

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas**

**Janaina Cecília Oliveira Villanova**

“Desenvolvimento e caracterização de copolímeros obtidos a partir de monômeros acrílicos e metacrílicos visando a aplicação como excipientes farmacêuticos para preparação de matrizes inertes por compressão direta”

**Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Lambert Oréfice**

**Belo Horizonte**

**2011**

**Janaina Cecília Oliveira Villanova**

“Desenvolvimento e caracterização de copolímeros obtidos a partir de monômeros acrílicos e metacrílicos visando a aplicação como excipientes farmacêuticos para preparação de matrizes inertes por compressão direta”

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutora em Engenharia Metalúrgica e de Minas.

Área de Concentração: Ciência e Eng. de de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Lambert Oréfica

**Belo Horizonte**

**Universidade Federal de Minas Gerais**

**Escola de Engenharia**

**2011**

V717d Villanova, Janaina Cecília Oliveira  
Desenvolvimento e caracterização de copolímeros obtidos a partir de monômeros acrílicos e metacrílicos visando aplicação como excipientes farmacêuticos para a preparação de matrizes inertes por compressão direta / Janaina Cecília Oliveira Villanova. – 2011.  
xxiii, 244 f., enc. : il.

Orientador: Rodrigo Lambert Oréfice.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Anexo:236-244.

Bibliografia: f. 209-235.

1. Copolímeros - Teses. 2. Ciência dos materiais – Teses. I. Oréfice, Rodrigo Lambert. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia.

CDU:678-1 (043)

Ficha elaborada pelo Processamento Técnico da EEUFMG

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim:  
esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e  
depois desinquieta. O que ela quer da gente é  
coragem.”

(Grande Sertão Veredas – João Guimarães Rosa)

Dedico este trabalho à minha mãe, Carminha, que  
travou sua maior batalha em 2010. E como guerreira  
que é, venceu.

Dedico este trabalho à “*minha z’etoile*” – João Pedro -  
que brilha também quando a noite está nublada.

“Ah, não; amigo, para mim, é diferente. Não é um ajuste de um dar serviço ao outro, e receber, e saírem por este mundo, barganhando ajudas, ainda que sendo com o fazer a injustiça dos demais. Amigo, para mim, é só isto: é a pessoa com quem a gente gosta de conversar, do igual o igual, desarmado. O de que um tira prazer de estar próximo. Só isto, quase; e os todos sacrifícios. Ou - amigo - é que a gente seja, mas sem precisar de saber o por quê é que é.”

(Grande Sertão Veredas – João Guimarães Rosa)

Amaranta (irmã-amiga), Vó Maria (avó-mãe), Eduardo (pai-coragem), Amélia (tia-mãe). Não necessariamente nesta ordem. Obrigada pelo apoio incondicional. Sempre.  
Maura (secretária-mãe). Obrigada por cuidar de mim, da minha casa e do meu filho. Sempre.

Ci, Su e Ana Cláudia (amigas-irmãs). Obrigada pelas orações. Sempre.

Eliane (amiga-exemplo). Obrigada pelo conhecimento. Minha admiração.

Tadeu (amigo-amigo). Obrigada pelas risadas. Sempre.

Rodrigo (orientador-amigo). Obrigada pela paciência e conhecimentos transmitidos.

Meus respeitos. Sempre.

“O homem nasceu para aprender, aprender tanto quanto a vida lhe permita.” (Relembraimentos – João Guimarães Rosa)

Aos amigos Lecino, Isabella, Joyce, Mílvia e Marcos Elísio, pela amizade, incentivo e ajuda em sínteses e análises.

Aos amigos Eduardo Henrique e Daniel Andrada pelas análises de FTIR.

À colega Sandhra pela realização dos ensaios de viabilidade celular.

À técnica Patrícia Mara Trigueiro de Azevedo, pelas análises por MEV.

À técnica Isabel Batista, pela execução de análises granulométricas.

Aos Professores Herman Sander Mansur e Marivalda Pereira Magalhães pelo conhecimento proporcionado.

Aos Professores Fabiano Vargas e Patrícia Santiago Patrício pela disponibilidade e auxílio com o uso das nanofibras de celulose.

À Professora Maria Irene Yoshida, pela execução das análises térmicas.

Aos Professores Armando da Silva Cunha Júnior e Renata Barbosa, pelas análises executadas na Faculdade de Farmácia da UFMG.

Ao Professor Denilton Silva Costa, pela realização das análises dos comprimidos, executadas na Universidade Nove de Julho, em São Paulo.

Aos Professores Wilmar, Clascídia e Adelina, que disponibilizaram o uso de equipamentos do CDTN.

Ao técnico Moacir, pelo manuseio da prensa e preparação dos comprimidos.

À Cida e ao Sr. Nelson pela presteza e educação de sempre.

Aos colegas da Área de Biomateriais: Anderson, Regina, Kássio, Túlio, Lívio, Iaci, Meriane, Natália, Camila, Ildeu, Cintia, Dickson, Carolina, Juan e Mercês, pelo incentivo e auxílio, direto ou indireto.

### **Artigos publicados em periódicos**

1. Villanova, J. C. O., Ayres, E., Carvalho, S. M., Patricio, P. S., Pereira, F., Oréfice, R. L. 2011. Pharmaceutical Acrylic Beads Obtained By Suspension Polymerization Containing Cellulose Nanowhiskers As Excipient For Drug Delivery. European Journal of Pharmaceutical Sciences. *In Press*. doi:10.1016/j.ejps.2011.01.005
2. Villanova, J. C. O., Oréfice, R. L., Cunha, A. S. 2010. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. 20, 51-64. doi:10.1590/S0104-14282010005000009

### **Trabalhos apresentados em eventos**

1. Use of cellulose nanowhiskers as nucleating agent in obtaining acrylic beads by suspension copolymerization. 2010. Anais do IX Encontro Internacional da SBPMAT. p. 39. Ouro Preto, MG. Apresentação de Pôster.
2. Villanova, J. C. O., Oréfice, R. L., Ayres, E. 2009. Obtenção e avaliação *in vitro* de *beads*, preparados a partir de caseína, visando a preparação de sistemas de liberação modificada de fármacos. Livro de Resumos do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros. p.65. Foz do Iguaçu, PR. Apresentação Oral.

**LISTAS DE FIGURAS****CAPÍTULO 3**

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>Figura 3.1.</b> | Etapas da granulação pela via úmida   | 010 |
| <b>Figura 3.2.</b> | Etapas da granulação pela via seca  | 011 |
| <b>Figura 3.3.</b> | Representação da via de compressão direta                                     | 011 |
| <b>Figura 3.4.</b> | Processos de erosão, degradação, dissolução e difusão em matrizes poliméricas | 017 |
| <b>Figura 3.5.</b> | Comparação entre os modelos de Ordem Zero e Higuchi                           | 020 |
| <b>Figura 3.6.</b> | Estrutura química do EA, MMA e BMA  | 022 |
| <b>Figura 3.7.</b> | Estrutura química do cloridrato de propranolol                                | 024 |

**CAPÍTULO 4**

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>FIGURA 4.1.</b> | Espectros FTIR dos monômeros EA, MMA e BMA  | 045 |
| <b>FIGURA 4.2.</b> | FTIR dos <i>beads</i> obtidos por polimerização em suspensão (BP e BNWC)          | 046 |
| <b>FIGURA 4.3.</b> | TG e DTG das amostras BPs, obtidas sob atmosfera de N <sub>2</sub>                | 050 |
| <b>FIGURA 4.4.</b> | TG e DTG das amostras de BNWCs, obtidas sob atmosfera de N <sub>2</sub>           | 050 |
| <b>Figura 4.5.</b> | Curvas TG para as amostras BPs e BNWCs, obtidas sob atmosfera de N <sub>2</sub> . | 051 |



|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>Figura 4.6.</b>  | Curvas DTA e DSC para as amostras, obtidas sob atmosfera de N <sub>2</sub> .   | 051 |
| <b>Figura 4.7.</b>  | MEV dos BPs (a) e dos BNWCs (b), com aumento de 35 vezes   | 054 |
| <b>Figura 4.8.</b>  | MEV dos BPs (a) e dos BNWCs (b), com aumento de 150 vezes  | 054 |
| <b>Figura 4.9.</b>  | Distribuição granulométrica para a amostra BNWC  | 055 |
| <b>FIGURA 4.10.</b> | Representação de um volúmetro  | 058 |
| <b>FIGURA 4.11.</b> | Percentual de viabilidade celular obtido através do ensaio de MTT (n = 3 e p<0,05)                                       | 061 |
| <b>FIGURA 4.12.</b> | Espectro FTIR do cloridrato de propranolol, matéria-prima  | 062 |
| <b>FIGURA 4.13.</b> | Identificação do PHCl pela obtenção de espectros UV em diferentes meios  | 063 |
| <b>FIGURA 4.14.</b> | Espectros UV das misturas físicas contendo PHCl, em água   | 063 |
| <b>FIGURA 4.15.</b> | Curva analítica do PHCl, substância química de referência, em água, na concentração de 20 a 80 µg/mL, a 319 nm           | 064 |
| <b>FIGURA 4.16.</b> | Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 1, 2, 3 e 4 (BNWCs) em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8 (n=6 comprimidos) | 070 |

## CAPÍTULO 5

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>Figura 5.1.</b> | Representação esquemática do modelo de nucleação das micelas | 077 |
|--------------------|--|-----|

|                     |   |     |
|---------------------|---|-----|
| <b>Figura 5.2.</b>  | Representação do processo de sonificação  | 083 |
| <b>FIGURA 5.3.</b>  | Espectros FTIR dos filmes obtidos por <i>casting</i> dos Copolímeros A e B                | 102 |
| <b>FIGURA 5.4.</b>  | Distribuição do tamanho das partículas do látice A em função do volume das partículas (%) | 105 |
| <b>FIGURA 5.5.</b>  | Distribuição do tamanho das partículas do látice B em função do volume das partículas (%) | 105 |
| <b>FIGURA 5.6.</b>  | MEV das partículas do látex A, com aumento de 10.000 vezes                                | 107 |
| <b>FIGURA 5.7.</b>  | MEV das partículas do látex B, com aumento de 30.000 vezes                                | 107 |
| <b>FIGURA 5.8.</b>  | Representação esquemática do potencial zeta   | 108 |
| <b>FIGURA 5.9.</b>  | Distribuição do potencial zeta para o copolímero A  | 110 |
| <b>FIGURA 5.10.</b> | Distribuição do potencial zeta para o copolímero B  | 110 |
| <b>FIGURA 5.11.</b> | Curvas TG e DTG de filmes do Copolímero A, antes da liofilização                          | 112 |
| <b>FIGURA 5.12.</b> | Curvas TG e DTG do copolímero A, após secagem por liofilização                            | 113 |
| <b>FIGURA 5.13.</b> | Curvas TG e DTG de um filme do copolímero B, antes da liofilização                        | 113 |
| <b>FIGURA 5.14.</b> | Curvas TG e DTG do copolímero B, após secagem por liofilização                            | 114 |

|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>FIGURA 5.15.</b> | Curvas DTA dos copolímeros A e B (filme – F; liofilizado – L)  | 115 |
| <b>FIGURA 5.16.</b> | Curvas DSC dos copolímeros A e B   | 115 |
| <b>FIGURA 5.17</b>  | Imagem por MEV das partículas do látex A, com aumento de 30 vezes  | 117 |
| <b>FIGURA 5.18.</b> | Imagem por MEV das partículas do látex B, com aumento de 100 vezes   | 117 |
| <b>FIGURA 5.19.</b> | MEV do Copolímero A, após liofilização, com aumento de 75 vezes  | 118 |
| <b>FIGURA 5.20.</b> | MEV do Copolímero B, após liofilização, com aumento de 35 vezes  | 118 |
| <b>FIGURA 5.21.</b> | Percentual de viabilidade celular obtido através do ensaio de MTT (n = 3 e $p \leq 0,05$ ), após 24 horas de contato                       | 122 |
| <b>FIGURA 5.22.</b> | Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 5 (Copolímero A) e 6 (Copolímero B), em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8. (n=6 comprimidos) | 124 |

## CAPÍTULO 6

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>FIGURA 6.1.</b> | Estrutura química do GMA (destaque para o grupo epóxi)   | 131 |
| <b>FIGURA 6.2.</b> | Representação entre a reação da pectina e o GMA          | 132 |
| <b>FIGURA 6.3.</b> | Espectro FTIR da pectina GENU® LM 104, baixa metoxilação | 150 |
| <b>FIGURA 6.4.</b> | Espectro FTIR da pectina modificada pelo GMA             | 152 |

- FIGURA 6.5.** Espectro FTIR do monômero (Pec\_GMA), dos *beads* contendo Pec\_GMA (BPEC) e do copolímero contendo Pec\_GMA enxertada (CPEC). 153
- FIGURA 6.6.** Curvas TG e DTG da pectina pura e da pectina modificada pelo GMA 155
- FIGURA 6.7.** Curvas TG e DTG do copolímero em suspensão (BPEC) 156
- FIGURA 6.8.** Curvas TG e DTG do copolímero por enxertia (CPEC) 156
- FIGURA 6.9.** Imagem obtida por MEV dos *beads* acrílicos contendo pectina (BPEC) 157
- FIGURA 6.10.** Viabilidade celular obtida através do ensaio de MTT ( $n = 3$  e  $p \leq 0,05$ ), após 24 horas de contato 159
- FIGURA 6.11.** Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 7 e 8 (48%p/p e 64%p/p de BPEC), em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8. ( $n=6$  comprimidos) 160
- FIGURA 6.12.** Fotografia dos comprimidos da Fórmula 7, contendo 48%p/p de BPEC, durante e após 12 horas de ensaio de dissolução 161
- FIGURA 6.13.** Fotografia dos comprimidos da Fórmula 8, contendo 64%p/p de BPEC. As matrizes permaneceram íntegras, com a formação de poros 161
- FIGURA 6.14.** Espectro FTIR dos copolímeros EPEC 2 (3,5%Pec\_GMA) e EPEC 4 (6%p/p Pec\_GMA) 164

- Figura 6.15.** Representação esquemática dos eventos relacionados à mucoadesão 169
- FIGURA 6.16.** Representação do ângulo de contato entre uma gota e dada superfície 171
- Figura 6.17.** Representação da geometria de uma gota sobre uma superfície sólida 171
- Figura 6.18.** Espalhamento da gota de água sobre superfícies de filmes formados a partir dos copolímeros produzidos EPEC 172
- Figura 6.19.** Variação da viscosidade do copolímero EPEC 2, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina 178
- Figura 6.20.** Variação da viscosidade no copolímero EPEC 3, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina 178
- Figura 6.21.** Variação da viscosidade no copolímero EPEC 4, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina 179

## CAPÍTULO 7

- Figura 7.1.** Representação do mecanismo de adesão via 3,4-diidroxi-L-fenilalanina 183
- Figura 7.2.** Etapas da oxirredução da L-DOPA 184
- FIGURA 7.3.** Estrutura química do anidrido metacrílico 185
- Figura 7.4.** Sistema empregado na síntese da DOPA modificada 188

|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>FIGURA 7.5.</b>  | Espectro FTIR da 3,4-L-di-hidroxifenilalanina (DOPA)   | 192 |
| <b>FIGURA 7.6.</b>  | Espectro FTIR do monômero metacrilato de glicidila (GMA)   | 192 |
| <b>FIGURA 7.7.</b>  | Espectro FTIR do monômero anidrido metacrílico (AM)  | 193 |
| <b>FIGURA 7.8.</b>  | Espectros FTIR do produto modificado pelo GMA (DOPA 11)  | 193 |
| <b>FIGURA 7.9.</b>  | Espectro FTIR do produto modificado pelo AM (DOPA 12)  | 194 |
| <b>FIGURA 7.10.</b> | Espectro RMN de $^{13}\text{C}$ do GMA puro  | 195 |
| <b>FIGURA 7.11.</b> | Espectro RMN de $^1\text{H}$ do GMA puro   | 195 |
| <b>FIGURA 7.12.</b> | Espectro RMN de $^{13}\text{C}$ da L-DOPA em água- $\text{d}_6$  | 196 |
| <b>FIGURA 7.13.</b> | Espectro RMN de $^1\text{H}$ da L-DOPA em água- $\text{d}_6$   | 197 |
| <b>FIGURA 7.14.</b> | Espectro RMN de $^{13}\text{C}$ do produto entre a DOPA e o GMA, em água- $\text{d}_6$   | 199 |
| <b>FIGURA 7.15.</b> | Espectro RMN de $^1\text{H}$ do produto entre a DOPA e o GMA, em água- $\text{d}_6$  | 199 |
| <b>FIGURA 7.16.</b> | Estruturas químicas prováveis dos produtos oriundos do acoplamento DOPA-GMA, via abertura do anel epoxídico (a e b) e pela rota de transesterificação (c). | 200 |
| <b>FIGURA 7.17.</b> | Espectros FTIR do Copolímero A puro e dos filmes (1 e 2) preparados por copolimerização por enxertia da DOPA 11  | 201 |

**LISTA DE TABELAS****CAPÍTULO 3**

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 3.1.</b> | Expoente $n$ de Korsmeyer-Peppas e mecanismos de liberação | 020 |
|--------------------|--|-----|

**CAPÍTULO 4**

|                    |                                      |     |
|--------------------|--------------------------------------|-----|
| <b>TABELA 4.1.</b> | Composição dos sistemas em suspensão | 033 |
|--------------------|--------------------------------------|-----|

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 4.2.</b> | Características de fluxo dos sólidos particulados de acordo com o tempo de escoamento e a cotangente de $\alpha$ | 038 |
|--------------------|--|-----|

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>TABELA 4.3.</b> | Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos | 040 |
|--------------------|---|-----|

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 4.4.</b> | Modelos matemáticos aplicados para avaliação da cinética de dissolução | 044 |
|--------------------|--|-----|

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>TABELA 4.5.</b> | Volumes aparentes, em mililitros, obtidos para os BNWCs | 058 |
|--------------------|---|-----|

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>TABELA 4.6.</b> | Medidas do volume aparente, densidade aparente, Índice de Carr e Fator de Hausner | 058 |
|--------------------|---|-----|

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>TABELA 4.7.</b> | Valores obtidos no ensaio de peso médio realizados nos comprimidos obtidos a partir dos <i>beads</i> BNWC | 066 |
|--------------------|---|-----|

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 4.8.</b> | Valores obtidos nos ensaios de dureza e friabilidade dos comprimidos preparados com BNWC | 068 |
|--------------------|--|-----|

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 4.9.</b> | Valores obtidos para o coeficiente de correlação $r$ , obtidos para os perfis de liberação das matrizes contendo BNWC como excipientes | 071 |
|--------------------|--|-----|

**CAPÍTULO 5**

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 5.1.</b> | Valores de variação de entalpia e da capacidade calorífica | 090 |
|--------------------|--|-----|

|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>TABELA 5.2.</b>  | Parâmetros para determinação da $T_g$  | 090 |
| <b>TABELA 5.3.</b>  | Composição qualitativa e quantitativa do Copolímero A (60:20:20)   | 092 |
| <b>TABELA 5.4.</b>  | Composição qualitativa e quantitativa do Copolímero B (50:30:20)   | 093 |
| <b>TABELA 5.5.</b>  | Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos  | 100 |
| <b>TABELA 5.6.</b>  | Valores obtidos nos testes físico-químicos para os copolímeros   | 103 |
| <b>TABELA 5.7.</b>  | Determinação do diâmetro médio das partículas e do potencial zeta  | 105 |
| <b>TABELA 5.8.</b>  | Volumes aparentes, em mililitros, obtidos para os Copolímeros A e B  | 120 |
| <b>TABELA 5.9.</b>  | Medidas do volume compactado, densidade compactada, Índice de Carr e Fator de Hausner                                  | 120 |
| <b>TABELA 5.10.</b> | Medidas diretas do fluxo: tempo de escoamento e cotangente de $\alpha$   | 120 |
| <b>TABELA 5.11.</b> | Valores obtidos nos ensaios de peso médio, dureza, friabilidade e coeficiente de correlação (r) para as Fórmulas 5 e 6 | 123 |

## CAPÍTULO 6

|                    |  |     |
|--------------------|--|-----|
| <b>TABELA 6.1.</b> | Composição qualitativa e quantitativa dos <i>beads</i> BPEC                    | 138 |
| <b>TABELA 6.2.</b> | Composição qualitativa e quantitativa do copolímero CPEC                       | 140 |
| <b>TABELA 6.3.</b> | Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos contendo BPEC            | 142 |
| <b>TABELA 6.4.</b> | Composição dos copolímeros acrílicos EPEC obtidos por polimerização em emulsão | 144 |



|                     |  |     |
|---------------------|--|-----|
| <b>TABELA 6.5.</b>  | Espectro FTIR da pectina: número de ondas e grupos funcionais  | 150 |
| <b>TABELA 6.6.</b>  | Volume aparente e compactado, em mililitros, obtidos para as amostras BPEC   | 158 |
| <b>TABELA 6.7.</b>  | Medidas da densidade aparente, densidade compactada, Índice de Carr, Fator de Hausner, velocidade de escoamento e cotangente de $\alpha$ dos <i>beads</i> BPEC | 158 |
| <b>TABELA 6.8.</b>  | Valores obtidos nos ensaios de peso médio, dureza, friabilidade e do coeficiente de correlação (r) para as Fórmulas 7 e 8                                      | 160 |
| <b>TABELA 6.9.</b>  | Valores obtidos na determinação do teor em sólidos e do pH para os copolímeros EPEC  | 165 |
| <b>TABELA 6.10.</b> | Distribuição do tamanho de partículas e IP   | 166 |
| <b>TABELA 6.11.</b> | Valores obtidos para a média dos ângulos de contato (n=3)  | 172 |
| <b>Tabela 6.12.</b> | Valores da viscosidade experimental e calculada para sistemas contendo 5%p/V de mucina ( <i>Spindle</i> SC4-28 e velocidade de 100 rpm)                        | 175 |
| <b>Tabela 6.13.</b> | Valores da viscosidade experimental e calculada para sistemas contendo 7,5%p/V de mucina ( <i>Spindle</i> SC4-28 e velocidade de 100 rpm)                      | 175 |

## CAPÍTULO 7

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| <b>Tabela 7.1.</b> | Sinais nos espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ para os materiais de partida | 198 |
| <b>Tabela 7.2.</b> | Sinais presentes nos espectros de RMN de $^1\text{H}$ para o GMA e DOPA     | 198 |

**ABREVIATURAS**

$\phi$ : ângulo de contato

$\xi$ : potencial zeta

$\eta$ : viscosidade

$\eta_{\text{cop}}$ : viscosidade do copolímero

$\eta_{\text{esp}}$ : viscosidade esperada

$\eta_{\text{exp}}$ : viscosidade experimental

$\eta_{\text{m}}$ : viscosidade da dispersão contendo mucina pura

$\eta_{\text{rel}}$ : viscosidade relativa

$\eta_{\text{s}}$ : viscosidade sinérgica

$\Delta_{\text{Cp}}$ : variação da capacidade calorífica

$\Delta_{\text{H}}$ : variação de entalpia

$\Delta_{\text{T}}$ : variação de temperatura

**A/O/A**: emulsão água, óleo, água

**A/O**: emulsão água em óleo

**AE**: alta esterificação

**AM**: anidrido metacrílico

**ATR**: reflectância total atenuada

**BE**: baixa esterificação

**BMA**: metacrilato de butila

**BNWC**: *beads* contendo *nanowhiskers* de celulose

**BP**: *beads* puros

**BPEC**: *beads* contendo pectina modificada

**CA**: copolímero A

**CB**: copolímero B

**CMC**: celulose microcristalina ou concentração micelar crítica

**C<sub>p</sub>**: capacidade calorífica

**CPEC**: copolímero contendo pectina modificada

**CV%**: coeficiente de variação

**d<sub>6</sub>**: deuterado

**d<sub>a</sub>**: densidade aparente

**d<sub>c</sub>**: densidade compactada

**DMTA**: análise termomecânico-dinâmica

**DOPA**: 3,4-diidroxil-L-fenilalanina

**DOPA\_AM:** DOPA modificada pelo anidrido metacrílico  
**DOPA\_GMA:** DOPA modificada pelo metacrilato de glicidila  
**DP:** desvio padrão  
**DSC:** calorimetria exploratória diferencial  
**DTA:** análise térmica diferencial  
**DTG:** derivada da TG  
**DTP:** distribuição do tamanho das partículas  
**E.H.L.:** equilíbrio hidrófilo-lipófilo  
**EA:** acrilato de etila  
**ECF:** espectroscopia de correlação de fótons  
**EDL:** espalhamento dinâmico de luz  
**EPEC:** emulsão contendo pectina modificada  
**F:** filme  
**FFOS:** formas farmacêuticas orais sólidas  
**FH:** fator de Hausner  
**FTIR:** infravermelho por transformada de Fourier  
**GA:** grau de amidação  
**GE:** grau de esterificação  
**GMA:** metacrilato de glicidila  
**IC%:** índice de Carr  
**IP:** índice de polidispersão  
**L:** liofilizado  
**MEV:** microscopia eletrônica por varredura  
**MMA:** metacrilato de metila  
**MTT:** corante tetrazolium  
**n:** população ou número de amostras  
**NWC:** *nanowhiskers* de celulose  
**O/A/O:** emulsão óleo, água, óleo  
**O/A:** emulsão óleo em água  
**PAMA:** poli(ácido metacrílico)  
**PB:** peróxido de benzoíla  
**PBS:** solução salina fosfato tamponada  
**PCL:** poli(caprolactona)  
**Pec\_GMA:** pectina modificada pelo metacrilato de glicidila  
**PEG:** polietilenoglicol  
**pH:** potencial hidrogeniônico

**PHCI:** cloridrato de propranolol

**PLA:** poli(ácido láctico)

**PMMA:** poli(metil metacrilato)

**RL:** radical livre

**RMN:** ressonância magnética nuclear

**SFB:** soro fetal bovino

**SLF:** Sistema de liberação de fármacos

**SQR:** substância química de referência

**Tg:** temperatura de transição vítrea

**TG:** termogravimetria

**TGI:** trato gastrointestinal

**TMP:** tamanho médio das partículas

**USP:** *United States Pharmacopeia*

**UV:** ultravioleta

**Vc:** volume compactado

**V<sub>m</sub>:** fração em massa dos componentes no copolímeros

*“INFELICIDADE É QUESTÃO DE PREFIXO”*

## RESUMO

Comprimidos de liberação modificada apresentam como vantagens principais o aumento da adesão dos pacientes ao tratamento e a promoção de níveis efetivos do fármaco na corrente sanguínea, por períodos prolongados. O desenvolvimento de novos materiais, destinados à obtenção de comprimidos matriciais torna-se mais importante a cada dia. Polímeros e suas blendas podem ser preparados visando à obtenção de formulações de liberação sustentada. Grande parte dos polímeros sintéticos utilizados na preparação de matrizes de liberação modificada é baseada em monômeros acrílicos e metacrílicos. Estes últimos são moléculas versáteis, altamente reativas e capazes de interagirem entre si e com outras moléculas, inclusive com macromoléculas naturais, permitindo o controle de propriedades químicas e físicas dos polímeros obtidos, consoante a aplicação requerida. Neste sentido, o objetivo da presente Tese foi preparar copolímeros pelas técnicas de polimerização em suspensão e em emulsão, a serem empregados como excipientes para a formação de matrizes por compressão direta. Após a síntese, os copolímeros foram caracterizados por métodos espectrofotométricos e análises térmicas. Posteriormente, ensaios físicos, denominados micromeríticos, foram executados para estudar a funcionalidade das partículas sólidas para o uso como excipientes farmacêuticos. Para tal, foram investigadas a morfologia, a granulometria, o Fator de Hausner, o Índice de Carr, a velocidade de escoamento e a cotangente do ângulo  $\alpha$ . Ensaios preliminares de viabilidade celular, para avaliação da citotoxicidade *in vitro*, foram realizados através do método MTT. Finalmente, os excipientes contendo nanofibras de celulose (denominados *beads* BNWC), *beads* contendo pectina de baixa metoxilação modificada pelo metacrilato de glicidila (BPEC) e Copolímeros A e B liofilizados, foram utilizados para preparar os comprimidos, via compressão direta, contendo cloridrato de propranolol (PHCl) como fármaco modelo. A liberação do PHCl foi

estudada com base nos perfis de dissolução obtidos empregando metodologia adaptada da Farmacopeia Americana 32<sup>a</sup> edição. Os excipientes preparados na forma de *beads* mostraram melhores propriedades de fluxo e compressão quando comparados com os Copolímeros liofilizados (A e B). O tempo de compressão, o tipo e a quantidade de polímeros empregados exerceram influência na dureza e na liberação do fármaco. Os perfis de dissolução mostraram que comprimidos preparados com 64%p/p de BNWC, 48%p/p e 64%p/p de BPEC formaram matrizes inertes que não sofreram erosão, permaneceram íntegras e liberaram o PHCl por um período superior a 12 horas de ensaio. Para elucidação do mecanismo de liberação, foram aplicados os modelos cinéticos de Ordem Zero, Ordem Um, Korsmeyer-Peppas e Higuchi, empregando regressão linear. Os modelos que melhor descreveram a liberação foram os de Higuchi e de Korsmeyer-Peppas, indicando que a difusão foi o principal mecanismo de liberação. A dureza dos comprimidos variou entre 41N e 184,5N, sugerindo que comprimidos com maior dureza devem ser mais compactos e menos porosos, resultando em liberação mais lenta. A friabilidade foi menor que 0,5% e a variação do peso médio foi menor que  $\pm 10\%$ . Por último, os resultados de viabilidade celular mostraram que os excipientes acrílicos obtidos foram atóxicos e, portanto, adequados a aplicações farmacêuticas.

**Palavras-chave:** Compressão direta; Matrizes inertes; Polímeros acrílicos; Polimerização em emulsão; Polimerização em suspensão.

**ABSTRACT**

Modified release tablets can improve patient compliance and provide extended periods of effective drug blood levels. The development of new materials for matrix forming tablets formulations has become more important recently and polymers and their blends can be used to achieve sustained release. Most investigated synthetic polymers used in the preparation of modified release tablets are based on acrylic and methacrylic monomers. Such versatile molecules are highly reactive and are able to interact among themselves and with other molecules, including natural macromolecules, enabling the control of chemical and physical properties of polymers according to the specific application. In this view, the objective of this work was to prepare copolymers obtained by suspension and emulsion polymerization process to be applied as a release controlling excipient in matrix tablets using direct compression. After synthesis, the copolymers were characterized by spectrophotometric methods and thermal analysis. Later, physical pharmaceutical assays, named micromeritics tests, were performed in order to study the suitability of the solid particles to be used as pharmaceutical excipient. Were investigated the morphology, granulometry assays, Hausner ratio, Carr's index and cotangent of  $\alpha$  angle. Moreover, preliminary *in vitro* cytotoxicity assessment was made using MTT assay. Finally the excipients containing cellulose nanowhiskers (named beads CNWB), beads containing low-methoxyl pectin chemically modified by glycidyl methacrylate (PECB) and lyophilized copolymers A and B were used to prepare matrix tablets by direct compression with propranolol hydrochloride (PHCl) as model drug. The release was studied according to dissolution profiles based on the methodology adapted from the United States Pharmacopeia 32<sup>th</sup> edition. The excipients prepared in the form of beads showed good flow and compressibility properties when compared with the

copolymers lyophilized (A and B). The compression time, the type and amount of polymer used influenced the hardness and drug release. The dissolution profiles showed that the proposed excipient performed with 64%w/w of CNWB, 48%w/w of PECB and 64%w/w PECB formed inert matrices that would not erode and released the PHCl for a period exceeding 12 hours. For elucidation of the drug release mechanism, dissolution data was analyzed using Zero-order, First-order, Korsmeyer-Peppas and Higuchi equations, with linear regression. The models that best fits the release was found Higuchi and Korsmeyer-Peppas, which indicates the diffusion as the main drug release mechanism. The hardness of the tablets ranged from 41N to 184.5N, indicating that the tablets with higher hardness may be more compact and less porosity, resulting in slower release. Friability showed variation of results lower than 0.5% and the variation of the average weight was between  $\pm 10.0\%$ . Finally, the results of the viability test indicated that acrylic copolymers are nontoxic and they are expected to be biocompatible for pharmaceutical applications.

**Key-words:** Acrylic polymers; Direct compression; Emulsion polymerization; Inert matrices; Suspension polymerization.



**SUMÁRIO**

|   |      |
|---|------|
| <b>Lista de Figuras</b>   | viii |
| <b>Lista de Tabelas</b>   | xiv  |
| <b>Abreviaturas</b>   | xvii |
| <b>Resumo e Abstract</b>  | xx   |
| <b>Capítulo 1</b>   | 1    |
| Introdução Geral  | 2    |
| <b>Capítulo 2</b>   | 6    |
| Objetivos   | 7    |
| <b>Capítulo 3</b>   | 9    |
| Revisão da Literatura   | 10   |
| <b>Capítulo 4</b>   | 25   |
| Obtenção e caracterização de <i>beads</i> por polimerização em suspensão e<br>preparação de matrizes por compressão direta                    | 26   |
| <b>Capítulo 5</b>   | 73   |
| Obtenção e caracterização de copolímeros por polimerização em emulsão e<br>preparação de matrizes por compressão direta                       | 74   |
| <b>Capítulo 6</b>   | 128  |
| Funcionalização da pectina pelo metacrilato de glicidila, obtenção de<br>copolímeros acrílicos e preparação de matrizes por compressão direta | 129  |
| <b>Capítulo 7</b>   | 182  |
| Modificação da DOPA pelo metacrilato de glicidila   | 183  |
| <b>Conclusões Gerais</b>  | 202  |
| <b>Perspectivas Futuras</b>   | 206  |
| <b>Referências</b>  | 209  |
| <b>Anexos</b>   | 236  |

## **CAPÍTULO 1**

---

### **Introdução Geral**

Comprimidos são as principais formas farmacêuticas administradas aos pacientes. As razões mais importantes são a popularidade entre os prescritores, a boa aceitação por parte dos usuários e a disponibilidade de uma dose única, com a quantidade exata de fármaco a ser administrada, evitando a necessidade de medidas e facilitando a autoadministração. Os principais benefícios para as indústrias farmacêuticas recaem sobre os processos de produção e controle de qualidade, já bem estabelecidos. Devido aos constantes avanços nas áreas de Pesquisa e Desenvolvimento das indústrias, bem como do segmento universitário, desde a década de 60, os comprimidos deixaram de ser meros suportes físicos para a incorporação de fármacos e passaram a atuar como Sistemas de Liberação de Fármacos (SLFs), capazes de modular a cedência do princípio ativo. Para tal, tem-se investido no desenvolvimento de novos excipientes, capazes de prolongar a liberação, direcionar o fármaco para sítios específicos ou aumentar o tempo de permanência do medicamento no organismo.

Excipiente é qualquer substância (exceto o fármaco ou o pró-fármaco) que tem sua segurança avaliada e, a partir de então, pode ser incluído na forma farmacêutica, com intenções variadas, tais como, auxiliar na preparação; fornecer estabilidade física, química e microbiológica ao produto; melhorar a disponibilidade do ativo no organismo; garantir a aceitabilidade do paciente; e, melhorar ou promover qualquer outro atributo relacionado à segurança e efetividade do medicamento.

Grande parte dos excipientes farmacêuticos são polímeros. Os polímeros fazem parte do nosso cotidiano e representam uma das classes de materiais mais versáteis que existem, apresentando inúmeras aplicações. Polímeros naturais, naturais modificados e sintéticos são empregados como componentes de produtos de cuidados pessoais, cosméticos, dispositivos médicos e em medicamentos convencionais e de desempenho terapêutico avançado. Nos dias atuais, polímeros são desenvolvidos para

atuarem, diretamente, no controle da liberação dos fármacos. Polímeros biodegradáveis, bioadesivos, biomiméticos, terapêuticos, dendrímeros e hidrogéis responsivos têm sido amplamente incluídos em formulações farmacêuticas. Os avanços no desenvolvimento de novos SLFs dependem, concomitantemente, da idealização de novos excipientes poliméricos.

A maioria dos comprimidos de liberação prolongada disponíveis comercialmente é preparada a partir da hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) como agente formador de matriz. Porém, o mecanismo que controla a liberação é a gelificação da HPMC, mecanismo nem sempre ideal para modular, apropriadamente, a liberação de fármacos muito solúveis. Muitas vezes, grandes quantidades de HPMC são necessárias. Outro problema é que o HPMC não possui características de fluxo e compressão adequados à compressão direta e a preparação de grânulos, pela via úmida, pode gerar partículas rígidas. Neste contexto, a motivação da presente Tese foi desenvolver excipientes poliméricos, baseados em monômeros acrílicos e metacrílicos, já utilizados comercialmente, visando à utilização dos mesmos como agentes formadores de matrizes inertes por compressão direta. Duas vias de reação foram empregadas na preparação dos copolímeros: a polimerização em suspensão e a polimerização em emulsão. O primeiro método visou à preparação de excipientes sólidos, na forma de esferas (*beads*), enquanto que o segundo objetivou a obtenção de emulsões acrílicas aquosas, passíveis de sofrerem secagem por liofilização. Os excipientes delineados visaram, primariamente, a preparação de comprimidos pela via direta, processo que envolve menos etapas, menor gasto de energia, menor tempo e número de excipientes, além de trazer vantagens para a estabilidade do fármaco e do produto acabado, quando comparada com as demais vias de fabricação de comprimidos (granulação úmida e seca).

Por outro lado, as emulsões acrílicas podem ser utilizadas também em processos de granulação pela via úmida. As emulsões obtidas contêm alto teor em sólidos, fato vantajoso para a granulação pela via úmida, já que a quantidade de polímero a ser usado para modular a liberação poderá ser melhor controlada, sem provocar umedecimento excessivo da massa a granular. Ainda, um maior teor em sólidos pode auxiliar na formação de matrizes plásticas com menor porosidade, menor permeação do meio de dissolução e, por consequência, a liberação poderá ser prolongada por um maior período de tempo. Do ponto de vista ambiental, a preparação de polímeros acrílicos pelos processos em suspensão e em emulsão, em meio aquoso, traz vantagens, uma vez que as mesmas são isentas de solventes voláteis. Para o organismo, a ausência de resíduos de solventes orgânicos reduz a possibilidade de toxicidade.

Outro aspecto abordado foi a incorporação de macromoléculas naturais, nomeadamente, a pectina, nos copolímeros sintéticos. O aumento no interesse dos polímeros naturais é devido, principalmente, à possibilidade destes sofrerem modificações químicas, serem atóxicos, biodegradáveis e de baixo custo. Após a funcionalização, os mesmos podem ser reticulados ou copolimerizados, originando excipientes com funções específicas, como a bioadesividade. Neste sentido, a pectina modificada foi copolimerizada com os monômeros acrílicos, visando obter um excipiente mucoadesivo, capaz de aumentar o tempo de retenção da forma farmacêutica no organismo. A pectina foi escolhida por ter seu uso consagrado na área farmacêutica e alimentícia.

Dadas as variações nas técnicas de obtenção e caracterização dos copolímeros, assim como dos excipientes, o trabalho foi subdividido em Capítulos. No **Capítulo 4**, encontra-se descrita a técnica de obtenção e caracterização de um copolímero acrílico, contendo nanofibras de celulose como coestabilizante, obtido na forma de *beads*,

denominados BNWCs. O sucesso da polimerização foi verificado por análises espectrométricas e térmicas. Posteriormente, os BNWCs tiveram suas propriedades micromeríticas analisadas e foi pesquisada a toxicidade do material empregando ensaios preliminares de viabilidade celular. No **Capítulo 5**, foram preparados copolímeros pelo método em emulsão, utilizando uma técnica inovadora, baseada no preparo de pré-emulsões por sonificação e adição de dois pares redox, na tentativa de controlar a exotermia da reação. Os copolímeros em emulsão foram caracterizados e secos por liofilização, para a obtenção de excipientes na forma sólida. Estes últimos tiveram suas propriedades micromeríticas e a toxicidade pesquisadas. No **Capítulo 6**, a pectina de baixa metoxilação foi funcionalizada pelo monômero metacrilato de glicidila (GMA) na tentativa de introduzir grupos vinílicos e torná-la polimerizável na presença dos monômeros acrílicos e metacrílicos. Foram obtidos *beads* pelo processo em suspensão (BPEC) que foram caracterizados e tiveram suas propriedades micromeríticas e citotóxicas analisadas. Ainda, o processo em emulsão foi utilizado para obter copolímeros (EPEC) cujas propriedades mucoadesivas foram estudadas utilizando metodologia *in vitro*. Os excipientes obtidos em cada etapa foram empregados na preparação de comprimidos, posteriormente avaliados conforme especificações farmacopeicas. O objetivo do **Capítulo 7** foi a modificação do aminoácido 3,4-diidroxi-L-fenilalanina pela introdução de duplas ligações, na tentativa de obter um monômero capaz de originar um polímero bioinspirado, com capacidade adesiva. Por último, foram apresentadas as **Conclusões Gerais** e foram mencionadas as **Perspectivas Futuras** para o presente trabalho.

É importante ressaltar o aspecto multidisciplinar envolvido na pesquisa. Depois de sintetizados, os copolímeros foram caracterizados sob o ponto de vista das Ciências de Materiais e das Ciências Farmacêuticas. Princípios químicos, físico-químicos, matemáticos, biológicos e farmacêuticos foram aplicados no decorrer da Tese.

## **CAPÍTULO 2**

---

### **Objetivos**

## 2.1. Objetivo geral

**D**esenvolver polímeros acrílicos, com e sem a incorporação de macromoléculas naturais modificadas, visando a obtenção de excipientes para a preparação de matrizes inertes por compressão direta para liberação modificada de fármacos, dotadas ou não de mucoadesividade.

## 2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Produzir copolímeros acrílicos na forma de esferas sólidas (*beads*) pelo processo de polimerização em suspensão;

2.2.2. Produzir emulsões acrílicas via polimerização em emulsão e submeter o copolímero em emulsão ao processo de secagem por liofilização;

2.2.3. Modificar a pectina de baixo grau de metoxilação pelo metacrilato de glicidila, para introdução de grupos vinílicos polimerizáveis;

2.2.4 Modificar a L-DOPA pelo metacrilato de glicidila e pelo anidrido metacrílico para introdução de grupos vinílicos polimerizáveis;

2.2.5. Empregar a pectina modificada no preparo de copolímeros acrílicos pelas vias em suspensão e em emulsão;

2.2.6. Examinar as características físicas e químicas dos copolímeros obtidos pelas técnicas em emulsão e em suspensão;



2.2.7. Avaliar as propriedades adesivas, *in vitro*, dos copolímeros em emulsão contendo a pectina modificada, pela medida da viscosidade sinérgica;

2.2.8. Estudar as características micromeríticas dos excipientes desenvolvidos, medindo o tamanho das partículas, a distribuição granulométrica, a morfologia das partículas, a densidade aparente e compactada, bem como realizar medidas diretas e indiretas da capacidade de fluxo;

2.2.9. Avaliar, previamente, a citotoxicidade dos excipientes obtidos pelo método da viabilidade celular (MTT);

2.2.10. Preparar via compressão direta, sistemas matriciais utilizando os excipientes sintetizados;

2.2.11. Submeter os comprimidos aos ensaios de controle de qualidade: peso médio, dureza, friabilidade, perfil de dissolução e estudo da cinética de dissolução.

## **CAPÍTULO 3**

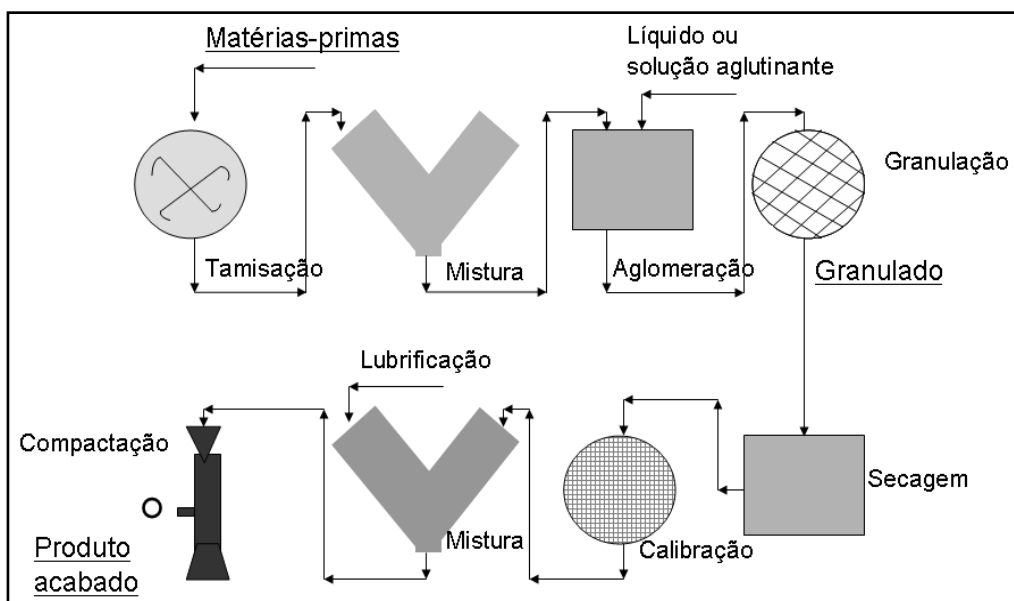
---

### **Revisão da Literatura**

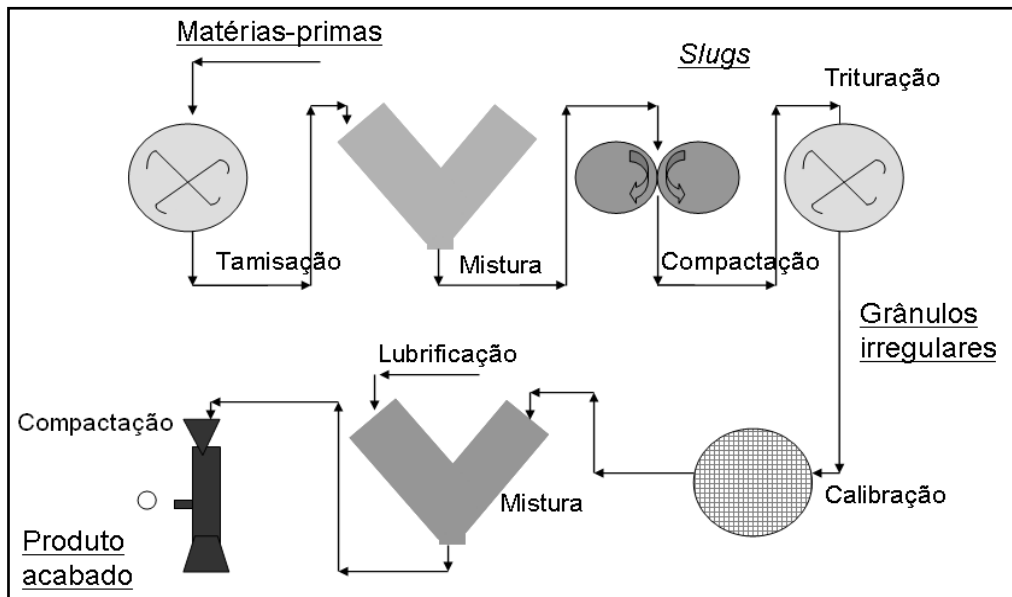
### 3.1 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1.1. Delineamento de formas farmacêuticas orais sólidas

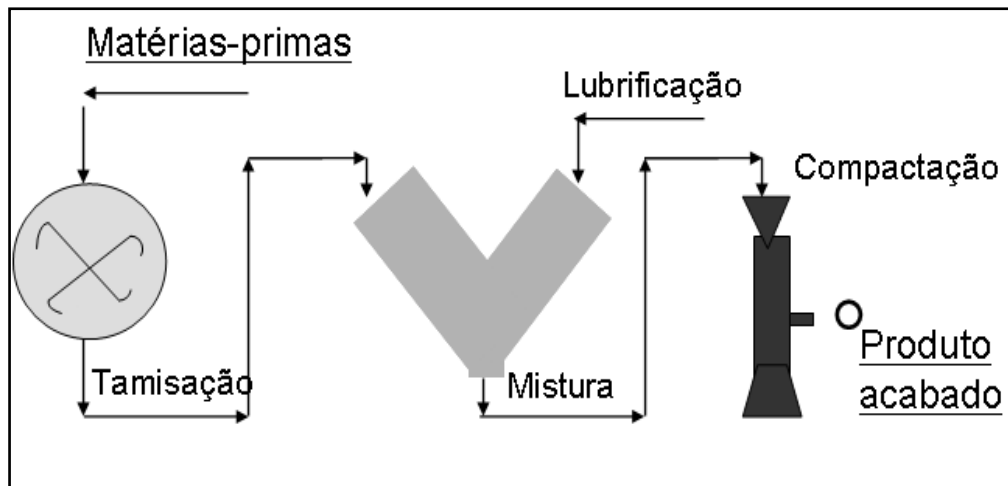
Historicamente, a via de administração mais comum e convenientemente empregada para administração de fármacos é a oral. Os comprimidos continuam sendo exaustivamente estudados, pois, apresentam ampla aceitação por médicos e pacientes, além de apresentarem técnicas de produção e controle já bem estabelecidas (Rathbone *et al.*, 2008). Desta forma, fica clara a necessidade das indústrias investirem na pesquisa de novos fármacos, excipientes e no desenvolvimento de preparações orais de liberação modificada, nomeadamente, comprimidos. Entre os processos disponíveis para obtenção destes últimos encontram-se a via úmida, a via seca e a via direta. A compressão direta é aquela que desperta maior interesse por parte das indústrias farmacêuticas, uma vez que é mais rápida, simples, oferece maior estabilidade físico-química aos ingredientes ativos e para o produto acabado, gasta menos tempo e energia, além de empregar menor número de equipamentos e excipientes.



**Figura 3.1.** Etapas da granulação pela via úmida.



**Figura 3.2.** Etapas da granulação pela via seca.



**Figura 3.3.** Representação da via de compressão direta.

As diferentes etapas envolvidas nos três processos de compressão encontram-se detalhadas nas Figuras 3.1, 3.2 e 3.3, que deixam claras as vantagens da compressão direta. Normalmente, a via direta é a de escolha para a preparação de comprimidos cujos fármacos não sejam de baixa potência, representem de 30% a 40% p/p da formulação, sejam termolábeis ou sensíveis à presença de água. A eliminação do aquecimento e a ausência dos efeitos da umidade são outras características desta via. Por consequência, há um ganho de tempo na produção em

grande escala, com redução dos custos do produto acabado. Como a mistura sofre menos manipulações, a liberação de pós para o ambiente é menor e, uma vez que o granel permanece em processo por menos tempo, estará menos sujeito à contaminação cruzada. Outra importante consideração a ser feita é sobre as Boas Práticas de Fabricação: como o número de etapas de fabricação é menor, a validação do processo torna-se mais simples (Jivraj *et al.*, 2000; Gohel & Jogani, 2005).

Contudo, para que a compressão direta seja a via de produção de escolha, é necessário que sejam empregados excipientes apropriados, chamados de diretamente compressíveis. Estes, por sua vez, precisam apresentar atributos em conformidade com as especificações de qualidade, segurança e funcionalidade. Portanto, devem possuir propriedades físicas adequadas, tais como, fluidez e compactabilidade. Algumas das análises preconizadas para a avaliação destas propriedades são denominadas micromeríticas, e referem-se à ciência que investiga características como forma das partículas, diâmetro, distribuição de tamanho, densidade, área superficial, carga superficial, entre outras. A partir das análises micromeríticas, parâmetros como o Índice de Carr e Fator de Hausner podem ser calculados e o comportamento do excipiente e/ou granel, frente a algumas condições de manufatura, podem ser previstos (Brittain, 1995; Pifferi *et al.*, 1999; Pifferi & Restani, 2003; Sinko, 2006; Amidon *et al.*, 2007; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007).

As propriedades de fluxo, compressão e consolidação variam, principalmente, conforme a natureza do material e seu comportamento frente às deformações sofridas durante a compactação, que ocorre sob confinamento do granel na matriz. A maioria dos polímeros de uso farmacêutico é dúctil e a força de compressão máxima é superior ao limite de escoamento, mas inferior à fragmentação, permitindo deformação sem fratura. O tempo de compressão, a velocidade de aplicação da força de compressão e a própria força empregada no processo, influenciarão na resistência

do material à deformação. Por outro lado, a capacidade de fluir livremente, boa coesividade e boa lubrificação do granel são atributos que, mesmo não afetando os perfis de deformação, interferirão no processo de compactação e na qualidade do produto acabado. Todos estes aspectos contribuem para a eficácia terapêutica do medicamento, pois são avaliados direta ou indiretamente antes da liberação do produto final para comercialização (Ebba *et al.*, 2001; Bolhuis *et al.*, 2003).

Na maioria das vezes, respostas terapêuticas eficazes e seguras são conseguidas administrando-se medicamentos convencionais ou de liberação imediata. Outras vezes, o regime terapêutico ideal requer a administração de um sistema de liberação capaz de prolongar o tempo de cedência do fármaco no organismo, sustentar sua concentração plasmática e controlar a localização temporal e espacial das moléculas *in vivo*, por meio da aplicação de princípios biológicos e químicos (Swarbrick, 2007). Desta forma, alterações cíclicas na concentração são eliminadas e a disponibilidade biológica do fármaco é aumentada. Também, pode ser conseguida redução da toxicidade, supressão de reações adversas e diminuição do número de doses administradas diariamente (Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007). Nos sistemas de liberação de fármacos (SLFs) administrados pela via oral os polímeros são incorporados visando diferentes funções, tais como mascarar odor e sabor desagradáveis do fármaco, proteger o ativo de condições agressivas do meio ambiente e/ou do microambiente fisiológico, auxiliar no processo produtivo e, principalmente, modular a liberação do princípio ativo (Villanova *et al.*, 2010).

Genericamente, os medicamentos orais sólidos de liberação modificada podem apresentar liberação retardada ou prolongada do fármaco. Estes, por sua vez, podem ser fundamentadas em sistemas ditos matriciais, reservatórios, osmóticos, gastrorretensivos e mucoadesivos, dentre outros (Li & Jasti, 2006). Os principais utilizados são os reservatórios e os matriciais. Sistemas reservatórios consistem de

núcleos contendo o fármaco, revestidos por polímeros semipermeáveis, que controlam a entrada do meio e a difusão do fármaco dissolvido (Wen & Park, 2010). Sistemas de bombas osmóticas podem ser classificados como reservatórios, nos quais um polímero osmótico controla a saída do fármaco dissolvido por um orifício feito a *laser* no comprimido (Conley *et al.*, 2006). Já nas matrizes, o fármaco encontra-se disperso no polímero e o controle da liberação ocorre por um ou mais dos seguintes mecanismos: difusão, dissolução, hidratação, erosão e/ou degradação. Os sistemas matriciais podem ser monolíticos (comprimidos) ou particulados (minicomprimidos, grânulos ou *pellets*, incorporados em comprimidos ou cápsulas), porosos ou não porosos (Khan, 2001; Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Pezzini *et al.*, 2007; Swarbrick, 2007; Siepmann & Siepmann, 2008; Wen & Park, 2010).

Uma das possíveis classificações para as matrizes baseia-se no tipo de polímero a partir das quais as mesmas são preparadas. Os polímeros empregados podem ser insolúveis e inertes, insolúveis e erodíveis ou hidrofílicos. Matrizes hidrofílicas de intumescimento limitado ou ilimitado fundamentam-se em polímeros hidrofílicos que sofrem alterações em presença da água ou meio fisiológico, ocorrendo relaxamento das cadeias, com pequena ou grande expansão do volume. A liberação do fármaco se dá pelos mecanismos de difusão e/ou degradação/erosão da camada gelificada. Em alguns casos, ao final do ensaio, um núcleo gelificado pode ser recuperado. Já as matrizes inertes são aquelas obtidas a partir de polímeros que não se alteram (ou sofrem pequenas alterações) em contato com os fluidos biológicos, nomeados polímeros insolúveis erodíveis ou polímeros inertes. A matriz pode ser porosa ou não, porém, durante o trânsito ao longo do TGI, não sofre erosão e seu “esqueleto” permanece intacto, podendo ser recuperado após o ensaio de dissolução. Além de polímeros inertes, excipientes hidrofóbicos como as ceras, podem ser utilizados no preparo de matrizes inertes. O mecanismo que controla a liberação dos fármacos é a

entrada de fluido pelos poros das matrizes, dissolução do fármaco e difusão ou percolação da solução contendo o fármaco dissolvido. Como estas matrizes possuem canais contínuos devido à porosidade, a teoria da percolação pode ser associada ao modelo de Higuchi para explicar a liberação de fármacos (Caraballo *et al.*, 1993; Manadas *et al.*, 2002; Reza *et al.*, 2003; Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007; Wen & Park, 2010).

