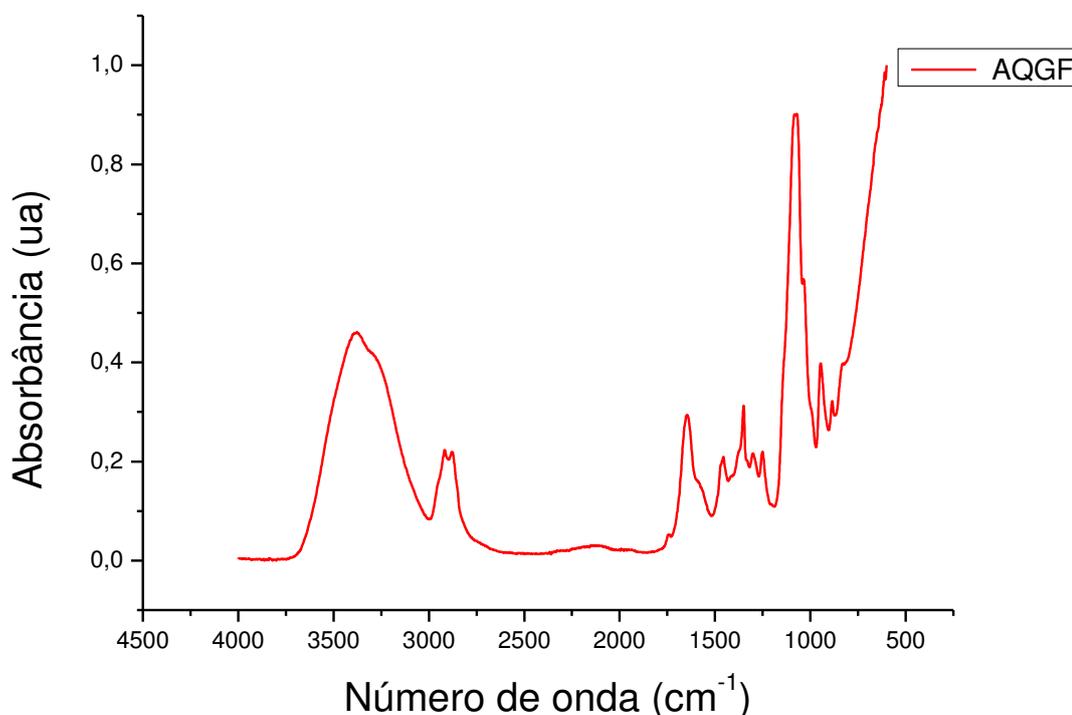


Figura 16 – FTIR da amostra AQGF.

O aparecimento de algumas bandas encontradas no FTIR do promestrieno sugere que possivelmente ocorreram interações entre o fármaco e a matriz, além disso, a intensificação e redução de algumas bandas, pode estar associada a ligações do tipo pontes de hidrogênio, ligações dipolo-dipolo e dipolo induzido.

4.3 Resistência à Tração

O ensaio mecânico de resistência à tração foi realizado com o propósito de avaliar o módulo elástico, deformação e tensão dos anéis. Para tanto, com base na norma ASTM D 3039/D 3039M-08, foram preparados e ensaiados 3 corpos de prova para cada composição.

Analisando-se os valores médios do módulo de elasticidade, tensão e deformação dos materiais ensaiados (Tabela 4), pode-se observar que a amostra comercial apresenta maior tensão e deformação quando comparada ao anel de

quitosana. Esta diferença está relacionada ao tipo de polímero e ficou evidente que o comercial é mais resistente.

Tabela 4 – Resistência à tração dos anéis de quitosana em relação ao anel comercial.

Amostras	Deformação Máxima (%)	Tensão (MPa)
AC	753,04	10,89
AQ	20,87	0,15
AQG	25,65	0,64
AQF	21,39	1,09
AQGF	22,40	0,83

João e colaboradores (2017) enfatizam que embora os materiais à base de quitosana apresentem grande número de aplicações industriais em diferentes áreas, frequentemente estes demonstram propriedades mecânicas inferiores quando comparados a materiais poliméricos produzidos a partir de polímeros sintéticos.

Quando Silva (2017) analisou em seu estudo a tensão de ruptura dos filmes de quitosana, observou um valor de 2,4 MPa, esse resultado foi superior ao encontrado nesse trabalho, entretanto isso pode ser explicado pelo método de processamento, e pela adição do plastificante nos anéis, parâmetros esses que influenciam nas propriedades mecânicas dos mesmos. Segundo Fiori e colaboradores (2014), a adição de plastificante em filmes de quitosana influencia na redução da tensão de ruptura dos fios filmes.

4.4 Molhabilidade por medida de ângulo de contato

A técnica consiste na medida do ângulo de contato da gota, a fim de se avaliar características de hidrofiliicidade e hidrofobicidade. Para materiais que apresentem ângulo de contato maior que 90° considerar-se-á material com perfil hidrofóbico, porém quando o material apresentar ângulo de contato inferior a 90° o mesmo é dito como material de perfil caracteristicamente hidrofílico (Araújo *et al.*, 2018).

A Figura 17 demonstra a análise da molhabilidade por medida do ângulo de contato da gota da amostra AC. A medida de ângulo de contato da amostra foi de 65° caracterizando-a como de caráter hidrofílico.



