



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO DE POMADA PROTETORA À BASE DE
NANOESTRUTURAS DE GÁLIO COMO ALTERNATIVA DE UM NOVO
ANTIMICROBIANO**

VICTOR DE ALBUQUERQUE WANDERLEY SALES

Recife

2020

VICTOR DE ALBUQUERQUE WANDERLEY SALES

**DESENVOLVIMENTO DE POMADA PROTETORA À BASE DE
NANOESTRUTURAS DE GÁLIO COMO ALTERNATIVA DE UM NOVO
ANTIMICROBIANO**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Recife
2020

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso
(CRB4 1728)

Sales, Victor de Albuquerque Wanderley

Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de Gálio como alternativa de um novo antimicrobiano / Victor de Albuquerque Wanderley Sales – 2020.

121 f.: il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, 2020.

Inclui referências e apêndices.

1. Nanotecnologia 2. Química medicinal 3. Materiais amorfos I. Rolim Neto, Pedro José (orient.) II. Título

620.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2020-190

VICTOR DE ALBUQUERQUE WANDERLEY SALES

**DESENVOLVIMENTO DE POMADA PROTETORA À BASE DE
NANOESTRUTURAS DE GÁLIO COMO ALTERNATIVA DE UM NOVO
ANTIMICROBIANO**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Larissa de Araújo Rolim
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof. Dr. Leslie Raphael de Moura Ferraz
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Rodolfo Hideki Vicente Nishimura (Membro Suplente)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Membro Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Genilson e Claudia, aos meus avós, Marcos e Creusa, e a todos os meus amigos e familiares, que sempre acreditaram no meu potencial e sempre foram a base para as minhas conquistas. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter colocado ao meu lado pessoas especiais, que me motivaram, que me deram força e apoio para continuar sempre em frente com meus objetivos.

Aos meus pais e meus avós, que são os meus exemplos, meu infinito agradecimento. A Darwinho, que me fez parar diversas vezes e perceber que se divertir também faz parte do processo. À toda minha família, que durante minha vida me estimulou a sempre dar o melhor de mim.

À Gustavo, que me acompanhou durante toda a graduação, intercâmbio e pós-graduação, sendo meu parceiro de profissão e de vida. Obrigado por estar presente em todos os momentos, me ouvindo, dando força e incentivo. Te agradeço pelo companheirismo e pelas risadas. Você foi essencial durante todos esses anos.

Aos amigos sinceros e verdadeiros que conquistei durante a graduação e que levarei para o resto da vida (Manoel, Nayara, Crisdiano, Melissa, Emmanuelle, Rebeca, Lucas), pela amizade, conselhos e por terem alegrado os meus dias. Agradeço também à Jéssica Hora, Marcelino, Dea, Pedro, Renata, Marília e a vários outros amigos que apesar da distância, sei que torcem por mim.

Aos integrantes do grupo “Analítico da Depressão” (Camila, Taysa, Paulo, Marcos, Joanellys, Aline Bascui e Pollyne). Vocês não sabem a importância que vocês tiveram durante esse meu tempo no LTM. Obrigado pelos momentos de reflexão e mais importante ainda, pelos momentos de risadas. Amo vocês.

À Camila, que tanto me acalma nos momentos de desespero, que sempre me empurra para seguir em frente com seu jeito delicado de ser, que tanto me ajuda no desenvolvimento dos meus trabalhos acadêmicos.

À Myla, que madrugou comigo montando meu projeto de doutorado, e que tanto me ajudou na escrita dos artigos e na revisão da dissertação. Obrigado por ter estado disponível em ajudar e por ser sempre tão solícita. Você foi fundamental pra mim.

À Taysa, que eu tive a sorte de ter não apenas como parceira de pesquisa com o Gálio, mas de ter como uma grande amiga e parceira de risadas. Sem você esse trabalho não seria o mesmo.

Aos demais amigos que ganhei no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos e que também me ajudaram nesse processo: Emerson, Ilka, Laysa, Maria Clara,

Marcelo, Natália, Alessandra, Widson, Larissa e vários outros.

À Leandro, meu primo, que mais do que um exemplo de profissional, é um exemplo de ser humano. Obrigado por todos os ensinamentos e oportunidades. Aprendi muito com você.

Aos amigos que fiz em Detroit, e que se permaneceram presentes na minha vida. Vocês foram a minha família quando mais precisei. Obrigado Jéssica, Rafael, Guta, Ivo, Laís, Rosanne, Verônica, Rodrigo, Carol, Layna, e muitos outros.

À minha grande amiga Tainá, por todo o apoio nesses tantos anos de amizade. Obrigado Artur Braz, pela amizade e por sempre estar disponível.

Ao Professor Pedro, meu orientador, líder e pai científico, por ter dado o suporte necessário para a realização deste trabalho, por ter me aceito em sua equipe de braços abertos e por ter acreditado tanto no meu potencial em todos os momentos. O senhor é um exemplo para mim.

À Professora Rosali, que tanto me põe para cima e que também tanto me ensina.

À banca avaliadora (Prof. Larissa, Prof. Leslie, Prof. Lamartine e Prof. Rodolfo), pela disponibilidade, e por trazer tantos levantamentos importantes para o crescimento do meu trabalho.

Aos laboratórios, professores e técnicos parceiros ao LTM, como os professores Marco Sacilotti, Thaysa Stanfford, ao CETENE, Sérgio Santos, ao departamento de Física da UFPE, ao Instituto de Criminalística do Estado de Pernambuco, que permitiram a realização de ensaios complementarem e que foram tão importantes para este trabalho.

À cada um dos profissionais da UFPE que de forma direta ou indireta, contribuíram de alguma forma (os profissionais da limpeza, da secretaria, da coordenação). À Paulo Germano, secretário do PPGIT, por ter dado todo o suporte necessário.

À cada professor que tive na minha vida.

Sem cada um de vocês este trabalho não seria possível. Vocês todos foram fundamentais para mim. Obrigado a todos aqueles cujos nomes não foram citados, mas que fazem parte importante neste trabalho e nesta etapa da minha vida.

“O mundo está cheio de perguntas para aqueles que têm olhos para vê-las.”
(Charles Darwin).

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre o ombro de gigantes”
(Isaac Newton).

RESUMO

As feridas crônicas são comumente associadas a complicações, incluindo infecção local, atraso na cicatrização e resistência antimicrobiana, o que, combinados com a escassez de desenvolvimento de antibióticos com novos mecanismos de ação, são considerados uma grande ameaça à saúde global. Diversos estudos relatam propriedades terapêuticas do gálio, destacando-se como agente antitumoral, anti-inflamatório e antimicrobiano. O gálio (III) apresenta semelhança química com o ferro (III), principalmente em relação a carga elétrica, diâmetro e configuração eletrônica, e desta forma desregula os processos biológicos de microrganismos ferro-dependentes, apresentando menos chance de desenvolvimento de resistência antimicrobiana frente aos tratamentos convencionais. Baseado nisso, o presente trabalho relata a síntese e caracterização de três nanoestruturas de gálio, com diferentes níveis de oxidação, cristalinidade / amorfização. As nanoestruturas de gálio foram produzidas por meio da técnica de *Metal Organic Chemical Vapor Deposition* (MOCVD) e oxidação por *Chemical Vapor Deposition* (CVD), utilizando como precursor o Trietilgálio (TEGa). As amostras foram caracterizadas por Difração de Raio X (DRX), Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA), Tamanho de Partícula, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS), Espectroscopia Raman e Espectroscopia de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). A amostra obtida do filtro do equipamento MOCVD (GaMOCVD-F) não apresentou halos de difração de característica cristalina, diferente das demais amostras, sugerindo seu estado amorfo, além de menor tamanho de partícula (162 nm - 9,67 μ m), sendo a opção mais indicada para uso em formas farmacêuticas. Dessa forma, a amostra GaMOCVD-F foi testada de forma preliminar (138 μ g/mL a 23 μ g/mL) *in vitro* frente aos microrganismos *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*, mostrando resultados promissores pelo indicador resazurina e utilizada no desenvolvimento de pomada como uma potencial alternativa antimicrobiana no tratamento de feridas infeccionadas.

Palavras-chave: Química inorgânica. Nanoestruturas. Materiais amorfos. Química medicinal.

ABSTRACT

Chronic wounds are commonly associated with complications, including local infection, delayed healing and antimicrobial resistance, which, combined with the lack in the development of antibiotics with new mechanisms of action, are considered a major threat to global health. Studies report different pharmacological properties of the chemical element gallium, including therapeutic potential as antitumor, anti-inflammatory and antimicrobial agent. Gallium (III) shows chemical similarity to iron (III) in relation to the number of coordination, electrical charge, diameter and electronic configuration, therefore enabling it to interact with cellular processes and important proteins of iron metabolism, deregulating the biological processes of tumor cells and microorganisms, presenting less chance of developing therapeutic resistance than conventional therapy. In this sense, the synthesis and characterization of three gallium nanostructures, with different levels of oxidation and crystallinity / amorphization, are reported in this work. The gallium nanostructures were produced from Metal Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD) process, using triethylgallium (TEGa) as precursor, and oxidation by Chemical Vapor Deposition (CVD). The samples were characterized by X-ray Diffraction (XDR), Thermogravimetry and Differential Thermal Analysis (DTA), Particle Size Distribution, Scanning Electron Microscopy (SEM) coupled to the Energy-Dispersive X-ray Spectrometer (EDS), Raman Spectroscopy and Fourier-Transform Infrared Absorption Spectroscopy (FTIR) with KBr. The sample obtained from the filter of the MOCVD equipment (GaMOCVD-F) did not present diffraction halos with a crystalline characteristic, different from the other samples, suggesting its amorphous state, in addition to smaller particle size (162 nm - 9.67 μm), being the most suitable option for use in pharmaceutical forms. Thus, the GaMOCVD-F sample was tested (138 μg / mL to 23 μg / mL) in vitro against the microorganisms *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans*, showing promising results for the resazurin indicator and used in development of protective ointment as an alternative antimicrobial agent in the treatment of infected wounds.

Keywords: Inorganic chemistry. Nanostructures. Amorphous materials. Medicinal chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Camadas da pele	25
Figura 2 –	As quatro fases da cicatrização: homeostase, inflamação, proliferação e remodelamento	34
Figura 3 –	Amostra de pó de gálio entrando no estado líquido após manipulação	35
Figura 4 –	Aplicações Terapêuticas do Gálio	36
Figura 5 –	Representação esquemática da deposição química de gálio, em placa de substrato de silício, sob atmosfera de nitrogênio, no equipamento de MOCVD	50
Figura 6 –	a) Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de esferas de gálio cultivadas em substrato de Si. (b) visão expandida de alta qualidade de SEM de uma microesfera de gálio, mostrando o suporte em forma de cone preso ao substrato de silício	50
Figura 7 –	Fluxograma do processo de <i>Metal Organic Chemical Vapor Deposition</i> (MOCVD) e oxidação por <i>Chemical Vapor Deposition</i> (CVD), destacando as duas amostras coletadas após o primeiro processo (GaMOCVD e GaMOCVD-F), e a amostra do reator após o processo de oxidação, OGaCVD	53
Figura 8 –	Forno de oxidação do sistema CVD, <i>Chemical Vapor Deposition</i> : (a) vista frontal e (b) vista lateral	54
Figura 9 –	Desenho esquemático do forno de oxidação do sistema CVD, <i>Chemical Vapor Deposition</i> , e o fluxo de oxigênio do cilindro do gás até o forno	55
Figura 10 –	Figura 11 – Estruturas de Gálio obtidas após o processo de síntese por MOCVD e seguido de pulverização. As gotículas evidenciam a grande concentração de gálio no material e a sua instabilidade térmica ao ser manuseada	64
Figura 11 –	Imagem do barco utilizado no forno do sistema CVD após o processo de oxidação, evidenciando em seu interior a amostra OGaCVD	65
Figura 12 –	Obtenção das três amostras após o processo de calibração do tamanho de pós pela utilização de tamis no 35 (500 μ m): OGaCVD; GaMOCVD e GaMOCVD-F	66
Figura 13 –	Difratogramas dos três diferentes pós de gálio, em diferentes níveis de cristalinidade/amorfização. OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F, apresentam seus perfis difratométricos verticalmente, de cima para baixo, respectivamente	67
Figura 14 –	Análise de tamanho de partícula por granulometria à laser, onde: (a) OGaCVD; (b) GaMOCVD; (c) GaMOCVD-F	68

Figura 15 –	Curvas termogravimétricas do OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F, com temperaturas que variam de 30- 600 °C	70
Figura 16 –	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das três diferentes nanoestruturas de gálio: OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F.....	72
Figura 17 –	Espectro de Raman das três diferentes nanoestruturas de gálio: OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F.....	73
Figura 18 –	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) com magnificações de 50.000 e 100.000X, onde: (a) e (b) OGaCVD; (c) e (d) GaMOCVD; (e) e (f) GaMOCVD-F	76
Figura 19 –	Alguns modelos esquemáticos de diferentes estruturas adotadas por partículas de gálio durante sua formação no equipamento de MOCVD ou CVD	77
Figura 20 –	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra de GaMOCVD-F com magnificações de 50.000x, apresentando alguns dados relativos ao tamanho das partículas amorfas	78
Figura 21 –	Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) por percentual atômico (At%) e peso atômico (Wt%), onde: (a) OGaCVD; (b) GaMOCVD; (c) GaMOCVD-F	79
Figura 22 -	Suspensão de GaMOCVD-F, à esquerda (A), obtida para ser utilizada nos ensaios in vitro, e à direita (B), a solução “branco”, constituída pelos veículos da suspensão, para ser utilizada como controle	81
Figura 23 -	Concentração Inibitória Mínima da amostra GaMOCVD-F (µL/mL) frente aos microrganismos <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) e <i>Candida albicans</i> (ATCC 1106) após 24h	84
Figura 24 -	Comparativo entre os cinco lotes de bancadas obtidos com a amostra GaMOCVD-F.....	86

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 –	Frequência de colonização microbiana e grau de patogenicidade por meio de métodos de detecção clínica e molecular	29
Tabela 1 -	Constituintes de cada linha e coluna da placa de 96 poços, e concentrações de GaMOCVD-F utilizadas	59
Tabela 2 -	Divisão esquemática da placa de 96 poços com os microrganismos testados com a amostra GaMOCVD-F, exceto para a linha H, onde não houve adição da amostra	60
Tabela 3 -	Obtenção de lotes de bancada da pomada e suas composições	61
Tabela 4 –	Relação entre o diâmetro médio das amostras de OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F, com seus respectivos percentuais de partículas nanométricas	69
Tabela 5 –	Comparação dos resultados das caracterizações das amostras OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F pelas análises de Tamanho de Partícula por Granulometria à Laser e Espectroscopia por Energia Dispersiva	80
Tabela 6 -	Porcentagem de inibição microbiológica da amostra GaMOCVD-F ($\mu\text{L/mL}$) frente aos microrganismos <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida albicans</i> após 24h	85
Tabela 7 -	Tabela 7 – Valores de pH dos cinco lotes de bancada da pomada de GaMOCVD-F.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina Difosfato
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
At%	Percentual atômico
CVD	<i>Chemical Vapor Deposition</i>
DFO	Complexo de gálio e desferrioxamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DR-X	Difração de raios-X
DTA	Análise térmica diferencial
ECDC	Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças
EDS	Espectroscopia por energia dispersiva
ERO	Espécies Reativas do Oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF-2	Fator de Crescimento de Fibroblastos
FICI	Índice de Concentração Inibitória Fracionária
FTIR	espectroscopia de absorção no IV com transformada de Fourier
FWHM	Largura Total na Metade do Máximo
Ga-CMC	Complexo gálio-carboximetilcelulose
GaM	Maltolato de Gálio
GaMOCVD	Amostra obtida pelo equipamento de MOCVD
GaMOCVD-F	Amostra obtida do filtro do equipamento de MOCVD
Ga _x O _y	Óxido de gálio amorfo
IFA	Insumos farmacêuticos ativos
IFN	Interferons
IL	Interleucina
IV	Infravermelho
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MIC	Crescimento Inibitório Mínimo
MMPs	Metaloproteínases de Matriz
MOCVD	<i>Metal Organic Chemical Vapor Deposition</i>
OGaCVD	Óxido de gálio obtido no forno do equipamento de CVD
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PET	Tomografias por Emissão de Pósitrons

SPECT	Tomografia de Emissão do Fóton Único
TEGa	Trietilgálio
TG	Termogravimetria
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TNTs	<i>gallium-doped titania nanotubes</i>
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
Wt%	Peso atômico

LISTA DE SÍMBOLOS

Au	Elemento químico Ouro
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ϵ	Épsilon
κ	Capa
θ	Teta
λ	Lambda
Å	Ångström
°C	Graus Celsius
cm ³	Centímetro cúbico
Fe	Elemento químico Ferro
Fe ²⁺	Cátion ferroso
Fe ³⁺	Cátion férrico
g	Gramma
Ga	Elemento químico Gálio
Ga ³⁺	Cátion gálico
h	Hora
i/p	Via intra-peritoneal
Kv	Kilovolt
L	Litro
m	Metro
mA	Microampère
mg	Miligramma
mL	Mililitro
mM	Milimolar
N ₂	Gás Nitrogênio
nm	nanometro
rpm	Rotações por minuto
sccm	Centímetros cúbicos de gás por minuto
slm	Taxa de fluxo de gás

Sr	Estrôncio
$t_{1/2}$	Tempo de meia vida plasmático
torr	Equivalente a mmHg
μm	micrômetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	OBJETIVOS.....	22
1.1.1	Objetivo Geral	22
1.1.2	Objetivos Específicos	22
2	REFERÊNCIAL TEÓRICO	25
2.1	PELE	25
2.2	FERIDAS.....	26
2.2.1	Feridas Agudas	27
2.2.2	Feridas Crônicas	27
2.2.3	Infecção de feridas	28
2.3	CICATRIZAÇÃO	30
2.3.1	Fases da cicatrização de feridas	30
2.3.1.1	Fase 1 – Hemostasia	31
2.3.1.2	Fase 2 – Inflamação	31
2.3.1.3	Fase 3 – Granulação/proliferação	32
2.3.1.4	Fase 4 – Remodelamento/maturação	32
2.4	GÁLIO	34
2.4.1	Características físico-químicas	34
2.4.2	Aplicações médicas	35
2.4.2.1	Agente de Diagnóstico	37
2.4.2.2	Atividades antimicrobianas	39
2.4.2.3	Atividades antifúngicas	42
2.4.2.4	Atividades anti-inflamatórias	43
2.4.2.5	Atividades antitumorais	46
2.4.2.6	Hipercalcemia	47
2.4.3	Segurança, Toxicidade e Farmacologia	48
2.5	PREPARO DE NANOESTRUTURAS DE ORGANOMETÁLICOS	49
2.5.1	<i>Metal Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD)</i>	49
2.5.2	<i>Chemical Vapor Deposition (CVD)</i>	50
3	MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE GÁLIO	53
3.1.1	<i>Metal Organic Chemical Vapor Deposition (MOCVD)</i>	53

3.1.2	Oxidação por Chemical Vapor Deposition (CVD)	54
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE GÁLIO	55
3.2.1	Difratometria de raios-X (DRX)	55
3.2.2	Tamanho de partícula por granulometria à laser	56
3.2.3	Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	56
3.2.4	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	57
3.2.5	Espectroscopia Raman	57
3.2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)	57
3.3	ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE CITOTOXICIDADE	58
3.3.1	Preparo das amostras	58
3.3.2	Atividade Citotóxica e Cultivo Celular	58
3.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO	59
3.5	OBTENÇÃO DA POMADA DE NANOESTRUTURAS DE GÁLIO EM LOTES DE BANCADA (LB)	61
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1	OBTENÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE GÁLIO	64
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS DE GÁLIO	66
4.2.1	Difratometria de Raios-X (DR-X)	66
4.2.2	Tamanho de Partícula por Granulometria à Laser	68
4.2.3	Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)	70
4.2.4	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	71
4.2.5	Espectroscopia Raman	73
4.2.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)	75
4.3	ESTUDO <i>IN VITRO</i> DE CITOTOXICIDADE	81
4.4	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO	83
4.5	OBTENÇÃO E CONTROLE DA POMADA DE NANOESTRUTURAS DE GÁLIO EM LOTES DE BANCADA (LB)	86
5	CONCLUSÃO	89
6	PERSPECTIVAS	91
	REFERÊNCIAS	92
	APÊNDICES	114

APÊNDICE A – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO. THERAPEUTIC APPLICATIONS OF GALLIUM COMPOUNDS	115
APÊNDICE B – ARTIGO CIENTÍFICO PUBLICADO. A SYSTEMATIC REVIEW OF THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF GALLIUM COMPOUNDS	116
APÊNDICE C – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO. RADIOMARCAÇÃO COM GÁLIO NA IDENTIFICAÇÃO DE TUMORES.....	117
APÊNDICE D – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO. EFEITOS ANTICÂNCER DOS COMPOSTOS DE GÁLIO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE ESTUDOS IN VIVO	118
APÊNDICE E – RESUMO COMPLETO APRESENTADO EM ANAIS DE EVENTOS. COMPOSTOS A BASE DE GÁLIO NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES FÚNGICAS	119
ANEXO	120
ANEXO A - ESQUEMA DO SISTEMA DE <i>METAL ORGANIC CHEMICAL VAPOR DEPOSITION</i> (MOCVD).....	121

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As feridas, principalmente as crônicas, representam um problema global que custa bilhões de dólares por ano nos países desenvolvidos e constituem um sério problema de saúde pública, prejudicando a qualidade de vida da população, principalmente em idosos (DAESCHLEIN, 2013; RESENDE et al., 2006). As feridas crônicas raramente se desenvolvem em indivíduos saudáveis e frequentemente estão associadas a condições pré-existentes que complicam a cicatrização de feridas, como *diabetes mellitus* e doenças vasculares, e estão muitas vezes associadas a infecções microbianas, incluindo infecção local, atraso na cicatrização e disseminação de bactérias multirresistentes (DAESCHLEIN, 2013; SMITH; SHARP, 2019).

A resistência antimicrobiana dificulta a prevenção e o tratamento efetivo de um crescente número de infecções causadas por bactérias, fungos, vírus e parasitas, que, combinados com a escassez de desenvolvimento de novos antibióticos com novos mecanismos de ação, são considerados uma grande ameaça à saúde global devido à geração de cepas multirresistentes (SANTOS, 2004; VENTOLA, 2015).

Uma alternativa para superar a resistência antimicrobiana é o uso de metais (drogas metálicas) para combater microrganismos, interferindo em seu metabolismo bioquímico (RAI, 2013). O mecanismo de ação desses metais está frequentemente associado a interferências em funções celulares críticas, como síntese de DNA e resistência ao estresse oxidativo (ABDALLA et al., 2015; BARREIROS et al. 2006; ADERBAL; JÚNIOR; PINHO, 2007).

Segundo Chitambar (2016), o gálio (III) apresenta propriedades químicas semelhantes ao ferro (III) e portanto, pode substituí-lo em processos bioquímicos de microrganismos ferro-dependentes. Assim, o gálio (III) atua como um “cavalo de Tróia”, uma vez que não sofre o processo de redução ao ser incorporado, como ocorre normalmente com o Fe^{+2} , impedindo a síntese de DNA em microrganismos patogênicos (CHOI; BRITIGAN; NARAYANASAMY, 2019). Assim, essa capacidade do gálio pode ser explorada como uma alternativa terapêutica não só em processos infecciosos, seja por bactérias, fungos e parasitas, mas também em processos que apresentam alta demanda de ferro, como em vários tipos de câncer e em diversos processos inflamatórios (LESSA; PARRILHA; BERALDO, 2012; RAMALHO, 2017; SALES et al., 2020).

Em comparação com a antibioticoterapia sistêmica, a aplicação tópica tem muitas vantagens potenciais, como a possibilidade de manter uma concentração alta e sustentada de antimicrobiano no local de infecção, potencial limitado para absorção sistêmica e toxicidade, menor chance de desenvolvimento de resistência a antibióticos por se evitar seu uso sistêmico, e uma melhor adesão ao tratamento, entre outras (GELMETTI, 2008). Os antimicrobianos tópicos têm sido tradicionalmente formulados como pomadas, que são mais oclusivas, permitindo uma menor perda de umidade local e menor chance de nova contaminação, e dessa forma, são melhores para lesões crônicas e secas (LIPSKY; HOEY, 2009).

Segundo Daudt e colaboradores (2013), a utilização de compostos nanométricos em formas farmacêuticas apresenta melhor estabilidade físico-química, maior superfície de contato para interação com microrganismos, além de uma melhor permeabilidade na pele. Além disso, o processo de amorfização em vários compostos pode trazer características mais lábeis, em comparação com as estruturas cristalinas, podendo ser utilizado com o objetivo de aumento da velocidade de liberação de fármacos e agilizando o processo de cura de doenças (OLIVEIRA, 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho se propôs em comparar, do ponto de vista farmacêutico, três amostras de nanoestruturas de gálio em diferentes graus de oxidação e amorfização / cristalinidade com o objetivo de se desenvolver na forma de pomada uma alternativa antimicrobiana para futura utilização por via tópica. Além disso, a amostra com as propriedades físico-químicas mais indicadas foi testada *in vitro* frente a microrganismos importantes que acometem a saúde da pele.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver pomada à base de nanoestruturas organometálicas de Gálio, como uma alternativa terapêutica para o tratamento de feridas crônicas infeccionadas.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar nanoestruturas de Gálio pela técnica de MOCVD;
- Oxidar parte da amostra obtida pela técnica de CVD;

- Caracterizar as nanoestruturas de Gálio por diferentes técnicas;
- Executar os estudos preliminares *in vitro* de citotoxicidade;
- Realizar os estudos preliminares *in vitro* de atividade antimicrobiana;
- Realizar o estudo de pré-formulação para o desenvolvimento racional da pomada;
- Obter lotes de bancada por meio de planificação qualitativa e quantitativa da pomada incorporada com as nanoestruturas de Gálio.

REFERENCIAL TEÓRICO

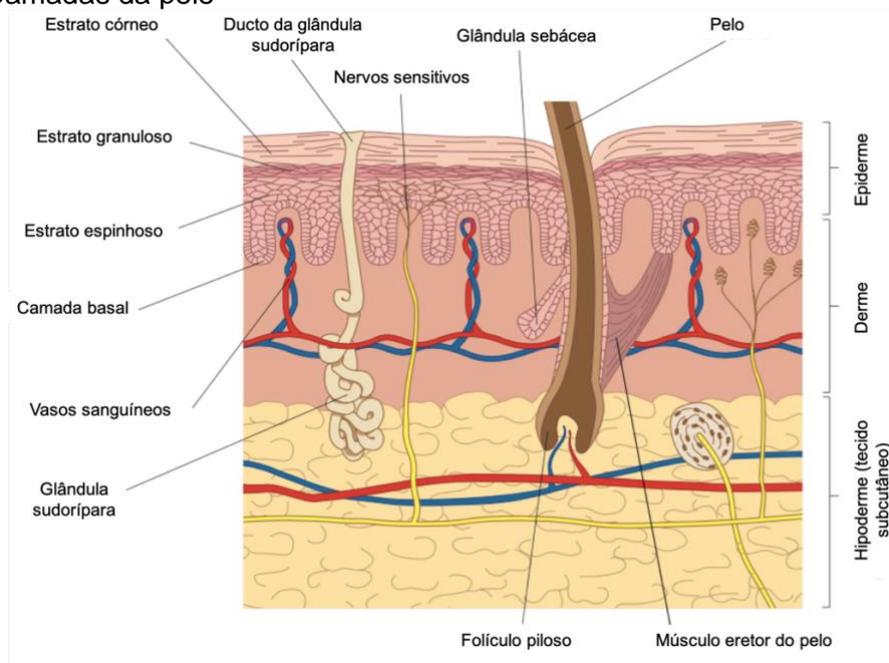
SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 PELE

A pele, indispensável para a sobrevivência humana e funcionamento fisiológico, é considerada o maior órgão do corpo humano, representando cerca de 15% do peso corporal de um adulto, e apresenta um tecido epitelial complexo, como pode ser observado na Figura 1. Ao sofrer agressões provenientes de fatores patológicos intrínsecos e extrínsecos, sua estrutura pode ser afetada, ocasionando incapacidade funcional (LAI-CHEONG; MCGRATH, 2017).

Figura 1 - Camadas da pele



Fonte: Adaptado de Voegeli et al., 2012.

No seu estado íntegro e saudável, a pele desempenha um papel crucial na manutenção da homeostase fisiológica do corpo humano, apresentando ações na síntese de vitamina D, excreção de água e sais, armazenamento de água e lipídeos, entre outras. Por isso, desempenha um papel fundamental na proteção contra forças mecânicas e infecções, desequilíbrio de fluidos e desregulação térmica (WANG et al., 2017a; VOEGELI et al. 2012). A camada superior da pele, a epiderme e, em particular, a parte mais externa da epiderme, conhecida como estrato córneo, são os principais responsáveis por essas ações.

À nível celular, a configuração da pele é semelhante à do “tijolo e da argamassa”, com as células da pele parecendo tijolos e lipídios da pele (óleos) semelhantes à argamassa. Na literatura este modelo “tijolo-argamassa” é bastante relatado. A ceramida é o tipo mais abundante de lipídio da pele e ajuda a criar a funcionalidade de barreira protetora. Os queratinócitos produzem lipídios da pele e ajudam a manter sua hidratação, preenchendo as lacunas entre as células, criando a pele intacta (RAWLINGS 2010; DOUGHTY 2016; MUFTI et al., 2016).