A grande maioria dos medicamentos disponíveis comercialmente emprega a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e outros derivados da celulose, como agentes formadores da matriz. Os derivados da celulose apresentam baixo custo, facilidade de fabricação, oferecem pequeno risco de liberação da dose total de fármaco (efeito *dose dumping*), propiciam cinética de liberação apropriada e já são extensivamente estudados. Todavia, o mecanismo que controla a liberação nestes sistemas é a gelificação da HPMC, mecanismo nem sempre ideal para modular, apropriadamente, a liberação de fármacos muito solúveis. Muitas vezes, grandes quantidades de HPMC são necessárias. Outro problema é que a HPMC não possui características de fluxo e compressão adequados à compressão direta e a preparação de grânulos, pela via úmida, pode gerar partículas rígidas (Ke *et al.*, 2006). Neste contexto, o uso de diferentes tipos de polímeros derivados dos ácidos acrílico e metacrílico, que originam monômeros altamente versáteis, é uma alternativa ao uso dos derivados da celulose (Dittgen & Durrani, 2007).

Contudo, grande parte dos acrílicos comercialmente disponíveis apresenta-se na forma de dispersões aquosas ou orgânicas, com baixo conteúdo em sólidos. Tal fato torna o uso da compressão pelas vias direta e úmida, um procedimento trabalhoso (Villanova, 2001; Ojoe *et al.*, 2005). Assim, a preparação de polímeros fundamentados em monômeros acrílicos e metacrílicos, obtidos na forma sólida, pode



ser de particular interesse para o desenvolvimento de matrizes, pela via de compressão direta.

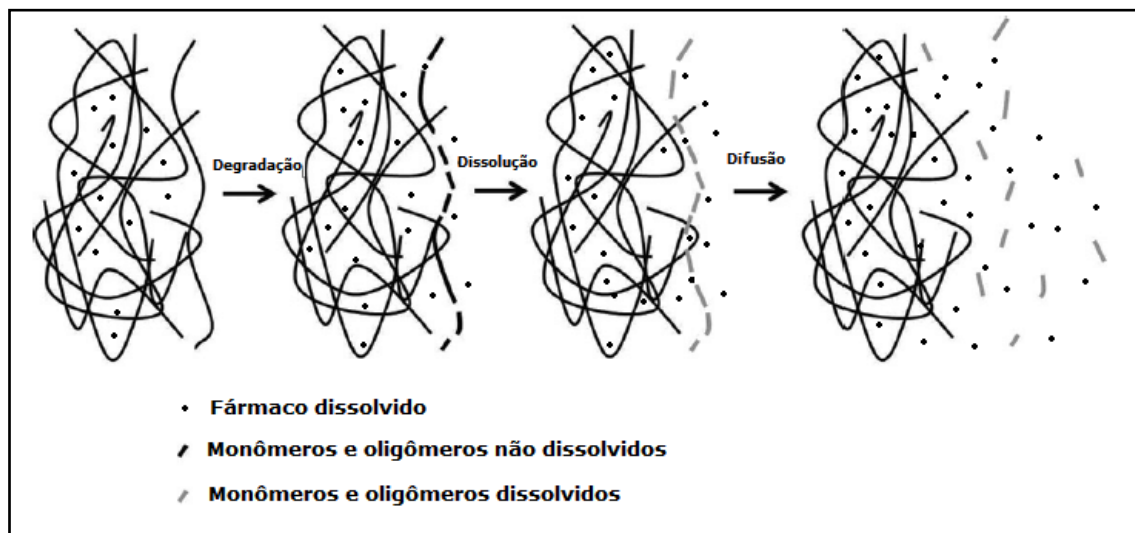
### **3.2 Avaliação da cinética de liberação**

O conhecimento dos fatores responsáveis pelas variações no tempo e na reprodutibilidade da liberação de fármacos, a partir da sua forma farmacêutica, é um parâmetro que contribui para a predição da eficácia e segurança farmacológica dos tratamentos, colaborando para solucionar problemas relativos à biodisponibilidade dos fármacos a partir das formas farmacêuticas desenvolvidas. Para tal, o estudo da cinética de dissolução é etapa fundamental do desenvolvimento farmacotécnico de preparações orais sólidas de liberação modificada (Siepmann & Siepmann, 2008; Wen & Park, 2010; Frenning, 2011).

As ferramentas empregadas nos estudos cinéticos podem ser subdivididas em duas categorias: 1. modelos de difusão, cujo mecanismo de transporte do fármaco é a difusão apresentando componentes de degradação; e, 2. modelos que combinam a difusão com teorias como erosão, dissolução, percolação, entre outros. Os primeiros envolvem equações matemáticas simples, suficientes para representarem perfis monofásicos. Já os segundos, envolvem equações complexas, úteis na descrição de modelos multifásicos, como as representadas na Figura 3.4 (Chen *et al.*, 2010; Sackett & Narasimhan, 2010; Lao *et al.*, 2011; Xiang & McHugh, 2011).

Os modelos matemáticos para a cinética de dissolução, aplicados *in silico*, são uma alternativa para a otimização de formulações, pois, oferecem informações a respeito do transporte de massas envolvido na liberação de fármacos considerando fatores como geometria, tipo de polímero, porosidade, entre outros fatores. Os modelos mais simples e estudados no presente trabalho foram aqueles de Ordem

Zero, Ordem Um, Higuchi e Korsmeyer-Peppas. De modo simplificado, para cada fórmula podem ser traçadas curvas dos modelos propostos que são avaliadas por regressão linear, empregando *software* EXCEL. Aquela que apresentar o fator de correlação de Pearson ( $r$ ) mais próximo de 1 representa o modelo que melhor descreve a cinética de liberação do ativo.



**Figura 3.4.** Processos de erosão, degradação, dissolução e difusão em matrizes poliméricas.

A descrição de alguns dos principais modelos matemáticos que expressam a cinética do processo de liberação de fármacos é fornecida a seguir:

**Cinética de ordem zero:** obtida quando existe relação linear entre a quantidade dissolvida do fármaco e o tempo. É alcançada, geralmente, por formas farmacêuticas sólidas de liberação modificada (Siepmann & Peppas, 2001; Manadas *et al.*, 2002; Allen *et al.*, 2005; Swarbrick, 2007). Pode ser expressa do seguinte modo:

$$Q_t = K \cdot t \quad \text{[Equação 3.1]}$$

onde,

$Q_t$  = quantidade dissolvida de fármaco no tempo  $t$ ;

K = constante de proporcionalidade;

t = intervalo de tempo.

**Cinética de ordem 1:** obtida quando há relação linear entre o logaritmo da quantidade de fármaco não dissolvida e o tempo. Geralmente obedecida por formas farmacêuticas de pronta liberação e/ou liberação modificada (Siepmann & Peppas, 2001; Manadas *et al.*, 2002; Allen *et al.*, 2005; Swarbrick, 2007). Pode ser representada pela equação:

$$\text{LogN} = K \cdot t \quad [\text{Equação 3.2}]$$

onde,

LogN = logaritmo neperiano;

m = massa da substância;

K = constante de proporcionalidade;

t = intervalo de tempo.

**Modelo de Higuchi (pseudo ordem zero):** modelo que consiste na relação linear entre a quantidade de fármaco dissolvida e a raiz quadrada do tempo ( $\sqrt{t}$ ). Aplicado às preparações farmacêuticas sólidas de liberação modificada nas quais a dissolução do fármaco segue o processo de difusão controlada (Siepmann & Peppas, 2001; Manadas *et al.*, 2002; Allen *et al.*, 2005; Swarbrick, 2007). A equação é a seguinte:

$$Q_t = K \cdot S \cdot t^{1/2} \quad [\text{Equação 3.3}]$$

onde,

$Q_t$  = quantidade de fármaco liberado;

S = área superficial do comprimido e t = tempo.

**Modelo de Korsmeyer-Peppas:** pode ser previsto a partir da relação entre o logaritmo neperiano do tempo versus o logaritmo neperiano da relação entre a quantidade absoluta de fármaco liberada no tempo t ( $M_t$ ) é a quantidade total de fármaco liberado num tempo infinito (quantidade inicial de fármaco no comprimido- $M_\infty$ ). Geralmente usado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possa estar envolvido mais de um tipo de liberação. Dado pela equação:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n$$

[Equação 3.4]

onde,

$M_t$  = quantidade absoluta de fármaco liberada no tempo t;

$M_\infty$  = quantidade total de fármaco liberado num tempo infinito;

K = uma constante cinética; e,

n = expoente de liberação.

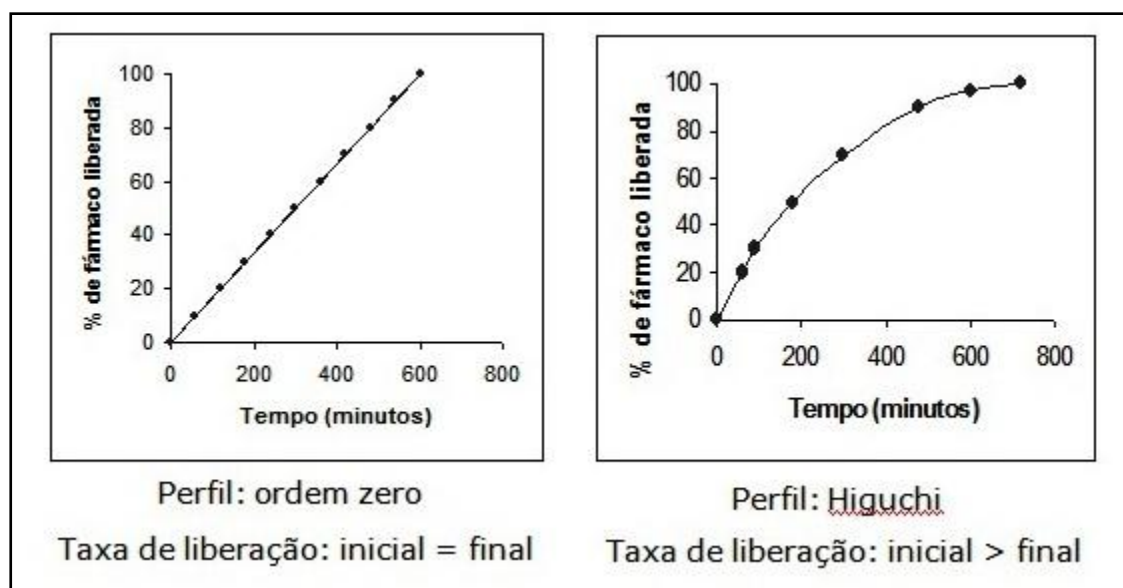
Este último, consoante o valor que assume, caracteriza o mecanismo de liberação. Os valores de n para diferentes formas geométricas e os respectivos mecanismos de liberação são apresentados na Tabela 3.1. O modelo descreve a liberação do fármaco a partir de um sistema polimérico e pode ser utilizado para analisar os primeiros 60% de fármaco liberados, a partir da curva onde a liberação é linear (Peppas, 1985; Siepmann & Peppas, 2001; Grassi & Grassi, 2005; Siepmann & Peppas, 2008).

Uma resposta terapêutica adequada é obtida quando níveis plasmáticos apropriados do fármaco são alcançados e se mantêm dentro da janela terapêutica, com um mínimo de flutuações. Produtos de liberação sustentada são capazes de promover níveis de fármaco adequados e constantes no organismo. A situação ideal de liberação seria aquela na qual o fármaco é liberado do sistema matricial a uma velocidade mantida constante do início ao fim: modelo cinético de ordem zero (Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007).

**TABELA 3.1.** Expoente  $n$  de Korsmeyer-Peppas e mecanismos de liberação

| Expoente $n$  |                   |                   | Mecanismo de liberação |
|---------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| Filme fino    | Cilindro          | Esfera            |                        |
| $< 0,5$       | $< 0,45$          | $< 0,43$          | Difusão Fickiana       |
| $0,5 < n < 1$ | $0,45 < n < 0,89$ | $0,43 < n < 0,85$ | Transporte anômalo     |
| $> 1$         | $> 0,89$          | $> 0,85$          | Transporte Caso II     |

Na Figura 3.5 é feita uma comparação entre os perfis de liberação pelo modelo de Higuchi e o de ordem zero, que pode ser considerado o ideal.



**Figura 3.5.** Comparação entre os modelos de Ordem Zero e Higuchi (Adaptado de Villanova, 2001).

### **3.3. Obtenção de excipientes acrílicos visando à preparação de matrizes inertes por compressão direta**

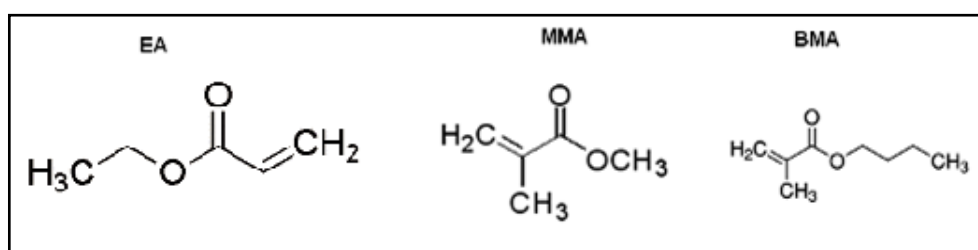
É cada vez maior, na literatura farmacêutica, o número de artigos que relatam pesquisas voltadas para o estudo de excipientes farmacêuticos destinados à preparação de sistemas de liberação modificada de fármacos (Parojčić *et al.*, 2004; Varma *et al.*, 2004; Ishikawa *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2005; Akhgari, 2006; Hamman & Tarirai, 2006; Bhimte & Tayade, 2007; Jain *et al.*, 2007; Chen, 2008; Siepmann *et al.*, 2008; Souto-Maior *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009; Tadros, 2009; Builders *et al.*, 2010).

Como mencionado anteriormente, a maioria dos copolímeros sintéticos empregada na preparação de comprimidos matriciais visando liberação prolongada de fármacos é baseada nos monômeros acrílicos e metacrílicos. Estes últimos são moléculas altamente reativas e versáteis, já que podem interagir entre si e com outras moléculas, originando polímeros e copolímeros com propriedades físicas e químicas adequadas à dada necessidade (Dittgen *et al.*, 1997; Khan & Reddy, 1997; Mark, 2003; Sinko, 2006; Uchegbu & Schatzlein, 2006).

Grande parte dos polímeros acrílicos disponíveis no mercado é destinada ao revestimento de comprimidos, técnica trabalhosa, que envolve grande número de etapas, excipientes e, em alguns casos, o uso de solventes orgânicos (Wu & McGinity, 2003; Zheng & McGinity, 2003; Dashevsky, 2004). Ainda, excipientes acrílicos disponíveis para a preparação de sistemas matriciais, comercialmente disponíveis, caracterizam-se por serem dispersões com baixo teor em sólidos (cerca de 40%), o que leva à necessidade de utilizar a técnica de granulação por via úmida, nem sempre com sucesso, já que há a necessidade do uso de grande quantidade do polímero, inviabilizando a preparação (Villanova, 2001; Ojoe *et al.*, 2005). Tais dificuldades

justificam o interesse na produção de excipientes poliméricos na forma sólida destinados à preparação de matrizes inertes por compressão direta.

Para a produção dos excipientes, a escolha dos monômeros fundamentou-se no conhecimento da composição das dispersões poliméricas de uso farmacêutico disponíveis comercialmente, uma vez que as monografias dos mesmos encontram-se inscritas nas Farmacopeias (USP, 2009; *British Pharmacopoeia*, 2009). Os monômeros escolhidos foram o acrilato de etila (EA), metacrilato de metila (MMA) e metacrilato de butila (BMA), cujas estruturas químicas são apresentadas Figura 3.6.



**Figura 3.6.** Estrutura química do EA, MMA e BMA.

O acrilato de etila (EA) é um monômero acrílico que se apresenta como líquido claro, incolor, volátil e com odor ácido característico. A massa molar do EA é igual a 100,12 (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>). O EA é muito pouco solúvel em água (1,5 g/100 mL), solúvel em clorofórmio e etanol. Já o metacrilato de metila (MMA), é um monômero metacrílico encontrado na forma de líquido incolor, volátil, com odor característico e massa molar igual a 100,12 (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>). Sua solubilidade em água é de 1,6 g/100 mL, sendo solúvel na maioria dos solventes orgânicos. O metacrilato de butila (BMA) caracteriza-se por ser um monômero metacrílico líquido, incolor, que possui odor adocicado, característico de ésteres. Sua fórmula molecular é C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> e sua massa molar é 142,20. Como os demais ésteres acrílicos e metacrílicos, é muito pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos. O EA, o MMA e o BMA polimerizam-se rapidamente, sendo a reação iniciada e acelerada pela presença de aquecimento, luz e

peróxidos. Quimicamente, a diferença entre os monômeros reside na presença do grupo metila ( $\text{CH}_3$ ) ligado ao carbono que contém a dupla ligação (MMA) e pela presença do grupo butila ligado ao oxigênio do éster (BMA). Os monômeros acrílicos e metacrílicos apresentam diferentes propriedades físico-químicas, entre elas, as temperaturas de transição vítrea.

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é o valor médio de temperatura acima da qual ocorrerá mobilidade das cadeias macromoleculares, durante o processo de aquecimento. Para o homopolímero EA, a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é de  $-22^\circ\text{C}$ . Para o homopolímero BMA a  $T_g$  relatada é de  $20^\circ\text{C}$  e, para o homopolímero MMA, a  $T_g$  é de  $104^\circ\text{C}$ . Monômeros que geram polímeros com  $T_g$  elevada, tais como o MMA, tendem a aumentar a rigidez do material obtido enquanto que, monômeros que dão origem a polímeros com  $T_g$  reduzida, como o BMA e o EA, contribuem para o aumento da flexibilidade e da maciez do polímero formado. Portanto, a variação entre a proporção dos mesmos permite a obtenção de materiais com propriedades adequadas a cada aplicação.

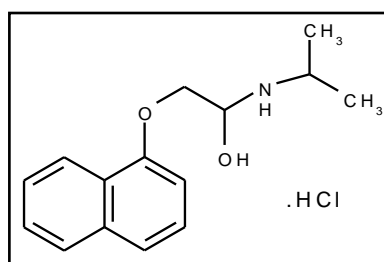
Em decorrência dos avanços no desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, inclusive de formas farmacêuticas sólidas orais, os excipientes devem ser idealizados para exercerem funções específicas nas formulações, tais como, melhorar a biodisponibilidade do fármaco, aumentar a estabilidade do produto final e otimizar as características de manufaturabilidade dos medicamentos (Pifferi & Restani, 2003; Gohel & Jogani, 2005; Hamman & Tarirai, 2006; Amidon *et al.*, 2007; Gonnissen *et al.*, 2007; Beneke *et al.*, 2009).

Neste contexto, o objetivo principal da presente Tese foi o desenvolvimento de excipientes baseados em monômeros acrílicos e metacrílicos (altamente reativos), na forma sólida, com capacidade para modular a liberação do fármaco e, ao mesmo



tempo, com características adequadas à compressão pela via direta. Os excipientes poliméricos foram obtidos pelas técnicas de polimerização em suspensão em emulsão. A partir dos copolímeros obtidos nos Capítulos 4, 5 e 6, foram preparadas matrizes inertes, utilizando a compressão pela via direta. Posteriormente, os comprimidos matriciais obtidos foram submetidos aos ensaios físicos de peso médio, dureza e friabilidade. A liberação do fármaco foi avaliada *in vitro*, por meio da obtenção dos perfis de dissolução e estudos da cinética de dissolução. As análises dos resultados permitiram decidir se, nas condições de fabricação, os excipientes sintetizados foram aptos à formação de matrizes adequadas utilizando um fármaco modelo.

O fármaco modelo eleito para os estudos de dissolução foi o cloridrato de propranolol (1-isopropilamino-3-(1-naftiloxi)-2-propanol), que se apresenta como pó branco ou quase branco, cristalino, inodoro, com sabor amargo, não higroscópico, estável ao calor e instável à luz. Sua massa molar é de 295, 81 g e sua fórmula molecular é  $C_{16}H_{21}NO_2$ . O fármaco é solúvel em água (1:30) e, em soluções aquosas, decompõe-se por oxidação da cadeia isopropilamina (*British Pharmacopoeia*, 2009; USP, 2009). A estrutura química do fármaco é dada na Figura 3.7.



**Figura 3.7.** Estrutura química do cloridrato de propranolol.

O cloridrato de propranolol (PHCl) é um  $\beta$ -bloqueador adrenérgico, utilizado no tratamento da hipertensão e *angina pectoris*. É um fármaco pertencente ao grupo I do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (alta solubilidade e alta permeabilidade). Sua biodisponibilidade oral é de, aproximadamente,  $26 \pm 10\%$  e sua meia-vida

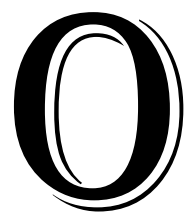
plasmática ( $t_{1/2}$ ) é de  $3,4 \pm 1,3$  horas. Neste contexto, o PHCl foi escolhido por apresentar  $t_{1/2}$  relativamente curta, sofrer considerável efeito de primeira passagem e ser solúvel em água, o que requer a administração de doses diárias frequentes. Assim, a incorporação do PHCl em comprimidos de liberação prolongada representa um real desafio para os formuladores (Martindale, 2007; Patel *et al.*, 2010).

## CAPÍTULO 4

---

**Obtenção e caracterização de *beads* por polimerização em suspensão e  
preparação de matrizes por compressão direta**

#### 4.1. Polimerização em suspensão



O objetivo principal do presente Capítulo foi desenvolver um excipiente acrílico, na forma sólida, a ser utilizado na preparação de comprimidos matriciais por compressão direta. A técnica escolhida para a preparação do excipiente, em escala laboratorial, foi a polimerização em suspensão, método que fornece copolímeros no estado sólido, na forma de pérolas (esferas ou *beads*). Na técnica, um monômero ou uma mistura de monômeros é dispersa, por agitação mecânica forte, formando gotículas suspensas em uma segunda fase, na qual polímeros e monômeros são insolúveis. O início do processo envolve a geração de radicais livres, ocorrendo na gota de monômero, onde iniciadores ou catalisadores são solúveis. A quantidade usual do iniciador varia de 0,1 a 0,5%p/p em relação à massa dos monômeros. As gotas de monômeros e polímeros sofrem dispersão na fase aquosa mediante ajuda de agentes suspensores (estabilizantes). A estabilidade pode ser alcançada por diferentes mecanismos, entre eles, por estabilização estérea e/ou estabilização eletrostática (Yuan *et al.*, 1991; Downding & Vincent, 2000; Santos *et al.*, 2008).

O processo de polimerização em suspensão apresenta inúmeras vantagens quando comparada aos processos de polimerização em solução ou emulsão. A remoção de calor e consequente controle eficiente da temperatura durante a reação, devido à baixa viscosidade do meio, é uma das principais. As partículas formadas na polimerização em suspensão são esféricas, podendo apresentar diferentes tamanhos. Além disso, o produto final tem elevada pureza e a separação é simples, podendo ser feita por filtração e/ou sedimentação. Outra vantagem é que a polimerização ocorre com altas taxas de conversão dos monômeros. Por último, a polimerização em suspensão é mais rápida, envolve menos etapas e com custo mais baixo se

comparada a outros métodos (Yuan *et al.*, 1991; Dowding & Vincent, 2000; Hashim & Brooks, 2002; Hashim & Brooks, 2004).

A principal dificuldade da técnica de polimerização em suspensão é a tendência ao aumento da viscosidade no sistema e aglomeração das esferas. Em consequência, o controle do tamanho e distribuição das partículas é prejudicado. Tais problemas podem ser contornados pelo ajuste de parâmetros da reação como: velocidade de agitação, temperatura da reação, tipo de reator e composição do sistema (Maggioris *et al.*, 2000; Dowding & Vincent, 2000; Kichatov *et al.*, 2003; Hashim & Brooks, 2004; Jahanzad *et al.*, 2005; Kotoulas & Kiparissides, 2006; Alexopoulos & Kiparissides, 2007; Jahanzad *et al.*, 2008).

A alternativa mais estudada para contornar tais problemas é a introdução de agentes estabilizantes hidrossolúveis na formulação, que atuam como protetores coloidais. Inúmeros são os estabilizantes empregados no processo, cabendo destacar o uso do poli(álcool vinílico), da poli(vinil pirrolidona), do poli(ácido acrílico), de argilas, de gomas naturais e de éteres derivados da celulose, tais como a hidroxipropilmetilcelulose e a celulose microcristalina (CMC) (He *et al.*, 2002; Jahanzada *et al.*, 2005; Georgiadou & Brooks, 2006; Guerrero-Sanchez *et al.*, 2006). Efeito dispersante similar pode ser obtido pela adição de partículas inorgânicas insolúveis, finamente divididas, tais como a sílica, a laponita, a montmorilonita, carbonatos e óxidos nanoparticulados, entre outros (Voorn *et al.*, 2006; Morishita & Kawaguchi, 2009; Wang *et al.*, 2009; Bachinger & Kickelbick, 2010; Ma *et al.*, 2010).

Neste sentido, o objetivo secundário do trabalho foi estudar a adição de um novo agente estabilizante, nomeadamente, as nanofibras de celulose, na tentativa de obter *beads* com menor tamanho de partícula e distribuição granulométrica uniforme. Partículas preparadas a partir da celulose ou seus derivados, com tamanho igual ou

menor a 100 nm, são denominados *nanowhiskers* de celulose (NWCs) ou nanofibras de celulose. As nanofibras de celulose possuem inúmeras vantagens em relação a outros materiais nanoestruturados, como facilidade no processo de obtenção, baixo custo da matéria-prima e características diversificadas em função do substrato natural de origem (Silva *et al.*, 2009; Mesquita *et al.*, 2010). Desde a década de 90, há um crescente interesse no uso das *nanowhiskers* na preparação de nanocompósitos de matrizes poliméricas devido, principalmente, à sua grande área superficial, baixa densidade e biodegradabilidade em condições específicas. Outro motivo é a abundância do material de partida a partir de fontes renováveis, inclusive, a partir da CMC (Petersson *et al.*, 2007; Capadona *et al.*, 2009, Kumar *et al.*, 2009; Petersson *et al.*, 2009; Qi *et al.*, 2009; Dufresne, 2010). Pei e colaboradores (2010) empregaram nanofibras de celulose, parcialmente modificadas com silanóis, como agentes de nucleação para melhorar as características de cristalização do poli(ácido láctico) (PLA). Os autores concluíram que o método foi eficiente no aumento da densidade de nucleação e taxa de cristalização do PLA.

O Capítulo foi dividido em três etapas. Na primeira, foi proposta a obtenção de *beads* a partir de monômeros acrílicos, visando obter um excipiente inerte a ser testado na preparação de comprimidos matriciais de liberação prolongada. Foram empregadas as nanofibras de celulose como agentes estabilizantes, na tentativa de controlar o tamanho e a distribuição do tamanho dos *beads*, uma vez que excipientes diretamente compressíveis devem apresentar fluxo livre e boa compressibilidade, características que podem ser controladas, dentre outros fatores, pelo tamanho e esfericidade das partículas. Na segunda fase, os *beads* obtidos foram caracterizados do ponto de vista químico e foram realizados ensaios físicos, de caráter farmacêutico, que permitiram avaliar a aplicabilidade do material como excipiente farmacêutico. Ainda nesta etapa, foi feita a avaliação preliminar da citotoxicidade *in vitro* das

amostras obtidas, empregando o ensaio de MTT. Por último, o excipiente foi utilizado na preparação de comprimidos matriciais contendo cloridrato de propranolol. A liberação do fármaco foi estudada por meio da obtenção de perfis de dissolução, de acordo com metodologia adaptada da *United States Pharmacopeia* (USP) 32<sup>th</sup> edição e os comprimidos foram avaliados mediante especificações com relação ao peso médio, dureza e friabilidade.

## 4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.2.1. MATERIAIS

#### 4.2.1.1. Reagentes

- Acrilato de etila - *Aldrich*
- Metacrilato de metila - *Aldrich*
- Metacrilato de butila - *Aldrich*
- Poli(ácido acrílico) - *Aldrich*
- Peróxido de benzoíla - *Vetec*
- Sulfato de sódio - *Synth*
- Celulose nanocristalina. As nanofibras de celulose foram produzidas pelo Laboratório de Físico-Química da UFMG
- Cloridrato de propranolol (PHCl). Lote: PR07091F12. Validade: 08/2012. Fornecedor: *Attivos Magistrais*. Teor: 101,09% (Laudo de Análise) (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Cloridrato de propranolol (PHCl) - Substância Química de Referência (SQR). Lote: 1005 (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Celulose microcristalina PH 102 (Comprecel<sup>®</sup>). Lote: C0910038. Validade: 10/2012. Fornecedor: *Valdequímica*. (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Dióxido de silício coloidal (Aerosil<sup>®</sup>) - *Aldrich*
- Cloreto de sódio Grau Reagente - *Synth*
- Ácido clorídrico Grau Reagente - *Synth*
- Ácido cítrico monoidratado Grau Reagente - *Synth*
- Fosfato de sódio dibásico anidro Grau Reagente - *Synth*
- [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólico] (MTT) - *Aldrich*



- Meio de cultura *Eagle* modificado (DMEM) – *Gibco*
- Solução salina fosfato tamponada (PBS) – *Gibco*
- Soro fetal bovino (SFB) – *Gibco*

#### 4.2.1.2. Equipamentos

- Balança analítica *Bioprecisa*, modelo FA2104N
- Agitador mecânico *Fisatom*, modelo 713 D
- Manta aquecedora *Fisatom*, modelo 102K
- Espectrofotômetro *Thermo Scientific*, modelo Nicolet Nexus 470
- Espectrofotômetro *ABB Bomen*, modelo MB102
- Sistema de Calorimetria Exploratória Diferencial *Shimadzu*, modelo DSC50
- Sistema de Análise Termogravimétrica *Shimadzu*, modelo DTG60
- Microscópio Eletrônico de Varredura *JEOL*, modelo JSM-5410
- Granulômetro a laser *CILAS*, modelo 1064
- Compactador automático (Volumeter *Tapped Density*) *Erweka*, modelo SVM 201
- Aparelho de escoamento (*Granulate Flow Tester*), *Erweka*, modelo GTB
- Prensa automática *CIOLA*, com matriz cilíndrica e punção de 11 mm
- Balança Analítica *Bel Engineering*, modelo Mark 210 A
- Durômetro digital portátil, *Nova Ética*, modelo 298/DGP
- Friabilômetro *Nova Ética*, modelo 300.1
- Aparelho de dissolução *Quimis*, modelo Q850 - 8 Provas
- Espectrofotômetro UV-VIS *Shimadzu*, modelo 1601 PC
- Espectrofotômetro *Anthos Labtec Instruments*, modelo ADAP 1.6

## 4.2.2. MÉTODOS

### 4.2.2.1. Preparação dos *beads* por polimerização em suspensão

Os monômeros usados foram o EA, MMA e o BMA, empregados sem purificação prévia. O peróxido de benzoíla (PB) foi usado como iniciador, na quantidade de 0,6% em relação à massa dos monômeros. Um excesso de PB foi utilizado, uma vez que sua meia-vida diminui com o aumento da temperatura (cerca de 3,8 horas a 80° C e de 1,2 horas a 90° C), podendo ter sua eficácia reduzida. O poli(ácido acrílico) foi usado com função estabilizante. As nanofibras de celulose foram utilizadas com o intuito de auxiliarem na estabilização do sistema, atuando como coestabilizantes. Os componentes da preparação encontram-se descritos na Tabela 4.1.

Para a realização da síntese foi empregado um balão de 250 mL, tritubulado, equipado com um agitador mecânico digital, um termômetro e um sistema de entrada de nitrogênio, para controle do microambiente de polimerização. Uma manta de aquecimento/resfriamento foi empregada para controlar a temperatura durante a polimerização.

Para a preparação dos *beads* puros (denominados BPs), parte do poli(ácido acrílico) e o sulfato de sódio foram pesados, dissolvidos na água purificada e adicionados ao reator. Separadamente, o PB foi pesado e dissolvido na mistura dos monômeros (BMA, MMA e EA), que foi adicionada ao reator. O aquecimento foi iniciado até alcance de temperatura estável e constante, entre 75 e 78° C. Agitação mecânica intensa foi mantida (750 rpm) durante 75 minutos, tempo após o qual foi adicionado o restante do poli(ácido acrílico) previamente solubilizado em 5 mL de água purificada. A temperatura foi ajustada para 90° C e a agitação continuou por mais 90 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, foram adicionados 0,14 mL de peróxido de hidrogênio para o consumo de monômeros residuais. Os

*beads* assim obtidos foram lavados, sob vácuo, com água em abundância e deixados no dessecador até secagem total. Dispersão aquosa a 0,6%p/V dos NWCs foi previamente preparada e, quando utilizada, foi adicionada ao reator, no início do processo. *Beads* contendo nanocristais de celulose foram designados BNWCs.

**TABELA 4.1.** Composição dos sistemas em suspensão

| <b>Componentes</b>   | <b>BP</b> | <b>BNWC</b> |
|----------------------|-----------|-------------|
| Água purificada      | 60,00 mL  | 60,00 mL    |
| Poli(ácido acrílico) | 0,20 g    | 0,20 g      |
| Sulfato de sódio     | 0,20 g    | 0,20 g      |
| BMA                  | 24,00 g   | 24,00 g     |
| MMA                  | 8,00 g    | 8,00 g      |
| EA                   | 8,00 g    | 8,00 g      |
| Peróxido de benzoíla | 0,20 g    | 0,20 g      |
| NWCs                 | -         | 0,04 g      |

BP = *beads* puros; BNWC = *beads* contendo *nanowhiskers* de celulose.

A proporção de monômeros que propiciou as melhores condições de polimerização foi 60:20:20 (BMA:MMA:EA). Foi testada, inicialmente, a adição de 1% de NWCs, o que inviabilizou a polimerização, causando aglomeração no sistema. Redução da quantidade para 0,1% em massa de monômeros mostrou ser ideal, originando *beads* esféricos, transparentes e isentos de aglomeração.

#### **4.2.2.2. Caracterização dos *beads***

##### **4.2.2.2.1. Análises espectrofotométricas**

Os espectros FTIR dos monômeros foram obtidos em espectrômetro *Thermo Scientific Nicolet 6700*, no modo de absorção, com resolução melhor que  $4\text{ cm}^{-1}$ , adquiridos com 64 acumulações, sob purga de nitrogênio seco. As amostras foram analisadas utilizando placas de  $\text{CaF}_2$ . Para avaliação dos *beads*, os mesmos foram previamente dissolvidos em tetraidrofurano e foram preparados filmes por *casting*, com secagem a  $40^\circ\text{C}$ , por 24 horas. Espectros micro-FTIR-ATR, na região de  $650 - 4000\text{ cm}^{-1}$  foram obtidos, empregando-se microscópio Centaurus acoplado ao espectrofotômetro, utilizando cristal de germânio. Os espectros foram adquiridos com 64 acumulações, com resolução espectral melhor que  $4\text{ cm}^{-1}$ , sob purga de nitrogênio seco.

##### **4.2.2.2.2. Análises térmicas**

Para pesquisar os eventos térmicos nos copolímeros, análises termogravimétricas (TG, DTG e DTA) foram realizadas em aparelho Shimadzu DTG60, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de  $\text{N}_2$ , com fluxo de 100 mL por minuto e razão de aquecimento foi de  $10^\circ\text{C}$  por minuto. As análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram efetuadas em equipamento Shimadzu DSC50, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/minuto. Para todas as amostras, foram realizadas duas corridas: a primeira (isoterma de equilíbrio) foi feita entre as temperaturas de  $-10^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$ , com rampa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}$  por minuto. A segunda corrida foi realizada entre  $-10^\circ\text{C}$  e  $400^\circ\text{C}$ , com rampa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}$  por minuto.

##### **4.2.2.2.3. Análises micromeríticas**

Uma vez que os *beads* obtidos foram preparados visando aplicação como excipientes farmacêuticos, os mesmos foram submetidos a análises micromeríticas para estudo da

morfologia e granulometria, parâmetros determinantes para o sucesso da processabilidade de comprimidos.

### **Morfologia das partículas**

A morfologia dos *beads* foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para tal, as partículas foram recobertas com ouro e as imagens foram adquiridas em equipamento JEOL, modelo JSM-5410, com um potencial de aceleração de 10 kV.

### **Análise granulométrica**

Para determinação do tamanho médio das partículas e da distribuição granulométrica acumulada, foi empregada a análise por difração de raios *laser*, em granulômetro CILAS, modelo 1064. Para realização das análises, as amostras foram passadas em tamis, dispersas em água e submetidas a ultrassom por 60 segundos. A varredura foi realizada entre 1  $\mu\text{m}$  e 500  $\mu\text{m}$ . Foram calculados, pelo *software*, os valores da frequência da distribuição de tamanho ( $d_{10\%}$ ,  $d_{50\%}$  e  $d_{90\%}$ ). Tais valores referem-se à média dos diâmetros de partículas nos intervalos abaixo de 10%, 50% e 90% na curva de distribuição de tamanho. A partir destes dados, o índice de polidispersão (IP) para o tamanho das partículas foi definido, empregando a equação 4.1 (Torrado *et al.*, 1989; Khunawattanakul *et al.*, 2008):

$$\text{IP} = \frac{d_{90\%} - d_{10\%}}{d_{50\%}}$$

[Equação 4.1]

onde:

IP = índice de polidispersão;

$d_{90\%}$  = frequência de tamanho de 90% das partículas ( $\mu\text{m}$ );

$d_{50\%}$  = frequência de tamanho de 50% das partículas ( $\mu\text{m}$ );

$d_{10\%}$  = frequência de tamanho de 10% das partículas ( $\mu\text{m}$ ).

**Determinação da densidade aparente e da densidade compactada dos beads**

A densidade aparente e a densidade compactada do material foram medidas de modo indireto, através do volume aparente, conforme mencionado na *British Pharmacopoeia* (2009) e na USP (2009). Os testes foram realizados empregando um compactador automático *Erweka Volumeter Tapped*, modelo SVM. Para a densidade aparente, 60% do volume de uma proveta graduada de 100 mL foi preenchido. A massa referente ao volume ocupado (60 mL) foi pesada em balança analítica. A densidade aparente foi calculada empregando-se a Equação 4.2:

$$d_a = \frac{m}{V_a}$$

onde:

[Equação 4.2]

$d_a$  = densidade aparente (g/mL);

$m$  = massa (g);

$V_a$  = volume aparente (mL).

Para a densidade compactada, a proveta contendo a amostra foi acoplada ao volúmetro e o ciclo de batidas foi iniciado. O volume aparente foi anotado após 10 batidas ( $V_{10}$ ), 500 batidas ( $V_{500}$ ) e depois de 1250 batidas ( $V_{1250}$ ). Em casos onde a diferença entre  $V_{500}$  e  $V_{1250}$  foi maior que 2%, outro ciclo de 1250 batidas foi realizado. O procedimento se repetiu até obtenção de variação inferior a 2% (*British Pharmacopoeia*, 2009; USP, 2009). O volume compactado final foi o da última determinação, devendo ser calculado segundo a Equação 4.3:

$$d_c = \frac{m}{V_c}$$

[Equação 4.3]

onde:

 $d_c$  = densidade compactada (g/mL);

m = massa (g);

 $V_c$  = volume compactado final (mL).

A partir dos valores das densidades aparente e compactada, foram calculados o Índice de Compressibilidade percentual (IC%) e o Fator de Hausner (FH), empregando as Equações 4.4 e 4.5, respectivamente (Schüsselle & Bauer-Brandl, 2003; Swarbrick, 2007).

$$IC\% = \frac{d_c - d_a}{d_c} \times 100$$

onde:

[Equação 4.4]

IC = Índice de Compressibilidade (Índice de Carr);

 $d_c$  = densidade compactada (g/mL); $d_a$  = densidade aparente (g/mL).

$$FH = \frac{d_c}{d_a}$$

onde:

[Equação 4.5]

FH = Fator de Hausner;

 $d_c$  = densidade compactada (g/mL); $d_a$  = densidade aparente (g/mL).

Os índices de Carr e de Hausner constituem-se como medidas indiretas do fluxo e não a facilidade ou velocidade com que as partículas escoam. Para avaliar estes dois últimos parâmetros, pode-se determinar o tempo de escoamento e a cotangente do ângulo  $\alpha$ , consideradas medidas diretas do fluxo (Aulton, 2007; Alves *et al.*, 2008).

### **Análise da velocidade de escoamento e da cotangente de $\alpha$**

O fluxo do material foi determinado em aparelho *Erweka Granulate Flow Tester*, tipo GWF, a partir da medida do tempo de escoamento da amostra. Para realização do ensaio, foram pesados 44 g do material a ser analisado, que foi transferido para o funil de 12 mm, acoplado ao equipamento, no modo sem vibração. O orifício de escoamento do funil foi aberto e o tempo gasto para a massa escoar foi medido (Schüsselle & Bauer-Brandl, 2003). A cotangente do ângulo  $\alpha$  foi calculada a partir da Equação 4.6. Os parâmetros necessários à interpretação dos resultados obtidos através da análise da velocidade de escoamento são fornecidos na Tabela 4.2.

$$\text{Cotangente de } \alpha = \frac{\text{Tempo de escoamento (segundos)}}{\text{Quantidade de amostra que escoou (gramas)}}$$

[Equação 4.6]

**TABELA 4.2.** Características de fluxo dos sólidos particulados de acordo com o tempo de escoamento e a cotangente de  $\alpha$  (Sinko, 2006; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007)

| <b>Característica de fluxo</b> | <b>Tempo de escoamento (segundos)</b> | <b>Cotangente de <math>\alpha</math></b> |
|--------------------------------|---------------------------------------|--|
| Ótimo                          | $\leq 10$                             | $\leq 0,1$                               |
| Suficiente                     | $10 < t < 30$                         | $0,1 < \text{cotg } \alpha < 0,3$        |
| Ruim                           | $\geq 30$                             | $\geq 0,3$                               |



#### 4.2.2.2.4. Ensaios de viabilidade celular

Os ensaios de viabilidade foram realizados conforme metodologia descrita por Carvalho *et al.* (2009). Os testes foram realizados em culturas de fibroblastos gengivais humanos. Tecidos de gengiva livre foram desqueratinizados para eliminação de células epiteliais e, cortados com bisturi reto (2 mm/2 mm). Em cada poço das placas foram colocadas 3 amostras de tecidos, que foram cobertas com meio *Eagle* modificado (DMEM), contendo 10% de soro fetal bovino (SFB). Após a fixação das células no fundo dos poços, os pedaços de gengiva livre foram lavados, mediante troca do meio a cada três dias. Quando os fibroblastos gengivais atingiram confluência de 90%, foram tripsinizados e transferidos para frascos de cultura T25. Os fibroblastos gengivais humanos da terceira passagem foram plaqueados (concentração de  $1 \times 10^4$  células/mm<sup>3</sup> por poço), em placas de 24 poços. As populações celulares foram normalizadas com meio sem soro, durante 24 horas. Após esse período, o meio foi aspirado e trocado por meio contendo SFB. Aos poços foram adicionadas amostras dos materiais a serem testados, na quantidade de 10mg/mL. Os controles empregados foram: 1. células e meio DMEM com 10% de SFB; 2. células e meio DMEM sem SFB; 3. solução salina fosfato tamponada - PBS (controle positivo); 4. 10mg/mL de fio ortodôntico (controle negativo).

Após 24 horas todo o meio foi aspirado e foram colocados 210 µL de meio de cultura com soro em cada poço, aos quais foram acrescentados 170 µL de MTT (5mg/mL). As placas foram incubadas por 4 horas em estufa a 37° C e ambiente de 5% de CO<sub>2</sub>. Em seguida foram colocados 210 µL de solução de HCl a 4%p/V em isopropanol. Decorridos 10 minutos, foi retirada uma alíquota de 100 µL de cada poço e transferida para a placa de 96 poços plana. A quantificação foi feita em espectrofotômetro ADAP 1.6, com filtro de 595 nm.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata (n=3). A análise estatística foi realizada com o emprego do programa PRISM, One Way/ ANOVA/ Bonferroni (GraphPad, San Diego, CA), com nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4.2.2.2.5. Preparação dos comprimidos a partir dos BNWCs

Foram preparados 50 comprimidos de cada formulação, contendo 160 mg de PHCl, em escala laboratorial. As amostras de 1 a 4 (Tabela 4.3) foram obtidas por compressão direta. Inicialmente, os componentes foram pesados um a um, aplicando-se o fator de correção de 0,99 para corrigir o teor do PHCl. Fármaco e excipientes foram passados em tamis 80 *mesh* (180  $\mu\text{m}$ ). Os componentes foram transferidos para sacos plásticos e misturados, por agitação manual, durante 5 minutos. O Aerosil<sup>®</sup> foi adicionado e a agitação continuou por mais 1 minuto. Comprimidos de 500 mg foram obtidos a partir das misturas empregando prensa CIOLA, no modo automático, utilizando matriz cilíndrica e punção de 11 mm. A força de compressão utilizada foi de 60 KN. O tempo de compressão variou de 30 segundos a 2 minutos (Fórmulas 3 e 4).

**TABELA 4.3.** Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos

| <b>Componentes</b>        | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> |
|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Cloridrato de propranolol | 32       | 32       | 32       | 32       |
| BNWCs                     | 32       | 48       | 64       | 67       |
| Celulose microcristalina  | 35       | 19       | 3        | 0        |
| Aerosil <sup>®</sup>      | 1        | 1        | 1        | 1        |

\*Quantidades fornecidas em %p/p.

#### **4.2.2.2.6. Controle de qualidade das matérias-primas e obtenção da curva analítica do PHCI**

##### ***Identificação do cloridrato de propranolol por FTIR e UV***

O PHCI grau farmacêutico foi submetido ao ensaio de identificação por espectrofotometria na região do infravermelho, por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros foram obtidos em pastilhas de KBR, empregando espectrofotômetro *ABB Bomen*, modelo MB102, com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e 128 varreduras.

A técnica de espectrofotometria na região do UV também foi empregada. Foram preparadas soluções do PHCI na concentração de  $40\text{ }\mu\text{g/mL}$ , em diferentes meios: água, tampão pH 1,2 e tampão pH 6,8, e foram obtidos espectros utilizando equipamento *Perkin Elmer*, modelo Lambda EZ 210, entre 200 e 400 nm.

##### ***Pesquisa da possibilidade de interferência dos excipientes na quantificação do PHCI***

A possibilidade de ocorrência de interferências na quantificação do PHCI foi pesquisada por espectrofotometria na região do UV. Para tal, foram preparadas misturas físicas entre o PHCI e os agentes formadores de matrizes testados. As misturas foram dispersas em água, sonificadas por 15 minutos e centrifugadas. As leituras foram feitas em alíquotas do sobrenadante e foram obtidos espectros entre 200 e 400 nm. A proporção fármaco:excipiente foi de 1:1.

##### ***Obtenção da curva analítica do PHCI para quantificação do fármaco***

Para permitir a quantificação do fármaco a partir dos perfis de dissolução, foi traçada a curva analítica para o PHCI (SQR) em água, uma vez esta última foi o solvente

empregado durante as diluições realizadas nos ensaios de perfil de liberação. Foram pesados, rigorosamente, 100,00 mg de cloridrato de propranolol. O fármaco foi transferido para balão volumétrico de 100 mL e diluído em água Milli-Q®. A solução foi deixada em ultrassom por 15 minutos até completa solubilização do PHCl (solução A). Foram tomadas alíquotas da solução A, que foram diluídas em água obtendo-se soluções com intervalo de concentração do fármaco compreendido entre 20,00 e 80,00 µg/mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro, a 319 nm. Os resultados foram plotados em Excel 2007 e os dados foram tratados pelo método dos mínimos quadrados. Após linearização dos dados, foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) e a equação da reta.

#### **4.2.2.2.7. Avaliação dos comprimidos**

Os comprimidos contendo cloridrato de propranolol foram submetidos aos ensaios físicos de peso médio, dureza e friabilidade, de acordo com os métodos e especificações descritos na Farmacopeia Brasileira 4ª edição (1988). O perfil de liberação do fármaco, a partir das matrizes, foi avaliado conforme metodologia adaptada da *United States Pharmacopeia (Revision Bulletin, 2010)*.

#### ***Determinação de peso médio***

Foram pesados, individualmente, 20 comprimidos de cada formulação. Após determinação dos pesos individuais foram calculados o peso médio, o desvio padrão e o coeficiente de variação. Segundo a Farmacopeia Brasileira 4ª edição (1988) o limite de variação de peso aceitável para comprimidos acima de 250 mg é de  $\pm 5,0$  %. Porém, nenhuma unidade pode estar abaixo ou acima de 10% do valor nominal.

### ***Determinação da dureza***

Os comprimidos foram submetidos à ação de uma força mecânica em durômetro digital portátil (*Nova Ética*, modelo 298/DGP) para determinação da dureza, tendo sido testadas 20 unidades. Foram calculados o valor médio, desvio padrão e o coeficiente de variação. Conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 4ª edição, valores de dureza inferiores a 30 N são suficientes para reprovar o produto (Farmacopeia Brasileira, 1988).

### ***Determinação da friabilidade***

Foram pesadas 10 unidades de cada Fórmula que foram colocadas no Friabilômetro *Nova Ética*, modelo 300.1. Depois de efetuadas 100 rotações (5 minutos), os comprimidos foram retirados e os resíduos de pós, removidos. Os comprimidos foram novamente pesados e a friabilidade foi determinada pelo cálculo da diferença de peso, em porcentagem, entre a massa dos comprimidos antes e após o ensaio. São consideradas aceitáveis perdas cujos valores apresentaram-se inferiores a 1,5% do peso dos comprimidos (Farmacopeia Brasileira, 1988).

### ***Perfis de dissolução***

No presente trabalho, os ensaios de perfil de dissolução foram fundamentados nos métodos preconizados para cápsulas de liberação estendida contendo cloridrato de propranolol, revisados pela *United States Pharmacopeia (Revision Bulletin, 2010)*. Para tal, foram empregados tampão ácido pH 1,2 (2 g de cloreto de sódio e 7 mL de ácido clorídrico para cada 1000 mL de solução) e tampão fosfato pH 6,8 (21,72 g de fosfato de sódio bibásico anidro e 4,94 g de ácido cítrico monoidratado para cada 1000 mL de solução).

Os ensaios foram conduzidos empregando aparato cesta, mantendo-se constantes a temperatura ( $37 \pm 0,5^\circ \text{C}$ ) e a velocidade de agitação (100 rpm). Nas duas horas iniciais foram empregados 900 mL de tampão ácido ( $\text{pH } 1,20 \pm 0,05$ ). Posteriormente, as cubas foram substituídas por outras contendo 900 mL de tampão fosfato ( $\text{pH } 6,80 \pm 0,05$ ), durante um período de 10 horas. Amostras de 10 mL foram tomadas em tempos regulares, centrifugadas, diluídas em água e o fármaco foi quantificado espectrofotometricamente a 319 nm. A cada alíquota retirada, o mesmo volume de meio de dissolução, a  $37 \pm 0,5^\circ \text{C}$  foi repostado. Os ensaios de dissolução foram realizados em triplicata.

A solubilidade do PHCl foi testada em 300 mL de solução de HCl ( $\text{pH } 1,2$ ) e em 300 mL de solução tampão ( $\text{pH } 6,8$ ) para assegurar a manutenção da condição *sink* e garantir que o volume de meio utilizado seriam suficientes para a realização do ensaio.

**TABELA 4.4.** Modelos matemáticos aplicados para avaliação da cinética de dissolução

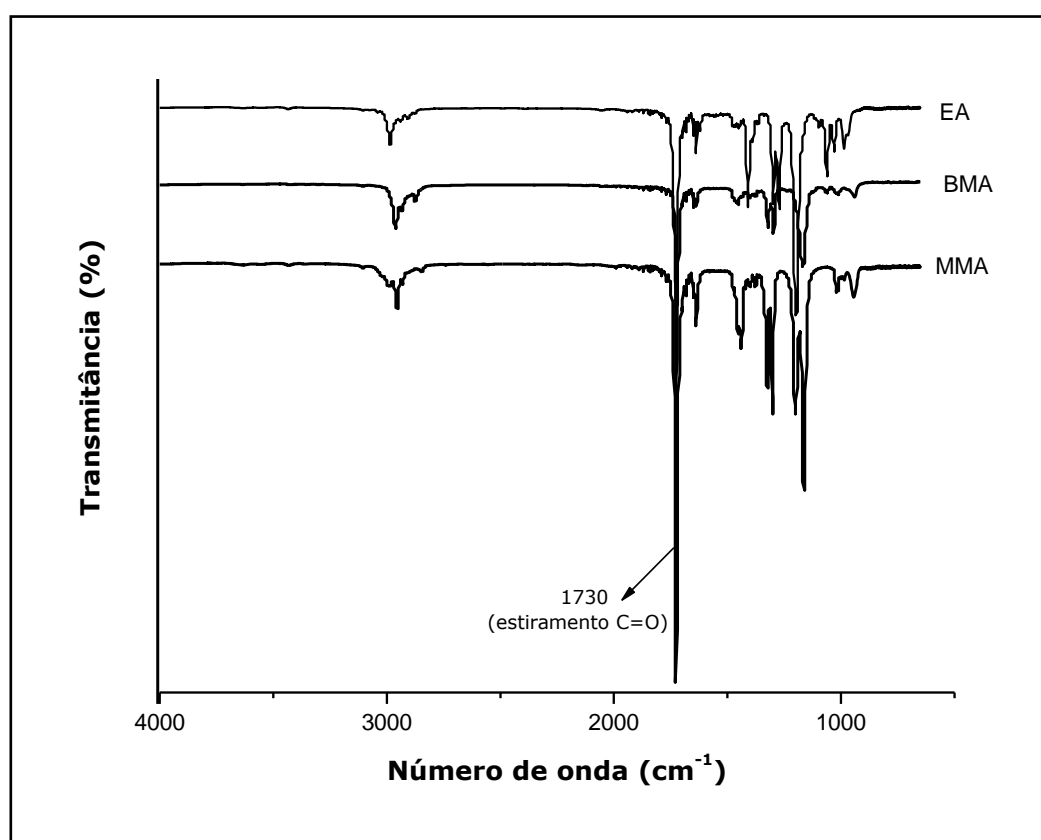
| <b>Modelo/Cinética</b>       | <b>Relação estabelecida</b>  |
|------------------------------|--|
| <b>Ordem zero</b>            | Quantidade de fármaco não dissolvido <i>versus</i> o tempo<br>$(\%ND \times t)$  |
| <b>Ordem um</b>              | Logaritmo neperiano da quantidade não dissolvida <i>versus</i> o tempo<br>$(\ln \%ND \times t)$  |
| <b>Higuchi</b>               | Raiz quadrada do tempo <i>versus</i> porcentagem de fármaco dissolvido<br>$(\sqrt{t} \times \% Q)$   |
| <b>Korsmeyer<br/>-Peppas</b> | Logaritmo neperiano ( $\ln$ ) do tempo ( $t$ ) <i>versus</i> o $\ln$ da relação entre a quantidade de fármaco liberado e a total ( $\ln t \times \ln M_t/M_\infty$ ) |

Os resultados da cinética de dissolução, provenientes do tratamento matemático dos dados originários dos perfis de dissolução, foram calculados por regressão linear, tendo-se experimentado os modelos de Ordem zero, Ordem um, Korsmeyer-Peppas e Higuchi. A descrição simplificada de todos os modelos cinéticos são fornecidas na Tabela 4.4 (Manadas *et al.*, 2002; Allen *et al.*, 2005; Grassi & Grassi, 2005; Swarbrick, 2007; Siepmann & Peppas, 2008).

### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Espectroscopia no Infravermelho por FTIR

Espectros de monômeros acrílicos e metacrílicos apresentam bandas características nas regiões de  $830\text{ cm}^{-1}$  (deformação da ligação H-C=C),  $1630\text{ cm}^{-1}$  (vibração de estiramento da dupla ligação C=C) e  $1730\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial da ligação C=O de éster conjugado) (Patel *et al.*, 2008; Sapozhnikov *et al.*, 2009). Os espectros FTIR dos monômeros são dados na Figura 4.1.