Figura 17 – Molhabilidade por medida de ângulo de contato da amostra AC.

No ensaio de molhabilidade por medida de ângulo de contato (Figura 18), a partir das imagens, pode se observar que todas as amostras apresentaram comportamento altamente hidrofílico evidenciando ângulo de contato igual a 0° .

Shenvi (2013) e Pinto (2013) relatam que a quitosana apresenta propriedades hidrofílicas devido à presença de grupos amino e hidroxila na sua estrutura, além disso, os valores de ângulos de contato obtidos são influenciados de acordo com às diferenças no grau de desacetilação da quitosana utilizada.

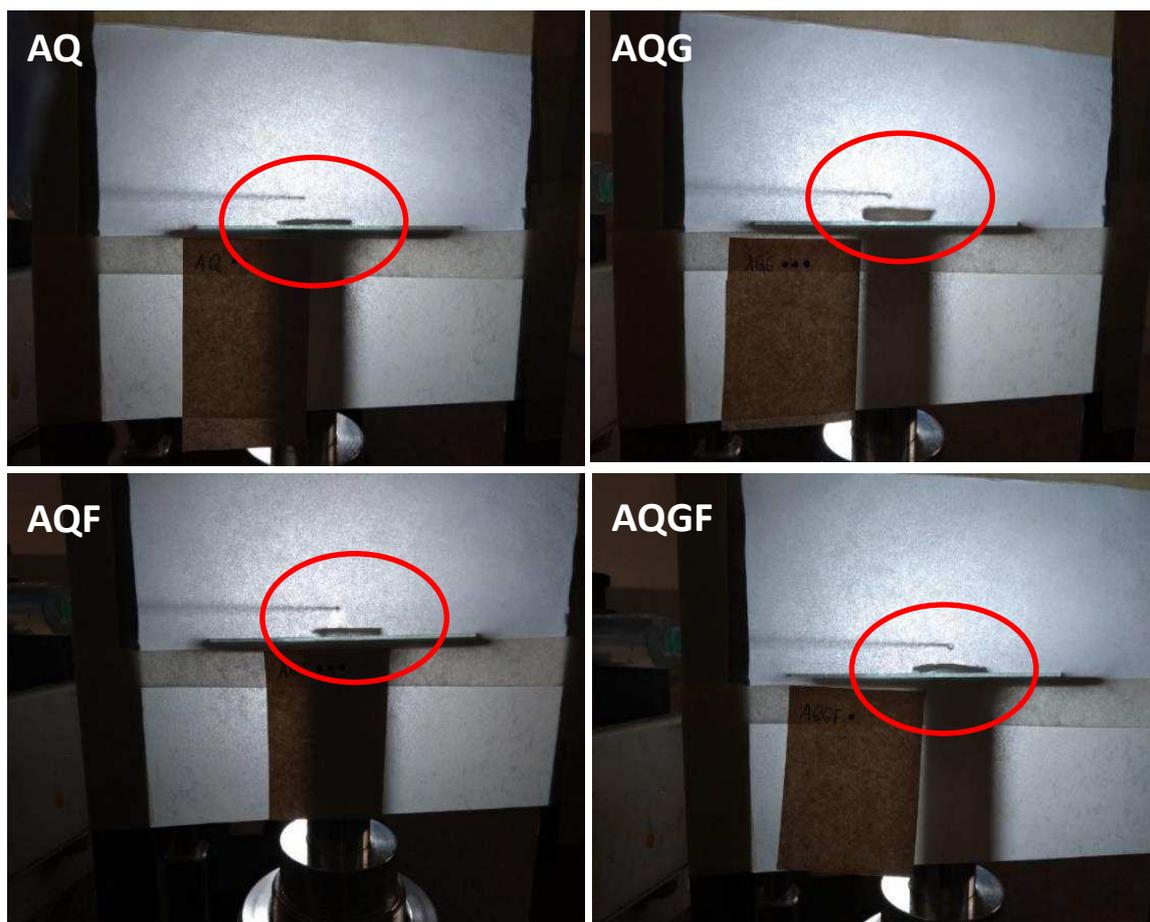


Figura 18 – Molhabilidade por medida de ângulo do contato das amostras.

Segundo Macêdo e colaboradores (2012) a presença de grupos polares e não polares na superfície e/ou a incorporação de grupos funcionais tais como: C-OH (álcool), C-O-O-H (hidro peróxido), H-C=O (aldeído), C=O (carbonila), C-O-C=O (Ester), C-O-O (peróxido), H-O-C=O (ácido) e NH₂ (amina), podem influenciar nas características de hidrofobicidade e hidrofiliabilidade dos materiais analisados.

4.5 Grau de Intumescimento

O intumescimento é entendido como a quantidade de líquido sorvido e retido em determinado material. Esse tipo de comportamento depende da natureza dos compostos que formam a estrutura do material, podendo limitar ou favorecer determinadas aplicações, como por exemplo a liberação controlada de determinados fármacos (Dasha, Chiellini e Ottenbriteb, 2011).