A pele é colonizada por vários microrganismos, que geralmente são inofensivos (como grande parte das bactérias saprófitas) ou até benéficos para o hospedeiro. Estima-se que 1 cm³ de pele contenha até três milhões de bactérias (FREDRICKS, 2008). A colonização da pele apresenta alta variabilidade de microrganismos, a depender da região e dos fatores ambientais endógenos e exógenos do hospedeiro. As áreas da pele que apresentam dobras, e que por isso apresentam temperatura e umidade mais altas que as demais regiões, como axila e virilha, apresentam maior chance de crescimento de bactérias que se desenvolvem bem em ambientes úmidos e quentes, como os bacilos Gram-negativos, *Corynebacterium* spp., e *S. aureus*. Já a região das costas e do peito contém um grande número de glândulas sebáceas, o que cria condições perfeitas para crescimento de microrganismos lipofílicos, como *Propionibacterium* spp. e *Malassezia* spp. (COGEN; NIZET; GALLO, 2008).

Os microrganismos simbióticos residentes na pele desempenham um papel na maturação de milhões de células T do sistema de defesa, impedindo assim a invasão de outros organismos patogênicos (COGEN; NIZET; GALLO, 2008; KOLASIŃSKI, 2019). Entretanto, em condições específicas, muitos desses microrganismos podem se tornar patogênicos, como detalhado no tópico **2.2.3**, quando há o rompimento das barreiras protetoras da pele.

2.2 FERIDAS

Os problemas relacionados com alterações na integridade da pele, como ferimentos, ulcerações e dermatoses, constituem um sério problema de saúde pública, onerando gastos públicos e prejudicando a qualidade de vida da população, principalmente em idosos (RESENDE et al., 2006). Em países como os Estados Unidos da América, por exemplo, estima-se que as despesas anuais com problemas

relacionados a feridas excedam um bilhão de dólares (SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017).

De forma geral, as feridas podem cicatrizar por intenção primária ou secundária. Quando as feridas apresentam a capacidade de serem fechadas rapidamente com suturas (as feridas agudas), o seu processo de cicatrização é denominado como intenção primária. Já nas feridas crônicas, ocorre o processo de intenção secundária, pois não apresentam um processo de cicatrização comum, ou seja, o tempo de cicatrização desse tipo de ferida é difícil de se prever (SPINCZYK; WIDEL, 2017).

2.2.1 Feridas Agudas

As feridas agudas geralmente apresentam um mecanismo de lesão facilmente identificável, e geralmente são ocasionadas por alguma forma de trauma mecânico, resultando em vários tamanhos de dano e profundidade, se apresentando em qualquer região do corpo. Elas podem resultar em lacerações simples ou complicadas, queimaduras ou em defeitos significativos no tecido, cada um exigindo tratamento e cuidados individualizados (LEE; HANSEN, 2009).

2.2.2 Feridas Crônicas

Feridas ou úlceras crônicas afetam uma proporção substancial da população e contribuem para uma carga significativa no ambiente hospitalar. As feridas crônicas podem se desenvolver a partir de uma lesão aguda da pele ou cirúrgica ou resultar do rompimento da pele previamente intacta. Pacientes com sensação de dor prejudicada, como pacientes com neuropatia sensorial, são vulneráveis a lesões repetitivas agudas e crônicas. Em alguns desses pacientes, a lesão pode passar despercebida se a área lesada não for rotineiramente inspecionada. Pacientes com diabetes, particularmente aqueles com obstrução arterial, estão em alto risco de desenvolverem esse tipo de problema (SHEEHAN et al. 2006).

Embora não haja um período de tempo específico que diferencie claramente uma ferida aguda de uma ferida crônica, as feridas crônicas estão geralmente associadas a deficiências fisiológicas que retardam ou impedem a cicatrização de feridas por um longo período de tempo (SHEEHAN et al. 2006). No entanto, a principal

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

diferença entre feridas agudas e crônicas é que estas últimas se estagnam em um estado inflamatório permanente, dificultando o processo de cicatrização, pois a inflamação mantém uma infiltração constante de células inflamatórias, que produzem uma quantidade excessiva de enzimas e espécies reativas de oxigênio (EROs) que degradam mediadores da regeneração tecidual (DIEGELMANN; EVANS, 2004; EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007; STOJADINOVIC et al. 2008). Além disso, lesões prolongadas e abertas apresentam maiores chances de infecções, como explanado no tópico 2.2.3.

Em geral, pode-se distinguir três importantes tipos de feridas consideradas crônicas: úlceras venosas, úlceras diabéticas e úlceras de pressão (SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017; SPINCZYK; WIDEL, 2017; VOWDEN; VOWDEN, 2017).

2.2.3 Infecção de feridas

A formação de biofilmes bacterianos, que dificulta bastante a eficácia de muitos tratamentos, está presente em 90% das feridas crônicas, em comparação com 6% das feridas agudas (KUCISEC-TEPES, 2016). Entretanto, as feridas agudas, como cortes, queimaduras e incisões cirúrgicas também apresentam um elevado grau de oneração aos sistemas de saúde e em quadros de infecções. Por exemplo, em casos de queimaduras, 75% das pessoas afetadas morrem já no início da infecção sistêmica decorrente da infecção local. Entre os patógenos mais prevalentes que infectam as queimaduras, *Pseudomonas aeruginosa* é o mais prevalente, causando rápida proliferação (DAESCHLEIN, 2013; KUCISEC-TEPES, 2016).

Alguns dos tipos bacterianos transitórios e de longo prazo mais estudados, isolados da pele, incluem os dos gêneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* e *Pseudomonas*. Infelizmente, pouco se sabe sobre muitas das outras espécies bacterianas na pele devido à sua baixa abundância e da sua aparentemente baixa ofensividade (COGEN; NIZET; GALLO, 2008; KUCISEC-TEPES, 2016; KOLASIŃSKI, 2019). No Quadro 1 é possível observar as espécies de bactérias mais estudadas a partir de seu isolamento na pele e seu grau de incidência de patogenicidade.

Quadro 1 - Frequência de colonização microbiana e grau de patogenicidade por meio de métodos de detecção clínica e molecular.

Microrganismo	Incidência
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Comum, às vezes patogênico
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rara, patogênico
<i>Staphylococcus warneri</i>	Rara, às vezes patogênico
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Rara, patogênico
<i>Streptococcus mitis</i>	Comum, às vezes patogênico
<i>Propionibacterium acnes</i>	Comum, às vezes patogênico
<i>Corynebacterium spp.</i>	Comum, às vezes patogênico
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Comum, às vezes patogênico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Rara, às vezes patogênico

Fonte: COGEN; NIZET; GALLO (2008)

Staphylococcus epidermidis, o isolado clínico mais comum da microbiota cutânea, é um coco Gram-positivo encontrado em aglomerados. Como principal habitante da pele e mucosa, acredita-se que *S. epidermidis* represente mais de 90% da microbiota. Vários fatores extrínsecos contribuem para a conversão de *S. epidermidis* de um membro da microbiota natural da pele em um agente infeccioso. Essas bactérias podem se tornar patógenas principalmente em pacientes imunocomprometidos, incluindo dependentes químicos, pacientes em terapia imunossupressora, pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e recém-nascidos prematuros. Uma vez sistêmica, o *S. epidermidis* pode causar sepse, endocardite valvar nativa ou outras condições subagudas ou crônicas nos grupos de risco descritos acima (COGEN; NIZET; GALLO, 2008; KOLASIŃSKI, 2019).

De acordo com estudos do Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC), *Staphylococcus aureus* se tornou a causa mais comum de infecções em regiões do corpo após intervenções cirúrgicas nos últimos anos, representando mais dos 30% dos casos (SIEVERT, et al., 2013; ABDERSON, et al., 2015). Quase metade dos casos é causada por cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina, um antibiótico betalactâmico pertencente ao grupo das penicilinas (ZARB, et al., 2012).

Convencionalmente, as bactérias e fungos são eliminados com a utilização de antibióticos e antissépticos. Em geral, antibióticos sistêmicos para a terapia local de feridas não são recomendados devido à eficácia mínima (não atingindo concentrações bactericidas *in situ*), e por apresentarem uma contribuição potencial para a formação

de cepas resistentes ao tratamento. Em casos onde a infecção local apresenta potencial de se tornar sistêmica, o uso sistêmico de antibióticos é geralmente recomendado (com exceção de infecções por arranhões e perfurações não complicadas) em associação com a terapia local (DAESCHLEIN, 2013).

Em contextos clínicos, existe uma grande preocupação de que boa parte dos microrganismos patogênicos apresentem resistência crescente a antibióticos, incluindo cefalosporinas e imipenem, que são considerados os tratamentos de primeira escolha. Devido a esse fato, o desenvolvimento de novos medicamentos com mecanismos de ação inovadores e com menor chance de desenvolvimento de resistência antimicrobiana é urgentemente necessário em nível mundial (DELEON et al., 2009).

2.3 CICATRIZAÇÃO

A cicatrização de feridas é um processo complexo, com etapas coordenadas e dinâmicas, que apresenta o objetivo de recompor as estruturas celulares e camadas teciduais desvitalizadas e/ou ausentes. O processo de cicatrização é dividido em quatro fases distintas, que serão detalhadas no tópico 2.3.1 (MORTON; PHILIPS, 2016). Porém, alguns fatores podem prejudicar este processo, resultando em cicatrização tardia de feridas, estética comprometida e aumento de morbidade e mortalidade do paciente (OLIVEIRA; CASTRO; GRANJEIRO, 2013; SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017). Estima-se que aproximadamente 35% das feridas crônicas podem passar mais de 5 anos para cicatrizar (JANEIRO DA SILVA, 2012).

O propósito principal do gerenciamento de feridas é obter a cura o mais rápido possível para minimizar a dor, prevenir infecção e restaurar a função normal do tecido. Quando a ferida não pode ser tratada por meio do fechamento primário, curativos oclusivos podem apresentar relevância na cicatrização, devido ao fato dos macrófagos serem atraídos por um ambiente úmido, acelerando o processo de cicatrização e impossibilitando a desidratação celular (DEVRIENDT; ROOSTE, 2017; VOWDEN; VOWDEN, 2017).

2.3.1 Fases da cicatrização de feridas

O processo de cicatrização de feridas pode ser dividido basicamente em 4 fases distintas. Entretanto, alguns autores se referem a presença de apenas 3 fases, sendo elas: inflamatória, fibroblástica e maturação ou inflamatória, proliferação e remodelação (GILMORE, 1991; MAXSON et al., 2012). Os autores que defendem a divisão do processo de cicatrização em quatro fases relatam que há a fase de hemostasia, a fase inflamatória, a fase de proliferação (ou granulação) e a fase de remodelação (ou maturação). Dessa forma, à medida que a compreensão sobre os processos de cicatrização de feridas progride, outras fases e subfases podem ser delineadas (ROMO et al., 2012).

Após lesão tecidual, a resposta inicial é geralmente hemorragia. A cascata de vasoconstrição e coagulação começa com formação de um coágulo reparativo, imediatamente impregnando a ferida, levando à hemostasia e, com a desidratação, resulta na formação de uma crosta. Um influxo de células inflamatórias segue, com a liberação de substâncias celulares e mediadores. A angiogênese e a re-epitelização ocorrem, bem como a deposição de novos componentes celulares e extracelulares (MEDSCAPE, 2017).

2.3.1.1 Fase 1 – Hemostasia

A lesão inicial resulta em uma saída de sangue e líquido linfático. Este também é o processo durante o qual o coágulo reparativo inicial é criado. Ambos os mecanismos de coagulação intrínseca e extrínseca são ativados. O mecanismo intrínseco é ordenado pelos trombócitos e o extrínseco pelos tecidos lesados. Após a vasoconstrição, as plaquetas aderem ao endotélio danificado e liberam adenosina difosfato (ADP), promovendo a agregação de trombócitos, que represa a ferida. Após esse processo os vasos se dilatam, permitindo o influxo de mais trombócitos e outras células sanguíneas ao local. Nesse estágio, pode-se pensar no início da fase inflamatória (REINKE; SORG, 2012).

2.3.1.2 Fase 2 – Inflamação

Nesse estágio, os glóbulos brancos e os trombócitos aceleram o processo inflamatório, liberando mais mediadores e citocinas, atraindo muitas células por quimiotaxia. Os alfa-grânulos liberam o fator de crescimento derivado de plaquetas

(PDGF), o fator plaquetário IV e o fator de crescimento transformador (TGF- β). Nessa etapa começam os processos de inflamação, degradação do colágeno e colagenogênese, criação de mioblastos a partir de fibroblastos transformados, crescimento de novos vasos sanguíneos e re-epitelização (REINKE; SORG, 2012).

Esses processos são mediados por uma série de citocinas e fatores de crescimento. As interleucinas influenciam fortemente o processo inflamatório. O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e outros fatores aumentam a formação de vasos sanguíneos, e alguns têm múltiplos papéis, como o fator de crescimento de fibroblastos (FGF-2), que afeta não apenas o processo de angiogênese, mas também a re-epitelização. As aminas vasoativas, como a histamina e a serotonina, são liberadas dos corpos densos encontrados nos trombócitos. O PDGF é quimiotático para fibroblastos e, juntamente com o TGF- β , é um potente modulador da mitose fibroblástica, levando à construção de fibrilas de colágeno nas fases posteriores. O fibrinogênio é clivado em fibrina e a estrutura para a conclusão do processo de coagulação é formada. A fibrina fornece o suporte estrutural para constituintes celulares da inflamação. No processo normal de cicatrização de feridas, a fase de inflamação geralmente dura de 2 a 5 dias (MERCANDETTI; COHEN, 2017).

2.3.1.3 Fase 3 – Granulação/proliferação

A fase proliferativa é caracterizada pelo processo de deposição de colágeno, neoangiogênese, formação de tecido de granulação e re-epitelização, onde ocorre a migração das células da periferia da ferida e das bordas adjacentes. Inicialmente, apenas uma fina camada superficial de células epiteliais é depositada, gerando uma camada mais espessa e durável de células que fecha a ferida ao longo do tempo (REINKE; SORG, 2012; SORG et al., 2017).

Esta fase tem início ao redor do 4^o dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana. Fases prolongadas de cicatrização de feridas ou respostas excessivas do organismo à lesão impedem a cicatrização normal da ferida e podem estar associadas a cicatrizes. Nesse contexto, a transição do estágio inflamatório para o proliferativo da cicatrização de feridas é um tema de pesquisa atual intensiva (LANDÉN; LI & STAHL, 2016).

2.3.1.4 Fase 4 – Remodelamento/maturação

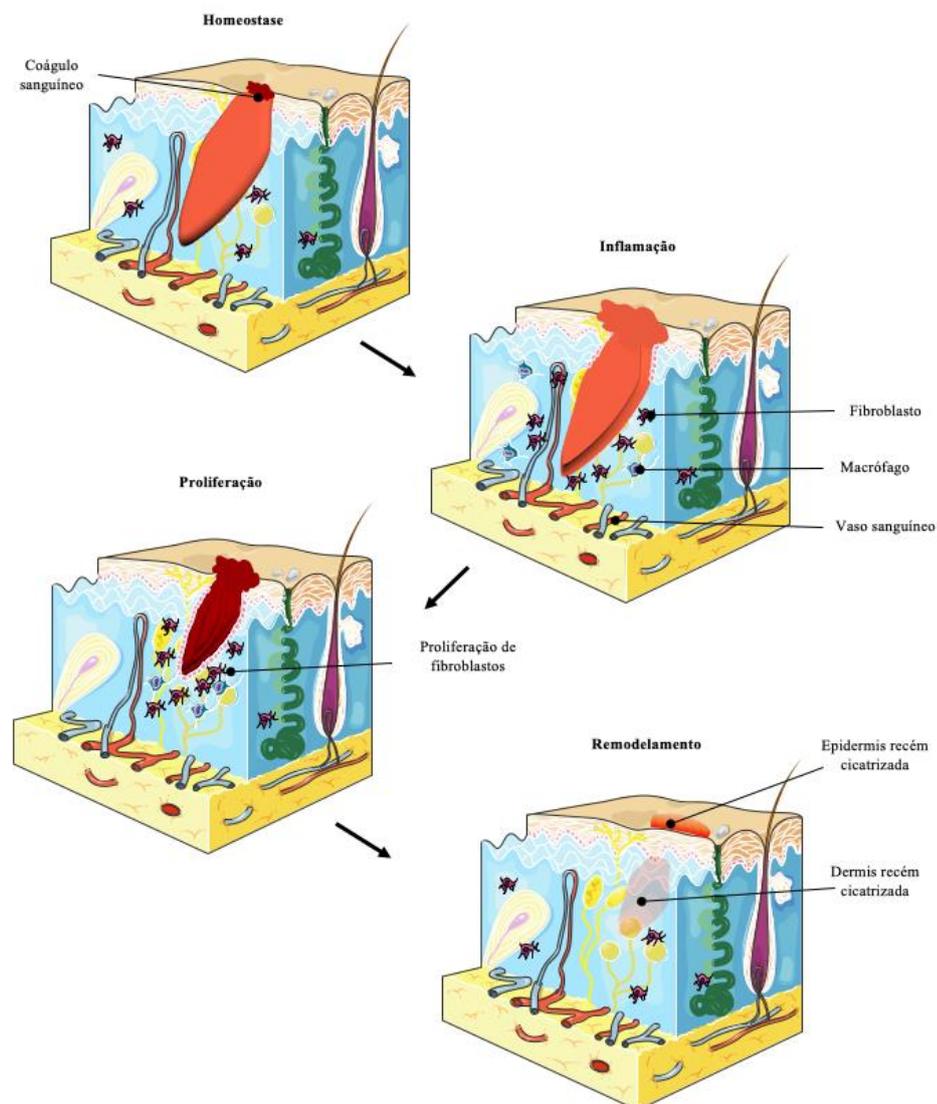
SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

Finalmente, a fase de maturação resulta no fortalecimento e remodelação das fibras de colágeno, que são reorganizadas. Esse processo pode ser observado clinicamente, pois a cicatriz diminui de tamanho, torna-se fina e perde seu tom vermelho intenso devido à menor vascularização. Esse processo tem como objetivo recompor estruturas celulares e camadas de tecidos ausentes e desvitalizadas, restaurando a função da barreira da pele (WONG; GURTNER, 2012; ZENG et al., 2018).

Assim como os macrófagos são as principais células envolvidas na proliferação, os fibroblastos são as principais células envolvidas na remodelação. O processo de destaque nesta etapa é a conversão do colágeno tipo III em tipo I. O equilíbrio entre os tipos I e III ocorre após aproximadamente 30 dias. Fibroblastos e leucócitos secretam collagenases que promovem a lise da matriz antiga e permitem a reabsorção do colágeno tipo III. O colágeno produzido inicialmente é mais fino do que o colágeno presente na pele normal, e tem orientação paralela à pele (CHILDS; MURTHY, 2017).

Além da conversão organização entre esses dois tipos de colágeno, a cicatrização bem-sucedida da ferida depende da oxigenação adequada do tecido nas bordas da ferida (CHILDS; MURTHY, 2017). Um sumário das quatro fases da cicatrização pode ser visualizado na figura 2.

Figura 2 – As quatro fases da cicatrização: homeostase, inflamação, proliferação e remodelamento.



Fonte: Adaptado de Souza et al. (2020).

2.4 GÁLIO

2.4.1 Características físico-químicas

O gálio (Ga) é um elemento semi-metálico do grupo IIIA, de número atômico 31 na tabela periódica. Geralmente, o Ga é obtido como um subproduto da extração de minérios de alumínio e zinco, apresentando coloração entre branco-cinza e ponto de fusão de 29,7 °C, tornando-se líquido à temperatura ambiente ou em contato com a pele, como pode ser observado na figura 3 (BERNSTEIN, 1998).

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

Figura 3 – Amostra de pó de gálio entrando no estado líquido após manipulação.



Fonte: Dados da pesquisa

O óxido de gálio, principal fonte de gálio (III), quando presente em soluções aquosas tende a formar complexos insolúveis com bases como hidróxido, reduzindo assim o pH e dificultando sua absorção. Se o pH for aumentado, o $\text{Ga}(\text{OH})_3$ amorfo e altamente insolúvel precipita e tende a se converter na sua forma cristalina $\text{GaO}(\text{OH})$. Sob condições fisiológicas, o gálio é trivalente em solução aquosa (Ga^{3+}). Em pH 7,4 e 25 °C, a solubilidade geral do gálio em equilíbrio com $\text{GaO}(\text{OH})$ cristalino é de aproximadamente 1 mM. Para resolver esses problemas de solubilidade, alguns autores desenvolveram o gálio em forma de sais, como o citrato e nitrato de gálio, e em formas complexadas, como o maltolato de gálio (GaM) (BERNSTEIN, 1998; LESSA et al., 2012; TIEKINK; GIELEN, 2005).

O óxido de gálio, quando em forma cristalina apresenta 5 estruturas polimórficas (α , β , γ , δ e ϵ), e dentre elas, a β é a mais estável (KUMAR et al., 2014). Ramalho (2017) discorreu sobre a obtenção de óxidos de gálio amorfo ($\alpha\text{-Ga}_x\text{O}_y$) em diversas temperaturas, obtendo resultados satisfatórios de atividade antimicrobiana e indício de aumento de proliferação celular.

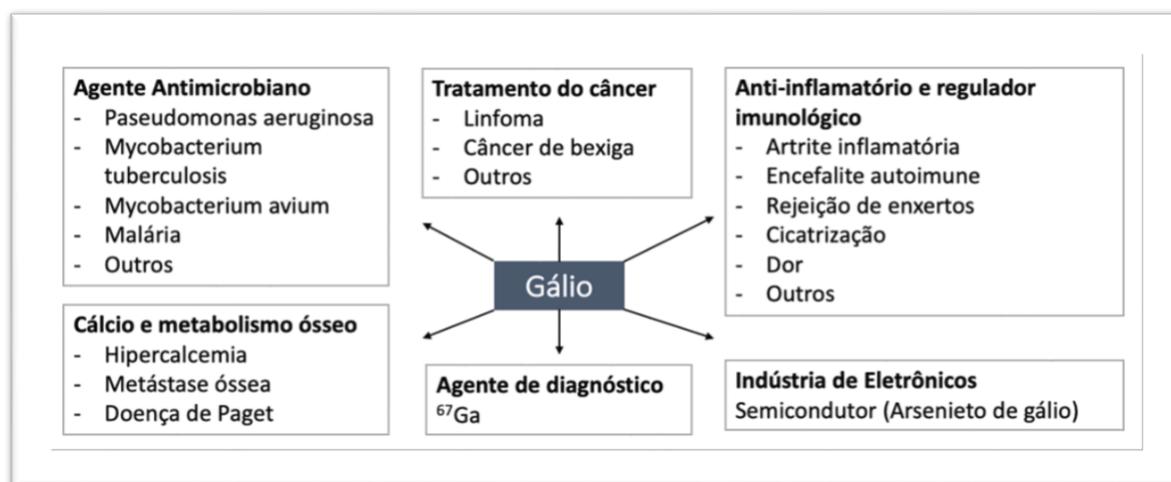
2.4.2 Aplicações médicas

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

O gálio tem se destacado como agente terapêutico em diversas aplicações biológicas, exibindo atividade contra vários tipos de câncer, infecções e processos inflamatórios (SALES et al. 2020; TIMOTEO et al. 2020). O gálio não faz parte da fisiologia humana; no entanto, por apresentar a capacidade de compartilhar propriedades químicas com o ferro, resulta na interferência de alguns processos fisiológicos. Vários estudos pré-clínicos *in vivo*, *in vitro*, e clínicos, investigaram a capacidade do gálio e seus compostos quanto a seus potenciais efeitos terapêuticos e como agente de diagnóstico (CHITAMBAR, 2010; LESSA; PARRILHA; BERALDO, 2012).

Bernstein (1998) categorizou uma série de achados em relação ao gálio, desde sua utilização na indústria de eletrônicos como material semicondutor, à sua eficácia no tratamento de uma variedade de transtornos, como na reabsorção óssea acelerada, com ou sem cálcio plasmático elevado, em doenças autoimunes e rejeição de enxertos, vários tipos de câncer e em doenças infecciosas, assim como pode ser conferido na figura 4. O gálio também provou ser eficaz na supressão de artrite, encefalomielite e uveíte autoimune em modelos animais experimentais, sem ser geralmente imunossupressor (BERNSTEIN, 1998; LESSA et al., 2012).

Figura 4 – Aplicações Terapêuticas do Gálio



Fonte: Adaptado de Chitambar (2017).

Outros estudos também demonstraram que o gálio é eficaz na supressão da reabsorção óssea acelerada e na simultânea elevação do cálcio plasmático

(WARRELL & BOCKMAN, 1989). Além disso, o gálio apresenta utilização nas clínicas para o tratamento da hipercalemia maligna e da doença óssea de Paget (BOCKMAN & BOSCO, 1994; BOCKMAN et al., 1995). Outros trabalhos relataram eficácia clínica pela utilização do gálio na supressão da osteólise, da dor óssea associada ao mieloma múltiplo e às metástases ósseas, além de ser sugerido como tratamento para a osteoporose (WARRELL, ALCOCK & BOCKMAN 1987; WARREL et al., 1993; WARREL, 1995).

Lessa e colaboradores (2012) apresentaram uma revisão sobre os complexos de gálio com propriedades antitumorais e antimicrobianas. Entre as propriedades antitumorais, ensaios clínicos demonstraram eficácia particular contra carcinomas de bexiga e urotelial (CRAWFORD et al., 1991; SEIDMAN et al., 1991; EINHORN et al., 1994; FREZZA et al. 2007) e alguns linfomas (CHITAMBAR et al., 1997; WARRELL et al., 1983; WEIK et al., 1983).

2.4.2.1 Agente de Diagnóstico

Os primeiros estudos sobre o papel do gálio em organismos vivos foram principalmente centrados no gálio radioativo na identificação de tumores, e só posteriormente que se identificou suas aplicações também antitumorais. O ^{67}Ga demonstrou a capacidade de acumular-se em tumores e em tecidos de inflamação, sendo utilizado como um agente de diagnóstico generalizado para casos de linfoma. O acúmulo de ^{67}Ga foi primeiro demonstrado em linfonodos de pacientes com doença de Hodgkin (BERNSTEIN; VAN-DER-HOEVEN; BOER, 2011; LESSA; PARRILHA; BERALDO, 2012). Investigações sobre as aplicações terapêuticas do gálio começaram em 1970 (FREZZA et al., 2007).

Diversos estudos relataram a utilização dos compostos de gálio radioativo (^{67}Ga e ^{68}Ga) como agentes de imagem de tumores com a finalidade de possibilitar seu diagnóstico (CHITAMBAR, 2010). De fato, o ^{67}Ga e o ^{68}Ga parecem ser adequados para o estudo de cânceres, como o câncer ósseo, pois os compostos desses isótopos são absorvidos pelos depósitos de câncer no osso, assim como também no câncer de próstata, apresentando ótimas características de sensibilidade e a vantagem de não ser um método invasivo (DESCOTES, 2019). Em 1931, o tartarato de gálio foi o primeiro composto a ser publicado com potencial terapêutico contra a sífilis em coelhos. Seu primeiro emprego no tratamento do câncer foi em 1940, quando o gálio SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

radioativo, inicialmente o isótopo ^{72}Ga (β^- , $t_{1/2} = 14$ horas), foi usado no tratamento de cânceres ósseos, sendo substituídos por outros isótopos mais estáveis (MIKUS et al., 2014).

Na medicina Nuclear, existem três radioisótopos do gálio com propriedades ideais para serem utilizados para fins de diagnóstico. Dois deles podem ser usados em exames de tomografias por emissão de pósitrons (PET), o ^{66}Ga (β^+ , $t_{1/2} = 9,5$ horas) e o ^{68}Ga (β^+ , $t_{1/2} = 68$ minutos). O ^{67}Ga (C.E. e emissor γ , $t_{1/2} = 78$ horas) é usado em imagens tomografia de emissão do fóton único (MIKUS et al., 2014).

A utilização do ^{68}Ga como marcador adicional para facilitar no diagnóstico por imagem de tumores possui a vantagem de manter uma dose aceitável para o paciente e por otimizar a resolução das imagens de diagnóstico. Por ser um radionuclídeo emissor de pósitrons, o ^{68}Ga é amplamente utilizado nas tomografias por emissão de pósitrons acoplada a tomografia computadorizada (PET/CT) na detecção de diversos tipos de cânceres, em especial os neuroendócrinos. Nesse sentido diversos estudos descritos na literatura usam o ^{68}Ga como marcador componente da interação entre o agente quelante DOTA e de alguns peptídeos que dependendo de sua estrutura pode formar diferentes modalidades para esse conjunto químico de agentes de diagnóstico como DOTATATE, DOTANOC e DOTATOC (BOENO, NABINGER e SCHMITT, 2014; MIKUS et al., 2014).

Esses compostos funcionais demonstram ter rápida farmacocinética, proporcionam curto tempo de exame, baixa dose de radiação e alta sensibilidade. Possuem ampla aplicação por incrementar uma melhora na resolução de imagem e na taxa de detecção de tumores neuroendócrinos pancreáticos, em especial pela capacidade de ligação com receptores da somatostatina que normalmente estão em maior número em regiões tumorais, permitindo a quantificação dos níveis desse hormônio (YANG et al., 2014). Contudo, sua utilização tornou-se mais abrangente e pode ser usado na detecção de tumores no nervo óptico (KLINGENSTEIN et al., 2015), nas glândulas adrenais (JANSSEN et al., 2015), ósseos (AGRAWAL et al., 2015) e em processos inflamatórios complexos (THACKERAY et al., 2014).

