



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I - CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BACHARELADO EM FARMÁCIA

MICHELY CONCEIÇÃO VIANA DA COSTA

**FORMAÇÃO DE HIDROGEL A PARTIR DO ARGILOMINERAL LAPONITA®
PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SULFADIAZINA DE PRATA**

CAMPINA GRANDE- PB

2024

MICHELY CONCEIÇÃO VIANA DA COSTA

**FORMAÇÃO DE HIDROGEL A PARTIR DO ARGILOMINERAL LAPONITA®
PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SULFADIAZINA DE PRATA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Área de concentração: Farmácia

Orientadora: Profa. Dra. Dayanne Tomaz Casimiro da Silva

CAMPINA GRANDE- PB

2024

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

C837f Costa, Michely Conceicao Viana da.
Formação de hidrogel a partir do argilomineral Iaponita® para liberação controlada da sulfadiazina de prata [manuscrito] / Michely Conceicao Viana da Costa. - 2024.
46 p. : il. colorido.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.
"Orientação : Profa. Dra. Dayanne Tomaz Casimiro da Silva, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS. "

1. Iaponita. 2. Sulfadiazina de prata. 3. Hidrogel. 4. Liberação controlada. 5. Lesões cutâneas. I. Título

21. ed. CDD 615

MICHELY CONCEIÇÃO VIANA DA COSTA

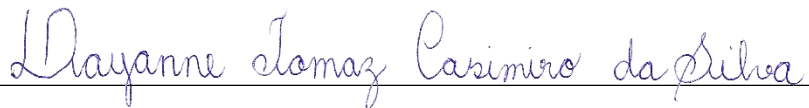
**FORMAÇÃO DE HIDROGEL A PARTIR DO ARGILOMINERAL LAPONITA®
PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DA SULFADIAZINA DE PRATA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Coordenação do Curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia

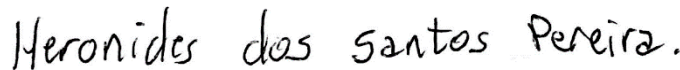
Área de concentração: Farmácia

Aprovada em: 21/ 06/ 2024

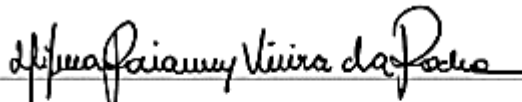
BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Dayanne Tomaz Casimiro da Silva (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Heronides dos Santos Pereira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profª. Dra. Wilma Raianny Vieira da Rocha
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por iluminar meu caminho e me conceder a força necessária para avançar sempre.

A minha família pelo apoio, em especial a minha mãe Claudineide, minhas irmãs Biatriz e Ana Flávia e meus avós Margarida e Valdir. Obrigada por todo o apoio e companhia nos momentos de alegria e nas dificuldades. Que nossa união se fortaleça cada vez mais ao longo do tempo.

Ao meu tio Willian, um dos maiores apoiadores desta jornada, minha sincera gratidão. Obrigada por nunca ter medido esforços para me ajudar; lembro dos seus conselhos todos os dias. Sou imensamente grata por todo o apoio emocional e financeiro.

A meu namorado Joeliton, por todo o amor, companheirismo, paciência, carinho e incentivo ao longo desta caminhada.

À minha orientadora, Dayanne Casimiro, por todos ensinamentos, paciência, confiança, conselhos, orientação e pela grande amizade. Quero levá-la comigo para a vida toda.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) pelo suporte a pesquisa.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos (LABDEM) pelo suporte e disponibilidade para realização dos testes microbiológicos.

Aos membros da banca de defesa, Prof. Dr. Heronides Santos e Dra. Wilma Raianny, por aceitarem o convite e por toda a contribuição valiosa para a melhoria do trabalho.

A todos, meu profundo agradecimento!

RESUMO

As lesões crônicas, como as presentes no pé diabético, representam um desafio significativo para a saúde pública, exigindo uma quantidade substancial de cuidados e recursos, tanto materiais quanto humanos, devido à sua natureza de difícil cicatrização. A presença de infecção bacteriana é um dos fatores que contribuem para o atraso no processo de cicatrização e, por conseguinte, para a cronicidade da lesão. Considerando os danos causados por infecções bacterianas em lesões cutâneas crônicas, várias coberturas são utilizadas para controlar a proliferação bacteriana e prevenir infecções. Uma das abordagens terapêuticas mais comuns é o uso do agente antibacteriano tópico sulfadiazina de prata devido à sua eficácia de amplo espectro contra microrganismos. Contudo, é frequente a falta de adesão dos pacientes devido às dificuldades em manter o medicamento no local da ferida e à necessidade de múltiplas aplicações diárias. Assim, o propósito deste estudo foi formular um hidrogel utilizando laponita® (LAP) para a liberação gradual de sulfadiazina de prata, visando seu emprego terapêutico no tratamento de lesões cutâneas. As formulações, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%, foram desenvolvidas pela técnica de incorporação e foram caracterizadas por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), analisada as características reológicas (viscosidade e espalhabilidade), a liberação *in vitro* por célula de difusão de Franz em membrana sintética e a atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). A formação do hidrogel foi avaliada, empregando a análise da viscosidade, em diferentes concentrações de LAP (3,2 a 3,8%) e em tempos variados. O processo de gelificação nas formulações com maior concentração de LAP (3,8%) foi mais rápido (1h) em comparação as de menor concentração. A avaliação da capacidade de espalhamento para LAP 3,8%, LAPSP 1% e LAPSP 1,2% mostrou um perfil positivo, já que conforme o peso aumentava, esse aspecto também aumentava. Os resultados do FTIR demonstraram presença de bandas características de grupos funcionais de ambos componentes da formulação indicando preservação do aspecto químico durante a produção da formulação. O hidrogel (LAPSP 1%) demonstrou uma taxa de liberação controlada e sustentada ao longo de 24 horas, comparada à formulação comercial CCSP 1%. O estudo *in vitro* da ação antibacteriana mostrou que a concentração inibitória mínima (CIM) contra *E. coli* foi de 62,5 µg/ml (LAPSP 1%) e 37,5 µg/ml (LAPSP 1,2%), enquanto a concentração bactericida mínima (CBM) foi de 62,5 µg/ml (LAPSP 1%) e 37,5 µg/ml (LAPSP 1,2%). Para *Pseudomonas aeruginosa*, a CIM foi de 31,25 µg/ml (LAPSP 1%) e 18,75 µg/ml (LAPSP 1,2%), com CBM de 31,25 µg/ml e 18,75 µg/ml, respectivamente. Para *S. aureus*, a CIM foi de 31,25 µg/ml (LAPSP 1%) e 18,75 µg/ml (LAPSP 1,2%), enquanto a CBM foi de

31,25 µg/ml (LAPSP 1%) e 37,5 µg/ml (LAPSP 1,2%). Dessa forma, os resultados evidenciam a eficácia da formação do hidrogel utilizando exclusivamente LAP como excipiente. Isso pode ser vantajoso para o tratamento de lesões cutâneas em pacientes com úlceras crônicas. Além disso, devido ao baixo custo de produção, essa abordagem pode ser incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS), contribuindo para o fortalecimento da indústria nacional e fomentando a inovação tecnológica.

Palavras-Chave: laponita; sulfadiazina de prata; hidrogel; liberação controlada; lesões cutâneas.

ABSTRACT

Chronic lesions, such as those present in diabetic feet, pose a significant challenge to public health, requiring substantial amounts of care and resources, both material and human, due to their difficult healing nature. The presence of bacterial infection is one of the factors that contribute to the delay in the healing process and, consequently, to the chronicity of the lesion. Considering the damage caused by bacterial infections in chronic wounds, various dressings are used to control bacterial proliferation and prevent infections. One of the most common therapeutic approaches is the use of the topical antibacterial agent silver sulfadiazine due to its broad-spectrum efficacy against microorganisms. However, patient adherence is frequently lacking due to difficulties in maintaining the medication at the wound site and the need for multiple daily applications. Thus, the purpose of this study was to formulate a hydrogel using laponite® (LAP) for the gradual release of silver sulfadiazine, aiming at its therapeutic use in the treatment of skin wounds. The formulations, LAPSP 1% and LAPSP 1.2%, were developed using the incorporation technique and were characterized by infrared spectroscopy (FTIR), analyzed for rheological characteristics (viscosity and spreadability), *in vitro* release by Franz diffusion cell in synthetic membrane, and *in vitro* antibacterial activity against *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). The formation of the hydrogel was evaluated using viscosity analysis at different LAP concentrations (3.2% to 3.8%) and at varying times, with gelation observed to be faster (1 hour) in formulations with higher LAP concentration (3.8%) compared to those with lower concentration. The evaluation of spreadability for LAP 3.8%, LAPSP 1%, and LAPSP 1.2% showed a positive profile, as this aspect increased with increasing weight. The FTIR results demonstrated the presence of characteristic bands of functional groups of both components of the formulation indicating the preservation of the chemical aspect during the formulation's production. The hydrogel (LAPSP 1%) demonstrated a controlled and sustained release rate over 24 hours, compared to the commercial formulation CCSP 1%. The *in vitro* study of the antibacterial action showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) against *E. coli* was 62.5 µg/ml (LAPSP 1%) and 37.5 µg/ml (LAPSP 1.2%), while the minimum bactericidal concentration (MBC) was 62.5 µg/ml (LAPSP 1%) and 37.5 µg/ml (LAPSP 1.2%). For *Pseudomonas aeruginosa*, the MIC was 31.25 µg/ml (LAPSP 1%) and 18.75 µg/ml (LAPSP 1.2%), with MBC of 31.25 µg/ml and 18.75 µg/ml, respectively. For *S. aureus*, the MIC was 31.25 µg/ml (LAPSP 1%) and 18.75 µg/ml (LAPSP 1.2%), while the MBC was 31.25 µg/ml (LAPSP 1%) and 37.5 µg/ml (LAPSP 1.2%). Thus, the results demonstrate the efficacy of hydrogel formation using exclusively LAP as an excipient. This can be advantageous for the

treatment of skin lesions in patients with chronic ulcers. Additionally, due to the low production cost, this approach can be incorporated into the Unified Health System (SUS), contributing to the strengthening of the national industry and fostering technological innovation.

Keywords: laponite; silver sulfadiazine; hydrogel; controlled release; skin lesions.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Figura 1. a) Estrutura anatômica e b) Histologia da pele..... 15
- Figura 2- Ferida crônica com a) epitelização sem exsudato b) granulação sanguinolenta c) granulação com colonização crítica ou infecção e exsudato seropurulento d) necrose úmida/esfacelo com exsudato seropurulento. 17
- Figura 3- Representação esquemática da Sulfadiazina de Prata..... 20
- Figura 4- Representação esquemática da geometria do nanocristal Laponite® (formato do disco) e estrutura química..... 22
- Figura 5- Cristais de Laponite® na forma seca, formando pilhas e cristais de Laponite®, em contato com água, formando géis automontados..... 22
- Figura 6- Representação esquemática das diferentes formas como o fármaco é transportado pela Laponite® no estado esfoliado (a); nas bordas da argila (b); intercalando dentro das pilhas dos cristais (c); encapsulamento ou interação com/pelo polímero além de interações com a LAP (d) e encapsulamento dentro dos espaços intercristais oriundos dos cristais automontados.23
- Figura 7- Viscosidade do hidrogel em concentrações de 3,2, 3,4 e 3,8% em diferentes tempos de formação (a) 1 hora; (b) 6 horas e (c) 12 horas. 30
- Figura 8- Hidrogel de a) LAP 3,8%, e b) LAPSP1%. 32
- Figura 9- Espalhabilidade do hidrogel LAP 3,8% e das formulações LAPSP 1% e LAPSP 1,2% em função do peso. 32
- Figura 10- Espectros de infravermelho da LAP isolada, Sulfadiazina de prata isolada, LAP 3,8%, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%. 33
- Figura 11- Liberação in vitro do híbrido via difusão por células de Franz. 34
- Figura 12- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM, coluna 9, linha A, B e C é possível visualizar a coloração vermelha indicando a presença de células bacterianas viáveis demonstrando que o hidrogel LAP 3,8% não apresentou atividade antibacteriana nessa concentração. 35
- Figura 13- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM frente a *Escherichia coli*. As colunas 1, 2 e 3 foram utilizadas para a formulação LAPSP 1% sendo possível ver a ausência de crescimento até os poços E..... 36

Figura 14- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM frente a *Escherichia coli*. As colunas 4, 5 e 6 foram utilizadas para a formulação LAPSP 1,2%, visualiza-se a ausência de crescimento até os poços F. 37

Figura 15- Placa de 96 poços ao término da MIC para *Pseudomonas aeruginosa*. Nas colunas 1,2 e 3 (destinadas para a formulação LAPSP 1%) é possível perceber a ausência visual de crescimento até os poços F. As colunas 4, 5 e 6 (LAPSP 1,2%) visualiza-se a ausência de crescimento até os poços G. 38

Figura 16- Placa de 96 poços ao término da MIC para *Staphylococcus aureus*. Nas colunas 1, 2 e 3 (destinadas para a formulação LAPSP 1%) é possível perceber a ausência visual de crescimento até os poços F. As colunas 4, 5 e 6 (LAPSP 1,2%) visualiza-se a ausência de crescimento até os poços G. 39

Figura 17- Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Escherichia coli*. 40

Figura 18-Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Pseudomonas aeruginosa*. 40