Por meio da Figura 19 é possível observar o intumescimento de todas amostras. Nota-se que as amostras AQF apresentaram maior percentual em relação

as demais e, que a capacidade de intumescimento das mesmas sofre influência pela adição de fármaco e de gelatina no sistema, como observado na amostra AQF e AQG. Quanto a amostra AC não houve intumescimento da mesma, isso justifica pelo tipo de material e pela forma de processamento que esta é composta. Já a amostra AQGF o que se observa é que houve uma redução na capacidade de intumescimento desta, esse fato pode ser explicado pelas ligações formadas entre a quitosana com a gelatina e o fármaco, e a possível redução na disponibilidade de grupos hidrofílicos no interior da amostra.

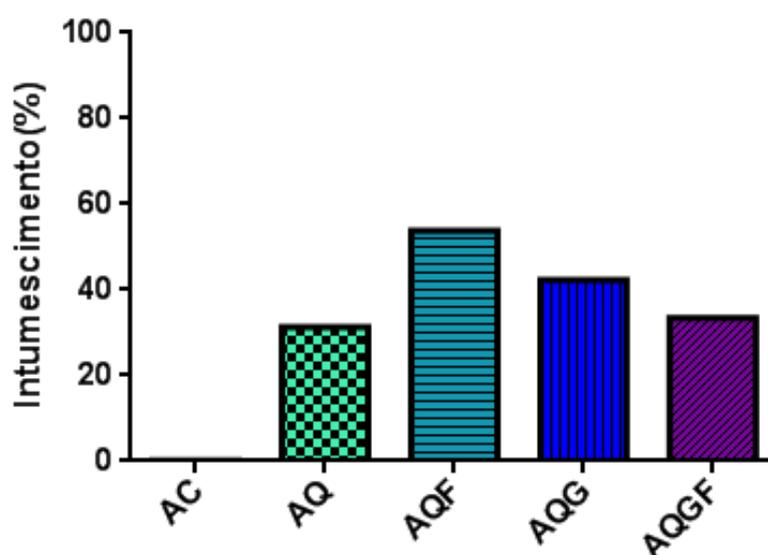


Figura 19 – Grau de Intumescimento das amostras.

Segundo Côrtes (2014) a escolha do polímero na formulação da matriz pode fornecer ou não uma combinação apropriada dos mecanismos de intumescimento. Desta forma, dependendo do tipo de polímero e da forma de administração, os sistemas controlados por intumescimento podem levar a um aumento ou redução das taxas de liberação do fármaco, por exemplo.

De acordo com Almeida (2017), a quantidade de grupos com caráter hidrofílico pode influenciar no comportamento hídrico do material, deste modo, pode-se inferir que a amostra AQF apresenta maior quantidade desses grupos disponíveis, facilitando assim a absorção de água. Além disso, vale ressaltar que o fármaco é um composto fenólico que apresenta característica de hidrofiliicidade, portanto, justifica-se o maior intumescimento na amostra AQF quando comparado a amostra AQ,

corroborando ainda com a ideia que a incorporação do fármaco no interior da matriz polimérica foi efetiva.

4.6 Biodegradação

A análise de biodegradação foi realizada a 7, 15 e 21 dias em solução de PBS e PBS/Lisozima e os resultados estão expressos na Tabela 5.

Tabela 5 - Biodegradação em solução de PBS e lisozima dos fios de PDO

Ensaio	PERDA MEDIA DE MASSA DOS ANEIS (%)					
	PBS			Lisozima/PBS		
	7 dias	15 dias	21 dias	7 dias	15 dias	21 dias
AC	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,002
AQ	8,769	15,884	19,147	9,487	17,490	21,56
AQG	13,263	20,819	24,987	19,091	23,452	30,962
AQF	10,891	17,953	21,987	12,194	20,866	23,798
AQGF	19,853	28,543	37,760	20,798	30,422	44,981

Fonte: Própria

Analisando os valores obtidos com a degradação dos anéis expostos em PBS e lisozima/PBS no período de 7, 15 e 21 dias, observou-se que, em todas as amostras, a degradação foi mais acentuada sob a ação da lisozima, o que demonstra a eficiência desta enzima na degradação da quitosana e corrobora com os resultados encontrados por Holanda (2011). Comparando os anéis nota-se que a AQGF obteve uma maior biodegradação, entretanto o anel comercial praticamente não ocorreu biodegradação, resultado este já esperado visto suas características de não ser degradável neste período conforme informação do fabricante.

A quitosana também é degradada pela lisozima e essa degradação depende, dentre outros fatores, do grau de desacetilação da quitosana, uma vez que a lisozima

se liga aos grupamentos N-acetilglicosamina presentes na estrutura deste polissacarídeo. Estes grupamentos são de fundamental importância no reconhecimento da quitosana como substrato para a lisozima (Kurita *et al.*, 2000; Suh e Matthew, 2000).

A hidrólise enzimática de um polímero vai depender da hidrofiliabilidade da cadeia polimérica, a qual deve ocorrer sempre na superfície do polímero, e esta pode ser facilitada pelo aumento da hidrofiliabilidade superficial do mesmo (Paoli, 2009). Segundo Dallan (2005), a avaliação da degradação de um biomaterial no meio biológico é de suma importância, visto que esta caracterização está diretamente relacionada ao tempo em que o material será absorvido pelo organismo após sua inserção ou utilização no corpo.

Nos anéis adicionados de gelatina foi possível notar que à adição de gelatina nas amostras possibilitou maior percentual de degradação mássica, quando comparado aos anéis de quitosana e da mesma forma ocorreu com a inserção do fármaco, entretanto a biodegradação quando inserida o fármaco foi mais acentuada.