O uso do ^{67}Ga na sua forma ligada ao citrato em métodos de diagnóstico está embasado na sua propriedade de ser um radiomarcador, emissor de raios gama detectado pela cintilografia que contém uma câmara para detecção de radiação gama (AKIMOTO et al., 2014; MIKUS et al., 2014).

Essa detecção com o gálio foi otimizada quando a tomografia de emissão do fóton único (SPECT) foi inserida para a otimização e reforço para uma detecção mais específica e precisa no diagnóstico. Independente da técnica, o gálio produz melhor performance em investigar infecções e inflamações por sua tendência em se acumular nesses processos ao se ligar com proteínas inflamatórias como a lactoferrina (JOAQUIM et al., 2010; NOWOSINSKA et al., 2015).

Muitos estudos demonstram a capacidade do ^{67}Ga no diagnóstico de infecções renais (GRAHAM et al., 2016), detecção de acúmulo de células inflamatórias (ALLARD; BUSCOMBE; KIDD, 2014), e auxiliando na diferenciação de agentes causadores de reações febris (SERRANO et al., 2018).

2.4.2.2 Atividades antimicrobianas

As classes de medicamentos com propriedades antibióticas diferem de acordo com suas características físicas, químicas, farmacológicas e seus mecanismos de ação. Apesar de todos os esforços da indústria farmacêutica para pesquisar e produzir medicamentos antimicrobianos novos e mais eficazes, o uso indiscriminado e prescrições inadequadas são um dos fatores-chave no desenvolvimento da resistência bacteriana (BATAAR et al. 2017; SILVA 2012; TAVARES; SÁ, 2014).

A resistência bacteriana é um problema progressivo e, por estar distribuído em todo o mundo, o desenvolvimento de alternativas farmacológicas é de grande relevância. Ao contrário dos antibióticos clássicos que possuem um mecanismo de ação específico, metais e compostos metálicos são capazes de atingir grupos de várias biomoléculas, tornando os microrganismos menos propensos a desenvolverem resistência (RZHEPISHEVSKA et al., 2011).

Conforme estudos de Frei (2020), o espaço da química inorgânica ainda é pouco estudado para aplicações antimicrobianas. Segundo os autores, uma vez que existe uma enorme variedade de "arcabouços estruturais" (*structural scaffolds*) tridimensionais disponíveis por meio da química de coordenação de metais, eles se tornam um ponto de partida ideal para a exploração de novas estratégias antibióticas. Vários outros trabalhos validaram esse mesmo argumento (MORRISON ET AL. 2020; LOVERING; BIKKER; HUMBLET, 2009; LOVERING 2013). Os autores mostram que, embora a maioria das moléculas orgânicas possua formas unidimensionais ou bidimensionais simples, os complexos metálicos podem acessar facilmente o espaço

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

químico tridimensional até agora pouco explorado. Além disso, eles apresentam mecanismos de ação exclusivos, como pela troca ou liberação de ligantes, geração de Espécies Reativas do Oxigênio, ativação redox e geração catalítica de espécies tóxicas ou depleção de substratos essenciais. Tais mecanismos são difíceis, senão impossíveis, para compostos puramente orgânicos (GASSER; METZLER-NOLTE, 2012; GIANFERRARA; BRATSOS; ALESSIO, 2009).

Frei e colaboradores (2020) analisaram 906 compostos contendo metais, visando suas atividades antibacterianas e antifúngicas. Os pesquisadores encontraram uma impressionante taxa de sucesso quando comparada a compostos puramente orgânicos. Gálio, paládio, prata, cádmio, irídio e platina mostram a maior taxa de eficácia geral dos compostos que contêm metais. No entanto, o número total de complexos de cádmio e gálio encontrado foi ainda considerado baixo (5 e 6 respectivamente), limitando a capacidade de fazer conclusões mais detalhadas.

Vários estudos corroboram em justificar o mecanismo antimicrobiano do gálio devido ao o gálio (III) e o ferro (III) apresentarem semelhança química por número de coordenação, carga elétrica, diâmetro e configuração eletrônica, e dessa forma, o comportamento químico do gálio (III) se assemelha ao do ferro (III) (COLLERY et al., 2002). Esse mecanismo interfere diretamente no ciclo de vida das bactérias, uma vez que elas são dependentes do ferro para regulação se suas expressões gênicas e assim, na execução seus processos biológicos. Nesse sentido, os principais carreadores do ferro (transferrina e lactoferrina) não conseguem distinguir os dois elementos, e por isso acredita-se que as bactérias sejam capazes de sequestrar o gálio por meio de seus sistemas de absorção de ferro. Diferentemente do Fe^{3+} , o Ga^{3+} não pode ser reduzido, bloqueando assim vários processos bacteriológicos, onde ocorreria a alteração entre ferro reduzido e oxidado. Com relação à sua potencial atividade antibacteriana, o gálio demonstrou ser absorvido tanto pelas bactérias Gram-positivas quanto pelas Gram-negativas (RZHEPISHEVSKA et al., 2011; FIRMINO et al., 2019; PORCARO et al., 2017; CHITAMBAR, 2017).

Várias enzimas contendo ferro estão relacionadas às funções críticas de bactérias, como metabolismo, respiração, síntese e reparo de DNA e resposta ao estresse oxidativo. Uma grande proporção de bactérias patogênicas necessita de ferro e, quando há um aumento na disponibilidade desse composto químico no hospedeiro, a extensão da doença pode ser exacerbada (MINANDRI et al., 2014; THOMPSON et al., 2015; DELEON et al., 2009; LITWIN; CALDERWOOD, 1993). Dessa forma, o Ga^{3+}

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

é considerado um “cavalo de Troia”, pois interrompe os processos metabólicos bacterianos dependentes do Fe^{3+} (CHITAMBAR, 2010; RZHEPISHEVSKA et al., 2011; CHITAMBAR, 2012). Além disso, outros estudos mostraram a eficácia de compostos a base de gálio pelo mesmo mecanismo de ação também contra outros microrganismos, como os causadores de sífilis, tripanossomíase (LEVADITI et al., 1931) e tuberculose (OLAKANMI et al., 2000).

A natureza antimicrobiana fornecida pelos metais foi discutida pelo químico suíço Nägeli, onde o autor idealizou o "efeito oligodinâmico" como sendo um efeito característico tóxico encontrado em concentrações muito baixas. Devido à sua capacidade de ter efeitos anti-infecciosos, os compostos metálicos têm demonstrado grande interesse direcionado para aplicações clínicas (MINANDRI et al., 2014).

O Maltolato de Gálio (GaM), por exemplo, mostrou-se eficaz na prevenção da proliferação precoce e redução da mortalidade após colonização de *P. aeruginosas* em região afetada por queimadura (DELEON et al., 2009). Um estudo de Kaneko et al. (2007) abordou a atividade antimicrobiana do gálio por meio de estudos *in vitro*. Em baixas concentrações, o gálio foi capaz de inibir o crescimento de *P. aeruginosas*, além de impedir a formação de biofilme, sugerindo eficácia terapêutica devido à interrupção do metabolismo do ferro.

Um estudo de Gao et al. (2019) relata uma nova estratégia para intervir em infecções relacionadas a implantes ósseos por meio da formação de ligas metálicas de magnésio com íons gálio e estrôncio (Ga e Sr 0,1% em peso). Verificou-se que as ligas contendo Ga e Sr possuem atividade antibacteriana *in vitro* contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*, demonstrando que o Ga desempenhou um papel fundamental contra a viabilidade de todas as cepas bacterianas selecionadas. A literatura também relata que quando há incorporação de gálio em implantes de titânio, é promovida uma inibição bacteriana superior contra *Acinetobacter baumannii* (CHOCIS et al., 2016).

Xu et al. (2019) desenvolveram uma estrutura artificial antimicrobiana tridimensional utilizando colágeno e nitrato de gálio, e avaliaram além da atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, o grau de citotoxicidade e biocompatibilidade. A estrutura apresentou alta porosidade (97,4 %) e degradação enzimática (19 e 28% após 12 e 24h, respectivamente). Os testes antimicrobianos frente aos dois microrganismos *in vitro* revelaram uma taxa antimicrobiana de 1h próxima de 90%.

Qiao et al. (2019) desenvolveram nanotubos funcionais sintetizados de Polidopamine-SrTiO₃ em substrato de titânio para liberação de gálio. O gálio neste revestimento foi capaz de prevenir infecções, tendo funções bacteriostáticas e bactericidas, impedindo também o desenvolvimento de resistência bacteriana. A eficácia antibacteriana do revestimento foi demonstrada pelas zonas de inibição de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O estrôncio mostrou efeito osteoindutor, estimulando a formação óssea. A ação sinérgica de Ga e Sr resultou em um aumento de proliferação celular.

Finalmente, uma característica notável que torna gálio um candidato promissor na quimioterapia antibacteriana é sua capacidade de se acumular e ficar retido nos locais inflamatórios (EDWARDS CL; HAYES, 1969; MINANDRI et al., 2014; LAVENDER et al., 1971; LITTENBERG et al., 1973). Vários fatores contribuem para isso, muitos dos quais são atribuíveis à resposta inespecífica dos tecidos lesados, como será discutido no tópico 2.4.2.4.

2.4.2.3 Atividades antifúngicas

As infecções fúngicas representam um grave problema de saúde pública pois são a causa de 1,6 milhões de mortes ao ano e, associado a isso, há uma emergência em desenvolver novos medicamentos antifúngicos em virtude da acelerada resistência que as espécies desenvolvem às classes de medicamentos atualmente disponíveis no mercado (azol, análogos da piridina, equinocandinas e polienos). Estudos relataram a ação do gálio contra células fúngicas *in vitro*, inibindo seu crescimento ou aumentando a potência de medicamentos já existentes, contra diferentes espécies de fungos, inclusive em casos de cepas multirresistentes, principalmente os do gênero *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* (BASTOS et al., 2010; PERFECT, 2017).

A ação do gálio ligado a acetilpiridina sobre as cepas de *Candida albicans* foi analisada *in vitro* por Mantareva et al. (2011). Os resultados obtidos mostraram-se satisfatórios na inibição celular desses fungos, comprovando a capacidade deletéria do gálio mediante às células dependentes de íons férricos. Nesse mesmo sentido, pesquisadores também demonstraram *in vitro* que o gálio apresenta um efeito fungistático contra cepas de *Aspergillus fumigatus* sensíveis ou resistentes aos “azóis”, adquirindo essa característica por não reduzir 99% da carga de fungos em

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

comparação com o inoculo inicial para todas as cepas. Quando combinado com Caspofungina, foi notado um efeito sinérgico, sendo consideravelmente importante para a utilização dessa associação como um tratamento potente alternativo frente a terapia contra a infecção por fungos, inclusive aos resistentes (PERFECT, 2017; BASTOS et al., 2019).

Para estudar o efeito da combinação de gálio com antifúngicos utilizados no tratamento da aspergilose (voriconazol, posaconazol, anfotericina B e caspofungina), foi determinado o índice de concentração inibitória fracionária (FICI). O gálio apresentou interações independentes com voriconazol, posaconazol e anfotericina B ($0,5 < FICI \leq 4,0$), porém, com a caspofungina (32,0mg/L de gálio e 8mg/L de caspofungina), apresentou uma interação sinérgica ($FICI \leq 0,5$), diminuindo o crescimento da hifa em comparação ao tratamento único com medicamento convencionais. O gálio apresentou efeito fungistático contra diferentes espécies de *Cândida* variando entre 16,0 a 256,0 mg / L, incluindo cepas multirresistentes de *C. haemulonii*, *C. duobushaemulonii*, *C. glabrata* e *C. auris*, demonstrando ser um tratamento potencial para infecções causadas por patógenos emergentes. Porém, mais estudos precisam ser realizados para determinar se os efeitos relatados também se manifestam *in vivo* (BASTOS et al., 2019).

2.4.2.4 Atividades anti-inflamatórias

Células do sistema imunológico, como macrófagos, eosinófilos, monócitos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos e linfócitos desempenham papéis importantes nas respostas inflamatórias, sendo o principal contribuinte para os processos inflamatórios (AKIRA; UEMATSU; TAKEUCHI, 2006). Por um lado, as principais características do processo agudo de inflamação estão relacionadas à exsudação de proteínas fluidas e plasmáticas, que resulta em edema e na emigração de leucócitos, principalmente neutrófilos. Por outro lado, o processo crônico de inflamação está histologicamente relacionado à fibrogênese e angiogênese, à presença de linfócitos e macrófagos e, em alguns casos, à necrose tecidual (FUJIWARA; KOBAYASHI, 2005).

A inflamação aguda é caracterizada por diferentes eventos vasculares, incluindo vasodilatação, aumento da permeabilidade e aumento do fluxo sanguíneo (AHMED, 2011). Devido a essas alterações vasculares e liberação de conteúdo

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

lisossômico por neutrófilos estimulados por patógenos, altas concentrações de transferrina e lactoferrina estão presentes no local da inflamação (GARCÍA-MONTOYA et al., 2012; TSAN, 1978). A produção local de proteases bacterianas e neutrófilas e o baixo pH podem facilitar a liberação de Ga (III) de transferrinas e lactoferrinas, resultando em uma concentração de Ga (III) livre notavelmente alta no tecido infectado. Esses efeitos, também podem explicar a boa atividade protetora de Ga (III) em animais infectados com espécies bacterianas que mostram fraca sensibilidade a Ga (III) *in vitro* (BERNSTEIN, 1998; HOFFER, P. B.; HUBERTY, J.; KHAYAM-BASHI, 1977; MINANDRI et al., 2014).

No contexto da inflamação, as citocinas são sintetizadas e liberadas pelas células do sistema imunológico após o reconhecimento de estímulos inflamatórios, que iniciam eventos sequenciais visando a resolução de estímulos negativos no organismo (MOSS; RAMJI, 2016; VERRI-JR et al., 2007). Interleucinas (IL), fator de necrose tumoral (TNF), interferons (IFN) e fatores de crescimento (TGF) foram alguns tipos de citocinas analisadas em vários estudos sobre o gálio (CHOI et al., 2014; EPSTEIN et al. 2007; JOOSTEN et al., 2016; WANG et al. 2017b). Observou-se que o gálio e seus diferentes compostos levaram à redução de algumas citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α . Choi et al. (2014), por exemplo, mostraram que o nitrato de gálio melhorou a progressão de camundongos com artrite induzida por colágeno tipo II em doses de 3,5 e 7 mg / kg / dia, resultando em uma redução nos níveis séricos de TNF- α , IL-6 e IFN- γ , e nos níveis de expressão de mRNA dessas citocinas relacionadas à condição inflamatória da doença.

A IL-1 β , sintetizada e secretada por macrófagos sinoviais, desempenha um papel importante no processo de inflamação da artrite, pois induz a produção de metaloproteínases de matriz (MMPs), responsáveis pela degradação da matriz da cartilagem de colágeno (JOOSTEN et al., 2016). Panagakos e colaboradores (2000) avaliaram os efeitos do nitrato de gálio na IL-1 β e, conseqüentemente, nos níveis de MMP por meio da incubação da linha celular de sinoviócitos de coelho HIG-82 com IL-1 β , com e sem concentrações crescentes de nitrato de gálio. Foi observada uma inibição dose-dependente da IL-1 β após o tratamento com gálio.

O trabalho de SALES et al., (2020) compreende uma análise sistemática da literatura sobre a atividade anti-inflamatória de estudos pré-clínicos e clínicos dos compostos de gálio entre o período de 2000 a 2019. Para a avaliação da inflamação, o trabalho discorre sobre as células que mediam a inflamação (como neutrófilos, SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

eosinófilos e linfócitos), citocinas importantes para o processo inflamatório como parte da regulação das funções das células B, metaloproteinases de matriz, que desempenham um papel importante nos comportamentos celulares, como proliferação celular, migração (adesão/dispersão), diferenciação, angiogênese, apoptose e defesa do hospedeiro e alguns fatores diretos relacionados ao processo anti-inflamatório, como alívio da dor, regeneração tecidual e redução do estresse oxidativo.

Os achados do estudo corroboram com a hipótese de que os compostos de gálio possuem uma potencial atividade anti-inflamatória, parecendo envolver a regulação negativa de células T e macrófagos, além de prováveis interferências nas atividades das metaloproteinases de matriz. Além disso, como o ferro e sua homeostase estão intimamente ligados à resposta inflamatória, a capacidade do gálio de agir como um mimético não funcional do ferro pode também contribuir para seu potencial anti-inflamatório (SALES et al., 2020).

Bibi e colaboradores (2014) examinaram as propriedades anti-inflamatórias de um complexo de gálio e desferrioxamina (DFO) com propriedade quelante de ferro em um modelo de asma em camundongos, pois o ferro está envolvido na lesão oxidativa no processo inflamatório nos casos de asma (BIBI et al., 2014; SAHINER et al., 2011). Em comparação com o grupo asmático não tratado, o estudo mostrou que o grupo tratado apresentava valores marcadamente melhores na quantidade de neutrófilos e eosinófilos no líquido de lavagem broncoalveolar, na hiperplasia das células calciformes, secreção de muco e edema peri-brônquico. O complexo de gálio foi administrado intra-nasal (5 mg/kg) ou intra-peritonealmente (i/p) (1 mg/kg). As instilações intra-nasais foram muito mais eficazes do que as injeções i/p na redução da infiltração de células inflamatórias. Como a infiltração de glóbulos brancos é um processo local, a aplicação direta do medicamento *in situ* mostrou-se marcadamente mais eficaz que o tratamento sistêmico. Neste estudo, os resultados podem ocorrer devido aos efeitos sinérgicos antioxidativos, anti-inflamatórios e quelantes de ferro que o gálio e desferrioxamina apresentam simultaneamente.

Dong et al. (2019) criaram nanotubos de titânio incorporados com gálio (TNTs, *gallium-doped titania nanotubes*). O gálio (III) foi avaliado no modelo de infecção da coluna vertebral em ratos. A resposta inflamatória do biofilme de *E. coli* e *S. aureus*, juntamente com os implantes, foi estimada em diferentes momentos por meio de observações visuais, como vermelhidão, inchaço e formação de pus, e exames

histológicos básicos, mas sem o uso de marcadores celulares específicos. Durante os primeiros três dias após a cirurgia, sinais de inflamação, como vermelhidão e inchaço, se formaram no local ou ao redor da incisão. Grupos sem gálio apresentaram necrose grave dos tecidos moles e apresentaram massa de infiltração de células inflamatórias. Os ratos experimentais nos implantes de TNT dopados com Ga apresentam menor inflamação e menor área de trauma no modelo de infecção da coluna vertebral.

2.4.2.5 Atividades antitumorais

Os estudos iniciais sobre a ação antitumoral do gálio foram descritos por Smith et al. (1990), que observaram a capacidade desse elemento químico de se ligar a células cancerígenas em pacientes com câncer de bexiga, levantando questões e perspectivas sobre o uso do gálio como agente terapêutico. Devido às vantagens químicas e biológicas que o gálio apresenta, vários compostos a base de gálio foram estudados em ensaios clínicos para vários tipos de neoplasia (CHITAMBAR, 2004; CHITAMBAR, 2016). Além disso, Estudos *in vitro* relataram que o gálio apresentou atividades sinérgicas com hidroxiureia, fludarabina, interferon- α , gemcitabina e paclitaxel, sugerindo que a terapia combinada com esses agentes no tratamento do câncer pode ser vantajosa (CHITAMBAR et al., 1988; LUNDBERG e CHITAMBAR, 1990; CHITAMBAR, WERELEY e HAQ, 1994; MYETTE, ELFORD e CHITAMBAR, 1998; HATA et al., 1994).

As células em geral possuem um receptor superficial de transferrina (DANIELS et al., 2012). Gatter e colaboradores (1983) descreveram que as células cancerígenas possuem um aumento não só no número de receptores do complexo transferrina-cátion, como aumentam a taxa de endocitose desse mesmo complexo, pois a demanda de ferro para essas células é maior do que para células normais. Dessa forma, quando o íon férrico é substituído pelo íon gálico, as células neoplásicas não conseguem realizar a redução do cátion para a carga 2^+ e, portanto, não conseguem promover seus processos bioquímicos internos.

Investigações clínicas sobre o perfil farmacológico do nitrato de gálio revelaram que ele exibiu sua atividade antineoplásica mais forte no tratamento de linfoma não-Hodgkin e câncer de bexiga. O nitrato de gálio foi usado em pacientes com recidiva de linfoma não-Hodgkin que não responderam aos medicamentos convencionais de quimioterapia. Os estudos indicam, inclusive, que o nitrato de gálio não produz

mielossupressão e pode, portanto, ser usado em pacientes com baixa contagem de leucócitos ou plaquetas. Além disso, não parece compartilhar resistência cruzada com outros quimioterápicos (CHITAMBAR, 2010).

Lessa et al. (2012) apresentaram uma revisão de complexos de gálio com propriedades antitumorais e antimicrobianas. Entre as propriedades antitumorais, os ensaios clínicos têm demonstrado eficácia particular contra carcinomas da bexiga, urotelial e alguns linfomas, corroborando com os achados mencionados anteriormente.

Devido à necessidade de maior concentração de ferro nas células cancerígenas, Firmino et al. (2019) conduziram um estudo com o objetivo de obter compostos citotóxicos que pudessem promover distúrbios no metabolismo do ferro nessas células. Os compostos foram formados com quelantes de ferro e hidrazona (HPAmIH e PAmIH). A ação dos complexos foi testada contra leucemia, câncer de mama, carcinoma colorretal, câncer de próstata e linhagens de células renais embrionárias humanas não malignas. $[Ga(HAPIH)(APIH)](NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ foi o composto mais citotóxico, sendo as células do carcinoma colorretal as mais suscetíveis ao tratamento. Ambos os compostos inibiram o ciclo celular após 24 horas de tratamento, apresentando potencial pró-apoptótico com seletividade para as células tumorais, não afetando as células saudáveis.

2.4.2.6 Hipercalcemia

A hipercalcemia associada à malignidade é o distúrbio metabólico com risco de morte mais comum em pacientes com câncer em estágio avançado e é um sinal de mau prognóstico. Geralmente se apresenta com nível de cálcio acentuadamente elevado e é gravemente sintomático (confusão, poliúria, coma e até morte). Está associada a neoplasias hematológicas, como mieloma múltiplo, linfoma não-Hodgkin, leucemias e cânceres sólidos, particularmente carcinomas renais e mamários, bem como carcinomas de células escamosas de qualquer órgão (ASONITIS et al., 2019; YINGWEI et al., 2018). As terapias iniciais incluem tratamento com solução salina e bifosfonato intravenoso para reduzir a destruição óssea. Como terapias adjuvantes, corticosteroides, calcitonina e nitrato de gálio podem ser usados (DANIELS; SAKAKEENY, 2015; REAGAN; PANI; ROSNER, 2014).

O nitrato de gálio apresenta sua ação inibindo a atividade osteoclástica e aumentando a depuração de cálcio renal, sendo aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da hipercalcemia associada à malignidade (ANTUNES et al., 2012). Estudos demonstraram que a infusão contínua de nitrato de gálio é eficaz no controle dos níveis elevados de cálcio no sangue associados ao câncer, demonstrando ter boa tolerabilidade e sendo mais potente que a calcitonina (CHITAMBAR, 2010; LESSA et al., 2012).

2.4.3 Segurança, Toxicidade e Farmacologia

Quando administrado como uma infusão intravenosa durante 30 minutos em doses variando entre 400–700 mg / m² de Nitrato de gálio, 69 a 91% da dose de gálio administrada foi excretada na urina durante as primeiras 24 e 48 horas (KELSEN et al., 1980). Curvas de desaparecimento do gálio sérico semelhantes foram observadas quando concentrações mais altas de Nitrato de gálio (500–900 mg / m²) foram administradas por infusão breve. A hidratação e a coadministração de manitol com Nitrato de gálio aumentaram a quantidade de gálio excretada na urina durante a primeira hora (KRAKOFF et al., 1979).

Nos estudos de fase 1 e 2, a toxicidade renal foi limitante da dose quando o Nitrato de gálio foi administrado como uma breve infusão intravenosa durante 30 minutos; este efeito colateral foi observado em ~ 12,5% dos pacientes tratados para hipercalcemia por infusão intravenosa contínua. Com o esquema de infusão contínua para tratamento do linfoma, a diarreia, em vez da toxicidade renal, era um fator limitante da dose (WARRELL et al., 1983). A toxicidade renal pode ser minimizada garantindo a ingestão adequada de líquidos e evitando a co-administração de drogas nefrotóxicas.

Diante da abundância de estudos que demonstram o mecanismo de ação do gálio na interferência do metabolismo do ferro e devido a seu nível de segurança farmacológico, o nitrato de gálio foi aprovado pelo órgão americano FDA para o tratamento injetável da hipercalcemia maligna (ANTUNES et al., 2012). Nesses casos, o Nitrato de gálio deve ser administrado como uma infusão intravenosa ininterrupta por até 5 dias (100-200 mg / m² diariamente), ou até que os níveis de cálcio no sangue sejam reduzidos a um nível seguro. O esquema de infusão intravenosa contínua de nitrato de gálio tem muito menos toxicidade do que o esquema de infusão breve e

permite que os pacientes recebam o dobro da quantidade de gálio (CHITAMBAR, 2010). Durante o tratamento com nitrato de gálio, também pode ser necessário receber fluidos intravenosos para evitar a desidratação. Seu uso é contraindicado em pacientes com insuficiência renal grave ($Scr > 2,5 \text{ mg / dL}$) (WARRELL; BOCKMAN, 1989).

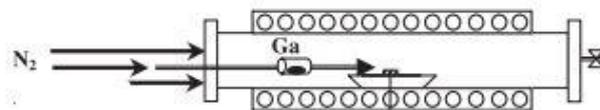
2.5 PREPARO DE NANOESTRUTURAS DE ORGANOMETÁLICOS

As nanoestruturas de Gálio são compostos inorgânicos bastante utilizados nas ciências dos materiais para a produção de semicondutores na indústria de eletrônicos, e podem ser obtidas por várias técnicas, incluindo a deposição química por vapor (MOCVD) em placas de silício ou safira, pela utilização do Trietilgálio como precursor. Uma etapa adicional, para permitir a oxidação, de fato, e modificar as estruturas e estabilidade desses materiais, pode ser realizada pelo emprego de uma outra técnica de deposição química a vapor, do inglês, *Chemical Vapor Deposition* (CVD), utilizando fluxo constante de oxigênio sob aquecimento (PLAYFORD et al., 2013; AKAZAWA, 2016). A vantagem dessas técnicas se dá pela rápida deposição de pós e a possibilidade de alterar parâmetros como temperatura e pressão para resultar em produtos mais cristalinos ou amorfos, ou com diferentes graus de oxidação (KUMAR; KUMAR; SINGH, 2017).

2.5.1 *Metal Organic Chemical Vapor Deposition* (MOCVD)

Segundo Oliveira (2016), MOCVD consiste numa técnica em que ocorre uma deposição de material oriundo de um organometálico no estado de vapor, em um substrato aquecido e sob vácuo (Figura 5). É uma técnica bastante empregada na indústria de eletrônicos, utilizando materiais semicondutores no revestimento de placas. O substrato é em geral, uma superfície aquecida, a base de silício ou outros materiais adsorventes. Este método de preparação de nanomateriais utiliza gás nitrogênio (N_2) como gás de transporte devido a suas características inertes. Nessa técnica, a pressão, temperatura, tempo e fluxo de materiais têm grande influência nas morfologias e propriedades que os materiais apresentam. A temperatura de funcionamento pode variar de 550 a 750 °C (KUMAR et al., 2014).

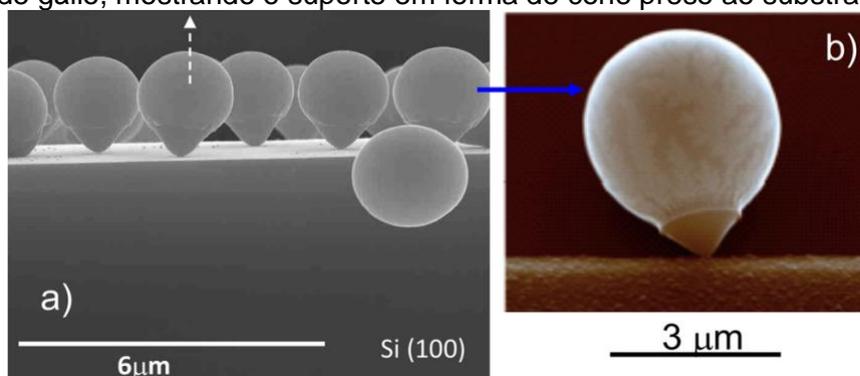
Figura 5 - Representação esquemática da deposição química de gálio, em placa de substrato de silício, sob atmosfera de nitrogênio, no equipamento de MOCVD.



Fonte: Adaptado de Chang & Wu (2002).

Como o gálio apresenta alternância de fases em temperatura ambiente, pois apresenta baixo ponto de fusão, e isso dificulta nas suas aplicações, esta característica pode ser modificada por meio da técnica de MOCVD, que traz uma maior estabilidade térmica para suas partículas, mantendo-se no estado sólido. Sacilotti e colaboradores (2007) obtiveram o desenvolvimento de esferas cultivadas em substratos como o silício. Imagens de um substrato de silício e perpendicular ao substrato com microesferas de gálio podem ser verificadas na figura 6.

Figura 6 - a) Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) de esferas de gálio cultivadas em substrato de Si. (b) visão expandida de alta qualidade de SEM de uma microesfera de gálio, mostrando o suporte em forma de cone preso ao substrato de silício.



Fonte: De Melo et al., 2016.