Figura 19- Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Staphylococcus aureus*. 41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo geral.....	14
2.2	Objetivos específicos.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	Pele	15
3.2	Lesões cutâneas crônicas.....	16
3.3	Cicatrização de lesões cutâneas	18
3.4	Sulfadiazina de prata.....	19
3.5	Biomateriais	21
3.5.1	<i>Laponita</i> [®]	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1	Materiais.....	24
4.2	Formação do hidrogel de <i>laponita</i> [®]	24
4.2.1	<i>Preparação do hidrogel de laponita</i> [®] <i>sem fármaco</i>	24
4.2.2	<i>Formação do hidrogel de laponita</i> [®] <i>e sulfadiazina de prata (LAPSP)</i>	24
4.3	Caracterização das propriedades reológicas.....	24
4.3.1	<i>Viscosidade</i>	24
4.3.2	<i>Espalhabilidade</i>	25
4.4	Caracterização por espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR).....	25
4.5	Estudo da liberação <i>in vitro</i> da sulfadiazina de prata	26
4.6	Atividade antibacteriana de hidrogéis de <i>laponita</i> [®] e sulfadiazina de prata	26
4.6.1	<i>Padronização do inóculo</i>	26
4.6.2	<i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</i>	27
4.6.3	<i>Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)</i>	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Propriedade reológicas do hidrogel formado.....	29
5.1.1	<i>Viscosidade</i>	29
5.1.2	<i>Espalhabilidade</i>	31
5.2	Análise FTIR.....	33
5.3	Estudo da liberação <i>in vitro</i> por células de difusão de Franz	34
5.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	35
5.5	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)	39
6	CONCLUSÃO	42

REFERÊNCIAS.....	43
-------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

A dificuldade no processo de cicatrização das lesões cutâneas têm sido uma fonte de sérios desafios para a Saúde Pública, devido ao grande número de indivíduos com comprometimento da integridade da pele devido à complexidade do tratamento. Esse fator condiciona a um processo de recuperação difícil e prolongado e que aumenta de forma significativa os custos da assistência de saúde, com ônus significativos para os gastos públicos. Além disso, causam impactos pessoais, sociais, psicológicos, econômicos, e pode estar associado com diversas comorbidades, tais como Diabetes Mellitus, desnutrição, doenças autoimunes, entre outras. Essa complexidade torna o tratamento desafiador e demanda não só apenas habilidades e conhecimento, mas também a utilização de recursos e tecnologias disponíveis para proporcionar uma assistência mais eficaz e confortável (Silva *et al.*, 2017).

Como tratamento tópico, o curativo/fármaco ou enxerto deve ser selecionado de forma a fornecer cobertura suficiente da ferida para prevenir infecção ou sepse, e deve ter porosidade suficiente para passagem de ar e fornecimento de nutrientes para rápida recuperação (Singh *et al.*, 2022). No manual do pé diabético do Ministério da Saúde, as terapias tópicas têm como principal objetivo manter a úlcera limpa, úmida e coberta, favorecendo o processo de cicatrização e para tecidos de granulação com colonização crítica ou infecção, é utilizado como protocolo um curativo contendo (creme) sulfadiazina de prata (SP) (Brasil, 2016).

A SP é um antibacteriano e possui características físico químicas como baixa permeabilidade e baixa solubilidade pertencente à Classe IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), além disso, é fotossensível (escurecimento gradual quando expostos à luz) que é uma característica comum a todos sais de prata, devido a oxidação e formação de óxidos de prata (Rosa, 2017; Nunes *et al.*, 2023). Está atualmente disponível na forma de creme tópico a 1% e a posologia é a aplicação de duas a três vezes ao dia, conforme haja saturação do local. Essas múltiplas aplicações diárias, expõe o paciente a dor/trauma, no qual pode reduzir a atividade do fármaco, bem como a aderência do paciente ao tratamento, comprometendo a cicatrização (Khodami *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2023).

Nesse sentido, vários designs de curativos têm sido estudado para viabilizar o tratamento, reduzir contaminantes externos, facilitar o processo de cicatrização, reduzir a população de microrganismos presentes ao longo do tempo, mantendo a alta umidade no local da ferida, removendo o excesso de exsudato, não apresentando toxicidade e/ou reação alérgica, permitindo a troca de oxigênio e biodegradação no local e mantendo a liberação do fármaco no

local de ação, para aumentar a aderência do paciente ao tratamento (Alvarado- Gomez *et al.*, 2018; Cho *et al.*, 2021).

Como forma farmacêutica convencional, o gel é formado por agregação de partículas de sais coloidais interpenetrado por um líquido, caso o líquido seja água, forma-se hidrogéis. Esses últimos, têm sido amplamente estudados como materiais para cicatrização de lesões cutâneas devido à sua estrutura de matriz extracelular semelhante. As partículas ligam-se umas às outras para formar uma rede entrelaçada, o que confere rigidez à estrutura. Alguns materiais formados por flóculos contínuos, na escala nanométrica têm sido estudados, como o argilomineral Laponita® (Ghadiri *et al.*, 2013; Suterio *et al.*, 2022).

Com fórmula empírica $\text{Na}_{0,7}[(\text{Si}_8\text{Mg}_{5,5}\text{Li}_{0,3}) \text{O}_{20} (\text{OH})_4]$, esse argilomineral possui tamanho reduzido, em nanodiscos de 25 nm de diâmetro e 0,92 nm de altura, aproximadamente. Possui presença de lítio que substitui aleatoriamente cátions de magnésio na estrutura, gerando carga negativa, e sendo contrabalanceado por cargas positivas de íons sódio, localizados no espaço entre as lamelas (Suterio *et al.*, 2022; Tomás *et al.*, 2017). Na forma de pó, esse argilomineral tem uma geometria bidimensional (2D) em forma de disco, no entanto na presença de água, as partículas formam estruturas coloidais tridimensionais como “castelo de cartas” (Suterio *et al.*, 2022; Tomás *et al.*, 2017).

Dessa forma, considerando as limitações clínicas da farmacoterapia de lesões cutâneas e seu manejo, como avaliação da potencialidade dos materiais e seu ineditismo, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de nanohíbrido hidrogel formado a partir do argilomineral Laponita® para liberação controlada do fármaco sulfadiazina de prata como tratamento antibacteriano para lesões cutâneas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver hidrogel formado a partir do argilomineral Laponita® para liberação controlada da sulfadiazina de prata como tratamento antibacteriano para lesões cutâneas

2.2 Objetivos específicos

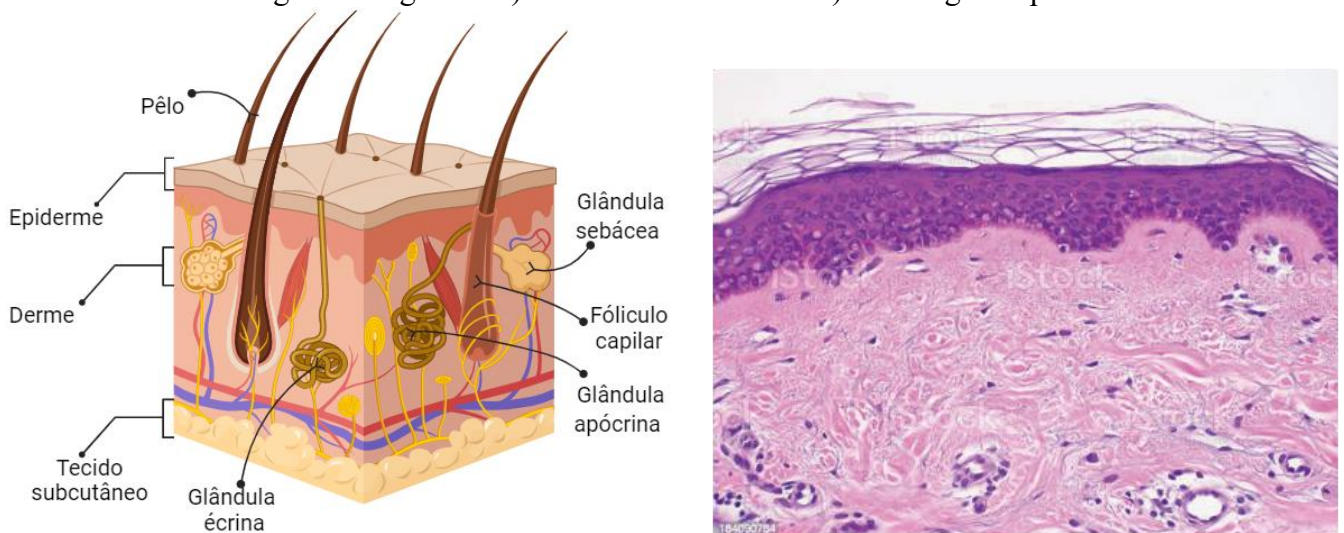
- Avaliar as condições experimentais para formação do hidrogel, verificando a influência da concentração e do tempo de agitação do argilomineral LAP;
- Obter o hidrogel a partir da incorporação da SP em LAP;
- Caracterizar por técnicas reológicas de viscosidade e espalhabilidade dos hidrogéis contendo LAP sem fármaco sob influência da concentração e do tempo de agitação e com fármaco SP e por técnicas estruturais.
- Avaliar a liberação *in vitro* da SP a partir do hidrogel formado por LAP/SP em comparação com o gel comercial utilizando aparato células de difusão de Franz.
- Avaliar a atividade antibacteriana dos hidrogéis formados por LAP/SP e do gel comercial a partir das bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pele

A pele, maior órgão do corpo humano, desempenha um papel fundamental na proteção dos tecidos internos contra microrganismos, agentes térmicos e químicos, além de contribuir para a manutenção da homeostase. É composta por duas camadas distintas, conforme Figura 1 a: a epiderme e a derme, ambas sustentadas pela hipoderme. A epiderme, a camada mais externas, é principalmente constituída por queratinócitos. Logo abaixo, encontra-se a derme, composta pela matriz extracelular (MEC) (Figura 1b) e uma rede de fibras colágenas, além de conter células residentes como macrófagos, adipócitos e fibroblastos. Na pele, também são encontrados vasos sanguíneos, nervos sensoriais e estruturas acessórias como glândulas, pelos e músculo eretor dos pelos. A hipoderme ou tecido subcutâneo, por sua vez, composta por tecido conjuntivo frouxo, não faz parte da pele propriamente dita, sendo responsável pela

Figura 1- Figura 1. a) Estrutura anatômica e b) Histologia da pele.



Fonte: Adaptado de Hess (2012)

A pele tem seis funções fundamentais como: 1. proteção, atuando como uma barreira física contra microrganismos e outros materiais estranhos, protegendo o corpo contra infecções e perda excessiva de fluidos. 2. Sensação: contendo terminações nervosas que permitem sentir dor, pressão, calor e frio. 3. Termorregulação, com a pele regulando a temperatura corporal por meio de vasoconstrição, vasodilatação, suor e excreção de certos resíduos, como eletrólitos e água. 4. Metabolismo, a partir da síntese de vitamina D na pele que é exposta à luz solar ativa o metabolismo de cálcio e fosfato, minerais que desempenham um papel importante na formação óssea. 5. Imagem corporal, a partir da aparência (cosmética), atributos individuais (identificação), capacidade de transmitir significado por meio da expressão (comunicação). 6.

Processo imunológico, possuindo células imunes residentes tanto na epiderme (células de Langerhans) quanto na derme (células dendríticas dérmicas) (Avci *et al.*, 2013; Hess, 2012; Sator, 2006).

É importante destacar que esse órgão altera conforme a idade, uma vez que a função geral da pele diminui ou fica mais lenta. Ocorrem mudanças na junção epidérmica-dérmica que achata, contribuindo para uma diminuição na resistência geral, as células de Langerhans e as células dos melanócitos encolhem, causando maior risco de reações alérgicas e maior sensibilidade à luz solar. Além disso, a resposta vascular é reduzida, levando à diminuição da temperatura da pele e palidez, também há uma diminuição da produção de sebo e do suor que hidrata a pele contribuindo para o ressecamento e descamação (Hess, 2012; Kim *et al.*, 2020; Solé-Boldo *et al.*, 2020).

3.2 Lesões cutâneas crônicas

Todos os dias nossa pele é exposta a agressões físicas e mecânicas, que podem ou não ter consequências permanentes (Hess, 2012). As lesões cutâneas na pele ocorrem quando há ruptura da estrutura anatômica desse órgão, impossibilitando a região afetada de desempenhar suas funções biológicas. Elas podem ser classificadas em duas categorias principais: (i) lesões cutâneas agudas, causadas por procedimentos cirúrgicos, traumas, queimaduras superficiais, entre outros, que geralmente se recuperam rapidamente seguindo os mecanismos naturais de cicatrização; e (ii) lesões cutâneas crônicas, resultantes de doenças específicas como úlceras diabéticas, úlceras de pressão e úlceras venosas nas pernas, que alteram a fisiologia do organismo, dificultando a cicatrização e aumentando o risco de infecções (Santos *et al.*, 2023).