5 CONCLUSÕES

Por meio da metodologia e técnicas de processamento utilizadas foi possível desenvolver um anel de quitosana/gelatina/promestrieno.

As propriedades físico-químicas dos anéis foram adequadas tendo em vista sua utilização em um meio aquoso. Quimicamente o fármaco interagiu com a matriz polimérica. A incorporação do fármaco possibilitou o aumento na resistência a tração e a degradação.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar ensaios mecânicos antes e após o término de cada período de biodegradação;

Avaliar o tempo de biodegradação por até três meses;

Fazer estudo pré-clínico dos anéis para avaliar a efetividade do mesmo;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT, 2006. NBR 15448-1. Embalagens plásticas degradáveis e/ou de fontes renováveis Parte 1: Terminologia.
- ABNT, 2013. NNB ISO 10993-1. Avaliação biológica de produtos para a saúde. Catálogo.com.br
- ACCORSI, L. A. S.; HAIDAR, M. A.; SIMOES, R. S.; ACCORSI NETO, A. C.; MOSQUETTE, R.; SOARES JUNIOR, J. M.; BARACAT, E. C. Efeitos da isoflanovas sobre o assoalho pélvico e a vascularização peri-uretral de mulheres na posmenopausa. **Rev. Bras. Ginecol Obstet.** v. 28, n. 9, pp. 545-550, 2006.
- ALEXANDER, N. J.; BAKER, E.; KAPTEIN, M.; KARCK, U.; MILLER, L.; ZAMPAGLIONE, E. Why consider vaginal drug administration? **Fertility and Sterility**, v. 82, n. 1, pp. 1-12, 2004.
- ALMEIDA, L. A. Membrana de quitosana incorporada com extrato de uva jacquez para tratamento de feridas cutâneas. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Alfenas, 2017.
- ANVISA. Antrofi: Promestrieno. MS 100431093. 2015.
- ARAÚJO, P. B.; GARCIA, T. G. C.; BEZERRA JUNIOR, A. G.; COLAÇO, R. M. R.; SOUSA, W. J. B.; BARBOSA, R. C.; FOOK, M. V. L. Matrizes de quitosana/gelatina para liberação de Etonogestrel. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 12, n. 2 (2018) 138-145.
- ASTM D638-10 Standard: **Standard test method for tensile properties of plastics.** American Society for Testing and Materials. American Society for Testing Materials, West Conshohocken, Pennsylvania, Estados Unidos, 2010.
- BACHMANN, G. A. The hypo-androgenic woman: pathophysiologic overview. **Fertil Steril.** v. 77, n. 4, pp. 72-76, 2002.
- BADER, R. A.; PUTNAM, D. A. **Engineering Polymer Systems for Improved Drug Delivery.** Wiley. New Jersey. 2014.
- BARACHO, E. Fisioterapia Aplicada á Obstetrícia, Uroginecologia e Aspectos de Mastologia. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora **Guanabara**, 2007.
- BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Polímeros Bioabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, pp. 13-21, 2005.
- BARBOSA, R.C., **Compósitos Quitosana/Carbonato de Cálcio para Utilização em Cânulas de Fístula Ruminal.** Dissertação, 119f. Pós graduação em Engenharia de

Materiais. Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, 2011.

BATTISTI, M. V.; CAMPANA-FILHO, S. P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosebergii*. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 8, 2008.

BET, M. R.; GOISSIS, G.; LACERDA, C. A. Characterization of Polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagine and glutamine carboxamide side chains. **Biomacromolecules**, v. 2, pp.1074-1079, 2001.

BORAH, M. M.; DEVI, TH. G. The vibrational spectroscopic studies and molecular property analysis of Estradiol, Tamoxifen and their interaction by density functional theory. **Journal of Molecular Structure** 1163 (2018) 205-220.

BOTELHO, M. A.; QUEIROZ, D. B.; CARVALHO, C. F.; FREITAS, A.; BARROS, G.; PATRUS, L.; BANNET, M.; ARAUJO-FILHO, I.; SILVA, I. Efeitos de nanoemulsão transdérmica dosimetrada de testosterona em mulheres peri- e pós-menopausa: Um novo protocolo para o tratamento de libido reduzido. **MedicalExpresse (Online)**. v. 2, n. 5, 2015.

BRAGA, A. H. F. **Elaboração e caracterização e filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica**. Tese. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

CASTELO-BRANCO, C.; CANCELO, M. J.; NOHALES, F.; JULIÁ, M. D. Management of post menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. **Maturitas**. v. 52, pp. 46-52, 2005.

CHENITE, A.; CHAPUT, C.; WANG, D.; COMBES, C.; BUSCHMANN, M.D.; HOEMANN, C.D.; LEROUX, J.C.; ATKINSON, B.L.; BINETTE, F.; SELMANI, A. Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. **Biomaterials**, v. 21, pp. 2155-2161, 2000.

CHICARELI, E. P. Estudo comparativo de cremes estrogênicos em pacientes com prolapso genital. Mestre. Universidade Federal do Paraná, 2017.