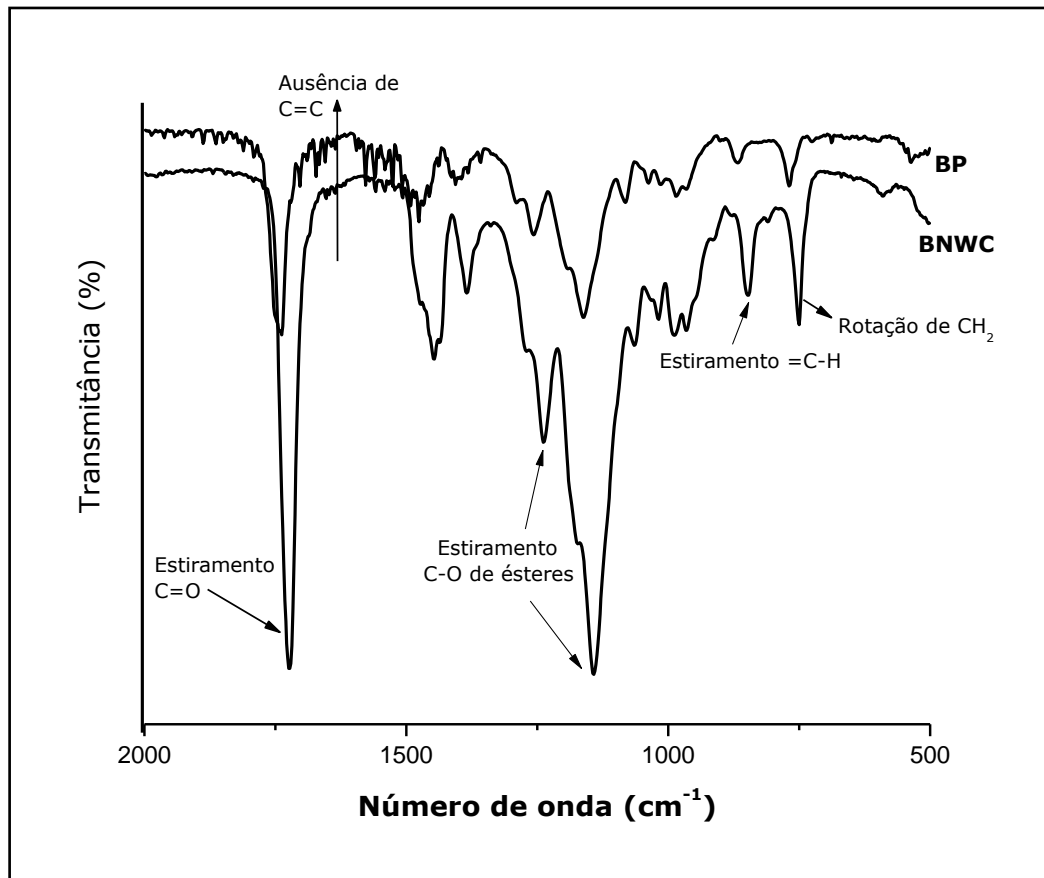


**FIGURA 4.1.** Espectros FTIR dos monômeros EA, MMA e BMA.

Durante as reações de polimerização, a ligação C=C é convertida à ligação C-C, o que pode ser comprovado pela supressão de bandas em  $1630\text{ cm}^{-1}$ . Assim, os polímeros acrílicos e metacrílicos exibem absorção nas regiões do infravermelho relacionadas à presença de ésteres, sendo característicos dupletos próximos a  $2900$



$\text{cm}^{-1}$  (estiramentos C-H); banda intensa próxima a  $1730 \text{ cm}^{-1}$  (carbonila) e bandas a  $1450$  e  $1385 \text{ cm}^{-1}$  (deformação C-H) (Strignari & Pratt, 1991; Schossler, 2001).



**FIGURA 4.2.** FTIR dos *beads* obtidos por polimerização em suspensão (BP e BNWC).

Como pode ser visto na Figura 4.2 houve o desaparecimento das bandas na região de  $1630 \text{ cm}^{-1}$  sugerindo a ocorrência de polimerização dos monômeros acrílicos durante a formação dos *beads*. A existência de bandas intensas a  $1720 - 1738 \text{ cm}^{-1}$  refere-se à vibração de estiramento da carbonila de ésteres conjugados, presentes nos copolímeros formados. Dois picos intensos, em  $1238$  e  $1140 \text{ cm}^{-1}$  devem-se ao estiramento C-O, caracterizando grupos ésteres (Patel *et al.*, 2005; Sapozhnikov *et al.*, 2008; Sapozhnikov *et al.*, 2009). Outras bandas bem evidenciadas são a  $1447 \text{ cm}^{-1}$  (vibração simétrica e assimétrica de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , respectivamente),  $1386 \text{ cm}^{-1}$  (vibração simétrica de  $\text{CH}_3$ ) e  $748 \text{ cm}^{-1}$  (rotação de  $\text{CH}_2$ ) (Silverstein *et al.*, 2000). Picos referentes às nanofibras de celulose não foram evidenciadas nos espectros,

devido, possivelmente, à baixa concentração nas quais foram empregadas. O espectro FTIR das NWCs bem como a imagem de microscopia eletrônica de transmissão (MET) das mesmas são apresentados nos ANEXOS I e II.

#### **4.3.2. Análises térmicas**

As termoanálises envolvem um grupo de técnicas nas quais uma ou mais propriedades físicas de dado material e/ou de seus produtos de reação podem ser medidas, em função da temperatura e/ou tempo, enquanto o mesmo é submetido a um programa controlado de temperatura. As técnicas termoanalíticas mais empregadas para polímeros são a termogravimetria (TG, DTG), a análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) (Hatakeyama & Quinn, 1999; Matos & Machado, 2004; Silva *et al.*, 2007).

A análise termogravimétrica (TG) de polímeros provê informações a respeito da variação da massa em função da temperatura, sob determinadas condições atmosféricas, originando curvas que fornecem informações relativas à composição e estabilidade térmica da amostra, de produtos intermediários e de resíduos formados durante transformações físicas (evaporação, condensação ou sublimação) ou químicas (decomposição ou oxidação). As inflexões observadas nas curvas são dependentes da estrutura e da extensão das forças de interação existentes nos componentes do material e podem ser observadas mediante a formação de ombros ou "degraus". O gráfico TG é obtido plotando-se a perda de massa (%) em função da temperatura (°C), permitindo definir o início e o fim do evento térmico, bem como a perda de massa durante a reação (Hatakeyama & Quinn, 1999; Ozawa, 2000; Silva *et al.*, 2007; Dobkowski, 2006).

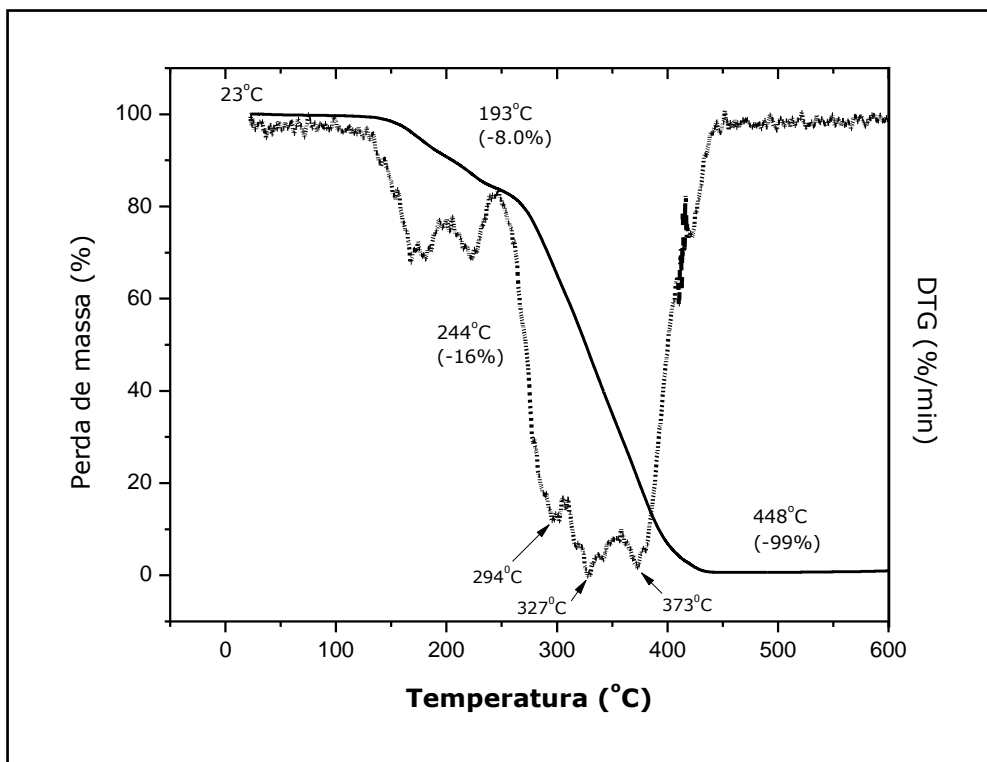
A termogravimetria diferencial (DTG) é a primeira derivada da curva da TG. Na DTG, os "ombros" correspondentes às variações de massa da curva TG são substituídos por picos que determinam áreas proporcionais às variações de massa. A partir da altura do pico, a qualquer temperatura, é possível obter a variação de massa ( $\Delta m$ ) e as temperaturas correspondentes ao início e final da reação com maior precisão sendo, especialmente útil, em eventos que envolvem sobreposição de reações (Hatakeyama & Quinn, 1999; Ozawa, 2000; Dobkowski, 2006; Silva *et al.*, 2007).

Já a DTA é a técnica pela qual a diferença de temperatura ( $\Delta T$ ) entre a substância e o material de referência (termicamente estável) é medida em função da temperatura. As curvas DTA representam os registros de  $\Delta T$  em função da temperatura (T) ou do tempo (t), de modo que os eventos são apresentados na forma de picos (Hatakeyama & Quinn, 1999; Ozawa, 2000; Dobkowski, 2006; Silva *et al.*, 2007).

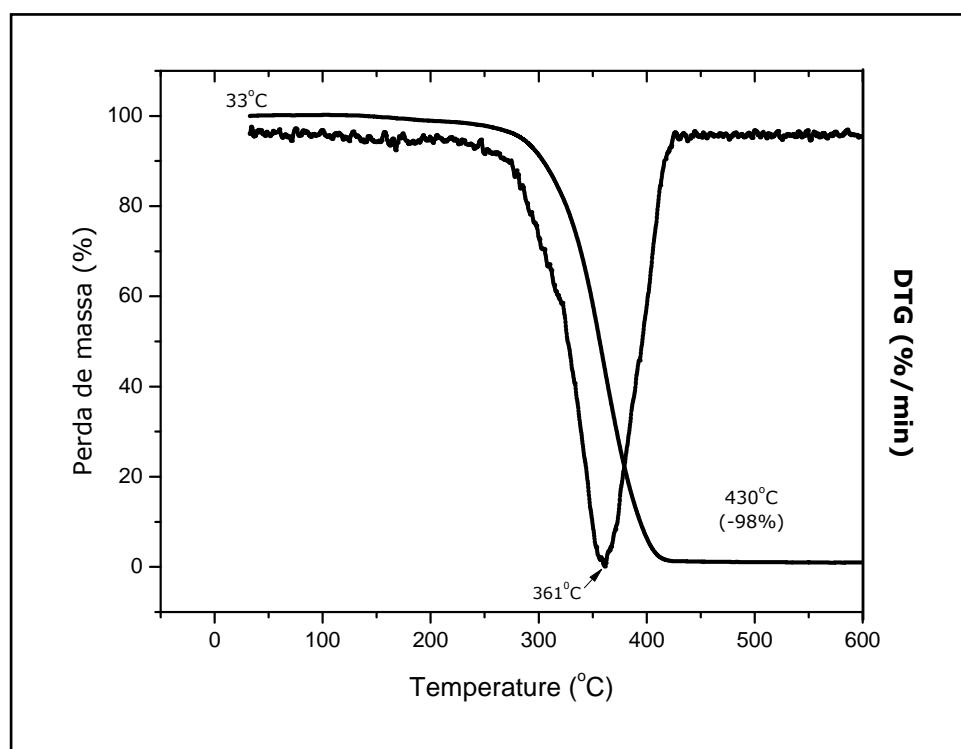
Por último, a DSC é a técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência (termicamente estável), em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. As curvas de DSC (assim como os de DTA) fornecem informações acerca de transições de primeira ordem (exotermas e endotermas) associadas à variação de entalpia ( $\Delta H$ ) e de segunda ordem. Estas últimas são caracterizadas pela variação da capacidade calorífica, sem variações de entalpia e, portanto, não geram picos. Um exemplo é a transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura na qual se inicia o movimento de segmentos de uma cadeia polimérica. Nas curvas DTA/DSC a  $T_g$  pode ser identificada por uma variação na linha base no sentido endotérmico (Silva *et al.*, 2007).

A Figura 4.3 apresenta as curvas TG/DTG dos BPs. Variação na massa de, aproximadamente, 8% ocorreu entre as temperaturas de 23° C e 193° C. Tais perdas podem ser relativas à presença de monômeros livres e/ou que permaneceram ocluídos no interior dos *beads* de maior tamanho. Pode ser notado que a decomposição térmica dos BPs ocorreu em várias etapas, uma vez que *beads* com granulometria diferenciada podem sofrer termodecomposição em diferentes tempos. Até a temperatura de 245° C, a variação de massa foi de 15% e, em temperatura próxima a 448° C, praticamente toda a massa foi perdida (99%). Reações de copolimerização dependem das concentrações relativas dos monômeros, bem como das reatividades relativas de cada um, isto é, da taxa de incorporação de cada um na cadeia. Se dois monômeros apresentam reatividades diferentes, aquele mais reativo tenderá a polimerizar-se mais rápido que o menos reativo, levando à heterogeneidade na composição do copolímero no decorrer da reação. A copolimerização em sistemas ternários é mais complexa que a observada em sistemas binários (Riddle, 1954; Anderson & Daniels, 2003).

Tal fato pode justificar o comportamento dos *beads* durante o aquecimento: copolímeros com diferentes composições podem ter sido formados e, em consequência, apresentaram comportamento de degradação térmica variado. O impacto da presença das NWCs no sistema pode ser evidenciado na Figura 4.4. Como pode ser notado, as amostras preparadas a partir das NWCs, apresentaram comportamento térmico diferenciado, com a decomposição térmica ocorrendo em somente um estágio. Os eventos iniciaram-se a 30° C, com uma discreta variação de massa até a formação de um ombro intenso, na temperatura de 365° C. Tal explicação pode ser devida à ação das nanofibras, que podem atuar como barreira à difusão de espécies geradas durante a termodegradação, favorecendo o aumento na estabilidade térmica do material. Ainda, a distribuição granulométrica menor e mais uniforme pode favorecer a decomposição em uma etapa.

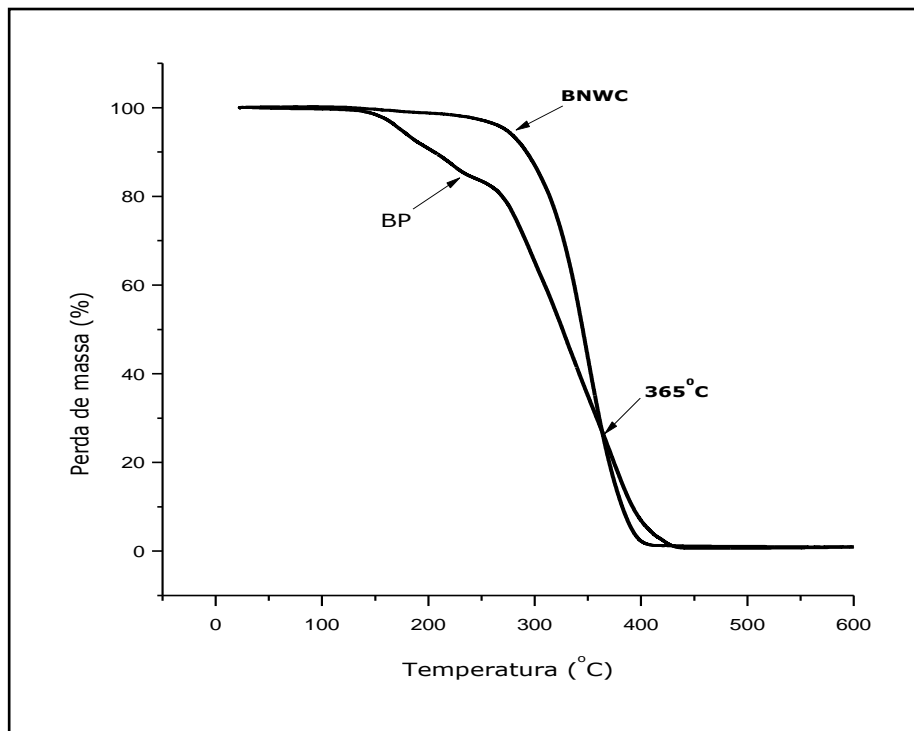


**FIGURA 4.3.** TG e DTG das amostras BPs, obtidas sob atmosfera de N<sub>2</sub>.

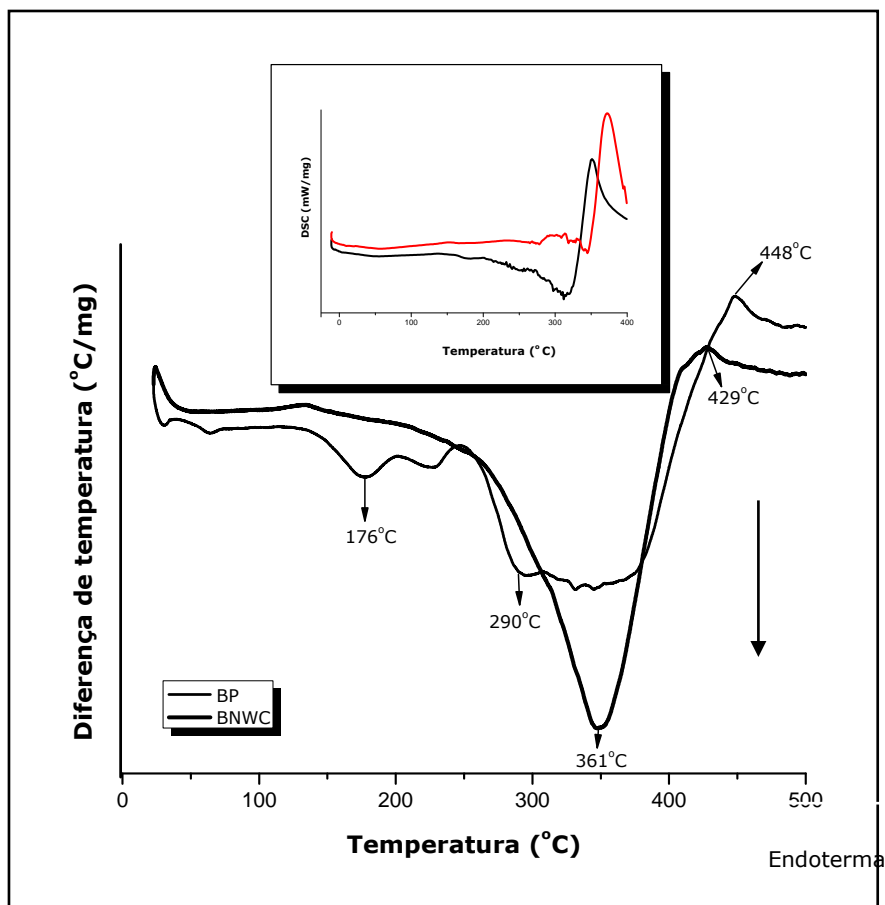


**FIGURA 4.4.** TG e DTG das amostras de BNWCs, obtidas sob atmosfera de N<sub>2</sub>.

A Figura 4.5 traz a comparação entre as curvas TG de ambos os materiais.



**Figura 4.5.** Curvas TG para as amostras BPs e BNWCs, obtidas sob atmosfera de N<sub>2</sub>.



**Figura 4.6.** Curvas DTA e DSC para as amostras, obtidas sob atmosfera de N<sub>2</sub>.

Os picos exotérmicos e endotérmicos, oriundos da DTA das amostras BPs e BNWCs caracterizam transições ou reações que tenham ocorrido durante a análise, como fusão, oxidação e decomposição, entre outras. A curva DTA dos BNWCs mostra uma endoterma intensa que pode ser associada à degradação dos *beads* estabilizados termicamente pela presença das NWCs. Para os BPs, existem 3 picos, sugerindo a existência de várias faixas granulométricas para o material e a provável existência de monômeros não polimerizados. A Figura 4.6 mostra as diferentes etapas de degradação das duas amostras.

Já as curvas obtidas na análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram pouco elucidativas. Alterações discretas nas linhas de base podem ser notadas em temperaturas próximas a 5° C, porém, a confirmação da  $T_g$  requer maiores estudos, empregando técnicas mais sensíveis como a análise termomecânico-dinâmica (DMTA). As curvas DSC podem ser visualizadas no detalhe da Figura 4.6.

#### **4.3.3. Avaliação das propriedades micromeríticas dos BNWCs**

O termo "micromerítica" foi introduzido por Dallavalle e refere-se à ciência das partículas pequenas (escala micrométrica). Investigações micromeríticas envolvem o estudo de propriedades como forma das partículas, diâmetro, distribuição de tamanho, densidade, área superficial, carga superficial, entre outras (Brittain, 1995; Sinko, 2006).

A Comissão de Excipientes da Farmacopeia Americana (*United States Pharmacopeia – USP*) propôs, em 2007, a introdução de um capítulo geral no referido compêndio, destinado a conter informações sobre o desempenho dos excipientes de uso farmacêutico - *General Information Chapter Excipient Performance <1059>*. A intenção da Farmacopeia foi destacar a importância da avaliação das propriedades físicas dos excipientes, uma vez que estas influenciam diretamente na preparação,

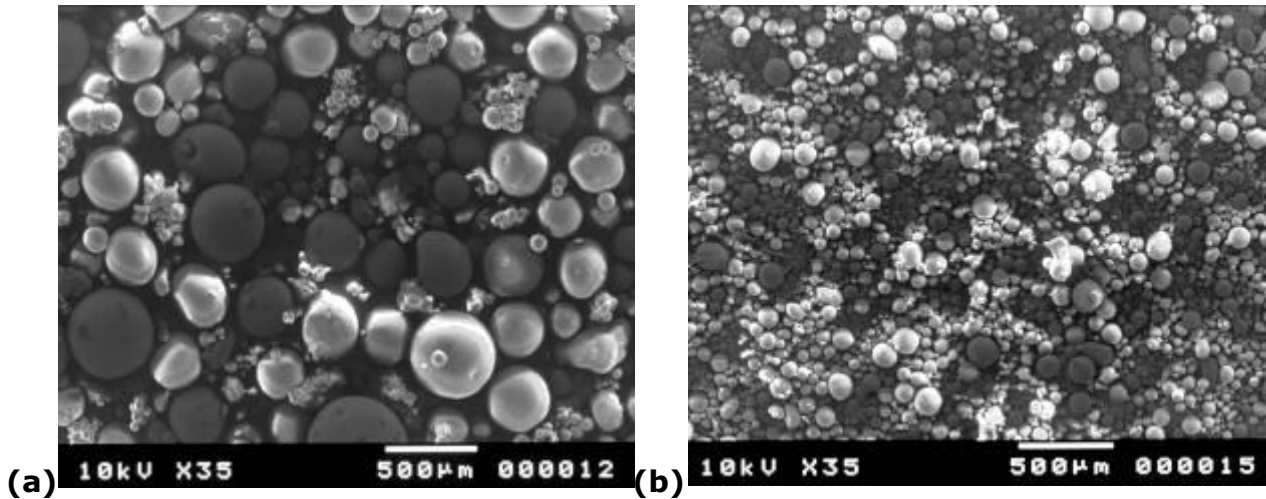
estabilidade, qualidade e desempenho *in vivo* das formas farmacêuticas. Para atender a tais requisitos, faz-se necessária a avaliação, dentre outras, das propriedades micromeríticas dos sólidos particulados de uso farmacêutico (Amidon *et al.*, 2007).

A partir das análises micromeríticas, parâmetros como o Índice de Carr e Fator de Hausner podem ser calculados e o comportamento do excipiente, frente às condições de manufatura, podem ser previstos. Através da interpretação de parâmetros físicos, informações sobre uma das principais características dos sólidos particulados podem ser depreendidas, nomeadamente, do comportamento dos mesmos frente ao escoamento. Um bom fluxo dos insumos farmacêuticos e do granel influencia, de modo positivo, no processo produtivo, evitando a segregação de misturas e facilitando o enchimento das matrizes na compressora. Em decorrência, exerce influência no peso médio dos comprimidos, na uniformidade de conteúdo, na dureza e nos resultados dos ensaios de dissolução (Allen *et al.*, 2005; Emeje *et al.*, 2006; Aulton, 2007; Bhimte & Tayade, 2007; Swarbrick, 2007; Battacharyya *et al.*, 2010).

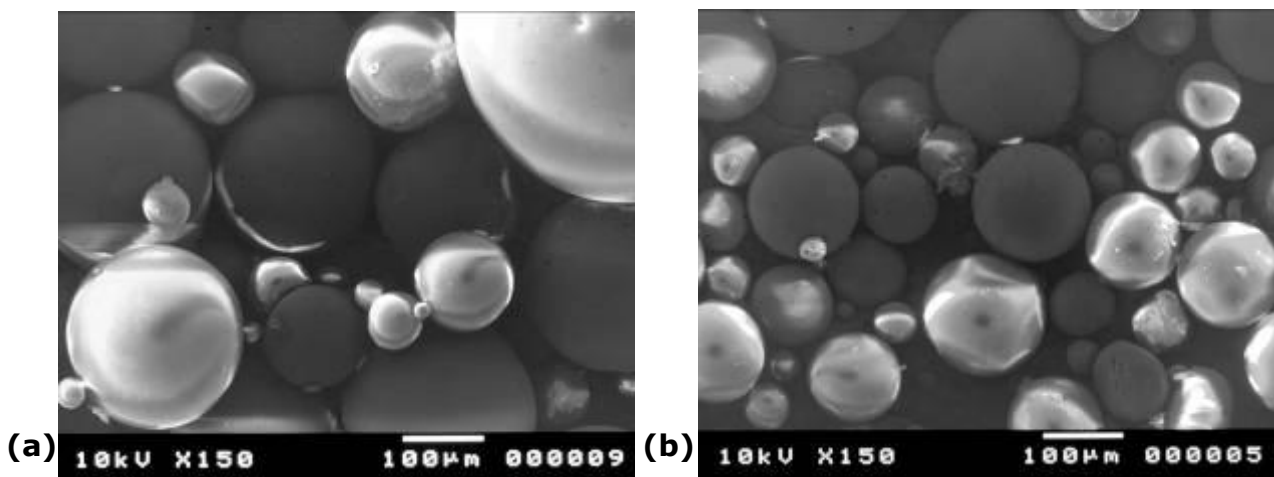
#### **4.3.3.1. Avaliação da morfologia por MEV**

As fotomicrografias obtidas por MEV apresentaram detalhes da morfologia dos *beads* (Figuras 4.7 e 4.8). Pela análise das imagens pode-se observar que foi possível obter *beads* esféricos, não porosos, com superfícies lisas e regulares. Tal evidência é de grande importância para o setor farmacêutico, uma vez que partículas esféricas apresentam melhor propriedade de fluxo, uma vez que o atrito inter-particula e entre as partículas e o equipamento será minimizado. Ainda, partículas esféricas possuem comportamento superior do ponto de vista da compressão (Brittain, 1995; Allen *et al.*, 2004; Gennaro, 2004; Sinko, 2006; Swarbrick, 2007; Aulton, 2007).





**Figura 4.7.** MEV dos BPs (a) e dos BNWCs (b), com aumento de 35 vezes.



**Figura 4.8.** MEV dos BPs (a) e dos BNWCs (b), com aumento de 150 vezes.

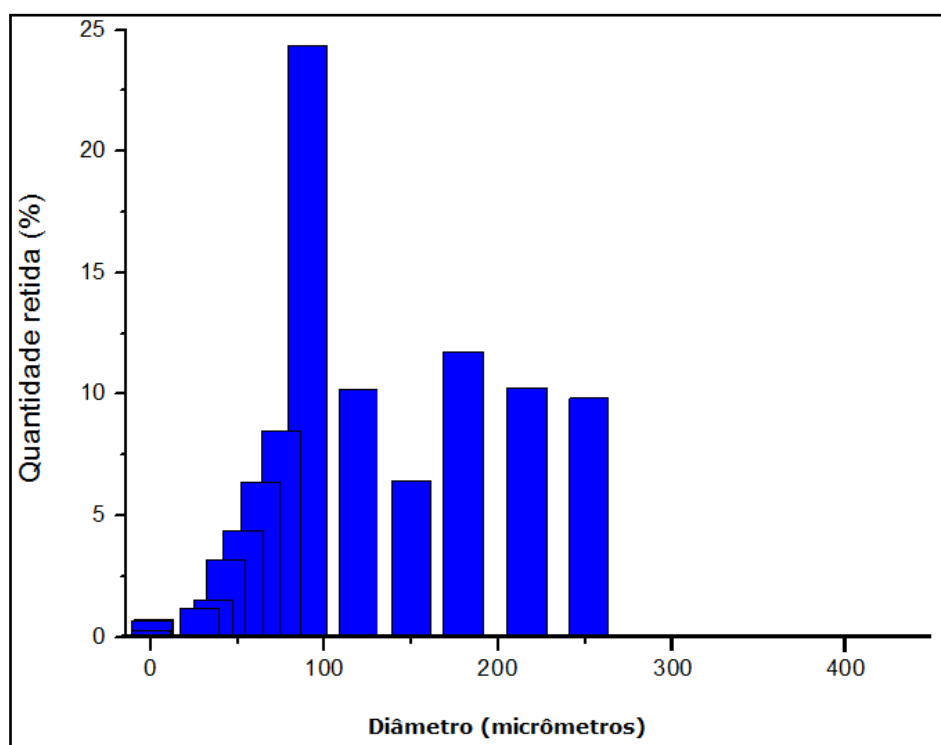
A formação de aglomerados pode ser notada nos BPs, além de grande variação no tamanho das esferas (Figuras 4.7 a e 4.8 a). A adição de nanofibras de celulose originou esferas de menor tamanho, com menor dispersão granulométrica e evitou a formação de aglomerados no sistema (Figura 4.7 b e 4.8 b).

#### 4.3.3.2. Determinação do diâmetro e da distribuição do tamanho

Sabe-se que pós e/ou grânulos de uso farmacêutico que apresentam grande proporção de pós finos ( $< 100 \mu\text{m}$ ), bem como partículas que se apresentam irregulares, tendem a apresentar fluxo reduzido nos equipamentos de mistura e compressão, além de gerar muito pó livre durante a compressão. Por outro lado,

partículas muito grosseiras causam segregação e preenchimento heterogêneo das matrizes (Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Sinko, 2006; Swarbrick, 2007). Para pesquisar a distribuição do tamanho dos *beads* foi empregada a técnica de granulometria a *laser* em aparelho CILAS, modelo 1064. O histograma obtido pode ser visto na Figura 4.9.

Para os BNWCs, 10% das partículas apresentaram diâmetro menor que 58  $\mu\text{m}$  e 50%, tamanho menor que 145  $\mu\text{m}$ . O diâmetro médio encontrado foi de 200  $\mu\text{m}$ . O índice de polidispersão calculado foi de 2,54. Chen e Davis (2002) prepararam microesferas do copolímero poli(hidroxibutirato – hidroxivalerato) (PHBHV) contendo diazepam e consideraram índices de polidispersão próximos a 2 como sendo satisfatórios. Os BPs não foram submetidos aos ensaios de granulometria, uma vez que apresentaram proporção elevada de partículas com tamanho superior a 500  $\mu\text{m}$ , inviabilizando a análise por CILAS.



**Figura 4.9.** Distribuição granulométrica para a amostra BNWC.

A classificação dos sólidos particulados de uso farmacêutico, quanto à granulometria, encontra-se descrita nas Farmacopeias. Os sólidos podem ser

qualificados de grossos a muito finos, com relação ao diâmetro do tamis no qual ficam retidos, em ensaios de peneiramento. Pós de interesse farmacêutico devem apresentar, preferencialmente, granulometria inferior a 250  $\mu\text{m}$  (Allen *et al.*, 2005; Sinko, 2006; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007). Alguns autores consideram que as partículas devem ser inferior a 200  $\mu\text{m}$  (Shekunov *et al.*, 2007). Apesar da avaliação da distribuição granulométrica diferir do método preconizado pelas Farmacopeias, a análise dos resultados evidenciou que 42% dos BNWCs ficaram retidos em tamis 180  $\mu\text{m}$ , indicando que o material classifica-se como moderadamente fino.

Uma provável explicação para a redução do tamanho dos *beads* pode ser atribuída à presença das nanofibras celulose, capazes de propiciarem estabilização por um fenômeno similar ao que ocorre em emulsões denominadas *Pickering*. *Pickering* foi o primeiro a relatar a estabilização de uma mistura de água e parafina pelo uso de íons cobre e sulfato que precipitaram *in situ*, formando uma camada de partículas posicionadas na interface óleo/água, levando à formação de uma barreira mecânica (Pickering, 1907). O efeito *Pickering* é caracterizado por sólidos, com tamanho micro ou nanométrico, que possuem molhabilidade intermediária entre as fases. As partículas submicrométricas sofrem adsorção nas gotas da fase dispersa, formando uma barreira capaz de promover estabilização estérea no sistema e/ou reduzindo a tensão superficial, por redução no ângulo de contato. Dessa forma, evitam a coalescência (Wolters *et al.*, 2001; Aveyard *et al.*, 2003; Sacanna *et al.*, 2004; Tarimala *et al.*, 2004; He *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). São estabilizantes efetivos em processos de polimerização incluindo os processos de miniemulsão, emulsão, suspensão e emulsão interfacial iniciada por transferência de radical atômico (ATR) (Gao *et al.*, 2009; Gao *et al.*, 2010).

Inúmeras partículas com tamanho submicrométrico vêm sendo utilizadas como estabilizantes por *Pickering* (Wolters *et al.*, 2001). Tal aplicação pode ser atribuída às

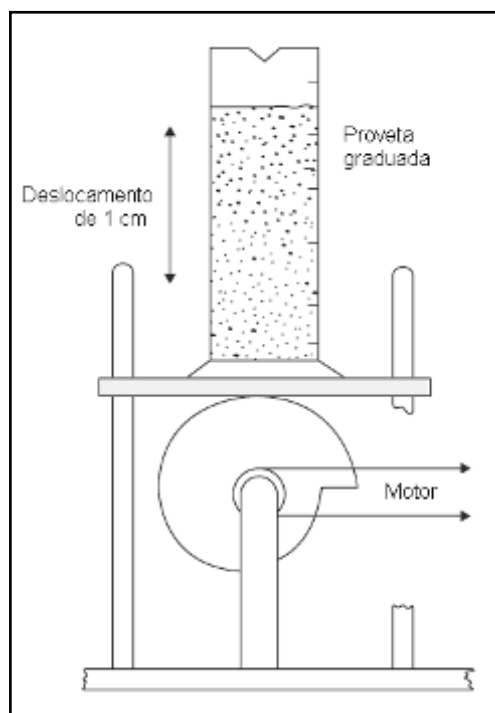
NWCs, capazes de atuarem como estabilizantes estéreos, restringindo a coalescência e reduzindo o tamanho das partículas. Ao evitar a coalescência, maior o número de gotículas formadas na fase dispersa, com redução no tamanho das mesmas e aumento da área superficial. Além de atuar na redução do tamanho das partículas, a barreira mecânica promovida pelas NWCs pode aumentar a estabilidade térmica dos *beads*, como mencionado anteriormente.

#### **4.3.3. Medida da densidade aparente e da densidade compactada**

As medidas da densidade aparente e da densidade compactada são consideradas preditivas do fluxo dos materiais, já que as mesmas dependem do tamanho, forma e da natureza coesiva das amostras (Allen *et al.*, 2005; Sinko, 2006; Swarbrick, 2007).

A densidade aparente ( $d_a$ ) e a densidade compactada ( $d_c$ ) dos sólidos particulados podem ser medidas, de forma indireta, pela relação entre a massa de dado material e o volume que a mesma ocupa, antes e após compactação e acomodação do material em uma proveta graduada. No presente trabalho, a  $d_c$  foi medida empregando-se um compactador automático, cuja representação esquemática pode ser vista na Figura 4.10. Os volumes obtidos nos ensaios de compactação encontram-se descritos na Tabela 4.5. O Índice de Compressibilidade calculado (%IC) e o Fator de Hausner (FH) são apresentados na Tabela 4.6.

Os *beads* produzidos em escala laboratorial apresentaram densidade aparente e compactada igual a 0,608 g/mL e 0,633 g/mL, respectivamente. O Índice de Carr (IC) exprime a capacidade de compactação e compressão de um sólido e valores de IC entre 5 e 15% são indicativos de fluxo excelente. Por outro lado, valores superiores a 25% são atribuídos a materiais cujas características de compactação e compressão são inadequadas (Carr, 1965).



**FIGURA 4.10.** Representação de um volúmetro (Adaptado de Swarbrick, 2007).

**TABELA 4.5.** Volumes aparentes, em mililitros, obtidos para os BNWCs

| Amostra | Massa (g) | $V_0$ | $V_{10}$ | $V_{500}$ | $V_{1250}$ | $V_{2500}$ |
|---------|-----------|-------|----------|-----------|------------|------------|
| BNWCs   | 36,461    | 60    | 57       | 55        | 55         | -          |

Para Hausner (1967), a razão entre a densidade compactada e a densidade aparente relaciona-se com as forças de adesão e coesão entre as partículas. Pós que apresentam coesividade mínima possuem FH próximo de 1,25. Por outro lado, pós de maior coesividade apresentam FH superior a 1,5. Usualmente, se aceita que valores abaixo de 1,25 relacionam-se a um bom escoamento enquanto que, valores acima de 1,25 relacionam-se a um fluxo ruim. Porém, materiais que apresentam valores de FH compreendidos entre estes últimos valores podem ter o fluxo melhorado pela adição de lubrificantes (Schüssele & Bauer-Brandl, 2003; Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007).

**TABELA 4.6.** Medidas do volume aparente, densidade aparente, Índice de Carr e Fator de Hausner

| Parâmetros   | BNWCs |
|--------------|-------|
| $d_a$ (g/mL) | 0,608 |
| $d_c$ (g/mL) | 0,633 |
| IC (%)       | 8,72  |
| FH           | 1,091 |

O Índice de Carr encontrado para o material foi de 8,72% e o Fator de Hausner foi 1,091. Valores de IC abaixo de 15% e valores de FH menores que 1,25 sugerem excelente capacidade de escoamento. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que os BNWCs possuem propriedades de fluxo e compactação adequadas ao desenvolvimento farmacotécnico. Para avaliar estes dois últimos parâmetros, pode-se determinar o tempo de escoamento e o ângulo de repouso dos mesmos.

#### 4.3.3.4. Determinação da velocidade de escoamento e da cotangente $\alpha$

O fluxo do material foi estudado, também, pela medida da cotangente do ângulo  $\alpha$  e o tempo necessário para dada massa escoar. Os dados foram tratados diretamente pelo equipamento, que forneceu os resultados impressos (ANEXO III).

O tempo de escoamento para os BNWCs foi igual a 0,64 segundos e a cotangente calculada foi 0,021. De acordo com os parâmetros apresentados na Tabela 4.2, o material apresentou um fluxo ótimo, uma vez que o tempo de escoamento foi inferior a 10 segundos e a cotangente de  $\alpha$  mostrou ser menor que 0,1.

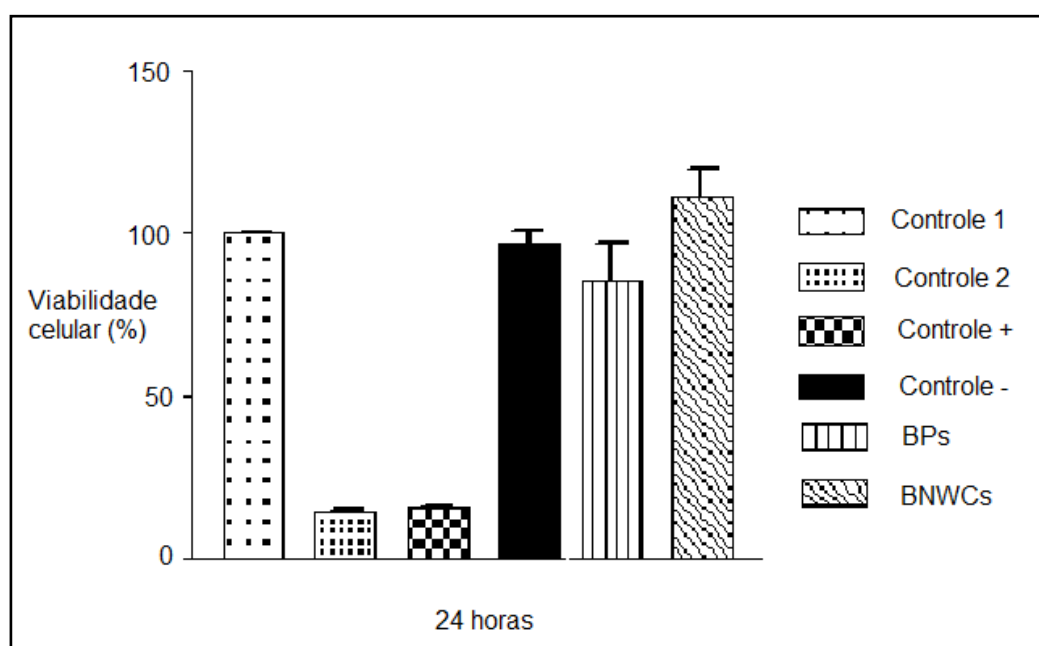
#### 4.3.4. Avaliação da citotoxicidade pelo método da viabilidade celular

Os testes de citotoxicidade são os primeiros ensaios para a avaliação da potencialidade de aplicação clínica de um novo material a ser inserido no organismo humano. O ensaio realizado com o brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólico] – conhecido como método MTT – baseia-se na capacidade que células vivas, metabolicamente ativas, têm de reduzir sais de tetrazólio a derivados formazólicos de cor púrpura (Mosman, 1983; Zhang *et al.*, 2003). O método colorimétrico é amplamente utilizado na determinação da viabilidade celular, podendo avaliar a citotoxicidade, a proliferação e a ativação de fibroblastos, detectando as células vivas e, conseqüentemente, o grau de ativação das mesmas. O teste fundamenta-se na capacidade que a piruvato-desidrogenase (enzima mitocondrial presente em células vivas), possui de clivar os anéis tetrazólicos do MTT formando cristais de formazan, de cor azul escura. Portanto, o reagente MTT, amarelo e solúvel em água, passa à insolúvel e sua cor altera-se para o azul escuro (metacromasia) (Mosman, 1983; Zhang *et al.*, 2003).

O fato das células permanecerem viáveis na presença dos materiais testados possibilita a formação e acúmulo dos cristais de formazan no interior das mesmas, sendo o número de células viáveis proporcional à quantidade de cristais formados. A medida da concentração dos cristais é feita por espectrofotometria na região do visível (540 - 595 nm), o que ocorre após liberação dos cristais de formazan por lise das células pela adição de uma solução de HCl 4%p/V em isopropanol (Mosman, 1983; Denizot & Lang, 1986).

Na Figura 4.11 pode-se observar que nos grupos controle (controle 1 e controle negativo), a viabilidade celular foi de, aproximadamente, 100%. O controle negativo, caracterizado por amostras de fio ortodôntico, originou viabilidade celular também adequada. Na presença das amostras (BP e BNWCs), a viabilidade celular foi superior

a 80%, sendo que, os resultados das amostras contendo NWCs sugerem a possibilidade de proliferação celular, devido, provavelmente, à presença de resíduos de celulose, que podem servir de substrato para o crescimento celular. Tais resultados serão pesquisados em ensaios posteriores. Conclui-se que os fibroblastos gengivais, quando em contato com as amostras não apresentaram diferença estatística da viabilidade celular, quando comparadas com os grupos controle, após 24 horas, o que indica a não toxicidade dos *beads*.



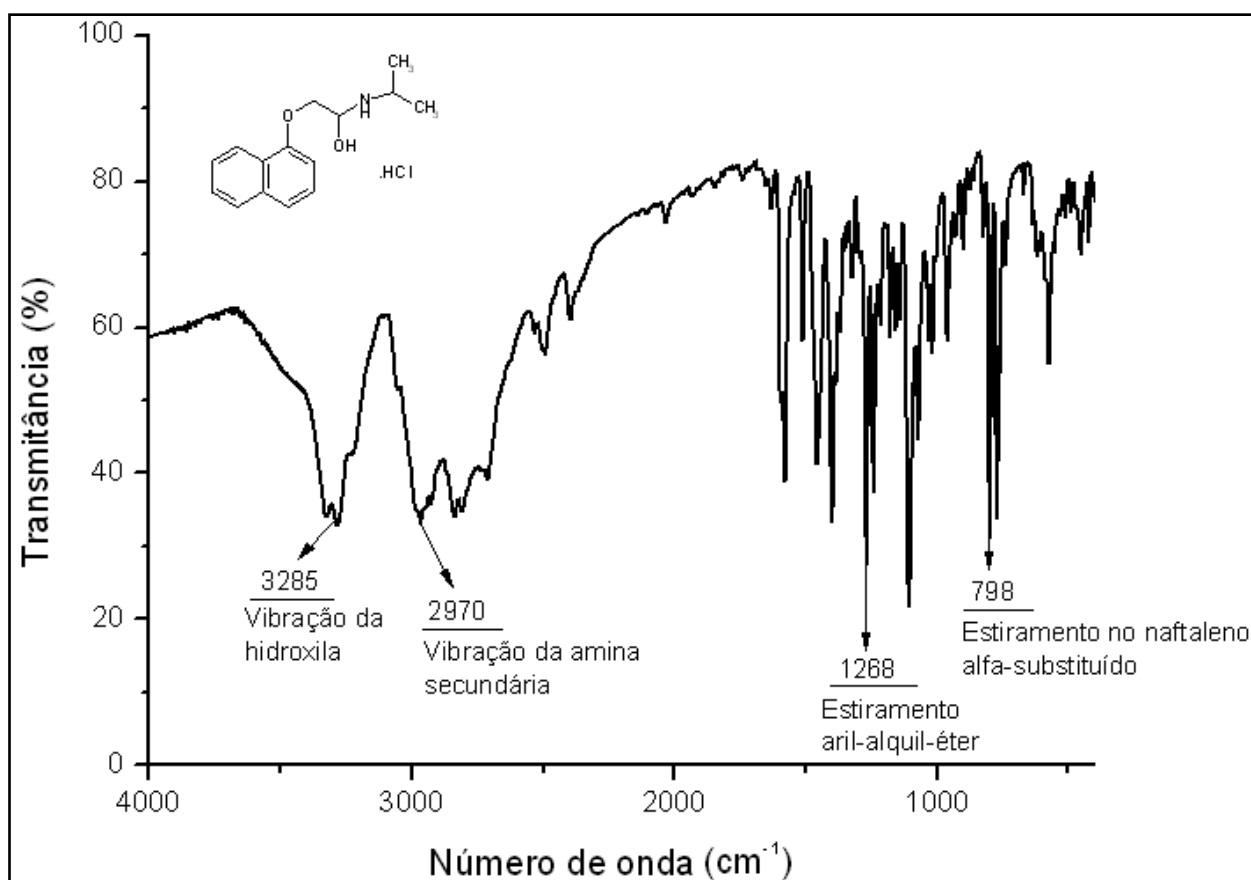
**FIGURA 4.11.** Percentual de viabilidade celular obtido através do ensaio de MTT (n = 3 e  $p < 0,05$ ).

#### 4.3.5. Análises dos materiais de partida

De acordo com a literatura, o PHCI apresenta picos característicos nas regiões de  $3285\text{ cm}^{-1}$  (referente ao estiramento da hidroxila);  $2965\text{ cm}^{-1}$  (vibração de estiramento da amina secundária e também atribuída ao grupo  $\text{CH}_2$ );  $1268\text{ cm}^{-1}$  (vibração da ligação aril-alquil-éter) e a  $797\text{ cm}^{-1}$  (estiramento no naftaleno  $\alpha$ -substituído). Ainda segundo a literatura, outras bandas características situam-se a  $1580\text{ cm}^{-1}$ ,  $1240\text{ cm}^{-1}$ ,  $1103\text{ cm}^{-1}$  e  $772\text{ cm}^{-1}$  (Clarke, 2004; Patra *et al.* 2007; Sahoo

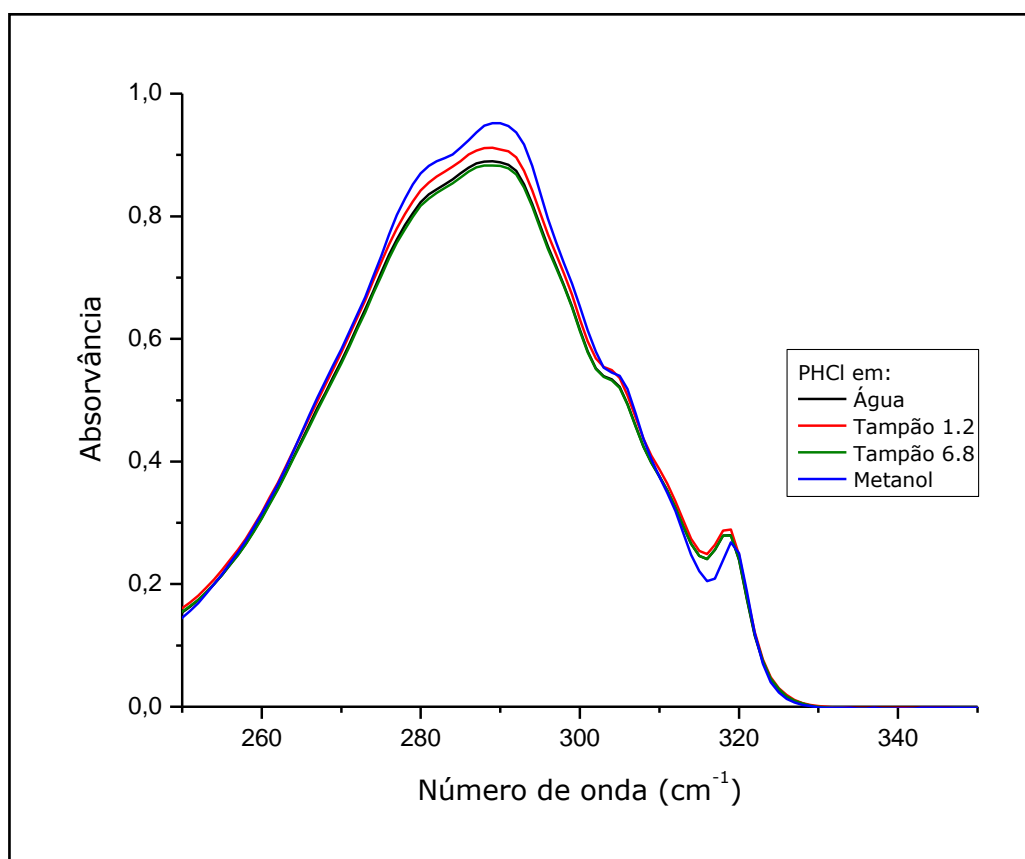


*et al.*, 2008; Pandey *et al.*, 2010). A Figura 4.12 apresenta o espectro FTIR, em pastilha de KBr, da matéria-prima.

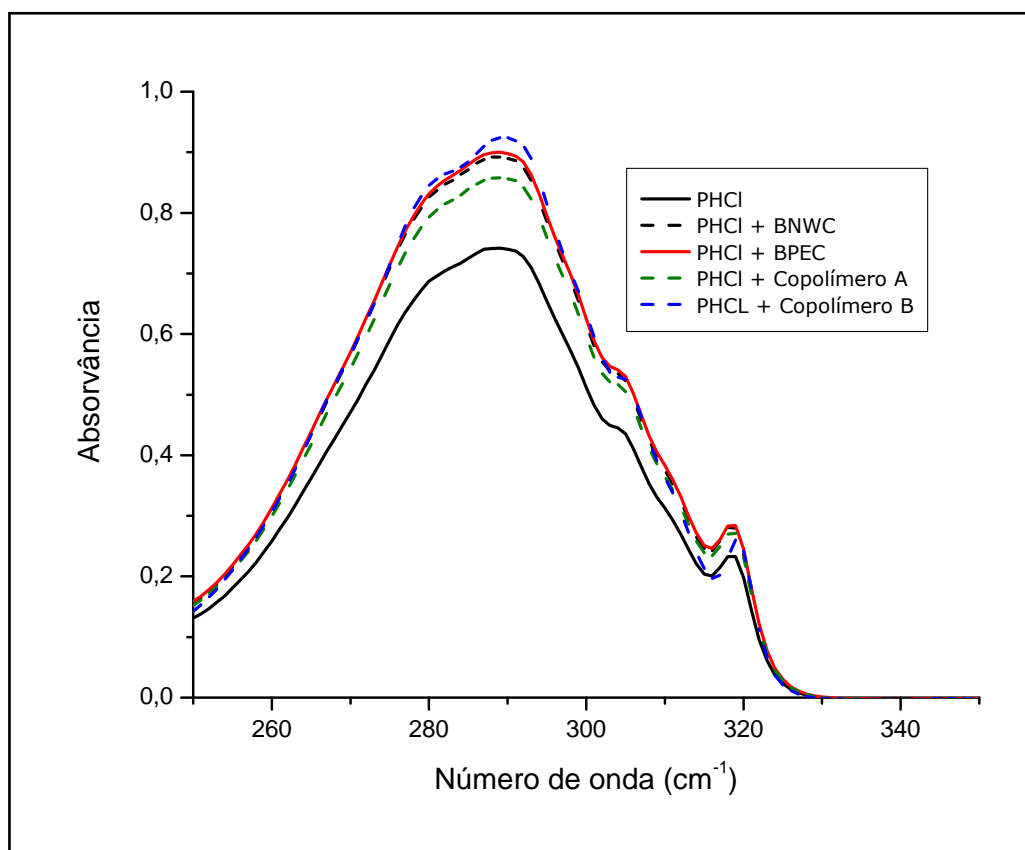


**FIGURA 4.12.** Espectro FTIR do cloridrato de propranolol, matéria-prima.

A técnica de espectroscopia na região do ultravioleta foi utilizada como teste complementar para identificação do PHCl (Figura 4.13). Para o PHCl, nos diferentes meios testados, foram visualizados dois picos característicos relatados na literatura (319 e 290 nm), com ligeiros desvios na intensidade dos mesmos, provavelmente devido aos diferentes coeficientes de extinção molar nos meios testados (Clarke, 2004). Para pesquisar a possibilidade de interferência dos componentes das formulações na quantificação do PHCl, foram obtidos espectros em água e os mesmos picos característicos (319 e 290 nm) podem ser visualizados (Figura 4.14.).