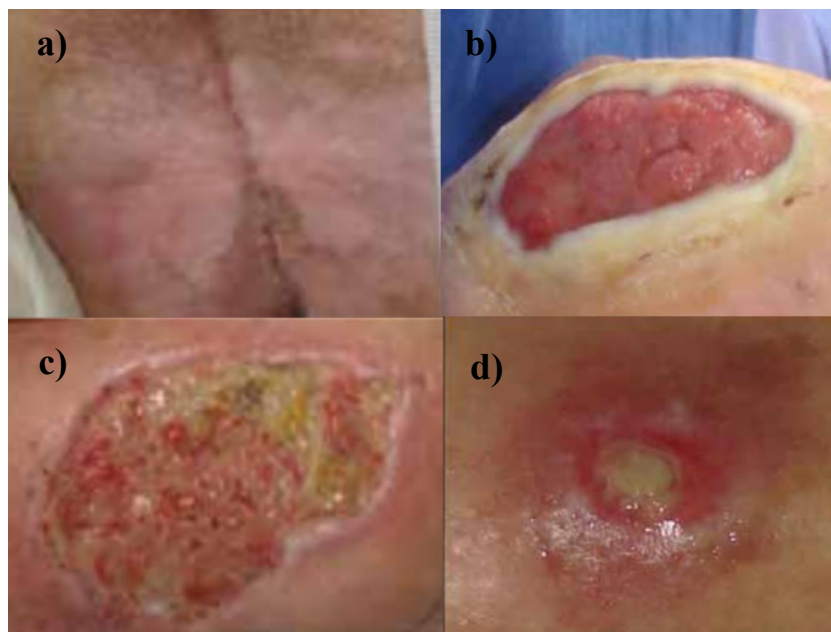
As lesões cutâneas crônicas, independentemente de sua etiologia, têm elevadas taxas de incidência, trazem diminuição da qualidade de vida dos pacientes e causam impactos socioeconômicos importantes para os familiares e serviços de saúde. Uma ferida crônica é uma lesão que não cicatrizou e o paciente que possui esse tipo de ferida, possui um processo que impede o processo de cicatrização (Hess, 2012). Por exemplo, o Diabetes *Mellitus* (DM) é um desafio para a saúde pública globalmente e os dados da 9ª edição do Atlas de Diabetes da IDF (*International Diabetes Federation*) mostram que existem 463 milhões de adultos com diabetes em todo o mundo, sendo que a prevalência do DM está aumentando em países de baixa e média renda (Pititto *et al.*, 2019). De acordo com a Federação Internacional de Diabetes, em 2013, o Brasil tinha o maior número de casos de diabetes na América do Sul e Central, com aproximadamente 11,9 milhões de pessoas afetadas. O DM apresenta repercussões sistêmicas em longo prazo e as suas complicações podem ser classificadas em agudas e crônicas. Em

relação às complicações crônicas, destaca-se o aparecimento de lesões cutâneas em membros inferiores e nos pés, sendo este último designado como pé diabético (Oliveira *et al.*, 2019).

Para obter uma cicatrização bem-sucedida da pele e da ferida, o clínico deve seguir meticulosamente cada etapa do tratamento da pele e da ferida, incluindo a avaliação, planejamento, implementação, avaliação e documentação (Hess, 2012). A partir das alterações encontradas o tratamento deve ser centrado no indivíduo (Brasil., 2016).

No tratamento tópico têm como objetivo primordial manter a úlcera limpa, úmida e coberta, promovendo assim o processo de cicatrização. O uso de gaze umedecida com solução salina 0,9%, mantendo o ambiente úmido é útil para o tratamento. Quando há uma reepitelização sem nenhum exsudato, conforme visualizado na Figura 2 a, é preconizado o uso de uma camada fina de hidrocoloide por até 7 dias. Quando há um tecido com granulação e um exsudato sanguinolento, conforme Figura 2b, é preconizado o uso de alginato de cálcio e sódio, por 2 a 3 dias. Já quando o tecido possui granulação com colonização crítica ou infecção, conforme Figura 2c, com exsudato seropurulento, é preconizado uma pomada com sulfadiazina de prata, com troca de 2 a 3 vezes ao dia. Em tecidos com necrose e exsudato seropurulento conforme Figura 2d, é preconizado a aplicação de gaze umedecida com soro fisiológico a 0,9% e pomada com curativo com sulfadiazina de prata, de 2 a 3 vezes ao dia.

Figura 2- Ferida crônica com a) epitelização sem exsudato b) granulação sanguinolento c) granulação com colonização crítica ou infecção e exsudato seropurulento d) necrose úmida/esfacelo com exsudato seropurulento.



Fonte: Brasil (2016).

A colonização da microbiota das lesões cutâneas diabéticas está relacionada ao prognóstico dos pacientes. As lesões cutâneas gravemente infectadas por alterar a estrutura da comunidade microbiana da pele, mostrando uma ligação entre a ferida e a sua gravidade. Assim, pode-se dizer que a instabilidade da estrutura da população microbiana reflete as mudanças dinâmicas da flora da ferida, que por outro lado quando se detecta certas bactérias crescem de forma estável nos locais, isso reflete um estado de cicatrização de lesões cutâneas paralisada, na qual as bactérias colonizadoras anularam as defesas do hospedeiro para um estado patogênico de homeostase (Lipsky *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2023).

O microrganismo mais comum presente é *Staphylococcus*, que tem maior abundância relativa com 22,7%, tanto o *Staphylococcus aureus* (13,3%) e *Staphylococcus pettenkoferi* (Wang *et al.*, 2023). Além desses, tem o *Streptococcus* (11,98%), *Corynebacterium* (11,46%), Bactérias anaeróbicas (7%) (Lipsky *et al.*, 2012), *Actinomycetales* e *Bacillales* (nas lesões cutâneas de cicatrização rápida) e *Bacteroidales* e *Lactobacillales* (nas lesões cutâneas de cicatrização longa) (MacDonald *et al.*, 2019). Outros microrganismos estão presentes com proporções diferentes nas lesões cutâneas como *Corynebacterium* (14,64%), *Pseudomonas* (9,37%) (Oh *et al.*, 2014).

3.3 Cicatrização de lesões cutâneas

Após a alteração da integridade da pele e o surgimento de uma ferida, o processo de cicatrização começa. Em lesões cutâneas crônicas, o processo para na fase inflamatória, que com o tempo, as células-chave tornam-se senescentes, entender e corrigir as barreiras à cicatrização irá desencadear a formação de tecido de granulação, levando à próxima fase de cicatrização (MacDonald *et al.*, 2019).

São quatro fases de cicatrização de lesões cutâneas: 1. Hemostasia: ocorre imediatamente após a lesão, onde as plaquetas (célula-chave) responsável por essa função, forma um coágulo e liberam fatores de crescimento; 2. Inflamação: começa logo após a lesão e normalmente dura de 4 a 6 dias. Esta fase é caracterizada por uma série de células infiltrando o local da ferida. Muitas delas são células inflamatórias, como leucócitos e macrófagos; 3. Proliferação: A fase proliferativa, também conhecida como fase fibroblástica, regenerativa ou do tecido conjuntivo, geralmente dura várias semanas. Em uma ferida aberta, o tecido de granulação se forma como brotos vermelhos e carnudos (ou grânulos) de tecido. Este tecido consiste em macrófagos, fibroblastos, colágeno imaturo, vasos sanguíneos e substância fundamental; 4. Maturação: Durante a fase de maturação ou remodelação, que pode durar de

21 dias a meses ou anos, as fibras de colágeno se reorganizam, remodelam e amadurecem, ganhando resistência à tração. Fibroblastos, MMPs e seus inibidores desempenham um papel crucial nesse processo, assim como certos fatores de crescimento, como o fator de crescimento transformador beta. Esse processo continua até que o tecido cicatricial tenha recuperado cerca de 80% da resistência original da pele (Hess, 2012; Kim *et al.*, 2020; Lipsky *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2023).

3.4 Sulfadiazina de prata

A utilização da prata e seus derivados para o tratamento de lesões cutâneas e queimaduras existe desde os séculos 17 e 18, quando o nitrato de prata começou a ser empregado no tratamento de úlceras cutâneas. Na década de 60, a Sulfadiazina de Prata (SP), um produto derivado da combinação do nitrato de prata com sulfadiazina de sódio, substituindo um átomo de hidrogênio por prata na molécula da sulfadiazina, foi introduzida na terapêutica de queimaduras por Charles L. Fox Jr. Seu uso foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 1973, demonstrando melhorias significativas na taxa de sobrevivência dos pacientes (Heyneman *et al.*, 2016; Melo, 2021).

A SP pertence a classe das sulfonamidas ao qual, os fármacos pioneiros da classe, foram as primeiras drogas sintéticas com atividade antibacteriana eficaz a serem desenvolvidas. As sulfonamidas apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, como antitumoral, antifúngica, anti-inflamatória, antibacteriana e antiviral. Um dos principais alvos relacionado à atividade antibacteriana dessa classe farmacológica é a enzima diidropteroato sintase (DHPS), enzima responsável pela incorporação do ácido para-aminobenzóico (PABA) ao ácido diidropteroico, precursor do ácido fólico (Nunes *et al.*, 2023).

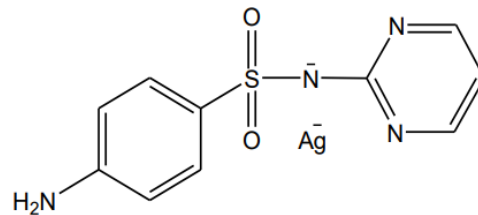
As sulfonamidas por possuírem estrutura química semelhante ao ácido para-aminobenzóico (PABA), substrato natural da enzima DHPS, são antagonistas competitivos e inibidores potentes da síntese do ácido fólico pelas bactérias, sem o mesmo as bactérias são incapazes de entrar na divisão celular, o que tornam as sulfonamidas agentes bacteriostáticos (Rosa, 2017; Nunes *et al.*, 2023).

Esse fármaco é segundo a IUPAC prata [(4-aminofenil)sulfonil](pirimidin-2-il)azanida, com CAS 22199-08-2. Este composto apresenta-se na forma de um pó cristalino branco ou amarelo pálido, sendo inodoro. Apresenta praticamente insolubilidade em água, etanol e éter dietílico, mas é solúvel em amônia. Classificado como fármaco de classe IV (baixa solubilidade e baixa permeabilidade) no Sistema de Classificação Biofarmacêutica, é também fotossensível,

escurecendo gradualmente quando exposto à luz, uma característica compartilhada por todos os sais de prata, devido à formação de óxido de prata (Rosa, 2017).

A mesma é comercializada na forma de creme a 1% sendo uma das primeiras alternativas farmacológicas no tratamento de queimaduras com processo infeccioso instaurado. Em sua estrutura há uma ligação coordenada entre a sulfadiazina e a prata (Figura 3), onde a ação bacteriostática depende da porção sulfonamida e a prata presente no composto liga-se ao DNA bacteriano e aos componentes da superfície celular, causando toxicidade (Rosa, 2017; Soltani; Akhbari; Phuruangrat, 2022).

Figura 3- Representação esquemática da Sulfadiazina de Prata.



Fonte: Rosa (2017).

A SP apresenta amplo espectro de ação, afetando bactérias gram-negativas, gram-positivas e fungos patogênicos (Zhou *et al.*, 2023). Por ser um fármaco de uso tópico, apresenta efeitos adversos dermatológicos como bolhas ou descamação da pele, prurido, aumento da sensibilidade à luz solar, entre outros. Com o objetivo de aprimorar a eficácia antibacteriana, aumentar a solubilidade, prevenir a agregação, garantir a ótima disponibilidade do medicamento, controlar a liberação e reduzir reações alérgicas relacionadas aos íons de prata, estão sendo realizados esforços para desenvolver sistemas que estabilizem a SP em outros materiais (Soltani; Akhbari; Phuruangrat, 2022).

3.5 Biomateriais

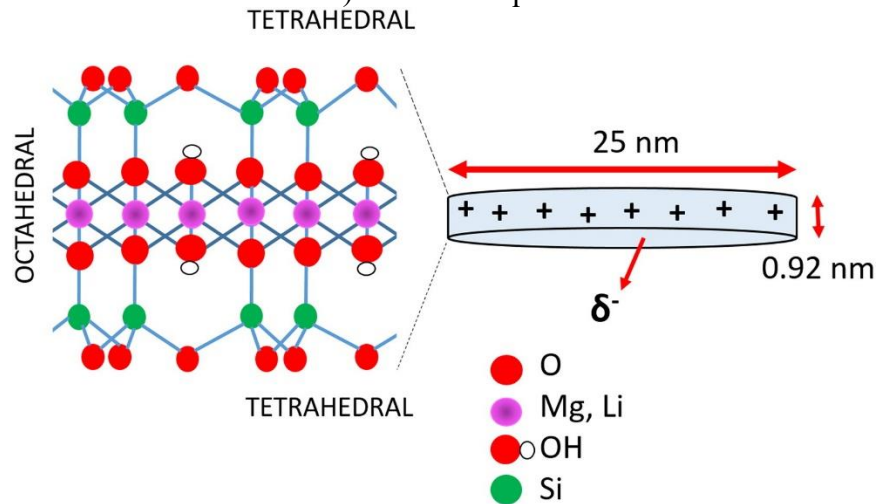
3.5.1 Laponita®

No início da década de 1960, foi desenvolvido uma argilomineral sintética denominada Laponita®, marca registrada da empresa BYK Additives Ltd, com o objetivo de ser um aditivo reológico para dispersões de pigmentos. Esta foi desenvolvida pelo método de co-precipitação utilizando fontes de Mg e Li (silicato de sódio) em meio básico. Desde então, a Laponita® (LAP) tem sido utilizada em uma variedade de aplicações industriais e tem sido alvo de extensas pesquisas no âmbito científico e tecnológico, especialmente na indústria farmacêutica (Rodrigo *et al.*, 2024).