CLAPAUCH, R.; ATHAYDE, A.; MEIRELLES, R. M. R.; WEISS, R. V.; PARDINI, D. P.; LEÃO, L. M. C. S. M.; MARINHEIRO, L. P. F. Terapia Hormonal da Menopausa: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina e Andrologia da SBEM em 2004. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 49, n. 3, 2005.

CORLETA, Helena Von Eye; KALIL, Heloísa Sarmiento Barata. **Menopausa e Climatério**. Disponível em: <http://www.abcdasaude.com.br/artigo.php?284>. Acesso em: 10 de maio de 2017.

CÔRTEZ, G. K. R. Membranas à base de escama de peixe/quitosana – Preparação, caracterização e estudos de interação/liberação de tetraciclina e doxociclina. Tese

apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Sergipe, 2014.

DALLAN, P. R. M. **Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da pele**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. (Tese). 194f, 2005.

DASHA, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITEB, R. M. Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, pp. 981-1014, 2011.

DEL VALLE, E. M. M.; GALÁN, M. A.; CARBONELL, R.G. Drug delivery technologies: The way forward in the new decade. **Industrial and Engineering Chemistry Research**. v. 48, n. 5, pp. 2475-2486, 2009.

DENARI, N. S. M. Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico. Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2014.

DENNERSTEIN, L., DUDLEY, E., BURGER, H. Are changes in sexual functioning during midlife due to aging or menopause? *Fertil Steril* 2001;76:456-60.

DEL PUP, L., POSTRUZNIK, D.; CORONA, G. Effect of one-month treatment with vaginal promestriene on serum estrone sulfate levels in cancer patients: A pilot study. *Maturitas*, 72(1), pp.93-94, 2012.

DJAGNY, K. B.; WANG, Z.; XU, S. Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries: review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 41, pp. 481-492, 2001.

ETIENNE, M. A.; WAITMAN, M.C. Disfunções Sexuais Femininas: A Fisioterapia como Recurso Terapêutico. São Paulo: **Livraria Médica Paulista Editora**, 2006.

FARO, L.; RUSSO, J. A. Testosterona, desejo sexual e conflito de interesse: periódicos biomédicos com espaços privilegiados de expansão no mercado de medicamentos. **Horiz. Antropol.** v. 23, n. 43, 2017.

FERNANDES, T. **Influência do uso tópico de estrogênio ou testosterona ou ácido poliacrílico sobre a função sexual em mulheres na pós-menopausa: Ensaio clínico controlado e aleatorizado**. Dissertação. Pós graduação em tocoginecologia. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

FERREIRA, I. C. C.; SILVA, S. S.; ALMEIDA, R. S. Menopausa, sinais e sintomas e seus aspectos psicológicos em mulheres sem uso de reposição hormonal. *Ensaio Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde*, v.19, n.2, p. 60-64, 2015.

FICAI, A.; ANDRONESCU, E.; VOICU, G.; GHITULICA, C.; VASILE, B. S.; FICAI, D.; TRANDAFIR, V. Self assembled collagen/ hydroxyapatite composite materials. **Chem. Eng. J.**, v.160, pp. 794–800, 2010.

FIORI, A. P. S. M.; GUABIRABA, G. P.; PRAXEDES, A. P. P.; NUNES, M. R. S. BALLIANO, T. L.; SILVA, R. C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A. S. Preparação e Caracterização de Nanocompósitos Poliméricos Baseados em Quitosana e Argilo Minerai. **Polímeros**, vol. 24, n. 5, p. 628-635, 2014.

FOOK, A. C. B. M. **Produção e Caracterização de Arcabouços Compósitos HA/Biopolímero para Engenharia de Tecidos**. Tese, 139 f. Pós graduação em Ciências e Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

GERMAIN, B. C. O Períneo Feminino e o Parto: Elementos de Anatomia e Exercícios Práticos. São Paulo: **Manole**, 2005.

HAALAND, R.; HOLDER, A.; EVANS-STRICKFADEN, T.; NYAGOL, B.; MAKANGA, M.; OYARO, B.; HUMWA, F.; WILLIAMS, T.; MCLELLAN-LEMAL, E.; DESAI, M.; HUEY, M. Residual hormone levels in used contraceptive rings as a measurement of adherence to vaginal ring use. *Contraception*, 95(6), pp.602-604, 2017.

HAN, Y. A.; SINGH, M.; SAXENA, B. B. Development of vaginal rings for sustained release of nonhormonal contraceptives and anti-HIV agents. **Contraception**, v. 76, n. 2, pp. 132-138, 2007.

HENSCHER, U. Fisioterapia em ginecologia. Editora: **Santos**. 2007.

HOLANDA, A. L. **Membranas de quitosana para uso em sistema de liberação controlada de insulina: síntese e caracterização**. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Engenharia de Processos, Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2011, 113 p.

HOLM, E.; AALTONEN, K.; HEIKKINEN, A.; TIIHONEN, M. From systemic hormone therapy to vaginal estrogen – A nationwide register study in Finland, 2003–2012. *Maturitas*, 78(4), pp.293-297, 2014.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Promestriene#section=Top>, acesso em 16 de jun. de 2017.

HU, Y.; YANG, Y.; NING, Y.; WANG, C.; TONG, Z. Facile preparation of artemisia argyi oil-loaded antibacterial microcapsules by hydroxyapatite-stabilized pickering emulsion templating. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 96–102, 2013.