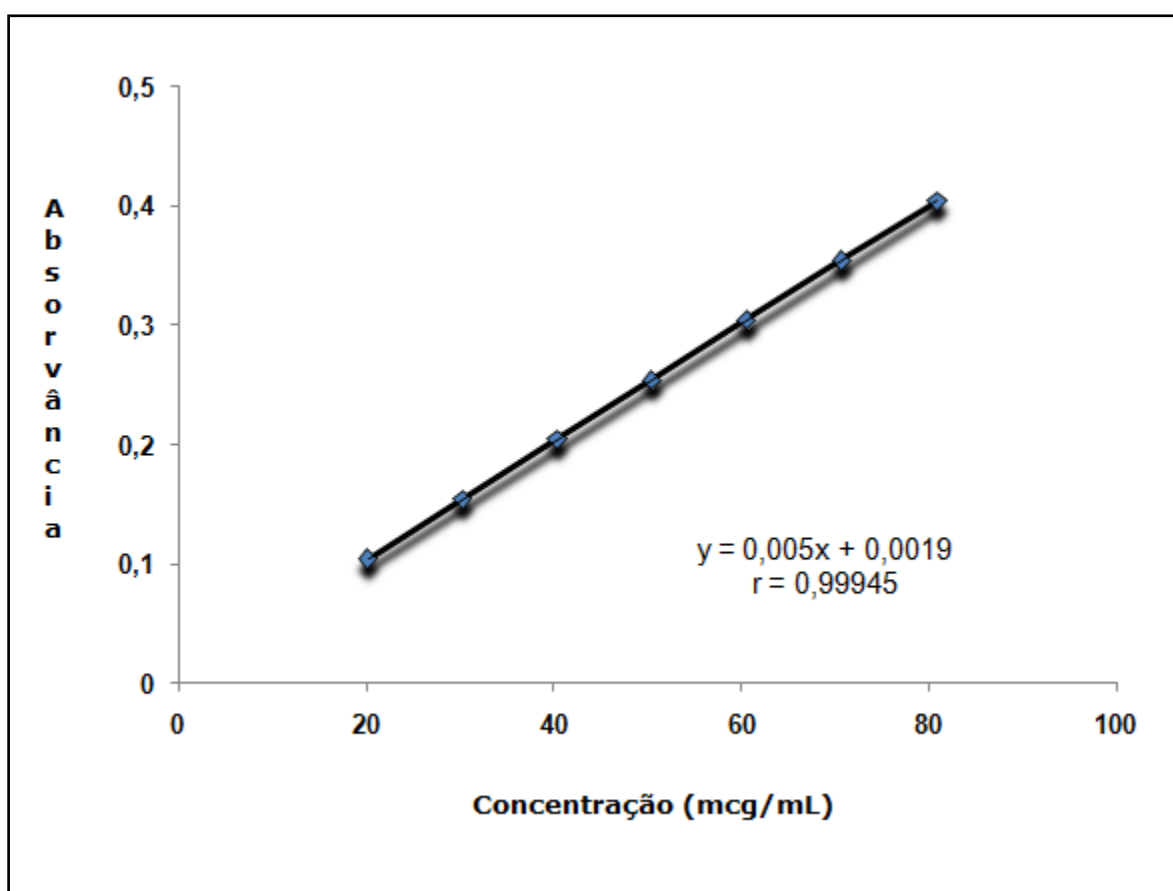
**FIGURA 4.13.** Identificação do PHCl pela obtenção de espectros UV em diferentes meios.



**FIGURA 4.14.** Espectros UV das misturas físicas contendo PHCl, em água.

A curva analítica para o PHCl (substância química de referência - SQR), destinada à quantificação do fármaco durante os ensaios de dissolução, foi traçada e é apresentada na Figura 4.15. A partir das leituras realizadas, a equação da reta e o coeficiente de correlação foram estabelecidos.

A equação da reta obtida por regressão linear, utilizando programa EXCEL, que melhor representou o tratamento estatístico dos dados experimentais foi  $Y = 0,005X + 0,0019$ . A curva analítica obtida apresentou coeficiente de correlação igual a 0,99945. Valores de  $r$  próximos de 1 indicam a existência de boa correlação entre as absorvâncias lidas e as concentrações da substância química de referência testadas. Portanto, a equação da reta será empregada para avaliar os perfis de liberação do fármaco, durante os ensaios de dissolução, após diluição das amostras em água.



**FIGURA 4.15.** Curva analítica do PHCl, substância química de referência, em água, na concentração de 20 a 80  $\mu\text{g/mL}$ , a 319 nm.

### **4.3.6. Avaliação das especificações farmacopeicas dos comprimidos**

#### **4.3.6.1. Peso médio, dureza e friabilidade**

Especificações descritas na Farmacopeia Brasileira (1988) preconizam que, para comprimidos cuja massa nominal seja superior a 250 mg, pode ser tolerada uma variação de  $\pm 5\%$  no valor declarado, não podendo ser toleradas mais que 2 unidades fora do limite especificado. Porém, nenhuma unidade posológica poderá estar acima ou abaixo do dobro da porcentagem indicada (10%) (Farmacopeia Brasileira, 1988).

Variações no peso médio podem desencadear, além da inconstância de doses, problemas durante a produção das formas farmacêuticas orais sólidas (FFOS). O fluxo inadequado do material a ser comprimido, causando preenchimento insuficiente das matrizes e/ou heterogeneidade no preenchimento das mesmas, é uma das principais causas das variações de massa. Em decorrência da alteração do peso médio, comprimidos com massas diferentes e, em consequência, com falta de uniformidade de conteúdo de dose, podem ser originados. Assim, flutuações nas concentrações dos fármacos, gerando doses sub ou sobreterapêuticas podem acontecer causando prejuízos ao tratamento. Outros inconvenientes podem ocorrer em casos de produção em grande escala, por exemplo, durante o acondicionamento (blistagem) em equipamentos automatizados, controlados pelo peso dos comprimidos. Alguns fatores que desencadeiam as variações no peso médio podem ser: elevado tamanho de partículas, distribuição heterogênea das partículas, morfologia irregular e fluxo insuficiente do material a comprimir (Aulton, 2007; Swarbrick, 2007; Niazi, 2009). Os valores encontrados para o peso médio são dados na Tabela 4.7.

Para comprimidos de 500 mg, a variação do peso médio deve compreender-se entre 475 e 525 mg. Entre os lotes testados, foi reprovado o de número 2 (preparado na presença de 48%p/p de BNWC como excipiente). Tal não conformidade pode decorrer de erros de pesagem e enchimento da matriz, uma vez que ambos os

processos foram feitos manualmente. O coeficiente de variação (CV) máximo observado foi de 5,51% para o lote 1. O peso médio é um parâmetro de qualidade relacionado ao controle em processo, portanto, cabe às empresas definirem as especificações de DP e CV, caso a caso<sup>\*1</sup>. Assim, os valores encontrados podem ser considerados adequados, uma vez que, a maioria dos lotes atendeu à especificação do peso médio.

**TABELA 4.7.** Valores obtidos no ensaio de peso médio realizados nos comprimidos obtidos a partir dos *beads* BNWC

|                                     | <b>1</b>       | <b>2</b>       | <b>3</b>       | <b>4</b>       |
|-------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Peso médio</b>                   | 512,40         | 534,79         | 516,83         | 515,58         |
| <b>(mg) (<math>\pm</math> * DP)</b> | ( $\pm 0,03$ ) | ( $\pm 0,01$ ) | ( $\pm 0,02$ ) | ( $\pm 0,02$ ) |
| <b>** CV (%)</b>                    | 5,51           | 2,19           | 4,42           | 3,24           |

\*DP = desvio padrão; \*\*CV = coeficiente de variação (desvio padrão relativo); n = 20 comprimidos.

A resistência mecânica dos comprimidos está associada com a resistência dos mesmos à fratura e ao atrito, parâmetros importantes durante a manufatura, transporte, armazenagem e administração da forma farmacêutica. Dois testes podem ser realizados para avaliá-la: a friabilidade e a dureza.

A friabilidade é um ensaio capaz avaliar a perda de massa que pode ocorrer em função do atrito, fricção, rolamento ou queda das unidades posológicas, durante as rotações aos quais são submetidas no friabilômetro. De acordo com a literatura, são toleradas perdas de pós com valores inferiores a 1,5% em relação à massa de 10 unidades (Farmacopeia Brasileira, 1988). Os comprimidos encontram-se sujeitos ao atrito nos diversos equipamentos envolvidos no processo produtivo, não devendo ocorrer quebras e/ou perdas de pós. O mesmo não deve ocorrer durante

<sup>1</sup>\*Comunicação pessoal de Margareth R. C. Marques, M. Sc., Ph.D., Sr. Scientist, Dept. of Standards Development, U. S. Pharmacopeia, em 11 de janeiro de 2011, recebida por correio eletrônico.

armazenagem, transporte e distribuição (Aulton, 2007; Swarbrick, 2007; Niazi, 2009). A força de quebra (denominada dureza) de um comprimido mede sua resistência ao esmagamento. A análise envolve a aplicação de uma carga no comprimido e a medida da força necessária para fraturá-lo. A força mecânica pode ser aplicada axial ou diametralmente, sendo diretamente proporcional ao logaritmo da força de compressão e, inversamente proporcional à porosidade do comprimido, ou seja, é uma função linear da densidade relativa dos comprimidos. A dureza é um atributo de interesse tanto para o processo de compressão, no qual pode ser empregada como parâmetro indicativo para o ajuste e calibração dos equipamentos, como para a qualidade do produto acabado (Kuentz & Leuenberger, 2000; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007; Niazi, 2009). A dureza mínima preconizada pela Farmacopeia Brasileira é de 30 N (Farmacopeia Brasileira, 1988).

Em regra, quanto maior a força de compressão, maior a acomodação dos pós na matriz, maior os pontos de contato no material a comprimir e menor a porosidade no comprimido. Assim, há uma tendência ao aumento da dureza e do tempo de desagregação dos mesmos. Por outro lado, uma dureza baixa pode ser considerada medida indireta da ineficiência do processo de compactação e consolidação dos pós nos comprimidos, apesar de não haver especificações claras para o valor da mesma. Comprimidos mais duros podem ser mais dificilmente ejetados da compressora, porém, podem apresentar menor friabilidade (Niazi, 2009). Os resultados de dureza e friabilidade são mostrados na Tabela 4.8.

Durante a compressão das amostras 1 (contendo 32%p/p de BNWC como formador de matriz) percebeu-se os fenômenos denominados *capping* (descabeçamento) e laminação (fraturas diametrais), indicando a ocorrência de relaxamento do granel que ocasionou, provavelmente, elevada porosidade nos comprimidos. De fato, as matrizes da amostra 1 foram as que apresentaram menor

dureza (41,00 N) e maior porcentagem de perda de pós (1,54%). Na tentativa de corrigir o problema da amostra 1 optou-se por aumentar o tempo de compressão, uma vez que o processo foi realizado em equipamento excêntrico alternativo, de somente um estágio e com força de 60 kN. Neste contexto, o tempo de compactação foi alterado para 1 minuto para a Fórmula 2. As fórmulas 3 e 4 foram submetidas a um tempo de compressão de 2 minutos. Para todas, houve um aumento da dureza assim como redução da friabilidade.

**TABELA 4.8.** Valores obtidos nos ensaios de dureza e friabilidade dos comprimidos preparados com BNWC

|                           | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> |
|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| <b>*Dureza (N)</b>        | 41,00    | 111,50   | 128,50   | 164,50   |
| <b>CV (%)</b>             | (14,54)  | (10,54)  | (10,60)  | (8,70)   |
| <b>**Friabilidade (%)</b> | 1,54     | 0,13     | 0,13     | 0,11     |

\*Dureza: n = 20 comprimidos; \*\*Friabilidade: n = 10 comprimidos.

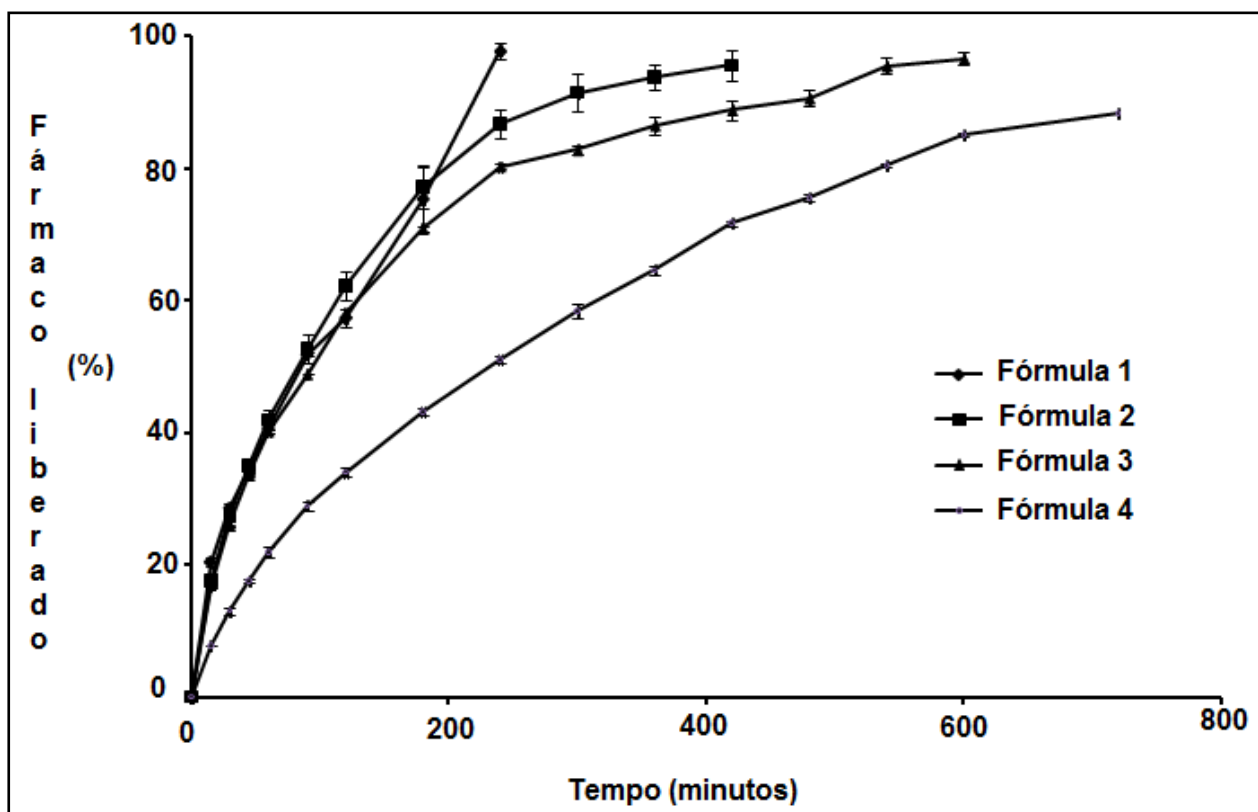
Em baixas forças de compressão, maior o tempo necessário para rearranjo e consolidação do material na matriz (Swarbrick, 2007; Haware *et al.*, 2010). Compressoras modernas, especialmente as rotativas, trabalham em dois estágios: um de pré-compressão (20 kN) seguida da compressão propriamente dita (entre 60 e 100 kN). Uma vantagem das compressoras rotativas é que as mesmas operam com elevada velocidade e exercem pressão em ambas as faces dos comprimidos, promovendo densificação mais homogênea (Palmieri *et al.*, 2005; Swarbrick, 2007). Portanto, além da força máxima de compressão, a velocidade dos ciclos de compressão, bem como o tempo de compressão, são parâmetros que exercem influência nas propriedades finais dos comprimidos (Aulton, 2007; Swarbrick, 2007).

#### 4.3.6.2. Estudos dos perfis de dissolução

O estudo do processo de liberação *in vitro*, empregando-se o perfil de dissolução, tem sido utilizado como parâmetro crítico para determinar o desempenho e definir a qualidade dos comprimidos de liberação modificada. O perfil de dissolução é um ensaio que permite visualizar como a dissolução dos fármacos ocorre, a partir das formas farmacêuticas, em função do tempo. É um ensaio derivado do teste de dissolução de um único ponto e consiste em uma ferramenta útil no desenvolvimento de formulações, uma vez que evidencia diferenças na dissolução causadas por fatores ligados ao fármaco, aos excipientes e à técnica de fabricação (*British Pharmacopoeia*, 2009; USP, 2009).

De acordo com a porcentagem de fármaco liberada pode-se notar que, para a Fórmula 1, quase 100% da liberação ocorreu nas 4 horas iniciais do ensaio, indicando que não houve integridade da matriz formada. De fato, ao final da primeira fase do ensaio (pH 1,2), com a troca das cubas, observou-se que todos os comprimidos haviam sofrido desagregação dentro das cestas. Tal resultado pode estar relacionado ao pequeno tempo usado no processo de compressão (30 segundos), insuficiente para permitir compressão e consolidação adequadas do material, não levando à formação de uma matriz, fato corroborado pela baixa dureza encontrada para a Fórmula 1 (41 N). Por outro lado, o aumento no tempo de compressão, aliado ao aumento na quantidade de excipiente, alterou os perfis de liberação. Para a amostra 2 (razão fármaco:excipiente de 1:1), foram necessárias 7 horas para a liberação de cerca de 95% do fármaco, enquanto que, para a amostra 3 (1:1,5), a mesma quantidade foi liberada em 10 horas. Contudo, o aumento no tempo de compressão da Fórmula 4 para 2 minutos, gerou liberação de 90% do fármaco ao final de 12 horas do ensaio. Os perfis de liberação para as Fórmulas 1 a 4 podem ser vistos na Figura 4.16.





**FIGURA 4.16.** Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 1, 2, 3 e 4 (BNWCs) em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8 (n=6 comprimidos).

Apesar da dureza não ser um atributo que pode ser correlacionado diretamente com a liberação de fármacos, no delineamento de comprimidos matriciais inertes, ou seja, de matrizes que não se alteram ou sofrem ligeira alteração na presença de água, uma maior dureza pode ser vantajosa para a manutenção da integridade da matriz e controle da liberação dos fármacos muito solúveis. Portanto, o aumento na dureza, pode causar menor porosidade nos comprimidos, com permeação reduzida dos fluidos biológicos e menor velocidade de liberação do PHCl.

#### 4.3.6.3. Avaliação da cinética de liberação

Após aplicação dos modelos matemáticos apresentados na Tabela 4.4, os resultados dos coeficientes de correlação ( $r$ ), obtidos por regressão linear, mostram que os modelos que mais se adequaram às formulações foram o de Higuchi e o Korsmeyer-Peppas, sugerindo a ocorrência de difusão segundo a lei de Fick. Tais resultados estão

em conformidade com diversos autores (Reza *et al.*, 2002; Mehrgan & Mortazavi, 2005; Ojoe *et al.*, 2005; Derle *et al.*, 2009). Como a Fórmula 1 desagregou-se totalmente nas primeiras horas de ensaio, sua cinética não foi avaliada. Os resultados dos valores de  $r$  para as Fórmulas de 2 a 4 são dados na Tabela 4.9.

Considerando que a forma dos comprimidos obtidos foi a cilíndrica e que o valor de  $n$  obtido para a Fórmulas 4 foi de 0,382 (abaixo de 0,45) pode-se sugerir que a liberação do PHCl se deu pelo mecanismo difusão Fickiana, uma vez que não ocorreu intumescimento e relaxação polimérica, alterações esperadas em casos de transporte anômalo (Martínez *et al.*, 2009). Os valores de  $n$  para as demais formulações não foram calculados.

**TABELA 4.9.** Valores obtidos para o coeficiente de correlação  $r$ , obtidos para os perfis de liberação das matrizes contendo BNWC como excipientes

| <b>Modelo/r</b>         | <b>2</b>      | <b>3</b>      | <b>4</b>      |
|-------------------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Ordem Zero</b>       | 0,9632        | 0,9628        | 0,9536        |
| <b>Ordem Um</b>         | 0,9551        | 0,9523        | 0,9518        |
| <b>Higuchi</b>          | <b>0,9957</b> | <b>0,9955</b> | 0,9949        |
| <b>Korsmeyer-Peppas</b> | 0,9672        | 0,9546        | <b>0,9987</b> |

#### 4.4. CONCLUSÕES

A polimerização em suspensão mostrou ser eficaz na preparação de copolímeros baseados nos monômeros EA, MMA e BMA, o que foi evidenciado pelos espectros FTIR dos materiais analisados, nos quais não foram observados picos a  $1630\text{ cm}^{-1}$ , indicando a ocorrência de quebra de ligações C=C e a formação de um novo produto.

No processo de polimerização em suspensão, quando a polimerização avança e a viscosidade no sistema eleva-se, a tendência à coalescência também aumenta. Evitar a coalescência da fase orgânica, na ausência de tensoativos, é um grande desafio da técnica em suspensão. O uso da concentração de 0,1 % de NWCs (em massa de monômeros) permitiu a ocorrência do processo e a formação de *beads* com tamanho de partícula reduzido e elevada esfericidade, evidenciando que as nanofibras de celulose foram eficientes ao atuarem como estabilizantes. Além da elevada área superficial das nanofibras ser suficiente para reduzir a energia para nucleação das gotas de monômero, as mesmas formam uma barreira mecânica, conferindo maior estabilidade térmica aos mesmos.

Os BNWCs apresentaram excelentes propriedades de fluxo e compactação, devido, provavelmente, à elevada esfericidade, tamanho médio de partícula de  $200\text{ }\mu\text{m}$  e densidade compactada apropriada. O aumento na quantidade de BNWC nas formulações dos comprimidos, aliado ao aumento no tempo de compressão, originou matrizes com maior dureza, menor friabilidade e maior tempo de liberação do fármaco modelo. Outra vantagem do uso dos *beads* é que em processos de granulação pela via úmida, os mesmos não se alteram na presença de água ou outro líquido aglutinante.

Os resultados prévios de viabilidade celular pelo Método MTT indicaram que os *beads* acrílicos preparados com ou sem NWCs mostraram ser atóxicos, sugerindo que

os mesmos podem ser empregados na preparação de sistemas de liberação de fármacos.

## **CAPÍTULO 5**

---

**Obtenção e caracterização de copolímeros por polimerização em emulsão e  
preparação de matrizes por compressão direta**

## 5.1. Polimerização em emulsão

**D**ispersões poliméricas são úteis para as mais variadas aplicações na área de biomateriais, visando obtenção de materiais para a fabricação de dispositivos médicos e sistemas de liberação de fármacos. Comumente, as dispersões poliméricas podem ser obtidas pela técnica de polimerização em emulsão, empregando diferentes métodos, inclusive na ausência de solventes orgânicos (*solvent free*), o que traz vantagens para o setor farmacêutico, uma vez que a ausência destes últimos é desejável (Asua, 2002; Asua, 2004; Zhang *et al.*, 2007). Polímeros insolúveis em água podem ser convertidos em dispersões aquosas com o uso da técnica de polimerização em emulsão, como é o caso do Eudragit<sup>®</sup> tipos NE 30D e NE 40D, que possuem 30 e 40% de conteúdo sólido, respectivamente (Cao *et al.*, 2007).

Do ponto de vista clássico, emulsões são sistemas heterogêneos, metaestáveis, formados pela mistura de duas fases imiscíveis, denominadas, contínua e descontínua. Um terceiro componente é adicionado ao sistema para estabilizá-lo, denominado emulsionante (emulsificante ou emulgente). As emulsões podem ser do tipo óleo em água (O/A), água em óleo (A/O) ou múltiplas (O/A/O ou A/O/A). O preparo de emulsões requer o fornecimento de energia para que a mistura e a estabilidade sejam conseguidas e mantidas (Gennaro, 2004; Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007). É importante ressaltar que os conceitos de microemulsões e nanoemulsões farmacêuticas diferem daqueles aplicados às Ciências dos Materiais. Segundo Aulton (2007), ao contrário das emulsões grosseiras, descritas anteriormente, microemulsões são sistemas homogêneos, isotrópicos, transparentes, de baixa viscosidade e termodinamicamente estáveis, com tamanho de gotículas entre 5 e 140 nm, obtidos quando uma mistura de tensoativos apropriada é usada. As nanoemulsões são obtidas como dispersões óleo em água, apresentando elevada

estabilidade cinética, em decorrência do reduzido tamanho de gota (Nemen & Lemos-Senna, 2001).

Na área de Ciências de Materiais, o termo polimerização em emulsão relaciona-se aos processos de obtenção de polímeros. Neste contexto, as emulsões podem ser classificadas como: (i) emulsões convencionais; (ii) emulsões em fase inversa; (iii) miniemulsões; e, (iv) microemulsões. Além das técnicas de preparo, a diferença entre as mesmas fundamenta-se, basicamente, no mecanismo de estabilização e na distribuição do tamanho das gotículas na fase dispersa (Asua, 2004).

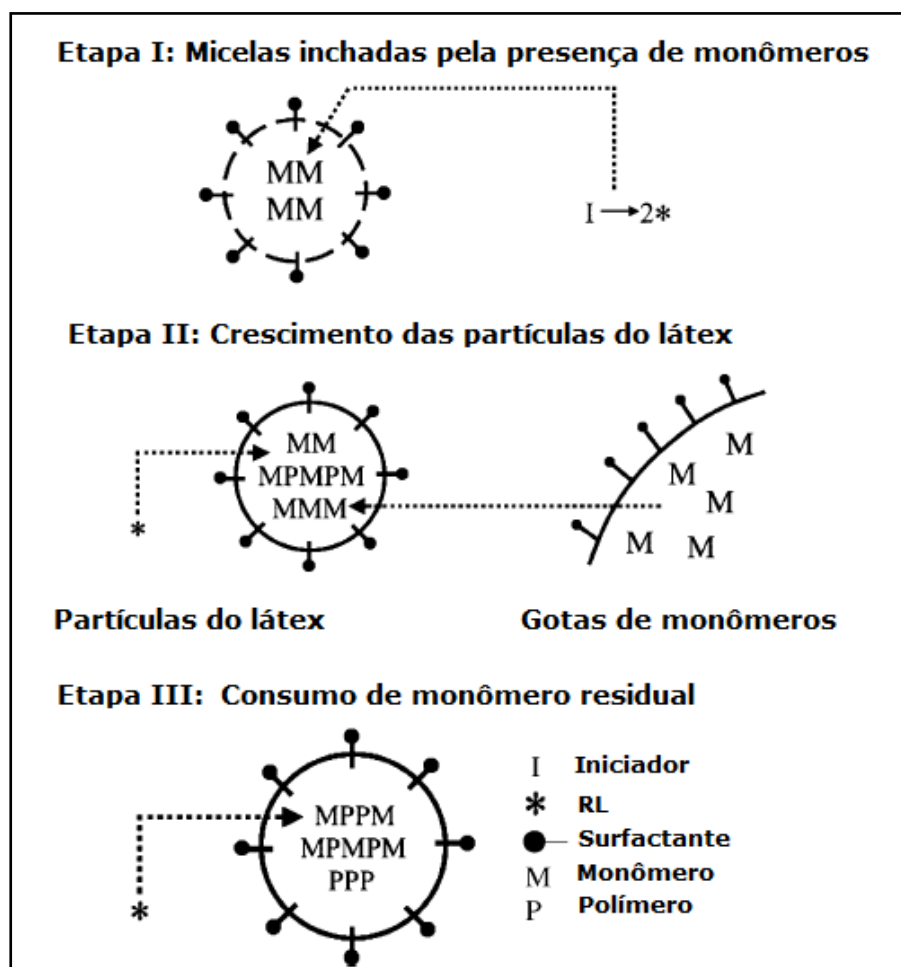
Do ponto de vista da Engenharia de Materiais, as emulsões convencionais (macroemulsões) são cineticamente estáveis e as gotículas de monômeros são mantidas dispersas na fase contínua devido à presença de surfactantes, utilizados em concentrações entre 1 e 3%. Após iniciação do processo de polimerização, o crescimento do polímero se dá por nucleação micelar ou homogênea. As macroemulsões são normalmente conhecidas pelo aspecto opaco e com distribuição de partículas entre 50 nm e 500 nm. Os monômeros usualmente empregados são aqueles com relativa solubilidade em água, como os acrílicos, metacrílicos, o estireno e o acetato de vinila. O tamanho das partículas pode ser controlado pelo tipo e quantidade de tensoativos, sendo que, quantidades mais elevadas podem gerar maior estabilidade interfacial e partículas com menor tamanho. A concentração do iniciador e o teor previsto em sólidos podem ser ajustados para controlar o tamanho das partículas. Já as emulsões inversas são aquelas nas quais a fase contínua é a orgânica, que são, geralmente, hidrocarbonos inertes. A fase aquosa constitui-se de monômeros solúveis em água, como as acrilamidas. O valor do Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (E.H.L.) dos tensoativos empregados no preparo destas emulsões deve ser inferior a 7, tais como o do Span<sup>®</sup> 40 e 85, o Brij<sup>®</sup> e alguns tipos de Pluronic<sup>®</sup>, uma série de surfactantes não-iônicos. Miniemulsões são cineticamente estáveis e possuem

tamanho compreendido também entre 50 e 500 nm. Porém, além do surfactante, empregam coestabilizantes como o hexadecano e alcoóis de cadeia longa. No preparo das miniemulsões são utilizados equipamentos como microfluidizadores ou homogeneizadores de alto cisalhamento. As miniemulsões são preparadas a partir de monômeros com limitada solubilidade em água e, no processo de polimerização, os radicais livres gerados na fase aquosa entram diretamente nas gotas de monômeros dispersas para iniciar a polimerização (as gotículas agem como reatores individuais). Por último, as microemulsões (nanoemulsões) são dispersões termodinamicamente estáveis, com tamanho de partícula inferior a 100 nm, podendo alcançar 10 nm. Apresentam-se como dispersões transparentes, pois, o pequeno tamanho provoca dispersão da luz. São espontaneamente formadas pela mistura de monômeros, água e elevada quantidade de tensoativos (cerca de 10%), podendo conter coestabilizantes como o hexanol ou o pentanol. Do ponto de vista da aplicação, são desvantajosas, já que possuem elevada quantidade de surfactante, que pode sofrer dessorção (Asua, 2002; Anderson & Daniels, 2003; Asua, 2004).

As emulsões poliméricas convencionais têm grande interesse, do ponto de vista industrial, devido à capacidade de formar filmes a temperatura ambiente. Os produtos obtidos são leitosos, com teor de sólidos entre 30 e 60% e com tamanho de partículas variando conforme o tipo de emulsão e modo de preparo. Por ser um processo compartimentalizado, os produtos finais possuem elevada massa molar (Cheremisinoff, 1989; Ai *et al.*, 2010). De modo similar à polimerização em suspensão, as propriedades finais dos látices, como estabilidade, capacidade de formar filmes, viscosidade, brilho e resistência mecânica, estão diretamente relacionadas com a distribuição do tamanho das partículas, que é governada por um equilíbrio dinâmico entre deformação, quebra e coalescência das gotículas (Odian, 2004; Chern, 2006; Santos *et al.*, 2006).



A técnica de preparo de emulsões convencionais, objetivo do presente trabalho, caracteriza-se por ser uma reação em cadeia, na qual os monômeros são dispersos em uma solução contendo surfactantes em concentração micelar acima da crítica (CMC). A polimerização origina uma dispersão de partículas denominada látex, com rápida conversão dos monômeros e aumento da massa molar. Além dos monômeros e surfactantes, outros constituintes são água, iniciadores e estabilizantes auxiliares (Asua, 2002; Chern, 2006). O processo de polimerização por nucleação das micelas ocorre em 3 etapas, representadas na Figura 5.1.



**Figura 5.1.** Representação esquemática do modelo de nucleação das micelas (Adaptado de Chern, 2006).

Inicialmente, as gotas de monômeros, o emulsificante, micelas contendo o monômero e o iniciador solubilizado na fase aquosa, coexistem no sistema. Com o aquecimento, o iniciador decompõe-se, formando os RLs (radicais livres), que reagem

rapidamente com os monômeros, iniciando a nucleação micelar (Etapa I). São formadas partículas de polímero inchadas por monômeros e estabilizadas pelo surfactante. Após a nucleação, as partículas de polímero continuam consumindo monômero e aumentando de tamanho. Ao final dessa etapa, praticamente todo o surfactante presente no meio está adsorvido na fase rica em polímero, caracterizando a Etapa II, ao final da qual, as gotas de monômeros desaparecem. A Etapa III é caracterizada pelo consumo de todo o monômero que está presente nas partículas de polímero, enquanto o número de partículas permanece constante (Wang *et al.*, 1996; Odian, 2004; Chern, 2006).

A polimerização em emulsão é um processo complexo já que nucleação, crescimento e estabilização das partículas do polímero são controlados pela formação de radicais livres (RLs) combinados com fenômenos de estabilização coloidal (Chern, 2006). Algumas variáveis que afetam o processo de polimerização em emulsão são temperatura da reação, concentração dos monômeros e tipo e quantidade de iniciadores (Sheibat-Othman & Othman, 2006). Uma importante diferença entre as polimerizações em suspensão e emulsão é que, nestas últimas, o iniciador empregado é solúvel na fase aquosa. O iniciador, mediante aquecimento, gera os RLs que reagem com os monômeros presentes dentro de micelas e iniciam a polimerização. Jain e colegas (2003) concluíram que a iniciação em processos de polimerização por iniciadores hidrossolúveis ocorre em duas etapas: a primeira na fase aquosa, com a geração de RLs e, a segunda, com a entrada dos RLs nas micelas. Geralmente, são empregados persulfatos (persulfato de sódio, persulfato de amônia e persulfato de potássio), peróxidos e hidroperóxidos, sozinhos ou associados a agentes redutores e/ou íons metálicos polivalentes, formando pares de oxirredução (Cheremisinoff, 1989; Lenzi, 2002; Ozturk & Cakmak, 2007). A quantidade usual de iniciadores empregada na polimerização em emulsão compreende-se entre 0,1 e 1% p/p, em relação à massa de monômeros. Látices persulfato-iniciados tendem a possuir carga

superficial aniônica, que contribui para a estabilidade coloidal do sistema. A vantagem do uso de pares redox é a capacidade de geração de radicais livres a baixas temperaturas (Anderson & Daniels, 2003). O controle da temperatura no processo é importante, uma vez que governa a taxa de decomposição do iniciador e a formação de RLs (Araújo & Giudici, 2003).

Os surfactantes empregados na polimerização em emulsão têm a função de formar micelas, reduzir o tamanho das partículas e estabilizar os látices. Micelas podem ser definidas como aglomerados que se auto-organizam no meio, adquirindo forma esférica, visando alcançar estabilidade termodinâmica, o que acontece quando a CMC é alcançada (Bae & Yin, 2008). Os surfactantes podem ser catiônicos, aniônicos ou não iônicos. Os mais empregados são alquil sulfatos e alquil lauril sulfatos (Cheremisinoff, 1989). Em emulsões convencionais os surfactantes são usualmente empregados na proporção de 1 a 3% p/p em relação à quantidade de monômeros (Becher, 2001; Larpent, 2003). Uma mistura de surfactantes permite obter um sistema com E.H.L. apropriado, gerando uma gama de possibilidades para estabilização das emulsões, com redução na quantidade total de surfactante no sistema (Porras *et al.*, 2004; Sajjadi *et al.*, 2004; O'Lenick, 2005; Sajjadi *et al.*, 2006). Além de controlar o E.H.L., a mistura de aniônicos e não-iônicos contribui para a estabilidade, pois, enquanto o aniônico controla o estágio de nucleação das partículas, o não-iônico provém estabilidade mecânica e controla as cargas eletrolíticas no sistema, contribuindo para um potencial zeta adequado (Anderson & Daniels, 2003; Chern, 2006).

Quanto maior a quantidade de surfactante, maior a tendência de se obter emulsões estáveis e com baixo tamanho de partícula, porém, a viscosidade pode aumentar e alcançar o estágio denominado *creaming*, o que é desvantajoso para a aplicação a que se destina o polímero (Sajjadi, 2006). Em aplicações farmacêuticas,

grande quantidade de tensoativos pode aumentar o potencial de toxicidade do material, uma vez que os surfactantes convencionais são não reativos e podem sofrer dessorção das cadeias poliméricas (Guyot, 2004).

Os surfactantes podem interagir de dois modos com os polímeros: através de atrações eletrostáticas (quando ambos têm cargas opostas) ou forças de atração hidrofóbicas (quando as regiões apolares de ambos se aproximam) (Proietti *et al.*, 2002). O uso de *surfmers* (surfactantes reativos), que permanecem ligados às macromoléculas, sem migrar para a superfície, é uma das alternativas estudadas para redução na quantidade de tensoativos não reativos (Dufour & Guyot, 2003; Asua, 2004; Jiang & Du, 2005).

Outro fator que interfere na técnica de polimerização em emulsão é o volume de água presente na formulação, uma vez que sua quantidade governa a exotermia da reação, podendo dificultar o controle do processo. Em baixa porcentagem de água e elevada proporção de monômeros, a viscosidade ( $\eta$ ) no meio reacional será aumentada e a transferência de calor prejudicada (baixas taxas de difusão e de condutividade térmica), levando à formação de aglomerados (O dian, 2004; Palma & Giudici, 2006). A alta taxa de conversão de monômeros, em decorrência do controle da reação, gera polímeros com baixo teor de monômero residual, reduzindo a possibilidade de toxicidade devido à presença dos mesmos. Ainda, elevada quantidade de monômeros livres pode ocasionar odor desagradável, inviabilizando o uso do copolímero em aplicações farmacêuticas. Emprego de atmosfera inerte e controle do tempo total da polimerização (entre 1 e 4 horas) podem propiciar a preparação de látices com alto teor de sólidos e baixa porcentagem de monômeros livres (O dian, 2004; Hirota *et al.*, 2004).

Além do uso de tensoativos em quantidade apropriada e do controle dos parâmetros reacionais, o emprego de estabilizantes auxiliares, como poli(álcool

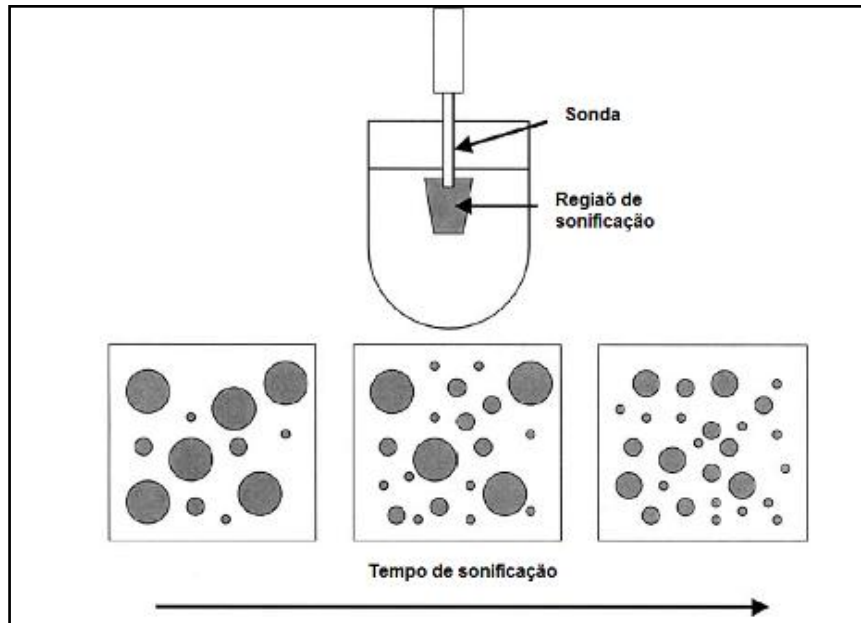
vinílico), polissacarídeos e derivados da celulose, que atuam como colóides hidrofílicos, contribuem para a estabilidade do sistema. Partículas sólidas finamente divididas e molháveis por ambas as fases, são capazes de posicionarem-se na interface entre os líquidos e promover estabilidade estérea. Emulsões contendo tais partículas são denominadas "*Pickering Emulsions*" e podem ser preparadas pelo uso de laponita, montmorilonita, hidroxiapatita, carbonato de sódio e sílica modificada, entre outros. A energia livre de *Gibbs*, necessária para remover uma partícula sólida de uma interface nas emulsões do tipo *Pickering*, é maior quando comparada com surfactantes convencionais, promovendo maior estabilidade (Wolters *et al.*, 2001; Giermanska-Kahn *et al.*, 2002; Dai *et al.*, 2008).

A tendência atual dos processos de polimerização em emulsão é produzir látices com elevado teor em sólidos. São várias as vantagens que tais sistemas apresentam, cabendo destacar o menor custo de produção, armazenagem e transporte, menor consumo de água durante a produção e a não necessidade de concentrar a emulsão para algumas aplicações (Du *et al.*, 2002; Boutti *et al.*, 2005; Palma & Giudici, 2006).

Do ponto de vista farmacêutico, emulsões com alto teor de sólidos apresentam um tempo menor de secagem durante a formação de filmes (Palma & Giudici, 2006) e a utilização de menor quantidade para a preparação de matrizes empregando granulação pela via úmida, otimizando a obtenção dos granulados (Villanova, 2001; Ojoe *et al.*, 2005). Como desvantagens do processo cabem destacar o aumento da viscosidade no sistema quando o volume da fase dispersa aproxima-se de uma densidade de empacotamento máxima, o que é uma condição limite de estabilidade coloidal. Em decorrência, a dissipação do calor é baixa e pode ocorrer a formação de aglomerados (Du *et al.*, 2002; Palma & Giudici, 2006; Ai *et al.*, 2010).

Dispersões poliméricas com partículas de menor tamanho e distribuição polimodal tendem a apresentar, além do maior conteúdo de sólidos, viscosidade

aumentada. Contudo, é necessário que a viscosidade do sistema seja baixa, para que ocorra alta taxa de remoção de calor e melhor mistura durante o processo (Asua, 2004). Uma alternativa que vem sendo estudada para elevar o teor de sólidos nos látices, mantendo uma baixa viscosidade no meio, e, reduzindo a necessidade de grandes concentrações de surfactantes, é o emprego de métodos mecânicos, tais como o uso de ultrassom (US), microfluidizadores ou homogeneizadores de alta pressão (Landfester, 2002; Landfester, 2006; Bradley *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005; Teo *et al.*, 2008). As gotas da fase dispersa sofrem deformações ao colidirem com bolhas vazias ou cheias com vapor do próprio monômero e as novas gotas formadas são estabilizadas pelos surfactantes dissolvidos na fase contínua (Martinez *et al.*, 1999). Assim, ocorre um aumento na velocidade de formação de gotículas e no número de gotículas formadas, o que leva a uma distribuição de tamanho de partículas mais estreita e uniforme, evitando que os fenômenos de coalescência e/ou degradação difusional aconteçam. Autores afirmam que, quanto maior a hidrofobia dos monômeros, maior será o tempo e sonificação requerido para a estabilização do sistema (Landfester *et al.*, 2004; Landfester, 2006; Solans *et al.*, 2005). Segundo Teo *et al.* (2008), o uso do ultrassom pode reduzir a temperatura da reação por gerar radicais livres; reduzir necessidade do emprego de hidrófobos coestabilizante e pode contribuir para o fenômeno de degradação difusional (*Ostwald Ripening*), otimizando a fragmentação contínua das gotas maiores em menores e aumentando o número e tamanho das mesmas. Assim, a polimerização pode ser acelerada e pode-se obter uma faixa mais estreita de polidispersão para o tamanho das gotículas. A cavitação acústica é o processo que rege a emulsificação gerada por ultrassom (Figura 5.2).



**Figura 5.2.** Representação do processo de sonificação (Adaptado de Asua, 2002).

Ostroski e Stambaugh (1950) foram os primeiros a empregar o ultrassom em processos de emulsificação convencional e a observarem que a taxa de polimerização foi aumentada devido ao aumento na eficiência do processo de mistura. Comparada às técnicas convencionais, aquelas iniciadas por ultrassom podem desencadear uma rápida polimerização, maior conversão de monômeros e originar polímeros com massa molar mais elevada (Yin & Chen, 2005a; Yin & Chen, 2005b; Teo *et al.*, 2009).

Assim, o objetivo principal desta etapa do trabalho foi obter uma dispersão acrílica por polimerização em emulsão, contendo teor em sólidos maior ou igual a 50%. Vale lembrar que dispersões poliméricas acrílicas, comercialmente disponíveis, possuem teor em sólidos de 40%. Para tal, foi empregada a sonificação com o intuito de obter pré-emulsões com menor tamanho e maior número de gotículas para início da polimerização, com a intenção de evitar a utilização de altos teores de surfactantes e a presença de coestabilizantes. Dessa forma, o teor em sólidos do látex final pode ser aumentado. Em seguida, foi proposta a obtenção e a avaliação de um excipiente sólido a partir dos copolímeros obtidos, visando à possibilidade de preparação de

comprimidos de liberação prolongada a partir de matrizes inertes (plásticas), via compressão direta.

Para o alcance do objetivo principal, o trabalho foi dividido em três fases. Inicialmente foi realizada a preparação e a caracterização de copolímeros acrílicos pelo processo de emulsificação convencional. Na segunda fase, as emulsões foram liofilizadas, para a obtenção do excipiente sólido. O polímero liofilizado foi avaliado quanto sua aplicabilidade como excipiente farmacêutico, no que diz respeito ao tamanho das partículas, morfologia e fluxo. Ainda, nesta etapa, foi feita a análise preliminar da citotoxicidade *in vitro* das amostras obtidas, empregando o ensaio de MTT. Por último, o excipiente foi empregado na preparação de comprimidos matriciais contendo cloridrato de propranolol e a liberação do fármaco, bem como as demais especificações, foram estudadas de acordo com metodologia da *United States Pharmacopeia* 32<sup>th</sup> edição (2009) e da Farmacopeia Brasileira 4<sup>a</sup> edição (1988).



## 5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.2.1. MATERIAIS

#### 5.2.1.2. Reagentes

- Acrilato de etila - *Aldrich*
- Metacrilato de metila - *Aldrich*
- Metacrilato de butila - *Aldrich*
- Lauril sulfato de sódio - *Cognis*
- Renex<sup>®</sup> 300 - *Oxiteno*
- Span<sup>®</sup> 85 - *Synth*
- Sulfato ferroso - *Synth*
- Persulfato de amônio - *Synth*
- Ditionito de sódio - *Synth*
- Ácido ascórbico - *Synth*
- Hidroperóxido de cumeno - *Sigma*
- Solução de ácido clorídrico 0,1N - *Synth*
- Cloridrato de propranolol (PHCl). Lote: PR07091F12. Validade: 08/2012. Fornecedor: *Attivos Magistrais*. Teor: 101,09% (Laudo de Análise) (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Celulose microcristalina PH 102 (Comprecel<sup>®</sup>). Lote: C0910038. Validade: 10/2012. Fornecedor: *Valdequímica*. (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Dióxido de silício coloidal (Aerosil<sup>®</sup>) - *Aldrich*
- Cloreto de sódio Grau Reagente - *Synth*
- Ácido clorídrico Grau Reagente - *Synth*
- Ácido cítrico monoidratado Grau Reagente - *Synth*
- Fosfato de sódio dibásico anidro Grau Reagente - *Synth*

- [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólico] (MTT) - *Sigma-Aldrich*
- Meio de cultura Eagle modificado (DMEM) - *Gibco*
- Solução salina fosfato tamponada (PBS) - *Gibco*
- Soro fetal bovino (SFB) - *Gibco*

#### 5.2.1.2. Equipamentos

- Balança analítica *Bioprecisa*, modelo FA2104N
- Agitador mecânico *Fisatom*, modelo 713 D
- Manta aquecedora *Fisatom*, modelo 102K
- Ultrassom *Branson Research*, modelo 450D
- Liofilizador *Terroni*, modelo LT 600
- Espectrofotômetro *Thermo Scientific*, modelo Nicolet Nexus 470
- Viscosímetro *Brookfield*, modelo RV-DVII + Pro
- pHmetro *Marconi*, modelo MA PA 200
- Sistema de Calorimetria Exploratória Diferencial *Shimadzu*, modelo DSC50
- Sistema de Análise Termogravimétrica *Shimadzu*, modelo DTG60
- Granulômetro por espalhamento dinâmico de luz *Malvern Instrument*, modelo Zetasizer Nano-ZS
- Microscópio Eletrônico de Varredura *JEOL*, modelo JSM-5410
- Microscópio Eletrônico de Varredura *JEOL*, modelo JSM 6360LV
- Balança *Gehaka*, modelo BG 200
- Compactador automático (Volumeter Tapped Density) *Erweka*, modelo SVM 201
- Aparelho de escoamento (Granulate Flow Tester), *Erweka*, modelo GTB
- Espectrofotômetro *Anthos Labtec Instruments*, modelo ADAP 1.6
- Prensa automática *CIOLA*, com matriz cilíndrica e punção de 11 mm
- Balança Analítica *Bel Engineering*, modelo Mark 210 A
- Durômetro digital portátil, *Nova Ética*, modelo 298/DGP
- Friabilômetro *Nova Ética*, modelo 300.1

- Aparelho de dissolução *Quimis*, modelo Q850 - 8 Provas
- Espectrofotômetro UV-VIS *Shimadzu*, modelo 1601 PC

### 5.2.3. MÉTODOS

Apesar de látices poliméricos obtidos por polimerização em emulsão apresentarem inúmeras vantagens, o aumento da viscosidade da dispersão, o controle do tamanho e distribuição das partículas e o difícil controle da temperatura durante a síntese, são os principais problemas relacionados com a técnica (Du *et al.*, 2001). Na tentativa de obter uma dispersão aquosa de um copolímero acrílico com elevado teor em sólidos e, ao mesmo tempo, controlar a temperatura da reação e a viscosidade, foi proposta a polimerização em emulsão em dois estágios, empregando par redox.

A metodologia foi adaptada a partir de Sullivan e Mallios (1966), que utilizaram a técnica para a produção de um látex polimérico a ser empregado como tinta. O método descrito consistia do uso de um sistema baseado em pré-emulsões, contendo um par redox hidrossolúvel - peróxido de amônio ou de sódio associado ao sulfato ferroso ou ácido ascórbico. Os surfactantes utilizados pelos autores foram o lauril sulfato de sódio ou o lauril éter sulfito de sódio. As reações foram idealizadas para ocorrerem em duas etapas, nas quais a temperatura deveria ser controlada para permanecer entre 30 e 85° C. Os tipos e quantidades de monômeros foram variados.

Na tentativa de otimizar o método proposto pelos autores, neste trabalho, a quantidade total de água a ser empregada foi determinada, mediante a realização de cálculos de entalpia, de modo a controlar a exotermia da reação. A formulação foi delineada para ocorrer em duas fases, preparadas separadamente, com posterior adição de uma sobre a outra. A quantidade de água foi dividida entre as pré-emulsões, sendo a primeira do tipo O/A e a segunda A/O, o que justifica a inclusão do Span<sup>®</sup>, um tensoativo de baixo E.H.L., para estabilizar a segunda pré-emulsão. Por último, foi empregada a sonificação na fase de obtenção de pré-emulsões, objetivando obter menor tamanho de partícula e maior número de gotículas para início da polimerização.

### 5.2.3.1. Cálculos teóricos: variação da temperatura de reação, teor de sólidos e T<sub>g</sub> do copolímero

Segundo a Lei de Hess, a entalpia de reações que ocorrem em mais de uma etapa é o somatório das entalpias das reações individuais, dado que a entalpia é a medida do calor transferido entre o sistema e sua vizinhança, à pressão constante (Florence & Attwood, 2005). Para o sucesso no controle da exotermia reacional, é necessário prever a variação da temperatura durante cada etapa, que pode ser calculada com base na relação entre entalpia (H) de reação e a capacidade calorífica (C<sub>p</sub>) dos monômeros e tensoativos usados. Assim, a porcentagem de monômeros em cada pré-emulsão, bem como da água, pode ser estimada, considerando-se que a temperatura de pico da reação não deve ser superior a 85 – 90° C. Tal cálculo pode ser realizado mediante aplicação da Equação 5.1, dada a seguir:

$$\Delta T = \frac{\sum \Delta H}{\sum \Delta C_p}$$

[Equação 5.1]

onde:

$\Delta T$  = variação de temperatura (°C);

$\Delta H$  = variação de entalpia de reação (cal/g.°C); e,

$\Delta C_p$  = variação de capacidade calorífica (cal/g).

Os valores da variação da entalpia e da capacidade calorífica dos monômeros e dos tensoativos utilizados no presente trabalho são dados na Tabela 5.1. Monômeros que resultam em polímeros com T<sub>g</sub> elevada, tais como o MMA, tendem a aumentar a dureza e o brilho do material obtido. Por outro lado, monômeros que resultam em homopolímeros com T<sub>g</sub> reduzida, como o BMA e o EA, contribuem para o aumento da flexibilidade e da maciez do látex.

**TABELA 5.1.** Valores de variação de entalpia e da capacidade calorífica

| <b>Monômero</b>       | <b><math>\Delta H</math></b><br><b>(cal/g°C)</b> | <b>Cp</b><br><b>(cal/g)</b> |
|-----------------------|--|-----------------------------|
| Metacrilato de metila | 130,00   | 0,45                        |
| Metacrilato de butila | 100,00   | 0,37                        |
| Acrilato de etila     | 156,00   | 0,47                        |
| Tensoativos           | -  | 0,70                        |

**TABELA 5.2.** Parâmetros para determinação da  $T_g$ 

| <b>Monômeros que originam homopolímeros</b> | <b><math>T_g</math> (°C)</b> | <b>Temperatura (K)</b> | <b>Fator (1000/K)</b> |
|---|------------------------------|------------------------|-----------------------|
| Metacrilato de metila                       | 104,00                       | 377,00                 | 2,65                  |
| Metacrilato de butila                       | 20,00                        | 293,15                 | 3,41                  |
| Acrilato de etila                           | - 22,00                      | 251,00                 | 3,98                  |

O teor de sólidos no produto final também pode ser estimado mediante estabelecimento da relação entre a massa dos componentes (exceto a água) e a massa total da formulação (incluindo a quantidade de água), nas duas fases da reação. Por último, a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) esperada para o polímero pode ser calculada a partir da multiplicação das  $T_g$ s individuais pela porcentagem empregada de cada monômero. O cálculo considera um fator obtido pela divisão de 1000 pela  $T_g$  do monômero (em Kelvin) e é baseado na Equação de Fox (Equação 5.2):

$$\frac{1}{T_g} = \frac{V_{m1}}{T_{g1}} + \frac{V_{m2}}{T_{g2}}$$

[Equação 5.2]

onde  $V_m$  é a fração em massa dos componentes no copolímero (Quental *et al.*, 2010). A  $T_g$  e o fator dos monômeros utilizados são fornecidos na Tabela 5.2.

### 5.2.3.2. Preparo dos copolímeros acrílicos

Os monômeros empregados na preparação foram o BMA, o MMA e o EA, sem purificação prévia. Foram preparados dois copolímeros (nomeados A e B). No copolímero A, a proporção MMA:BMA:EA foi de 60:20:20, enquanto que para o copolímero B, a razão foi de 50:30:20.

Inicialmente, foram realizados os cálculos para previsão do teor em sólidos, temperaturas de pico das reações e  $T_g$  dos copolímeros formados. O teor calculado de sólidos para os Copolímeros foi de 57% para o A e 55% para o B. A  $T_g$  calculada para o copolímero A, foi de 53° C, enquanto que para o copolímero B foi de 45° C. Por último, foram estimadas as temperaturas máximas das reações. Para o copolímero A, as variações de temperatura ( $\Delta T$ ) foram 70 e 66° C, para as fases 1 e 2, respectivamente. Para o Copolímero B, os valores de  $\Delta T$  foram de 69 e 61° C. Portanto, os picos teóricos calculados para as fases 1 e 2 do Copolímero A foram 90 e 86° C, enquanto que para o Copolímero B, 89 e 81° C. A temperatura inicial da reação foi de 20° C.

As reações de polimerização ocorreram em duas fases, denominadas 1 e 2. Os parâmetros de reação foram mantidos os mesmos para ambos os copolímeros. Para a realização da síntese foi empregado um balão de 250 mL, tritubulado, equipado com um agitador mecânico digital, um termômetro e um sistema de entrada de nitrogênio, para controle do microambiente de polimerização, o que auxiliou na manutenção da temperatura inicial a 20° C. Uma manta de aquecimento/resfriamento foi empregada para controlar a temperatura durante a polimerização. As composições propostas para as emulsões são dadas nas Tabelas 5.3 e 5.4, respectivamente.

**TABELA 5.3.** Composição qualitativa e quantitativa do Copolímero A (60:20:20)

| <b>Componentes</b>                       | <b>Quantidade</b> |               |
|--|-------------------|---------------|
|  | <b>Fase 1</b>     | <b>Fase 2</b> |
| MMA (g)                                  | 23,4              | 34,00         |
| BMA (g)                                  | 7,00              | 11,30         |
| EA (g)                                   | 7,00              | 11,30         |
| Lauril sulfato de sódio (25%p/V) (g)     | 3,00              | 1,50          |
| Renex <sup>®</sup> 300 W 30 (70%p/V) (g) | 0,30              | 0,70          |
| Span <sup>®</sup> 85 (g)                 | -                 | 1,00          |
| Água purificada (mL)                     | 50,00             | 20,00         |
| <b>Iniciadores</b>                       |                   |               |
| Sulfato ferroso (g)                      | 0,016             | 0,004         |
| Persulfato de amônia (g)                 | 0,08              | 0,11          |
| Ditionito de sódio (g)                   | 0,08              | 0,11          |
| <b>Iniciadores auxiliares</b>            |                   |               |
| Hidroperóxido de cumeno (mL)             | 0,10              | 0,324         |
| Ácido ascórbico (g)                      | -                 | 0,056         |



**TABELA 5.4.** Composição qualitativa e quantitativa do Copolímero B (50:30:20)

| Componentes                              | Quantidade |        |
|--|------------|--------|
|  | Fase 1     | Fase 2 |
| MMA (g)                                  | 18,8       | 28,20  |
| BMA (g)                                  | 11,28      | 16,92  |
| EA (g)                                   | 7,60       | 11,20  |
| Lauril sulfato de sódio (25%p/V) (g)     | 3,00       | 1,50   |
| Renex <sup>®</sup> 300 W 30 (70%p/V) (g) | 0,20       | 1,00   |
| Span <sup>®</sup> 85 (g)                 | -          | 0,80   |
| Água purificada (mL)                     | 50,00      | 26,00  |
| <b>Iniciadores</b>                       |            |        |
| Sulfato ferroso (g)                      | 0,016      | 0,004  |
| Persulfato de amônia (g)                 | 0,08       | 0,11   |
| Ditionito de sódio (g)                   | 0,08       | 0,11   |
| <b>Iniciadores auxiliares</b>            |            |        |
| Hidroperóxido de cumeno (mL)             | 0,10       | 0,324  |
| Ácido ascórbico (g)                      | -          | 0,056  |

As pré-emulsões foram preparadas em ultrassom na tentativa de aumentar a área superficial e reduzir o tamanho das gotículas, equalizando a distribuição das mesmas, o que pode gerar redução na viscosidade do látice polimérico. Contudo, alguns autores consideram o contrário: uma ampla variação na distribuição pode reduzir a viscosidade por favorecer o empacotamento das gotículas (Ai *et al.*, 2010).