Os estudos com a LAP têm se concentrado principalmente na sua utilização para cicatrização de lesões cutâneas, sistemas de carreamento de fármacos, matriz de formação de hidrogel, aumentar a taxa de dissolução de fármacos, engenharia de tecidos para estruturas ósseas ou ainda ser utilizado como material de bioimagem (Rodrigo *et al.*, 2024; Tomás; Alves; Rodrigues, 2018).

A LAP pertence ao grupo dos filossilicatos, com estrutura lamelar do tipo 2:1, ou seja, possui uma folha octaédrica entre duas tetraédricas (Figura 4). Empiricamente, sua célula unitária apresenta fórmula química $\text{Na}^{+0,7}[(\text{Mg}_{5,5}\text{Li}_{0,3})\text{SiO}_{20}(\text{OH})_4]^{-0,7}$ ao qual se repete em torno de 2000 vezes em duas dimensões, resultando em uma estrutura em formato de disco em escala nanométrica, com aproximadamente 25 nm de diâmetro e 0,92 nm de altura (Suterio *et al.*, 2022; Oliveira, 2022). Esse argilomineral tem uma superfície com carga dupla, onde as faces (superfície inferior e superior) são negativamente carregadas ocasionada pelo desequilíbrio de carga oriunda da substituição do magnésio pelo lítio na camada octaédrica, enquanto as bordas podem ser carregadas positivamente por protonação dos grupos terminais de hidroxila (OH) das camadas tetraédricas. As camadas dessa argila, por ter uma área superficial elevada ($<700\text{m}^2/\text{g}$), permite que ocorra interação e retenção de fármacos, proteínas, vesículas extracelulares ou polímeros (Rodrigo *et al.*, 2024).

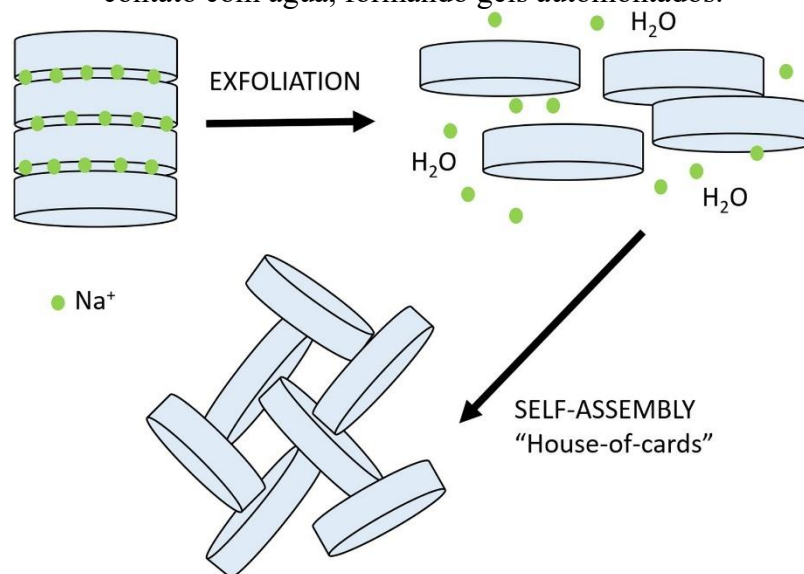
Figura 4- Representação esquemática da geometria do nanocristal Laponite® (formato do disco) e estrutura química.



Fonte: Tomás; Alves; Rodrigues (2018).

A LAP apresenta geometria bidimensional (2D) na forma seca em forma de disco. Por outro lado, em contato com a água, a LAP se transforma em partículas coloidais tridimensionais (3D) de gel incolor, devido as forças de repulsão eletrostática que ocorre entre os cristais (Figura 5). A distribuição de cargas fracamente positivas ao longo das bordas dos cristais de LAP podem interagir diretamente com as cargas negativas na superfície de outros cristais, originando a fase auto-montável do “Castelo de Cartas” (Rodrigo *et al.*, 2024; Tomás; Alves; Rodrigues, 2018).

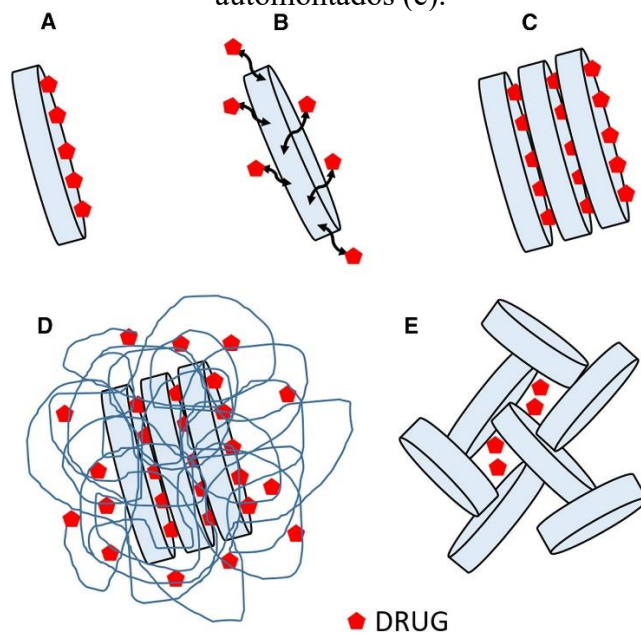
Figura 5- Cristais de Laponita® na forma seca, formando pilhas e cristais de Laponita®, em contato com água, formando géis automontados.



Fonte: Tomás; Alves; Rodrigues (2018).

Os fármacos podem ser transportados pela LAP de diversas formas, como adsorção em superfícies de LAP quando a argila está no estado esfoliado, nas bordas da argila, intercalado dentro dos discos de cristais, encapsulamento ou interação com/pelo polímero além de interações com a LAP e encapsulamento dentro dos espaços intercristais oriundos dos cristais automontados (Figura 6) (Sutério *et al.*, 2022).

Figura 6- Representação esquemática das diferentes formas como o fármaco é transportado pela Laponita® no estado esfoliado (a); nas bordas da argila (b); intercalando dentro das pilhas dos cristais (c); encapsulamento ou interação com/pelo polímero além de interações com a LAP (d) e encapsulamento dentro dos espaços intercristais oriundos dos cristais automontados (e).



Fonte: Tomás; Alves; Rodrigues (2018).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

A sulfadiazina de prata (CAS 22199-08-2) foi fornecida pela GEMINI (lote 19-20/SSD/[U]/038 no padrão de pureza USP (pureza 99%). Hidróxido de amônio do êxodo científica foi utilizado como solvente. Citrato de sódio (pureza 99,5%) da Sigma aldrich. A Laponita® RD foi fornecida pela Colormix (BRA), apresenta qualidade farmacêutica e foi utilizada sem pré-tratamento.

4.2 Formação do hidrogel de laponita®

4.2.1 Preparação do hidrogel de laponita® sem fármaco

As formulações do gel foram preparadas em diferentes concentrações de LAP 3,2 % (LAP 3,2%), 3,4% (LAP 3,4%) e 3,8% (LAP 3,8%) (p / v), com o intuito de avaliar a influência sobre a concentração e diferentes tempos de agitação para formação do gel. Primeiramente, 3,2 %, 3,4% e 3,8% de LAP foram adicionados a 10 ml de água destilada e, posteriormente essas soluções foram vedadas e submetidas a diferentes tempos de agitação magnética sob uma mesma velocidade de rotação. Os tempos de agitação magnética utilizados para avaliação da formação do gel foram de 1 hora, 6 horas e 12 horas. Após a determinação viscosidade, a amostra de LAP 3,8% foi selecionada para continuar os estudos subsequentes.

4.2.2 Formação do hidrogel de laponita® e sulfadiazina de prata (LAPSP)

Pelo método de incorporação descrito por Khan (2021), a sulfadiazina de prata foi solubilizada em hidróxido de amônio sob agitação constante para completa solubilização antes de ser incorporada ao hidrogel. A solução de SP foi adicionada gota a gota no hidrogel de LAP 3,8% sob agitação contínua para completa homogeneização, na concentração de 1% para formação de LAPSP 1% e 1,2% para formação de LAPSP 1,2%. Posteriormente, o pH foi ajustado para $5,0 \pm 0,6$ (pH da pele) com uma solução de ácido cítrico a 20%, seguindo a metodologia descrita por Suterio (2022).

4.3 Caracterização das propriedades reológicas

4.3.1 Viscosidade

Para avaliação da viscosidade empregou-se o viscosímetro rotativo digital de BROOKFIELD, da Fungilab Viscolead, modelo One, no qual a amostra foi medida por velocidade de rotação de eixo metálico, com cone coaxial *spindle* R7, imerso no material. A utilização desse aparato foi eleita conforme a leitura adequada do aparelho foi medida. Uma quantidade de 10 g de amostra, após verificação da ausência de bolhas, sob temperatura fixa de

25°C, foi acondicionada em frasco de polietileno. A análise foi realizada, sob agitação rotacional variável, sob velocidade de rotação crescente, sendo 2,5, 3,0, 4,0, 5, 6, 10, 12, 20, 30, 50, 60, 100 rpm. A leitura foi realizada, em triplicata, com valor em centipoise (cP), de acordo com a capacidade de leitura do aparelho, para análise das formulações com 3,2%, 3,4% e 3,8% de LAP.

4.3.2 Espalhabilidade

Para a determinação da espalhabilidade, foi utilizada a metodologia descrita por Lange *et al.* (2009). O teste avaliou a LAP 3,8%, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%. As amostras, foram colocadas numa placa circular de vidro, com diâmetro de (20 cm x 20 cm) e 0,2 mm de espessura, onde foi posicionada sobre outra placa de suporte de mesma largura, e entre ambas as placas, foi posicionado uma folha de papel milimetrado e em seguida adicionado uma terceira placa, com orifício central de 1,2 cm de diâmetro. A amostra foi introduzida no orifício da placa e a superfície nivelada com uma espátula. Após a aplicação da amostra retirou-se completamente esse molde e sob esse material, foi disposto uma placa, com massa pré-determinado. Após 1 minuto, foi calculada a superfície abrangida através da medição do diâmetro em duas posições opostas, calculando o diâmetro médio. Este procedimento foi repetido, com a adição de 10 placas adicionadas sobre a amostra. Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso adicionado. As análises foram realizadas em triplicata. A equação 1 (Eq.1) foi utilizada para os cálculos de espalhabilidade.

$$Ei (\text{max}) = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

Ei: é a espalhabilidade da amostra para o peso i, em mm²;

d: é o diâmetro médio, em milímetros.

4.4 Caracterização por espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)

A composição química e as alterações estruturais foram observadas utilizando um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) PerkinElmer 400,

utilizando diamante através da técnica de reflexão total atenuada (ATR). A análise foi realizada na faixa de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.5 Estudo da liberação *in vitro* da sulfadiazina de prata

O estudo foi conduzido utilizando um aparelho de célula de difusão de Franz, composto por seis compartimentos, dos quais três foram dedicados à avaliação do híbrido hidrogel (LAPSP 1%) e três para avaliação do creme comercial de sulfadiazina de prata a 1%, realizando assim o teste em triplicata. A solução receptora utilizada foi o tampão fosfato (PBS) pH 7,4, uma vez que a sulfadiazina de prata apresenta liberação máxima nestas condições (Mangindaan *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2021).

Para a realização do ensaio, membranas artificiais hidrofílicas de acetato de celulose foram empregadas como substitutas do modelo de pele animal. Essas membranas foram colocadas entre os compartimentos doador e receptor, previamente umedecidas com o meio receptor por 24 horas. O compartimento doador foi preenchido com 100 mg do híbrido (LAPSP 1%) e a mesma quantidade do creme comercial de sulfadiazina de prata a 1% (CCSP 1%) e o compartimento receptor foi totalmente preenchido com o tampão fosfato pH 7,4. A temperatura do compartimento receptor foi mantida a $37 \pm 0,5$ °C utilizando um banho termostático com circulador de água (Vendidandala *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2021).

Todos os compartimentos foram continuamente agitados à mesma velocidade, e o volume total dos compartimentos receptores foi coletado em intervalos regulares de 10, 30, 60, 120, 180, 360, 720 e 1440 minutos, sendo substituídos por igual volume de solução receptora. Posteriormente, essas amostras foram analisadas utilizando um espectrofotômetro UV-vis no comprimento de onda de 256 nm, para a determinação de sulfadiazina de prata permeada (Mangindaan *et al.*, 2012; Lucero *et al.*, 2013; Khan *et al.*, 2021).

4.6 Atividade antibacteriana de hidrogéis de laponita® e sulfadiazina de prata

As concentrações inibitórias mínimas foram determinadas em placas de microdiluição de 96 poços seguindo a metodologia preconizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* M07-A09 (CLSI, 2012).

4.6.1 Padronização do inóculo

Para este estudo, foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Após o repique das cepas em ágar Mueller Hinton e crescimento de 24 horas a 35 ± 2 °C em estufa bacteriológica, foram preparados os inóculos, onde colônias bacterianas isoladas na placa de

Petri foram selecionadas e diluídas em caldo Mueller Hinton até obter uma suspensão correspondente a escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) (CLSI, 2012). Para tal, o inóculo foi padronizado no espectrofotômetro UV/VIS em um comprimento de onda de 620nm até que se obtivesse uma absorbância entre 0,063 e 0,070. Posteriormente, os inóculos foram diluídos em caldo Mueller Hinton numa proporção de 1:20 para que estivessem em torno de $7,5 \times 10^6$ UFC/ml para serem utilizados nos experimentos.