HUBBELL, J. A. Biomaterials in tissue engineering. **Biotechnology**, v. 13, pp. 565-576, 1995.

HUNG, Y. P. **Encapsulation of nanomagnetite within polycaprolactone microspheres for bone replacement**. [s.l.] **University of Birmingham**, 2011.

JAYAKUMA, R. **Novel Chitin and Chitosan Materials in Wound Dressing**. Disponível em: <http://www.intechopen.com/source/pdfs/12794/InTech->

Novel_chitin_and_chitosan_materials_in_wound_dressing.pdf. Acesso em 10 de maio de 2017.

JIANG, T.; et al. Targeted oral delivery of BmpB vaccine using porous PLGA microparticles coated with M cell homing peptide-coupled chitosan. **Biomaterials**. v. 35, pp. 2635-2373, 2014.

JOÃO, C. F. C.; ECHEVERRIA, C.; VELHINHO, A.; SILVA, J. C.; GODINHO, M. H.; BORGES, J. P. Bio-inspired production of chitosan/chitin films from liquid crystalline suspension. **Carbohydrate Polymers**, v.155, p. 372-381, 2017.

JUNIOR, G.A.M. **Esferas de goma do cajueiro e quitosana para liberação de fármacos**. Dissertação. Pós graduação em química inorgânica. Centro de Ciências da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

KAPLAN, D. L. Introduction to Biopolymers from renewable resources. In: Biopolymers from renewable resources, **Springer-Verlag**, pp. 1-29, 1998.

KIM, S. H.; LIM, B. K.; SUN, F.; KOH, K.; RYU, S. C.; KIM, H. S. Preparation of high flexible composite film of hydroxyapatite and chitosan. **Polym Bull**, v. 62, pp.111-118, 2009.

KHOR, E.; LIM, L. Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**. v. 24, n.13, 2003.

KLAUSS, P. **Desenvolvimento de dispositivos poliméricos implantáveis para a liberação de fármaco fabricados por sinterização seletiva a laser**. Tese, f. 174. Pós-Graduação em ciência e engenharia de materiais. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

KURITA ,K.; KAJI, Y.; MORI, T.; NISHIYAMA, Y. Enzymatic degradation of b-chitin: susceptibility and the influence of deacetylation. **Carbohydrate Polymers**, v.42, p.19-21, 2000.

LAGE, G. C. **Efeitos da terapêutica com estrogênios na incontinência urinaria**. Dissertação. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Universidade do Porto, Porto, 2013.

LARANJEIRA, C. M.; FÁVERE, V. T. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**. v. 32, n.3, pp. 672-678, 2009.

LAZARINI, M. M. **Estudo da frequência de oscilação da musculatura do assoalho pélvico durante a contração por meio de dispositivo vaginal multidirecional**. Dissertação, 76 f. Programa de Pós graduação em ciências da saúde. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

LIEN, S. M.; KO, L. Y.; HUANG, T. J. Effect of crosslinking temperature on compression strength of gelatin scaffold for articular cartilage tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, pp. 631-635, 2010.

LIEN, S. M.; LI, W. T.; HUANG, T.J. **Materials Science e Engineering**. v. 28, n. 36, 2008.

LIMA, R. S. C. **Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina**. Tese, 112f. Doutorado. Pós graduação em Engenharia de Processos. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.

LIU, H; GAO, L.; LIU, M; LI, Q; JIANG, Y; ZHANG, S. Characterization and determination of genipin – 1 – β -gentiobioside in gardênia fruit by high -performance liquid chromatography with ultraviolet detection following electrospray ionization mass spectrometry. **Microchemical Journal**. v. 84, pp. 38–43, 2006.

LUCENA, B. M. Dispositivos tubulares de quitosana obtidos pelo método de dip-coating para utilização como biomateriais. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, 2017.

MACÊDO, M. O. C.; MACÊDO, H. R. A.; SILVA, G. C.; SILVA, M. A. M.; JÚNIOR, C. A. Estudo comparativo da modificação superficial de membranas de quitosana tratadas por plasma de oxigênio, nitrogênio e hidrogênio. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.7.2 (2012) 95 – 103.

MAIA JR, H., CASOY, J., VALENTE, J. Testosterone replacement therapy in the climacteric: benefits beyond sexuality. **Gynecol Endocrinol**. v. 25, n. 1, pp. 12-20, 2009.

MAZER, N. A., Testosterone deficiency in women: etiologies, diagnosis and emerging treatments. **Int J Fertil Womens Med**. v. 47, pp. 47-86, 2002.

MORENO, A. L. Fisioterapia em Uroginecologia. 2. ed. São Paulo: **Manole**, 2009.

NEVES, J.; BAHIA, M.F. Gels as vaginal drug delivery systems, Review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1-2, pp. 1-14, 2006.

NWE, N.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. The Mechanical and Biological Properties of Chitosan Scaffolds. **Materials**. v. 2, pp. 374-398, 2009.

NILSSON, K.; RISBERG, B.; HEIMER, G. The vaginal epithelium in the postmenopause- cytology, histology and pH as methods of assessment. **Maturitas**. pp. 51-56, 1995.

NUVARING, 2017. Disponível em: www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao. Acesso em 25 de maio 2017.

OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**. v. 27, n. 1, pp. 131-138, 2004.