Existem vários outros relatos sobre a síntese de nanoestruturas de gálio pelo MOCVD (TAKIGUCHI; MIYAJIMA, 2017). Jesen e colaboradores (1991) elucidam alguns organometálicos, percussores de alumínio e gálio. O principal precursor de gálio, utilizado na produção de filmes e semicondutores, é o Trietilgálio (TEGa), molécula altamente reativa, que entra em processo espontâneo de combustão em contato com oxigênio. Dessa forma, ela é ideal para ser utilizada no desprendimento de gálio, porém sob atmosfera controlada.

2.5.2 Chemical Vapor Deposition (CVD)

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

Este sistema se baseia no mesmo princípio da técnica de MOCVD, entretanto, não se utiliza o composto organometálico e nem fluxo de nitrogênio, pois o objetivo da técnica é oxidar amostras, sob atmosfera de oxigênio com ou sem pressão e com temperaturas mais controladas. As temperaturas maiores são utilizadas para se obter pós de diâmetros menores e formar nanofilamentos, quando necessário (KUMAR et al., 2017).

Materiais metálicos puros podem ser utilizados para serem oxidados nesse equipamento, onde suas partículas se ligam ao oxigênio, formando materiais mais estáveis (KRUMDIECK, 2008). O gálio puro, por exemplo, apresenta baixa estabilidade, com ponto de fusão de aproximadamente 29,7 °C, o que permite a sua mudança de estado sólido para o líquido quando manuseado, assim como ocorre com o mercúrio (PATNAIK, 2003). Nesse contexto, Ramalho (2017) descreve a obtenção de nanoestruturas e óxido de gálio para aumento de sua estabilidade térmica, utilizando a técnica de CVD com fluxo de oxigênio em temperaturas que variam de 300, 500 e 700 °C e compara os materiais, que apresentaram diferentes características físico-químicas e um produto que não sofre mais alterações térmicas em temperaturas reduzidas. Oliveira (2016) sintetizou óxido de zinco e óxido de gálio por MOCVD seguido da oxidação pela técnica de CVD objetivando analisar as propriedades desses materiais semicondutores no revestimento de próteses. A mesma estabilidade foi observada após o processo de oxidação, assim como a produção de pós de tamanhos reduzidos.

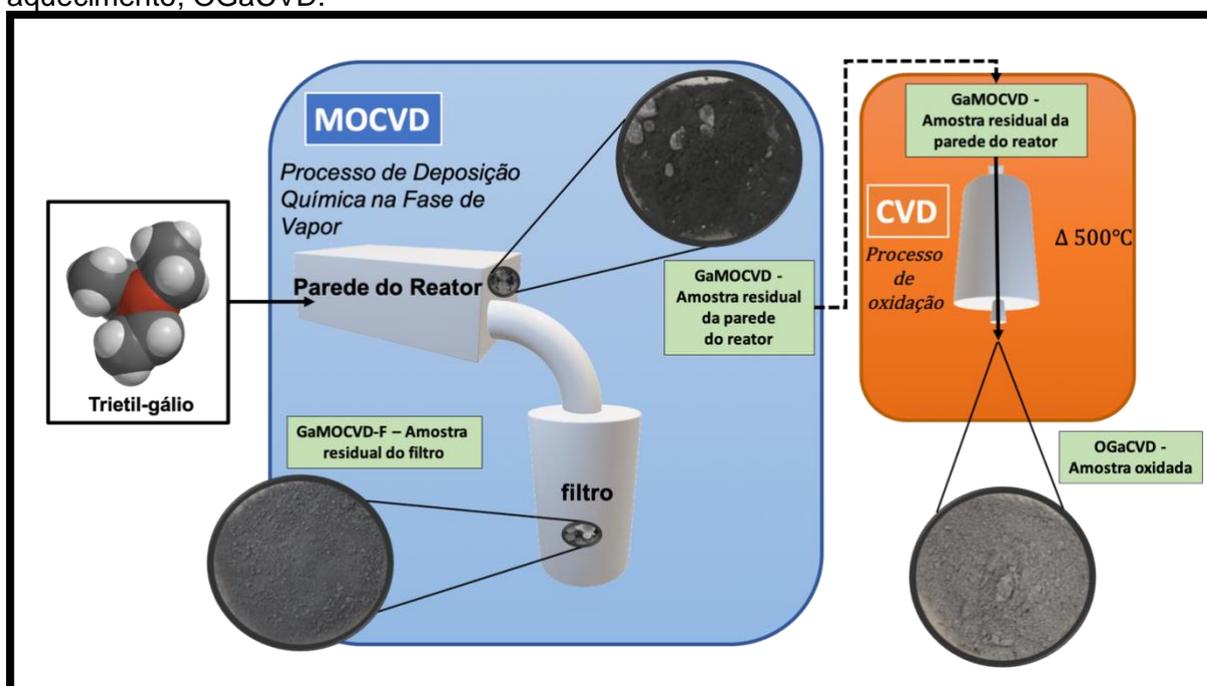
MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE GÁLIO

As amostras de gálio analisadas foram resíduos obtidos a partir da reação de deposição química de Trietilgálio (TEGa) (Dock Chemicals - Alemanha). Três amostras foram originadas do equipamento de *Metal Organic Chemical Vapor Deposition* (MOCVD): GaMOCVD (amostra 1), compreende o resíduo removido da parede do reator do equipamento; GaMOCVD-F (amostra 2), o material removido do filtro do equipamento; OGaCVD (amostra 3), o resíduo removido do reator que passou por um processo de oxidação pelo forno CVD (*Chemical Vapor Deposition*). Ambos os equipamentos se encontram no Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). O fluxograma dos processos MOCVD e CVD pode ser encontrado na Figura 7, e suas metodologias serão descritas nas seções 3.1.1 e 3.1.2.

Figura 7 - Fluxograma do processo de Deposição Química na Fase de Vapor pela utilização de Organometálicos como precursor (MOCVD) e oxidação por Deposição Química na Fase de Vapor (CVD), destacando as duas amostras coletadas após o primeiro processo (GaMOCVD e GaMOCVD-F), e a amostra do reator após o processo de oxidação e aquecimento, OGaCVD.



Fonte: Dados da pesquisa.

3.1.1 *Metal Organic Chemical Vapor Deposition* (MOCVD)

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

O processo MOCVD foi realizado usando um fluxo de 1 sccm de trietil-gálio (precursor), pressão de crescimento de 50 - 740 torr, vazão de 5000 sccm de N₂ (gás carreador), temperatura de crescimento na faixa de 550 °C - 750 °C e tempo de deposição de aproximadamente 15 min, assim como reportado por Ramalho (2017) e também por Oliveira (2016). O fluxograma com todos os compartimentos do equipamento pode ser visualizado no Anexo A.

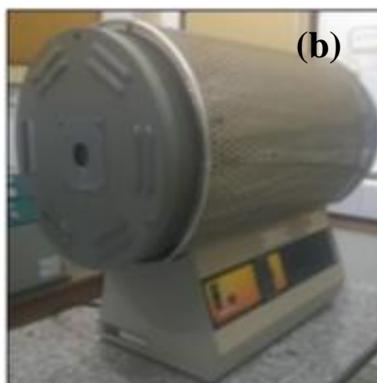
3.1.2 Oxidação por *Chemical Vapor Deposition* (CVD)

Após a deposição no sistema MOCVD, parte do material coletado do reator (GaMOCVD, a amostra 1) foi submetido à oxidação em atmosfera de oxigênio (sendo renomeado OGaCVD, tornando-se a amostra 3) com um fluxo de 1 slm por 1 hora a 500 °C, baseando-se em resultados de estudos realizados por Ramalho (2017). As amostras foram colocadas em recipientes, chamados de “barcos” de quartzo e, após se estabelecer um fluxo de gás oxigênio de 1slm, os barcos foram introduzidos no cilindro cerâmico horizontal do forno de oxidação do sistema CVD, com atmosfera aberta.

O forno de oxidação (Figura 8) é constituído por um cilindro cerâmico horizontal com dois orifícios nas duas extremidades laterais com um tubo de quartzo em seu interior, onde são inseridas as amostras a serem oxidadas. Uma mangueira conduz o fluxo de oxigênio do cilindro do gás até um dos orifícios do forno. A outra extremidade permaneceu aberta para saída do fluxo e retirada do material após oxidação, semelhante ao desenho esquemático da Figura 9.

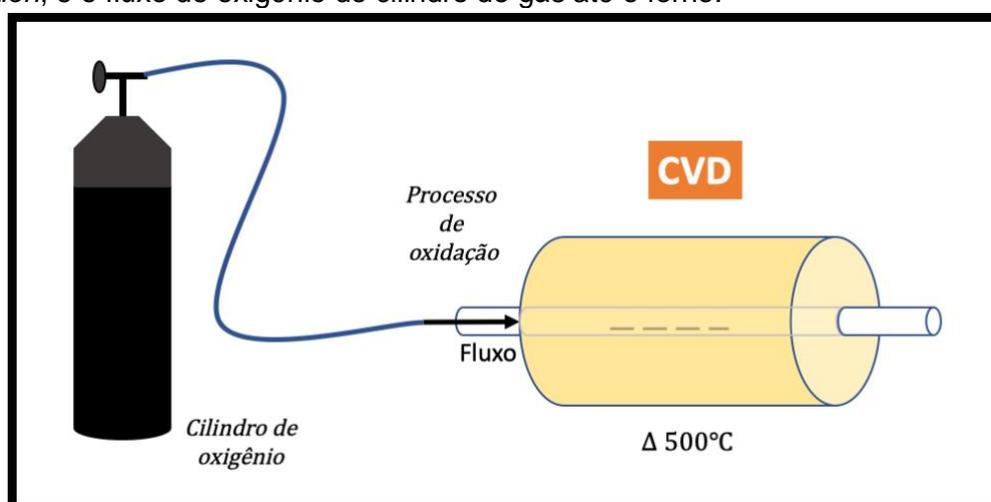
Figura 8 - Forno de oxidação do sistema CVD, *Chemical Vapor Deposition*: (a) vista frontal e (b) vista lateral.





Fonte: Adaptado de Ramalho (2017)

Figura 9 - Desenho esquemático do forno de oxidação do sistema CVD, *Chemical Vapor Deposition*, e o fluxo de oxigênio do cilindro do gás até o forno.



Fonte: Adaptado de Ramalho (2017)

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE GÁLIO

As nanoestruturas de gálio foram caracterizadas por: difratometria de raios-X (DRX), tamanho de partícula por granulometria à laser, termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por energia dispersiva (EDS), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia Raman.

3.2.1 Difratometria de raios-X (DRX)

As análises de difração de raios-X das amostras de gálio foram realizadas utilizando um difratômetro de raios-X Brunker modelo D8 Advance Davinci com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). A voltagem do tubo de raios-X foi de 40 kV com corrente

de tubo de 40 mA usando níquel como filtro. As análises foram realizadas na faixa angular de 3-80°, tamanho do passo de 0,03° e tempo de contagem de 1 segundo por passo. O tamanho do cristal das amostras foi calculado pela equação de Scherrer (Equação 1) (SCHERRER, 1918), em função da largura total na metade do máximo (FWHM), por meio do software HighScore Plus (Malvern Panalytical).

Equação (1):
$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}$$

Onde:

τ é o tamanho médio dos domínios ordenados (cristalinos), o qual pode ser menor ou igual ao tamanho das partículas;

K é um adimensional fator de forma, com um valor próximo da unidade. O fator de forma tem um valor típico de cerca de 0,9, mas varia com a forma real do cristalito;

λ é o raio-X de comprimento de onda;

β é a linha ampliando a metade do máximo de intensidade (FWHM), depois de subtrair o alargamento da linha, em radianos. Esta quantidade é também por vezes designado como $\Delta (2 \theta)$;

θ é o ângulo de Bragg.

3.2.2 Tamanho de partícula por granulometria à laser

As amostras foram dispersas numa solução de tensoativo Triton X 100 a 0,02% e posteriormente, submetidas à ultrassom durante 3 minutos. Para a análise da distribuição granulométrica, um analisador da distribuição de partícula Microtac® S3500 foi utilizado, com o tempo de medição de 30 segundos, e um fluxo de 70%. Foi utilizado o método Fraunhofer (CILAS, 2016).

3.2.3 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

A caracterização termoanalítica a partir de TG e DTA foi realizada em triplicata por meio de termobalança Shimadzu®, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 100 mL/min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 5 mg ($\pm 0,4$), acondicionadas em cadinho de alumínio na faixa de temperatura de 30 a 600 °C na

razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}^{-1}$. Os gráficos foram criados pela utilização do software Shimadzu® TA-60WS.

3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As amostras para análises de FTIR foram preparadas como pastilhas de KBr, na proporção aproximada de 1 mg da amostra para 100 mg de KBr, que foram trituradas até que um pó fino fosse obtido. A mistura foi então submetida a uma força de 78,5 kN usando a prensa hidráulica Shimadzu® por 10 min. Os espectros de absorção no infravermelho das pastilhas de gálio foram obtidos utilizando um espectrômetro de absorção infravermelho com transformada de Fourier (IRTracer-100, espectrômetro Shimadzu®), por meio de 45 varreduras, na faixa de comprimento de onda de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$ e resolução de 4 cm^{-1} . Os gráficos foram criados pela utilização do software OriginPro® 2018.

3.2.5 Espectroscopia Raman

As amostras foram colocadas no microscópio Raman confocal Senterra da Bruker, equipado com objetivas de 50 e 100x. Os espectros Raman foram excitados por um laser de 532 nm, com potência de 5 mW e um tempo de integração de 10 segundos e 10 acumulações. Os gráficos foram criados com o auxílio do software MatLab® 2018a.

3.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

A avaliação da morfologia das amostras de gálio foi realizada utilizando um microscópio Jeol® JSM-5900 utilizando aumento de 50.000 a 100.000 vezes, após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 15 min (Metalizador Baltec® SCD 050). As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 15 kV. O percentual atômico foi observado a partir da técnica de espectroscopia por energia dispersiva (EDS) acoplada ao MEV.

3.3 ESTUDO *IN VITRO* DE CITOTOXICIDADE

3.3.1 Preparo das amostras

Foi realizado uma suspensão com 0,023 g de GaMOCVD-F, 2 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e carboximetilcelulose (CMC) a 1% em 10 mL de água ultrapura (MiliQ®), apresentando concentração final de 230 µg GaMOCVD-F/ mL para utilização nos testes de citotoxicidade e de atividade microbiológica.

Inicialmente a amostra GaMOCVD-F foi submetida à ultrassom (sonicação) durante 10 min em água com DMSO, e em seguida, o CMC 1% foi adicionado sob agitação magnética por 20 min e sonicado novamente por 2 min, tornando-se mais homogêneo. Uma solução branco, sem o GaMOCVD-F foi preparada como controle negativo nas análises *in vitro*.

3.3.2 Atividade Citotóxica e Cultivo Celular

A citotoxicidade em células de mamíferos foi avaliada por meio de ensaios com MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) (ALTMAN, 1976; MOSMANN, 1983). Esse ensaio baseia-se na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Cristais de formazan são formados no interior dessas células, que deve ser lisadas para a solubilização e posterior análise por espectrofotometria. Uma vez que a quantidade de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células viáveis, quanto maior for a viabilidade celular, maior será a proporção de redução do MTT e maior será a absorbância.

Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram semeados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂, para aderência. Após esse tempo, a amostra GaMOCVD-F foi adicionada nas concentrações de 3,125 a 100 µg/mL, assim como o controle negativo, e incubados novamente por um período de 48h. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25µL de MTT (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio) a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2h, a 37°C e ao abrigo da luz.

Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100µL de

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

DMSO foi adicionado por poço para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT. Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC_{50}) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em duplicata.

3.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO ANTIMICROBIANO

O preparo da suspensão de GaMOCVD-F seguiu o mesmo procedimento mencionado anteriormente, no item 3.3.1. Uma microplaca de 96 poços com fundo chato foi utilizada empregando a técnica de microdiluição. As linhas A até G correspondem a diferentes concentrações do GaMOCVD-F, e a linha H foi utilizada como controle negativo, sem a presença da amostra GaMOCVD-F e sem a presença do veículo, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 – Constituintes de cada linha e coluna da placa de 96 poços, e concentrações de GaMOCVD-F utilizadas.

Linha	Caldo BHI (µL)	GaMOCVD-F (µL)	Inóculo (µL)	Vol. final do poço (µL)	Conc. Final da subs. Teste (µg/mL)
A	20	60	20	100	138
B	30	50	20	100	115
C	40	40	20	100	92
D	50	30	20	100	69
E	60	20	20	100	46
F	65	15	20	100	34,5
G	70	10	20	100	23
H	80	-	20	100	-

Fonte: Dados da pesquisa.

A microplaca foi preparada de forma que cada poço tivesse um volume final de 100 µL. Em cada poço foi adicionado a dispersão do GaMOCVD-F partindo da mais concentrada - 138 µg/mL (A) para a menos concentrada - 23 µg/mL (G). Em seguida foi adicionado o meio *Brain Heart Infusion* (BHI) completando o volume para 80 µL e posteriormente foi adicionado 20 µL do inóculo microbiano, previamente padronizado para concentração final 0,5 na escala Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/MI), completando o volume final de cada poço.

Em seguida a placa foi submetida a estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foi adicionado 30 µL de resazurina em cada poço da microplaca. A microplaca foi recolocada na estufa a 37 °C durante 30 minutos. A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona-10-óxido) é um composto indicador de oxido-redução de cor roxa-azulada que, na presença de células viáveis, é oxidado a resofurina, substância de coloração vermelha (PALOMINO et al., 2002). Logo, a coloração roxa-azulada indica ausência de crescimento microbiano enquanto que as variações de rosa e vermelho são indicadores da presença de células viáveis para crescimento. Após o período de 30 minutos, foi realizado a análise da mudança de cor, onde a Concentração Inibitória Mínima (MIC) seria o último poço de coloração roxa-azulada, assim como a leitura da densidade óptica medida em comprimento de onda de 550 nm, para determinar o percentual de inibição.

A diluição da substância teste foi realizada em duplicata para cada microrganismo (cada 2 colunas correspondente a um microrganismo), como pode ser visto na Tabela 2. Os microrganismos utilizados foram *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 1106). As cepas microbianas fazem parte do banco de cultura do Laboratório de Microbiologia Aplicada/CCM/UFPE.

Tabela 2 – Divisão esquemática da placa de 96 poços com os microrganismos testados com a amostra GaMOCVD-F, exceto para a linha H, onde não houve adição da amostra.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C	<i>S. epidermidis</i>											
D		<i>S. epidermidis</i>										
E			<i>E. coli</i>									
F				<i>E. coli</i>								
G	<i>S. epidermidis</i>				<i>S. aureus</i>							
H		<i>S. epidermidis</i>				<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>				
								<i>C. albicans</i>	Branco + SE			
										Branco + EC		
											Branco + SA	
												Branco + CA

Fonte: Dados da pesquisa.

A determinação do percentual de inibição da viabilidade microbiana (VM%) foi possível a partir da leitura da O.D.₅₅₀, obtida com auxílio de espectrofotômetro Thermo Plate®. O gráfico com o resultado das análises foi obtido por meio do software OriginPro® 2018. A viabilidade microbiana foi determinada pela Equação (2):

$$\text{Equação (2)} \quad VM\% = \frac{\text{O.D. (substancia teste)}}{\text{O.D. (célula microbiana sem substancia inibitória)}} \times 100$$

3.5 OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA POMADA DE NANOESTRUTURAS DE GÁLIO EM LOTES DE BANCADA (LB)

O desenvolvimento da pomada foi realizado tendo como base os estudos de pré-formulação e a Resolução sobre Boas Práticas de Fabricação (RDC N° 301/2019 da ANVISA). Com o objetivo de analisar e comparar a importância de cada excipiente, cinco lotes de bancada (F1-F5) foram desenvolvidos. Os excipientes se encontram na Tabela 3 nas suas respectivas concentrações para cada lote, seguindo um planejamento quali-quantitativo, conforme recomendado pelo Handbook of Pharmaceutical Excipients (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2017) e pelo Formulário Médico-Farmacêutico (BATISTUZZO; ITAYA; ETO, 2015).

Tabela 3 - Obtenção de lotes de bancada (50 g) da pomada e suas composições.

COMPOSIÇÃO	LOTES				
	F1	F2	F3	F4	F5
GaMOCVD-F	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Lanolina	30%	30%	30%	-	30%
Vaselina líquida	-	-	-	30%	-
Amido	-	-	-	-	5%
CMC	1%	6%	-	-	-
BHT	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%	0,02%
Vaselina sólida	qsp 100%				

Legenda: carboximetilcelulose (CMC), hidroxitolueno butilado (BHT)

As pomadas foram obtidas pela adição do BHT previamente dissolvido em gotas de propilenoglicol e incorporação da amostra GaMOCVD-F. Em seguida foi adicionada a base da pomada em temperatura de 25 °C, cuja constituição também pode ser observada na tabela 3. Após manipulação, as pomadas foram acondicionadas em embalagens plásticas hermeticamente fechadas.

Através do toque e sensibilidade a consistência foi avaliada observando as suas características, presença ou ausência de granulações. Como testes de controle de qualidade foram realizados os testes de centrifugação e pH. Para o primeiro teste foi pesado aproximadamente 10g de cada lote e em seguida levadas à centrífuga para realização do teste em ciclos de 1000, 2500 e 3500 rpm (rotações por minuto) durante 15 minutos em cada velocidade à temperatura ambiente. O pH das formulações foi

verificado utilizando um pHmetro digital (Micronal). O equipamento foi previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OBTENÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE GÁLIO

O material coletado do reator do equipamento de MOCVD foi submetido à pulverização para permitir uma maior uniformidade entre o tamanho das partículas. Entretanto, pelo alto teor de Gálio presente na amostra, e pelo Gálio em sua forma metálica apresentar baixo ponto de fusão (29,7 °C) ocorreu a mudança de fase sólida para líquida, formando gotas de gálio, como pode ser evidenciado na figura 10.

Figura 10 – Estruturas de Gálio obtidas após o processo de síntese por MOCVD e seguido de pulverização. As gotículas presentes na amostra após o processo de pulverização evidenciam a grande concentração de gálio no material e a sua instabilidade térmica ao ser manuseada.



Fonte: Dados da pesquisa.

A partir de então, o material foi dividido, como mencionado anteriormente, dando origem às amostras GaMOCVD e uma outra que em sequência foi submetida ao processo de oxidação nos “barcos” de quartzo pela técnica de CVD (amostra OGaCVD). A figura 12 mostra um dos barcos após ser retirado do forno de CVD após o processo de oxidação.

Figura 11 - Imagem do barco utilizado no forno do sistema CVD após o processo de oxidação, evidenciando em seu interior a amostra OGaCVD.



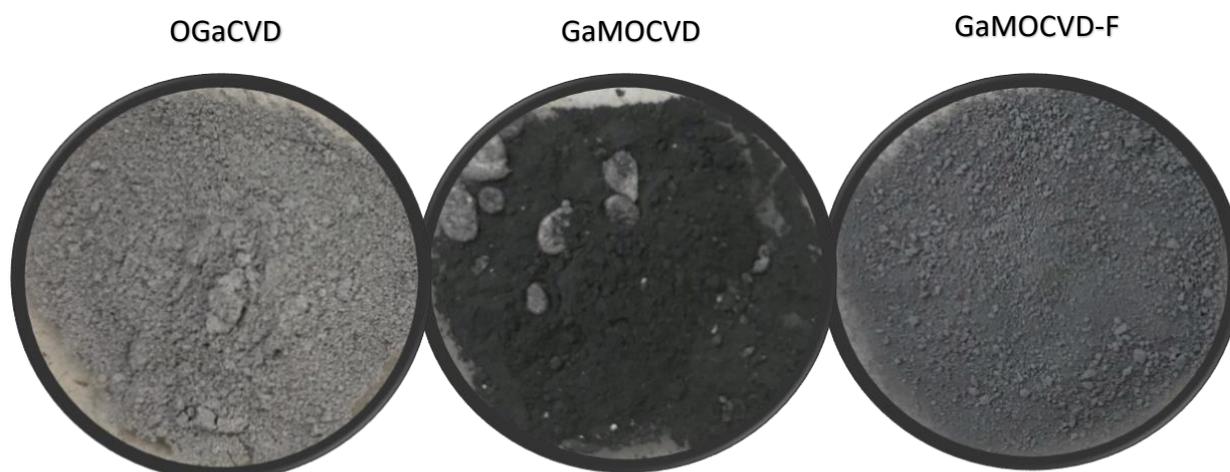
Fonte: Dados da pesquisa.

É possível observar uma mudança de coloração do material entre as figuras 10 e 11, de cinza escuro para cinza claro, após o processo de oxidação pelo forno de CVD, o que indica um desprendimento das cadeias de carbono presentes nas moléculas do material e substituição por átomos de oxigênio fornecidos pelo fluxo de O_2 conectado ao equipamento. Os pós oxidados (OGaCVD) foram pulverizados pela utilização de gral e pistilo para permitir uma maior uniformidade do material.

A amostra obtida do filtro do equipamento (GaMOCVD-F) foi a que apresentou melhor rendimento entre as três amostras (aproximadamente 12 g de material coletado). Por se tratar de uma técnica bastante empregada na indústria de eletrônicos e por apresentar uma atmosfera controlada sob fluxo de gás nitrogênio, o equipamento apresenta um alto rendimento quando utilizado em escala industrial, pois todo material utilizado como precursor se mantém retido no equipamento, podendo ser posteriormente coletado como forma de reaproveitamento de produtos químicos. Diferentemente do caso industrial mencionado, o equipamento utilizado nesse estudo apresenta finalidade apenas de pesquisa, e mesmo assim, a quantidade de amostra obtida foi considerada satisfatória, uma vez que o gálio é utilizado com finalidade terapêutica em baixas concentrações, como mencionado por diversos estudos pré-clínicos e relatos de caso (BERNSTEIN, 2012; KANEKO et al., 2007; MINANDRI et al., 2014).

Para permitir uma maior uniformidade do tamanho dos pós em cada amostra, foi realizada uma calibração do material em tamis nº 35 ($500\mu m$), como pode ser evidenciado na figura 12.

Figura 12 - Obtenção das três amostras após o processo de calibração do tamanho de pós pela utilização de tamis nº 35 (500 μ m): OGaCVD; GaMOCVD e GaMOCVD-F.



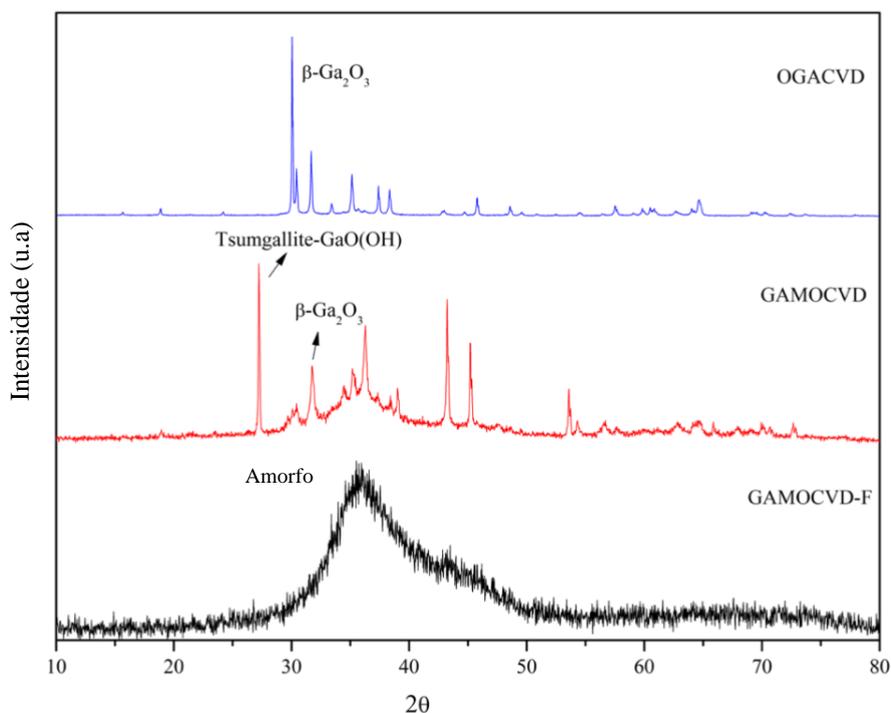
Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS DE GÁLIO

4.2.1 Difratomia de Raios-X (DR-X)

O difratograma da amostra GaMOCVD (Figura 13) apresentou um pico intenso na região de 30 °. De acordo com De Melo e colaboradores (2016), este pico é característico do polimorfo β -Ga₂O₃. O difratograma de OGaCVD apresentou o mesmo padrão de fase cristalina de β -Ga₂O₃ (AKAZAWA, 2016; ZHUO et al., 2017). Corroborando com os resultados encontrados por Kumar e colaboradores (2014), afirmando que altas temperaturas aplicadas no equipamento CVD levam à formação do polimorfo termoestável β -Ga₂O₃ na forma monoclinica. Os difratogramas dos pós das nanoestruturas de gálio podem ser verificados na figura 13.

Figura 13 - Difratomogramas dos três diferentes pós de gálio, em diferentes níveis de cristalinidade/amorfização. OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F, apresentam seus perfis difratométricos verticalmente, de cima para baixo, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa.

O tamanho do cristal das amostras foi calculado pela equação de Scherrer, em função da largura total na metade do máximo (FWHM), por meio do software HighScore Plus. A amostra de GaMOCVD apresentou tamanho de cristal de 54,2 nm e a amostra de OGaCVD 70,5 nm. Estes resultados sugerem que a presença de halos de difração mais largos ocorre devido à diminuição no tamanho do cristal. Não foi possível aplicar esta equação à amostra de GaMOCVD-F, uma vez que não foi identificado o pico da fase cristalina, caracterizando a amostra como amorfa.