Na fase 1, os componentes foram pesados, adicionados em *becker* e levados ao ultrassom (*Branson Research*, 450D) em banho de gelo, para evitar a polimerização da pré-emulsão, uma vez que durante a sonificação, a temperatura no sistema eleva-

se, espontaneamente. A pré-emulsão foi sonificada durante 15 minutos. Os parâmetros empregados foram amplitude de 50% e uso do modo descontínuo, com pulsos de 5 segundos (*pulse on*), seguidos de 5 segundos de repouso (*pulse off*). A pré-emulsão assim obtida foi transferida para o reator, ao qual foram adicionados os iniciadores, sob agitação lenta (250 rpm). Simultaneamente, a fase 2 foi preparada e levada ao ultrassom (parâmetros de funcionamento: amplitude de 40%, *pulse on* de 5 segundos e *pulse off* de 10 segundos). Quando a temperatura da fase 1 alcançou cerca de 20° C, a fase 2 foi adicionada, juntamente com os iniciadores. A agitação foi continuada até alcançar o pico e resfriar. Ao aproximar-se de 40° C foram adicionados o ácido ascórbico e o hidroperóxido de cumeno, para continuar a reação e consumir monômeros livres.

Os tensoativos escolhidos foram o lauril sulfato de sódio (LSS - surfactante aniônico, com E.H.L. estimado em 40) e o nonilfenol etoxilado (Renex<sup>®</sup> 300 - tensoativo não iônico, com E.H.L. estimado em 17,1). O Span<sup>®</sup> 85 (tensoativo não-iônico), com E.H.L. estimado em 1,8, foi adicionado na fase 2, uma vez que esta apresenta maior conteúdo de fase orgânica. A quantidade de tensoativos e a porcentagem de iniciadores também foram mantidas iguais em ambas as reações. O total de surfactante empregado foi de 3%p/p e a porcentagem total de iniciadores foi 0,88%p/p, ambos com relação à massa de monômeros. O iniciador sulfato ferroso, para atuar, requer pH abaixo de 5, portanto, quando necessário, o pH das pré-emulsões foi controlado com a adição de hidróxido de sódio 0,1N. A quantidade de água foi calculada para cada fase de ambas as reações.

Na síntese dos Copolímeros A e B o conteúdo de lauril sulfato de sódio foi de 3%p/p, com base na massa de monômeros. A quantidade de surfactantes pode ser considerada pequena, uma vez que a preparação de microemulsões, por exemplo, requer grandes quantidades de surfactantes ( $\geq 10\%$ ) para a formação das gotículas

(Anderson & Daniels, 2003; Xu & Gan, 2005). Após a preparação das emulsões foram obtidos filmes por *casting*, secos em estufa a 40° C, durante 24 horas. Os filmes foram caracterizados por FTIR. O teor de sólidos foi determinado por gravimetria. O tamanho médio e a distribuição do tamanho das partículas na emulsão foi determinado por espalhamento dinâmico de luz e o potencial zeta por mobilidade eletroforética. Posteriormente, parte da emulsão foi aliquoteada em frascos plásticos, congelada em nitrogênio líquido e liofilizada em equipamento LT600 (Terroni), a -55° C, durante 24 horas. O sólido obtido foi caracterizado por FTIR, análises térmicas e submetido a ensaios físicos, para avaliação micromerítica. Por último, o polímero na forma sólida teve sua toxicidade analisada empregando ensaio de viabilidade celular pela técnica do MTT. Depois de caracterizados, os Copolímeros A e B foram empregados no preparo de matrizes por compressão direta e a qualidade dos comprimidos foi verificada.

### **5.2.3.3. Caracterização dos copolímeros em emulsão**

#### **5.2.3.3.1. Análises espectrofotométricas**

Os espectros dos Copolímeros A e B foram obtidos em aparelho *Thermo Scientific Nicolet 6700*, no modo de absorção. Para avaliação dos látices, foram preparados filmes por *casting*, com secagem a 40° C durante 24 horas. Espectros micro-FTIR-ATR, na região de 650 - 4000 cm<sup>-1</sup> foram obtidos, empregando-se microscópio Centaurus acoplado ao espectrômetro, utilizando cristal de germânio. Os espectros foram adquiridos com 64 acumulações, com resolução espectral melhor que 4 cm<sup>-1</sup>, sob purga de nitrogênio seco.

#### **5.2.3.3.2. Determinação do teor em sólidos por gravimetria**

A expressão perda por dessecação refere-se à perda em massa, de água e outros componentes residuais voláteis, após secagem, até peso constante. A análise é

também denominada de gravimetria. Para realização do ensaio, foram depositados 200 µL de cada emulsão em uma lâmina de vidro, previamente dessecada e pesada. A lâmina contendo a amostra foi novamente pesada e levada para estufa, a 105° C. Após 1 hora, a lâmina foi retirada e deixada na presença de sílica gel, até a temperatura ambiente ser alcançada. A lâmina foi novamente pesada. A diferença entre a massa antes e depois da secagem foi determinada e representou a porcentagem de sólidos presentes nas amostras. As etapas devem ser repetidas até que a diferença entre as massas não seja maior que 0,5% (Riddle, 1954; Tynan & Merken, 1965; Anderson & Daniels, 2003). As análises foram feitas em triplicata.

#### **5.2.3.3.3. Determinação do pH**

O pH foi verificado por medida direta, empregando pHmetro digital Marconi (modelo MA PA 200). As medidas foram feitas em triplicata.

#### **5.2.3.3.4. Avaliação da viscosidade**

A viscosidade aparente dos látices sintetizados foi determinada empregado o viscosímetro Brookfield (modelo RV-DVII + Pro). As análises foram realizadas utilizando o adaptador para pequenas quantidades de amostra (*Sample Adapter*, modelo 13R), termostatizado a 25° C. Foi empregado *spindle* SC4-21 e as leituras foram efetuadas a 200 e 100 rpm. O resultado é a média de 5 determinações tomadas a cada 10 segundos, com períodos de equilíbrio de 60 segundos.

#### **5.2.3.3.5. Avaliação do tamanho médio de partícula, distribuição granulométrica e medida do potencial zeta das emulsões poliméricas**

O diâmetro médio e a polidispersão das partículas foram determinados através de espalhamento dinâmico de luz (EDL), utilizando equipamento Zetasizer, modelo Nano-ZS (*Malvern Instruments*). As análises foram realizadas a temperatura ambiente, após

diluição das amostras na proporção de 1:500 (v/v) em água Milli-Q® e sonificação da solução durante 5 minutos. A distribuição de tamanho foi avaliada efetuando-se três leituras para cada amostra.

A determinação do potencial zeta ( $\xi$ ) foi realizada no mesmo equipamento, sem variação do pH ( $\sim$  entre 6 e 7), a temperatura ambiente. As amostras foram diluídas na proporção de 1:500 (v/v) em água Milli-Q® e sonificadas durante 5 minutos. Partículas em suspensão apresentam acúmulo de carga superficial que origina um potencial elétrico, cuja medida permite obter informações sobre a estabilidade do sistema. O potencial zeta foi medido através da mobilidade eletroforética e as leituras foram feitas em triplicata.

#### **5.2.3.3.6. Fotomicrografias**

As fotomicrografias da emulsão polimérica foram obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), em microscópio *JEOL*, modelo JSM-6360LV, com espectrômetro de Energia Dispersiva de Raios-X, marca *THERMO NORAN*, modelo Quest, acoplado e sistema de recobrimento *BAL-TEC*, modelo MCS 010. O potencial de aceleração foi de 15 KV. Para o preparo da amostra, uma gota da emulsão polimérica foi depositada em placa de silício e deixada secar a temperatura ambiente, de um dia para o outro. O filme seco foi metalizado por recobrimento com ouro. As análises foram efetuadas no Centro de Microscopia da UFMG.

#### **5.2.3.3.7. Análises térmicas**

Para pesquisar os eventos térmicos nos copolímeros antes e após o processo de liofilização, análises termogravimétricas (TG, DTG e DTA) foram realizadas em aparelho Shimadzu DTG60, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de N<sub>2</sub>, com fluxo de 100 mL por minuto e razão de aquecimento foi de 10° C por minuto. As análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram efetuadas em equipamento

Shimadzu DSC50, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de hélio, com fluxo de 50 mL/minuto. Para todas as amostras, foram realizadas duas corridas: a primeira (isoterma de equilíbrio) foi feita entre as temperaturas de -10° C a 100° C, com rampa de aquecimento de 10° C por minuto. A segunda corrida foi realizada entre -10° C e 400° C, com rampa de aquecimento de 10° C por minuto.

#### **5.2.3.3.8. Caracterização micromerítica dos excipientes**

Para a preparação de comprimidos pela via direta, as partículas, tanto do fármaco quanto dos excipientes, devem ter um tamanho compreendido entre 100 e 200 µm em decorrência das características requeridas de compactação e fluxo dos pós. O tamanho das partículas, assim como a morfologia, exerce influência marcante em várias etapas do processo produtivo, incluindo mistura, granulação, compressão e revestimento (Shekunov *et al.*, 2007; Virtanen *et al.*, 2010). Além da manufaturabilidade, o tamanho das partículas pode determinar parâmetros de qualidade das formas farmacêuticas sólidas, bem como a dissolução e liberação do fármaco a partir das formas sólidas orais (Hu *et al.*, 2004).

Portanto, após secagem dos copolímeros por liofilização e obtenção dos excipientes na forma particulada, os mesmos tiveram suas propriedades de interesse farmacêutico avaliadas. Para tal, foram empregadas as mesmas técnicas descritas no Capítulo 4, na análise dos *beads*.

A morfologia das partículas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As partículas foram recobertas com ouro e as imagens foram adquiridas em equipamento JEOL, modelo JSM-5410, com um potencial de aceleração de 10 kV.

A densidade aparente e a densidade compactada do material foram medidas de modo indireto, através do volume aparente, conforme mencionado na *British Pharmacopoeia* (2009) e na *United States Pharmacopoeia* (2009). Os testes foram

realizados empregando compactador automático *Erweka Volumeter Tapped*, modelo SVM. A partir dos resultados, foram calculados o Índice de Carr e o Fator de Hausner. O fluxo do material foi determinado em aparelho *Erweka Granulate Flow Tester*, modelo GWF, a partir da medida do tempo de escoamento da amostra.

#### **5.2.3.3.9. Ensaios de viabilidade celular**

Os ensaios de viabilidade foram realizados conforme metodologia descrita por Carvalho (2009) empregando a mesma técnica descrita no Capítulo 4.

#### **5.2.3.3.10. Preparação e avaliação dos comprimidos**

Foram preparados 50 comprimidos de 500 mg, de cada formulação, contendo 160 mg de PHCl, em escala laboratorial. As amostras de 5 e 6 foram obtidas por compressão direta, empregando os Copolímeros A e B liofilizados como possíveis agentes formadores de matrizes inertes. Como alternativa farmacotécnica para a redução do tamanho das partículas, os excipientes foram triturados em gral de porcelana, que apresenta superfície rugosa e proporciona o atrito necessário à cominuição (Allen *et al.*, 2005). Após trituração, os excipientes não tiveram suas propriedades micromeríticas pesquisadas. Em seguida, os excipientes foram selecionados em tamis 80 *mesh*. Os comprimidos foram preparados empregando a mesma técnica empregada no Capítulo 3, utilizando prensa CIOLA, no modo automático, em matriz cilíndrica e punção de 11 mm. A força de compressão utilizada foi de 60 KN e o tempo de compressão foi de 2 minutos. As composições qualitativas e quantitativas das Formulações 5 e 6 são apresentadas na Tabela 4.5.

Depois de preparados, os comprimidos foram avaliados quanto ao peso médio, força de quebra, friabilidade, perfil de liberação e cinética de liberação. Todos os métodos empregados encontram-se descritos detalhadamente no Capítulo 4.

**TABELA 5.5.** Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos

| <b>Componentes</b>        | <b>5</b> | <b>6</b> |
|---------------------------|----------|----------|
| Cloridrato de propranolol | 32       | 32       |
| Copolímero A              | 64       | -        |
| Copolímero B              | -        | 64       |
| Celulose microcristalina  | 3        | 3        |
| Aerosil®                  | 1        | 1        |

\*Quantidades fornecidas em %p/p.



### 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

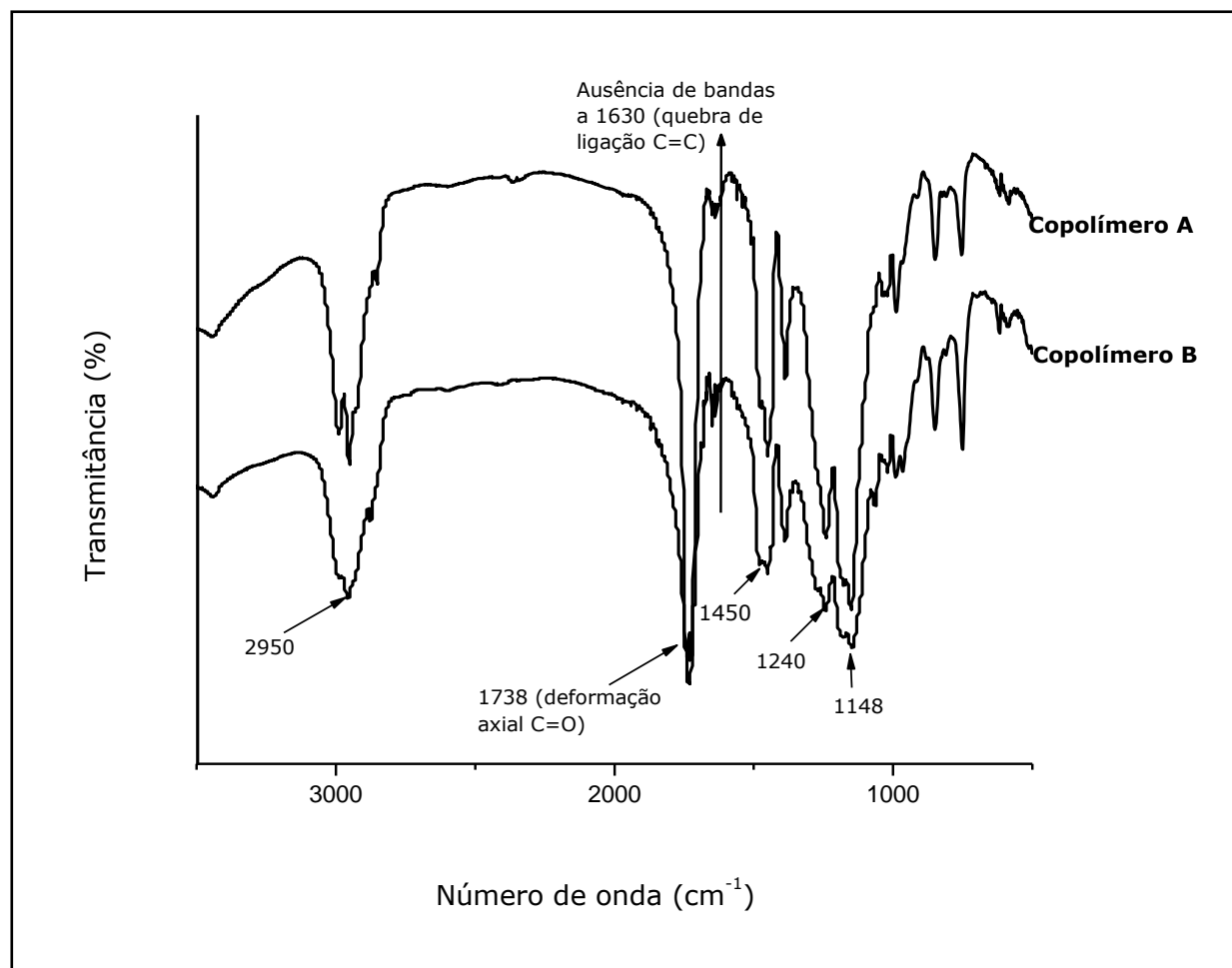
#### 5.3.1. Preparo dos copolímeros por polimerização em emulsão

Para o presente trabalho foi proposto o uso de dois sistemas iniciadores. O persulfato de amônia e o ditionito de sódio, ambos hidrossolúveis, originam um par de oxirredução capaz de induzir a formação de RLs abaixo de 50° C. O sulfato ferroso foi empregado como catalisador da reação entre o par redox. Para atuar, o sulfato ferroso requer  $\text{pH} \leq 5$ , necessitando, em alguns casos, ajuste do mesmo. O hidroperóxido de cumeno é um iniciador solúvel na fase orgânica que pode ser quebrado pelo ácido ascórbico, gerando RLs. Este último par redox é considerado auxiliar e pode ser útil para a polimerização de monômeros residuais livres, garantindo total conversão no sistema. A quantidade de iniciador foi de 0,88% em peso dos monômeros.

Para o copolímero A, na primeira fase, o processo de elevação da temperatura até 50° C foi gradual, passando rapidamente para 74° C. Após resfriamento e adição da segunda fase, a temperatura elevou-se para cerca de 88° C. Para o copolímero B, a temperatura máxima alcançada na primeira fase foi de 74° C e de 92° C na segunda fase. As temperaturas observadas sofreram ligeiro desvio das temperaturas calculadas, provavelmente, devido à presença do inibidor nos monômeros, que não foram previamente purificados. O tempo total das reações variou entre 4 e 5 horas. Os látices obtidos apresentaram aspecto leitoso, porém translúcidos, isentos de aglomerações, sem separação de fases e livres de odores característicos de monômeros livres. Os látices foram armazenados a temperatura ambiente e, após um ano, não houve alteração na aparência dos mesmos.

As dispersões poliméricas preparadas pelo processo de emulsificação convencional foram obtidas em escala laboratorial, contendo, cada partida, 200 mL.

Filmes obtidos a temperatura ambiente, logo após a preparação da emulsão e depois de 1 ano de armazenagem, apresentaram-se homogêneos, lisos e transparentes. A rigidez observada em ambos pode ser associada à presença de elevada quantidade de MMA, monômero que origina homopolímero com temperatura de transição de fase alta (104° C). A técnica de FTIR foi utilizada para confirmar a ocorrência da polimerização.



**FIGURA 5.3.** Espectros FTIR dos filmes obtidos por *casting* dos Copolímeros A e B.

Como pode ser visto na Figura 5.3, houve o desaparecimento das bandas na região de 1630 cm<sup>-1</sup> sugerindo a ocorrência de copolimerização dos monômeros acrílicos. A existência de bandas intensas a 1720 - 1738 cm<sup>-1</sup> refere-se à deformação axial C=O de ésteres presentes nos copolímeros e nos monômeros. Bandas a 1148, 1240 e 1450 cm<sup>-1</sup> são típicas de vibrações em ésteres, enquanto que o pico a 2950

$\text{cm}^{-1}$  é característico de grupos  $\text{CH}_n$ . Esta última pode ser vista também nos espectros dos monômeros EA, BMA e MMA (Figura 3.2, Capítulo 3). Nestes, há a presença de dubletos entre 1270 e 1320  $\text{cm}^{-1}$ , que, nos espectros dos Copolímeros foram substituídos por um pico a 1387  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros dos Copolímeros A e B são semelhantes àqueles dos produtos comercializados (ANEXO IV), preparados a partir dos mesmos monômeros (Eudragit® NE 30D e 40D), sugerindo o sucesso da síntese (Evonik Röhm GmbH, 2007-09, INFO 7.6 E e 7.11E).

### 5.3.2. Determinações físico-químicas nas dispersões poliméricas

Os resultados relativos ao teor de sólidos apresentaram-se próximos dos valores teóricos estimados, sugerindo elevada conversão dos monômeros (Tabela 5.6.). A não conversão total pode ser devida à presença do iniciador nos monômeros, que não sofreram purificação prévia. Os valores encontrados para o pH permaneceram entre 4 e 5, devido à acidificação do meio para efetividade do sulfato ferroso. O principal efeito do pH em processos de polimerização de acrílicos recai sobre a hidrólise dos monômeros, que é reduzida em valores de  $\text{pH} \leq 7$  (Ridlle, 1954).

As viscosidades aparentes foram iguais a 59 e 48 cP, para A e B, respectivamente, um pouco maiores que aquelas relatadas para os produtos comercialmente disponíveis (Eudragit® NE 30 e 40 D). Medidas da viscosidade aparente dos Copolímeros A e B, utilizando *spindle* SC4-21, nas velocidades de 200 e 100 rpm, a 25° C, pode ser visualizada no ANEXO V.

**TABELA 5.6.** Valores obtidos nos testes físico-químicos para os copolímeros

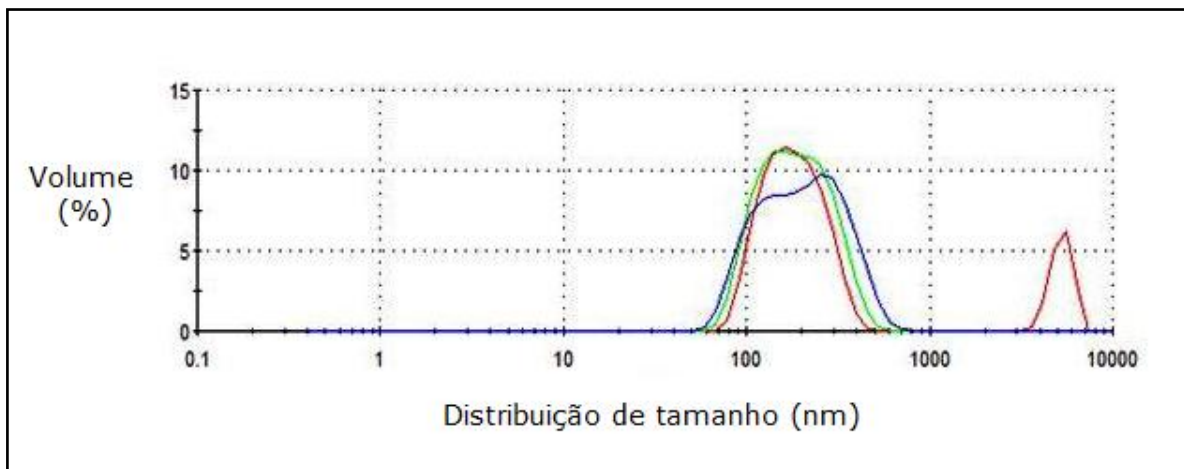
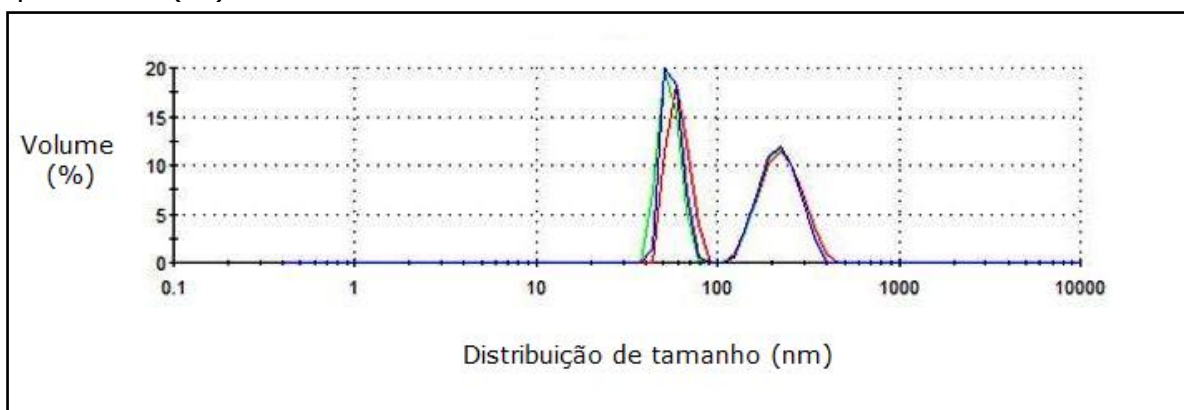
| Parâmetros          | Copolímero A | Copolímero B |
|---------------------|--------------|--------------|
| Teor de sólidos (%) | 54,70        | 52,40        |
| pH                  | 4,28 ± 0,02  | 4,98 ± 0,02  |

### **5.3.3. Determinação do tamanho médio, índice de polidispersão e potencial zeta dos copolímeros**

A técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL), também conhecida como Espectroscopia de Correlação de Fótons (ECF), mede as flutuações na intensidade da luz, tempo-dependentes, geradas quando partículas em movimento aleatório são iluminadas por um feixe de *laser*. A luz espalhada é captada e transformada em sinal elétrico (Malvern, 2007; Shekunov *et al.*, 2007). Partículas menores movimentam-se mais rapidamente, causando flutuações rápidas de intensidade e partículas maiores movimentam-se mais lentamente, originando flutuações lentas. Portanto, a velocidade do movimento das partículas, cria interferências na intensidade da luz, que são usadas para determinar a distribuição de tamanho das mesmas (Malvern, 2004; Shekunov *et al.*, 2007). Quando em dispersão, as partículas mudam de posição, aleatoriamente, com relação ao fluido e a si mesmas. A velocidade de tal movimento, chamado Browniano, pode ser medida e é conhecida como coeficiente de difusão translacional ( $D$ ) que, por sua vez, pode ser convertido em tamanho de partícula através da equação de Stokes-Einstein (Malvern, 2009; Shekunov *et al.*, 2007). Já a polidispersão é um parâmetro calculado a partir de um ajuste exponencial simples, aplicado à função de autocorrelação nas medidas de espalhamento dinâmico de luz, assumindo que as partículas apresentam um tamanho único (Malvern, 2004). A Tabela 5.7 apresenta os valores do diâmetro e distribuição das partículas bem como os valores do potencial zeta para emulsões sintetizadas. A distribuição do tamanho das partículas em função do volume pode ser vista nas Figuras 5.4 e 5.5.

**TABELA 5.7.** Determinação do diâmetro médio das partículas e do potencial zeta

|                     | <b>Diâmetro médio (nm)</b> | <b>IP</b>          | <b>Potencial zeta (mV)</b> |
|---------------------|----------------------------|--------------------|----------------------------|
| <b>Copolímero A</b> | 175,20 ( $\pm$ 2,57)       | 0,15 ( $\pm$ 0,11) | - 65,13 ( $\pm$ 1,48)      |
| <b>Copolímero B</b> | 173,5 ( $\pm$ 3,42)        | 0,12 ( $\pm$ 0,15) | - 62,01 ( $\pm$ 2,31)      |

(n = 3;  $\pm$  DP).**FIGURA 5.4.** Distribuição do tamanho das partículas do látice A em função do volume das partículas (%).**FIGURA 5.5.** Distribuição do tamanho das partículas do látice B em função do volume das partículas (%).

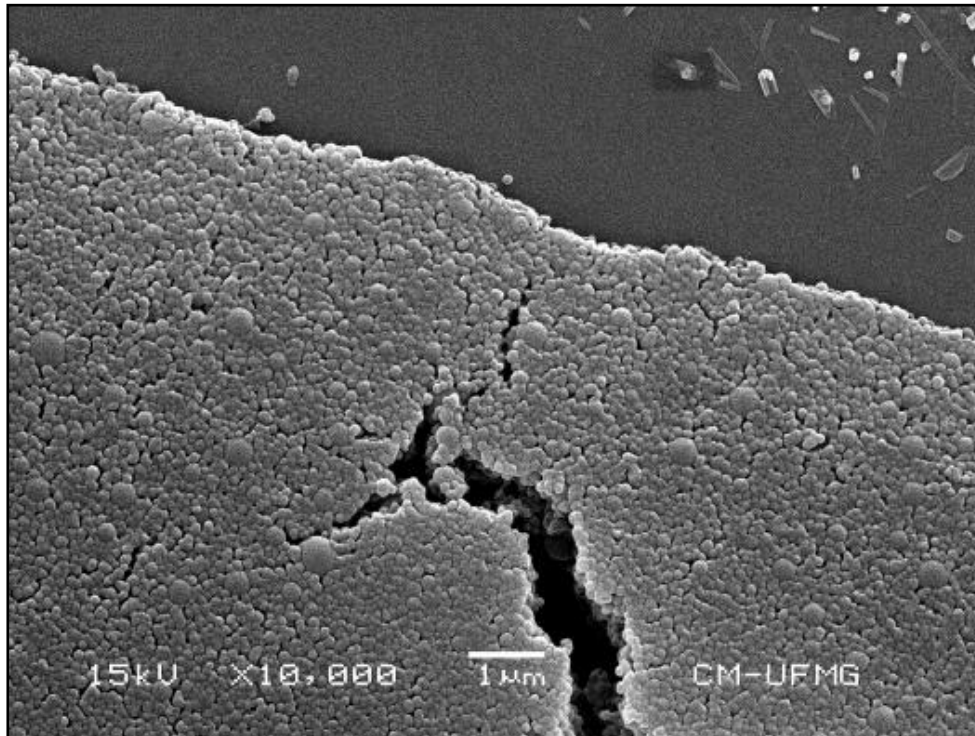
Külkamp e colaboradores (2009) prepararam nanocápsulas poliméricas contendo ácido lipóico e obtiveram índice de polidispersão máximo de 0,34, considerados baixos. Paese (2008) também considerou adequados, valores de

polidispersão menores que 0,30 para nanocápsulas poliméricas contendo benzofenona-3.

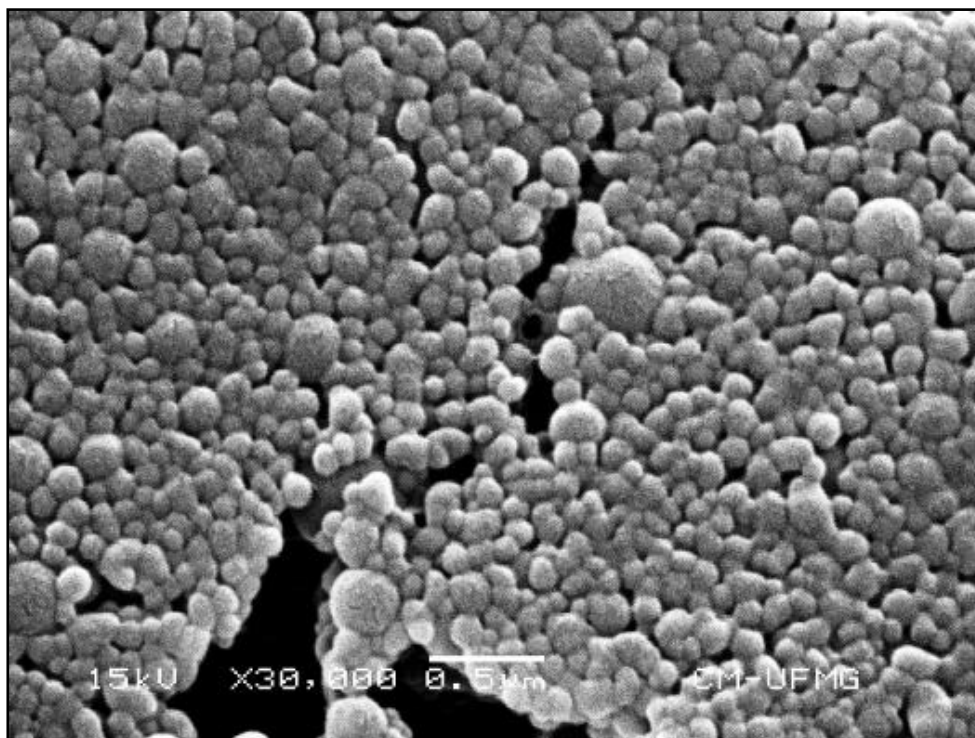
Vale e McKenna (2005) ressaltam que, para látices com alto teor de sólidos, a variação na granulometria das partículas deve ser baixo, o que garantiria uma distribuição homogênea das partículas e a baixa viscosidade. Todavia, outros autores sugerem que, para obter um máximo empacotamento e uma baixa viscosidade, o tamanho das partículas deva ser elevado, bem como sua distribuição, que deve ser polimodal (Ai *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos sugerem que a técnica de polimerização empregada originou látices com partículas nanométricas, com baixo índice de polidispersão, porém, com distribuição bimodal, o que contribuiu para o empacotamento das partículas e para a baixa viscosidade dos látices. O teor em sólidos alcançado foi relativamente alto (próximo a 55%) quando comparado aos copolímeros de uso farmacêutico disponíveis comercialmente.

A aparência visual dos látices é resultado da interação da luz com as partículas. Muitos látices são leitosos devido à difração e absorção da luz. Quando o tamanho das partículas se aproxima do comprimento de onda da luz, o látex é translúcido, como aqueles que foram obtidos. A homogeneidade na distribuição do tamanho, a morfologia e o empacotamento das partículas pode ser confirmada pelas fotomicrografias obtidas a partir de filmes dos látices, apresentadas nas Figuras 5.6 e 5.7.

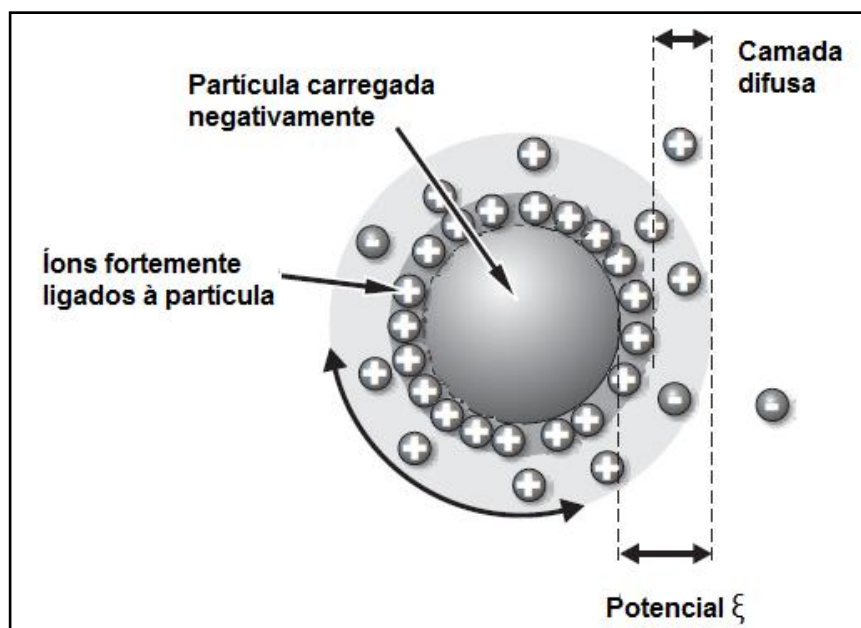


**FIGURA 5.6.** MEV das partículas do látex A, com aumento de 10.000 vezes.



**FIGURA 5.7.** MEV das partículas do látex B, com aumento de 30.000 vezes.

Quando partículas carregadas se encontram dispersas, íons de carga oposta tendem a ser atraídos para sua superfície. Íons mais próximos da partícula encontram-se mais fortemente ligados a ela, enquanto os mais distantes permanecem frouxamente ligados, formando uma dupla camada conhecida como difusa. A camada difusa funciona como um limite teórico: todos os íons dentro da camada movem-se juntamente com a partícula pelo líquido e as partículas fora do limite permanecerão imóveis. O potencial existente entre a superfície da partícula e a fronteira com o líquido dispersante é conhecido como potencial zeta. O  $\xi$  pode ser medido por eletroforese baseada no efeito *Doppler*, ou seja, na alteração na frequência sofrida pela luz dispersa devido às partículas em movimento. A Figura 5.8, representa, esquematicamente, o comportamento de uma partícula carregada negativamente com relação aos íons presentes na sua vizinhança.



**FIGURA 5.8.** Representação esquemática do potencial zeta (Adaptado de Malvern Instruments, 2004).

De modo geral, em sistemas dispersos, busca-se maximizar as forças repulsivas entre as partículas para alcançar a estabilidade, uma vez que forças de repulsão mútuas entre partículas adjacentes impedem a união de partículas, evitando grandes

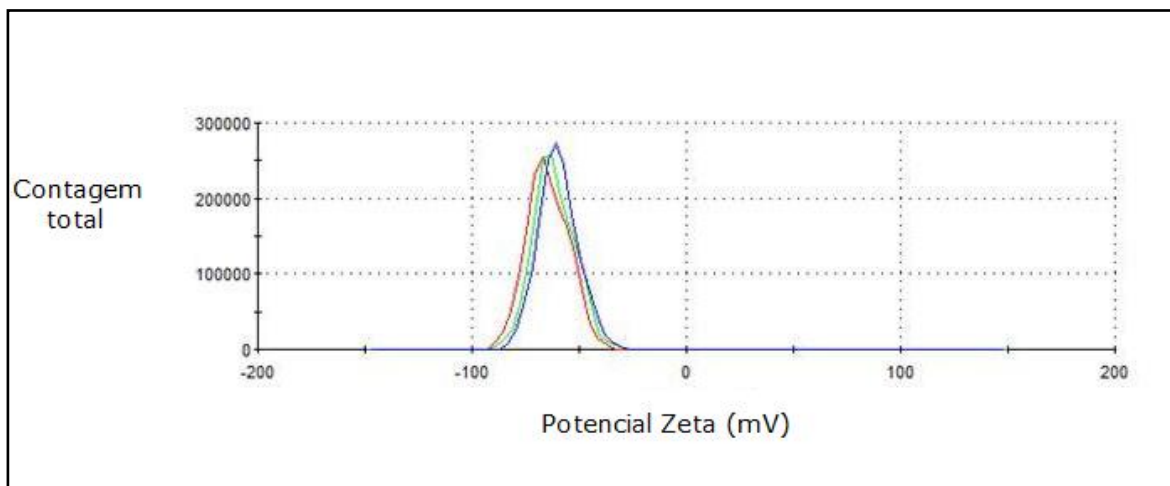


e rápidas sedimentações. A magnitude do potencial zeta fornece uma indicação da estabilidade de um sistema coloidal. Se todas as partículas em suspensão possuem um elevado potencial zeta, positivo ou negativo, as partículas tendem a se repelir, não ocorrendo floculação no sistema. Por outro lado, se os valores de  $\xi$  forem baixos, as partículas tenderão à aproximação e floculação. Partículas com potencial zeta mais negativo que  $-30$  mV ou mais positivo que  $+30$  mV podem ser consideradas estáveis (Florence & Attwood, 2005; Sinko, 2006).

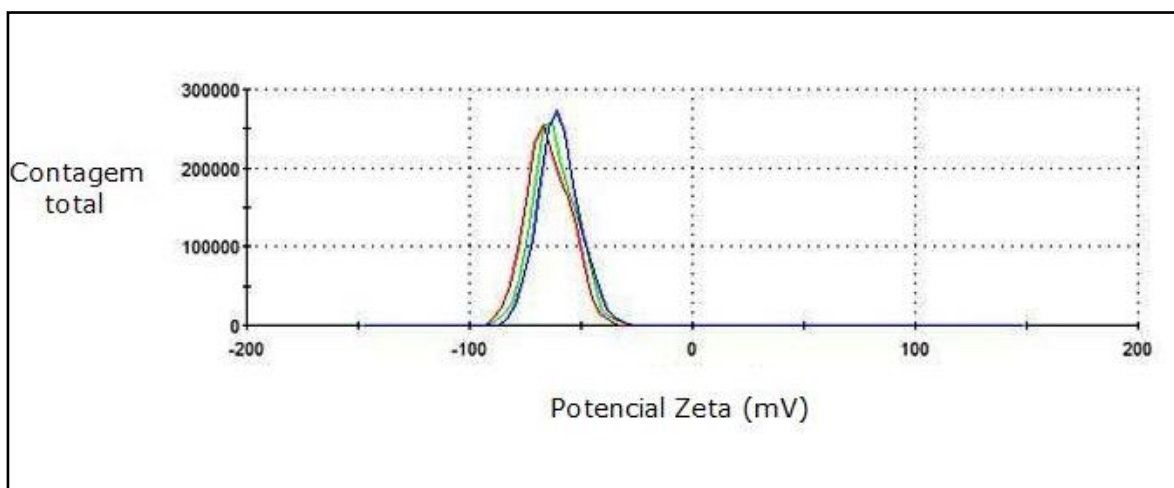
As Figuras 5.9 e 5.10 mostram os gráficos de distribuição do potencial zeta para os copolímeros A e B (ANEXO VI). O potencial zeta, relacionado ao potencial de superfície das partículas, apresentou elevados valores negativos (Tabela 5.7), devido, possivelmente, às características estruturais dos componentes da interface das partículas, especialmente, ao lauril sulfato de sódio. A presença de íons provenientes dos iniciadores pode ter contribuído para os valores encontrados. Du e colaboradores (2006) relataram que o uso de persulfatos como iniciadores pode resultar na incorporação de grupos sulfato no final das cadeias do polímero, tornando-as negativas e induzindo à estabilidade coloidal por efeito estéreo. Os valores de  $\xi$  obtidos para ambos os copolímeros indicam que as partículas permaneceram estáveis nas dispersões, não ocorrendo formação de *caking* ou floculação, não havendo separação de fases. Portanto, pode-se inferir que existe forte interação partícula-partícula nos sistemas, contribuindo para a baixa viscosidade dos mesmos (Ai *et al.*, 2010; Mariz *et al.*, 2010).

Como mencionado anteriormente, na polimerização em emulsão, a distribuição do tamanho das partículas (DTP) é governada por três fenômenos principais, nomeadamente, nucleação, crescimento da partícula e coagulação, que são influenciados pelos parâmetros do processo (surfactantes, iniciadores, estabilizantes, monômeros, entre outros). A DTP, por sua vez, possui papel determinante na

viscosidade dos látices sintetizados, sendo definida por três fatores principais: conteúdo de sólidos, fator de empacotamento máximo e interação partícula-partícula (Schneider *et al.*, 2002; Immanuel *et al.*, 2008; Ai *et al.*, 2010; Mariz *et al.*, 2010). Manter a viscosidade baixa de látices com alto teor em sólidos é importante para produtos destinados à produção de filmes e revestimentos, inclusive farmacêuticos. Outra vantagem relaciona-se ao processo produtivo, já que é mais fácil manipular e executar transferências em linha naqueles produtos menos viscosos (Guyot *et al.*, 2002).



**FIGURA 5.9.** Distribuição do potencial zeta para o copolímero A.



**FIGURA 5.10.** Distribuição do potencial zeta para o copolímero B.

Schneider e colaboradores (2002) prepararam látices bimodais e trimodais e obtiveram variações na viscosidade entre 300 e 1200 mPa.s (a uma taxa de cisalhamento de  $20 \text{ s}^{-1}$ ) de acordo com a distribuição do tamanho das partículas. A viscosidade mais baixa foi encontrada para látices contendo 15% de partículas com tamanho de 110 nm e 85% de partículas com 900 nm. Os monômeros utilizados foram o ácido acrílico, o metacrilato metila e o acrilato butila (2,5:19,5:78). Foi utilizada uma mistura de surfactantes (iônico e não-iônico), em concentrações variando de 1,8 a 2,5% e uma mistura de iniciadores solúveis e insolúveis.

Chu e Guyot preparam látices bimodais e trimodais e analisaram o efeito do conteúdo de sólidos na viscosidade dos copolímeros. O tamanho das partículas variou de 42 a 584 nm e o conteúdo em sólidos, de 55,6% até 69,1%. A viscosidade variou de 15 cP (para um látex com 55,6% de sólidos, distribuição bimodal, contendo 83% de partículas com 546 nm) até 526 cP (para um látex com 68% de sólidos, distribuição trimodal, contendo 91% de partículas com 586 nm) (Guyot *et al.*, 2002).

Os látices sintetizados no presente trabalho podem ser caracterizados como emulsões convencionais, com tamanho de partícula submicrométrico, teor em sólidos relativamente elevados, baixa viscosidade e alta estabilidade, devido, provavelmente, à distribuição polimodal e ao empacotamento favorecido pelo potencial zeta. Tais aspectos contribuíram para a baixa viscosidade das emulsões: 59 cP para o copolímero A e 48 cP para o copolímero B. Os valores encontrados para a viscosidade dinâmica, nas condições testadas, representam resultados satisfatórios para látices a serem utilizados com finalidade farmacêutica.

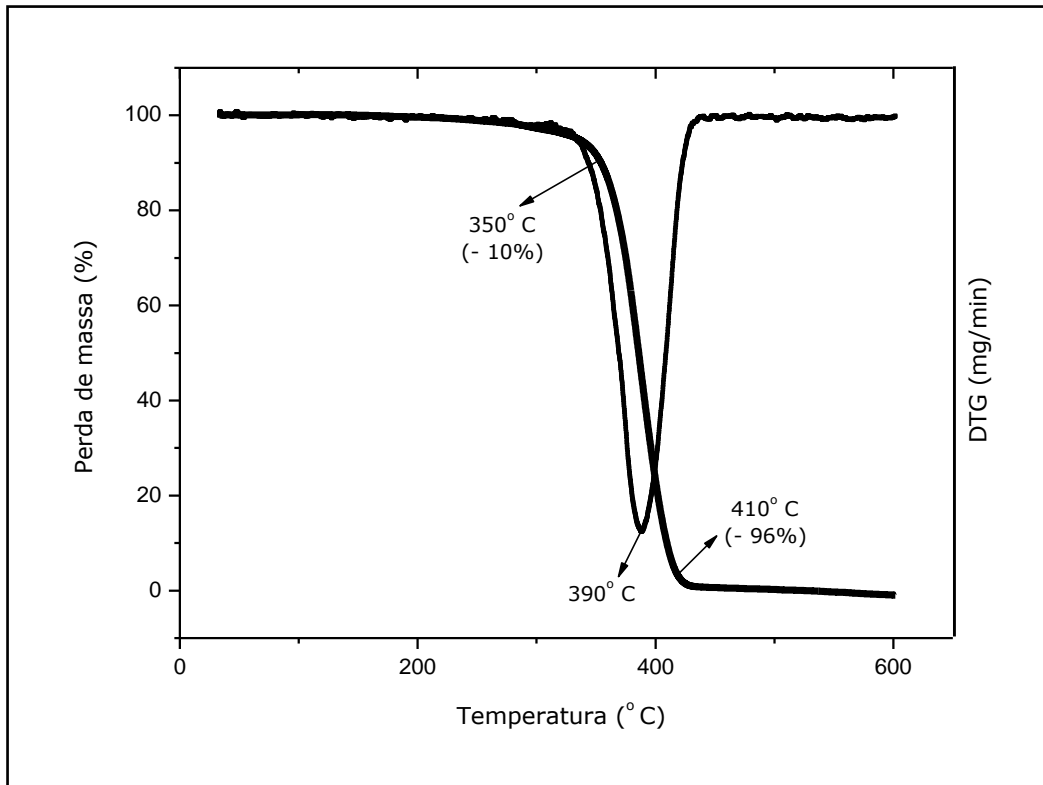
#### **5.3.4. Análises térmicas**

As Figuras 5.11 e 5.12 apresentam as curvas TG/DTG de filmes do copolímero A antes da liofilização e do excipiente liofilizado. Perdas iniciais de 10% ocorreram a cerca de

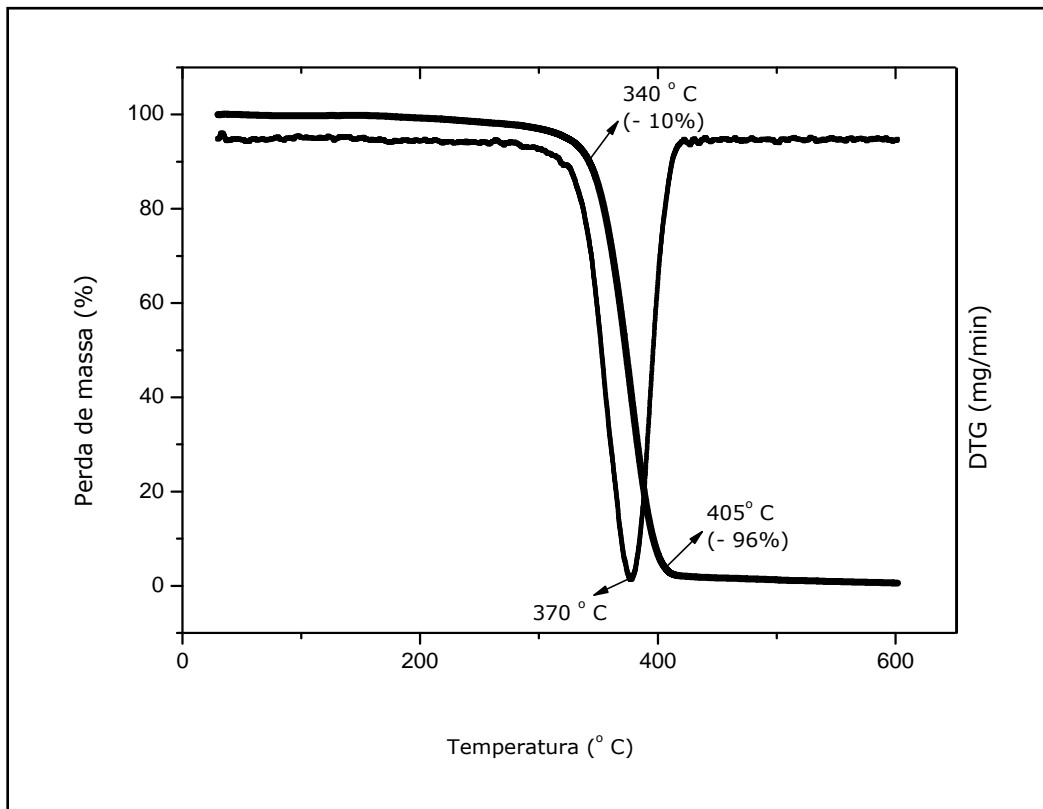
340 – 350° C. Em temperaturas próximas a 405 – 410° C, praticamente toda a massa foi perdida (96%). Observações semelhantes podem ser feitas para filmes do Copolímero B e do mesmo liofilizado, respectivamente (Figuras 5.13 e 5.14). Para este, perdas iniciais de 10% ocorreram em temperatura um pouco menor (320 – 330° C) e a perda de 96% pode ser vista a 420° C. Tais alterações podem ser devidas a diferenças entre as proporções de monômeros nos copolímeros. Para ambos, a decomposição térmica ocorreu em apenas um estágio, com temperatura de decomposição em torno de 390° C, uma vez que o material é amorfo.

A análise das curvas TG/DTG sugere que o processo de liofilização não alterou as propriedades térmicas e possivelmente a estrutura macromolecular do material. Assim como para o Copolímero A, não foram notadas variações significativas nas perdas de massa para o Copolímero B antes e após a liofilização. Tais resultados corroboram para concluir que o processo de liofilização não alterou a estrutura das moléculas poliméricas, como pode ser observado também pelas análises de DTA (Figura 5.15). As pequenas alterações notadas podem ser devidas há perdas de voláteis residuais e, no caso dos materiais liofilizados, podem decorrer da perda de água.

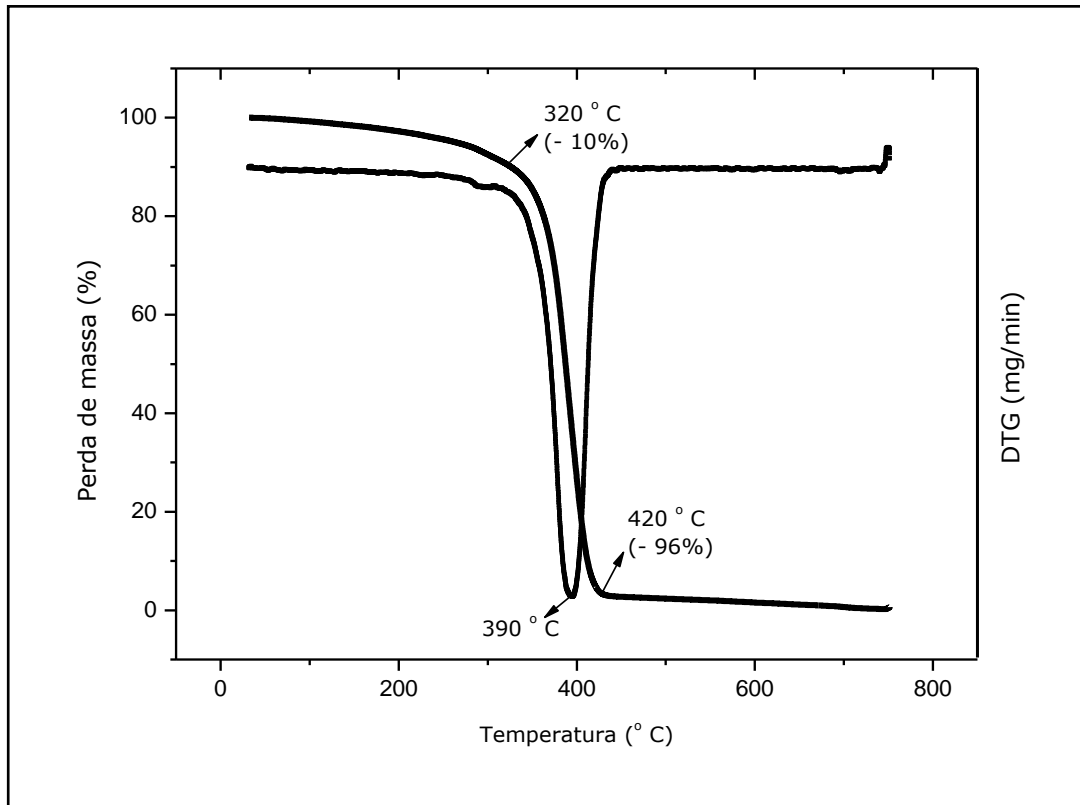
Desvios dos valores podem ser explicados pela complexidade do processo de copolimerização. Reações de copolimerização dependem das concentrações relativas dos monômeros, bem como das reatividades relativas de cada um. Se dois monômeros apresentam reatividades diferentes, aquele mais reativo tenderá a polimerizar-se mais rápido que o menos reativo, levando à heterogeneidade na composição do copolímero no decorrer da reação (Riddle, 1954; Anderson & Daniels, 2003).



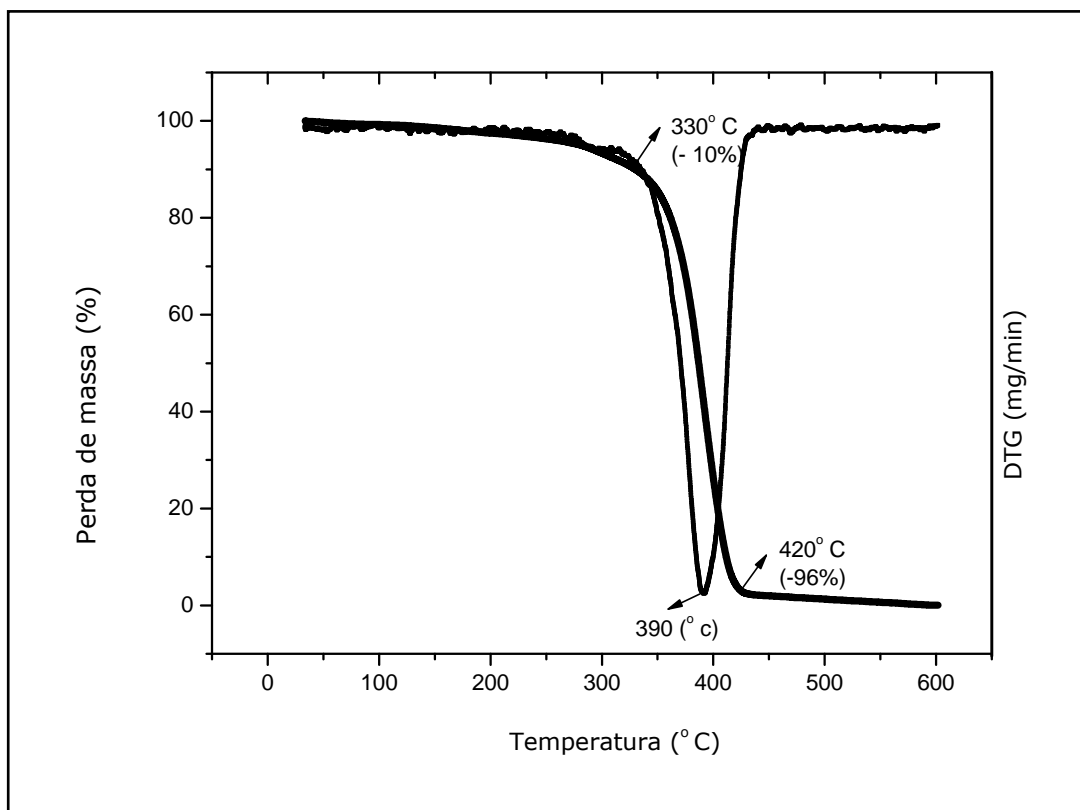
**FIGURA 5.11.** Curvas TG e DTG de filmes do Copolímero A, antes da liofilização.