OLIVEIRA, P. L. L. **Efeitos da isoflavonas da soja sobre os epitélios mamários e endometrial de ratas ooforectomizadas**. Dissertação. Pós graduação em saúde materno-infantil. Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2008.

OLIVEIRA, J.; PERUCH, M. H.; GONÇALVES, S.; HAAS, P. Padrão hormonal feminino: Menopausa e terapia de reposição. **Revista Brasileira de Análise Clínicas**. v. 3, n. 48, 2016.

OLIVEIRA, A.; ALMEIDA, C.; BASTOS, E.; SANTOS, J. C.; SOUZA, K. C.; BRUNO, S.; ROCHA, T.; MENDES, R. B. **Sexualidade das mulheres no climatério e na menopausa**. 2010. Disponível em: <http://www.publisaude.com.br/portal/artigos/para-o-leigo/sexualidade-das-mulheres-no-climaterioe-na-menopausa.html>. Acesso em: 10 de maio de 2017.

OLIVEIRA, A. P. R. Desenvolvimento de membranas de gelatina/quitosana e o estudo do processo de reticulação. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia da Universidade de São Paulo, 2013.

PALACIOS, S.; CASTELO-BRANCO, C.; CANCELO, M. J.; VASQUEZ, F. Low-dose, vaginally administered estrogens may enhance local benefits of systemic therapy in the treatment of urogenital atrophy in post menopausal women on hormone therapy. **Maturitas**. v. 50, pp. 98-104, 2005.

PANDIT, L.; OUSLANDER, J.; G. Post-menopausal vaginal and atrophic vaginitis. **Am J Med Sci**. v. 314, pp. 228-231, 1997.

PAOLI, M. A. Degradação e estabilização de polímeros. Editora: Artliber Editora. 1 ed. 286p., 2009. PETER, M. G. Chitin and chitosan from animal sources. In A. Steinbüchel (Ed.), **Biopolymers: Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes** (Vol. 6, pp. 481-574). Weinheim: Wiley-VCH. 2012.

PAPALIA, M. A.; DAVIS, S. R. What is the rationale for androgen therapy for women? **Treat Endocrine**. v. 2, pp. 77-84, 2003.

PARDINI, D. Terapia de reposição hormonal na menopausa. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2014.

PARK, J.; LAKES, R. S. *Biomaterials: an Introduction*. 3th Edition. New York: Springer. pp. 561, 2007.

PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, Washington, DC, EUA, v. 25, n. 5, pp. 1372-1381, 2011.

PESSINA, M. A.; HOY, R. F.; GOLDSTEIN, I.; TRAISH, A. M. Differential regulation of the expression of estrogen, progesterone, and androgen receptors by sex steroid hormones in the vagina: Immunohistochemical studies. **J Sex Med**. pp. 804-814, 2006.

PETER, M.; BINULAL, N.S.; NAIR, S. V.; SELVAMURUGAN, N.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Novel biodegradable chitosan-gelatin/nano-bioactive glass ceramic

composite scaffolds for alveolar bone tissue engineering. **Chemical Engineering Journal**, n. 158, pp.353-361, 2010.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 43, n. 4, pp. 491-502, 2007.

PINHAT, E. C. Estudo comparativo de cremes estrogênicos em Pacientes com prolapso genital. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia pela Universidade Federal do Paraná, 2017.

PINTO, F. R. V. Citocompatibilidade de matrizes de quitosano/fosfato de cálcio. Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro. 2013.

POLI, M. E. H.; SCHWANKE, C. H. A.; CRUZ, I. B. M. A menopausa na visão gerontológica. *Sci Med*. 2010;20(2):176-184.

POMPEI, L. M.; FERNANDES, C. E.; MELO, N. R. Promestrieno no tratamento de atrofia vulvovaginal: Revisão sistemática. **Femina**. v. 38, n. 7, 2010.

PONCIANO, J. J. In: **Desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis com variado nível de orientação molecular para aplicação como biomaterial**. 2010. Dissertação, 72f. Pós graduação em ciência e engenharia de materiais. Centro de Ciência e Tecnologia pela Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2010.

PRADELLA, J. G. C. **Biopolímeros e Intermediários Químicos**. Relatório técnico n. 84396-205. Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. Laboratório de Biotecnologia Industrial – LBI/CTPP. São Paulo, 2006.

RISBUD, M.; RINGE, J.; BHONDE, R.; SITTINGER, M. In vitro expression of cartilage-specific markers by chondrocytes on a biocompatible hydrogel: implications for engineering cartilage tissue. **Cell Transplant**, v. 10, n. 8, pp. 755-763, 2001.

ROCHA, L. B.; GOISSIS, G.; ROSSI, M. A. Biocompatibility of Anionic Collagen Matrix as Scaffold for Bone Healing, **Biomaterials**, v. 23, pp. 449-456, 2002.

ROSA-SILVA, S. C. J. S.; MELO, A. S. A importância da via de administração na terapia hormonal no climatério. **Femina**, v. 38, n. 6, 2010.

SALMON, D.; KASSAI, B.; ROUSSEL, L.; MOURIQUAND, P.; GÉRARD, C.; GORDUZA, D.; SERRE, C.; FALSON, F.; PIVOT, C.; PIROT, F. Ex vivo absorption of promestriene from oil-in-water emulsion into infant foreskin. *International Journal of Pharmaceutics*, 456(1), pp.121-124, 2013.