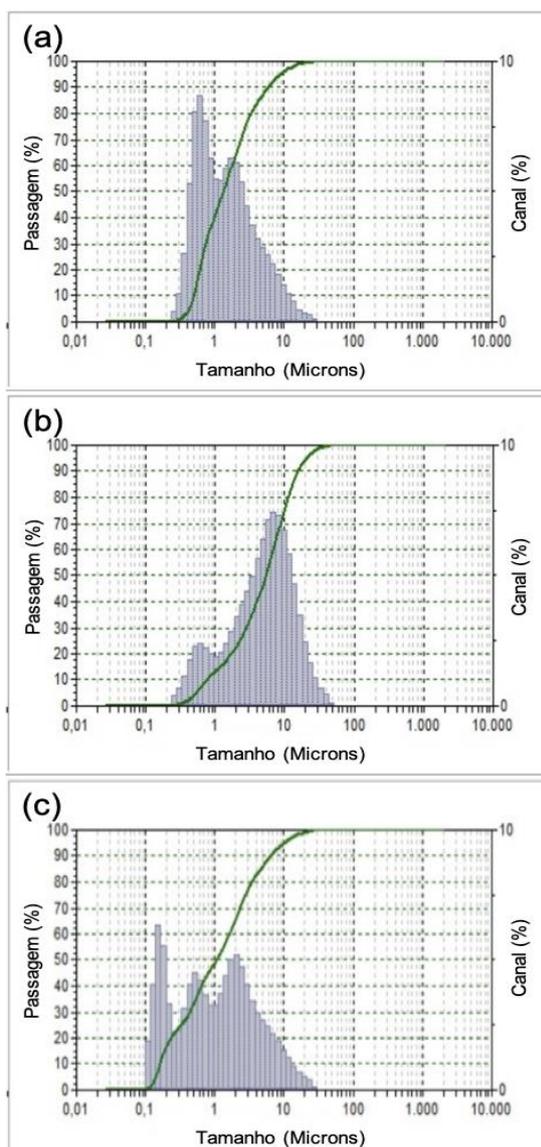
De acordo com De Melo et al. (2016) a ampliação do pico de difração caracteriza a porção amorfa do pó, além de indicar a formação de nanoestruturas. Na tecnologia farmacêutica, os materiais amorfos são mais indicados para a preparação de formas farmacêuticas, pois, geralmente oferecem a maior vantagem em termos de solubilidade e biodisponibilidade, especialmente para dispersões sólidas e produtos semissólidos. Entretanto, apesar dos resultados obtidos, seria necessário a realização de estudos de solubilidade e de estabilidade físico-química para confirmar tal vantagem para as nanoestruturas de gálio (HANCOCK, 2000; ALVES et al., 2012).

A formação de uma amostra amorfa (GaMOCVD-F) sugere que a técnica MOCVD é adequada para produzir nanoestruturas amorfas de gálio sob condições intermediárias de temperatura e pressão (TAKIGUCHI; MIYAJIMA, 2017).

4.2.2 Tamanho de Partícula por Granulometria à Laser

Em relação ao tamanho de partícula, foi possível observar a variação dos tamanhos e o diâmetro médio das mesmas, havendo correlação. A figura 14 ilustra os gráficos plotados, evidenciando a percentagem de partículas em função de seu tamanho em micrômetros.

Figura 14 - Análise de tamanho de partícula por granulometria à laser, onde: (a) OGaCVD; (b) GaMOCVD; (c) GaMOCVD-F



Fonte: Dados da pesquisa.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

A amostra de OGaCVD, apresentou diâmetro médio de 2,48 μm , com partículas que variaram entre 0,493 e 8,80 μm . Aproximadamente 70% da amostra, possui diâmetro inferior ao diâmetro médio. Cerca de 40,18% das partículas, apresentaram tamanho nanométrico, com valores inferiores a 0,972 μm , de acordo com a figura 14 (a).

O diâmetro médio da amostra de GaMOCVD foi de 7,15 μm , com tamanhos de partícula variando entre 0,76 e 20,36 μm . Aproximadamente 60% das partículas, apresentaram diâmetro inferior ao diâmetro médio. O percentual de partículas que alcançaram a escala nanométrica foi próximo de 12,88%, com valores inferiores a 0,972 μm , de acordo com a figura 14 (b).

Os tamanhos das partículas da amostra de GaMOCVD-F variaram de 0,162 a 9,97 μm , com diâmetro médio de 2,403 μm . No entanto, aproximadamente 70% das partículas, apresentaram diâmetro inferior ao diâmetro médio. Cerca de 48,51% da amostra, apresentou-se na escala nanométrica, com valores inferiores a 0,972 μm , conforme a figura 14 (c). A tabela 4 correlaciona o percentual nanométrico de cada amostra, com seu respectivo diâmetro médio.

Tabela 4 - Relação entre o diâmetro médio das amostras de OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F, com seus respectivos percentuais de partículas nanométricas.

Amostra	Diâmetro Médio (nm)	Número de Partículas Nanométricas (%)
OGaCVD	2840	40,18
GaMOCVD	7150	12,88
GaMOCVD-F	2403	48,51

Fonte: Dados da pesquisa.

Os dados da tabela 4 comprovam que a amostra de GaMOCVD-F apresenta o menor diâmetro médio, assim como, possui um maior número de partículas na escala nanométrica. Segundo Daudt e colaboradores (2013), partículas nanométricas apresentam melhor estabilidade físico-química, maior superfície de contato, além de uma melhor permeabilidade na pele, sendo bastante utilizadas na indústria farmacêutica e de cosméticos.

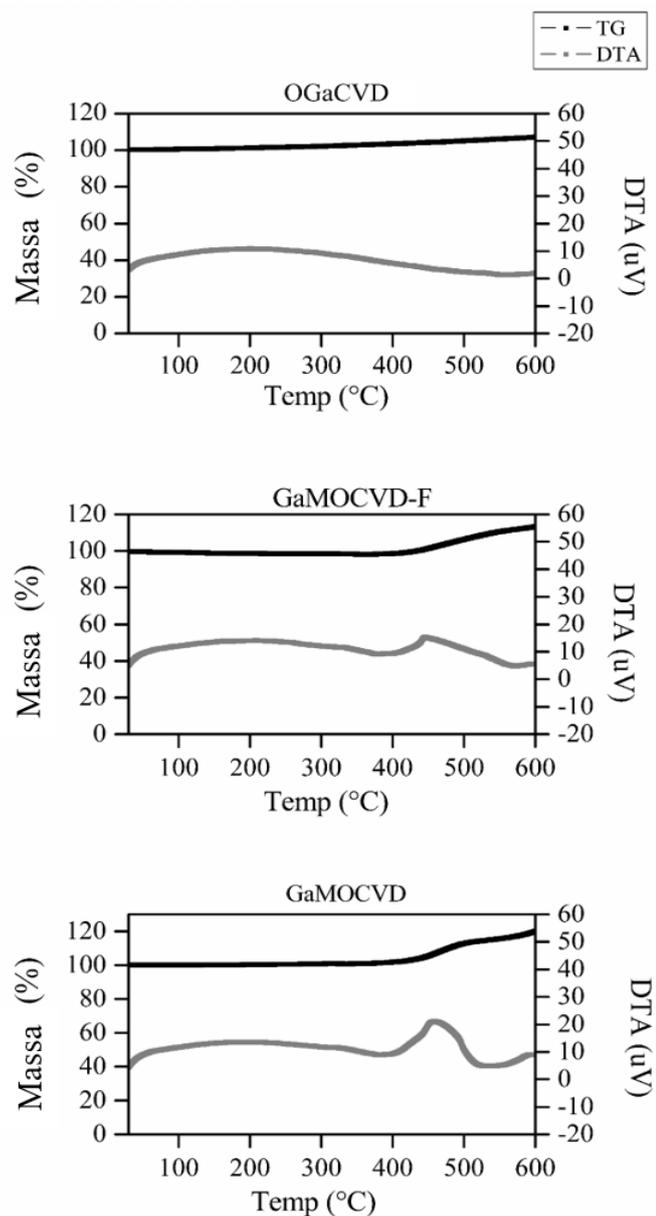
A tabela 4 mostra que o diâmetro médio das partículas do OGaCVD é menor do que o diâmetro médio do GaMOCVD. De Melo e colaboradores (2016), sugerem

que nanoestruturas de gálio, quando submetidas a oxidações no forno do equipamento de CVD, diminuem de diâmetro de forma gradativa.

4.2.3 Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

A termogravimetria é uma técnica que permite analisar a estabilidade térmica de substâncias. A figura 15 apresenta as curvas termogravimétricas dos pós de gálio, correlacionando massa em função da temperatura.

Figura 15 - Curvas termogravimétricas do OGaCVD, GaMOCVD-F e GaMOCVD, com temperaturas que variam de 30- 600 °C.



Fonte: Dados da pesquisa.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

A amostra de OGaCVD apresentou massa constante numa temperatura que variou de 30 - 400 °C, aproximadamente. No entanto, entre 400 a 600 °C, a curva apresentou um discreto ganho de massa em torno de 0,5%, sugerindo a formação de subóxidos de gálio, que são intermediários do processo de oxidação, conforme Patnaik (2002).

A curva de GaMOCVD apresentou massa constante, durante a faixa de temperatura de 30-450 °C, aproximadamente. Nas temperaturas acima desse valor, o discreto ganho de massa foi evidente, sugerindo a formação de nitreto de gálio, conforme Kente & Mhlanga (2016). Um resultado semelhante ocorreu com a amostra GaMOCVD-F, onde não apresentou variação significativa de massa, mantendo-se praticamente constante durante quase toda a análise termogravimétrica, exceto entre 450 a 600 °C, onde ocorreu em torno de 10% de ganho de massa, sugerindo também sugerindo a formação de nitreto de gálio pelo contato com o gás nitrogênio da atmosfera do equipamento. O fato da formação do nitreto não ocorrer, em tese, na amostra oxidada (OGaCVD) se deve à maior estabilidade que o processo de oxidação traz para materiais metálicos e nanométricos, assim como reportado por PHAN e HAES (2019), impedindo a sua interação com o gás nitrogênio.

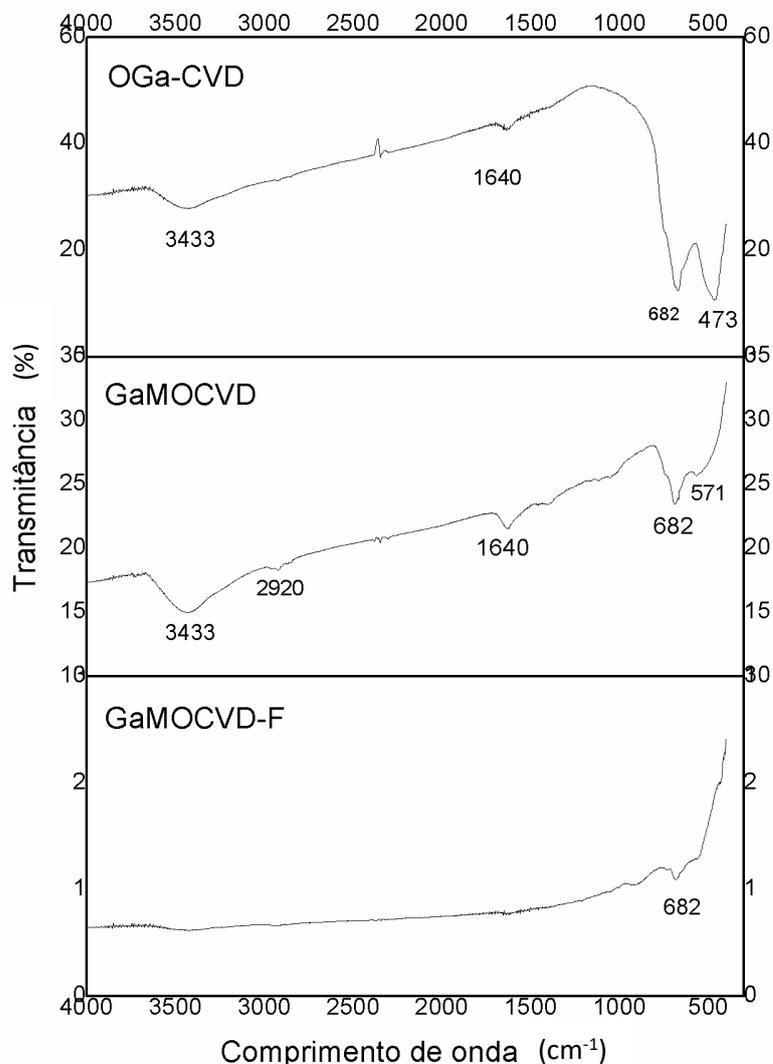
Foi possível observar que não houve perda de massa de forma significativa em nenhuma das amostras, corroborando com os relatos de Patnaik (2002), indicando que moléculas inorgânicas apresentam estabilidade térmica. Além disso, segundo Kumar e colaboradores (2014), o pó de óxido de gálio apresenta fusão em temperaturas acima de 1800 °C. Quando o elemento químico gálio está na forma metálica, seu ponto de fusão é de aproximadamente 29,7 °C. Porém, quando este se liga de forma iônica com halogênios e calcogênios, o ponto de fusão aumenta, sendo superior a 1000 °C (PATNAIK, 2002).

4.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A figura 16 mostra os espectros em FTIR das três nanoestruturas de gálio. Os padrões de espectroscopia de infravermelho apresentados mostram bandas

características esperadas para o Ga_2O_3 , assim como reportado por Hou et al. (2010), Escribiano et al. (2005), Playford et al. (2014) e Rambabu et al. (2007).

Figura 16 - Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das três diferentes nanoestruturas de gálio: OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F.



Fonte: Dados da pesquisa.

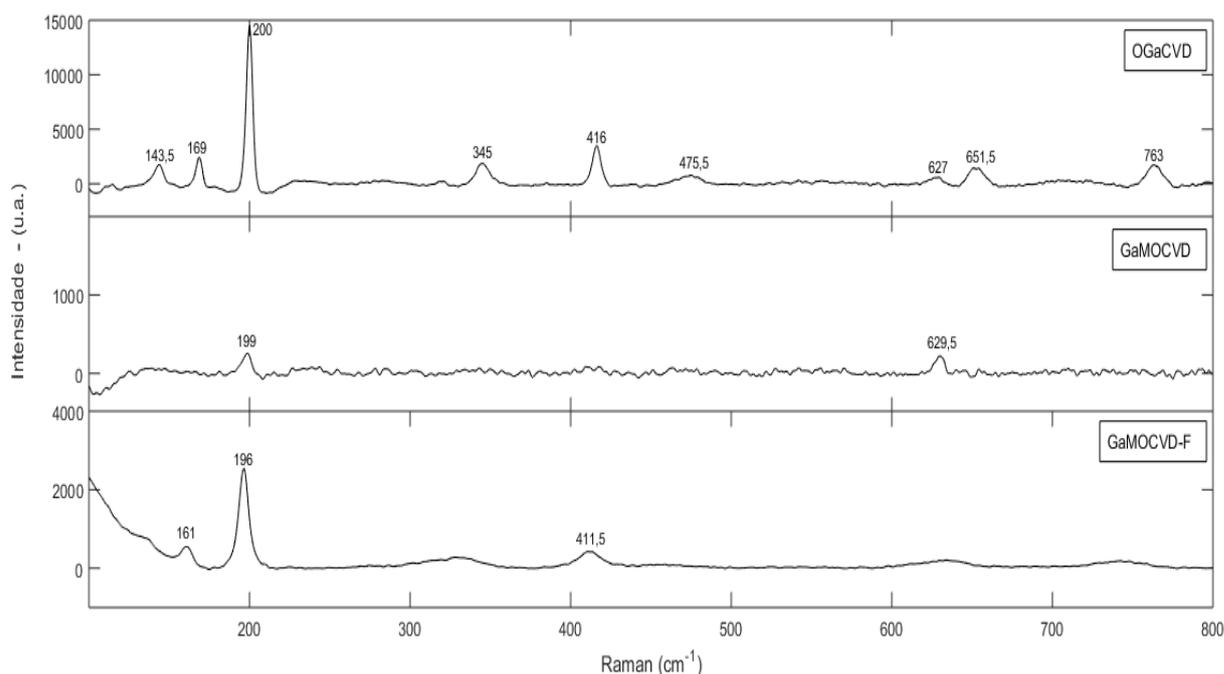
As bandas observadas em 682 cm^{-1} são similares às reportadas por Hou et al. (2010) e por Escribano e colaboradores (2005), correspondentes às vibrações entre as ligações Ga-O-Ga. Os mesmos autores também relataram uma banda em torno de 3450 cm^{-1} e outra em 1630 , estando relacionadas com vibrações de estiramento de grupos O-H. Hou e colaboradores (2010) relacionam o comprimento destas bandas a uma maior quantidade de grupos hidroxilas. Neste sentido, a amostra GaMOCVD apresenta um maior número de hidroxilas. O oposto ocorre com a amostra GaMOCVD-F, onde ambos os sinais se apresentam quase imperceptíveis. Isso se

deve, principalmente ao fato da técnica de FTIR ser uma ferramenta mais voltada para identificação de compostos orgânicos, pois é capaz de identificar diferentes ligações químicas entre átomos pelas deformações rotacionais e vibracionais. Dessa forma, a dificuldade na visualização dos sinais de amostras inorgânicas se deve à presença de ligações fracas do tipo iônica (SKOOG et al., 2010). Assim, objetivando trazer um maior aprofundamento químico e estrutural das amostras também foi realizada a análise por espectroscopia Raman, como pode ser evidenciado no tópico 4.2.5.

4.2.5 Espectroscopia Raman

Os espectros de Raman dos pós das nanoestruturas de gálio são verificados na figura 17. Pode ser visualizado diferenças de intensidades nas três amostras.

Figura 17 - Espectro de Raman das três diferentes nanoestruturas de gálio: OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na amostra de OGaCVD foi possível evidenciar picos característicos do β -Ga₂O₃, corroborando com resultados encontrados por Zhang et al., (1999), Choi et al., (2000) e Kumar, Kumar e Singh (2017), apresentando picos mais estreitos e mais definidos. Zhang e colaboradores (1999) identificaram dois picos com modos de vibração característicos em 198 cm⁻¹ e 417 cm⁻¹, assim como foram encontrados por

Choi e colaboradores (2000) em 201 cm^{-1} e 417 cm^{-1} , identificando também outros picos característicos da fase β em $253, 321, 345, 476, 630, 653$ e 767 cm^{-1} , resultados semelhantes aos identificados no espectro OGaCVD.

Zhao e Frost (2008) sintetizaram nanoestruturas de óxido de gálio ($\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$) e identificaram que bandas em $630, 656$ e 767 cm^{-1} eram referentes a flexão e alongamento de GaO_4 . Em $320, 347, 417, 465\text{ cm}^{-1}$ os picos eram referentes a flexão e alongamento simétricos de GaO_2 , relacionados as vibrações octaédricas. Uma banda em 201 cm^{-1} , também foi identificada evidenciando a ligação O-Ga-O. Estas bandas corroboram com as encontradas para a amostra de OGaCVD. Já no estudo de Khan e colaboradores (2009), foram sintetizadas nanoestruturas de $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$ pelo método de evaporação térmica. Os espectros de Raman obtidos a temperatura ambiente e excitados com laser a 532 nm de comprimento de onda, corroboram com os encontrados para a amostra de OGaCVD.

Rao e colaboradores (2005) avaliaram o espectro Raman de nanofios de óxido de gálio, onde utilizaram como padrão de comparação o $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$ que apresentou bandas em $144, 169, 200, 317, 344, 416, 742, 629, 654, 767$, as quais estão de acordo com as bandas encontradas para a amostra de OGaCVD. Os nanofios desenvolvidos por estes pesquisadores apresentaram deslocamento das bandas em aproximadamente 40 cm^{-1} quando comparado com o padrão devido a deformações internas induzidas pela direção do crescimento em nanofios $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$.

Na amostra de GaMOCVD-F, em aproximadamente 196 e $411,5\text{ cm}^{-1}$, estes picos apresentam-se mais alargados em comparação a amostra de OGaCVD e com intensidade menor. De acordo com Gomez, Coelho e Maspochv (2019), a intensidade dos espectros Raman é proporcional ao tamanho das partículas. Dessa forma, as intensidades apresentam-se maiores a medida em que os tamanhos de partículas são maiores. Corroborando com os resultados obtidos, a amostra de OGaCVD apresenta picos de maior intensidade, visto que possui o maior tamanho de partícula, enquanto a amostra de GaMOCVD-F apresentou menor tamanho de partículas, evidenciando menor intensidade no espectro.

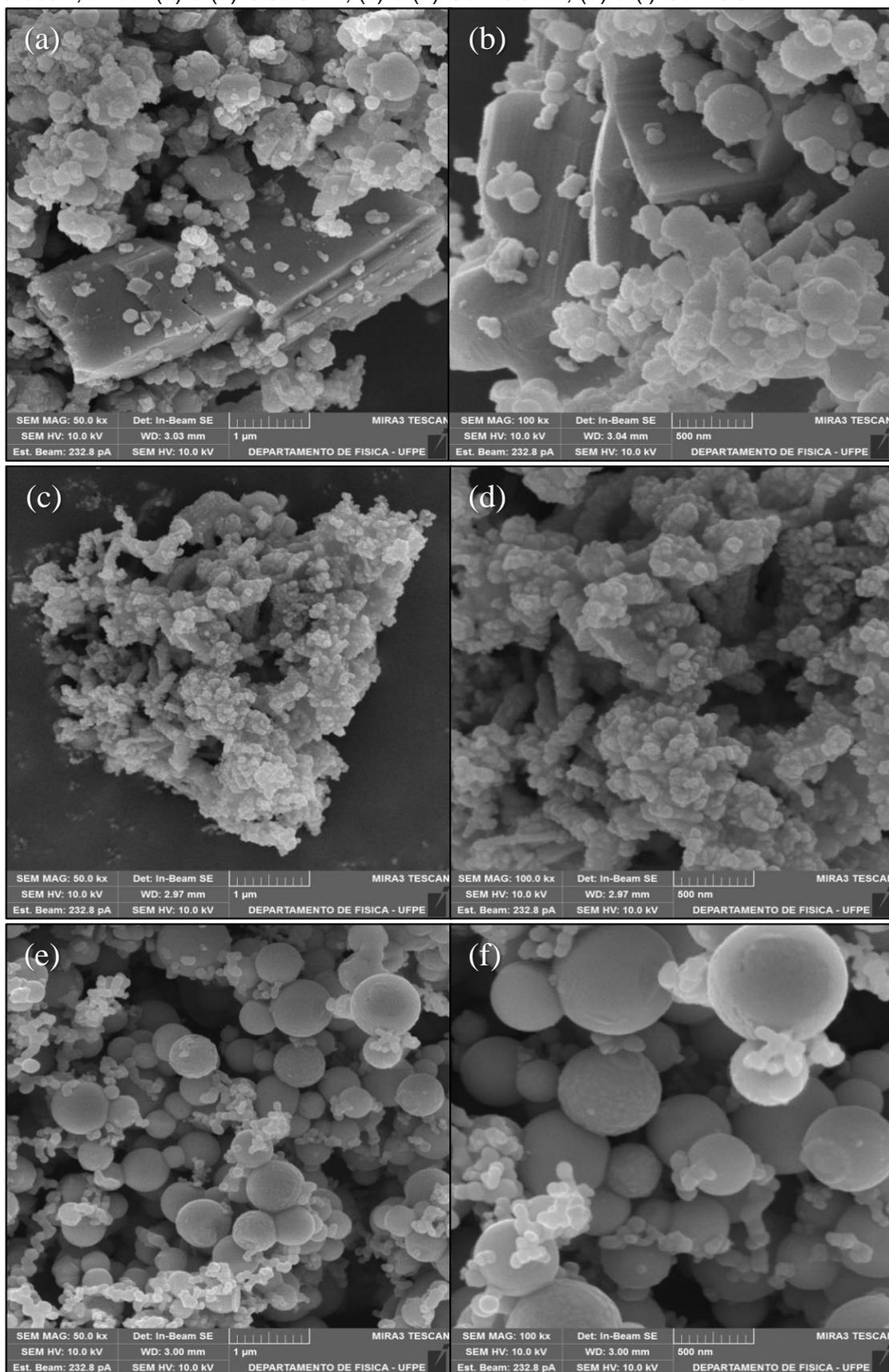
Apesar da amostra GaMOCVD apresentar tamanho de partícula maior do que o GaMOCVD-F, o primeiro apresentou uma maior quantidade de picos com intensidade inferiores. Este fato pode estar relacionado a maior instabilidade encontrada para esta amostra, pois quando exposta ao ambiente, esta apresenta característica de aglomeração do gálio, formando gotículas, conseqüentemente,

dificultando a realização da análise, e possivelmente gerando mais fluorescência e por sua vez, resultando em interferências no espectro. De acordo com Dent (2005), as fluorescências emitidas por determinadas amostras podem dificultar a emissão do espectro, tornando as bandas mais largas e com intensidade menor. O comprimento de onda em 1064 nm é o mais indicado para evitar o aparecimento de fluorescência (HARGREAVES et al., 2009; WEST; WENT, 2010). Outras evidências apontam que entre os comprimentos de onda entre 790-850 nm é possível a diminuição da interferência da fluorescência no espectro (DENT, 2005).

4.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que permite evidenciar morfologias de substâncias. A figura 18 apresenta os resultados das estruturas nanométricas dos pós de gálio.

Figura 18 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) com magnificações de 50.000 e 100.000X, onde: (a) e (b) OGaCVD; (c) e (d) GaMOCVD; (e) e (f) GaMOCVD-F.

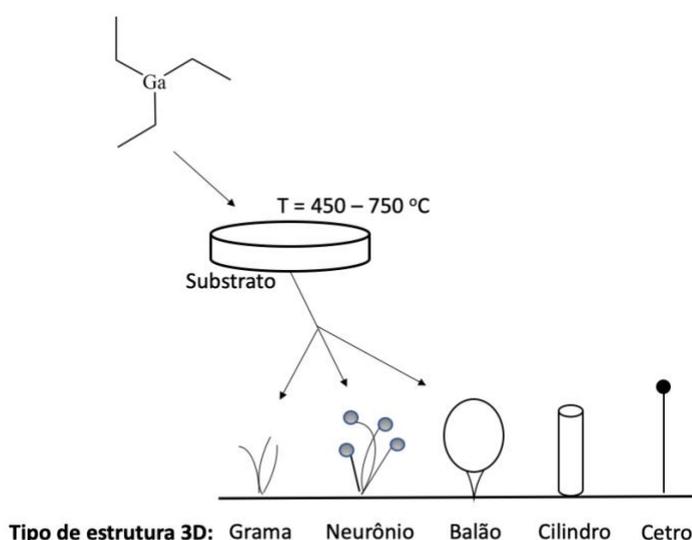


Fonte: Dados da pesquisa.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

De acordo com De Melo e colaboradores (2016), eventos de deposição química a vapor, como MOCVD e CVD, que utilizam trimetilgálio como precursor, demonstram ao final do processo, um pó com característica microscópica próxima a de uma esfera. Essa característica também foi comprovada por Ramalho (2017), que utilizou trietilgálio como precursor de nanoestruturas de gálio. De acordo com Sacilotti e colaboradores (2007), as esferas são partículas de gálio que interagem com a atmosfera do equipamento, podendo manter a característica esférica inicial ou formar estruturas cristalinas, conforme a figura 19.

Figura 19 - Alguns modelos esquemáticos de diferentes estruturas adotadas por partículas de gálio durante sua formação no equipamento de MOCVD ou CVD.



Fonte: Adaptado de Sacilotti e colaboradores (2007).

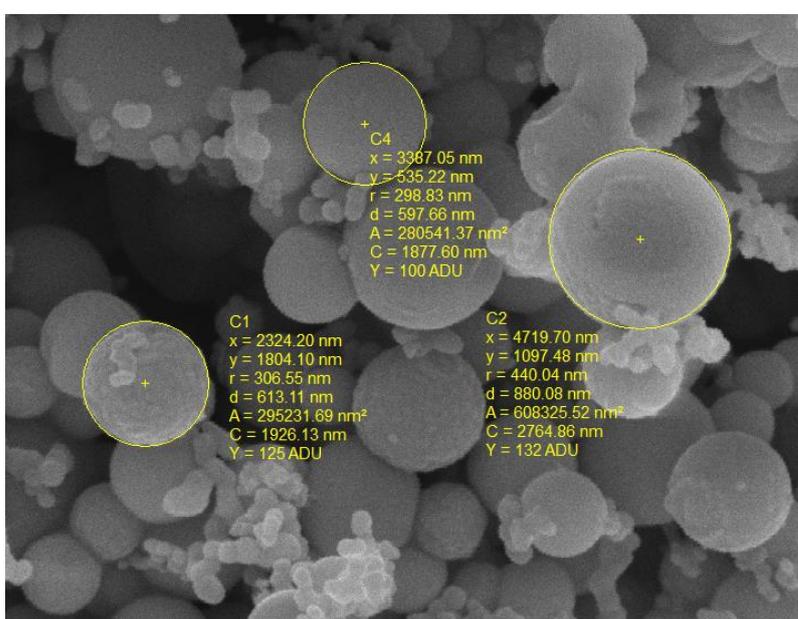
A microscopia eletrônica de varredura mostra um formato esférico (ou balão), especialmente na amostra de GaMOCVD-F (Figura 18-e, f) corroborando com uma das estruturas descritas por Sacilotti e colaboradores (2007), indicando uma possível amorfização da amostra devido a ausência de morfologia cristalina (Ramalho, 2017). No entanto, as amostras de GaMOCVD (Figura 19-c,d) e OGaCVD (Figura 18-a,b), apresentaram estruturas com formato policristalino, estando de acordo com os resultados de Kumar e colaboradores (2014).