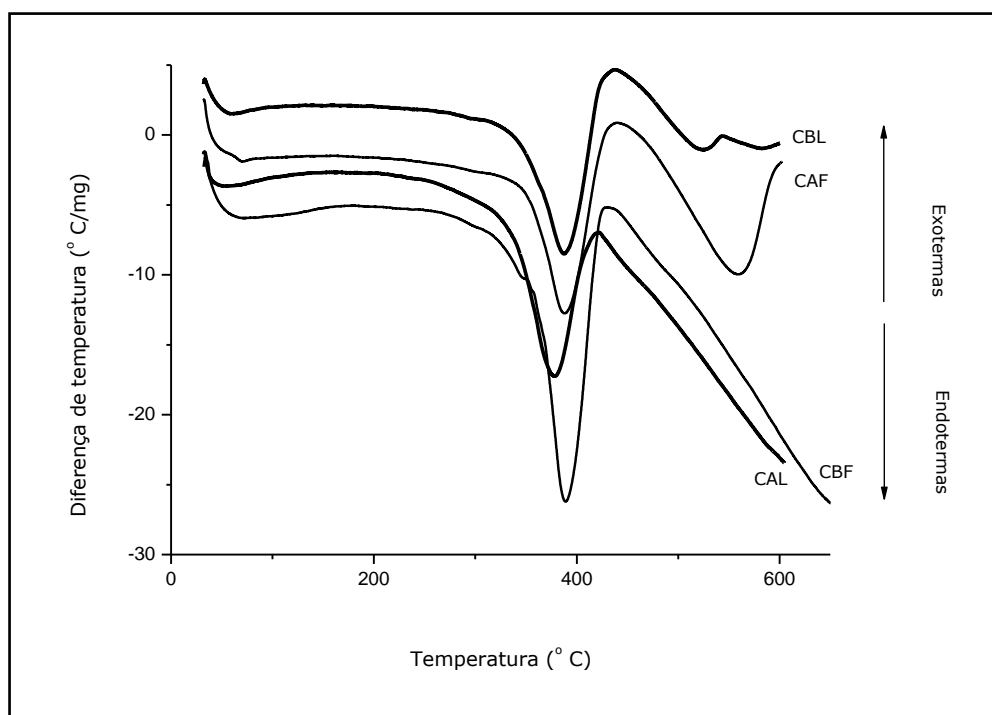
**FIGURA 5.12.** Curvas TG e DTG do copolímero A, após secagem por liofilização.



**FIGURA 5.13.** Curvas TG e DTG de um filme do copolímero B, antes da liofilização.

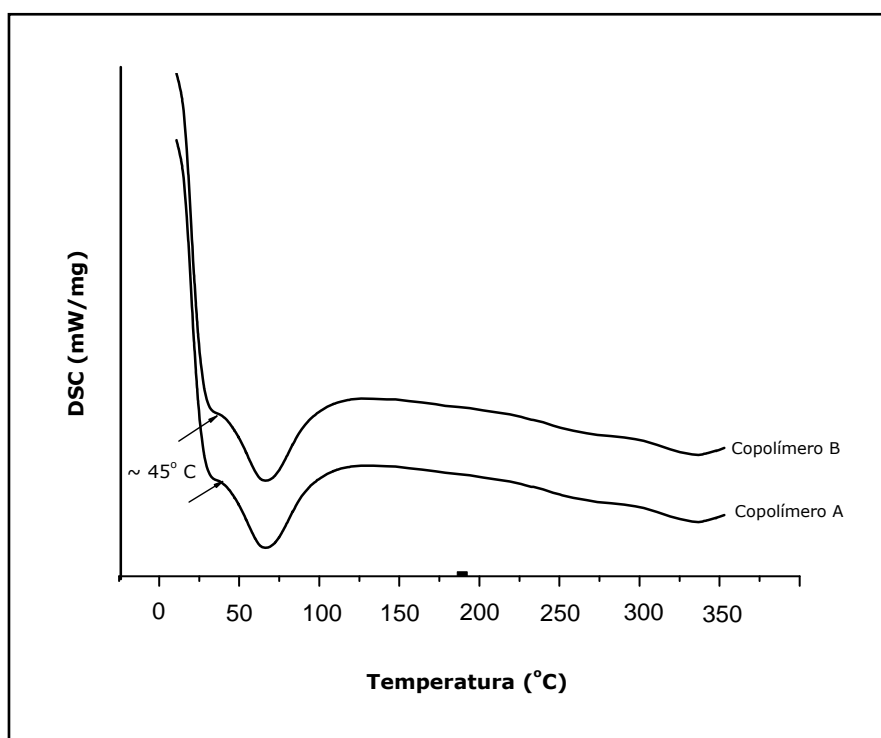


**FIGURA 5.14.** Curvas TG e DTG do copolímero B, após secagem por liofilização.



**FIGURA 5.15.** Curvas DTA dos copolímeros A e B (filme - F; liofilizado - L).

Mudanças discretas nas linhas de base do DSC (Figura 5.16) podem ser visualizadas em temperaturas próximas a 45° C, podendo ser associadas à temperatura de transição vítrea para os materiais. O valor encontrado foi próximo do calculado (53° C para o Copolímero A e 45° C para o Copolímero B).



**FIGURA 5.16.** Curvas DSC dos copolímeros A e B.

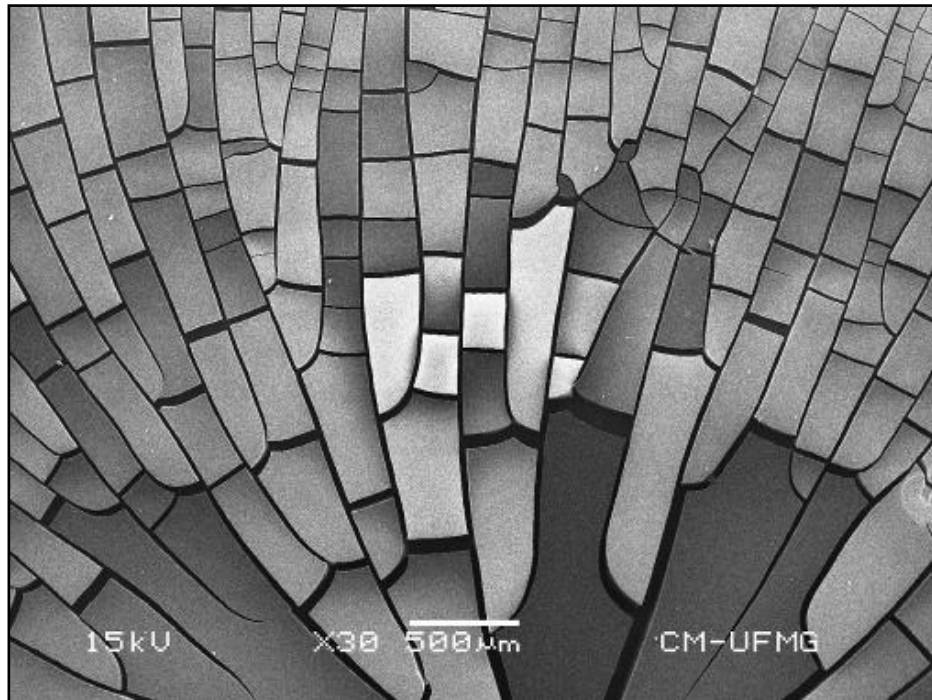
### 5.3.5. Avaliação micromerítica dos copolímeros liofilizados

Uma vez que os copolímeros foram preparados visando aplicação como excipientes, os mesmos foram submetidos a análises micromeríticas após liofilização das emulsões.

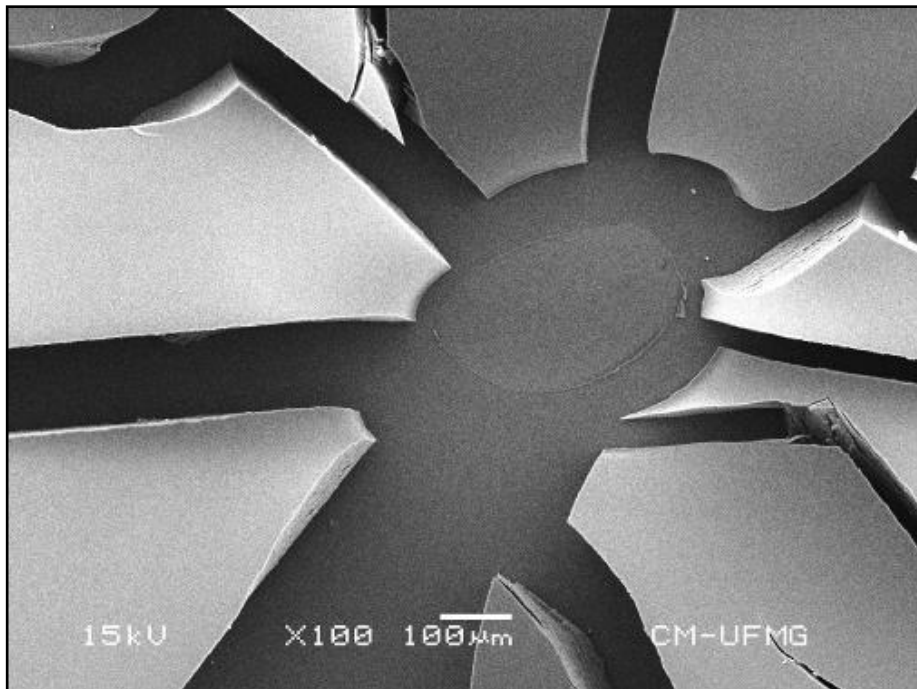
As imagens obtidas por MEV foram realizadas em dois momentos: nos filmes gerados pelas emulsões poliméricas e nos copolímeros obtidos após liofilização. As figuras 5.17 e 5.18 fornecem imagens das dispersões poliméricas, antes do processo de secagem por liofilização, com baixa magnificação, permitindo verificar a aparência do filme formado, ao contrário das imagens exibidas nas Figuras 5.6 e 5.7 que, pela elevada magnificação (10.000 e 30.000 vezes, respectivamente) permitem a observação do tamanho e da distribuição das gotículas no filme emulsionado. Pode-se observar que os filmes formados por ambos os copolímeros, após secagem à temperatura ambiente, mostraram-se lisos, frágeis e quebradiços. Os materiais parecem ser friáveis, sugerindo comportamento de fratura frágil, o que pode ser justificado pela elevada quantidade de MMA (50% em massa de monômeros para o Copolímero A e 60% para o Copolímero B). As imagens 5.19 e 5.20 referem-se aos Copolímeros A e B após a liofilização.

Como pode ser notado nas imagens 5.19 e 5.20, não foram notadas alterações morfológicas significativas devido à retirada da água do material, quando comparados com os filmes das emulsões A e B, indicando que a liofilização pode não alterar as características dos copolímeros formados no que diz respeito à morfologia. Ambos os copolímeros liofilizados evidenciaram morfologia irregular, apresentando-se na forma de lâminas, com distribuição de tamanho e espessura heterogênea e, aparentemente, fora do limite ideal para o emprego na compressão direta. Pelas fotomicrografias, pode-se notar que as partículas do Copolímero B mostraram ser um pouco menores que as partículas do Copolímero A.

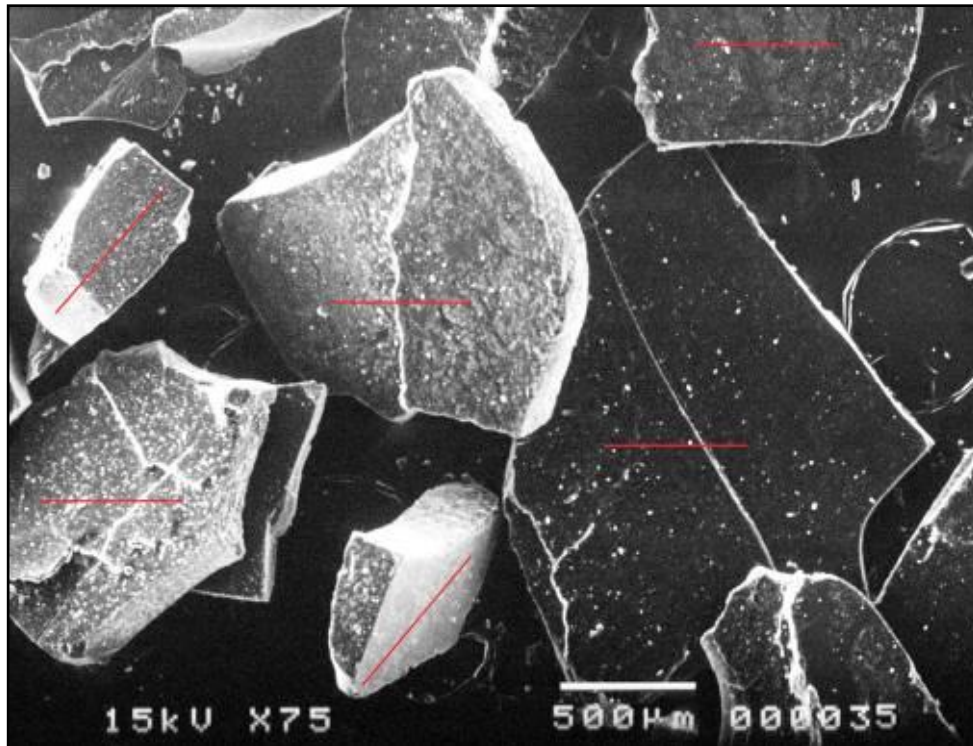




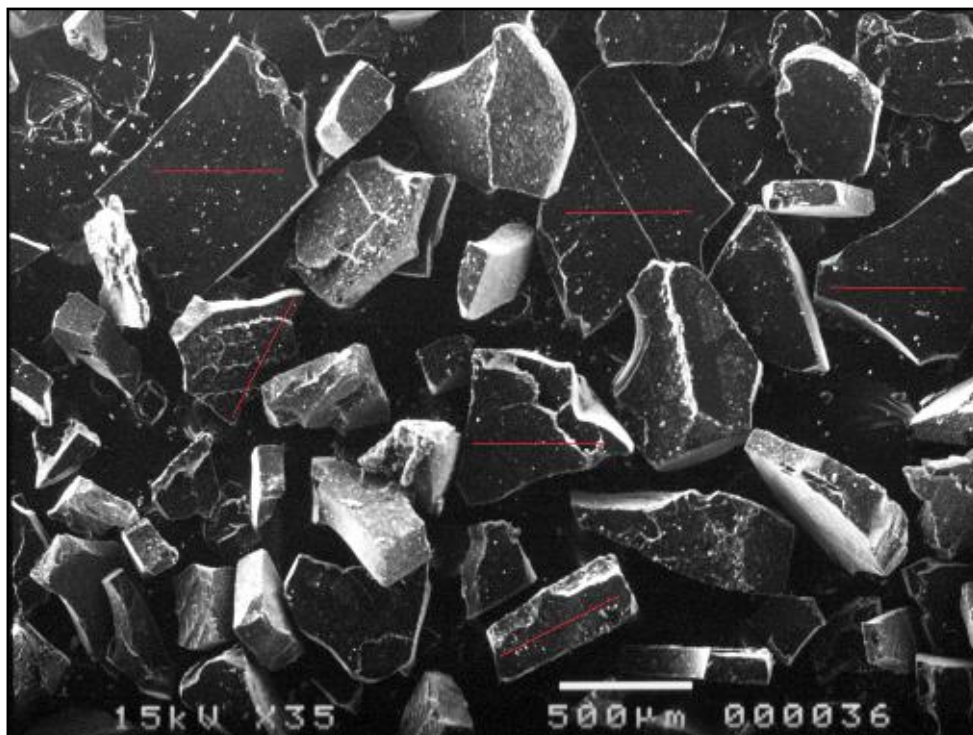
**FIGURA 5.17** Imagem por MEV das partículas do látex A, com aumento de 30 vezes (Imagens obtidas no Centro de Microscopia da UFMG).



**FIGURA 5.18.** Imagem por MEV das partículas do látex B, com aumento de 100 vezes (Imagens obtidas no Centro de Microscopia da UFMG).



**FIGURA 5.19.** MEV do Copolímero A, após liofilização, com aumento de 75 vezes (Imagens obtidas no LABMEV, Escola de Engenharia da UFMG).



**FIGURA 5.20.** MEV do Copolímero B, após liofilização, com aumento de 35 vezes (Imagens obtidas no LABMEV, Escola de Engenharia da UFMG).

Todavia, em ambos os casos, as partículas apresentaram tamanho próximo a 500  $\mu\text{m}$ . Cabe destacar que os materiais não foram submetidos a processos de redução do tamanho antes das análises por MEV e que devido à elevada granulometria, não puderam ser analisadas por métodos ópticos.

A técnica usualmente empregada para a obtenção de dispersões acrílicas na forma sólida, a partir de látices obtidos por emulsificação, é a atomização por *spray dried*, método no qual parâmetros do processo, (temperatura, velocidade e volume de aspersão, fluxo de ar, entre outros), podem ser controlados, consoante as características requeridas para o produto final. No presente trabalho, as emulsões foram secas na ausência de agentes crioprotetores e a técnica não foi passível de controle. Maiores estudos devem ser idealizados e realizados para definir a real influência do processo de secagem por liofilização nas características dos látices obtidos no estado sólido.

Partículas dos copolímeros A e B, produzidos em escala laboratorial, e, secas por liofilização, apresentaram densidade compactada igual a 0,615 g/mL e 0,670 g/mL, respectivamente (Tabela 5.8).

**TABELA 5.8.** Volumes aparentes, em mililitros, obtidos para os Copolímeros A e B

| <b>Amostra</b> | <b>Massa (g)</b> | <b>V<sub>0</sub></b> | <b>V<sub>10</sub></b> | <b>V<sub>500</sub></b> | <b>V<sub>1250</sub></b> | <b>V<sub>2500</sub></b> |
|----------------|------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>A</b>       | 44,90            | 86,0                 | 74,0                  | 69,0                   | 60,0                    | 59,0                    |
| <b>B</b>       | 43,63            | 87,0                 | 77,0                  | 69,0                   | 64,0                    | 62,0                    |

**TABELA 5.9.** Medidas do volume compactado, densidade compactada, Índice de Carr e Fator de Hausner

| <b>Parâmetros</b> | <b>A</b> | <b>B</b> |
|-------------------|----------|----------|
| $d_a$ (g/mL)      | 0,522    | 0,501    |
| $d_c$ (g/mL)      | 0,761    | 0,704    |
| IC (%)            | 23,90    | 20,30    |
| FH                | 1,465    | 1,405    |

**TABELA 5.10.** Medidas diretas do fluxo: tempo de escoamento e cotangente de  $\alpha$

| <b>Parâmetros</b>       | <b>A</b> | <b>B</b> |
|-------------------------|----------|----------|
| Tempo de escoamento (s) | 1,59     | 0,91     |
| Cotangente de $\alpha$  | 0,051    | 0,029    |

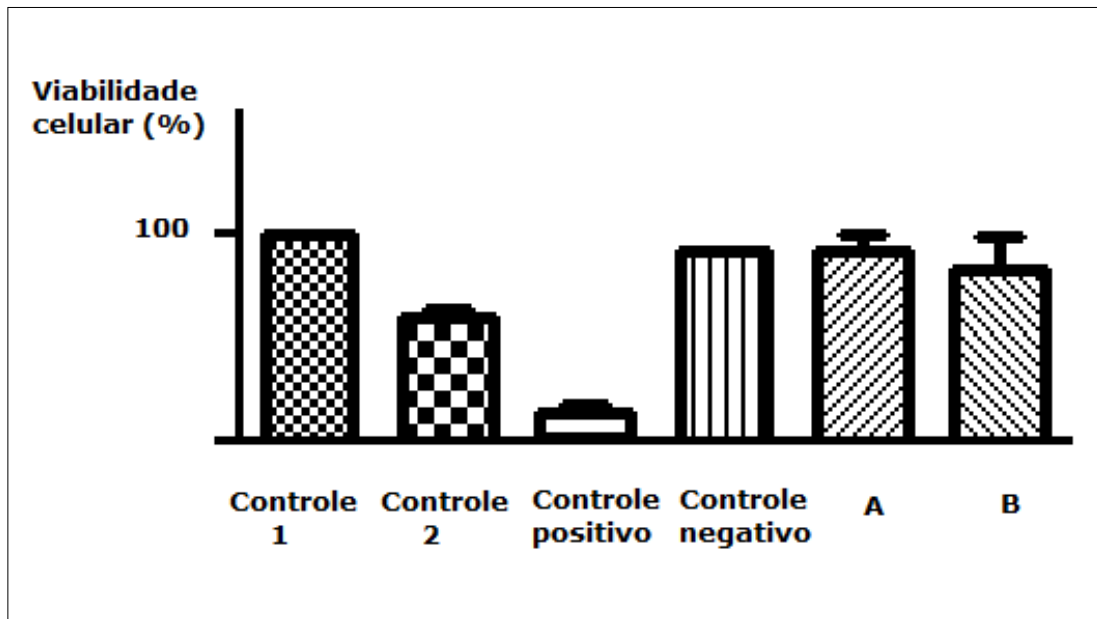
Os resultados das medidas indiretas de fluxo, bem como das medidas diretas são fornecidas nas Tabelas 5.9 e 5.10, respectivamente. O tempo de escoamento para o Copolímero B foi igual a 0,91 segundos e a cotangente calculada foi 0,029. Para o Copolímero A, os valores foram iguais a 1,59 segundos e 0,051, respectivamente. Os relatórios de análise são apresentados no ANEXO III. Tempos de escoamento inferiores a 10 segundos e cotangente de  $\alpha$  menor que 0,1 sugerem ótimo escoamento para o material (Aulton, 2007; Swarbrick, 2007). Todavia, as condições de ensaio foram diferentes para A e B. No caso do Copolímero A, o modo de vibração do equipamento foi acionado, uma vez que na ausência de vibração, o material não escoou. Tal fato deve-se, provavelmente, à morfologia não granular do material e ao elevado tamanho das partículas, fatores que promovem maior área de contato, maior

coesividade e menor capacidade de fluxo. Para o copolímero B, apesar de irregulares, as partículas demonstraram menor tamanho.

O Índice de Carr (IC), que exprime a capacidade de compactação e compressão de um sólido, apresentaram valores entre 15% e 25%, o que é indicativo de fluxo ruim. A razão entre a densidade compactada e a densidade aparente, que definem o Fator de Hausner e relaciona-se com as forças de adesão e coesão entre as partículas, apresentaram valores próximos de 1,25, tendendo à baixa coesividade. Os resultados são mostrados na Tabela 5.9. Tais valores apresentaram-se aumentados quando comparados aos excipientes na forma de *beads*, o que pode ser justificado pela morfologia irregular, elevados tamanho das partículas e grande distribuição granulométrica das partículas dos excipientes. Uma alternativa farmacotécnica é o uso de técnicas de redução do tamanho das partículas dos copolímeros sólidos, como trituração em gral ou o uso de moinhos de bolas, na tentativa de reduzir e homogeneizar a distribuição das partículas. Com a diminuição do tamanho, mesmo irregulares, os sólidos poderão apresentar melhor capacidade de fluxo. O uso de agentes lubrificantes e antiaderentes nas formulações também pode ser útil (Allen *et al.*, 2005; Aulton, 2007; Swarbrick, 2007).

### **5.3.6. Avaliação da toxicidade *in vitro***

Como mencionado no Capítulo anterior, o ensaio de viabilidade celular *in vitro* analisa, quantitativamente, a redução do sal de tetrazólio pelo complexo enzimático piruvato-desidrogenase presente nas mitocôndrias. O teste quantifica a conversão do sal de MTT (solúvel em água) em cristais de formazan (insolúveis em água) que são mensurados em espectrofotômetro a 595 nm. Portanto, a viabilidade celular pode ser medida em função da densidade óptica dos cristais de formazan que se apresentam na cor púrpura.



**FIGURA 5.21.** Percentual de viabilidade celular obtido através do ensaio de MTT ( $n = 3$  e  $p \leq 0,05$ ), após 24 horas de contato.

Na Figura 5.21 pode-se observar que os copolímeros avaliados mostraram ser potencialmente atóxicos, uma vez que os fibroblastos gengivais humanos, quando em contato com as amostras A e B, apresentaram atividade mitocondrial estatisticamente semelhante àquelas apresentadas pelos controles 1 e negativo, após 24 horas de teste. Todos os ensaios foram realizados em triplicata ( $n=3$ ). A análise estatística foi realizada com o emprego do programa PRISM, One Way/ ANOVA/ Bonferroni (GraphPad, San Diego, CA), com nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.3.7. Resultados dos ensaios farmacopeicos realizados nos comprimidos

Durante a compressão da Fórmula 5 (contendo 64%p/p do Copolímero A) percebeu-se o fenômeno de *capping*, indicando relaxação do granel e alta porosidade nos comprimidos, fato comprovado pela baixa dureza encontrada (62,00 N) quando comparada com as demais Fórmulas. Os comprimidos da Fórmula 5 foram aqueles que apresentaram maior porcentagem de perda de pós (3,12%) no ensaio de friabilidade. O grande tamanho de partículas do Copolímero A, a elevada distribuição granulométrica e a morfologia irregular - aspectos que podem ser visualizados nas

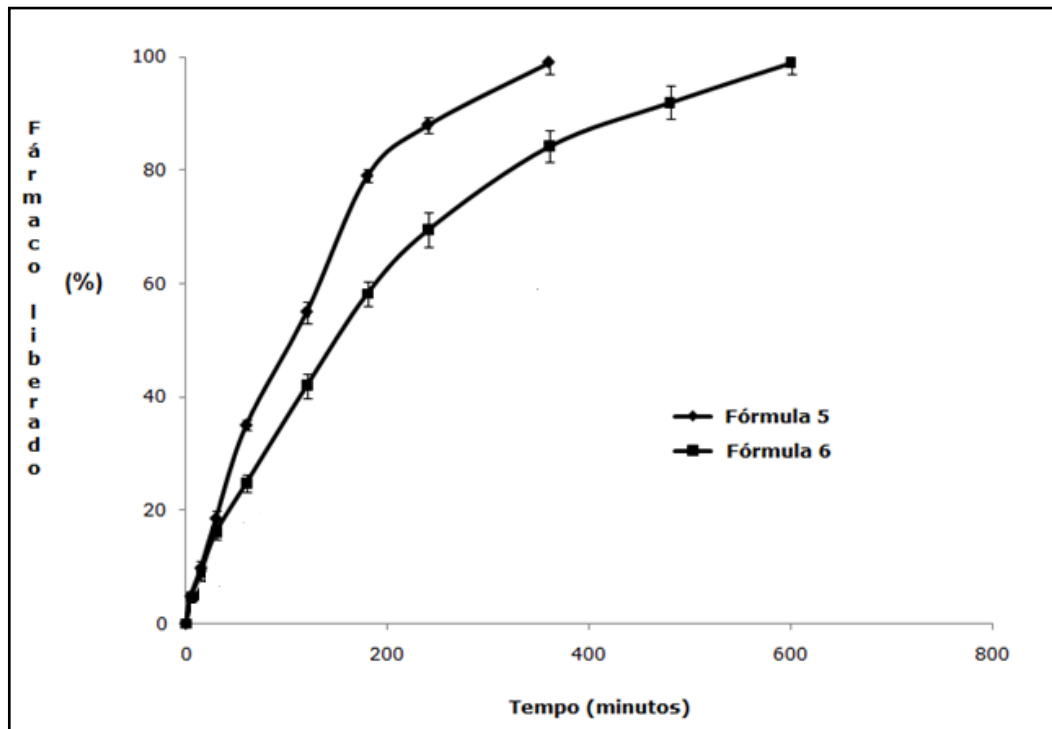
imagens 5.19 e 5.20 - podem explicar os valores em desacordo com os demais. Vale lembrar que o excipiente foi o que apresentou os piores resultados nas medidas indiretas e diretas de fluxo, como pode ser confirmado nas Tabelas 4.9 e 4.10 e pelo relatório apresentado no Anexo III. Tal fato também pode explicar também a não conformidade para o peso médio dos comprimidos da Fórmula 5. Para comprimidos de 500 mg, a variação do peso médio deve compreender-se entre  $\pm 5\%$ . Entre as unidades testadas, mais que três encontraram-se fora do limite especificado. Os resultados dos ensaios físicos podem ser visualizados na Tabela 5.11.

**TABELA 5.11.** Valores obtidos nos ensaios de peso médio, dureza, friabilidade e coeficiente de correlação (r) para as Fórmulas 5 e 6

| <b>Fórmulas</b> | <b>Peso médio (mg)</b><br><b><math>\pm</math> DP (CV%)</b> | <b>Dureza (N)</b><br><b>(CV%)</b> | <b>Friabilidade</b><br><b>(%)</b> | <b>r</b><br><b>(Higuchi)</b> |
|-----------------|--|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <b>5</b>        | 542,61 $\pm$ 0,02<br>(3,81)                                | 62,00<br>(11,90)                  | 3,12                              | 0,9939                       |
| <b>6</b>        | 518,49 $\pm$ 0,02<br>(3,85)                                | 100,00<br>(12,45)                 | 0,31                              | 0,9944                       |

\*DP = desvio padrão; \*\*CV = coeficiente de variação (desvio padrão relativo).

Com relação ao perfil de liberação, a Fórmula 5 liberou a totalidade de fármaco em um período inferior a 6 horas, sofrendo desagregação total durante o ensaio. Para a Fórmula 6, o tempo de dissolução foi de 10 horas. O estudo da cinética de liberação indicou que a liberação do PHCl, a partir de ambas as Fórmulas, seguiu o modelo de Higuchi e o mecanismo de difusão de Fick. O valor de r é dado na Tabela 5.11. Os perfis de liberação podem ser vistos na Figura 5.22.



**FIGURA 5.22** Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 5 (Copolímero A) e 6 (Copolímero B), em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8. (n=6 comprimidos).



## 5.4. CONCLUSÕES

Nas dispersões poliméricas aquosas, a viscosidade varia de acordo com o tamanho médio das partículas (TMP) que, por sua vez, depende da estabilidade no sistema. Para uma mesma dispersão, a viscosidade diminui com o aumento da distribuição do tamanho das partículas, juntamente com a interação partícula-partícula. Quando uma fração da fase dispersa aproxima-se, até alcançar um valor ótimo de empacotamento, a viscosidade tende a não aumentar rapidamente. Portanto, o pequeno tamanho das partículas, com estreitas faixas de distribuição granulométrica (expressas pelos baixos índices de polidispersão) e elevados resultados de potencial zeta (negativos para ambos os copolímeros) evitaram a coalescência das gotículas nos látices, a aproximação máxima das mesmas e o aumento da viscosidade, que permaneceu baixa para ambos os Copolímeros. Tais resultados sugerem que a técnica empregada gerou látices estáveis, com aproximadamente 55% de teor em sólidos e viscosidades menores que 60 cP.

Por definição, emulsões com alto teor em sólidos (*high solid content látex*) são aquelas que apresentam conteúdo de partículas maior ou igual a 60 - 70%. Porém, os Copolímeros A e B podem ser considerados látices com alto conteúdo de sólidos quando comparado àqueles comercialmente disponíveis (Eudragit<sup>®</sup> NE 30 e 40D), podendo ser preparados pela técnica de emulsão convencional. O emprego de pares de oxirredução, a realização da reação em 2 estágios e o uso de ultrassom no preparo das pré-emulsões parece ter contribuído para o sucesso da polimerização. Cabe ressaltar que ambos os copolímeros foram preparados na ausência de solventes orgânicos voláteis, o que é interessante do ponto de vista ambiental, para os manipuladores e consumidores.

De acordo com os resultados da avaliação da funcionalidade dos excipientes, pode-se concluir que os Copolímeros A e B liofilizados podem ser utilizados no desenvolvimento farmacotécnico de comprimidos, desde que os mesmos sejam submetidos a processo de operações unitárias, nomeadamente, redução do tamanho, uma vez que os mesmos apresentaram morfologia irregular e partículas com tamanho fora do limite preconizado na literatura para compressão direta. Talvez, o processo de secagem por meio de atomização dê origem a partículas sólidas adequadas à compressão direta.

Os Copolímeros A e B liofilizados foram considerados atóxicos, após realização de ensaios preliminares de viabilidade celular, pelo método do MTT, o que sugere que os mesmos podem ser empregados como excipientes no desenvolvimento de formulações farmacêuticas.

Os comprimidos preparados com 64%p/p do Copolímero A apresentaram peso médio, dureza e friabilidade fora dos limites especificados para o presente trabalho. Já os comprimidos obtidos com 64%p/p do Copolímero B atenderam às especificações e liberaram 90% do PHCl em um período de 10 horas. Porém, a matriz desagregou-se ao final do ensaio. Tais observações podem ser justificadas pela ampla distribuição granulométrica e morfologia irregular dos mesmos, inadequadas à compressão direta.

Ainda, o emprego dos látices pode ser considerado uma alternativa farmacotécnica para a preparação dos comprimidos, já que as dispersões obtidas originaram copolímeros com teor em sólidos acerca de 15% acima daquele apresentado pelas dispersões comercialmente disponíveis. Neste caso, o processo de preparação dos comprimidos poderá ocorrer pela compressão por via úmida ou, ainda, os látices poderão ser empregados em processos de revestimento, com as vantagens de poderem ser utilizados em menor quantidade devido ao maior conteúdo de sólidos

com baixa viscosidade, o que tornará o processo mais rápido e reduzirá o custo do produto final.

## CAPÍTULO 6

---

**Funcionalização da pectina pelo metacrilato de glicidila, obtenção de copolímeros acrílicos e preparação de matrizes por compressão direta**

## 6.1. Funcionalização da pectina

O uso de inúmeros polissacarídeos empregados individualmente, modificados e/ou associados aos polímeros sintéticos, intencionando a preparação de sistemas de liberação de fármacos, é uma perspectiva que vem ganhando merecido destaque na área de materiais para aplicações farmacêutica, odontológica e biomédica. Estes sistemas aliam vantagens inerentes aos polímeros sintéticos, tais como processabilidade, estabilidade e baixa hidrofília, com propriedades únicas dos polímeros naturais, como baixa toxicidade, baixo custo, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Neste contexto, a pectina tem sido extensivamente estudada por apresentar características peculiares (Reis *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2006; Charlton *et al.*, 2007; Coviello *et al.*, 2007; Sandolo *et al.*, 2007; Klein, 2009; Reis *et al.*, 2009).

A pectina é um polissacarídeo estrutural e de suporte encontrado nas paredes celulares de inúmeras espécies vegetais. Sua estrutura química é heterogênea e complexa, apresentando uma cadeia principal linear constituída por unidades de ácido D-galacturônico unidas por ligações  $\alpha$ -(1-4), interrompidas aleatoriamente por ligações  $\alpha$ -(1-2) da L-raminose. Outros açúcares neutros podem estar presentes nas cadeias laterais, como a D-galactose, a L-arabinose, a D-xilose, a L-raminose, a L-fucose e traços de 2-O-metilfucose. Sua massa molar é elevada, variando entre 50.000 e 180.000 g/mol. O ácido galacturônico possui grupos carboxila naturalmente esterificados por grupos metílicos (CH<sub>3</sub>) ou reagidos com amônia, para a produção de carboxiamidas. O grau de esterificação (GE) ou amidação (GA) pode ser expresso em porcentagem e constitui uma base para a classificação da pectina. Em geral, pectinas com grau de esterificação maior que 50% são consideradas de alta esterificação (AE)

e aquelas com GE menor que 50% são consideradas de baixa esterificação (BE) (BeMiller, 1986; Sriamornsak, 2003; Beneke *et al.*, 2009).

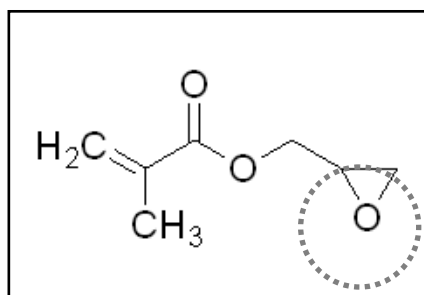
Em geral, as pectinas são solúveis em água. Quando a pectina em pó é adicionada à água, ela hidrata-se rapidamente formando grumos. Sua solubilização é lenta e sob agitação constante. Quando o pH é reduzido, a ionização dos carboxilatos é suprimida e a hidratação das carboxilas é reduzida. Como resultado da diminuição do grau de ionização, as macromoléculas não se repelem em toda a sua extensão, associando-se e formando um gel. Portanto, o grau de metoxilação exerce influência na solubilidade e nas condições de gelificação da pectina (BeMiller, 1986; Sriamornsak, 2003).

Uma das principais vantagens associadas ao uso da pectina em sistemas de liberação de fármacos é sua resistência à passagem pelo segmento proximal do trato gastrointestinal (TGI), apresentando biodegradabilidade específica pela microflora anaeróbica residente no cólon. Assim, seu uso está associado ao desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos cólon-específicos, empregados no tratamento local ou sistêmico de colite ulcerativa, síndrome do intestino irritável, doença de Chron, carcinomas de cólon, entre outras patologias (Ahrabi *et al.*, 2000; Vandamme *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2002; Jain *et al.*, 2007; Maior *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2008; Patel *et al.*, 2008). Outra vantagem atribuída ao uso da pectina como excipiente farmacêutico é sua capacidade mucoadesiva, decorrente da formação de ligações de hidrogênio entre as carboxilas do polissacarídeo e as hidroxilas do muco (Schmidgall & Hensel, 2002; Liu *et al.*, 2005; Hagesaether & Sander, 2008; Thirawong *et al.*, 2007; Thirawong *et al.*, 2008).

Por outro lado, a principal desvantagem do uso da pectina em sistemas de liberação de fármacos é sua alta solubilidade em água o que origina limitações na proteção de fármacos durante a passagem pelo estômago e intestino delgado. Outro

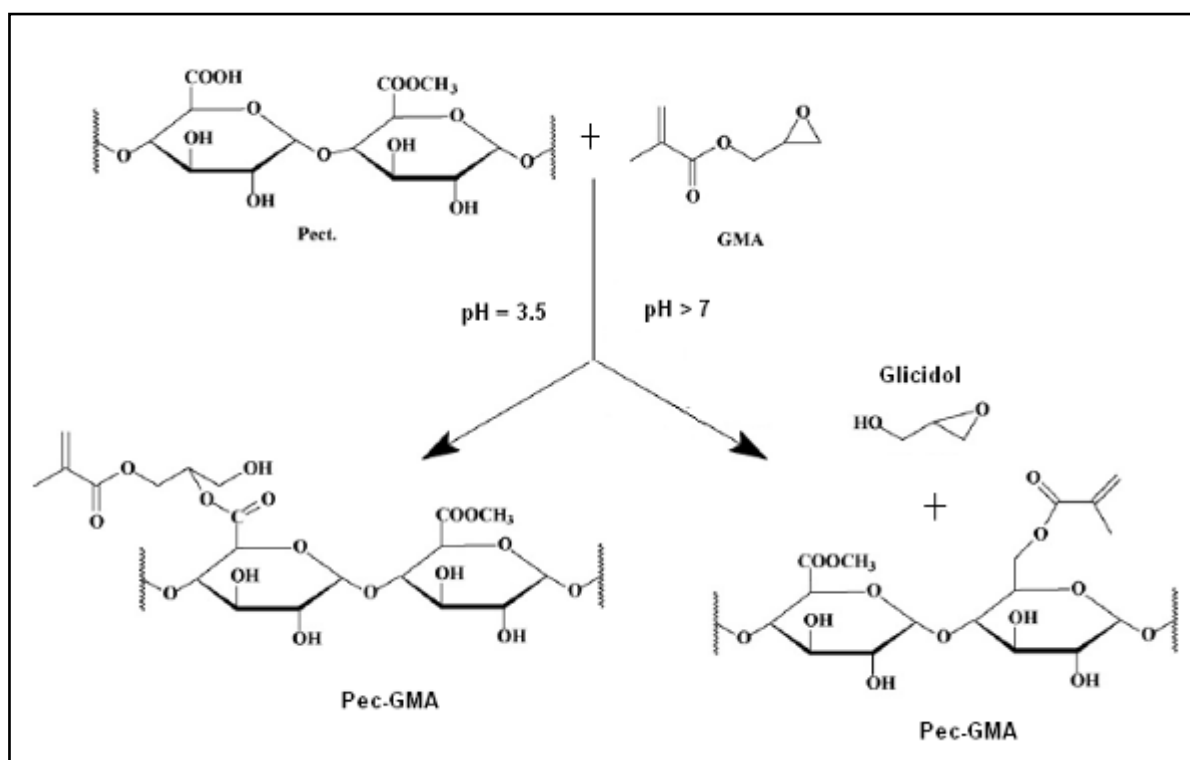
problema é que a pectina exibe resistência à consolidação devido a sua elevada capacidade de recuperação elástica durante os processos de compressão e ejeção dos comprimidos. Sugere-se que o mecanismo de compactação seja a fragmentação com pequena deformação plástica (Kim *et al.*, 1998; Ahrabi *et al.*, 2000; Semdé *et al.*, 2000; Sinha & Kumria, 2001). Uma alternativa para modificar suas propriedades mecânicas e reduzir sua elevada hidrossolubilidade é modificá-la quimicamente.

Um dos monômeros de escolha para a funcionalização de macromoléculas é o metacrilato de glicidila (GMA) (Shanti & Panduranga, 2001; Han *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2006; Elizalde-Peña *et al.*, 2007; Erol *et al.*, 2009). O GMA é um monômero hidrofílico, solúvel em água na concentração de 2,3% p/V e miscível com a maioria dos solventes orgânicos. O GMA apresenta dois sítios de reação: um grupo epóxi em um dos lados da molécula e um metacrilato do outro, o que o torna útil na funcionalização de diferentes materiais. A partir do GMA, duplas ligações (C=C) podem ser introduzidas na molécula a ser modificada, visando a copolimerização com outros monômeros (May, 1988). O GMA apresenta reação de polimerização por adição e os homopolímeros e copolímeros nele baseados formam uma classe de polímeros potencialmente funcionais. A alta reatividade do grupo epóxi, frente a uma larga variedade de reagentes, provê novas rotas para preparar inúmeros polímeros multifuncionais através das modificações químicas (Gohsh & Krishnamurti, 2000; Tarducci *et al.*, 2000; Shanti & Panduranga, 2001; Cañamero *et al.*, 2004; París *et al.*, 2008). A estrutura química do GMA é dada na Figura 6.1.



**FIGURA 6.1.** Estrutura química do GMA (destaque para o grupo epóxi).

Grupos epoxídicos podem ser usados para a funcionalização de aminoácidos, proteínas, açúcares e polissacarídeos. As reações químicas do GMA podem ocorrer com grupos ácidos (COOH) e básicos (OH) de diferentes moléculas em solução aquosa, sofrendo interferência do pH do meio. Em valores de pH baixos (cerca de 3,5), a reação se processa por hidrólise do GMA com abertura do anel epóxido. Em pH alcalino (acima de 8), o GMA reage com grupos OH tanto por abertura do anel como por transesterificação, sendo o mecanismo de abertura do anel, a via preferencial (Reis *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2009). A Figura 6.2 apresenta as possíveis vias e os prováveis produtos da reação entre a pectina e o GMA.



**FIGURA 6.2.** Representação entre a reação da pectina e o GMA (Adaptado de Reis *et al.*, 2006).

A modificação química da pectina de baixa metoxilação pelo metacrilato de glicidila teve como objetivo introduzir duplas ligações no polissacarídeo, tornando-o passível de ser copolimerizado na presença de monômeros acrílicos e metacrílicos, originando copolímeros com propriedades adequadas ao uso farmacêutico.



Neste contexto, na primeira fase do presente Capítulo, foi proposta a funcionalização da pectina pelo GMA, a partir de uma técnica já bem estabelecida na literatura, visando à possibilidade de copolimerização do polissacarídeo funcionalizado com os monômeros MMA, EA e BMA. A partir da pectina modificada, diferentes técnicas foram empregadas na preparação de seus copolímeros, entre elas, a polimerização em suspensão (descrita detalhadamente no Capítulo 4) e a enxertia da Pec\_GMA no Copolímero A, preparado no Capítulo 5. Na segunda fase, as propriedades farmacêuticas dos excipientes obtidos foram avaliadas no que diz respeito ao tamanho das partículas, morfologia e fluxo. Avaliação prévia da citotoxicidade foi realizada empregando o método de viabilidade celular por MTT. Na terceira fase, os excipientes considerados adequados foram utilizados na preparação de comprimidos matriciais contendo cloridrato de propranolol. A liberação do fármaco e atributos físicos dos comprimidos foram estudados de acordo com metodologias descritas na Farmacopeia Brasileira 4ª edição (1988) e na *United States Pharmacopeia* 32<sup>th</sup> edição (2009).

Uma quarta fase foi incluída nesta etapa do trabalho visando explorar a capacidade bioadesiva da pectina. Segundo Bernkop-schnürch (2005), um possível caminho para conseguir bioadesão seria a modificação de polímeros que não se dissolvem em meio gástrico, mas, são permeáveis e intumescíveis - como copolímeros acrílicos baseados no EA, MMA e BMA. Assim, foram preparados copolímeros acrílicos contendo Pec\_GMA, pela técnica de polimerização em emulsão, que foram submetidos a ensaios de adesividade *in vitro*. A metodologia utilizada baseou-se em modificações na reologia dos látices poliméricos na presença de mucina.

## 6.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.2.1. MATERIAIS

#### 6.2.1.1. Reagentes

- Pectina GENU<sup>®</sup> USP, LM – 104AS. Lote: SK81089. Validade: 02/2011. *CPKelco*
- Acrilato de etila - *Aldrich*
- Metacrilato de metila – *Aldrich*
- Metacrilato de butila – *Aldrich*
- Metacrilato de glicidila – *Aldrich*
- Solução de ácido clorídrico 0,1 N – *Synth*
- Peróxido de benzoíla – *Vetec*
- Sulfato ferroso – *Synth*
- Persulfato de amônio – *Synth*
- Ditionito de sódio – *Synth*
- Álcool etílico – *Synth*
- Tetraidrofurano – *Synth*
- Cloridrato de propranolol (PHCI). Lote: PR07091F12. Validade: 08/2012. Fornecedor: *Attivos Magistrais*. Teor: 101,09% (Laudo de Análise) (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Celulose microcristalina PH 102 (Comprecel<sup>®</sup>). Lote: C0910038. Validade: 10/2012. Fornecedor: *Valdequímica*. (Gentilmente doado pela Pharma Ponte, Sorocaba)
- Dióxido de silício coloidal (Aerosil<sup>®</sup>) – *Aldrich*
- Cloreto de sódio Grau Reagente – *Synth*
- Ácido clorídrico Grau Reagente – *Synth*
- Ácido cítrico monoidratado Grau Reagente – *Synth*
- Fosfato de sódio dibásico anidro Grau Reagente – *Synth*

- [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólico] (MTT) - *Sigma-Aldrich*
- Meio de cultura *Eagle* modificado (DMEM) - *Gibco*
- Solução salina fosfato tamponada (PBS) - *Gibco*
- Soro fetal bovino (SFB) - *Gibco*
- Mucina Tipo II (estômago suíno, não purificado) - *Sigma*

#### **6.2.1.2. Equipamentos**

- Balança analítica *Bioprecisa*, modelo FA2104N
- Agitador mecânico *Fisatom*, modelo 713 D
- Manta aquecedora *Fisatom*, modelo 102K
- pHmetro *Marconi*, modelo MA PA200
- Liofilizador *Terroni*, modelo LT 600
- Estufa *Biopar*, modelo S80SD
- Espectrofotômetro *Thermo Scientific*, modelo Nicolet 6700
- Sistema de Calorimetria Exploratória Diferencial *Shimadzu*, modelo DSC50
- Sistema de Análise Termogravimétrica *Shimadzu*, modelo DTG60
- Microscópio Eletrônico de Varredura *JEOL*, modelo JSM-5410
- Compactador automático (Volumeter *Tapped Density*) *Erweka*, modelo SVM 201
- Aparelho de escoamento (Granulate Flow Tester) *Erweka*, modelo GTB
- Granulômetro por difração a laser *Sympatec*, modelo HELOS
- Granulômetro por difração a laser *Malvern Instruments*, modelo Mastersizer 2000S
- Prensa automática *CIOLA*, com matriz cilíndrica e punção de 11 mm
- Balança Analítica *Bel Engineering*, modelo Mark 210 A
- Durômetro digital portátil, *Nova Ética*, modelo 298/DGP
- Friabilômetro *Nova Ética*, modelo 300.1
- Aparelho de dissolução *Quimis*, modelo Q850 - 8 Provas
- Espectrofotômetro UV-VIS *Shimadzu*, modelo 1601 PC

- Espectrofotômetro Anthos *Labtec Instruments*, modelo ADAP 1.6
- Aparelho de ângulo de contato (Goniômetro) *GBX Instruments*, modelo DIGIDROP-DI
- Viscosímetro digital *Brookfield*, modelo RV-DVII + Pro

## 6.2.2. MÉTODOS

### 6.2.2.1. Modificação da pectina pelo GMA

Inicialmente, o teor de umidade da pectina foi determinado por perda por dessecação. Dois (2) gramas do polissacarídeo foram pesados em pesa-filtros e deixados na estufa, a 105° C, durante 3 horas. Os recipientes foram retirados, deixados em dessecador até temperatura ambiente e pesados novamente. O processo foi repetido até obtenção de peso constante. As análises foram feitas em triplicatas e a média e o desvio padrão foram calculados empregando o programa Excel. Os resultados foram utilizados para correção do teor de pectina nas preparações.

A modificação da pectina foi realizada conforme método descrito por Souto-Maior e colaboradores (2008). Primeiramente, foi preparada uma solução coloidal da pectina em água, na concentração de 2,5% p/V, sob agitação mecânica, até completa dispersão. O pH foi verificado e ajustado para 3,5 com solução de HCl 0,1 N. Em seguida, foram adicionados 4,8 mL de GMA e a mistura foi mantida sob agitação mecânica por 24 horas, a 50° C. A relação empregada entre a pectina e o GMA foi de 0,067 g/mol para 0,34 g/mol, respectivamente, com base na unidade de repetição da cadeia principal da pectina ( $C_{13}O_{13}H_8$ ). Transcorrido o tempo da reação, a pectina modificada pelo GMA foi precipitada em etanol e separada por filtração a vácuo. O produto da reação foi congelado a -20° C e liofilizado em aparelho LT 600 (Terroni), durante 12 horas. A pectina e amostras da Pec\_GMA, antes da liofilização, foram analisados por FTIR para confirmação da modificação.

Para avaliação da capacidade de polimerização do polissacarídeo funcionalizado, o mesmo foi polimerizado empregando persulfato de amônio como iniciador. Para tal, 40 mL da dispersão recém-preparada foram submetidos à agitação magnética, na presença do iniciador, adicionado na concentração de 1%p/p em massa de

monômero. Após 1 hora, foram preparados filmes por *casting*, que foram secos em estufa a 75° C, durante 36 horas. Os filmes foram lavados com água purificada para retirada de produtos que não reagiram e deixados, novamente, em estufa a 40° C, de um dia para o outro. Os filmes assim preparados foram analisados por FTIR.

#### 6.2.2.2. Preparação de *beads* contendo Pec\_GMA por polimerização em suspensão (BPEC)

Para a realização da síntese foi empregado um balão de 250 mL, tritubulado, equipado com um agitador mecânico digital, um termômetro e um sistema de entrada de nitrogênio, para controle do microambiente de polimerização. Uma manta de aquecimento/resfriamento foi empregada para controlar a temperatura durante a polimerização. A composição do sistema obtido por polimerização em suspensão é dada na Tabela 6.1. A técnica foi a mesma utilizada no Capítulo 3, exceto pela substituição de parte dos monômeros acrílicos pela Pec\_GMA e exclusão das NWCs.

**TABELA 6.1.** Composição qualitativa e quantitativa dos *beads* BPEC

| Componentes          | Quantidade |
|----------------------|------------|
| Água purificada      | 60,00 mL   |
| Poli(ácido acrílico) | 0,20 g     |
| Sulfato de sódio     | 0,20 g     |
| BMA                  | 23,52 mL   |
| MMA                  | 7,84 mL    |
| EA                   | 7,84 mL    |
| Pec_GMA              | 0,80 g     |
| Peróxido de benzoíla | 0,20 g     |

A pectina modificada recém obtida, na quantidade de 2%p/p em massa de monômeros, foi dispersa, sob agitação mecânica, em água. Parte do poli(ácido acrílico) e do sulfato de sódio foram pesados, dissolvidos em 5 mL de água purificada e adicionados ao reator. Separadamente, o PB foi pesado e dissolvido na mistura dos monômeros (BMA, MMA e EA), que foi adicionada ao reator. Forte agitação foi mantida (750 rpm) à temperatura constante de 75° C. Após 1 hora observou-se o início da reação de copolimerização. Decorrida outra hora, a temperatura elevou-se, espontaneamente, até atingir um pico de 85° C. Após 1 hora, a agitação foi cessada e um produto particulado foi recolhido por filtração sob vácuo e lavagem com água purificada. Os *beads* foram denominados BPEC.

Para confirmar a copolimerização, foi preparada uma solução contendo 20% p/V do copolímero em tetraidrofurano, a partir da qual foram obtidos filmes por *casting*, após secagem em estufa a 40° C, por 4 horas. Formaram-se filmes homogêneos e transparentes, que foram avaliados por FTIR.

### **6.2.2.3. Preparação de copolímero contendo Pec\_GMA por enxertia (CPEC)**

O mesmo sistema de reação empregado anteriormente foi utilizado para a síntese do polímero por enxertia. A proporção da Pec\_GMA com relação à quantidade de monômeros foi de 4,5%p/V, uma vez que o copolímero A apresentou teor em sólidos de 55%. A Pec\_GMA recém obtida foi dispersa em 45 mL de água purificada, sob agitação mecânica (250 rpm), até a homogeneidade. O Copolímero A emulsionado foi adicionado e a reação foi mantida a 60° C por 30 minutos. O par redox, previamente solubilizado em 5 mL de água, foi adicionado e a temperatura foi mantida a 70° C, durante 4 horas. A composição da preparação é dada na Tabela 6.2. O filme formado por *casting* foi analisado por FTIR. O produto da reação foi aliquotado, congelado em nitrogênio líquido e liofilizado em aparelho LT600 (Terroni) durante 24 horas. O copolímero foi denominado CPEC.

**TABELA 6.2.** Composição qualitativa e quantitativa do copolímero CPEC

| Componentes                        | Quantidade |
|------------------------------------|------------|
| Água purificada                    | 50,00 mL   |
| Pec_GMA                            | 1,00 g     |
| Copolímero acrílico A              | 40,00 g    |
| Persulfato de amônia (10%p/V) (mL) | 0,80 mL    |
| Ditionito de sódio (10% p/V) (mL)  | 0,80 mL    |

#### 6.2.2.4. Caracterização da pectina modificada e dos copolímeros BPEC e CPEC

##### **Análises espectrofotométricas**

As modificações na pectina (Pec\_GMA) e a formação dos copolímeros foram monitoradas por espectrofotometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Para tal, foram preparados filmes, por *casting*, da pectina pura dispersa em água (2,5%p/V), da Pec\_GMA polimerizada e do copolímero obtido por enxertia (CPEC).