4.6.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Para avaliação antibacteriana *in vitro*, foram testadas os hidrogéis com as duas concentrações de SP, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%, o hidrogel sem o fármaco, LAP 3,8% e uma formulação comercial de sulfadiazina de prata 1%. Em placas de microdiluição estéreis de fundo redondo de 96 poços foram adicionados 90 μ L de caldo Mueller Hinton, para cada poço, e então adicionou-se 129 mg (correspondente a 100 μ L, densidade hidrogel= 1,29 g) do hidrogel LAPSP 1% nas três primeiras colunas da placa e a mesma quantidade de hidrogel LAPSP 1,2% nas outras três colunas subsequentes. Posteriormente, foram feitas diluições seriadas com uma pipeta calibrada de 100 μ L desprezando a última diluição para que, dessa forma, todos os poços tenham o mesmo volume de 200 μ L. As concentrações utilizadas nos testes foram de 1000 – 7,8125 μ g/ml para LAPSP 1% e 1200 – 9,375 μ g/ml para LAPSP 1,2%. Os poços D, E e F da coluna 8 foram designados para controle positivo contendo 100 μ L do caldo MH e 10 μ L do inóculo. Para controle negativo, foi adicionado aos poços D, E e F da coluna 7 apenas o caldo Mueller Hinton estéril, sendo adicionado a todos os outros poços 10 μ L do inóculo. Logo após a micropipetagem, as placas foram incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Finalizado o período de incubação, foram adicionados em cada poço 20 μ L do reagente TCC (trifenil tetrazolio cloreto 2,3,5) na concentração de 2%, o reagente foi preparado em água esterilizada, e após 1 hora de incubação foi realizado a leitura visual. A utilização do reagente TCC facilita verificar o crescimento microbiano, a não mudança de coloração indica ausência de crescimento microbiano, enquanto a cor vermelha indica a presença de células viáveis em crescimento. A CIM foi definida como a menor concentração de LAPSP 1% e LAPSP 1,2% que inibiu o crescimento bacteriano, evidenciado pela ausência de alteração de cor (CLSI, 2012).

Visando maior fidedignidade e reprodutibilidade do estudo, os ensaios foram realizados em triplicata.

4.6.3 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

A Concentração Bactericida Mínima foi obtida por meio da semeadura, em Ágar Mueller Hinton, de alíquotas de 10 μ L das diluições correspondentes a CIM, uma diluição acima e uma abaixo. Posteriormente, foram incubadas por 24h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em estufa bacteriológica. A CBM foi considerada a menor concentração que impediu o crescimento visível das bactérias ou permitiu a formação de até três Unidades Formadoras de Colônias (UFC). As concentrações na qual se observou nulidade de crescimento ou menos de 3 UFC, foram consideradas bactericidas (Pozzatti *et al.*, 2009). O experimento foi realizado em triplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Propriedade reológicas do hidrogel formado

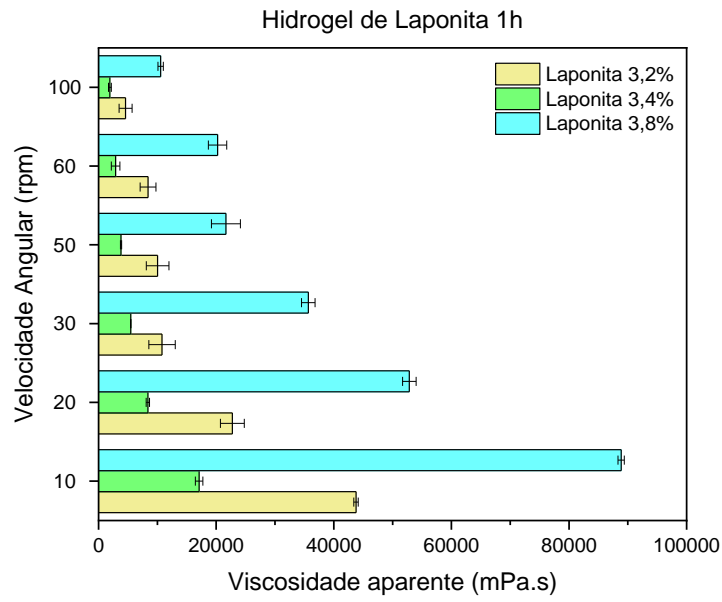
5.1.1 Viscosidade

A análise reológica proporciona informações sobre a estrutura física ou química dos géis, modelando tanto o comportamento dinâmico quanto o fluxo, assim como as transições sólido-líquido (Cui; Zhang; Han, 2020). Entre os parâmetros reológicos, a viscosidade é o mais amplamente estudado. Ela avalia a resistência de um material à deformação ou ao fluxo por atrito, assim como o tempo de fluxo de uma solução, dependendo de suas propriedades físico-químicas e da temperatura aplicada (Lopes *et al.*, 2019). Em formulações farmacêuticas, esse parâmetro desempenha um papel crucial na taxa de liberação do princípio ativo no local de ação e na melhoria da estabilidade. Além disso, compreender as propriedades de fluxo de um gel destinado à aplicação tópica pode ser fundamental para prever sua aceitação pelos consumidores.

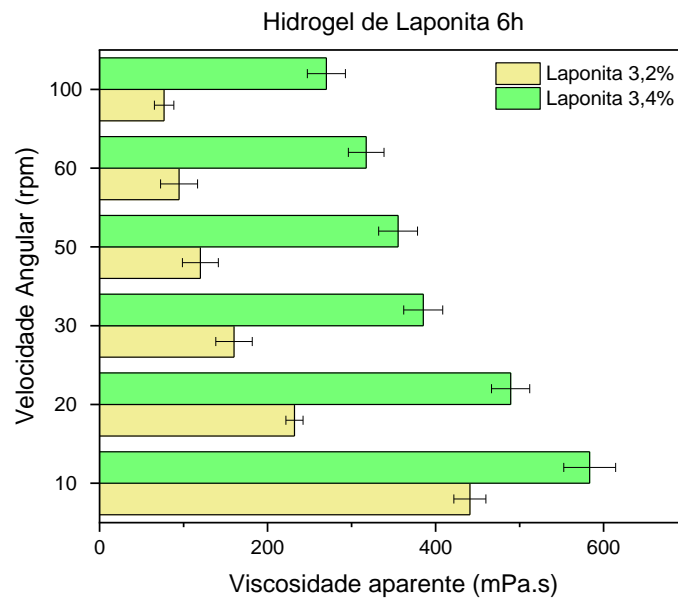
O comportamento reológico da suspensão coloidal de partículas da LAP é ilustrado na Figura 7. O aumento da viscosidade aparente está diretamente relacionado à concentração de sólidos de LAP, uma vez que isso aumenta a capacidade de absorção de água pelo material, resultando em um aumento de volume e na formação subsequente do gel. Observou-se que o processo de gelificação ocorreu de forma mais rápida em formulações com maior concentração de LAP (Laponita® 3,8%), ocorrendo em cerca de 1 hora, em comparação com formulações de menor concentração (Laponita® 3,2% e Laponita® 3,4%), corroborando com o resultado obtido por Rodrigo *et al.* (2024) que descreveu que o tempo de gelificação aumenta significativamente com a redução da concentração de Laponita®. Ainda assim, a relação entre o aumento da viscosidade e o tempo não segue uma tendência linear, como observado anteriormente por Suterio *et al.* 2022.

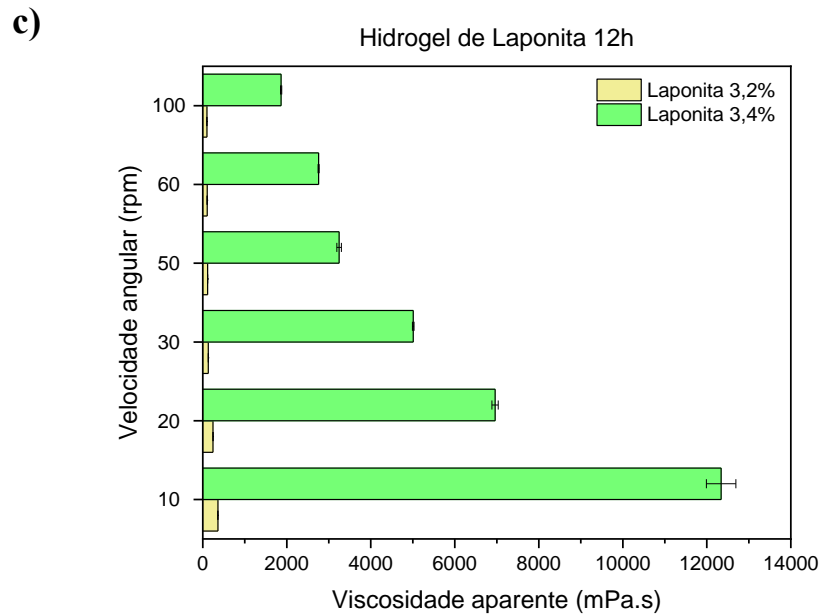
Figura 7- Viscosidade do hidrogel em concentrações de 3,2, 3,4 e 3,8% em diferentes tempos de formação (a) 1 hora; (b) 6 horas e (c) 12 horas.

a)



b)





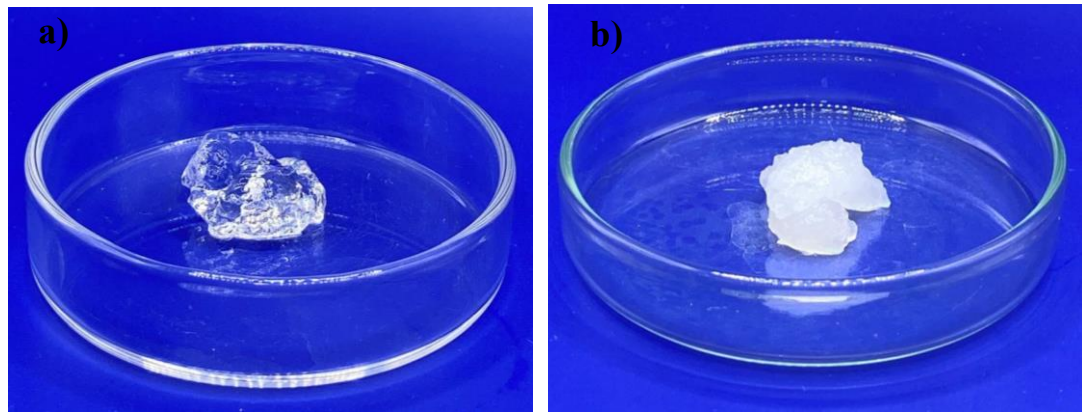
Fonte: dados da pesquisa.

5.1.2 Espalhabilidade

A espalhabilidade é a capacidade de uma formulação se distribuir quando submetida a uma determinada força. Ela reflete as condições de esforço necessárias para que uma formulação semissólida se espalhe sobre uma superfície, sendo uma característica essencial das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica (Borghetti; Knorst, 2006).

O hidrogel de LAP 3,8%, a LAPSP1% são exibidos na Figura 8. É possível observar que o gel LAP 3,8% é transparente, com a adição de SP 1%, ajustado a pH 5,0, altera a aparência do hidrogel. Isso é devido a adição de eletrólitos, particularmente de um eletrólito cujos íons tornam-se fortemente hidratados, o material coloidal perde sua água de solvatação para esses íons e coagula, ou seja, ocorre um efeito de precipitação por sal (“salt out”). Um exemplo disso foi realizado pelo estudo de Bujok, 2022, onde verificou que sais de fosfato afeta a transparência, a estabilidade dimensional e a resistência dos hidrogéis de Laponita, desempenhando assim um papel significativo na rede e nas propriedades mecânicas dos hidrogéis finais.

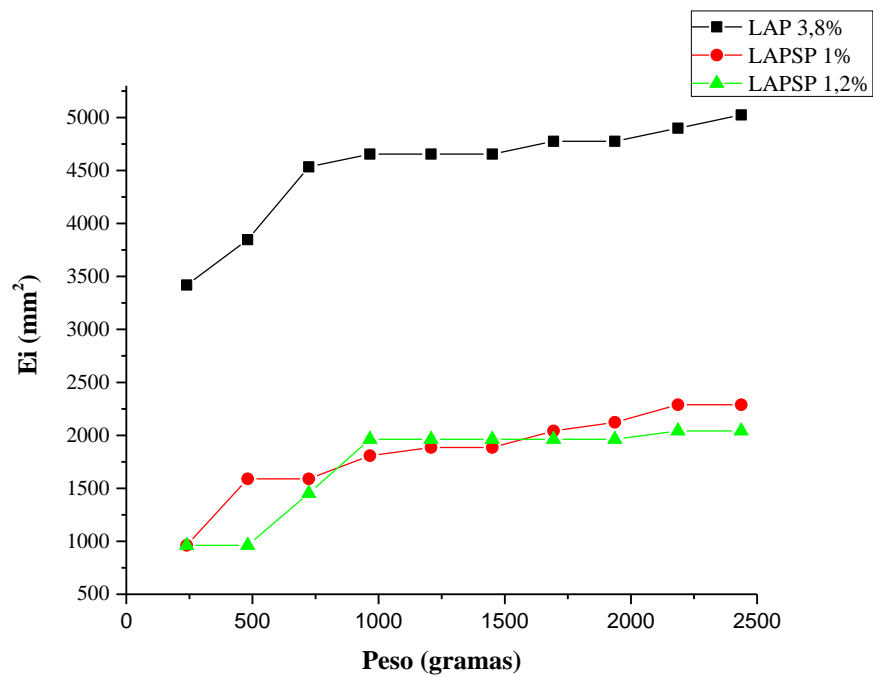
Figura 8- Hidrogel de a) LAP 3,8%, e b) LAPSP1%.