Os resultados de MEV para as três amostras de pós (Figura 18), apresentaram pequenas partículas depositadas sobre o material amorfo e cristalino. De acordo com Jensen e colaboradores (1991) e Sacilotti e colaboradores (2007), trata-se de

estruturas carbônicas provenientes dos radicais etílicos da molécula de trietilgálio. Essas moléculas formaram carbono em estado amorfo, e se depositaram sobre as estruturas do gálio.

A amostra de GaMOCVD-F, apresentou diâmetro de partículas na escala nanométrica. A figura 19 apresenta alguns dados, entre eles os diâmetros das partículas da amostra de GaMOCVD-F.

Figura 20 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra de GaMOCVD-F com magnificações de 50.000x, apresentando alguns dados relativos ao tamanho das partículas amorfas.

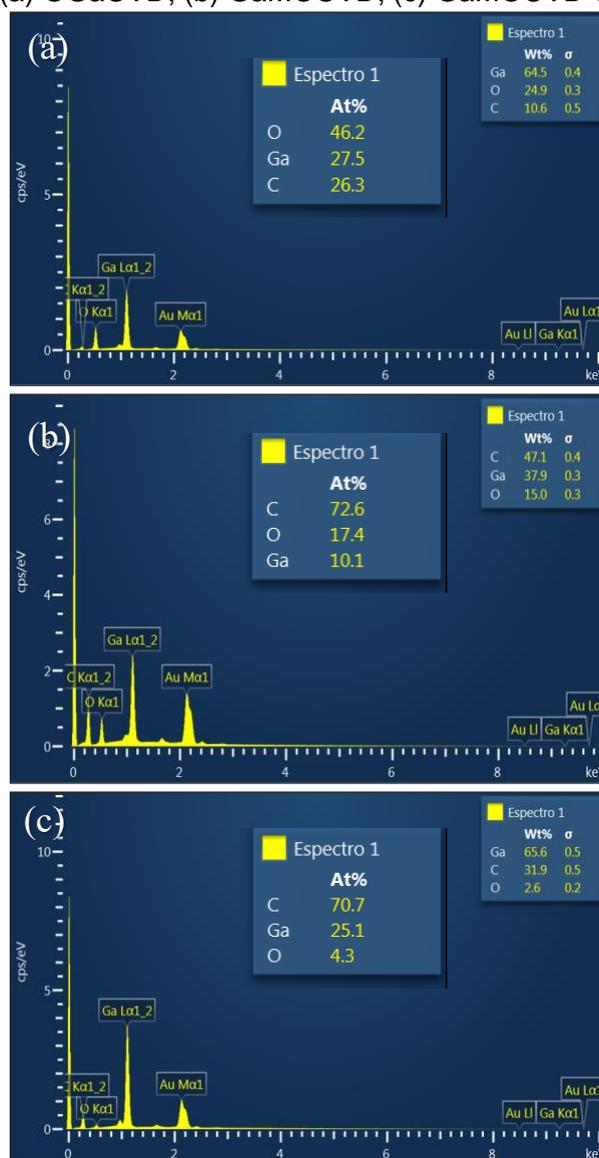


Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com a figura 20, o diâmetro das partículas amorfas de GaMOCVD-F, apresentaram valores entre 597,22 a 880,08 nm. Estes resultados estão de acordo com as informações do tamanho de partícula por granulometria à laser deste trabalho, pois estão abaixo do diâmetro médio da amostra de GaMOCVD-F, que é de 2403 nm, correspondendo a 70% das partículas analisadas. A análise dos diâmetros das partículas de GaMOCVD e OGaCVD não foi possível de ser realizada pelo MEV, devido a grande formação policristalina evidente nas amostras.

Por meio da análise de EDS, foi observada a frequência do elemento químico gálio nas amostras obtidas (Figura 21). A presença do elemento químico Ouro (Au) nos espectros é justificada devido ao banho de ouro realizado para fixar as amostras e facilitar a análise por esta técnica de caracterização.

Figura 21 - Espectroscopia de energia dispersiva (EDS) por percentual atômico (At%) e peso atômico (Wt%), onde: (a) OGaCVD; (b) GaMOCVD; (c) GaMOCVD-F.



Fonte: Dados da pesquisa.

A presença do carbono está relacionada ao processo de conversão térmica, gerado a partir da ruptura de ligações carbono-gálio do trietilgálio (SACIOTTI *et al*, 2007).

Pode-se verificar uma maior prevalência do elemento químico gálio (27,5% e 25,1) nas amostras OGaCVD e GaMOCVD-F, respectivamente e uma maior porcentagem de oxigênio (46,2%) na amostra OGaCVD, devido essa amostra ter sido submetida a um processo de oxidação em atmosfera de oxigênio à 500 °C pela técnica de CVD, enquanto que o percentual atômico de carbono diminuiu (26,3%), gerando

uma coloração diferente em relação as outras amostras, passando de cinza escuro para cinza claro esbranquiçado, corroborando com o observado na figura 11.

Essa mudança de coloração pode estar relacionada à quebra das ligações do gálio com o radical etil (C_2H_5), pela diminuição do número de átomos de carbono e aumento do número de átomos de oxigênio, estando de acordo com resultados de Petitmangin e colaboradores (2013) e com os resultados encontrados por Ramalho (2017).

A tabela 5 permite uma melhor visualização de alguns resultados obtidos pelas técnicas de caracterização, evidenciando as diferenças entre as três nanoestruturas de Gálio.

Tabela 5 - Comparação dos resultados das caracterizações das amostras OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F pelas análises de Tamanho de Partícula por Granulometria à Laser e Espectroscopia por Energia Dispersiva.

Amostras	Tamanho das partículas	% Atômico		
		Ga	C	O
OGaCVD	493 nm – 8,8 μ m	27,5	26,3	46,2
GaMOCVD	760 nm – 20,3 μ m	10,1	72,6	17,4
GaMOCVD-F	162 nm – 9,67 μ m	25,1	70,7	4,3

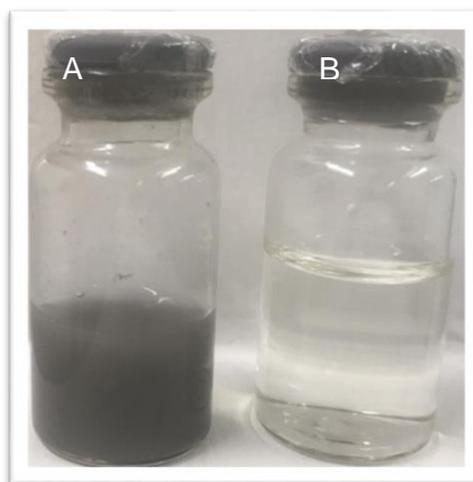
Fonte: Dados da pesquisa.

Levando em consideração seu estado amorfo, menor tamanho das partículas, os maiores percentuais atômicos de gálio e a estabilidade térmica entre as três amostras obtidas das nanoestruturas de Gálio, a GaMOCVD-F mostrou-se como a mais promissora do ponto de vista farmacêutico. Dessa forma, a amostra parece ter um maior potencial para ser utilizada no desenvolvimento de formas farmacêuticas de uso tópico no tratamento de feridas infeccionadas, já que os materiais com maior nível de amorfização apresentam características mais lábeis que os cristalinos e que a utilização de compostos nanométricos apresenta maior superfície de contato, menor abrasividade por via tópica e melhor permeabilidade cutânea. Devido aos resultados de caracterização aqui mencionados, os testes *in vitro* preliminares de citotoxicidade, a determinação da Concentração Inibitória Mínima e do percentual de inibição antimicrobiana, e o desenvolvimento da pomada foram realizados apenas com a amostra GaMOCVD-F.

4.3 ESTUDO *IN VITRO* DE CITOTOXICIDADE

A amostra GaMOCVD-F foi testada nas concentrações de 3,125 a 100 $\mu\text{g/mL}$ em macrófagos da linhagem RAW 264.7 durante 48 h, a partir do preparo de uma suspensão, como pode ser visualizado na figura 22. Os valores de CC_{50} (citotoxicidade em macrófagos) foram de 16,2 $\mu\text{g/mL}$ para a amostra e 22,27 $\mu\text{g/mL}$ para o veículo (branco). Dessa forma, o teste preliminar de citotoxicidade indica que uma vez que não houve diferença considerável de toxicidade entre os dois materiais (GaMOCVD-F e branco), pode ser necessário um ajuste de formulação do veículo para a suspensão de GaMOCVD-F, analisando melhor se seria possível a veiculação sem o DMSO ou com uma quantidade reduzida de CMC, por exemplo, a fim de tentar aumentar a CC_{50} dos materiais, uma vez que o veículo utilizado pode estar causando citotoxicidade nas células. Além disso, a linhagem de macrófagos RAW 264.7, uma linhagem padrão para testes *in vitro* de citotoxicidade, talvez não seja o tipo celular ideal para ser analisado em estudos que utilizam o gálio, uma vez que diversos estudos relataram que o gálio inibe células inflamatórias, como macrófagos (EPSTEIN et al., 2007; GOSS et al., 2018; SALES et al., 2020).

Figura 22 – Suspensão de GaMOCVD-F, à esquerda (A), obtida para ser utilizada nos ensaios *in vitro*, e à direita (B), a solução “branco”, constituída pelos veículos da suspensão, para ser utilizada como controle.



Fonte: Autoria própria.

O gálio é usado clinicamente para tratar a hipercalcemia de malignidade porque inibe a reabsorção óssea pelos osteoclastos (APSELOFF, 1999; BOCKMAN, 2003), que são células mieloides. Macrófagos (também células mieloides) estão presentes SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

em feridas cronicamente infectadas e absorvem gálio (KENNEDY et al., 1985). Esses fatos levantam a preocupação de que o gálio possa afetar negativamente a função dos macrófagos (GOSS et al., 2018). Nesse sentido, como relatado por Minandri et al. (2014), em relação às aplicações clínicas de Ga (III) como um agente antibacteriano, o Ga (III) é dotado de atividade imunossupressora nas funções de macrófagos, e assim pode enfraquecer a resposta imunológica do hospedeiro após administração a longo prazo, porém sem resultar em problemas na terapia, uma vez que também apresenta atividade antibacteriana. Os achados de Minandri et al. (2014) estão de acordo com estudos prévios da literatura, como mencionado por Drobyski et al. (1996) e Huag et al., (1994).

Pesquisadores desenvolveram nanossuspensões de Alendronato e Nitrato de Gálio (4: 3) e realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliar sua atividade contra hiperplasia neointimal em ratos. A formulação exibiu inibição do crescimento da linha celular de macrófagos em uma relação dose-resposta em comparação com os controles. Um efeito sinérgico do Alendronato e do Gálio foi observado na redução dos macrófagos circulantes, mostrando o potencial de desordens inflamatórias imunomoduladoras (EPSTEIN et al., 2007). Isto é particularmente importante porque monócitos / macrófagos desempenham um papel central na formação de hiperplasia neointimal após lesão vascular.

Diante do exposto, testes futuros de citotoxicidade serão necessários utilizando outras linhagens celulares, mais especificamente as linhagens de células da pele, como as de fibroblastos L9C9 e queratinócitos HACAT, visto que este trabalho visa aplicação tópica cutânea. Além disso, o tempo de exposição dos macrófagos às substâncias foi de 48 h, sendo mais indicado o período de 24 h, para permitir um comparativo equivalente frente ao teste de atividade antimicrobiana, que será discutido no tópico 4.4.

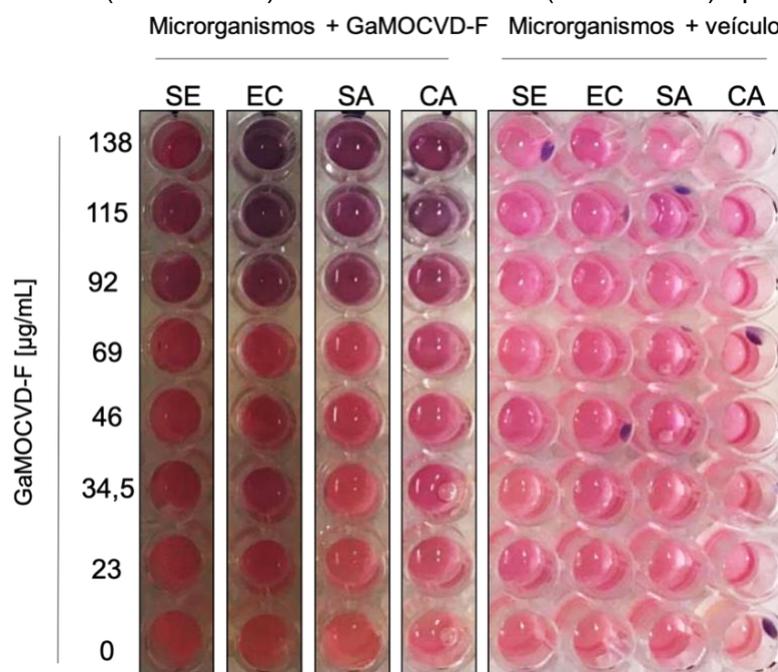
Vale salientar que resultados diferentes foram reportados também por outros estudos, onde os compostos de gálio não apresentaram atividade citotóxica frente a variadas linhagens de macrófagos, mesmo com suas atividades anti-inflamatórias (CHOI et al., 2019; NARAYANASAMY et al., 2015; OLAKANMI et al., 2000; OLAKANMI et al., 2010). Nesses estudos não houve a utilização de CMC ou DMSO na composição das amostras ou veículo.

4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E DO PERCENTUAL DE INIBIÇÃO ANTIMICROBIANA

A suspensão de GaMOCVD-F foi testada nas concentrações entre 23 µg/mL e 318 µg/mL por 24 h frente a microrganismos de grande importância clínica: *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Dois desses microrganismos, *S. aureus* e *E. coli*, estão presentes na primeira lista publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2017 sobre “agentes patogênicos prioritários” resistentes a antibióticos – um catálogo de 12 famílias de bactérias que representam a maior ameaça para a saúde humana. *S. epidermidis* foi escolhido para o estudo por ser o principal habitante da pele e mucosa, representando mais de 90% da microbiota, e que devido a vários fatores extrínsecos pode ser convertido de um membro da microbiota natural da pele em um agente infeccioso (COGEN; NIZET; GALLO, 2008; KOLASIŃSKI, 2019). Outro microrganismo analisado refere-se ao fungo *C. albicans* devido a sua capacidade em causar o intertrigo candidiásico, que consiste em uma condição inflamatória superficial da pele, atingindo principalmente as regiões de dobras, como axilas e virilhas (NOBLES; MILLER, 2019).

Pela análise da mudança de coloração foi possível observar que a CIM do GaMOCVD-F foi de 92 µg/mL, devido ao surgimento da coloração roxo-azulado, para todos os microrganismos testados: bactérias Gram positivas (*S. aureus* e *S. epidermidis*), Gram negativas (*E. coli*) e levedura (*C. albicans*) (Figura 23), não apresentando diferença na concentração de inibição mínima entre eles. Também foi verificado que o veículo utilizado, nas mesmas concentrações que a amostra, não interferiu na atividade antimicrobiana, uma vez que houve crescimento dos microrganismos.

Figura 23 – Concentração Inibitória Mínima da amostra GaMOCVD-F ($\mu\text{L/mL}$) frente aos microrganismos *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 1106) após 24h.



Legenda: SE (*Staphylococcus epidermidis*), EC (*Escherichia coli*), SA (*Staphylococcus aureus*), CA (*Candida albicans*).

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao determinar o percentual de inibição dos microrganismos testes por GaMOCVD-F (Tabela 6), verificou-se que houve uma pequena diferença entre seus valores, apesar da CIM ter sido igual. GaMOCVD-F teve melhor ação inibitória para *S. epidermidis* e *C. albicans*, com 100% e 92,2% de inibição, respectivamente, com 92 $\mu\text{g/mL}$, sendo compatível com a CIM. Por outro lado, para a bactéria Gram negativa *E. coli* e Gram positiva *S. aureus* foi determinado percentual de inibição até 90% nas concentrações de 115 e 138 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Essa diferença no percentual de inibição pode ser explicada pelos diversos mecanismos de resistência dos microrganismos envolvidos, tais como produção de capsula e presença de adesinas na parede celular (*E. coli* e *S. aureus*), determinados constituintes da parede celular, tais como manoproteínas e quitina (*C. albicans*), proteína A, glicanopeptídeos (*S. aureus*), e que tanto influenciam na resistência a antimicrobianos convencionais (DUFRENE; VILJOEN, 2020; SANTOS et al., 2007; GONG et al., 2020; XUE et al., 2019). Apesar disso, todas as concentrações testadas da amostra frente aos quatro microrganismos mostraram resultados dose-dependentes.

Tabela 6 – Percentual de inibição microbiológica da amostra GaMOCVD-F ($\mu\text{L/mL}$) frente aos microrganismos *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Candida albicans* (ATCC 1106) após 24h.

	[$\mu\text{L/mL}$]	Microrganismos (%)			
	GaMOCVD-F	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
A	138	100	100	100	100
B	115	100	94,8	85,3	98,5
C	92	100	70,8	68,3	92,2
D	69	88,2	48,5	58,7	78
E	46	36	48,5	19,7	69,5
F	34,5	13,6	36	1,6	69,5
G	23	11,8	24	0	4,9
H	0	0	0	0	0

Legenda: Linha H representa os inóculos de cada microrganismo em meio de cultura, sem a utilização da substância teste.

Resultados parecidos frente a alguns dos microrganismos testados foram encontrados por Ritcher e colaboradores (2017a). Os autores analisaram o Gálio complexado com protoporfirina na concentração de 0.1–50 $\mu\text{g/ml}$ e mostraram resultados promissores de atividade antibacteriana e anti-biofilme contra *S. aureus*. Outro estudo do mesmo autor (RITCHER et al., 2017b) mostrou também atividades frente a *S. epidermidis* nas mesmas concentrações. O complexo na concentração de 200 $\mu\text{g/ml}$ mostrou melhores resultados anti-biofilme.

Um estudo de Gao et al. (2019) relata uma nova estratégia para intervir em infecções relacionadas a implantes ósseos por meio da formação de ligas metálicas de magnésio com íons gálio e estrôncio (Ga e Sr 0,1% em peso). Verificou-se que as ligas contendo Ga e Sr possuem atividade antibacteriana *in vitro* contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*, demonstrando que o Ga desempenhou um papel fundamental contra a viabilidade de todas as cepas bacterianas selecionadas.

Estudos de Baldoni e colaboradores (2010) mostraram que uma combinação de gálio dopado com revestimentos de quitosana melhorou a atividade bactericida do Gálio contra *S. epidermidis* e *S. aureus*, e trazendo novas oportunidades na terapia de infecções associadas a biofilmes devido. O Gálio carregado na matriz de quitosana reduziu a viabilidade do biofilme em até 86% e 80% para as cepas de *S. epidermidis* e *S. aureus*, respectivamente, apresentando MIC de 375-2000 $\mu\text{g/ml}$.

A atividade do gálio complexado com a acetilpiridina sobre as cepas de *Candida albicans* foi analisada *in vitro* por Mantareva et al. (2011). Os resultados

obtidos mostraram-se satisfatórios na inibição celular desses fungos, comprovando a capacidade deletéria do gálio mediante às células dependentes de íons férricos.

4.5 OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA POMADA DE NANOESTRUTURAS DE GÁLIO EM LOTES DE BANCADA (LB)

Observou-se como aspectos macroscópicos a coloração cinza, característico do elemento químico gálio e o odor característico do metal foi mascarado pela adição de essência cítrica em todos os lotes. Apesar de utilizar a mesma concentração da amostra GaMOCVD-F, as formulações apresentam tonalidades diferentes devido à variação de excipientes utilizados (Figura 24).

Figura 24 - Comparativo entre os cinco lotes de bancadas obtidos com a amostra GaMOCVD-F.



Fonte: Resultados da pesquisa.

As formulações F1 e F2 apresentam-se mais claras e opacas devido a utilização de carboximetilcelulose (CMC), que foi utilizada nas concentrações de 1 e 6%, respectivamente, com objetivo de comparar sua interferência na consistência da formulação devido a sua natureza polimérica e por ser considerado um agente de viscosidade (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2017). Não foi observada a presença de grânulos por meio do toque e sensibilidade.

A formulação F3 apresentou aspecto homogêneo, consistente, brilhoso, com ausência de granulações e com coloração bastante semelhante a amostra de GaMOCVD-F em pó (figura 12), remetendo a coloração de metal, porém apresentou-se incolor após aplicação em superfícies.

A formulação F4 apresentou consistência mais fluida, visto que foi utilizada a vaselina líquida a 30%. Esta característica de fluidez não é tão indicada para a formulação, visto que a intenção é que a formulação possa permanecer apenas no

local de aplicação, sem o seu escoamento. A formulação F5 apresentou tonalidade mais clara devido a utilização do amido 5% na formulação, visando analisar sua interferência na consistência da formulação, que de fato se mostrou mais firme e consistente.

Por análise sensorial ao toque e análise visual, comparando as características organolépticas, a formulação F3 se mostrou mais atrativa em comparação às demais.

Quanto às análises de controle de qualidade, após teste de centrifugação com os cinco lotes desenvolvidos foi observado que nenhum deles apresentou separação de fases.

Como resultado da aferição de pH, os resultados podem ser observados na Tabela 7:

Tabela 7 – Valores de pH dos cinco lotes de bancada da pomada de GaMOCVD-F.

F1	F2	F3	F4	F5
4,77	4,65	4,91	5,03	4,56

Fonte: Dados da pesquisa.

Uma vez que todos os valores se apresentaram próximo ao pH natural da pele, não pareceu ser necessário a adição de agentes modificadores de pH à formulação. Entretanto, sabendo-se que o pH pode afetar as propriedades físico-químicas e a estabilidade do fármaco e dos produtos semissólidos, tanto a nível de ionização do fármaco como no comportamento reológico da forma farmacêutica, seria importante realização de uma monitorização futura nos limites de pH a nível de qualidade da pomada desenvolvida (AULTON; TAYLOR, 2016).

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

As técnicas analíticas de caracterização físico-química permitiram identificar as propriedades de cada amostra das nanoestruturas de gálio e elencar a amostra mais atrativa do ponto de vista farmacêutico. Baseado nisso, entre as três amostras de gálio analisadas a partir do processo de síntese pela técnica de MOCVD e oxidação por CVD, a amostra GaMOCVD-F mostrou-se mais viável para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica para uso tópico.

A amostra apresentou maior percentual de estado amorfo, melhor estabilidade térmica e maior percentual de partículas em escala nanométrica, o que configura um material com características mais lábeis que os cristalinos, e apresenta melhor estabilidade físico-química, maior superfície de contato, melhor permeabilidade cutânea, e menor abrasividade para ser aplicado na pele, parâmetros característicos de compostos nanométricos.

Até onde se sabe, este é o primeiro trabalho a usar oito técnicas para caracterizar e detalhar nanoestruturas de gálio com foco no reaproveitamento de materiais como química sustentável como uma alternativa terapêutica e desenvolver formas farmacêuticas semissólidas mostrando potenciais utilizações no tratamento de feridas infecciosas.

Os testes microbiológicos evidenciaram que, entre todos os microrganismos testados, o GaMOCVD-F teve melhor ação inibitória para *S. epidermidis* e *C. albicans*, com maior inibição com menor concentração.

Além das vantagens tecnológicas, a utilização do pó GaMOCVD-F como insumo farmacêutico apresenta baixo custo econômico, possibilitando o uso inteligente de resíduos que seriam descartados. Dessa forma, a utilização do mesmo, destaca a promoção da química sustentável no ambiente de pesquisa e inovação farmacêutica.

PERSPECTIVAS

PERSPECTIVAS

- Dosear o teor de gálio nas amostras OGaCVD, GaMOCVD e GaMOCVD-F por meio da técnica de espectroscopia de absorção atômica por chama;
- Realizar o teste de citotoxicidade e viabilidade celular frente às linhagens de queratinócitos e fibroblastos;
- Analisar atividade anti-biofilme da amostra GaMOCVD-F *in vitro*;
- Realizar teste de cicatrização, por meio de ensaio de migração *in vitro* pelo método de wound-healing;
- Realizar os controles de qualidade aplicáveis de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição, incluindo o estudo de estabilidade acelerado, segundo a RDC 318/2019;
- Estudo de liberação *in vitro* da pomada utilizando células de difusão tipo Franz.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, M. Y.; SWITZER, B. L.; GOSS, C. H.; AITKEN, M. L.; SINGH, P. K.; BRITIGAN, B.E. Gallium compounds exhibit potential as new therapeutic agents against Mycobacterium abscessus. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, p. 4826–4834, 2015.

ADERBAL, S.; JUNIOR, A.; PINHO, R. Effects of physical exercise over the redox brain state. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, p.355-360.

AGRAWAL, K.; BHADADA, S.; MITTAL, B.R.; SHUKLA, J.; SOOD, A.; BHATTACHARVA, A.; BHANSALI, A. Comparison of 18 F-FDG and 68 Ga DOTATATE PET / CT in Localization of Tumor Causing Oncogenic Osteomalacia. **Clinical Nuclear Medicine**, v. 40, p. 6–10, 2015.

AHMED, A. U. An overview of inflammation: mechanism and consequences. **Frontiers in Biology**, v. 6, p. 274–281, 2011.

AKAZAWA, H. Formation of various phases of gallium oxide films depending on substrate planes and deposition gases. **Vacuum**, v. 123, p. 8–16, 2016.

AKIMOTO, T.; HORIKOSHI, R.; MUTO, S.; KUSANO, E. Low-Dose Corticosteroid and Gallium-67 Scintigraphy and Acute Interstitial Nephritis. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation**, v. 25, p. 864–868, 2014.

AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen recognition and innate immunity. **Cell**, v. 124, p. 783–801, 2006.

ALLARD, A. B.; BUSCOMBE, J.; KIDD, D. P. The Role of Gallium (Ga-67) Scintigraphy in the Diagnosis of Sarcoidosis. **Modern Research in Inflammation**, v. 3, p. 99–107, 2014.

ALTMAN, F. P. Tetrazolium salts and formazans. **Progress in Histochemistry and Cytochemistry**, v. 9, p. 1–56, 1976.

ALVES, L.D.S.; LYRA, M.A.; ROLIM, L.A.; PRESMICH, M.A.; ROLIM-NETO, P.J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 33, p. 17–25, 2012.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

ANDERSON, M. J.; DAVID, M. L.; SCHOLZ, M.; BULL, S. J.; MORSE, D.; HULSE-STEVENS, M. et al. Efficacy of skin and nasal povidone-iodine preparation against mupirocin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *S. aureus* within the anterior nares. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, p. 2765–2773, 2015.

ANTUNES, L.C.; IMPERI, F.; MINANDRI, F.; VISCA, P. In vitro and in vivo antimicrobial activities of gallium nitrate against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 56, p. 5961-5970, 2012.

APSELOFF, G. Therapeutic uses of gallium nitrate: past, present, and future. **American Journal of Therapeutics**, v. 6, p. 327–339, 1999.

ASONITIS, N.; ANGELOUSI, A.; ZAFEIRIS, C.; LAMBROU, GI.; DONTAS, I.; KASSI, E. Diagnosis, Pathophysiology and Management of Hypercalcemia in Malignancy: A Review of the Literature. **Hormone and Metabolic Research**, v. 51, p. 770-778, 2019.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 4a Ed., Elsevier, 2016.

BATAAR, O.; LUNDEG, G.; TSENDENDORJ, G.; JOCHBERGER, S.; GRANDER, W.; BAELANI, I. et al. Nationwide survey on resource availability for implementing current sepsis guidelines in Mongolia. **Bull World Health Organ**, v. 88, p. 839-846, 2010.

BALDONI, D.; STEINHUBER, A.; ZIMMERLI, W.; TRAMPUZ, A. In vitro activity of gallium maltolate against *Staphylococci* in logarithmic, stationary, and biofilm growth phases: comparison of conventional and calorimetric susceptibility testing methods. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, p. 157–163, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quimic Nova**, v. 29, p. 113–123, 2006.

BASTOS, T. O.; SOARES, B. M.; CISALPINO, P. S.; MENDES, I. C. SANTOS, R.G.; BERARDO, H. Coordination to gallium(III) Strongly Enhances the Potency of 2-pyridineformamide Thiosemicarbazones Against *Cryptococcus* Opportunistic Fungi. **Microbiology Research**, v. 165, p. 573-577, 2010.

BASTOS, R. W.; ROSSATO, L.; VALERO, C.; LAGROU, K.; COLOMBO, A. L.; GOLDMAN, G. H. Potential of Gallium as an Antifungal Agent. **Frontiers in Cellular**

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

and Infection Microbiology, v. 414, p. 1-11, 2019.

BATISTUZZO, J. A. O.; ITAYA, M.; ETO, Y. Formulário médico-farmacêutico. São Paulo; Pharmabooks Editora; 5 ed. 2015.

BERNSTEIN, L. R. Mechanisms of therapeutic activity for gallium. **Pharmacological Reviews**, v. 50, p. 665-682, 1998.

BERNSTEIN, L. R.; VAN DER HOEVEN, J. J. M.; BOER, R.O. Hepatocellular Carcinoma Detection by Gallium Scan and Subsequent Treatment by Gallium Maltolate: Rationale and Case Study. **Anticancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 585-590, 2011.