As análises foram feitas utilizando-se microscópio Centaurus acoplado ao espectrômetro *Thermo Scientific* (Nicolet 6700), em modo ATR, com cristal de germânio. Espectros de Micro-FTIR-ATR, na região de 650-4000  $\text{cm}^{-1}$ , foram coletados com resolução espectral melhor que 4  $\text{cm}^{-1}$ , adquiridos com 64 acumulações, sob purga de nitrogênio seco.

##### **Análises térmicas**

A pectina modificada (Pec\_GMA), *beads* contendo pectina (BPEC) e o copolímero obtido por enxertia (CPEC) foram caracterizados por análise térmica. Para pesquisar



os eventos de TG, DTG e DTA foi empregado aparelho Shimadzu DTG60. Amostras foram pesadas em cadinho de alumínio e submetidas a atmosfera de N<sub>2</sub>, com fluxo de 100 mL/minuto e razão de aquecimento foi de 10° C/minuto. As análises de DSC foram efetuadas em equipamento Shimadzu DSC50, em cadinho de alumínio, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/minuto. Para todas as amostras, foram realizadas duas corridas: a primeira (isoterma de equilíbrio) foi feita entre as temperaturas de -10° C a 100° C, com rampa de aquecimento de 10° C por minuto. A segunda corrida foi realizada entre -10° C e 600° C, com rampa de aquecimento de 10° C por minuto.

### ***Análises micromeríticas***

Os excipientes sólidos foram submetidos às análises de interesse farmacêutico empregando as mesmas técnicas já descritas nos Capítulos 3 e 4. A morfologia e avaliação granulométrica foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), em microscópio *JEOL* (modelo JSM-5410), com potencial de aceleração de 15 kV, sem metalização. A distribuição do tamanho das partículas foi medida por granulometria por difração a *laser*, empregando aparelho Sympatec, modelo HELOS, com comprimento focal de 50 mm. Para tal, as amostras foram dispersas em solução de hexametáfosfato de sódio (0,05%p/V), usado como dispersante. A densidade aparente e a densidade compactada foram calculadas após obtenção dos volumes aparente e compactado das amostras, obtidos em equipamento *Erweka Volumeter Tapped*, modelo SVM, segundo especificações da *British Pharmacopoeia* (2009). A partir desses valores, o Índice de Carr e o Fator de Hausner foram calculados. O fluxo do material foi determinado diretamente em aparelho *Erweka Granulate Flow Tester*, tipo GWF.

### **Ensaio de viabilidade celular**

Os excipientes sólidos foram submetidos ao ensaio de viabilidade celular, realizado conforme metodologia descrita por Carvalho (2009), em culturas de fibroblastos gengivais humanos. A técnica empregada foi descrita, detalhadamente, no Capítulo 4.

#### **6.2.2.5. Obtenção e avaliação dos comprimidos contendo BPEC**

Foram preparados 50 comprimidos de 500 mg contendo 160 mg de PHCl, em escala laboratorial. Os comprimidos foram preparados por compressão direta, empregando o excipiente BPEC e as Fórmulas foram denominadas 7 e 8. Antes da avaliação micromerítica e da preparação dos comprimidos os *beads* BPEC foram passados em tamis 120 *mesh* (125  $\mu$ m). Posteriormente, os componentes foram misturados e submetidos à compressão em prensa CIOLA, no modo automático, utilizando matriz cilíndrica e punção de 11 mm. A força de compressão utilizada foi de 60 KN. O tempo de compressão foi de 2 minutos. A composição são dadas na Tabela 6.3.

**TABELA 6.3.** Composição qualitativa e quantitativa dos comprimidos contendo BPEC

| <b>Componentes</b>        | <b>7</b> | <b>8</b> |
|---------------------------|----------|----------|
| Cloridrato de propranolol | 32       | 32       |
| BPEC                      | 48       | 64       |
| Celulose microcristalina  | 19       | 3        |
| Aerosil®                  | 1        | 1        |

\*Quantidades fornecidas em %p/p.

Depois de preparados, os comprimidos foram avaliados quanto ao peso médio, força de quebra, friabilidade, perfil de liberação e a cinética de liberação foi estudada. Todos os métodos empregados foram detalhadamente descritos no Capítulo 4.

#### **6.2.2.6. Preparação e caracterização de copolímeros contendo Pec\_GMA por polimerização em emulsão (EPEC)**

Látices contendo a Pec\_GMA foram preparados pelo processo de polimerização em emulsão. As composições dos sistemas são dadas na Tabela 6.4 e os copolímeros foram chamados EPEC. Para a realização da síntese foi empregado um balão de 250 mL, tritubulado, equipado com um agitador mecânico digital, um termômetro e um sistema de alimentação de nitrogênio, para controle do microambiente de polimerização. Uma manta de aquecimento/resfriamento foi empregada para controlar a temperatura durante a polimerização.

Inicialmente, a Pec\_GMA recém preparada foi dispersa em 50 mL de água purificada, sob baixa agitação mecânica (250 rpm) para evitar a formação de bolhas e sem aquecimento. O processo demorou algumas horas, conforme a concentração da Pec\_GMA, que variou de 2%p/V a 6%p/V, com relação ao volume das formulações. Após completa homogeneização, a temperatura foi elevada até 60° C e a mistura de monômeros foi adicionada. Os iniciadores foram previamente solubilizados no restante da água purificada e adicionados ao sistema, que permaneceu sob baixa agitação durante 4 horas, com a temperatura controlada (abaixo de 85° C). Os monômeros EA, MMA e BMA, foram utilizados sem purificação prévia e a porcentagem total de iniciadores em cada copolímero foi de 0,88%p/p (em massa de monômeros). Foram preparados filmes por *casting*, que foram caracterizados por FTIR.

Após preparo dos copolímeros pela técnica de polimerização em emulsão (EPEC), foram obtidos filmes por *casting*, secos em estufa a 40° C, os quais foram submetidos à análise de FTIR, nas mesmas condições citadas anteriormente, visando confirmação da copolimerização.

**TABELA 6.4.** Composição dos copolímeros acrílicos EPEC obtidos por polimerização em emulsão

| <b>Componentes (g)</b>                  | <b>EPEC 1</b> | <b>EPEC 2</b> | <b>EPEC 3</b> | <b>EPEC 4</b> |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Pec_GMA                                 | 2,00          | 3,5           | 5,00          | 6,00          |
| BMA                                     | 23,20         | 23,20         | 23,20         | 23,20         |
| MMA                                     | 8,40          | 8,40          | 8,40          | 8,40          |
| EA                                      | 8,40          | 8,40          | 8,40          | 8,40          |
| Sulfato ferroso                         | 0,036         | 0,038         | 0,039         | 0,040         |
| Persulfato de sódio                     | 0,162         | 0,171         | 0,175         | 0,182         |
| Ditionito de sódio                      | 0,162         | 0,171         | 0,175         | 0,182         |
| Água purificada (quantidade suficiente) | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        |

As emulsões tiveram o teor em sólidos pesquisado por gravimetria, utilizando metodologia descrita no Capítulo 5. As análises foram feitas em triplicata. O pH dos látices poliméricos foi verificado por medida direta em pHmetro digital Marconi (modelo MA PA 200).

A distribuição do tamanho das partículas foi pesquisada no granulômetro por difração a *laser* Mastersizer 2000 (*Malvern Instruments*), utilizando unidade de dispersão Hydro 2000S, dentro de uma faixa de medida compreendida entre 0,020 a 200  $\mu\text{m}$ . As medidas foram feitas empregando água como dispersante, na velocidade de 2130 rpm, com faixa de obscuração de 10 a 20% e tempo real de análise de 15 segundos. Foram calculados, pelo *software*, os valores da frequência da distribuição de tamanho ( $d_{10\%}$ ,  $d_{50\%}$  e  $d_{90\%}$ ) e o índice de polidispersão (Span).

A molhabilidade dos látices foi pesquisada através da medida do ângulo de contato ( $\phi$ ) formado entre a água e filmes preparados a partir das emulsões EPEC,

empregando goniômetro DIGIDROP-DI. Os resultados representam as médias entre os ângulos direito e esquerdo, obtidos após deposição de gotas com volume padronizado (10  $\mu$ L), sobre filmes com dimensões de 2 cm x 2 cm. Foram feitas três medições consecutivas, à temperatura ambiente, empregando o modo *Surface Energy* do *software*, que permite a medida direta do ângulo de contato (em graus).

A capacidade adesiva dos copolímeros foi avaliada através de técnica *in vitro*. O método baseia-se na comparação entre as medidas da  $\eta$  de dispersões contendo mucina pura, dos copolímeros puros e de dispersões da mucina nos copolímeros (Thirawong *et al.*, 2007). Para tal, foram preparadas dispersões de mucina Tipo II, não-purificada, proveniente do estômago de suínos, em água. Por conter inúmeros grupos hidroxila nas cadeias ramificadas, grupos amina na cadeia principal e grupos sulfatos ou carboxilas terminais, a mucina seca pode ser dispersa em água (Peppas & Huang, 2004). Assim, o pó foi disperso em água sob agitação magnética durante 3 horas, a temperatura ambiente, nas concentrações de 5 e 7,5%p/V. O mesmo procedimento foi empregado para dispersar a mucina nos copolímeros. Posteriormente, a viscosidade aparente das dispersões foi determinada em viscosímetro Brookfield (modelo RV-DVII + Pro). As análises foram realizadas utilizando os adaptadores para pequenas quantidades (*Sample Adapter*, modelo 13R e *UL Adapter*), termostatizado a 25° C, empregando *spindle* SC4-28. A rotação variou conforme a viscosidade do sistema, de modo a obter um torque dentro da faixa de precisão do equipamento (entre 10 e 90%). O *software* foi programado para realizar leituras de 5 em 5 segundos, durante 60 segundos (em cada velocidade), com intervalos de equilíbrio de 120 segundos.

Thirawong e colaboradores (2007) determinaram as viscosidades de acordo com as Equações 6.2, 6.3 e 6.4:

$$\eta_{\text{calc}} = \eta_{\text{cop}} + \eta_{\text{m}} \quad [\text{Equação 6.2}]$$

$$\eta_{\text{s}} = \eta_{\text{exp}} - \eta_{\text{esp}} \quad [\text{Equação 6.3}]$$

$$\eta_{\text{rel}} = \eta_{\text{exp}} / \eta_{\text{esp}} \quad [\text{Equação 6.4}]$$

onde:

$\eta_{\text{s}}$  = viscosidade sinérgica;

$\eta_{\text{exp}}$  = viscosidade experimental;

$\eta_{\text{esp}}$  = viscosidade esperada;

$\eta_{\text{cop}}$  = viscosidade do copolímero;

$\eta_{\text{m}}$  = viscosidade da dispersão contendo mucina pura; e,

$\eta_{\text{rel}}$  = viscosidade relativa.

## 6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1. Preparo dos copolímeros

O teor de umidade medido para a pectina utilizada foi de 9,8% ( $\pm 0,15$ ), considerado típico para as pectinas comercialmente disponíveis (Kurita *et al.*, 2008; Thirawong *et al.*, 2008). Para o preparo das soluções de pectina a massa foi pesada conforme correções do teor.

Inicialmente, foi proposta a utilização da Pec\_GMA liofilizada nos processos de obtenção dos copolímeros acrílicos. Porém, o produto liofilizado mostrou ser insolúvel em água e em inúmeros outros solventes testados. Dispersões obtidas em água formaram grumos, inviabilizando o uso das mesmas. Portanto, optou-se pelo emprego da Pec\_GMA recém preparada, nos processo de copolimerização com os monômeros acrílicos. Não foi realizada avaliação da proporção de carboxilas que reagiram com o GMA.

Na técnica de preparo do copolímero em suspensão (BPEC), foram recolhidos *beads* opacos, pequenos e esféricos. Copolímeros em emulsão (CPEC) foram obtidos pela técnica de enxertia da Pec\_GMA na emulsão polimérica (Copolímero A), preparada no Capítulo 5. Enxertia ou grafitização é um método no qual os monômeros são ligados, covalentemente, à cadeia polimérica, através de diversas técnicas que incluem métodos químicos (via formação de radicais livres ou ionização), radiação, fotoiniciação, indução por plasma ou pela via enzimática (Bhattacharya & Mishra, 2004; Wang & Xu, 2006). Os produtos obtidos apresentaram-se como líquidos viscosos, de cor branca leitosa, aparência homogênea e sem separação de fases.

Por último, o processo empregado para o preparo das emulsões contendo Pec\_GMA (EPEC) gerou látices brancos, leitosos, homogêneos, isentos de odor

característico de monômeros livres e sem separação de fases. Visualmente, a viscosidade das dispersões elevou-se com o aumento da concentração da Pec\_GMA.

Quando preparadas com concentração acima de 6%p/V de Pec\_GMA, ocorreu a formação de grumos, inviabilizando o processo. Os filmes obtidos a partir das amostras mostraram-se translúcidos e ligeiramente amarelados devido, provavelmente, à presença do polissacarídeo modificado. Os copolímeros foram denominados EPEC 1, EPEC 2, EPEC 3 e EPEC 4 e a proporção da Pec\_GMA em relação à massa total de monômeros foi de, aproximadamente, 4,8%p/p (EPEC 1), 8%p/p (EPEC 2), 11%p/p (EPEC 3) e 13%p/p (EPEC 4).

O processo empregado na preparação dos copolímeros EPEC foi diferente daquele descrito no Capítulo 5, uma vez que a emulsão foi preparada na ausência de tensoativos. Ainda, somente um par redox foi empregado na presença do catalisador. Optou-se por não utilizar o ultrassom, uma vez que a dispersão da pectina modificada em água gerou uma dispersão viscosa, prejudicando a cavitação. A reação ocorreu em um só estágio e a temperatura foi controlada com o auxílio de uma manta termostatizada, com aquecimento e resfriamento.

Ao contrário do processo clássico de polimerização em emulsão, que emprega surfactantes para formar micelas e estabilizar os látices, foram usados somente os monômeros e iniciadores solúveis em água. Segundo Egen e Zentel (2004), que empregaram a técnica isenta de surfactante (*Surfactant-free Emulsion Polymerization - SFEP*) para obtenção de esferas a partir de monômeros metacrílicos, a polimerização sem tensoativos inicia-se após a adição de radicais (geralmente sulfatos), aos monômeros presentes na fase aquosa. Assim, formam-se oligômeros carregados, insolúveis na água, que se agregam na forma de micelas, a partir das quais o crescimento das cadeias se inicia de forma lenta. Os grupos sulfato pendentes atuam, também, como estabilizantes estéreos. Outros fatores que contribuem para a



estabilidade de emulsões poliméricas isentas de surfactantes são a presença de agentes formadores de emulsão do tipo *Pickering* (Kim *et al.*, 2008) e o emprego de iniciação através do uso de ultrassom, capaz de gerar radicais livres (Bradley *et al.*, 2005).

O uso de colóides hidrofílicos constitui-se como alternativa para a estabilização de sistemas dispersos. Macromoléculas de origem natural tais como proteínas, carboidratos e polissacarídeos, podem ser empregadas como agentes estabilizantes em processos de polimerização por emulsificação ou suspensão. De modo geral, estes componentes atuam na estabilidade de duas formas: (i) aumentando a viscosidade do sistema e, por consequência, reduzindo a velocidade de sedimentação das partículas; e, (ii) formando uma fina camada gelificada ao redor das partículas/gotículas, mantendo-as suspensas e estáveis, evitando a coalescência e a separação de fases (He *et al.*, 2002; Florence & Attwood, 2003; Sinko, 2006).

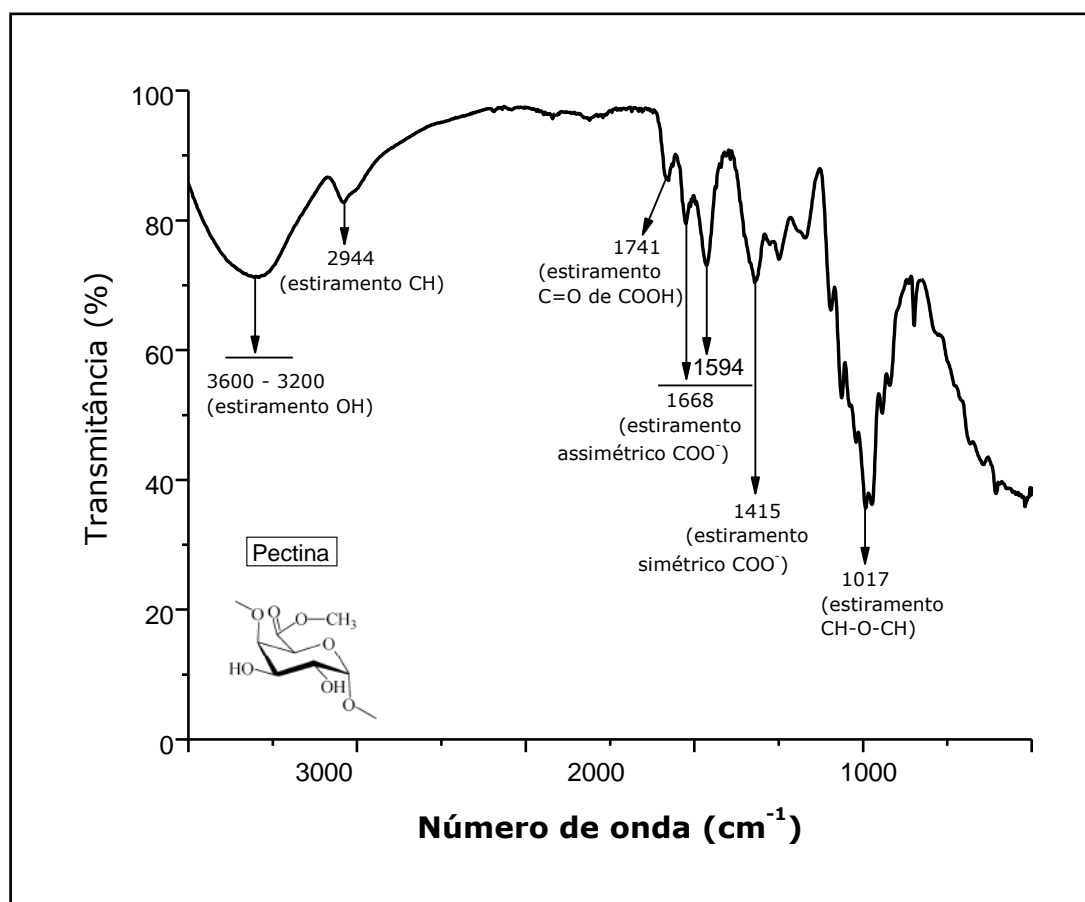
### 6.3.2. Análises espectrofotométricas

As principais bandas relatadas na literatura para o GMA são a  $3060\text{ cm}^{-1}$  (estiramento C-H do C situado no anel epoxídico);  $1720\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial da ligação C=O do éster conjugado);  $1630\text{ cm}^{-1}$  (deformação axial da dupla ligação C=C);  $910$  e  $842\text{ cm}^{-1}$  (deformação assimétrica e simétrica do anel epóxido no GMA, respectivamente) (Tarducci, *et al.*, 2000).

Já para a pectina, um produto de origem natural, que pode ser obtida a partir de diversas fontes, com composição variada, inúmeros picos característicos são relatados na literatura (Gnanasambandam & Proctor, 2000; Manrique & Lajolo, 2002; Synytsya *et al.*, 2003; Singthong *et al.*, 2005; Mishra *et al.*, 2009). Os principais picos são fornecidos na Tabela 6.5 e as bandas da pectina utilizada podem ser vistas na Figura 6.3.

**TABELA 6.5.** Espectro FTIR da pectina: número de ondas e grupos funcionais

| Número de onda<br>( $\text{cm}^{-1}$ ) | Grupo funcional                            |
|--|--|
| 3600 - 3200                            | Estiramento -OH de hidroxilas e água livre |
| 3400                                   | Estiramento -OH de -COOH livre             |
| ~ 2800                                 | Estiramento -CH de grupos -CH <sub>2</sub> |
| 1760 - 1730                            | Estiramento -C=O do grupo -COOH            |
| 1670 - 1600                            | Estiramento assimétrico -O=C-O- ionizada   |
| ~1460                                  | Estiramento -CH <sub>2</sub>               |
| ~1400                                  | Estiramento simétrico -O=C-O- ionizada     |
| ~1010                                  | Estiramento -CH-O-CH-                      |

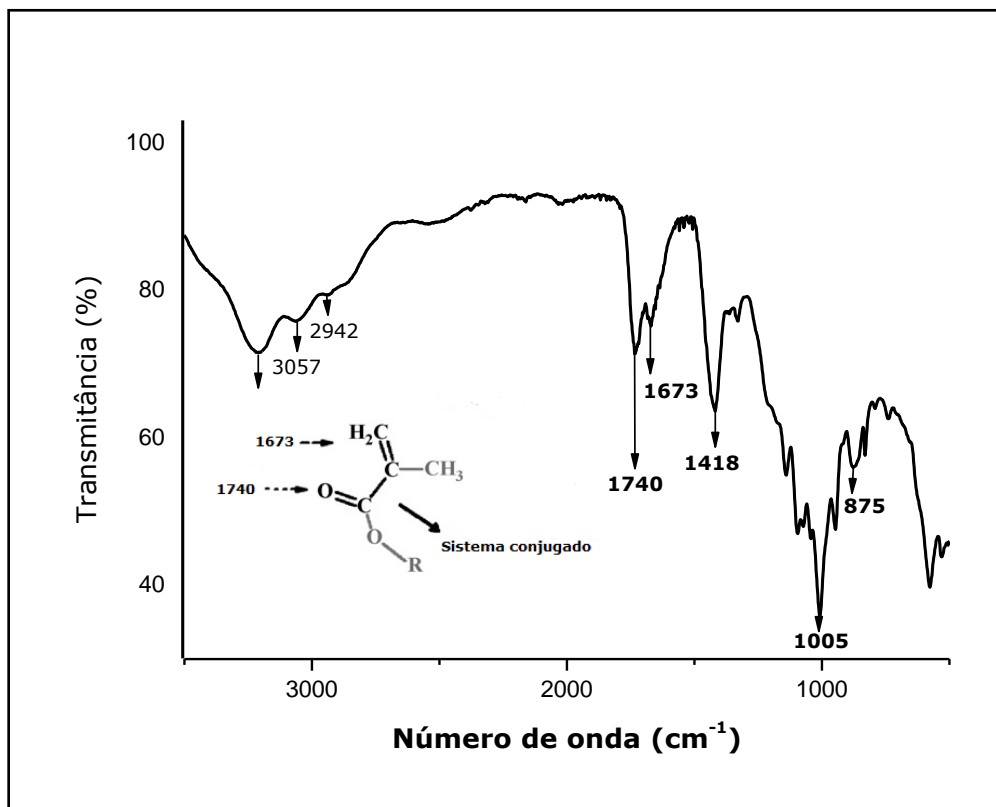
**FIGURA 6.3.** Espectro FTIR da pectina GENU<sup>®</sup> LM 104, baixa metoxilação.

Espectros da pectina LM modificada (Pec\_GMA) (Figura 6.4), apresentaram picos deslocados e com diferentes intensidades quando comparados com aqueles do polissacarídeo puro. Picos a  $1740\text{ cm}^{-1}$ ,  $1673\text{ cm}^{-1}$  e a supressão do pico a  $1594\text{ cm}^{-1}$ , sugerem o acoplamento com o GMA. A manutenção dos sinais a  $1418\text{ cm}^{-1}$  e a  $1010\text{ cm}^{-1}$  no espectro do produto modificado indica a permanência de carboxilas e manutenção da integridade da ligação  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}-$ , presentes na pectina. Picos de hidroxilas podem ser visualizados a  $3210\text{ cm}^{-1}$ , bem como aqueles relativos aos estiramentos  $-\text{CH}$  entre  $3057$  e  $2942\text{ cm}^{-1}$  (Reis *et al.*, 2003; Reis *et al.*, 2006; Maior *et al.*, 2008).

Conforme dito anteriormente, existem duas prováveis vias reacionais para o acoplamento do GMA a alcoóis e carboxilas, que são (1) abertura do anel epóxido e (2) transesterificação. Em solução aquosa ácida (pH próximo de 3,5), as reações do GMA ocorrem por abertura do anel. Já em pH neutro a alcalino, a reação se processa, predominantemente, por transesterificação, gerando o polímero metacrilatado e o glicidol. Porém, abertura do anel também pode ocorrer. Uma vez que a reação de acoplamento ocorreu em pH ácido, espera-se, de acordo com a abertura do anel, a ligação do GMA ao polissacarídeo como 3-metacrilóila-1-glicerila ou 3-metacrilóila-2-glicerila (Reis *et al.*, 2006).

Reações de epoxidação são caracterizadas pela presença de sinais característicos em regiões entre  $820$  e  $950\text{ cm}^{-1}$ , associados a vibrações no anel epóxido (Hongqiang *et al.*, 2010). A presença do pico a  $875\text{ cm}^{-1}$  no espectro da pectina modificada (Figura 6.5.) sugere que nem todo o monômero foi consumido no processo de funcionalização. Outra inferência que pode ser feita é que, parte do monômero bifuncional foi acoplado ao polissacarídeo pela rota de transesterificação, mantendo a integridade do anel epóxido.

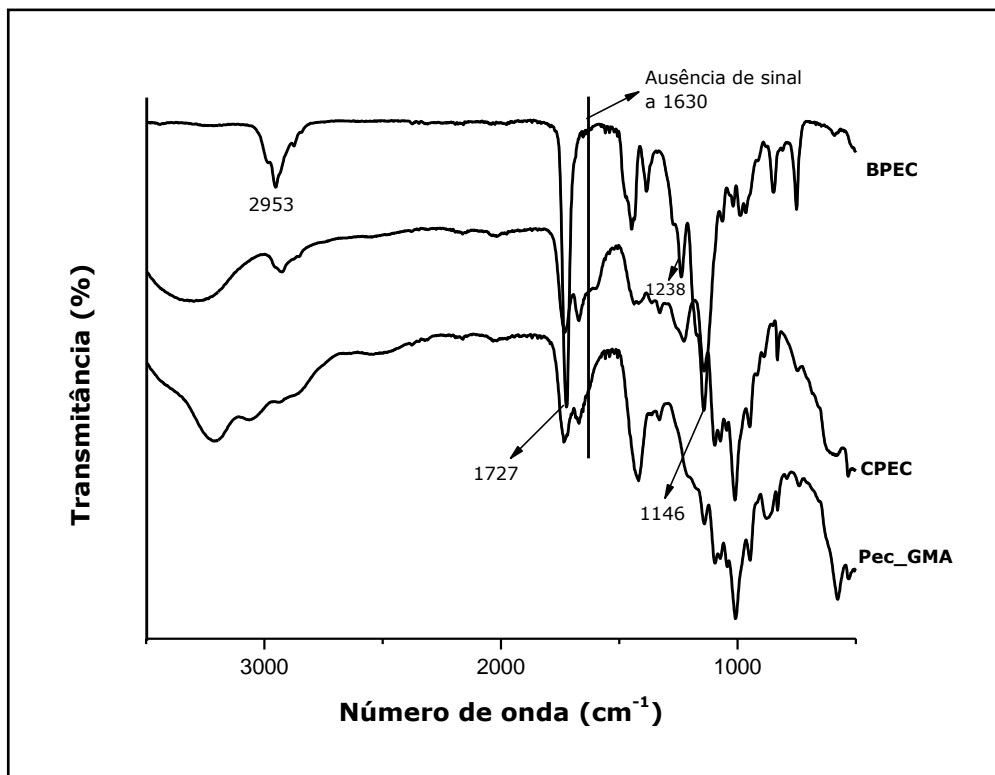
Já o sucesso das reações de copolimerização pode ser observado na Figura 6.5. No processo de obtenção dos BPECs, pode ser notada a ausência de picos na região de  $1630\text{ cm}^{-1}$ , indicando quebra e rearranjo de ligações  $\text{C}=\text{C}$ , o que é característico de reações entre monômeros acrílicos e metacrílicos.



**FIGURA 6.4.** Espectro FTIR da pectina modificada pelo GMA.

Ainda, o pico intenso a  $1727\text{ cm}^{-1}$  refere-se à vibração de estiramento da carbonila de ésteres conjugados, comum em copolímeros metacrílicos. Picos característicos dos monômeros acrílicos próximos a  $2950\text{ cm}^{-1}$  foram detectados. No espectro referente ao copolímero obtido por enxertia (CPEC), apesar da ausência do sinal a  $1630\text{ cm}^{-1}$ , podem ser visualizados sinais a  $1740$  e  $1673\text{ cm}^{-1}$  (referentes à pectina metacrilatada) e próximo a  $1000\text{ cm}^{-1}$  (vibração da ligação  $-\text{CH}-\text{O}-\text{CH}$ , presente tanto no polissacarídeo puro como no modificado). O sinal a  $1418\text{ cm}^{-1}$  foi suprimido, sugerindo a presença de interações com o grupo carboxila da Pec\_GMA.

Tais informações podem indicar que a copolimerização pelo método em suspensão foi mais eficiente quando comparado com a técnica de enxertia.



**FIGURA 6.5.** Espectro FTIR do monômero (Pec\_GMA), dos *beads* contendo Pec\_GMA (BPEC) e do copolímero contendo Pec\_GMA enxertada (CPEC).

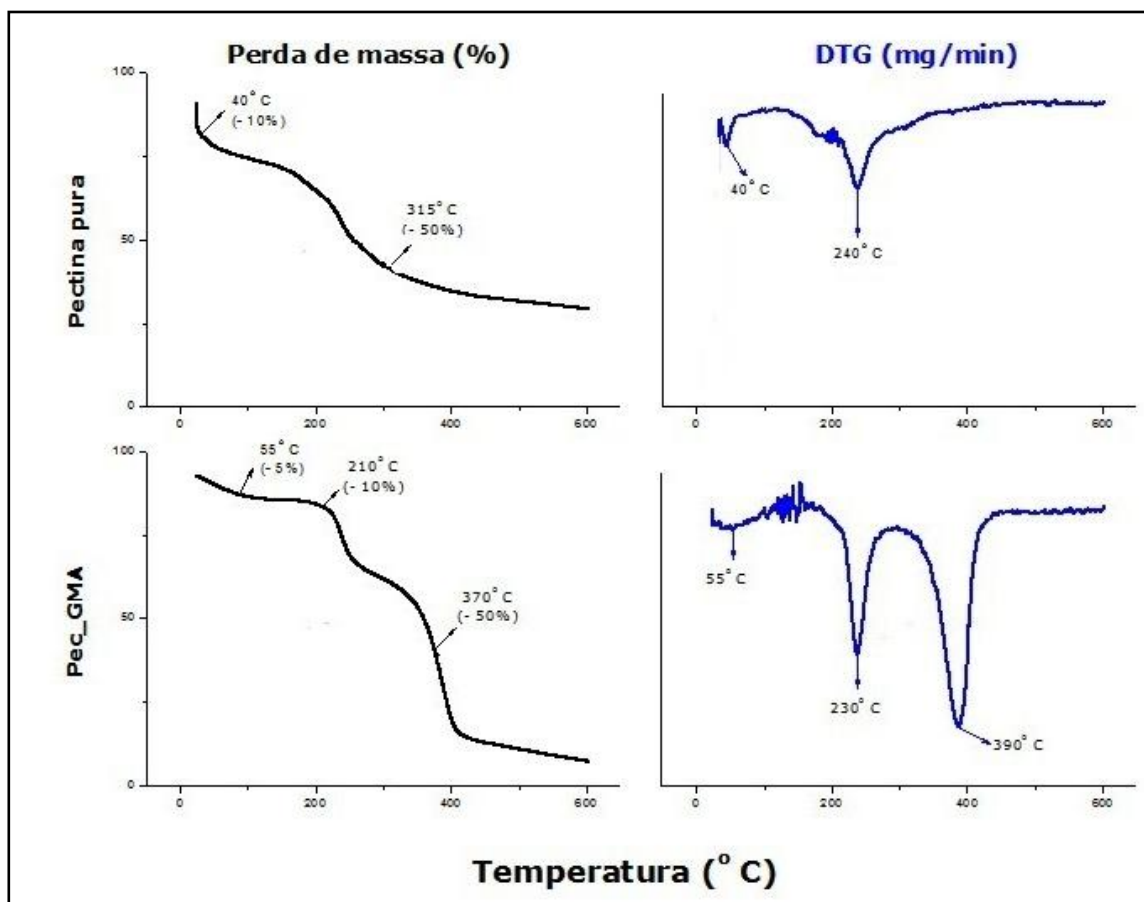
### 6.3.3. Análises térmicas

A literatura relata que a pectina pura, quando submetida a técnicas de análise termogravimétrica, sob atmosfera de nitrogênio, possui um perfil de decomposição em 2 estágios. O primeiro, compreendido entre 30 e 200° C, sugere a ocorrência de perda da água livre adsorvida na estrutura do polissacarídeo, geralmente presente na forma de umidade. Com mencionado anteriormente, a análise de perda por dessecação mostrou um conteúdo de umidade de 9,8%. O segundo, em temperatura compreendida entre 200 e 400° C, é indicativo da decomposição por despolimerização térmica (Mangiacapra *et al.*, 2006; Einhorn-Stoll *et al.*, 2007; Ghaffari *et al.*, 2007; Souto-Maior *et al.*, 2009).

Como pode ser observado na Figura 6.6, a degradação térmica da pectina pura teve início em temperatura próxima a 40° C, com perda aproximada de 10% de massa, referente à dessorção de água. A segunda perda mais pronunciada de massa pode ser visualizada na curva da primeira derivada da TG (DTG), a 240° C. Em temperatura próxima de 315° C (curva TG), houve perda de 50% da massa devido à despolimerização do polissacarídeo.

Após funcionalização pelo GMA, o perfil de termodecomposição alterou-se e podem ser notados 3 estágios de degradação. À temperatura de 55° C houve perda inicial de massa equivalente a 5% e à 210° C, a perda foi de 10%. Provavelmente, ambos referem-se à perda de água e podem denotar um caráter mais hidrofóbico para a Pec\_GMA. Já em 370° C, pode ser observado um degrau com uma perda de massa de 50%. Dois picos intensos podem ser visualizados na curva DTG da pectina modificada: o primeiro a 230° C e o segundo a 390° C. O primeiro deve-se, possivelmente, à decomposição da estrutura polissacarídica. O segundo pode ter surgido em decorrência da polimerização do monômero GMA durante o processo de modificação, que envolveu calor, e pode ter originado o poli(GMA).

Ainda, a análise dos resultados da TG/DTG da pectina modificada sugere que pode haver uma mistura de pectina modificada e GMA ou que a reação de acoplamento ocorreu por ambas as rotas (abertura do anel e transesterificação), corroborando com a interpretação do espectro FTIR da pectina modificada (Figura 6.4), no qual aparece um sinal característico de vibrações do anel epóxido, a 875 cm<sup>-1</sup>. Tais resultados diferem daqueles obtidos por Souto-Maior e colaboradores (2008),<sup>1</sup> que obtiveram perfis de degradação semelhantes para a pectina modificada e pura, sugerindo menor estabilidade térmica para a pectina metacrilatada.

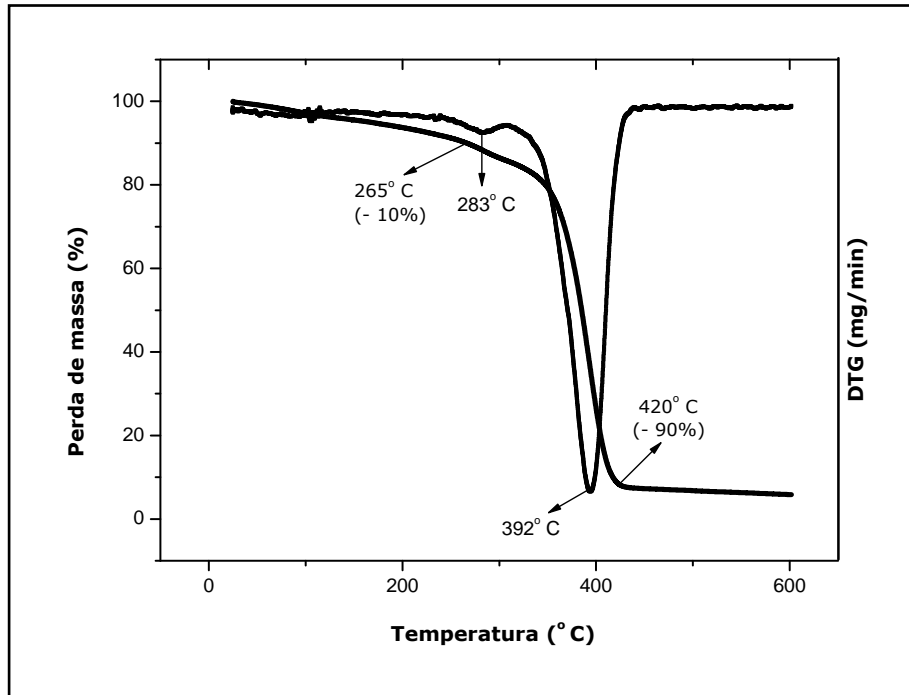


**FIGURA 6.6.** Curvas TG e DTG da pectina pura e da pectina modificada pelo GMA.

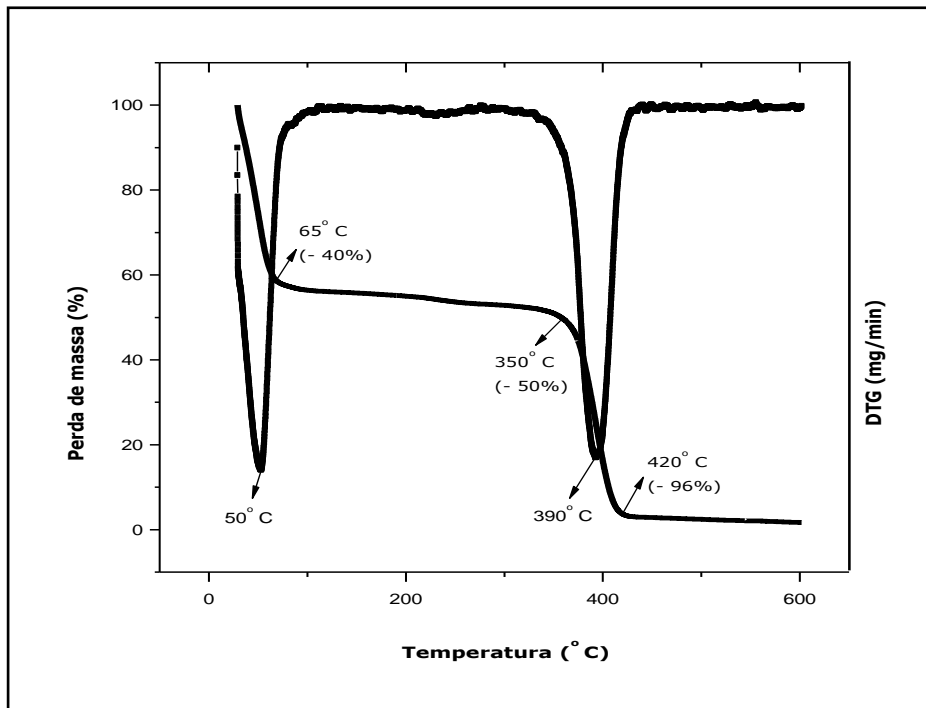
A Figura 6.7 traz as curvas TG/DTG dos *beads* contendo Pec\_GMA (BPEC). Os eventos iniciaram-se em torno de 30° C a 265° C, com perda de massa de 10%. A 420° C, a perda de massa foi equivalente a, aproximadamente, 90%. Na curva da primeira derivada da TG pode ser verificada a presença de um pico discreto em 283° C e outro, intenso, a 392° C, característico dos copolímeros acrílicos.

Já o produto CPEC (pectina enxertada), originou curvas TG/DTG diferenciada das demais (Figura 6.8). A curva TG apresentou 2 ombros e 2 patamares bem definidos: um deles, a temperatura mais baixa, pode ser devido à presença da água da pectina e/ou da água contida no copolímero. O segundo evento, com intervalo de temperatura de, aproximadamente, 350° C, pode ser o referente ao Copolímero A, utilizado como polímero para enxertia da Pec\_GMA. Tal observação sugere que o processo de enxertia não ocorreu satisfatoriamente. Tal resultado pode confirmar o

que foi deduzido da avaliação do espectro FTIR do CPEC (Figura 6.5), no qual foram mantidos sinais da pectina metacrilatada. As curvas TG similares das amostras com pectina enxertada e copolimerizada por suspensão permitem concluir sobre o sucesso das duas técnicas de inserção de pectina modificada em copolímeros acrílicos.



**FIGURA 6.7.** Curvas TG e DTG do copolímero em suspensão (BPEC).



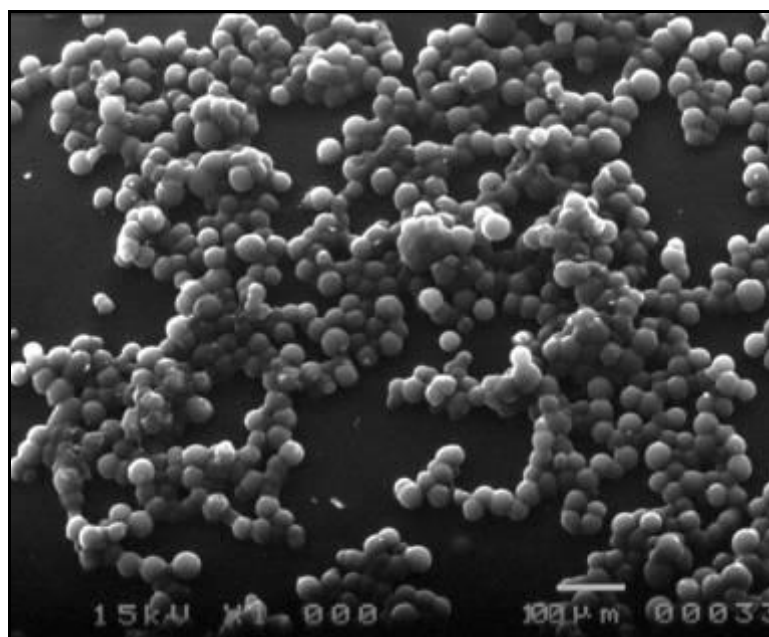
**FIGURA 6.8.** Curvas TG e DTG do copolímero por enxertia (CPEC).



#### 6.3.4. Avaliação das propriedades micromeríticas

Análises micromeríticas foram realizadas somente no material obtido por polimerização em suspensão (BPEC). Amostras de BPEC foram submetidas à avaliação granulométrica, determinação do volume aparente e compactado e medida da velocidade de escoamento. A densidade aparente e a compactada, bem como o Índice de Carr e o Fator de Hausner, foram calculados. Imagens por MEV dos *beads* BPEC foram obtidas.

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura mostraram que os *beads* BPEC apresentaram morfologia esférica e regular, com tamanho de partícula inferior a 100  $\mu\text{m}$  (Figura 6.9). Tal observação foi confirmada pelo ensaio granulométrico: 93% das partículas apresentaram tamanho inferior a 73,50  $\mu\text{m}$  (ANEXO VII). Como pode ser observado pela microscopia o material apresentou-se aglomerado. Para contornar o problema, em uma etapa anterior à avaliação do fluxo e preparação dos comprimidos, quantidade suficiente de BPEC foi passada em tamis 120 *mesh* (abertura da malha de 125  $\mu\text{m}$ ), com auxílio de uma espátula de borracha.



**FIGURA 6.9.** Imagem obtida por MEV dos *beads* acrílicos contendo pectina (BPEC).

Foram efetuadas medidas do volume aparente, volume compactado e da velocidade de escoamento no material previamente desaglomerado. Os resultados podem ser vistos nas Tabelas 6.6 e 6.7.

**TABELA 6.6.** Volume aparente e compactado, em mililitros, obtidos para as amostras BPEC

| Amostra | Massa (g) | V <sub>0</sub> | V <sub>10</sub> | V <sub>500</sub> | V <sub>1250</sub> | V <sub>2500</sub> |
|---------|-----------|----------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|
| BPEC    | 38,35     | 61,0           | 58,0            | 57,0             | 57,0              | -                 |

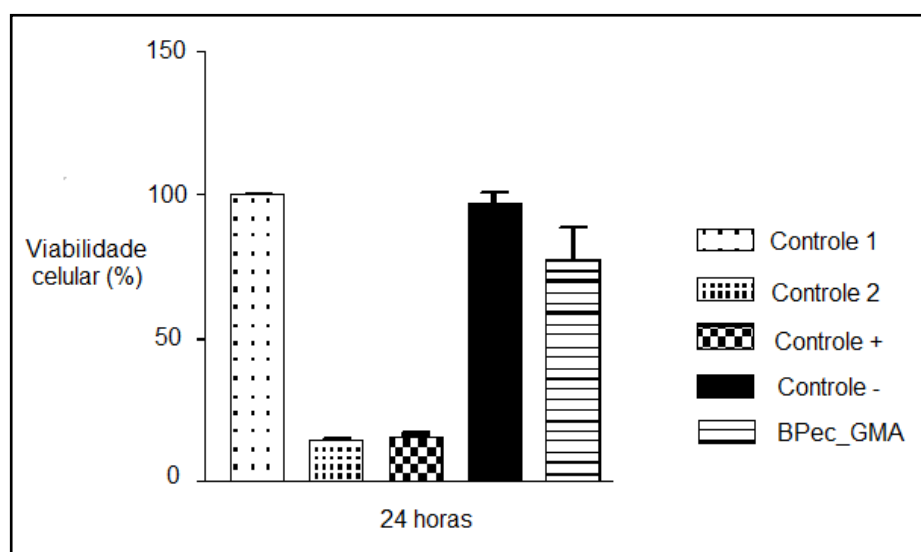
**TABELA 6.7.** Medidas da densidade aparente, densidade compactada, Índice de Carr, Fator de Hausner, velocidade de escoamento e cotangente de  $\alpha$  dos *beads* BPEC

| Parâmetros                   | BPEC  |
|------------------------------|-------|
| d <sub>a</sub> (g/mL)        | 0,629 |
| d <sub>c</sub> (g/mL)        | 0,673 |
| IC (%)                       | 6,54  |
| FH                           | 1,069 |
| Velocidade de escoamento (s) | 1,01  |
| Cotangente de $\alpha$       | 0,034 |

Após avaliação dos resultados, pode-se concluir que os *beads* preparados na presença da pectina metacrilatada apresentaram bom fluxo e coesividade apropriada, indicando que o excipiente pode apresentar comportamento adequado durante a compressão, sendo adequado ao desenvolvimento farmacotécnico de comprimidos. Mesmo apresentando tamanho inferior a 100  $\mu\text{m}$ , a elevada esfericidade do material pode ter contribuído para o excelente comportamento de fluxo.

### 6.3.5. Avaliação da citotoxicidade através da viabilidade celular

Como pode ser verificado na Figura 6.10, os fibroblastos gengivais humanos, quando em contato com as amostras de BPEC, não apresentaram viabilidade celular estatisticamente diferente daquela encontrada para os grupos controle (1 e negativo), o que permite concluir que, a partir do ensaio preliminar pelo método do MTT, o material obtido é atóxico.



**FIGURA 6.10.** Viabilidade celular obtida através do ensaio de MTT ( $n = 3$  e  $p \leq 0,05$ ), após 24 horas de contato.

### 6.3.6. Avaliação da qualidade dos comprimidos

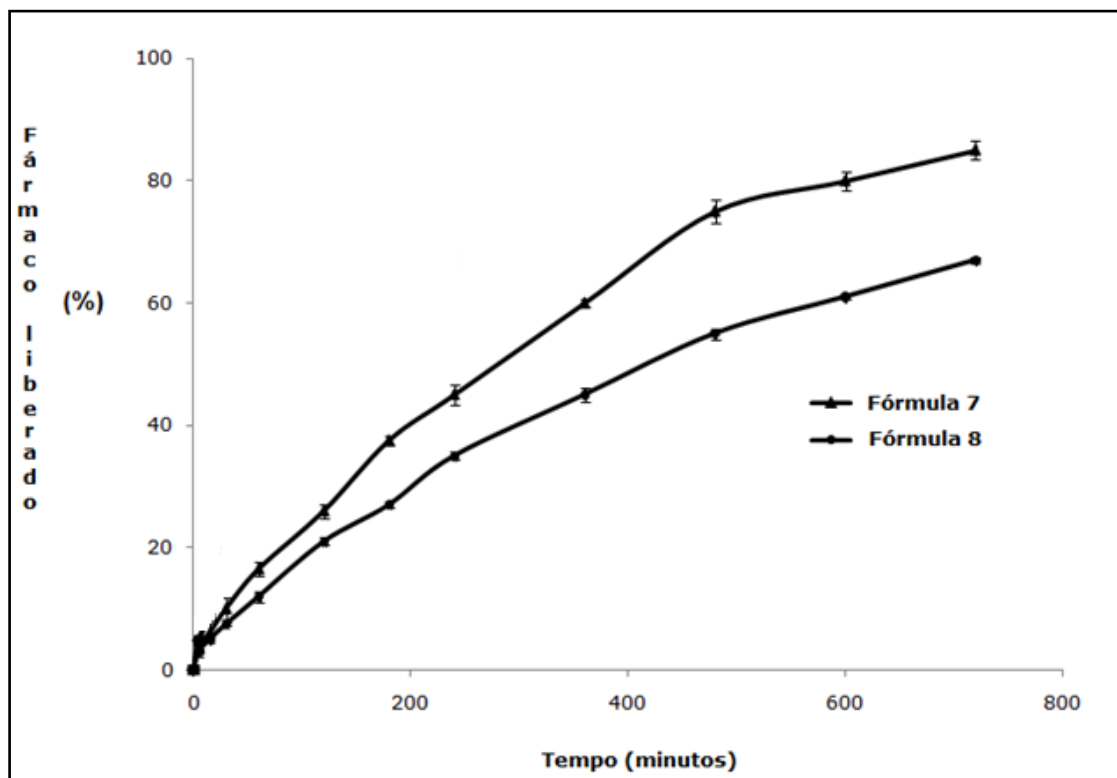
Para comprimidos de 500 mg, a variação do peso médio deve compreender-se entre 475 e 525 mg. Para ambas as Fórmulas (7 e 8), os valores apresentaram-se em conformidade com as especificações. As preparações contendo 48 e 64%p/p de BPEC apresentaram os resultados mais elevados de dureza (170,80 e 184,50 N, respectivamente) e menores perdas de pós nos testes de friabilidade (0,09 e 0,03%, respectivamente). Ambas as fórmulas apresentaram perfis de liberação adequados: para a Fórmula 7, 85% do PHCl foi liberado ao fim de 12 horas, enquanto que, para a

Fórmula 8, o total de fármaco liberado no mesmo período foi de 67%. Os perfis de liberação podem ser visualizados na Figura 6.11.

**TABELA 6.8.** Valores obtidos nos ensaios de peso médio, dureza, friabilidade e do coeficiente de correlação (r) para as Fórmulas 7 e 8

| <b>Fórmulas</b> | <b>Peso médio (mg)</b><br><b>± DP (CV%)</b> | <b>Dureza (N)</b><br><b>(CV%)</b> | <b>Friabilidade</b><br><b>(%)</b> | <b>r (Korsmeyer-<br/>Peppas)</b> |
|-----------------|---|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| <b>7</b>        | 500,25 ±0,03<br>(5,23)                      | 170,80<br>(8,90)                  | 0,09                              | 0,9980                           |
| <b>8</b>        | 512,08 ±0,03<br>(6,22)                      | 184,50<br>(7,60)                  | 0,03                              | 0,9990                           |

\*DP = desvio padrão; \*\*CV = coeficiente de variação (desvio padrão relativo).



**FIGURA 6.11.** Perfis de dissolução obtidos para as Fórmulas 7 e 8 (48%p/p e 64%p/p de BPEC), em meios pH 1,2 e tampão fosfato 6,8. (n=6 comprimidos).

Segundo os valores obtidos para o coeficiente de correlação (r), na aplicação dos modelos matemáticos, a cinética de liberação mais adequada foi a de Korsmeyer-

Peppas, o que está de acordo com resultados encontrados por diversos autores (Reza *et al.*, 2002; Mehrgan & Mortazavi, 2005; Ojoe *et al.*, 2005; Derle *et al.*, 2009). Considerando que a forma dos comprimidos obtidos foi a cilíndrica e que os valores de  $n$  obtidos para as Fórmulas 7 e 8 foram 0,412 e 0,256 ( $<$  que 0,45), pode-se sugerir que a liberação do PHCl se deu pelo mecanismo difusão Fickiana, uma vez que não ocorreu intumescimento e relaxação polimérica, alterações esperadas em casos de transporte anômalo (Martínez *et al.*, 2009). Ao final do ensaio, as matrizes permaneceram íntegras denotando que não houve a ocorrência de degradação nos sistemas, indicando o sucesso na preparação de matrizes hidrofílicas inertes, conforme idealizado (Figuras 6.12 e 6.13).



**FIGURA 6.12.** Fotografia dos comprimidos da Fórmula 7 contendo 48%p/p de BPEC, durante e após 12 horas de ensaio de dissolução.

Os valores de liberação do PHCl a partir das matrizes 7 e 8 apresentaram correlação com os elevados resultados de dureza encontradas para as mesmas (170,80 e 184,50 N) aliado a um maior tempo de compressão (2 minutos). Tal evidência encontra-se de acordo com a literatura para comprimidos obtidos a partir de polímeros acrílicos. Copolímeros derivados dos ácidos acrílicos e metacrílicos tendem a sofrer deformação plástica, ocasionando recobrimento das partículas do granel, resultando em comprimidos mais duros e menos porosos.



**FIGURA 6.13.** Fotografia dos comprimidos da Fórmula 8, contendo 64%p/p de BPEC. As matrizes permaneceram íntegras, com a formação de poros.

Além dos parâmetros de fabricação, o tipo e a quantidade de polímero empregado na preparação da matriz podem exercer influência na dureza. Saravanan e colaboradores (2002) prepararam comprimidos de liberação estendida de cefalexina e avaliaram a influência do conteúdo de polímero (Eudragit® L100) e da dureza, na liberação do fármaco. O Eudragit® L100 é um copolímero aniônico baseado no ácido metacrílico e no metacrilato de metila, empregado em revestimentos e em processos de granulação pela via úmida. Segundo os autores, formulações preparadas com maior concentração do polímero apresentaram liberação mais lenta, uma vez que uma alta porcentagem do polímero reduziu a permeação do meio de dissolução e a consequente difusão do fármaco. O aumento da dureza nos comprimidos testados também contribuiu para retardar a liberação, também devido a uma entrada mais lenta do meio na matriz. Comprimidos mais duros podem apresentar maior compactação e menor porosidade, resultando em liberação mais lenta. A dureza variou de 70 a 111 N.

Apu e colaboradores (2008) usaram os Eudragit® RS e RL PO como agentes formadores de matrizes plásticas para modular a liberação da carbamazepina. Ambos são copolímeros baseados no acrilato de etila, metacrilato de metila e ésteres do ácido metacrílico contendo grupos amônio quaternários. Estes tipos de Eudragit®

apresentam-se na forma sólida, são insolúveis, de alta e baixa permeabilidade, respectivamente, e possuem intumescimento pH independente. A dureza obtida para as matrizes variou entre 160 e 218 N, resultados condizentes com aqueles obtidos por outros autores e com aqueles observados neste trabalho.