Fonte: Dados da pesquisa.

Assim sendo, conforme exibido na Figura 9, a espalhabilidade tanto do hidrogel LAP 3,8% quanto das formulações, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%, aumentaram à medida que o peso foi adicionado, indicando capacidade de espalhamento e cobertura da área afetada. No entanto, o hidrogel LAP 3,8% demonstraram um perfil de espalhabilidade superior em comparação as formulações.

Figura 9- Espalhabilidade do hidrogel LAP 3,8% e das formulações LAPSP 1% e LAPSP 1,2% em função do peso.



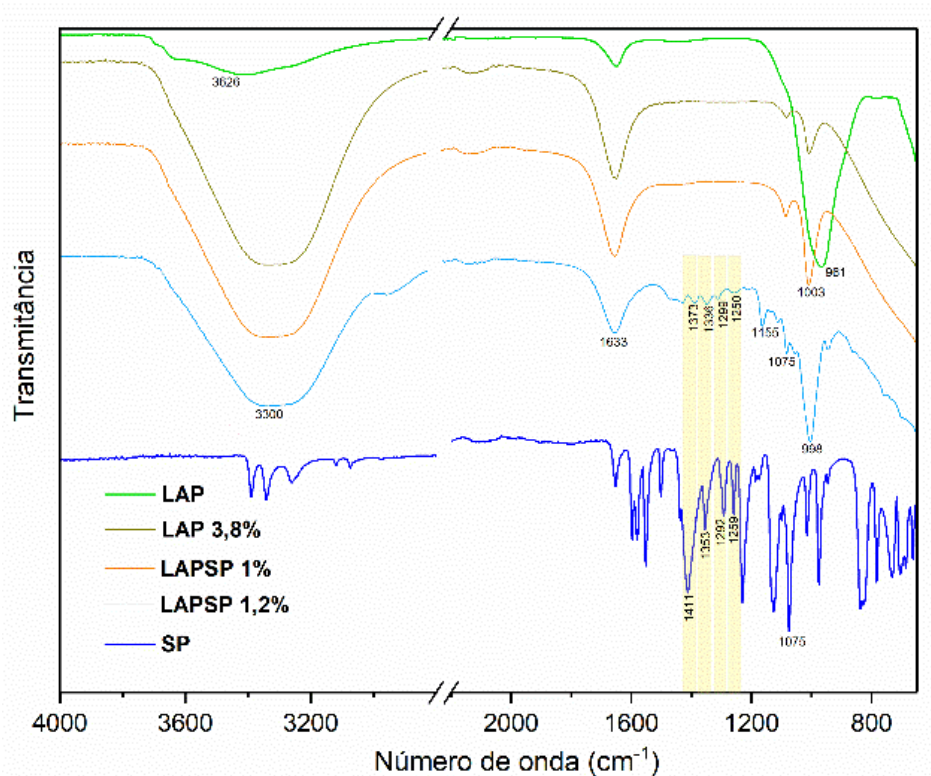
Fonte: Dados da pesquisa

5.2 Análise FTIR

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada para detectar a possível ocorrência de interações químicas entre os componentes dos híbridos, evidenciadas pela identificação de bandas relacionadas aos grupos funcionais presentes nesses compostos. Os espectros de FTIR são exibidos na Figura 10. Em relação a SP, os espectros exibiram bandas de absorção em 1655 cm^{-1} correspondente à flexão do grupo funcional $-\text{NH}_2$, em 1411 cm^{-1} vibração esquelética da pirimidina e em 1292 e 1075 cm^{-1} vibrações de estiramento assimétrico do grupo SO_2 . Esses achados são congruentes aos relatados por Luo *et al.* (2020).

A LAP pura apresentou bandas de vibração de estiramento e a vibração de flexão do grupo $-\text{OH}$ em 3626 e 1633 cm^{-1} , respectivamente, além de vibração de tração do grupo Si-O-Si em 961 cm^{-1} dentro das folhas octaédricas da argila. Com a formação do hidrogel LAP 3,8%, bandas de $-\text{OH}$ foram deslocadas para valores de 3300 cm^{-1} e aumentaram a intensidade devido a rede tridimensional formada a partir das partículas de LAP com a água, o mesmo acontece quando uma concentração de 1% (LAPSP 1%), é adicionada de SP. Com o aumento da concentração de SP no híbrido LAPSP 1,2%, algumas bandas da SP são exibidas com alguns deslocamentos e redução da intensidade que são indicativos da preservação do aspecto químico do fármaco durante a produção do hidrogel (SILVA, *et al.*, 2023).

Figura 10- Espectros de infravermelho da LAP isolada, Sulfadiazina de prata isolada, LAP 3,8%, LAPSP 1% e LAPSP 1,2%.

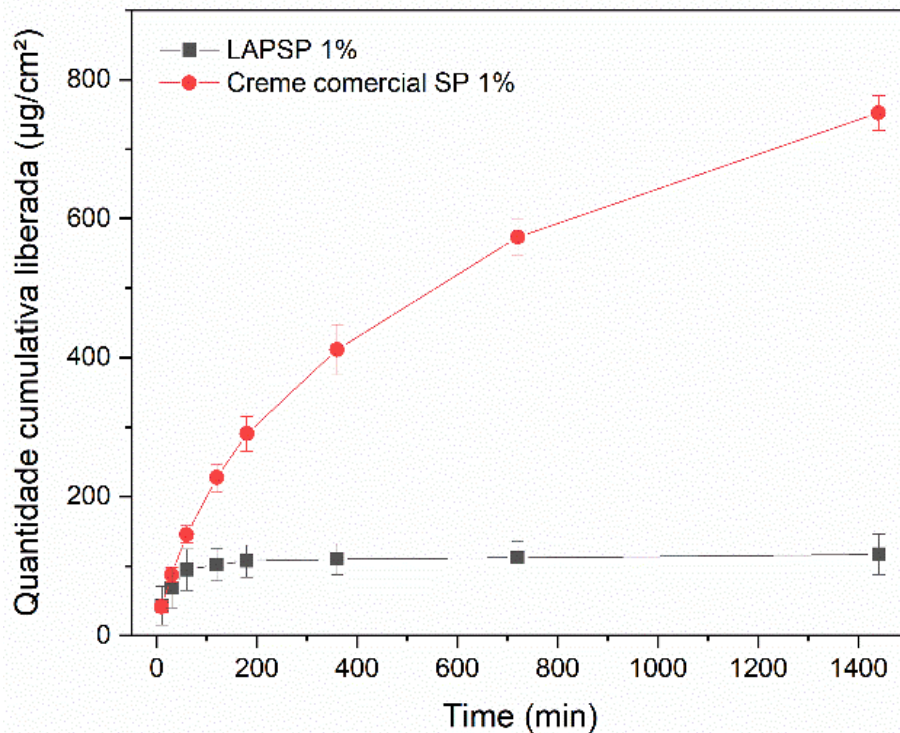


Fonte: Dados da pesquisa.

5.3 Estudo da liberação *in vitro* por células de difusão de Franz

A análise dos resultados do estudo de liberação está representada na Figura 11, mostrando os perfis de liberação do hidrogel LAPSP 1% e do creme comercial de SP 1% (CCSP 1%). Para o CCSP 1%, a liberação de SP aumentou ao longo do tempo, com 145,61 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (14,5%) liberados em 60 minutos, enquanto para o LAPSP 1%, 94,65 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (9,46%) foram liberados no mesmo período. Após 24 horas, a liberação de SP no CCSP 1% atingiu 752,34 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (75,23%), enquanto para o LAPSP 1%, foi de 117,1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (11,71%). Portanto, o hidrogel formado a partir de LAPSP 1% apresentou uma taxa de liberação controlada e sustentada ao longo de 24 horas em comparação à formulação comercial CCSP 1%. Isso sugere que a formulação com SP pode permanecer na ferida por mais tempo, exercendo sua ação terapêutica durante o tratamento sem a necessidade de troca frequente de curativo, o que pode resultar em maior adesão do paciente ao tratamento.

Figura 11- Liberação *in vitro* do híbrido via difusão por células de Franz.



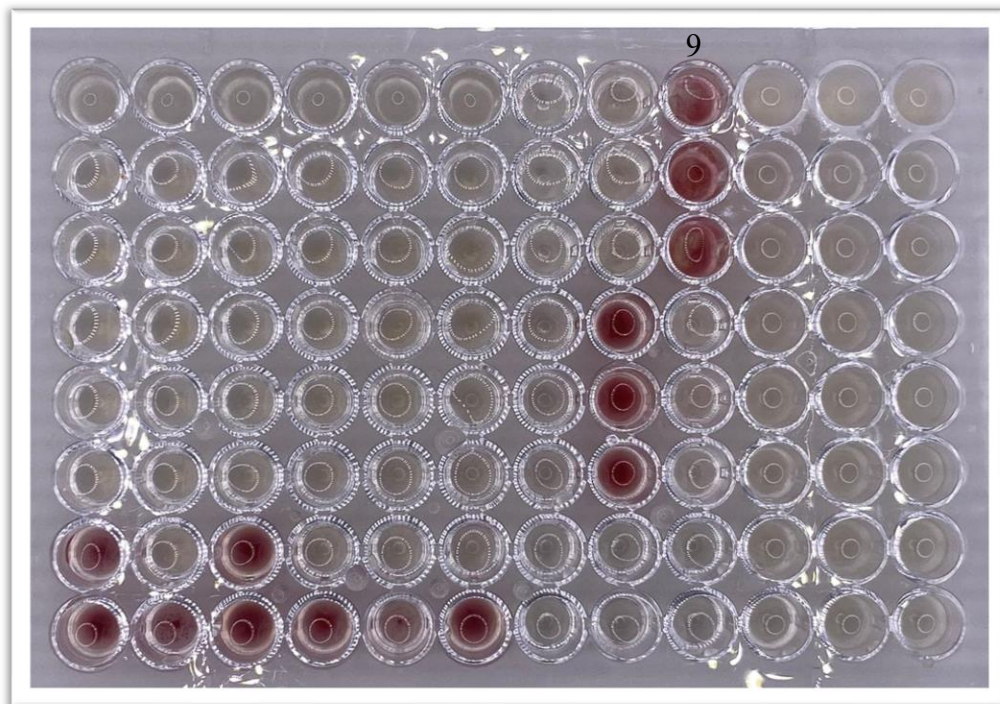
Fonte: Dados da pesquisa.

5.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima é definida como a mais baixa concentração de uma substância capaz de limitar o crescimento visível de determinado microrganismo. Nesse experimento, os resultados desses testes, foram determinados a partir de três experimentos independentes, cujos valores obtidos foram idênticos.

A LAP 3,8% não demonstrou efeito antibacteriano dentro da faixa de concentração testada para os três microrganismos (Figura 12). Em um estudo anterior realizado por Hamilton *et al.* (2019), a LAP XL21 também não evidenciou atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus epidermidis* e *Cutibacterium acnes*) e gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*). De acordo com os autores, os cátions intercalados na LAP eram predominantemente Na^+ as quais não possuíam atividade antibacteriana intrínseca (Hamilton *et al.*, 2019). Portanto, qualquer efeito observado deve ser atribuído, em princípio, à incorporação da sulfadiazina de prata nas amostras.

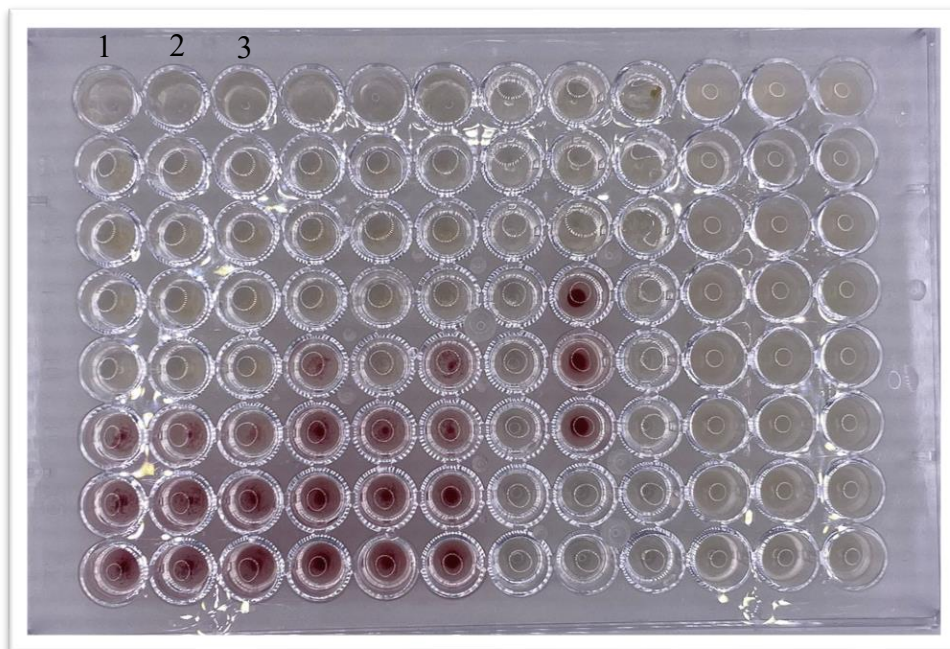
Figura 12- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM, coluna 9, linha A, B e C é possível visualizar a coloração vermelha indicando a presença de células bacterianas viáveis demonstrando que o hidrogel LAP 3,8% não apresentou atividade antibacteriana nessa concentração.