BERNSTEIN, L. R. Successful treatment of refractory postherpetic neuralgia with topical gallium maltolate: case report. **Pain Medicine**, v. 13, p. 915-918, 2012.

BIBI, H.; VINOKUR, V.; WAISMAN, D. et al. Zn/Ga-DFO Iron-Chelating Complex Attenuates the Inflammatory Process in a Mouse Model of Asthma. **Redox Biology**, v. 2, p. 814–19, 2014.

BOCKMAN, R. S.; BOSCO, B. Treatment of patients with advanced Paget's disease of bone with two cycles of gallium nitrate. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 23, p. 268–269, 1994.

BOCKMAN, R. S.; WILHELM, F.; SIRIS, E. et al. A multicenter trial of low dose gallium nitrate in patients with advanced Paget's disease of bone. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 80, p. 595–602, 1995.

BOCKMAN, R. The effects of gallium nitrate on bone resorption. **Seminars in Oncology**, v. 30, p. 5–12, 2003.

BOENO, N.; NABINGER, P.M.; SCHUMITT, V. M. Revisão comparativa dos ⁶⁸Ga-DOTA-peptídeos. **Alasbimn Journal**, 2014.

CHANG, K.W.; WU, J.J. Catalytic growth and characterization of Ga₂O₃ nanowires. **Applied Physics A – Materials Science & Processing**, v. 76, p. 629-631, 2002.

CHILDS, D. R.; MURTHY, A. S. Overview of Wound Healing and Management. **Surgical Clinics of North America**, v. 97, p. 189–207, 2017.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

CHITAMBAR, C.R.; MATTHAEUS, W.G.; ANTHOLINE, W.E.; GRAFF, K.; O'BRIEN, W.J. Inhibition of leukemic HL60 cell growth by transferrin-gallium: Effects on ribonucleotide reductase and demonstration of drug synergy with hydroxyurea. **Blood**, v. 72, p. 1930-1936, 1988.

CHITAMBAR, C.R.; WERELEY, J.P.; HAQ, R.U. Synergistic inhibition of T-lymphoblastic leukemic CCRF-CEM cell growth by gallium and recombinant human interferon through action on cellular iron uptake. **Cancer Research**, v. 54, p. 3224-3228, 1994.

CHITAMBAR, C. R.; ZAHIR, S. A.; RITCH, P. S.; ANDERSON, T. Evaluation of continuous-infusion gallium nitrate and hydroxyurea in combination for the treatment of refractory non-Hodgkin's lymphoma. **American Journal of Clinical Oncology**, v. 20, p. 173–178, 1997.

CHITAMBAR, C. R. Gallium nitrate for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 13, p. 531-541, 2004.

CHITAMBAR, C. R. Medical Applications and Toxicities of Gallium Compounds. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, p. 2337-2361, 2010.

CHITAMBAR, C. R. Gallium-containing anticancer compounds. **Future Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 1257- 1272, 2012.

CHITAMBAR, C. R. Gallium and its competing roles with iron in biological systems. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 1863, p. 2044–2053, 2016.

CHITAMBAR, C. R. The therapeutic potential of iron-targeting gallium compounds in human disease: From basic research to clinical application. **Pharmacological Research**, v. 115, p. 56-64, 2017.

CHOCIS, A.; AZZIMONTI, B.; DELLA-VALLE, C.; DE GIGLIO, E.; BLOISE, N.; VISAI, L. et al. The effect of silver or gallium doped titanium against the multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Biomaterials**, v. 80, p. 80-95, 2016.

CHOI, Y. C.; KIM, W. S.; PARK, Y.S.; LEE, S. M.; BAE, D. J.; LEE, Y. H.; PARK, G. S.; CHOI, W. B.; LEE, N.S.; KIM, J.M. Catalytic Growth of β -Ga₂O₃ Nanowires by Arc Discharge. **Advanced Materials**, v. 12, p. 746-750, 2000.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

CHOI, J. H.; LEE, J. H.; ROH, K. H. et al. Gallium Nitrate Ameliorates Type II Collagen-Induced Arthritis in Mice. **International Immunopharmacology**, v. 20, p. 269-275, 2014.

CHOI, S. R.; BRITIGAN, B.E.; NARAYANASAMY, P. Iron/heme metabolism-targeted gallium(III) nanoparticles are active against extracellular and intracellular pseudomonas aeruginosa and acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, p. 1-17, 2019.

CILAS. Fraunhofer theory. 2016. Disponível em: <http://www.particle-size.com/cilas_fraunhofer_mie.htm>. Acesso em: 11 de setembro de 2020.

COGEN A.L., NIZET V., GALLO R.L.: Skin microbiota: a source of disease or defence? **Brazilian Journal of Dermatology**, v. 158, p. 442–455, 2008.

COLLERY, P.; KEPPLER, B.; MADOULET, C.; DESOIZE, B. Gallium in cancer treatment. **Crit Ver Oncology Hematology**, v. 42, p. 283-296, 2002.

CRAWFORD, E. D.; SAIERS, J. H.; BAKER, L. H.; COSTANZI, J. H.; BOKOWSKI, R. M. Gallium nitrate in advanced bladder carcinoma: Southwest Oncology Group study. **Urology**, v. 38, p. 355–357, 1991.

DAESCHLEIN, G. Antimicrobial and antiseptic strategies in wound management. **International Wound Journal**, v. 10, p. 9–14, 2013.

DANIELS, T. R.; BERNABEU, E.; RODRÍGUEZ, J. A.; PATEL, S.; KOZMANM, M.; CHIAPPETTA, D. A., et al. The transferrin receptor and the targeted delivery of therapeutic agents against cancer. **Biochimica and Biophysica Acta**, v. 1820, p. 291-317, 2012.

DANIELS, E.; SAKAKEENY, C. Hypercalcemia: Pathophysiology, Clinical Signs, and Emergent Treatment. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 51, p. 291-299, 2015.

DAUDT, R. M.; EMANUELLI, J.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e Cultura**, v. 65, p. 28-31, 2013.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

DELEON, K.; BALLDIN, F.; WATTERS, C.; HAMOOD, A.; GRISWOLD, J. Gallium Maltolate Treatment Eradicates *Pseudomonas aeruginosa* Infection in Thermally Injured Mice. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 53, p. 1331-1337, 2009.

DENT, S. G. *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*. Chichester : John Wiley & Sons, 2004.

DE MELO, R. P.; OLIVEIRA, N.T.C.; DOMINGUEZ, C.T.; GOMES, A.S.L.; FALCÃO, E.H.L.; ALVES, S. et al. Urchin-like artificial gallium oxide nanowires grown by a novel MOCVD/CVD-based route for random laser application. **Journal of Applied Physics**, v. 119, p. 1-9, 2016.

DESCOTES, J. ScienceDirect Diagnosis of prostate cancer. **Asian Journal of Urology**, v. 6, p. 129–136, 2019.

DEVRIENDT, N.; ROOSTE, H. Initial Management of Traumatic Wounds. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 47, p. 1123-1134, 2017.

DIEGELMANN, R. F.; EVANS, M. C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. **Frontiers in Biosciences**, v. 9, p. 283–289, 2004.

DONG, J.; FANG, D.; ZHANG, L.; SHAN, Q.; HUANG, Y. Gallium-doped titania nanotubes elicit anti-bacterial efficacy in vivo against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* biofilm. **Materialia**, v. 5, p. 100209, 2019.

DOUGHTY, D. Wound, Ostomy, and Continence Nursing Education Center's wound core curriculum. Atlanta (GA): Emory University WOCNEC; 2016. p. 1–312.

DROBYSKI, W. R.; UL-HAQ, R.; MAJEWSKI, D.; CHITAMBAR, C. R. Modulation of in vitro and in vivo T-cell responses by transferrin-gallium and gallium nitrate. **Blood**, v. 88, p. 3056–3064, 1996.

DUFRENE, Y. F.; VILJOEN, A. Binding strength of Gram-positive bacterial adhesins. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1-8, 200.

EBY, G. Elimination of arthritis pain and inflammation for over 2 years with a single 90 min, topical 14% gallium nitrate treatment: case reports and review of actions of gallium III. **Medical Hypotheses**, v. 65, 1136-1141, 2005.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

EDWARDS, C. L, HAYES, R. L. Tumor scanning with ^{67}Ga citrate. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 10, p. 103–105, 1969.

EINHORN, L. H.; ROTH, B. J.; ANSARI, R. et al. Phase II trial of vinblastine, ifosfamide and gallium combination chemotherapy in metastatic urothelial carcinoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 12, p. 2271–2276, 1994.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 514–525, 2007.

EPSTEIN, H.; BERGER, V.; LEVI, I. et al. Nanosuspensions of alendronate with gallium or gadolinium attenuate neointimal hyperplasia in rats. **Journal of Control Release**, v. 117, p. 322–332, 2007.

ESCRIBANO, V. S.; AMORES, J. M. G.; LOPEZ, E. F.; PANIZZA, M.; RESINI, C.; BUSCA, G. Solid state characterization of coprecipitated alumina–gallia mixed oxide powders. **Journal of Material Sciences**, v. 40, p. 2013–2021, 2005.

FIRMINO, G. S. S.; ANDRÉA, S. C.; HASTENREITERB, Z.; CAMPOS, V. K.; ABDEL-SALAMB, M. A. L.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. et al. In vitro assessment of the cytotoxicity of Gallium(III) complexes with Isoniazid-Derived Hydrazones: Effects on clonogenic survival of HCT-116 cells. **Inorganica Chimica Acta**, v. 497, p. 1-7, 2019.

FREDRICKS D.N. Microbial ecology of human skin in health and disease. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 6, p. 167–169, 2011.

FREI, A.; ZUEGG, J.; ELLIOTT, A. G.; BAKER, M.; BRAESE, S.; BROWN, C. et al. Metal complexes as a promising source for new antibiotics. **Chemical science**, v. 11, p. 2627–2639, 2020.

FREZZA, M.; VERANI, C. N.; CHEN, D.; DOU, Q. P. therapeutic potential of gallium-based complexes in anti-tumor drug design. **Letters in Drug Design and Discovery**, v. 4, p. 311-317, 2007.

FUJIWARA, N.; KOBAYASHI, K. Macrophages in Inflammation. **Current Drug Targets: Inflammation and Allergy**, v. 281, p. 281-286, 2005.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

GAO, Z.; SONG, M.; RUI-LIANG, L.; SHEN, U.; WARD, L.; COLE, I.; CHEN, X.; LIU, X. Improving in vitro and in vivo antibacterial functionality of Mg alloys through. **Materials Science and Engineering C**, v. 104, p. 1-12, 2019.

GARCÍA-MONTOYA, I. A.; CENDÓN, T. S. C.; ARÉVALO-GALLEGOS, S.; RASCÓN-CRUZ, Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1820, P. 226-236, 2012.

GASSER, G.; METZLER-NOLTE, N. The Potential of Organometallic Complexes in Medicinal Chemistry. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 16, p. 84–91, 2012.

GATTER KC, BROWN G, TROWBRIDGE IS, WOOLSTON RE, MASON Y. Transferrin receptors in human tissues: Their distribution and possible clinical relevance. **Journal of Clinical Pathology**, v. 36, p. 539–545, 1983.

GELMETTI, C. Local antibiotics in dermatology. **Dermatological Therapy**, v. 21, p. 187–95, 2008.

GIANFERRARA, T.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E. A categorization of metal anticancer compounds based on their mode of action. **Dalton Transactions**, v. 37, p. 7588–7598, 2009.

GILMORE, M. A. Phases of wound healing. **Dimensions in oncology nursing**, v. 5, p. 32-34, 1991.

GÓMEZ, D.A.; COELHO, J.; MASPOCH, S. The influence of particle size on the intensity and reproducibility of Raman spectra of compacted samples. **Vibrational Spectroscopy**. v. 100, p. 48-56, 2019.

GONG, J.; BING, J.; GUAN, G.; NOBILE, C. J.; HUANG, G. The Als3 Cell Wall Adhesin Plays a Critical Role in Human Serum Amyloid A1-Induced Cell Death and Aggregation in *Candida albicans*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 64, p. 1-8, 2020.

GOSS, C. H.; KANEKO, Y.; KHUU, L., et al. Gallium disrupts bacterial iron metabolism and has therapeutic effects in mice and humans with lung infections. **Science and Translational Medicine**, v. 10, p. 1-11, 2018.

GRAHAM, F.; LORD, M.; FROMENT, D.; CARDINAL, H.; BOLLÉE, G. The use of gallium-67 scintigraphy in the diagnosis of acute interstitial nephritis. **Clinical Kidney**

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

Journal, v. 9, p. 76–81, 2016.

GROTTO, H.Z.W. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 8–17, 2010.

HANCOCK, B.C.; PARKS, M. What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals? **Pharmaceutical Research**, v. 17, p. 397–404, 2000.

HATA, Y.; SANDLER, A.; LOEHRER, P.J.; SLEDGE, G.W., JR.; WEBER, G. Synergism of taxol and gallium nitrate in human breast carcinoma cells: schedule dependency. **Oncology Research**, v. 6, p. 19-24, 1994.

HOU, Y.; ZHANG, J.; DING, Z.; WU, L. Synthesis, characterization and photocatalytic activity of β -Ga₂O₃ nanostructures. **Powder Technology**, v. 203, p. 440–446, 2010.

HOFFER, P. B.; HUBERTY, J.; KHAYAM-BASHI, H. The association of Ga-67 and lactoferrin. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 18, p. 713–717, 1977.

HUANG, E. H.; GABLER, D. M.; KRECIC, M. E.; GERBER, N.; FERGUSON, R. M.; OROSZ, C. G. Differential effects of gallium nitrate on T lymphocyte and endothelial cell activation. **Transplantation**, v. 58, p. 1216–1222, 1994.

JAHANGOSHAEI, P.; HASSANI, L.; MOHAMMADI, F.; HAMID, A.; MOHAMMADI, H. Investigating the effect of gallium curcumin and gallium diacetylcurcumin complexes on the structure, function and oxidative stability of the peroxidase enzyme and their anticancer and antibacterial activities. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 20, p. 1135-1146, 2015.

JANEIRO DA SILVA, I. F. **Tratamento da Dor em Feridas Crônicas Revisão Sistemática de Literatura**. Dissertação (Mestrado em cuidados paliativos) – Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa. Lisboa, 2012.

JANSSEN, I.; BLANCHET, E. M.; ADAMS, K.; CHEN, C. C.; MILLO, C. M.; HERSCOVITCH, P. et al. Superiority of [⁶⁸Ga] -DOTATATE PET / CT to Other Functional Imaging Modalities in the Localization of SDHB -Associated Metastatic Pheochromocytoma and Paraganglioma. **Clinical Cancer Research**, v. 21, p. 3888–3896, 2015.

JENSEN, K. F.; ANNAPRAGADA, A.; HO, K. L.; HUHH, J. S.; PATNAIK, S.; SALIM, S. Metalorganic chemical vapor deposition: examples of the influence of precursor

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

structure on film properties. **Le Journal of Physics IV.**, v. 02, p. 243-252, 1991.

JOAQUIM, A. I.; MENDES, G. E. F.; RIBEIRO, P. F. F.; BAPTISTA, M. A. F.; BURDMANN, E. A. Ga-67 scintigraphy in the differential diagnosis between acute interstitial nephritis and acute tubular necrosis: an experimental study. **Nephrology Dialysis Transplantation.** v. 5, p. 3277–3282, 2010.

JOOSTEN, L. A. B.; CRIŞAN, T. O.; AZAM, T. et al. Alpha-1-anti-trypsin-Fc fusion protein ameliorates gouty arthritis by reducing release and extracellular processing of IL-1 β and by the induction of endogenous IL-1Ra. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 75, p. 1219-1227, 2016.

KANEKO, Y.; THOENDEL, M.; OLAKANMI, O.; BRITIGAN, B. E.; SINGH, P. K. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, p. 877-888, 2007.

KELSEN, D. P.; ALCOCK, N.; YEH, S.; BROWN, J.; YOUNG, C. Pharmacokinetics of gallium nitrate in man. **Cancer**, v. 46, p. 2009-2013, 1980.

KENNEDY, S. M.; WALKER, D. C.; BELZBERG, A. S.; HOGG, J. C. Macrophage accumulation of inhaled gallium-67 citrate in normal lungs. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 26, p. 1195–1201, 1985.

KENTE, T.; MHLANGA, S. D. Gallium nitride nanostructures: Synthesis, characterization and applications. **Journal of Crystal Growth**, v. 444, p. 55–72, 2016.

KLINGENSTEIN, A.; HAUG, A.R.; MILLER, C.; HINTSCHICH, C. Ga-68-DOTA-TATE PET / CT for Discrimination of Tumors of the Optic Pathway. **The International Journal on Orbital Disorders, Oculoplastic and Lacrimal Surgery.** v. 34, p. 16–22, 2015.

KOLASIŃSKI, W. Surgical site infections – review of current knowledge, methods of prevention. **Polish Journal of Surgery**, v. 91, p. 41-47, 2019.

KRAKOFF, I. H.; NEWMAN, R. A.; GOLDBERG, R. S. Clinical toxicologic and pharmacologic studies of gallium nitrate. **Cancer**, v. 44, p. 1722-1727, 1979.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

KRUMDIECK, S. Chemical Vapor Deposition: precursors and processes. **Hitchmn Editors**, v. 37, p. 1-10, 2008.

KUMAR, M.; KUMAR, V.; SINGH, R. Diameter Tuning of β -Ga₂O₃ Nanowires Using Chemical Vapor Deposition Technique. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, p. 1-10, 2017.

KUMAR, S.; TESSAREK, C.; CHRISTIANSEN, S.; SINGH, R. A comparative study of Ga₂O₃ nanowires grown on different substrates using CVD technique. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 587, p. 812-818, 2014.

KUCISEC-TEPES, N. The role of antiseptics and strategy of biofilm removal in chronic wound. **Acta Medica Croatica**, v. 70, p. 33-42, 2016.

LANDÉN, N. X.; LI, D.; STAHL, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 3861–3885, 2016.

LAI-CHEONG, J. E.; MCGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, v. 45, p. 347-351, 2017.

LAVENDER, J. P.; LOWE, J.; BARKER, J. R.; BURN, J. I.; CHAUDHRI, M. A. Gallium 67 citrate scanning in neoplastic and inflammatory lesions. **Brazilian Journal of Radiology**, v. 44, p. 361–366, 1971.

LEE C. K., HANSEN S. L. Management of acute wounds. **Surgical Clinics of North America**, v. 89, p. 659–676, 2009.

LESSA, J. A.; PARRILHA, G. L.; BERALDO, H. Inorganica Chimica Acta Gallium complexes as new promising metallodrug candidates. **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 53–63, 2012.

LEVADITI, C.; BARDET, J.; TCHAKIRIAN, A.; VAISMAN, A. Le gallium, propriétés thérapeutiques dans la syphilis et les trypanosomiases expérimentales. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences**, v. 192, p. 1142–1143, 1931.

LIPSKY, B. A.; HOEY, C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 1541-1549, 2009.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

LITTENBERG, R. L.; TAKETA, R. M.; ALAZRAKI, N. P.; HALPERN, S. E.; ASHBURN, W. L. Gallium-67 for localization of septic lesions. **Annals of Internal Medicine**, v. 79, p. 403–406, 1973.

LITWIN, C. M.; CALDERWOOD, S. B. Role of iron in regulation of virulence genes. **Clinical Microbiology**, v. 2, p. 137-149, 1993.

LOVERING F.; BIKKER J.; HUMBLET, C. J. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. **Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 6752–6756, 2009.

LOVERING, F. Escape from Flatland 2: complexity and promiscuity. **Medicinal Chemistry Communication**, v. 4, p. 515–519, 2013.

LUNDBERG, J.L.; CHITAMBAR, C.R. Interaction of gallium nitrate with fludarabine and iron chelators: effects on the proliferation of human leukemic HL60 cells. **Cancer Research**, v. 50, p. 6466-6470, 1990.

MANTAREVA, V.; KUSSOVSKI, V.; ANGELOV, I.; WOHRLE, D.; DIMITROV, R. POPOVA, E.; DIMITROV, S. Non-aggregated Ga(iii)-phthalocyanines in the photodynamic inactivation of planktonic and biofilm cultures of pathogenic microorganisms. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 10, p. 91-102, 2011.

MAXSON, S.; LOPEZ, E. A.; YOO, D.; DANILKOVITCH-MIAGKOVA, A.; LEROUX, M. A. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. **Stem Cells Translational Medicine**, v. 2, p. 142-149, 2012.

MERCANDETTI, M.; COHEN, A. J. Wound Healing and Repair. **Medscape**, 2017. Disponível em: <<https://emedicine.medscape.com/article/1298129-overview>>. Acesso em: 08 de jun. de 2020.

MIKUS, P.; MELNÍK, M.; FORGÁCSOVÁ, A.; KRAJCIOVÁ, D.; HAVRÁNEK, D. Gallium compounds in nuclear medicine and oncology. **Main Group Metal Chemistry**. v. 37, p. 53–65, 2014.

MINANDRI, F.; BONCHI, C.; FRANGIPANI, E.; IMPERI, F.; VISCA, P. Promises and failures of gallium as an antibacterial agent. **Future Microbiology**, v. 9, p. 379-397, 2014.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

MORTON, L. M.; PHILIPS, T.J. Wound healing and treating wounds Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, p. 589-605, 2016.

MORRISON, C. N.; PROSSER, K. E.; STOKES, R. W.; CORDES, A.; METZLER-NOLTE, N.; COHEN, S. M. Expanding medicinal chemistry into 3D space: metallofragments as 3D scaffolds for fragment-based drug discovery. **Chemical Science**, v. 11, p. 1216–1225, 2020.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity. **Journal of Immunological Methods**., v. 65, p. 55-63, 1983.

MOSS, J. W.; RAMJI, D. P. Cytokines: roles in atherosclerosis disease progression and potential therapeutic targets. **Future Med Chem**, v. 8, p. 1317–1330, 2016.

MUFTI, A. et al. Anatomy and physiology of the skin. *In*: DOUGHTY, D. B.; MCNICHOL, L. L. **Wound, Ostomy, and Continence Nurses Society core curriculum: wound management**. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2016. p. 3–23.

MYETTE, M.S.; ELFORD, H.L.; CHITAMBAR, C.R. Interaction of gallium nitrate with other inhibitors of ribonucleotide reductase. **Cancer Letters**, v. 129, p. 199-204, 1998.

NARAYANASAMY, P.; SWITZER, B. L.; BRITIGAN, B. E. Prolonged-acting, Multi-targeting Gallium Nanoparticles Potently Inhibit Growth of Both HIV and Mycobacteria in Co-Infected Human Macrophages. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1-7, 2015.

NOBLES, T.; MILLER, R. A. Intertrigo. *In* StatPearls. 1 Ed. Florida: Editora StatPearls, 2019.

NOWOSINSKA, E.; NAVALKISSOOR, S.; QUIGLEY, A. M.; BUSCOMNBE, J. R. Is there a Role for Gallium - 67 Citrate SPECT / CT in Patients with Renal Impairment or Who are Renal Transplant Recipients, in Identifying and Localizing Suspected Infection? **World Journal of Nuclear Medicine**, v. 14, p. 184–188, 2015.

OLAKANMI, O.; BRITIGAN, B. E.; SCHLESINGER, L. S. Gallium Disrupts Iron Metabolism of Mycobacteria Residing within Human Macrophages. **Infection and Immunity**, v. 68, p. 5619-5627, 2000.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

OLAKANMI, O.; GUNN, J. S.; SU, S.; SONI, S.; HASSETT, D. J. Gallium disrupts iron uptake by intracellular and extracellular Francisella strains and exhibits therapeutic efficacy in a murine pulmonary infection model. **Antimicrobial Agents in Chemotherapy**, v. 54, p. 244–253, 2010.

OLIVEIRA, N. T. C. **Crescimento e caracterizações de óxidos pela técnica MOCVD: aplicações em medicina e odontologia**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812> Acesso em: 11 de setembro, 2020.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial Agents in Chemotherapy**, v. 46, p. 2720–2722, 2002.

PANAGAKOS, F. S.; KUMAR, E.; VENESCAR, C.; GUIDON, P. The Effect of Gallium Nitrate on Synoviocyte MMP Activity. **Biochimie**, v. 82, p. 147–151, 2000.

PATNAIK, P. **Handbook of Inorganic Chemicals**, 1 ed., New York: McGraw-Hill, 2003.

PERFECT, J. R. The Antifungal Pipeline: A Reality Check. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 16, p. 603–616, 2017.

PHAN, H. T.; HAES, A. J. What Does Nanoparticle Stability Mean? **The journal of physical chemistry C, Nanomaterials and interfaces**, v. 123, p. 16495-16507, 2019.

PLAYFORD, H.Y.; HANNON, A.C.; BARNEY, E.R.; WALTON, R.I. Structures of Uncharacterised Polymorphs of Gallium Oxide from Total Neutron Diffraction. **Chemistry - A European Journal**, v. 19, p. 2803–2813, 2013.

PORCARO, F.; BONCHI, C.; UGOLINI, A.; FRANGIPANI, E.; POLZONETTI, G.; VISCA, P. et al. Understanding the biomimetic properties of gallium in Pseudomonas

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

aeruginosa: na XAS and XPS study. **Dalton Transactions**, v. 46, p. 7082-7091, 2017.

PRAÇA, F. S. G.; MEDINA, W. S. G.; ELOY, J. O.; PETRILLI, R.; CAMPOS, P. M.; ASCENSO, A. BENTLEY, M. V. L.B. Evaluation of critical parameters for *in vitro* skin permeation and penetration studies using animal skin models Author links open overlay panel. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, p. 121-132, 2017.

QIAO H, ZHANG C, DANG X, YANG H, WANG Y, CHEN Y, et al. Gallium loading into a polydopamine-functionalised SrTiO₃ nanotube with combined osteoinductive and antimicrobial activities. **Ceramics International**, v. 45, p. 22183-22195, 2019.

RAI, M. Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos, **Ciência e Cultura**, v. 65, p. 44–48, 2013.

RAMALHO, A. F. D. **Óxido de gálio amorfo – Síntese, caracterização, Ensaios in vitro de citotoxicidade e atividade antimicrobiana**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

RAMBABU, U.; MUNIRATHNAM, N. R.; PRAKASH, T. L.; VENGALRAO, B.; BUDDHUDU, S. Synthesis and characterization of morphologically different high purity gallium oxide nanopowders. **Journal of Material Sciences**, v. 42, p. 9262–9266, 2007.

RAO, R.; RAO, A. M.; XU, B.; DONG, J.; SHARMA, S.; SUNKARA, M. K. Blueshifted Raman scattering and its correlation with the [110] growth direction in gallium oxide nanowires. **Journal of Applied Physics**, v. 98, 094312, 2005.

RAWLINGS, A. V. Recent advances in skin ‘barrier’ research. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, p. 671-677, 2010.

REAGAN, P.; PANI, A. ROSNER MH. Approach to diagnosis and treatment of hypercalcemia in a patient with malignancy. **American Journal of Kidney Disease**, v. 63, p. 141-147, 2014.

REINKE, J. M, SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research**, v. 49, p. 35-43, 2012.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

RESENDE, D. M.; BACHION, M. M.; ARAUJO, L. A. O. Integridade da pele prejudicada em idosos: estudo de ocorrência numa comunidade atendida pelo Programa Saúde da Família. **Revista Acta Paulista de Enfermagem**, v. 19, p. 168-173, 2006.

RICHTER, K.; THOMAS, N.; CLAEYS, J.; MCGUANE, J.; PRESTIDGE, C. A.; COENYE, T.; WORMALD, P. J.; VREUGDE, S. A Topical Hydrogel with Deferiprone and Gallium-Protoporphyrin Targets Bacterial Iron Metabolism and Has Antibiofilm Activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, p. 481-517, 2017a.

RICHTER, K.; THOMAS, N.; ZHANG, G.; PRESTIDGE, C. A., COENYE T.; WORMALD, P. J.; VREUGDE, S. Deferiprone and Gallium-Protoporphyrin Have the Capacity to Potentiate the Activity of Antibiotics in Staphylococcus aureus Small Colony Variants. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 1-10, 2017b.

ROMO, T.; AL-MOUTRAN, H.; PEARSON, J. M.; YALAMANCHILI, H.; PAFFORD, W.; ZOUMALAN, R. A. Skin Wound Healing. **Medscape Reference**, 2012. Disponível em: <<https://emedicine.medscape.com/article/884594-overview>>. Acesso em: 08 de jun. de 2020.

ROWE, R. C., SHESKEY, P. J., QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 8th edition. 2017 London, UK: Pharmaceutical Press e Washington, DC: American Pharmacists Association.

RZHEPISHEVSKA, O.; EKSTRAND-HAMMARSTÖM, B.; POPP, M.; BJÖRN, E.; BUCHT, A.; SJÖSTEDT, A.; ANTTI, H.; RAMSTEDT, M. The Antibacterial Activity of Ga₃ Is Influenced by Ligand Complexation as Well as the Bacterial Carbon Source. **Antimicrobial agentes and chemotherapy**, v. 55, p. 5568-5580, 2011.

SACIOTTI, M.; CHEYSSAC, P.; PATRIARCHE, G.; DECOBERT, J.; CHIARAMONTE, T.; CARDOSO, L.P. et al. Organometallic precursors as catalyst to grow three-dimensional micro/nanostructures: Spheres, clusters & wires. **Surface Coatings Technology**, v. 201, p. 9104–9108, 2007.

SAHINER, U.M., BIRBEN, E., ERZURUM, S., SACKESEN, C., KALAYCI, O. Oxidative stress in asthma. **World Allergy Organ Journal**, v. 4, p. 151–158, 2011.