SHEN, L.; HAUFE, J.; PATEL M. K. **Product overview and market projection of emerging bio-based plastics**. PRO-BIT 2009, Copernicus Institute for Sustainable Development and Innovation Utrecht University. 2009.

SHENVI, S. S. Preparation and characterization of PPEES/chitosan composite nanofiltration membrane. *Desalination*, 2013. 315(0): p. 135-141.

SILVA, A. P. P. Desenvolvimento e Caracterização de filmes de quitosana reforçados com whiskers de beta-quitina. Monografia apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2017.

SILVA, S. N. **Atividade fitoestrogênica de *Morus nigra* L., Moraceae, em ratas ovariectomizadas.** Tese, 125 f. Pós graduação em biotecnologia da rede nordeste de biotecnologia. Ponto Focal da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2012.

SILVA, A. R. **Estudo biomecânico da cavidade pélvica da mulher.** Monografia. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2012.

SILVA, D. R. **Comparação entre os achados ecográficos, histeroscópicos e anatomopatológico de pacientes pós menopausa encaminhadas para o ambulatório de histeroscopia.** Dissertação. Pós graduação em patologia. Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, 2015.

SILVA, R. C. P. C.; MOURA, K. K. V. O; RIBEIRO JUNIOR, C. L.; GUILLO, L. A. Sinalização de estrogênio no endométrio proliferativo: implicações na endometriose. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 62, n. 1, 2016.

SILVESTRIN, R. M.; ALENCASTRO, R. B. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: **Livros Técnicos e Científicos**, pp. 429, 2007.

SMITH, A. L.; WEIN, A. J. Estrogen replacement therapy for the treatment of postmenopausal genitourinary tract dysfunction. **Discovery medicine**, dez., 2008.

SOUSA, L. O. **Obtenção e caracterização de membrana de gelatina e membrana de gelatina com prata para uso em regeneração tecidual guiada.** Dissertação. Pós Graduação Interunidades Bioengenharia. São Carlos, 2013.

SOUZA, S. C. Lições de anatomia: Manual de esplancnologia. Salvador: **Edufba**, 2010.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO JR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 37, p. 155-161, 2008.

STEPHENSON, R. G.; CONNOR, L. J. O'. *Fisioterapia Aplicada a Ginecologia e Obstetrícia*. 2. ed. São Paulo: **Manole**, 2004.

SUH, J.K.F.; MATTHEW, H.W.T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review, **Biomaterials**, v.21, p.2589-2598, 2000.

SUN, L. P.; WANG, S.; ZHANG, Z. W.; WANG, X. Y.; ZHANG, Q. Q. Biological evaluation of collagen-chitosan scaffolds for dermis tissue engineering. **Biomed. Mater**, v. 4, pp. 1-6, 2009.

SUN, Z.; ZHU, L.; XU, T.; SHI, X.; LANG, J. Effects of preoperative vaginal estrogen therapy for the incidence of mesh complication after pelvic organ prolapse surgery in postmenopausal women. *Menopause*, 23(7), pp.740-748, 2016.

TOMIC,D.; GALLACCHIO, L.; WHITEMAN, M.K.; LANGENBERG, P.; FLAWS, J.L. Factors associated with determinants of sexual functioning in mid-life women. **Maturitas**. v. 53, pp. 144-157, 2006.

UCHÔA, S. M. M. **Sinergia Muscular Abdomino-Pélvica em Mulheres Continentes Nuligestas e Primíparas: Um Estudo Comparativo**. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2011.

URAGAMI T.; TOKURA S, (eds.) *Material Science of Chitin and Chitosan*, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

VANIĆ, Z.; SKALKO-BASNET, N. Nanopharmaceuticals for improved topical vaginal therapy: can they deliver? **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 1, pp. 29-41, 2013.

VERMANI, K.; GARG, S. The scope and potential of vaginal drug delivery. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 3, n. 10, pp. 359-364, 2000.

YAKABE, C. **Determinação do 17 b-estradiol em formas farmacêuticas utilizadas na terapia hormonal**. Tese. Pós graduação em fármaco e medicamento. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

WANG, M.; MA, L.; LI, D.; JIANG, P.; GAO, C. Preparation of polycaprolactone microspheres-aggregated scaffold with ultra big pores and fuzzy sphere surface by a one-step phase separation method. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 101, n. 11, pp. 3219-3227, 2013.

WETZEL, G. **Manipulação Visceral Ginecológica – Uma Abordagem Terapêutica Evolutiva de Disfunções Pélvicas**. Associação Portuguesa de Terapia Sacro Craniana e de Manipulação Visceral, 2012. Disponível em: <http://www.aptscmv.pt/terapia_manipulacao-visceral_69.asp>. Acesso em: 16 de jun. de 2017.

WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterial**, v. 29, n. 20, pp. 2941-2953, 2008.

WU, X.; LIU, Y.; LI, X.; WEN, P.; ZHANG, Y.; LONG, Y.; WANG, X.; GUO, Y.; XING, F.; GAO, J. Preparation of aligned porous gelatin scaffolds by unidirectional freeze-drying method. **Acta Biomaterialia**, v. 6, pp. 1167-1177, 2010.