Fonte: Dados da pesquisa.

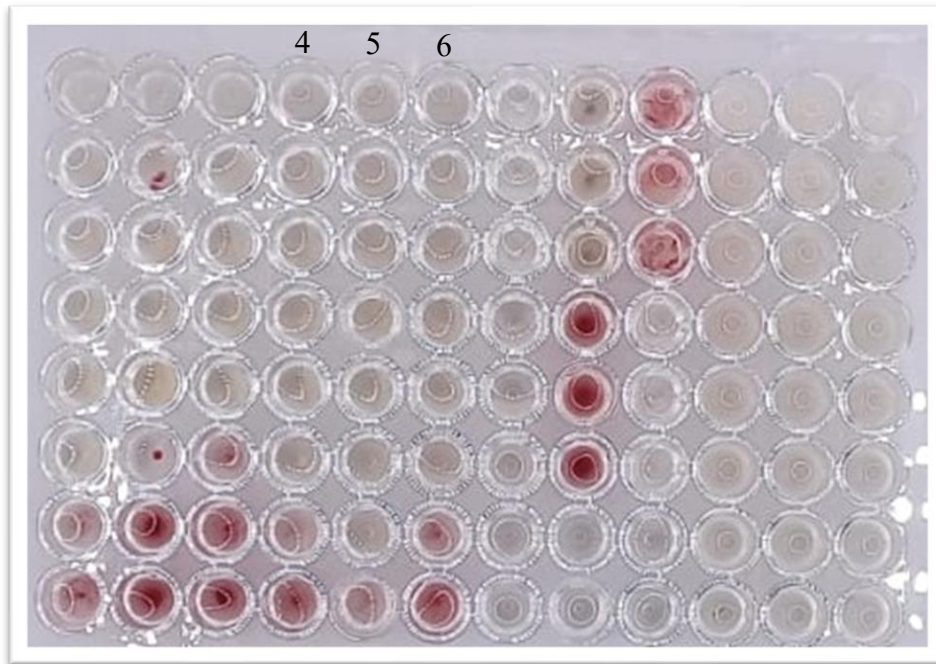
Os resultados da microdiluição em caldo frente a *Escherichia coli* demonstraram cinco poços com ausência aparente de crescimento (sem modificação da coloração do reagente trifênil tetrazolio cloreto 2,3,5) para a formulação LAPSP 1% e seis poços sem alteração de cor para a formulação LAPSP 1,2%. Os valores do CIM das formulações de LAPSP 1% e LAPSP 1,2% foram, respectivamente, 62,5 µg/ml (Figura 13) e 37,5 µg/ml (Figura 14). Esses resultados são semelhantes aos relatados por Evangelista (2020), ao qual avaliou a ação da sulfadiazina de prata em um complexo de polieletrólítico supramolecular κ-carragena-quitosana ancorado com B-CD para liberação controlada da sulfadiazina de prata, descrevendo concentração inibitória mínima de 64 µg/ml contra *Escherichia coli*. Um sistema bastante complexo foi desenvolvido para retardar a liberação do fármaco. Em contrapartida, a formulação desenvolvida nesta pesquisa utiliza apenas um único excipiente, apresentando resultados eficazes.

Figura 13- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM frente a *Escherichia coli*. As colunas 1, 2 e 3 foram utilizadas para a formulação LAPSP 1% sendo possível ver a ausência de crescimento até os poços E.



Fonte: Dados da pesquisa.

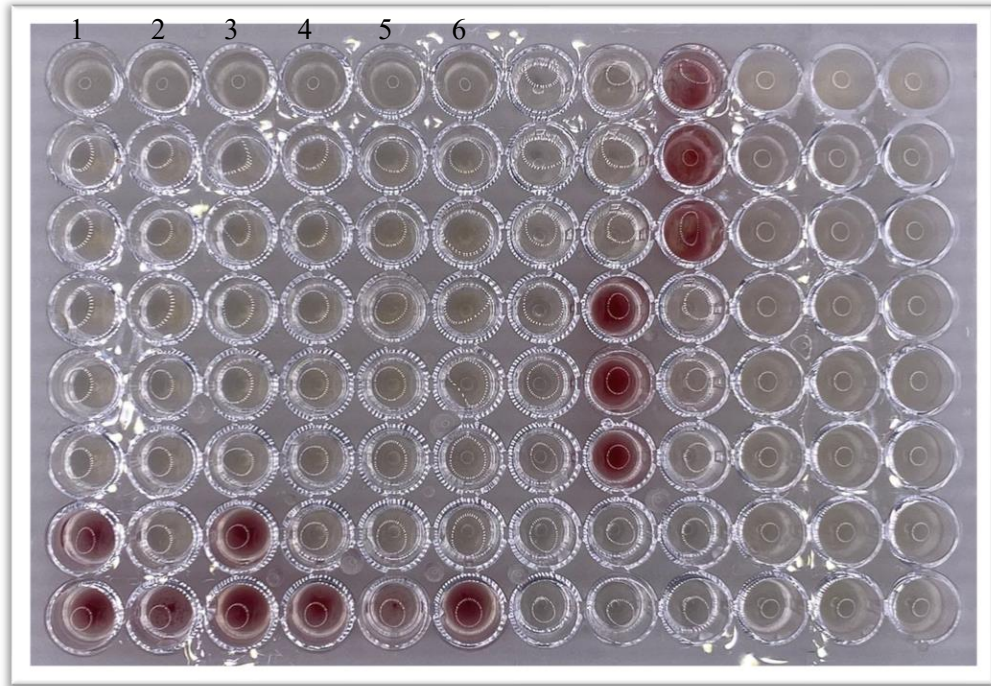
Figura 14- Placa de 96 poços ao término do teste da CIM frente a *Escherichia coli*. As colunas 4, 5 e 6 foram utilizadas para a formulação LAPSP 1,2%, visualiza-se a ausência de crescimento até os poços F.



Fonte: Dados da pesquisa.

Já para *Pseudomonas aeruginosa*, a concentração inibitória mínima para a formulação LAPSP 1% e LAPSP 1,2% foram, respectivamente, 31,25 $\mu\text{g/ml}$ e 18,75 $\mu\text{g/ml}$, como é possível observar na Figura 15. Os estudos de Peixoto (2017) e Deutsch (2014) demonstraram resultados do MIC semelhantes. No estudo de Peixoto, ao qual avaliaram a atividade da sulfadiazina de prata de forma isolada, (2017), as cepas analisadas apresentaram crescimento inibido até a concentração de 32 $\mu\text{g/ml}$, enquanto os resultados obtidos por Deutsch (2014) exibiram variações no valor do CIM, com valores de 32 $\mu\text{g/ml}$ (21%), 64 $\mu\text{g/ml}$ (10%), e 128 $\mu\text{g/ml}$ (64%). Este achado ressalta a disparidade nos padrões de resistência dentro de uma mesma espécie bacteriana, sublinhando a crucial necessidade de monitorar regularmente a suscetibilidade aos antibacterianos.

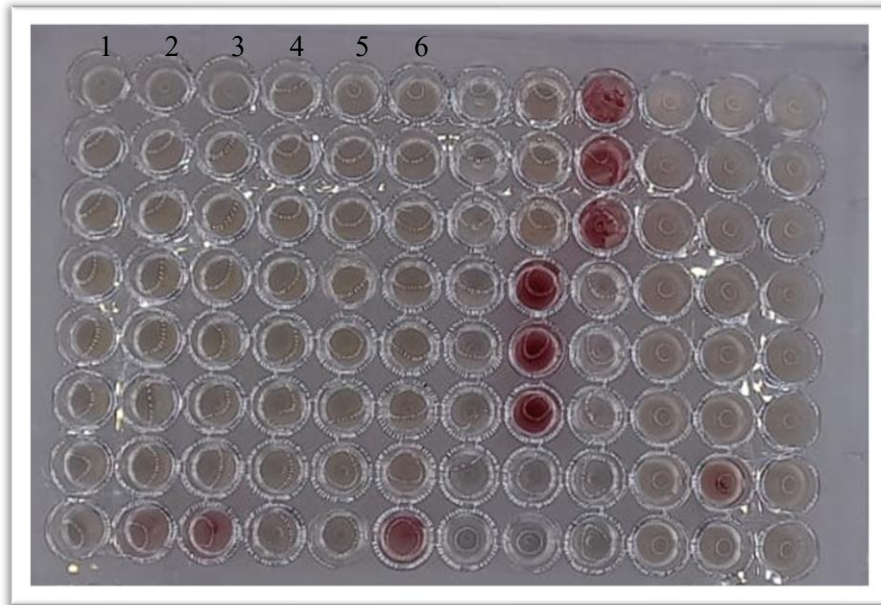
Figura 15- Placa de 96 poços ao término da CIM para *Pseudomonas aeruginosa*. Nas colunas 1,2 e 3 (destinadas para a formulação LAPSP 1%) é possível perceber a ausência visual de crescimento até os poços F. As colunas 4, 5 e 6 (LAPSP 1,2%) visualiza-se a ausência de crescimento até os poços G.



Fonte: Dados da pesquisa.

Com relação a bactéria gram-positiva, *Staphylococcus aureus*, a CIM obtida para a formulação LAPSP 1% foi de 31,25 $\mu\text{g/ml}$ e para LAPSP 1,2% consistiu em 18,75 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 16), corroborando com os resultados obtidos por Peixoto (2017) e Deutsch (2014) que verificaram a ação da sulfadiazina de prata frente a cepas de *Staphylococcus aureus* através do MIC, ambos obtendo concentrações de inibição de 32 $\mu\text{g/ml}$.

Figura 16- Placa de 96 poços ao término da MIC para *Staphylococcus aureus*. Nas colunas 1, 2 e 3 (destinadas para a formulação LAPSP 1%) é possível perceber a ausência visual de crescimento até os poços F. As colunas 4, 5 e 6 (LAPSP 1,2%) visualiza-se a ausência de crescimento até os poços G.

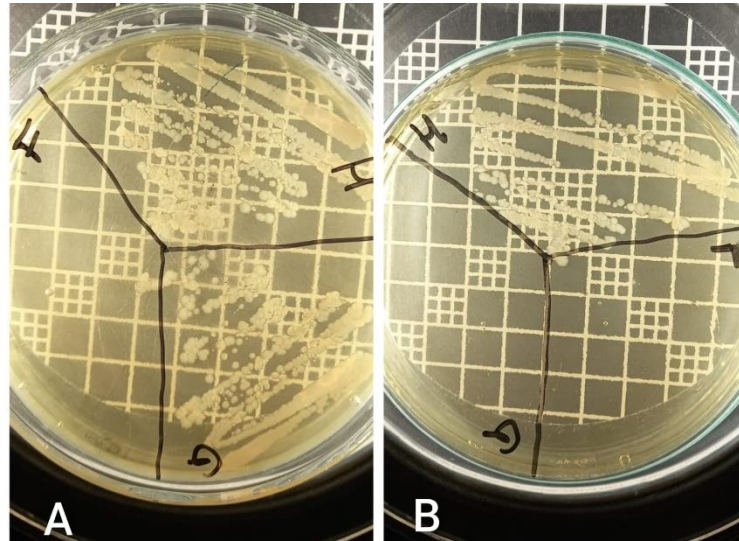


Fonte: Dados da pesquisa.

5.5 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

O plaqueamento das formulações contra *Escherichia coli* exibiu valores de CBM de 62,5 $\mu\text{g/ml}$ para LAPSP 1%, onde apresentou nulidade de crescimento bacteriano na concentração correspondente ao poço E (Figura 17) e para LAPSP 1,2% a CBM foi de 18,75 $\mu\text{g/ml}$ apresentando nulidade de crescimento na concentração correspondente ao poço F (Figura 14).

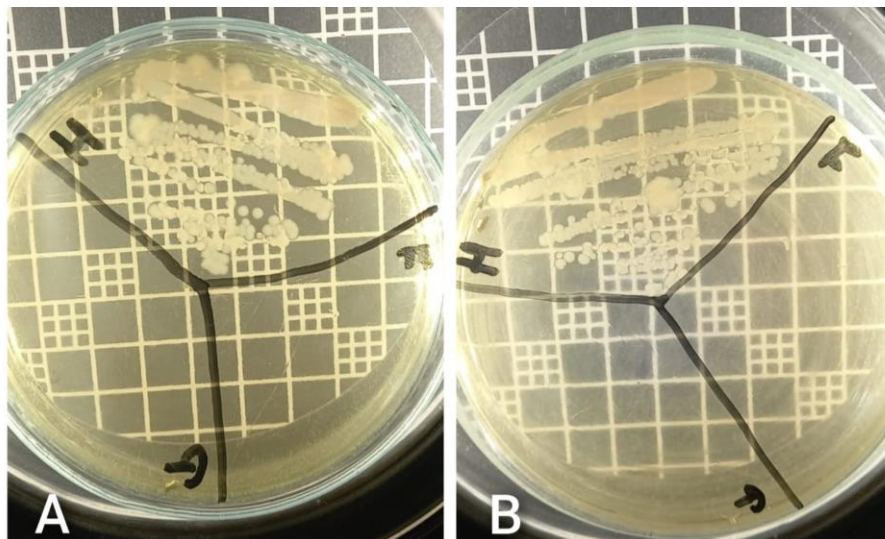
Figura 17- Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Escherichia coli*.