SALES, V. A. W.; TIMÓTEO, T. R. R.; SILVA, N. M.; MELO, C. G.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, M. V. G. et al. A systematic review of the anti-inflammatory effects of gallium compounds. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, p. 1-16, 2020.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

SANTOS N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Context – Enferm**, v. 13, p. 64–70, 2004.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. A.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 413-423, 2007.

SCHERRER, P. Determination of the size and internal structure of colloidal particles using X-rays. *Nachr Ges Wiss Goettingen*, **Mathematical Physics Kl.**, v. 1918, p. 98-100, 1918.

SEIDMAN, A. D.; SCHER, H. I.; HEINEMANN, M. H. et al. Continuous infusion gallium nitrate for patients with advanced refractory urothelial tract tumors. **Cancer**, v. 68, p. 2561–2565, 1991.

SERRANO, V. J.; PARRAS, C. E.; INFANTE, T. JR.; RAYO, M. J. I.; GARCÍA, B. L.; CABALLERO, M. M. et al. 67-Gallium SPECT / CT in febrile syndromes of unknown origin. **Spanish Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 37, p. 354–358, 2018.

SHEEHAN P, JONES P, GIURINI JM, et al. Percent change in wound area of diabetic foot ulcers over a 4-week period is a robust predictor of complete healing in a 12-week prospective trial. **Diabetes Care**, v. 26, p. 1879-1882, 2003.

SIEVERT, D. M.; RICKS, P.; EDWARDS, J. R.; SCHNEIDER, A.; PATEL, J.; SRINIVASAN, A. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 34, p. 1–14, 2013.

SILVA, E. R. M. Análise do perfil das prescrições de antimicrobianos na clínica médica de um hospital público do Pará. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 3, p. 15-19, 2012.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C. E. The physiology of wound healing. **Surgery**, v. 35, p. 473-477, 2017.

SMITH, N. W.; STRUTTON, M.; WALSH, M. D.; WRIGTH, G. R.; SEYMOUR, M. F, LAVIN, R.; GARDINER, A. Transferrin Receptor Expression in Primary Superficial 57

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

Human Bladder Tumours Identifies Patients who Develop Recurrences. **Brazilian Journal of Urology**, v. 65, p. 339-344, 1990.

SMITH, F.; SHARP, A. Undertaking a person-centred assessment of patients with chronic wounds. **Nursing Standard**, v. 34, p. 77-82, 2019.

SORG, H.; TILKORN, D. J.; HAGER, S. HAUSER, J.; MIRASTSCHIJSKI, U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**, v. 58, p. 81-94, 2017.

SOUZA, M. L.; SANTOS, W. M.; SOUSA, A.; SALES, V. A. W.; NÓBREGA, F. P.; OLIVEIRA, M.; ROLIM-NETO, P. J. Lipid Nanoparticles as a Skin Wound Healing Drug Delivery System: Discoveries and Advances. **Current pharmaceutical design**, v 26, p. 1-15, 2020.

SPINCZYK, D.; WIDEL, M. Surface area estimation for application of wound care. **Injury-International Journal of the Care of the Injured**, v. 48, P. 653-658, 2017.

STOJADINOVIC, A.; CARLSON, J. W.; SCHULTZ, G. S.; DAVIS, T. A.; ELSTER, E. A. Topical advances in wound care. **Gynecology Oncology**, v. 111, p. 70–80, 2008.

TAKIGUCHI, Y.; MIYAJIMA, S. Effect of post-deposition annealing on low temperature metalorganic chemical vapor deposited gallium oxide related materials. **Journal of Crystal Growth**, v. 468, p. 129–134, 2017.

TAVARES, I. V. B.; SÁ, A. B. Perfil de prescrição de antimicrobianos para as infecções do trato urinário nos cuidados de saúde primários. **Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar**, v. 30, p. 85-100, 2014.

THACKERAY, J. T.; BANKSTAHL, J. P.; WANG, Y.; KORF-KLINGEBIEL, M.; WALTE, A.; WITTNEBEN, A. et al. Targeting post-infarct inflammation by PET imaging: comparison of ⁶⁸Ga-citrate and ⁶⁸Ga-DOTATATE with ¹⁸F-FDG in a mouse model. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 42, p. 317–327, 2014.

THOMPSON, M. G.; TRUONG-LE, V.; ALAMNEH, Y. A.; BLACK, C. C.; ANDERL, J.; HONNOLD, C. L.; PAVLICEK, R. L. et al. Evaluation of Gallium Citrate Formulations against a Multidrug- Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae* in a Murine Wound Model of Infection. **Antimicrobial Agents in Chemotherapy**, v. 59, p. 6484-6493, 2015.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

TIEKINK, E. R., GIELEN, M. **Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine.** Chichester: John Wiley & Sons, 2005.

TIMOTEO, T. R. R. et al. Therapeutic applications of gallium compounds. **Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 07, p. 1662-1674.

TSAN, M. F. Studies on gallium accumulation in inflammatory lesions: III. Roles of polymorphonuclear leukocytes and bacteria. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 19, p. 492–495, 1978.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: causes and threats. **Pharmacy and Therapeutics Journal**, v. 40, p. 277–83, 2015.

VERRI-JR, W. A.; CUNHA, T. M.; POOLE, S.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. Cytokine inhibitors and pain control. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 47, p. 341-353, 2007.

VOEGELI, D. Understanding the main principles of skin care in older adults. **Nursing Standard**, v. 27, p. 59-68, 2012.

VOWDEN, K.; VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. **Surgery**, v. 35, p. 489-494, 2017.

WANG, J.; MING, H.; GUANGBIN, W.; QIN, F. Organic Gallium Treatment Improves Osteoporotic Fracture Healing Through Affecting the OPG/RANKL Ratio and Expression of Serum Inflammatory Cytokines in Ovariectomized Rats. **Biological Trace Element Research**, v. 183, p. 270–79, 2017(a).

WANG, P.; HUANG, B.; HORNG, H.; YEH, C.; CHEN, Y. Wound Healing. **European Surgical Research**, v. 58, p. 81–94, 2017(b).

WARRELL, R. P.; COONLEY, C. J.; STRAUS, D. J.; YOUNG, C. W. Treatment of patients with advanced malignant lymphoma using gallium nitrate administered as a seven-day continuous infusion. **Cancer**, v. 51, p. 1982–1987, 1983.

WARRELL, R. P.; ALCOCK, N. W.; BOCKMAN, R. S. Gallium nitrate inhibits bone turnover in patients with bone metastases. **Journal of Clinical Oncology**, v. 5, p. 292–298, 1987.

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

WARRELL, R. P.; BOCKMAN, R. S. Gallium in the treatment of hypercalcemia and bone metastasis. **Important Advances in Oncology**, v. 9, p. 205–220, 1989.

WARRELL, R. P.; LOVETT, D.; DILMANIAN, F. A.; SCHNEIDER, R.; HEELAN, R.T. Low-dose gallium nitrate for prevention of osteolysis in myeloma: Results of a pilot randomized study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 11, p. 2443–2450, 1993.

WARRELL, R. P. Gallium for treatment of bone disease. *In*: DEKKER, M. **Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids, Bioinorganic Medicine**. New York: Berthon, 1995, p. 1253–1265.

WEIK, J. K.; STEPHENS, R. L.; BAKER, L. H.; JONES, S. E. Gallium nitrate in malignant lymphoma: A Southwest Oncology Group study. **Cancer Treatment Reports**, v. 67, p. 823–825, 1983.

WONG, V. W.; GURTNER, G. C. Tissue engineering for the management of chronic wounds: current concepts and future perspectives. **Experimental Dermatology**, v. 21, p. 729-734, 2012.

XU, Z.; CHEN, X.; TAN, R.; SHE, Z.; CHEN, Z.; XIA, Z. Preparation and characterization of a gallium-loaded antimicrobial artificial dermal scaffold. **Materials Science and Engineering C**, v. 105, p. 1-10, 2019.

XUE, Y.; DU, M.; ZHU M. J. Quercetin prevents Escherichia coli O157: H7 adhesion to epithelial cells via suppressing focal adhesions. **Frontiers in microbiology**, v. 16, p. 3278-3288, 2019.

YANG, J.; KAN, Y.; GE, B.H.; YUAN, L.; LI, C.; ZHAO, W. Diagnostic role of Gallium-68 DOTATOC and Gallium-68 DOTATATE PET in patients with neuroendocrine tumors: a meta-analysis. **Acta Radiologica**, v. 55, p. 389–398, 2014.

YINGWEI, L.; PÉREZ-RIERA, A. R.; BARBOSA-BARROS, R.; DAMINELLO-RAIMUNDO, R.; ABREU, L. C.; NIKUS, K.; BARANCHUK, A. M. Severe hypercalcemia from multiple myeloma as an acquired cause of short QT. **Journal of Electrocardiology**, v. 51, p. 939-940, 2018.

ZARB, P.; COIGNARD, B.; GRISKEVICIENE, J.; MULLER, A.; VANKERCKHOVEN, V.; WEIST, K. et al. The European Centre for Disease Prevention and Control

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

(ECDC) pilot point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use. **Euro Surveill**, v. 17, p. 1-16, 2012.

ZENG, R.; LIN, C.; LIN, Z.; et al. Approaches to cutaneous wound healing: basics and future directions. **Cell Tissue Research**, v. 374, p. 217-232, 2018.

ZHANG, H. Z.; KONG, Y. C.; WANG, Y. Z.; DU, X.; BAI, Z.G.; WANG, J. J.; YU, D.P.; DING, Y.; HANG, Q. L.; FENG, S. Q. Ga₂O₃ nanowires prepared by physical evaporation. **Solid State Communications**, v. 109, p. 677- 682, 1999.

ZHAO, Y.; FROST, R. L. Raman spectroscopy and characterisation of a-gallium oxyhydroxide and b-gallium oxide nanorods. **Journal of Raman Spectroscopy**. v. 39, p. 1494–1501, 2008.

ZHUO, Y.; CHEN, Z.; TU, W. et al. β -Ga₂O₃ versus ϵ -Ga₂O₃: Control of the crystal phase composition of gallium oxide thin film prepared by metal-organic chemical vapor deposition. **Applied Surface Science**, v. 420, p. 802–807, 2017.

APÊNDICES

SALES, V. A. W. Desenvolvimento de pomada protetora à base de nanoestruturas de gálio como alternativa de um novo antimicrobiano, 2020.

APÊNDICES

Apêndice A – Artigo científico publicado (Qualis A4 – 2021). Therapeutic applications of gallium compounds. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. DOI: 10.5281/zenodo.3633895.

Apêndice B – Artigo científico publicado (Qualis A2 – 2016-2020). A systematic review of the anti-inflammatory effects of gallium compounds. Current Medicinal Chemistry. DOI: 10.2174/0929867327666200525160556.

Apêndice C – Capítulo de livro publicado. Radiomarcagem com gálio na identificação de tumores. Comunicação Científica e Técnica em Medicina - Atena Editora. DOI: 10.22533/at.ed.22320270416.

Apêndice D – Capítulo de livro publicado. Efeitos anticâncer dos compostos de gálio: uma revisão sistemática sobre estudos in vivo. Comunicação Científica e Técnica em Medicina - Atena Editora. DOI: 10.22533/at.ed.2232027047.

Apêndice E – Resumo completo apresentado em Anais de Eventos. Compostos a base de gálio no diagnóstico e tratamento de infecções fúngicas. 6º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica (EBIT), realizado em Recife-PE, setembro de 2020.

Apêndice A – Artigo científico publicado. Therapeutic applications of gallium compounds.

IAJPS 2020, 07 (01), 1662-1674 Taysa Renata Ribeiro Timóteo *et al* ISSN 2349-7750



CODEN [USA]: IAJPBB

ISSN: 2349-7750

INDO AMERICAN JOURNAL OF
PHARMACEUTICAL SCIENCES

<http://doi.org/10.5281/zenodo.3633895>

Available online at: <http://www.iajps.com>

Research Article

THERAPEUTIC APPLICATIONS OF GALLIUM COMPOUNDS

Taysa Renata Ribeiro Timóteo ^{1*}; Victor de Albuquerque Wanderley Sales ¹; André Luiz Moreira Domingues de Sousa ¹; Marcos Victor Gregório de Oliveira ¹; Camila Gomes de Melo ¹; Emerson de Oliveira Silva ¹; Aline Silva Ferreira ¹; Rosali Maria Ferreira da Silva ¹; Larissa Araújo Rolim ²; Pedro José Rolim Neto ¹.

¹ Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife/PE, Brazil. ² Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos, Federal University of Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina/PE, Brazil.

Article Received: November 2019 **Accepted:** December 2019 **Published:** January 2020

Abstract:

Background: Classified as a Group IIIA metal, gallium, as well as its compounds, has been presenting several therapeutic activities in the last decades. Gallium compounds garnered considerable attention mainly due to their ability to mimic iron, presenting antimicrobial activities and showing antiproliferative and antimetabolic activity against some cancers.

Method: This review article provides a survey of the main therapeutic applications and analysis of the characteristics of *in vivo* and *in vitro* preclinical trials with gallium and its respective compounds.

Results: Given the therapeutic potential of gallium, its compounds are promising at various stages of preclinical studies for promoting therapeutic action. In this work we discussed about Gallium antimicrobial and antineoplastic activities, its effects in bone metabolism and hypercalcemia, as well as immunosuppressive, anti-inflammatory and antimalarial properties.

Conclusion: Gallium and its complexes show promising pharmacological options for various diseases, representing a major breakthrough in therapy as they have potential for new drug candidates. However, more studies are still necessary.

Corresponding author:

Taysa Renata Ribeiro Timóteo,
Av. Prof. Artur de Sá, S/N, Cidade Universitária. Recife/PE, Brazil.
taysaatimoteo@hotmail.com.

QR code



Please cite this article in press Taysa Renata Ribeiro Timóteo *et al.*, *Therapeutic Applications Of Gallium Compounds.*, *Indo Am. J. P. Sci.*, 2020; 07(01).

Apêndice B – Artigo científico publicado. A systematic review of the anti-inflammatory effects of gallium compounds.

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Current Medicinal Chemistry, 2020, 27, 1-16

1

SYSTEMATIC REVIEW ARTICLE

A Systematic Review of the Anti-inflammatory Effects of Gallium Compounds

Victor de Albuquerque Wanderley Sales^{1,*}, Taysa Renata Ribeiro Timóteo¹, Natália Millena da Silva¹, Camila Gomes de Melo¹, Aline Silva Ferreira¹, Marcos Victor Gregório de Oliveira¹, Emerson de Oliveira Silva¹, Larissa Morgana dos Santos Mendes¹, Larissa Araújo Rolim² and Pedro José Rolim Neto¹

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos. Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife-PE, Brazil; ²Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos. Federal University of Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina-PE, Brazil

Abstract: Background: Inflammation is an essential response provided by the immune system, ensuring the survival during microbial infection, tissue injury and other noxious conditions. However, prolonged inflammatory processes are often associated with severe side effects on health.

Objective: This systematic review aimed to provide the evidence in the literature of the pre-clinical and human anti-inflammatory activity of gallium compounds from 2000 to 2019 focused on elucidating the mechanisms involved in the inflammatory process.

Methods: Seven bibliographical databases were consulted (PubMed, Medline, ScienceDirect, Scopus, Springer, Web of Science, and EBSCOhost). The selection of appropriate publications and writing of this systematic review were based on the guidelines mentioned in the PRISMA statement. Moreover, the assessment of the methodological quality of the selected studies was also performed.

Results: From a total of 3018 studies, 16 studies were included in this paper based on our eligibility criteria, which showed promising and consistent results.

Conclusion: Further research concerning specific inflammatory conditions is required.

ARTICLE HISTORY

Received: December 27, 2019
Revised: April 16, 2020
Accepted: April 27, 2020

DOI:
10.2174/092986732766200525140556

Keywords: Gallium compounds, Inflammation, Pro-inflammatory mediators, Regeneration, Medicinal chemistry, Inorganic compounds.

1. INTRODUCTION

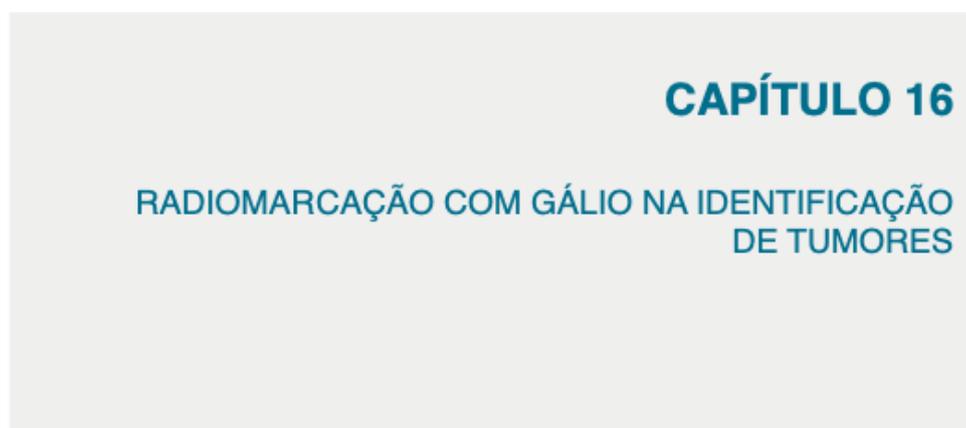
Gallium (Ga), a semi-metallic element in group IIIA of the periodic table, is one of the few metals that is near-liquid at room temperature and can melt when held in the hand. Although gallium has no known physiologic function in the human body, it has shown efficacy in the treatment of various disorders due to its properties of interacting with some cellular process and proteins, especially those of iron metabolism, as it

shares certain chemical similarities with iron (III) [1]. In this sense, gallium compounds, ranging from simple gallium salts (gallium nitrate) to more complex structures of gallium-ligands (gallium maltolate) or gallium-incorporated structures (Gallium-incorporated phosphate-based glasses), have received special attention as therapeutic agents and in biological applications, showing activity in cancers, infections, and inflammatory conditions [2,3].

Pre-clinical studies showed that Gallium targets specific inflammatory and proliferative responses, notably those mediated by T and B lymphocytes and macrophages, and is effective in inhibiting macrophages activation and in suppressing the secretion of

*Address correspondence to this author at the Rua Prof. Artur de Sá, sn. Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos. Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife-PE, Brazil;
Tel: (+55)81997065859; E-mail: victorwsales@gmail.com

Apêndice C – Capítulo de livro publicado. Radiomarcção com gálio na identificação de tumores.



Data de aceite: 13/04/2020

Taysa Renata Ribeiro Timóteo
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://cnpq.br/1219262267081441>

Victor de Albuquerque Wanderley Sales
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/2600267754381054>

Emerson de Oliveira Silva
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/4791117996050599>

André Luiz Moreira Domingues de Sousa
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/4574148044140660>

Camila Gomes de Melo
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/4313023297510228>

Aline Silva Ferreira
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/2303574553512535>

Marcos Victor Gregório de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/3423534753290053>

CAPÍTULO 16

RADIOMARCAÇÃO COM GÁLIO NA IDENTIFICAÇÃO DE TUMORES

Adriana Eun He Koo Yun

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/3790252469663631>

Natália Millena da Silva

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/7947169882540309>

Rosali Maria Ferreira da Silva

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/0897450065155760>

Larissa Araújo Rolim

Universidade Federal do Vale do São Francisco
(UNIVASF), Petrolina-PE.
<http://lattes.cnpq.br/6895886111671283>

Pedro José Rolim Neto

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife-PE
<http://lattes.cnpq.br/8152775457567731>

RESUMO: Introdução: O gálio e seus compostos além de apresentarem propriedades terapêuticas, são capazes de identificarem tumores. Através de tomografia, o gálio radioativo fornece o direcionamento da região onde encontram-se as células malignas. Quando complexados estes apresentam a capacidade de citotoxicidade seletiva.

Apêndice D – Capítulo de livro publicado. Efeitos anticâncer dos compostos de gálio: uma revisão sistemática sobre estudos *in vivo*.

CAPÍTULO 7

EFEITOS ANTICÂNCER DOS COMPOSTOS DE GÁLIO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE ESTUDOS *IN VIVO*

Data de aceite: 13/04/2020 Recife-PE

<p>Victor de Albuquerque Wanderley Sales Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE http://lattes.cnpq.br/2600267754381054</p> <p>Taysa Renata Ribeiro Timóteo Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE http://lattes.cnpq.br/1219262267081441</p> <p>Rafael de Paula Portela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE</p> <p>Myia Lôbo de Souza Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE http://lattes.cnpq.br/5921826206509609</p> <p>Aline Ferreira da Silva Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE http://lattes.cnpq.br/2303574553512535</p> <p>Marcos Victor Gregório de Oliveira Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE</p> <p>Manuela Carine Cavalcante Erhardt Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE</p> <p>Maria Clara Cavalcante Erhardt Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE</p> <p>Laysa Creusa Paes Barreto Barros Silva Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),</p>	<p>Rosali Maria Ferreira da Silva Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE</p> <p>Larissa Araújo Rolim Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Petrolina-PE http://lattes.cnpq.br/6895886111671283</p> <p>Pedro José Rolim Neto Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife-PE http://lattes.cnpq.br/8152775457567731</p>
---	---

RESUMO: INTRODUÇÃO: Evidências indicam que, por meio de mecanismos dependentes e independentes da transferrina, células tumorais e microrganismos patogênicos podem ser induzidos a internalizarem o gálio no lugar do ferro em processos ferro-dependentes, resultando em processos apoptóticos contra neoplasias, incluindo linfoma, câncer de bexiga e câncer de pulmão. **OBJETIVOS:** Uma vez que casos de resistência de tumores à terapia (resistência ao medicamento) vem se tornando um grande obstáculo no sucesso do tratamento do câncer, este trabalho objetiva mostrar avanços recentes no uso de compostos de gálio *in vivo* como uma alternativa futura no tratamento do câncer. **MÉTODOS:** Esta revisão

Comunicação Científica e Técnica em Medicina
Capítulo 7
70

Apêndice E – Resumo completo apresentado em Anais de Eventos. Compostos a base de gálio no diagnóstico e tratamento de infecções fúngicas.



**6º ENCONTRO BRASILEIRO PARA
INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

INOVAÇÕES PARA O ENFRENTAMENTO DO COVID-19

ÁREA DE SUBMISSÃO: PESQUISA CLÍNICA E PRÉ-CLÍNICA

**COMPOSTOS A BASE DE GÁLIO NO DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DE
INFECÇÕES FÚNGICAS**

L. V. de ARAÚJO¹, M. C. C. ERHARDT¹, T. R. R. TIMÓTEO¹, V. A. W. SALES¹, C. G. de MELO¹, M. L. de SOUZA¹, P. C. D. da SILVA², R. M. F. da SILVA¹, L. A. ROLIM³, P. J. ROLIM NETO¹.

¹ Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Recife-PE;
² Universidade Estadual da Paraíba, Departamento de Farmácia, Paraíba-PB.
³ Universidade Federal do Vale do São Francisco, Central de Análise de Fármacos Medicamentos e Alimentos, Petrolina-PE.

E-mail para contato: lorenavasconcelos@live.com

RESUMO – O gálio é um metal de transição atualmente utilizado na medicina nuclear com função diagnóstica, devido aos seus isótopos ⁶⁷Ga e ⁶⁸Ga serem capazes de emitir radiação. Além disso, a habilidade do gálio em ser um mimético do ferro em processos ferro-dependentes culminou em extensa pesquisa da aplicação de compostos de gálio como agente terapêutico em processos patológicos de diversas origens, incluindo as infecções fúngicas, nas quais o Ga⁺³ demonstra ~~ter~~ efeito fungistático. A fim de fornecer evidências da literatura sobre as atividades antifúngicas de estudos pré-clínicos dos compostos de gálio como uma nova alternativa terapêutica, elucidando os principais mecanismos envolvidos e os principais patógenos fúngicos afetados, foi realizado um levantamento de dados nos periódicos: Science Direct, Pubmed e Google Acadêmico através das buscas textuais: "gallium", "Therapy", "diagnosis", "antifungal", "antimicrobial", "evaluation", "efficacy", "spect". Os resultados encontrados apontam os efeitos fungistáticos dos compostos de gálio contra fungos e leveduras, como *A. fumigatus* e diversas espécies do gênero *Candida* spp., o que o torna um elemento promissor para o tratamento antifúngico. Além disso, de acordo com a literatura, o gálio também apresenta interações sinérgicas com fármacos, podendo ser útil para melhoria das farmacoterapias atuais.

Palavras-chave: Radiomarcção. Fungicida. Química Medicinal. Terapia Antifúngica.

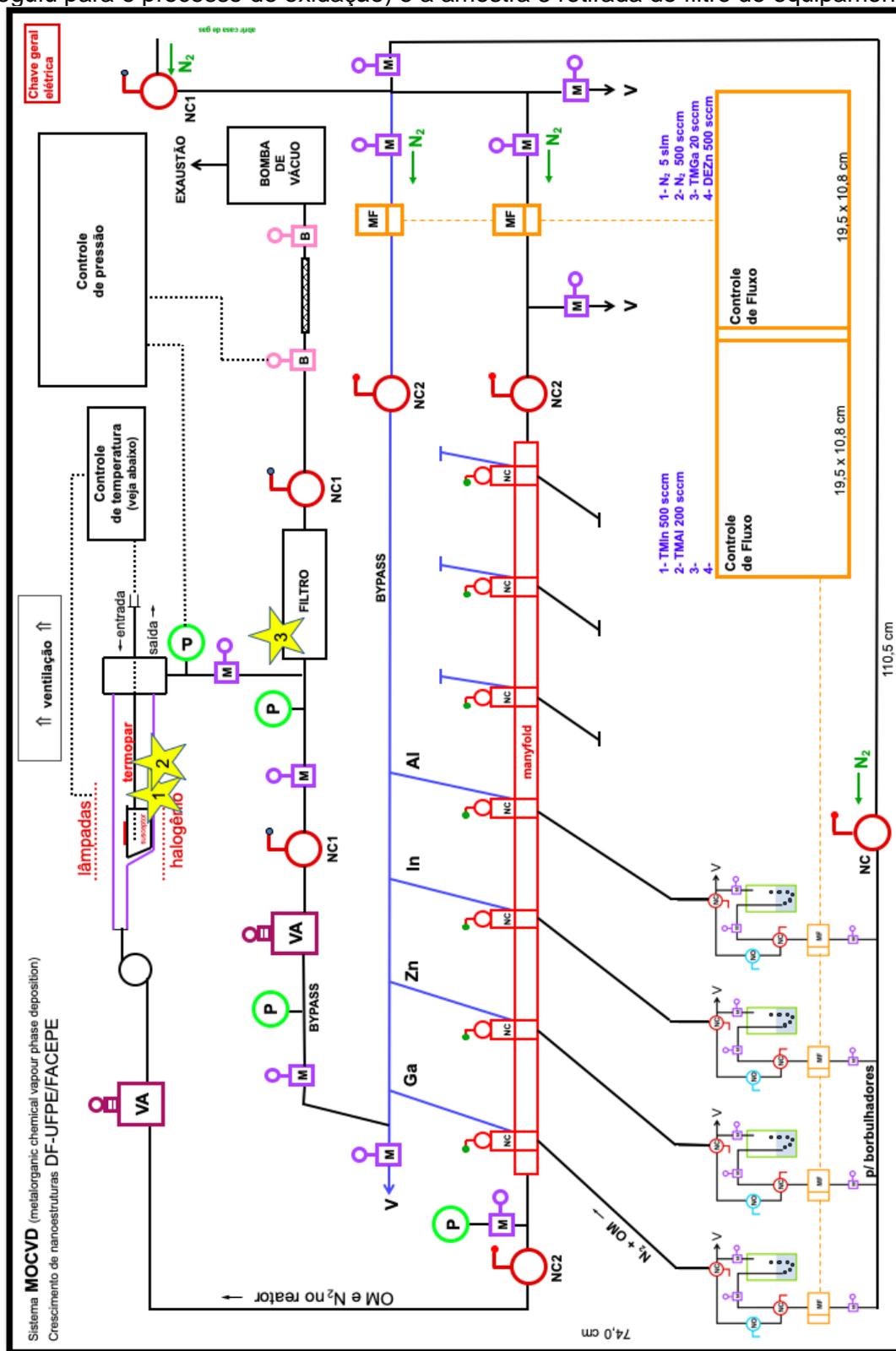
ABSTRACT – Gallium is a transition metal currently used in nuclear medicine as diagnostic agent as its isotopes, ⁶⁷Ga and ⁶⁸Ga, are capable of emitting radiation. Moreover, the ability of Gallium to act as an iron mimetic in iron-dependent processes culminates in extensive research regarding the application of gallium compounds as a therapeutic agent in pathological processes of diverse origins, including fungal infections in which Ga⁺³ has fungistatic effects. In order to provide evidence from the literature on the antifungal activities of preclinical studies of gallium compounds as a new therapeutic alternative, elucidating the main mechanisms involved and the main fungal pathogens affected, a data survey was carried out in following databases: Science Direct, Pubmed and Google Scholar using the terms: "gallium", "Therapy", "diagnosis", "antifungal", "antimicrobial", "evaluation", "efficacy", "spect". The results found point to the fungistatic effects of gallium compounds against fungi and yeasts such as *A. fumigatus* and several species of the genus






ANEXO

Anexo A - Esquema do sistema de *Metal Organic Chemical Vapor Deposition* (MOCVD), evidenciando (estrelas) as regiões de obtenção das amostras, onde: 1 e 2 representam as amostras retiradas das paredes do reator após o processo de deposição (a amostra 2 seguiu para o processo de oxidação) e a amostra 3 retirada do filtro do equipamento.



Fonte: Material cedido pelo departamento de Física da UFPE.