Fonte: Dados da pesquisa.

Já para *Pseudomonas aeruginosa*, a CBM apresentou valores de 31,25 $\mu\text{g/ml}$ para LAPSP 1% e para LAPSP 1,2% a CBM foi de 18,75 $\mu\text{g/ml}$, ambas formulações exibiram nulidade de crescimento nos poços F (Figura 18).

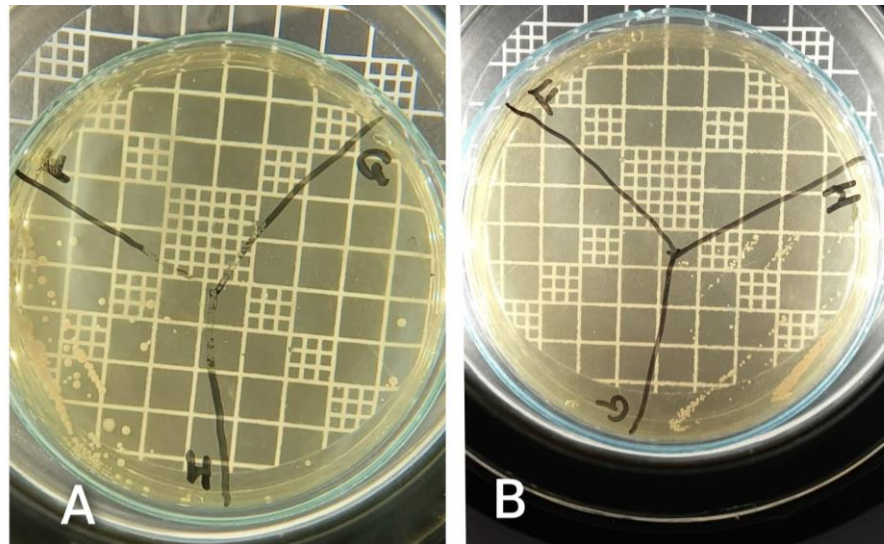
Figura 18-Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: Dados da pesquisa.

Em relação à bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, a CBM para a formulação LAPSP 1% foi de 31,25 $\mu\text{g/ml}$, onde houve crescimento de três unidades formadoras de colônias. Para a formulação LAPSP 1,2%, a CBM foi de 37,5 $\mu\text{g/ml}$, apresentando ausência de crescimento bacteriano nessa concentração (Figura 19).

Figura 19- Plaqueamento das amostras em ágar Mueller Hinton exibindo a CBM das formulações LAPSP 1% (a) e LAPSP 1,2% (B) contra *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Dados da pesquisa.

6 CONCLUSÃO

O desenvolvimento e avaliação de formulações dermatológicas tópicas são de extrema importância, devido aos benefícios em relação a outras vias de administração, e nesse sentido, o argilomineral Laponita®, como único excipiente no desenvolvimento do hidrogel foi eficaz, a partir de 3,8% do argilomineral. A adição do fármaco SP aumenta a resistência a espalhabilidade do produto, sob a pele, devido a organização e interações químicas inerente do argilomineral com o fármaco. E esse aumento da concentração aumenta a probabilidade de cristalização do fármaco na matriz. Ainda, é importante destacar que quando comparado ao creme comercializado no mercado, a LAPSP 1% demonstrou liberação controlada ao longo do tempo, por um período de 24 horas, além de expressarem atividade antibacteriana contra cepas presentes em lesões cutâneas crônicas.

Assim, os resultados demonstram a potencialidade dos híbridos LAPSP como formulações curativas/antibacteriana e que pode representar uma nova proposta terapêutica para pacientes com lesões cutâneas crônicas sem necessidade de troca diária, com melhor aderência ao tratamento. Além de que, esta formulação e projeto, devido a facilidade produção e baixo custo podem beneficiar e proporcionar a inovação tecnológica com formulações mais seguras e eficazes para os usuários do Sistema Único de Saúde (SUS).

REFERÊNCIAS

- ALVARADO-GOMEZ, E. *et al.* Evaluation of anti-biofilm and cytotoxic effect of a gel formulation with Pluronic F-127 and silver nanoparticles as a potential treatment for skin wounds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 92, p. 621–630, 1 nov. 2018.
- Avcı, P. *et al.* Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. **In Semin Cutan Med Surg**, v. 32 issue 1, 2013.
- BRAGA, A. S. **Estudo das propriedades ópticas e elétricas dos sistemas laponita e nanocompósitos de laponita/pontos quânticos**, 2019. Dissertação (Mestrado em Física da Matéria Condensada) - Faculdade de Física, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde (2016). **Manual do pé diabético: Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 7 abr, 2016. Disponível em: https://www.as.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/06/manual_do_pe_diabetico.pdf
- BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. RBCF. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 531–537, 1 dez. 2006.
- CUI, J.; ZHANG, Z.; HAN, F. Effects of pH on the gel properties of montmorillonite, palygorskite and montmorillonite-palygorskite composite clay. **Applied clay science**, v. 190, p. 105543–105543, 1 jun. 2020.
- DEUTSCH, G. **Influência da balneoterapia na descolonização de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes queimados internados em um hospital público localizado na cidade do Rio de Janeiro**, 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2014.
- EVANGELISTA, T. F. S. **Síntese de complexo polieletrólítico supramolecular κ -carragena-quitosana ancorado com B-CD para sistema de liberação controlada do fármaco sulfadiazina de prata**, 2020. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2020.
- GARCIA, J. A. F.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A. Efeito do pH, espécie e concentração iônica na absorção de água de hidrogéis bionanocompósitos constituídos de CMC/PAAM/LAPONITA® RDS. **Química Nova**, 2019.
- GHADIRI, M. *et al.* Laponite clay as a carrier for in situ delivery of tetracycline. **RSC Advances**, p. 20193–20201, 2013.
- HAMILTON, A. R. *et al.* Formulation and antibacterial properties of clay mineral-tetracycline and -doxycycline composites. **Applied clay science**, v. 179, p. 105148–105148, 1 out. 2019.
- HE, S. *et al.* Double crosslinked polyvinyl alcohol/gelatin/silver sulfadiazine sponges with excellent antibacterial performance. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 643, p. 128737–128737, 1 jun. 2022.

HELENA, J. *et al.* Beyond silver sulfadiazine: A dive into more than 50 years of research and development on metal complexes of sulfonamides in medicinal inorganic chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 490, p. 215228–215228, 1 set. 2023.

HESS, C. T. *Clinical guide to skin and wound care*. **Lippincott Williams e Wilkins**, 2012.

HEYNEMAN, A. *et al.* The role of silver sulphadiazine in the conservative treatment of partial thickness burn wounds: A systematic review. *Burns*, [S. l.], v. 42, n. 7, p. 1377–1386, 2016.

JANGRA, S. *et al.* Improved antimicrobial property and controlled drug release kinetics of silver sulfadiazine loaded ordered mesoporous silica. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 4(3), 282–288, 2016.

KHAN, M. U. A. *et al.* Smart and pH-sensitive rGO/Arabinosyl/chitosan composite for wound dressing: In-vitro drug delivery, antibacterial activity, and biological activities. *International Journal of Biological Macromolecules* v. 192, p. 820–831, 1 dez. 2021.

KHODAMI, S. *et al.* Antioxidant ability and increased mechanical stability of hydrogel nanocomposites based on N-isopropylacrylamide crosslinked with Laponite and modified with polydopamine. *European Polymer Journal*, v. 187, p. 111876–111876, 1 abr. 2023.

KIAEE, G. *et al.* Laponite-Based Nanomaterials for Drug Delivery. **Advanced Healthcare Materials**, John Wiley and Sons Inc, 1 abr. 2022.

KIM, Minseok *et al.* Investigation of age-related changes in the skin microbiota of Korean women. *Microorganisms*, v. 8, n. 10, p. 1581, 2020.

LANGE M. K.; HEBERLE, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 45, n. 1, p. 145–151, 1 mar. 2009.

LIPSKY, B. A. *et al.* Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clinical infectious diseases*, v. 54, n. 12, p. e132-e173, 2012.

LOPES, E. M. X; CASTILHO, F. L. M; CASTRO, V. C. F. Análises de qualidade de xampus de cetoconazol 2% manipulados em farmácias magistrais de Porto Velho, RO, Brasil. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, v. 31, p. 155-162, 2019.

LUO, T. *et al.* Co-delivery of superfine nano-silver and solubilized sulfadiazine for enhanced antibacterial functions. *International journal of pharmaceutics*, v. 584, p. 119407–119407, 1 jun. 2020.

MACDONALD, A. *et al.* Evidence of differential microbiomes in healing versus non-healing diabetic foot ulcers prior to and following foot salvage therapy. *Journal of Orthopaedic Research®*, v. 37, n. 7, p. 1596-1603, 2019.

M07-A9 **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Ninth Edition. [S. l.], 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=564ceedf5e9d97daf08b45a2&assetKey=AS%3A297254750572544%401447882463055>.

MANGINDAAN, D.; CHEN, C. T.; WANG, M. J. Integrating sol–gel with cold plasmas modified porous polycaprolactone membranes for the drug-release of silver-sulfadiazine and ketoprofen. **Applied Surface Science**, v. 262, p. 114–119, 1 dez. 2012.

MELO, D. F. **Desenvolvimento e caracterização de filmes de quitosana/álcool polivinílico contendo sulfadiazina de prata e um derivado n-acilidrazônico**, 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2021.

NUNES, J. H. B. *et al.* Beyond silver sulfadiazine: A dive into more than 50 years of research and development on metal complexes of sulfonamides in medicinal inorganic chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 490, p. 215228, 2023.

OH, J. *et al.* Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. **Nature**, v. 514, n. 7520, p. 59-64, 2014.

OLIVEIRA, F. A. S. **Desenvolvimento de um sistema híbrido a partir do argilomineral laponita® para liberação controlada do cloridrato de terbinafina**, 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

OLIVEIRA, M. F. *et al.* Lesões cutâneas em membros inferiores em diabéticos e não diabéticos: estudo de sobrevivência. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 40, p. e20180016, 2019.

PEIXOTO, B. U. **Ação in vitro da sulfadiazina de Prata em *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* identificados em úlceras crônicas**, 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação e Licenciatura em Enfermagem) - Escola de Enfermagem Aurora de Afonso Costa, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2017.

PITITTO, B. A. *et al.* Branched-chain amino acids predict incident diabetes in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health – ELSA-Brasil. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 174, p. 108747–108747, 1 abr. 2021.

POZZATTI, P. *et al.* Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. **Mycoses**, v. 53, n. 1, p. 12-15, 2010.

RODRIGO, M. J. *et al.* Laponite for biomedical applications: An ophthalmological perspective. **Materials Today Bio**, v. 24, p. 100935–100935, 1 fev. 2024.

ROSA, A. **Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação simultânea de antibacterianos associados a corticosteroides**, 2017. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2017.

- SANTOS, D. M. S. *et al.* Fibras eletrofiadas como curativos inteligentes para o tratamento de lesões cutâneas na pele. *In: MERCANTE, L. A.; CORRÊA, D. S. (org.). Eletrofição e nanofibras: fundamentos e aplicações.* Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2023. cap. 8.
- SATOR, P. G. Skin treatments and dermatological procedures to promote youthful skin. **Clinical interventions in aging**, v. 1, n. 1, p. 51-56, 2006.
- SHAO, Q. *et al.* Laponite stabilized endogenous antibacterial hydrogel as wet-tissue adhesive. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 145, p. 106009–106009, 1 set. 2023.
- SILVA, M. M. P. *et al.* Utilização de nanopartículas no tratamento de lesões cutâneas: revisão sistemática. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 51, 2017.
- SINGH, R. *et al.* Silver sulfadiazine loaded core-shell airbrushed nanofibers for burn wound healing application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 613, p. 121358–121358, 1 fev. 2022.
- SOLTANI, S.; AKHBARI, K.; PHURUANGRAT, A. Improved antibacterial activity by incorporation of silver sulfadiazine on Nanoporous Cu-BTC Metal-organic-framework. **Inorganica Chimica Acta**, v. 543, p. 121182–121182, 1 dez. 2022.
- SOLÉ-BOLDO, L. *et al.* Single-cell transcriptomes of the human skin reveal age-related loss of fibroblast priming. **Communications biology**, v. 3, n. 1, p. 188, 2020.
- SUTERIO, N. *et al.* Laponite® gel formulation containing simvastatin for melanoma treatment. **Applied Clay Science**, v. 228, p. 106651, 1 out. 2022.
- TOMÁS, H.; ALVES, C. S.; RODRIGUES, J. Laponite®: A key nanoplatform for biomedical applications? **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 14, n. 7, p. 2407–2420, 1 out. 2018.
- VICENTINE, A. B. **A utilização do hidrogel com papaína no tratamento de lesões cutâneas em pés diabéticos**, 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.
- WAIDMAN, M. A. P. *et al.* O cotidiano do indivíduo com ferida crônica e sua saúde mental. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 20, n. 4, p. 691–699, out. 2011.
- WANG, G. *et al.* Colonizing microbiota is associated with clinical outcomes in diabetic wound healing. **Advanced drug delivery reviews**, v. 194, p. 114727, 2023.
- ZHOU, J. *et al.* Thermosensitive black phosphorus hydrogel loaded with silver sulfadiazine promotes skin wound healing. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 21, n. 1, 15 set. 2023.