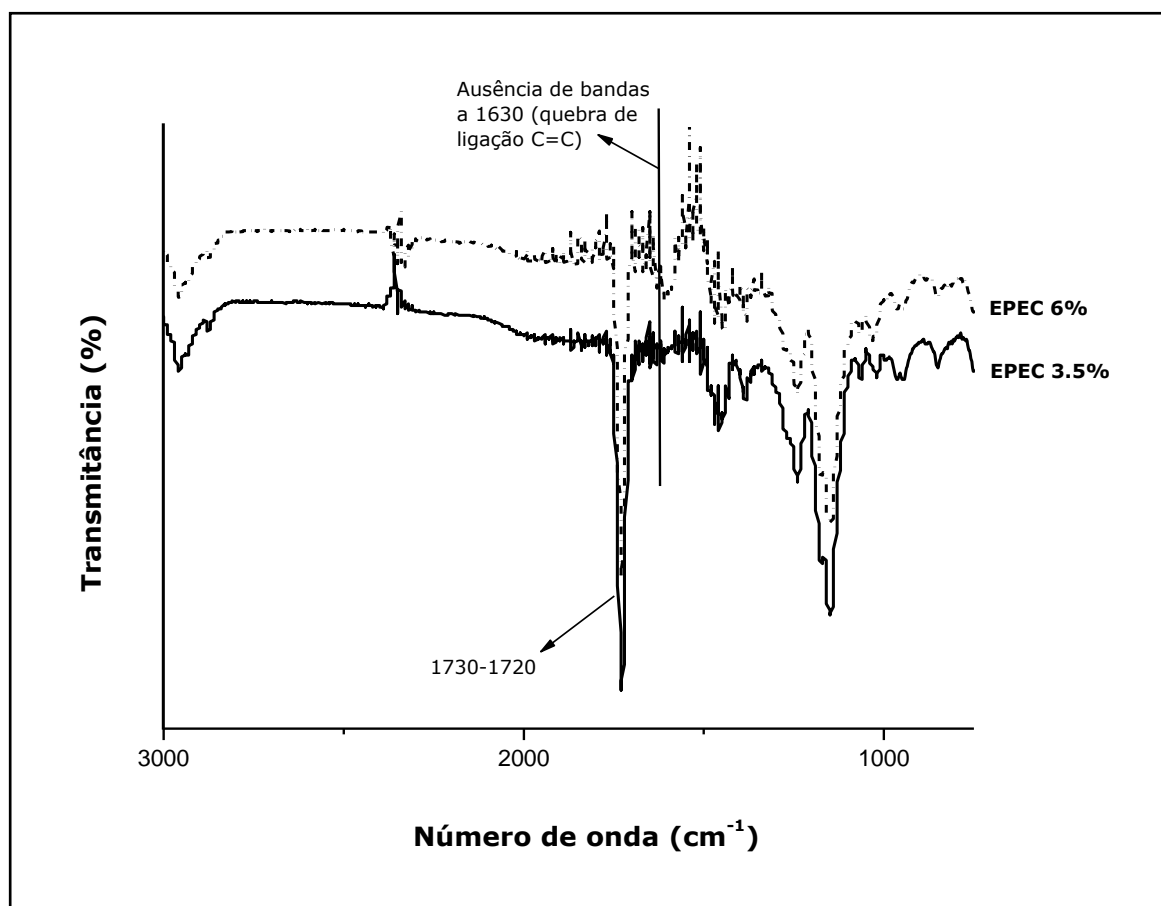
As alterações nos perfis e nas cinéticas de liberação deveram-se, provavelmente, à natureza das matrizes. Como mencionado anteriormente, excipientes acrílicos e metacrílicos tendem a sofrer deformação plástica, ocasionando recobrimento das partículas do granel, resultando em comprimidos mais duros e com menor perda de pós nos ensaios de friabilidade. Em consequência da maior dureza e menor porosidade, são menos permeáveis aos meios de dissolução e capazes de controlar a liberação por difusão. Os excipientes preparados pelo método em suspensão, na forma de *beads* BPEC (Fórmulas 7 e 8) formaram as matrizes mais adequadas, possivelmente em decorrência das propriedades micromeríticas superiores, gerando melhor compressibilidade do granel. Outra provável explicação é a presença de água oriunda da Pec\_GMA, que pode atuar como agente plastificante durante a compressão, aumentando a consolidação no granel.

Uma vantagem que pode ser associada aos excipientes BPEC é que não houve a necessidade de adicionar outros excipientes nas formulações, pois os *beads* apresentaram uma dupla função farmacotécnica: agente formador de matriz e diluente para o PHCl. Ainda, apesar de não se alterarem na presença de água, os *beads* são hidrofílicos, bem como as matrizes formadas, porém, foram capazes de modular a liberação de um fármaco considerado muito solúvel.

### 6.3.7. Caracterização das emulsões contendo Pec\_GMA (EPEC)

#### *Avaliação da polimerização por FTIR*

Os copolímeros emulsionados, baseados na Pec\_GMA, tiveram as reações de polimerização confirmadas por FTIR: a supressão de sinais na região de  $1630\text{ cm}^{-1}$  e o surgimento de pico intenso próximo a  $1730\text{ cm}^{-1}$  atestam a ocorrência da reação de polimerização. O primeiro refere-se à conversão da ligação C=C a C-C e o segundo, à presença de ligação C=O, ambos característicos em polímeros acrílicos e metacrílicos. Os espectros podem ser visualizados na Figura 6.14.



**FIGURA 6.14.** Espectro FTIR dos copolímeros EPEC 2 (3,5%Pec\_GMA) e EPEC 4 (6%p/p Pec\_GMA).



### ***Determinação do pH e medida do teor em sólidos***

O pH foi verificado por medida direta e foi de, aproximadamente, 4. O teor em sólidos, determinado por gravimetria, variou conforme o aumento da concentração da pectina modificada. Todavia, os valores indicaram baixo teor em sólidos, quando comparados aos Copolímeros A e B, preparados no Capítulo 5, o que é indesejável para a técnica de polimerização por emulsão. Os resultados são mostrados na Tabela 6.9. A redução do teor em sólidos pode ser justificada pela modificação na técnica de preparo das emulsões e na composição das mesmas.

**TABELA 6.9.** Valores obtidos na determinação do teor em sólidos e do pH para os copolímeros EPEC

| <b>Parâmetros</b>   | <b>EPEC 1</b> | <b>EPEC 2</b> | <b>EPEC 3</b> | <b>EPEC 4</b> |
|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Teor em sólidos (%) | 9,84          | 14,23         | 18,24         | 22,30         |
| pH                  | 4,14          | 4,12          | 3,97          | 4,00          |

### ***Distribuição do tamanho de partículas***

O difratômetro a *laser* utilizado para avaliação da granulometria Mastersizer 2000 (*Malvern Instruments*) emprega a Teoria de Mie para o cálculo da distribuição do tamanho de partículas, envolvendo fenômenos de espalhamento, difração, reflexão e absorção de luz. As partículas difratam ou espalham a luz para formar um padrão de intensidade  $I(\theta)$ , onde  $\theta$  denota o ângulo de espalhamento medido na direção da luz incidente. Sabe-se que através da teoria de espalhamento da luz de Mie, o tamanho de cada partícula determina o padrão  $I(\theta)$  observado e um conjunto de partículas irá criar um padrão composto, no qual a distribuição de tamanho pode ser inferido. A cada momento, o padrão de difração gerado instantaneamente é uma resposta composta por milhares de partículas individuais iluminadas pelo feixe de *laser* (Scott, 2008).

Um parâmetro importante a ser controlado é a faixa de obscuração no aparelho, que indica se a concentração de amostra adicionada é suficiente para produzir um sinal mensurável, isto é, se o sinal é suficiente para sobrepor-se ao efeito do ruído e evitar a possibilidade de ocorrência de espalhamento múltiplo. A faixa recomendada pelo fabricante compreende-se entre 10 e 30 %. Para realização do trabalho, utilizou-se de 10 a 20% de obscuração. A Tabela 5.10 traz os resultados encontrados no ensaio para determinação da distribuição do tamanho das partículas, apresentado como a média de 3 determinações. Os relatórios de análise podem ser visualizados no ANEXO VIII. A obscuração obtida para todas as amostras compreendeu-se dentro do limite estabelecido para realização das medidas. O índice de polidispersão (IP) encontrado para a amostra EPEC 1 foi muito elevado (315,041), indicando falta de homogeneidade no processo de dispersão da pectina modificada. De fato, após 6 meses de observação, observou-se a formação de grumos no fundo do frasco contendo o copolímero. Os demais índices de polidispersão (IPs) variaram entre 1,564 (EPEC 2) e 2,436 (EPEC 4).

**TABELA 6.10.** Distribuição do tamanho de partículas e IP

|                               | <b>EPEC 1</b> | <b>EPEC 2</b> | <b>EPEC 3</b> | <b>EPEC 4</b> |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| $d_{10} \%$ ( $\mu\text{m}$ ) | 0,087         | 0,068         | 0,078         | 0,071         |
| $d_{50\%}$ ( $\mu\text{m}$ )  | 0,212         | 0,135         | 0,162         | 0,173         |
| $d_{90\%}$ ( $\mu\text{m}$ )  | 67,023        | 0,279         | 0,451         | 0,445         |
| Índice de polidispersão       | 315,041       | 1,564         | 2,313         | 2,436         |
| Obscuração (%)                | 13,22         | 15,69         | 12,29         | 15,26         |

Quando comparados com aqueles obtidos para os Copolímeros em emulsão A e B (IP = 0,17 e 0,30, respectivamente), os mesmos podem ser considerados elevados. No entanto, resultados semelhantes foram encontrados por Lionzo (2006) que

preparou micropartículas baseadas em blendas de PHBHV e poli(caprolactona) (PCL), com diâmetro médio entre 100 e 200  $\mu\text{m}$  e IP que variou de 1,4 a 1,9, considerado adequado pela autora. Tais resultados demonstram que, ao contrário da metodologia de polimerização em emulsão proposta no Capítulo 5, a técnica utilizada na ausência de tensoativos e de sonificação, não produziu látices com resultados satisfatórios, no que diz respeito ao tamanho das partículas e índice de polidispersão. Os copolímeros foram observados por um período de 6 meses, durante o qual não ocorreu separação de fase. Todavia, observou-se a formação de aglomerados no frasco contendo EPEC 1, que foi considerada inadequada. Portanto, análises de molhabilidade, viscosidade e adesividade não foram realizadas na mesma.

### ***Determinação da capacidade mucoadesiva "in vitro"***

A bioadesão é uma estratégia farmacêutica que vem sendo explorada para aumentar o tempo de permanência de formas farmacêuticas no organismo. Além do aumento no tempo de residência no trato gastrointestinal (TGI), outra vantagem é a possibilidade de maior contato entre o fármaco e as mucosas, com redução na concentração de fármaco administrado bem como no número de doses administradas ao dia (Dodou *et al.*, 2005; Smart, 2005; Hagesaether *et al.*, 2009; Lai *et al.*, 2009).

Mucosas são regiões do organismo recobertas pelo muco. Este, por sua vez, é constituído, fundamentalmente, pelo glicocálix - mistura complexa de glicerolipídeos e glicoproteínas. A principal glicoproteína presente do muco é a mucina, um polímero negativamente carregado, que possui alto peso molecular e capacidade de formar ligações intermoleculares do tipo dissulfeto, com massa molar média que varia entre 200 kD e 20-40 MDa, na concentração de, aproximadamente, 50 mg/mL (Laukoetter *et al.*, 2008; Linden *et al.*, 2008; Svensson & Arnebrant, 2010).

Existem três sub-famílias de mucinas: (a) mucina secretada formadora de gel; (b) mucina da superfície celular e, (c) mucina secretada, não formadora de gel. Mucinas formadoras de gel são os principais constituintes do muco, conferindo a este a sua viscoelasticidade. Estas últimas são ricas em cisteína - aminoácido que possui domínios N-terminal e C-terminal - que participam das interações dissulfeto intermoleculares. A mucina é um oligossacarídeo composto por resíduos de galactose, fucose, N-acetilglicosamina, N-acetilgalactosamina e ácido siálico. Em pH acima de 3, o ácido siálico e grupos sulfatos terminais encontram-se ionizados, conferindo carga negativa à molécula. Do ponto de vista polimérico, a mucina pode ser considerada um copolímero que apresenta domínios polieletrônicos alternados e possui açúcares enxertados, conectados por regiões flexíveis com menor tendência à glicolisação. A molécula possui regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, com capacidade de formar ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas (Harding, 1999; Bansil & Turner, 2006; Linden *et al.*, 2008).

Os polímeros bioadesivos podem ser classificados como mucoadesivos (aqueles que aderem à camada de muco) ou citoadesivos (aqueles que aderem, especificamente, à membrana celular), sendo que a maioria possui capacidade mucoadesiva. A mucoadesão pode ser conseguida pelo uso de materiais capazes de interagir com a mucina através da formação de ligações não-covalentes, ligações de hidrogênio, ligações iônicas ou interações de van der Waals e, assim, promover o enredamento polímero/muco. Os polímeros que apresentam capacidade bioadesiva são, geralmente, macromoléculas formadoras de hidrogéis com grande número de grupamentos formadores de ligações de hidrogênio (carboxila, hidroxila, amida e sulfato) (Dodou *et al.*, 2005; Streubel *et al.*, 2007; Hagesaether *et al.*, 2009).

Acredita-se que os seguintes eventos estejam envolvidos nos fenômenos bioadesivos: adsorção, espalhamento do material bioadesivo sobre a mucosa,

aumento na área de contato e interpenetração entre cadeias do polímero e da mucosa. Inúmeras teorias foram descritas para explicar a mucoadesão. As principais são as mesmas que descrevem eventos de adesão para materiais metálicos e poliméricos (Huang *et al.*, 2000; Dodou *et al.*, 2005; Bansil & Turner, 2006; Hagesaether *et al.*, 2009). São elas:

**1. Teoria eletrônica** ⇒ ocorre a formação de dupla camada de cargas na interface polímero/muco, decorrente da transferência de elétrons após contato, gerando atração.

**2. Teoria da adsorção** ⇒ a bioadesão ocorre devido forças secundárias, como interações de van der Waals e ligações de hidrogênio.

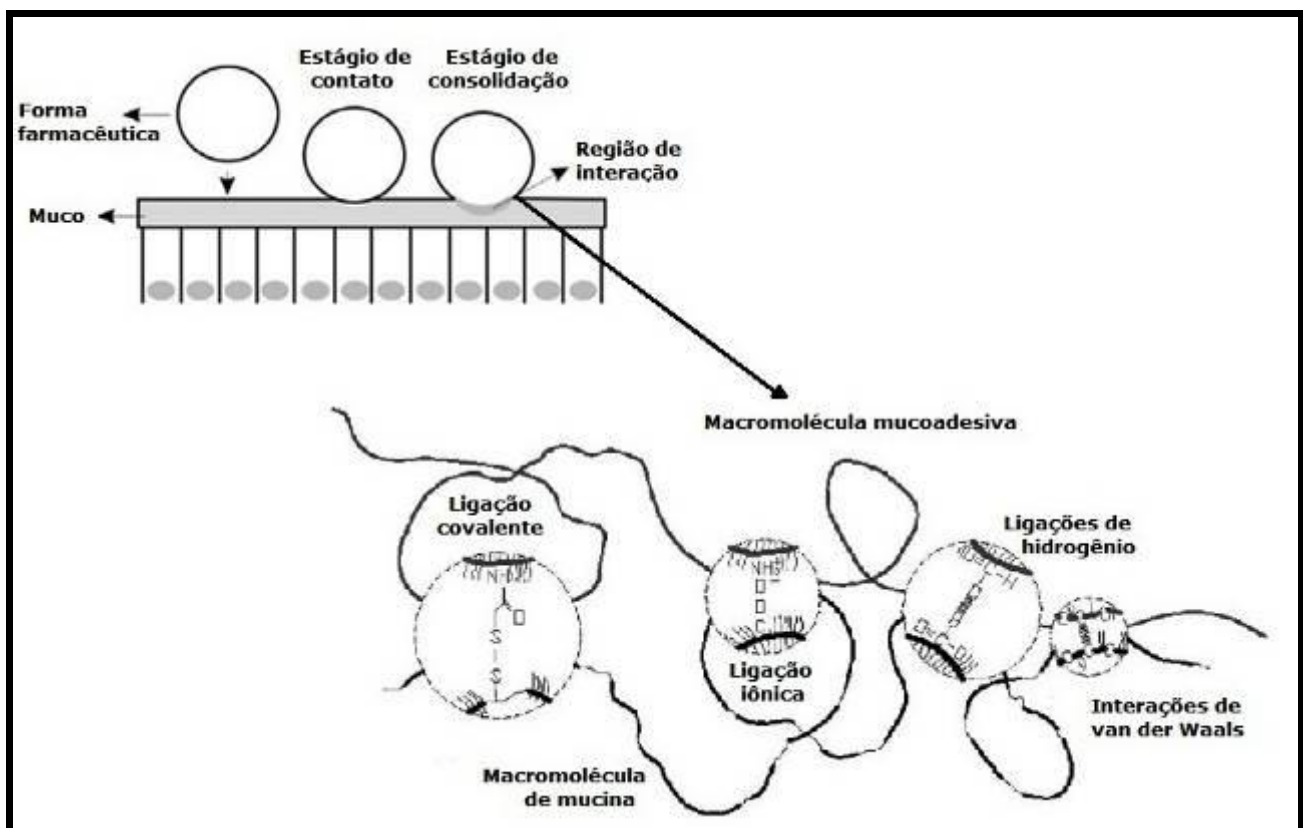
**3. Teoria da molhabilidade** ⇒ aplicada, preferencialmente, para líquidos e semi-sólidos, baseia-se na capacidade destes em espalharem-se pela superfície da mucosa.

**4. Teoria da difusão** ⇒ propõe que, após contato polímero/muco, ocorre a interpenetração das cadeias poliméricas que se difundem pela mucosa, segundo um gradiente de potencial químico e coeficiente de difusão. As cadeias que se difundem, agem como âncoras entre o sistema e o muco.

De modo geral, as características que favorecem a bioadesividade dos polímeros são: 1. elevada massa molar; 2. capacidade de dispersão em água; 3. presença de grande número de grupos carboxila e/ou hidroxila; 4. habilidade de formar ligações de hidrogênio; 5. flexibilidade da cadeia polimérica; e, 6. superfície positivamente carregada, embora alguns polímeros aniônicos sejam bioadesivos. Tais atributos permitem um grande contato polímero/muco, além de facilitar a interpenetração e enredamento das cadeias poliméricas pela mucina, permitindo a formação de interações físicas e mecânicas. Um alto conteúdo de carboxilas promove o intumescimento e possibilita a formação de ligações de hidrogênio. Outras

interações como as eletrostáticas, hidrofóbicas e de van der Waals, podem ocorrer com a mucina. O pH do local, para favorecer a formação de ligações de hidrogênio, deve ser aquele que fornecerá baixa ionização do polímero. Outro importante parâmetro que determinará a bioadesão é o ângulo de contato ( $\phi$ ) polímero/muco: quanto maior o  $\phi$ , mais hidrofílico o material e maior a possibilidade de ocorrência de bioadesão (Huang *et al.*, 2000; Bansil & Turner, 2006; Dodou *et al.*, 2006).

Os estágios envolvidos na mucoadesão assim como as possíveis interações que podem ocorrer com a mucina encontram-se representadas na Figura 6.15.



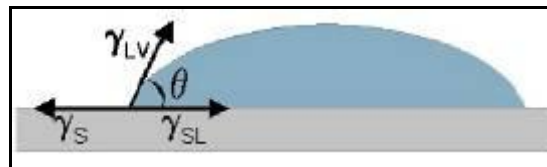
**Figura 6.15.** Representação esquemática dos eventos relacionados à mucoadesão.

### ***Avaliação da molhabilidade***

Eventos de molhabilidade na interface sólido/líquido podem ser estudados por medidas do  $\phi$  que, por sua vez, pode ser correlacionado à capacidade mucoadesiva dos polímeros, já que, quanto mais hidrofílico o material, maior será a possibilidade

deste último molhar e aderir-se ao muco (Huang *et al.*, 2000; Bansil & Turner, 2006; Karbowiak *et al.*, 2006).

O ângulo de contato representa uma medida quantitativa da molhabilidade de um material, sendo definido pela interseção de dois planos tangentes ao líquido, à superfície sólida de contato e uma terceira fase, geralmente, o ar ou vapor-d'água, como representado na Figura 6.16. Formalmente, o  $\phi$  entre uma gota de um líquido com uma tensão superficial conhecida e uma superfície sólida depende da relação entre as forças adesivas (da superfície) e as forças coesivas (do líquido) (Florence & Attwood, 2004; Karbowiak *et al.*, 2006; Sinko, 2006).

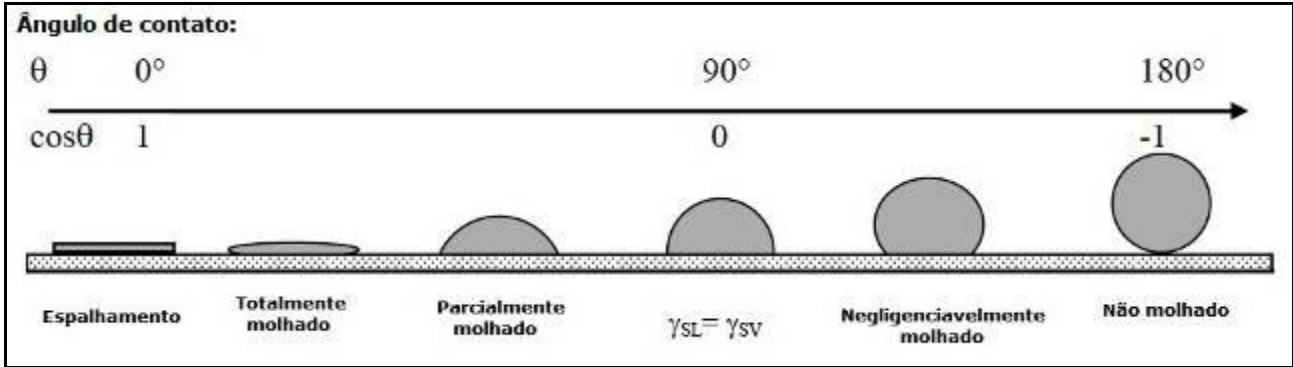


**FIGURA 6.16.** Representação do ângulo de contato entre uma gota e dada superfície.

Considera-se que, quando  $\phi < 30^\circ$ , a superfície é molhada totalmente pelo líquido. Por outro lado, se  $30^\circ < \phi < 90^\circ$ , a superfície pode ser tratada como parcialmente molhável. Por último, quando  $\phi \geq 90^\circ$ , a superfície é hidrofóbica e não é molhada pelo líquido (Figura 6.17). Os resultados dos ensaios de molhabilidade são fornecidos na Tabela 6.11.

Como era esperado, o aumento no conteúdo de pectina modificada no copolímero causou redução no ângulo de contato. Filmes contendo 3,5 e 5%p/p de Pec\_GMA mostraram ser parcialmente molháveis pela água, sendo o ângulo de contato igual a  $70,80^\circ$  e  $58,2^\circ$  para os copolímeros EPEC 2 e 3, respectivamente. O filme contendo 6%p/p de Pec\_GMA (EPEC 4) apresentou comportamento diferenciado: o valor do  $\phi$  de  $24,2^\circ$  sugere que o filme é hidrofílico e molha-se totalmente pela água. Pelas imagens obtidas (Figura 6.20), nota-se a formação de uma curvatura no

filme (indicado pela seta em vermelho), evento que não ocorreu durante a análise dos demais materiais.



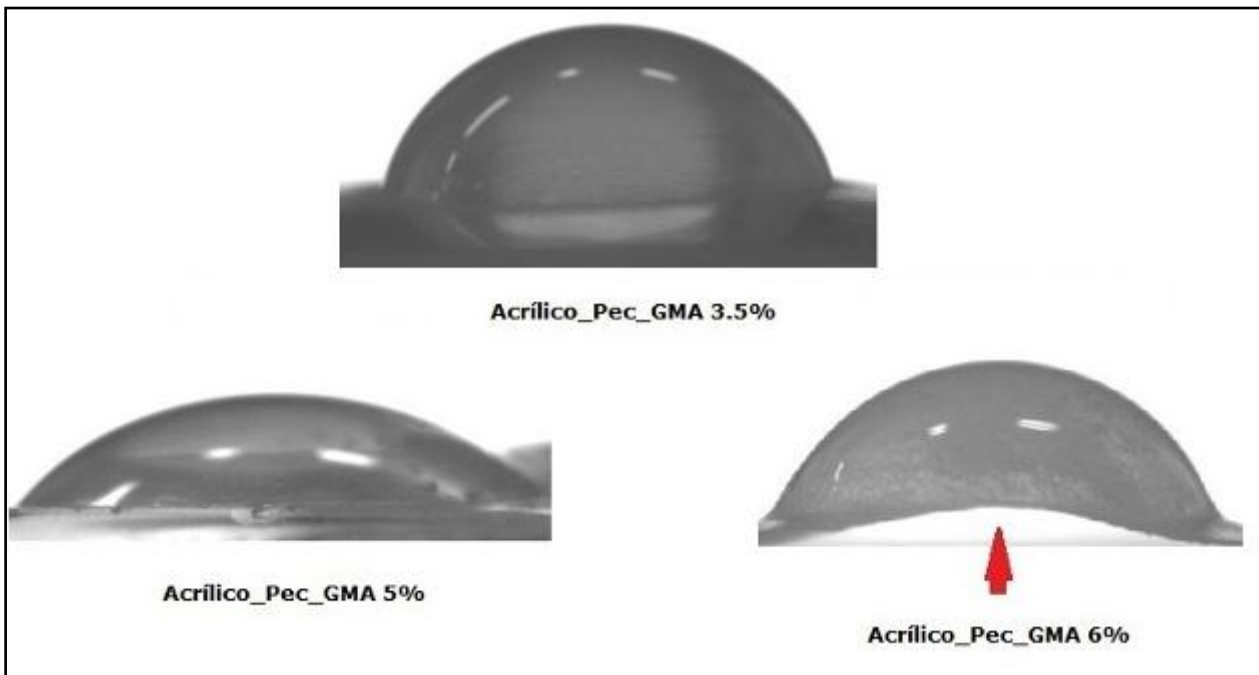
**Figura 6.17.** Representação da geometria de uma gota sobre uma superfície sólida.

**TABELA 6.11.** Valores obtidos para a média dos ângulos de contato (n=3)

|                       | Acrílico puro | EPEC 1 | EPEC 2 | EPEC 3 | EPEC 4 |
|-----------------------|---------------|--------|--------|--------|--------|
| Ângulo de contato (°) | 74,20         | -      | 70,8   | 58,2   | 24,2   |

A primeira etapa do processo de bioadesão, caracterizada pelo estágio de contato entre a forma farmacêutica e a mucosa, será tanto mais efetiva quanto mais o material se molhar (Mortazavi & Smart, 1995; Smart, 2005; Sriamornask *et al.*, 2008; Gal & Nussinovitch, 2009; Sriamornask *et al.*, 2010). Portanto, copolímeros preparados com maiores concentrações da pectina modificada tendem a apresentar maior molhabilidade e, em consequência, maior possibilidade de adesão ao muco.





**Figura 6.18.** Espalhamento da gota de água sobre superfícies de filmes formados a partir dos copolímeros produzidos EPEC.

### ***Determinação da viscosidade sinérgica dos látices EPEC***

Reologia pode ser conceituada como a ciência que estuda a deformação e o fluxo dos materiais (sólidos, líquidos e semissólidos) sob a ação de uma força ou, mais frequentemente, de um campo de forças (Macosko, 1994).

Os primeiros estudos de reologia foram realizados nos “extremos clássicos”: sólidos ideais e líquidos ideais. Segundo a lei de Hooke, um sólido ideal sofre deformação proporcional à tensão aplicada e a deformação se mantém até que tensões moleculares internas se equilibrem com tensões externas. Suprimida a tensão, o material recupera o estado original (comportamento elástico). Já de acordo com a lei de Newton, se uma tensão externa for aplicada a um líquido, a deformação ocorrerá até que a tensão seja removida, uma vez que este não oferece oposição à deformação. Um líquido ideal apresenta deformação proporcional à sua viscosidade (comportamento viscoso). Polímeros, dadas as suas propriedades peculiares, como elevada massa molar e conformação enredada, apresentam comportamento

viscoelástico, isto é, apresentam componentes de deformações elásticas e viscosas. Os materiais poliméricos (sólidos, fundidos ou em solução) ao serem submetidos a uma tensão de cisalhamento ou extensão, sofrem deformação instantânea, seguida de uma deformação contínua ou fluência (*creep*). Quando a tensão é removida, parte da deformação se recupera instantaneamente, parte se recupera lentamente ou não se recupera (Macosko, 1994; Guerra *et al.*, 2004; Swarbrick, 2007; Chen *et al.*, 2010).

O fluxo ou o escoamento de líquidos e semissólidos pode ser descrito através da viscosidade de cisalhamento ou, simplesmente, viscosidade, que pode ser definida como a resistência do material a fluir. De modo mais simplificado, viscosidade é a medida do atrito interno de um fluido, que torna-se aparente quando uma camada do fluido se move em relação a outra camada. A quantidade de força requerida para causar esse movimento é chamada de cisalhamento. O cisalhamento ocorre quando o fluido é fisicamente movido ou distribuído. Fluidos altamente viscosos requerem uma força maior para que uma camada se mova em relação à outra do que materiais menos viscosos. A recíproca da viscosidade é a fluidez, indicadora da "mobilidade" do material. Tensão e cisalhamento podem ser definidos em função do tempo, direção e extensão da deformação (Chen *et al.*, 2010).

A relação entre a tensão de cisalhamento ( $\tau$ ) e a taxa de cisalhamento ( $\dot{\gamma}$ ) caracteriza a viscosidade ( $\eta$ ), que pode ser medida empregando diferentes viscosímetros (capilar, de orifício, de esfera ou rotacional). Viscosímetros *Brookfield* são sistemas rotacionais, de cilindros coaxiais, que medem a  $\eta$  através do torque necessário para girar um ponto de prova (*spindle*) imerso na amostra. A resistência que o material provoca à rotação do *spindle* causa desvios na mola, medidos na forma do torque. A geometria e dimensões do recipiente, bem como do *spindle*, interferem na leitura, sendo, portanto, padronizados e corrigidos internamente, pelo aparelho. A influência de parâmetros como temperatura, tempo e velocidade de rotação pode ser

estudada. De modo geral, quanto maior a viscosidade de um material, maior sua resistência ao fluxo (Macosko, 1994; Chhabra & Richardson, 2008).

A metodologia empregada para avaliar a adesividade foi utilizada por diversos autores e fundamenta-se no incremento da viscosidade ( $\eta$ ) que a mucina proporciona a um sistema. É geralmente aceito que o enredamento de cadeias, alterações conformacionais e interações químicas entre polímeros mucoadesivos e a mucina são capazes de produzir modificações no comportamento reológico das duas espécies macromoleculares envolvidas. Assim, alguns autores observaram um aumento sinérgico na  $\eta$  quando a mucina e polímeros mucoadesivos, como a quitosana, poli(ácido acrílico) e a pectina, foram misturados (Hassan & Gallo, 1990; Rossi *et al.*, 2001; Thirawong *et al.*, 2008).

O método viscosimétrico para avaliação da interação polímero-mucina foi proposto, primeiramente, por Hassan e Gallo (1990), que empregaram os ensaios para analisar as alterações viscoelásticas em sistemas formados pela mistura. A técnica parte do princípio de que a resposta reológica do sistema polímero-mucina deve ser maior que as contribuições da formulação e da mucina isoladas. Assim, a partir das viscosidades medidas experimentalmente, pode ser calculada a viscosidade sinérgica ( $\eta_s = \eta_{exp} - \eta_{calc}$ ), também conhecida como parâmetro de sinergismo reológico ou parâmetro de interação (Marschütz & Bernkop-Schnürch, 2002; Callens *et al.*, 2003; Thirawong *et al.*, 2008).

O ensaio para determinação da viscosidade foi realizado em viscosímetro digital programável Brookfield (modelo RV-DVII + Pro). Foram tomadas medidas para a mucina pura dispersa em água ( $\eta_m$ ), para os copolímeros EPEC na ausência de mucina e para o sistema EPEC-mucina, empregando *spindle* SC4-28, com variação da velocidade de 25 a 200 rpm. Os resultados mostrados nas Tabelas 6.12 e 6.13

representam a média de 11 determinações (calculada em Excel), feitas de 5 em 5 segundos durante 1 minuto de ensaio, na velocidade de 100 rpm.

A viscosidade dos copolímeros na ausência de mucina foi baixa e não linear à quantidade de pectina modificada. Todavia, a incorporação da mucina aos copolímeros provocou aumento da viscosidade que foi notado visualmente, uma vez que durante o processo de incorporação da glicoproteína, observou-se maior resistência à agitação e homogeneização naqueles sistemas contendo maior concentração de pectina modificada. Os resultados obtidos durante as medidas da viscosidade aparente mostraram que a mesma aumentou cerca de 100 vezes após adição da mucina.

Thirawong e colaboradores demonstraram que a  $\eta$  da pectina e do sistema pectina-mucina foi maior em meio ácido, devido a maior capacidade de formar ligações de hidrogênio, resultando em ligações cruzadas intermoleculares lábeis. Em pH mais elevado, a ionização pode aumentar levando à perda da capacidade de realizar ligações de hidrogênio. O pH dos copolímeros EPEC foi de, aproximadamente, 4, sendo propício para medidas adequadas de viscosidade. Em todos os casos, a viscosidade aparente obtida, experimentalmente, foi maior que a viscosidade calculada e aumentou conforme o aumento da concentração do polissacarídeo funcionalizado. Estudos realizados por autores, que empregaram técnicas viscosimétricas e reométricas para avaliação da mucoadesão, sugerem que o aumento na viscosidade da mistura sistema-mucina, na presença de pectina, deve-se ao enredamento das cadeias e por fenômenos adsortivos, apesar de ligações de hidrogênio ou interações de van der Waals poderem ser estabelecidas. Assim, a resistência ao fluxo aumenta devido à formação de um maior número de interações entre a mucina, hidroxilas e carboxilas livres do polissacarídeo (Thirawong *et al.*, 2007; Sriamornsak *et al.*, 2008; Sriamornsak *et al.*, 2010).

**Tabela 6.12.** Valores da viscosidade experimental e calculada para sistemas contendo 5%p/V de mucina (*Spindle* SC4-28 e velocidade de 100 rpm)

| <b>Viscosidade</b>     |                                  |  |   |  |
|------------------------|----------------------------------|--|---|--|
| <b>Medida</b>          |                                  | <b>Calculada</b>                                   |   |  |
| <b>Polímeros puros</b> | <b>Experimental (EPEC + muc)</b> | <b>Esperada (<math>\eta_{cop} + \eta_m</math>)</b> | <b>Sinérgica (<math>\eta_{exp} - \eta_{esp}</math>)</b> | <b>Relativa (<math>\eta_{exp} / \eta_{esp}</math>)</b> |
| $\eta_m = 45$ cP       | -                                | <b>Calculada</b>                                   |   |  |
| $\eta_2 = 5$ cP        | $\eta_2 = 759$ cP                | $\eta_2 = 50$ cP                                   | $\eta_2 = 709$ cP                                       | $\eta_2 = 15,18$ cP                                    |
| $\eta_3 = 10$ cP       | $\eta_3 = 1440$ cP               | $\eta_3 = 55$ cP                                   | $\eta_3 = 1385$ cP                                      | $\eta_3 = 26,18$ cP                                    |
| $\eta_4 = 240$ cP      | $\eta_4 = 2958$ cP               | $\eta_4 = 285$ cP                                  | $\eta_4 = 2673$ cP                                      | $\eta_4 = 10,38$ cP                                    |

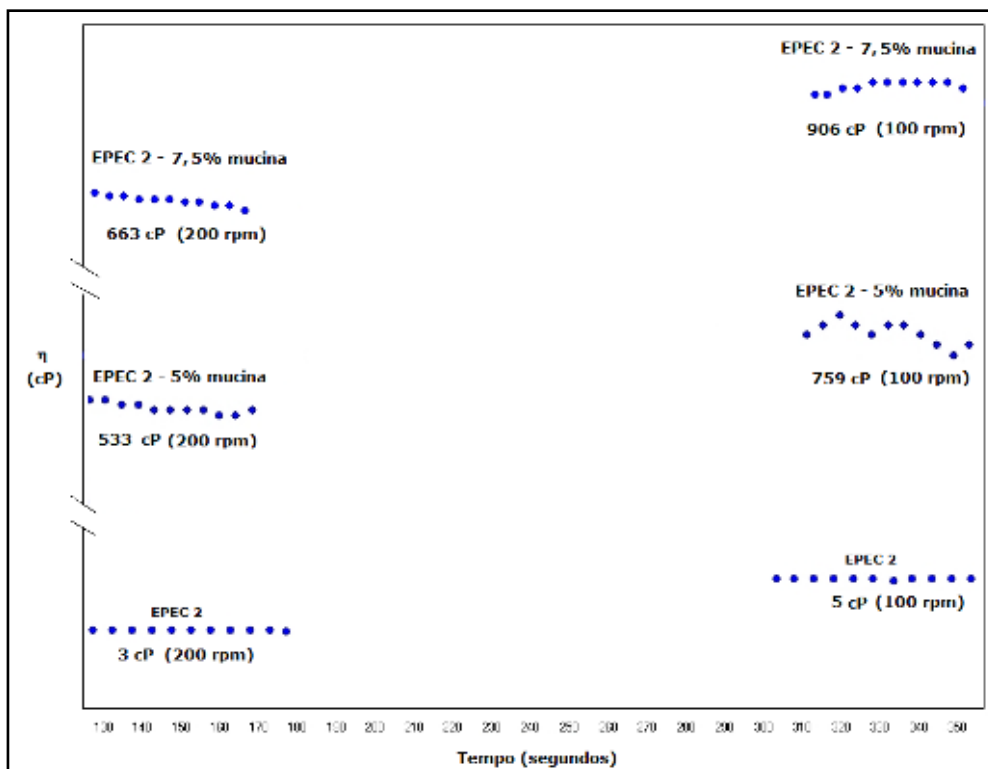
**Tabela 6.13.** Valores da viscosidade experimental e calculada para sistemas contendo 7,5%p/V de mucina (*Spindle* SC4-28 e velocidade de 100 rpm)

| <b>Viscosidade</b>     |                                  |  |   |  |
|------------------------|----------------------------------|--|---|--|
| <b>Medida</b>          |                                  | <b>Calculada</b>                                   |   |  |
| <b>Polímeros puros</b> | <b>Experimental (EPEC + muc)</b> | <b>Esperada (<math>\eta_{cop} + \eta_m</math>)</b> | <b>Sinérgica (<math>\eta_{exp} - \eta_{esp}</math>)</b> | <b>Relativa (<math>\eta_{exp} / \eta_{esp}</math>)</b> |
| $\eta_m = 327$ cP      | -                                | <b>Calculada</b>                                   |   |  |
| $\eta_2 = 5$ cP        | $\eta_2 = 906$ cP                | $\eta_2 = 332$ cP                                  | $\eta_2 = 574$ cP                                       | $\eta_2 = 2,73$ cP                                     |
| $\eta_3 = 10$ cP       | $\eta_3 = 3471$ cP               | $\eta_3 = 337$ cP                                  | $\eta_3 = 3134$ cP                                      | $\eta_3 = 10,30$ cP                                    |
| $\eta_4 = 240$ cP      | $\eta_4 = -$                     | $\eta_4 = 567$ cP                                  | $\eta_4 = -$  | $\eta_4 = -$   |

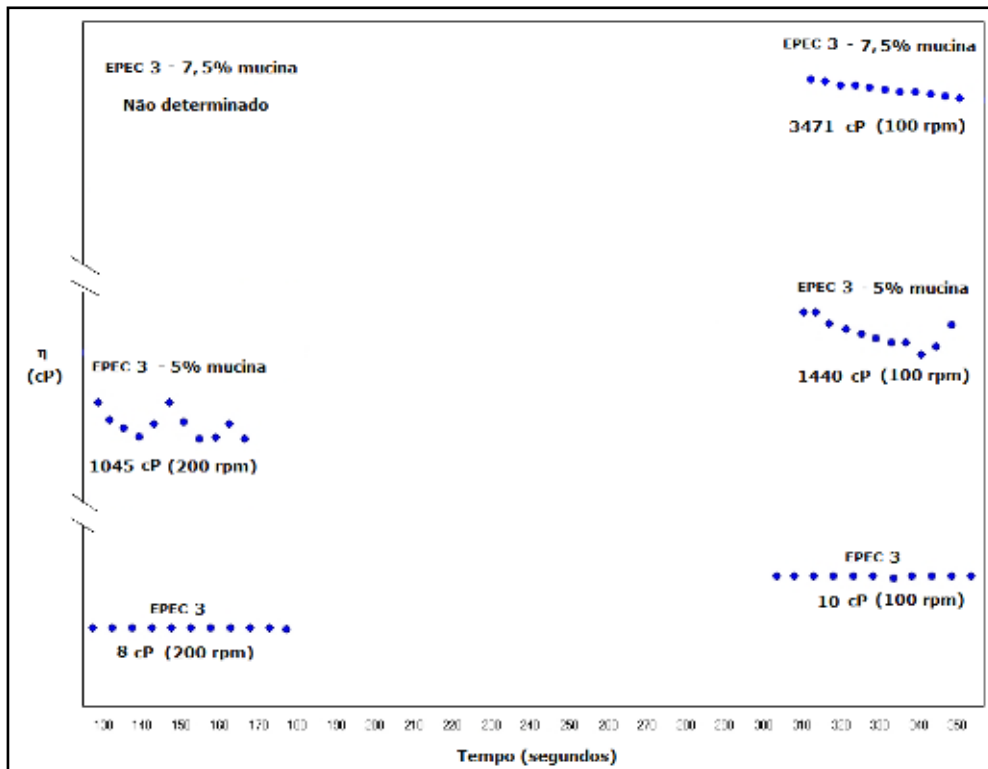
Nas Figuras 6.19, 6.20 e 6.21 podem ser vistos os gráficos da variação da viscosidade em função da velocidade de rotação (100 e 200 rpm) e da porcentagem de mucina nos sistemas. Com a diminuição da rotação ocorre redução da taxa de

cisalhamento e um aumento na viscosidade aparente. Por outro lado, sob condições de aumento do cisalhamento, pode ocorrer desenredamento progressivo das cadeias macromoleculares e quebra das ligações de hidrogênio, com redução da viscosidade. O aumento da porcentagem de mucina de 5 para 7,5% promoveu elevação da viscosidade sinérgica dos sistemas. Em alguns casos não foi possível medir a viscosidade nas velocidades pré-estabelecidas, já que o torque ultrapassou o limite de sensibilidade do aparelho.

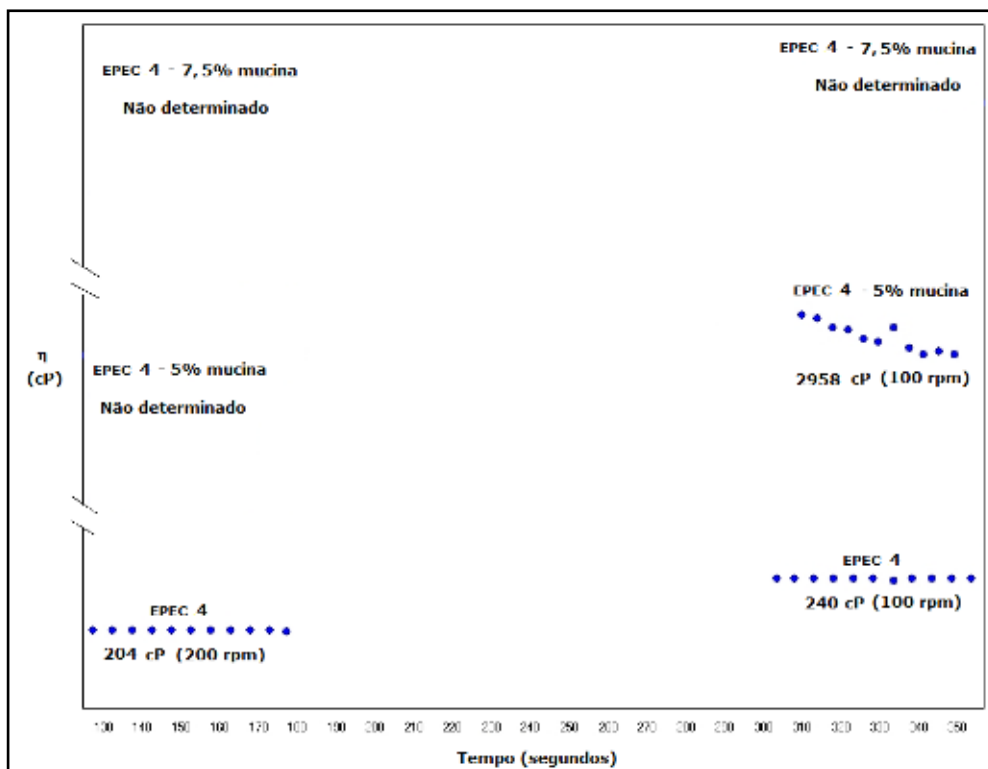
Os resultados obtidos corroboram para a conclusão de que o polissacarídeo apresenta capacidade mucoadesiva e pode ser utilizado na preparação de sistemas de liberação de fármacos.



**Figura 6.19.** Variação da viscosidade do copolímero EPEC 2, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina.



**Figura 6.20.** Variação da viscosidade no copolímero EPEC 3, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina.



**Figura 6.21.** Variação da viscosidade no copolímero EPEC 4, em função da concentração de pectina, rotação e quantidade de mucina.

## 6.4. CONCLUSÕES

De acordo com as análises espectrométricas e térmicas ocorreu a funcionalização da pectina pelo metacrilato de glicidila mediante emprego da técnica na presença de calor e pH reduzido. O polissacarídeo modificado foi utilizado na preparação de copolímeros acrílicos, contendo os monômeros EA, MMA e BMA. O uso do processo de polimerização em suspensão levou à formação de *beads* (BPEC) com propriedades micromeríticas apropriadas.

Os excipientes BPEC foram empregados na preparação de comprimidos, na tentativa de obter matrizes inertes. Copolímeros baseados em monômeros acrílicos ou metacrílicos tendem a apresentar deformação do tipo plástica, envolvendo as demais partículas e originando matrizes inertes, que não se alteram ou sofrem pequena alteração em água. Pela análise dos resultados ficou claro que o excipiente BPEC originou Fórmulas que permaneceram íntegras durante todo o ensaio (7 e 8). O aumento na concentração do copolímero de 48%p/p para 64%p/p em massa do comprimido, reduziu a liberação de PHCl de 85% para 67%, durante 12 horas. Matrizes preparadas a partir do copolímero BPEC originaram comprimidos íntegros e com perfil de liberação prolongado devido, provavelmente, à presença da pectina modificada. A Pec\_GMA pode levar à captura de água que atuará como plastificante, melhorando a compressibilidade do material e a formação da matriz. Pelo exposto, ficou claro que comprimidos que apresentaram maior dureza foram aqueles que modularam a liberação por tempo maior, retardando a liberação. De acordo com a análise da cinética de dissolução, o modelo que melhor representou a liberação foi o de Korsmeyer-Peppas e a difusão, segundo a Lei de Fick, fundamentou a liberação do PHCl após a dissolução do fármaco na forma farmacêutica. Os demais parâmetros de qualidade (peso médio, dureza e friabilidade) apresentaram resultados em conformidade com as especificações farmacopeicas.



A preparação de copolímeros pelo procedimento em emulsão, na ausência de tensoativos, gerou látices (EPEC) com reduzido teor em sólidos e distribuição granulométrica heterogênea. Porém, avaliações preliminares da capacidade adesiva dos copolímeros acrílicos contendo pectina modificada indicam que os mesmos podem ser úteis no desenvolvimento de sistemas farmacêuticos mucoadesivos. O aumento na concentração da pectina funcionalizada nos copolímeros aumentou a molhabilidade dos filmes formados bem como a viscosidade sinérgica em sistemas contendo mucina, indicando aumento na formação de interações intermoleculares e na resistência ao fluxo. Estudos devem continuar no sentido de otimizar a obtenção de copolímeros EPEC com maior teor em sólidos e obtenção de excipientes sólidos a partir dos mesmos. Outros estudos de adesão devem ser idealizados para confirmação dos resultados obtidos.

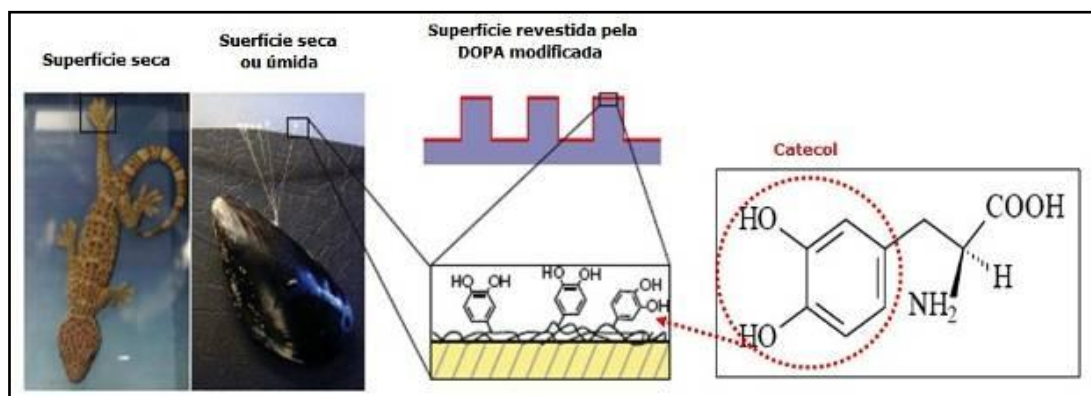
**CAPÍTULO 7**

---

**Modificação da DOPA pelo metacrilato de glicidila**

## 7.1. Funcionalização da DOPA

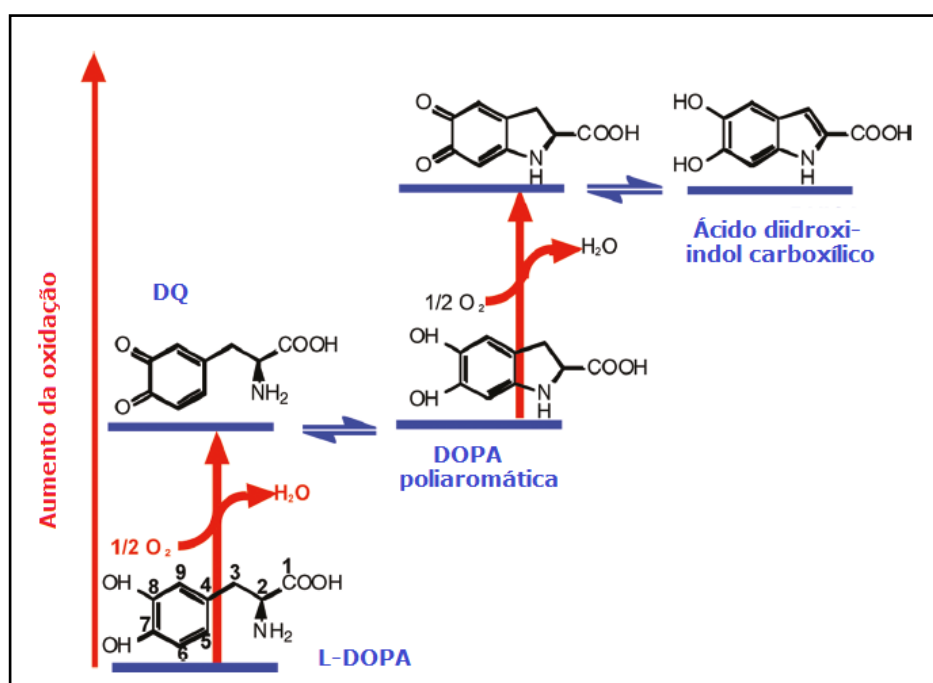
**P**roteínas secretadas por animais como sapos, lagartos e espécies marinhas vêm ganhando destaque na área de biomateriais. Pesquisas recentes indicam que o modelo de adesão encontrado em mexilhões azuis, da espécie *Mytilus edulis*, surpreende pela elevada capacidade adesiva, tanto em superfícies orgânicas e inorgânicas, quanto em meios aquosos ou não aquosos. Estudos realizados no material existente próximo à interface de adesão sugeriram a presença de grande quantidade do aminoácido 3,4-diidroxi-L-fenilalanina (DOPA) na proteína secretada pelo molusco. Apesar do mecanismo de adesão não ter sido completamente elucidado, acredita-se que os catecóis de resíduos não oxidados da DOPA sejam responsáveis pela adesão, enquanto que a formação de ligações cruzadas, observada em adesivos de origem marinha, deva-se à forma oxidada da DOPA (orto-quinona). Interações que podem ser atribuídas ao catecol da DOPA são: ligação de hidrogênio, capacidade de complexação com íons metálicos e complexação com óxidos metálicos (Waite & Tanzer, 1981; Deming, 1999; Satz *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008; Bernini *et al.*, 2009). A



representação da adesão via DOPA pode ser vista na Figura 6.1.

**Figura 7.1.** Representação do mecanismo de adesão via 3,4-diidroxi-L-fenilalanina (Adaptado de Lee *et al.*, 2007).

A DOPA (levodopa, L-DOPA ou 3,4-dihidroxi-fenil-L-alanina) é um aminoácido não essencial, precursor dos neurotransmissores noepinefrina, epinefrina e dopamina. Uma das rotas de obtenção é a partir da hidroxilação da tirosina a partir da tirosina hidroxilase. A L-DOPA caracteriza-se por ser um pó cristalino branco à ligeiramente amarelado, que escurece por exposição ao ar, luz e calor, fundindo-se a cerca de 275° C, com decomposição. Em solução, decompõe-se em pH ácido à neutro (Clarke, 2004). O aminoácido é pouco solúvel em água (< 5 mg/mL) e solúvel em soluções alcalinas (pH acima de 8), meio no qual é mais estável. A função catecol é responsável pela oxidação do aminoácido à dopaquinona, por exposição ao oxigênio. A medida que a oxidação se acentua, são formadas estruturas poliaromáticas, culminando na formação do indol, o que origina a coloração rósea à preta (Land *et al.*, 2003; Jaber & Lambert, 2009). Ainda, a L-DOPA é um pró-fármaco, prescrito para pacientes que sofrem da Doença de Parkinson, caracterizada pela deficiência de dopamina no organismo (Martindale, 2007).

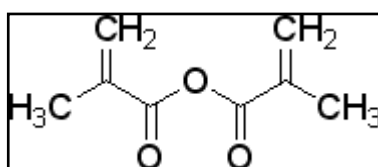


**Figura 7.2.** Etapas da oxirredução da L-DOPA (Adaptado de Jaber & Lambert, 2009).

Diversos autores têm proposto modificações na DOPA ou utilizado a mesma e seus derivados para preparar e modificar diversos materiais, objetivando explorar sua capacidade adesiva. A literatura relata a preparação de copolímeros em bloco a partir da DOPA modificada, empregando polímeros como a poli(caprolactona) (PCL), o polietilenoglicol (PEG), o PEG-diacrilato, o poli(metil metacrilato) (PMMA) e o poli(ácido metacrílico) (PAMA) (Lee *et al.*, 2002; Dalsin *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2006; Burke *et al.*, 2007; Gunawan *et al.*, 2008; Cristescu *et al.*, 2009; Murphy *et al.*, 2010; Samyn *et al.*, 2010). Zhu e colaboradores (2009) prepararam membranas de poli(fluoreto de vinilideno) recobertas com heparina, empregando um espaçador baseado na DOPA, depositada por *dip-coating*.

Assim, no presente Capítulo, foi proposta a funcionalização na DOPA por monômeros bifuncionais, na tentativa de torná-la polimerizável, o que permite a preparação de materiais com propriedades adesivas visando aplicações na área de biomateriais. Para tal, foram empregados dois monômeros: o anidrido metacrílico (AM) e o metacrilato de glicidila (GMA).

Monômeros funcionais baseados no anidrido, tais como, anidrido acético, anidrido maleico, anidrido succínico e anidrido metacrílico, são usualmente empregados para a funcionalização de macromoléculas e polímeros, mediante introdução de grupos vinílicos (Cernohous *et al.*, 1997; Becquart *et al.*, 2003). A técnica utilizada na funcionalização da DOPA foi adaptada daquela descrita por Lee e colaboradores (2007). A estrutura do AM é dada na Figura 6.3.



**FIGURA 7.3.** Estrutura química do anidrido metacrílico.

Além do anidrido metacrílico foi utilizado o GMA, um monômero que apresenta dois sítios de reação: um grupo epóxi em um dos lados da molécula e um metacrilato do outro, o que o torna útil na funcionalização de diferentes materiais. A partir do GMA, duplas ligações (C=C) podem ser introduzidas na molécula a ser modificada, visando obter reatividade e copolimerização com outros monômeros (Safa & Nasirtabrizi, 2006; Vaidya *et al.*, 2007). Como foi dito no Capítulo 5, as reações químicas do GMA podem ocorrer com grupos ácidos e básicos de diferentes moléculas, em solução aquosa, sofrendo interferência do pH do meio (Reis *et al.*, 2009). Na modificação da DOPA pelo GMA, a reação deve se processar em pH alcalino, uma vez que o aminoácido sofre degradação em pH ácido. Portanto, espera-se que a reação com o GMA ocorra via abertura do anel epóxido e/ou transesterificação.

## 7.2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 7.2.1 Materiais

#### 7.2.1.1 Reagentes

- 3,4-diidroxil-L-fenilalanina - *Aldrich*
- Metacrilato de glicidila - *Aldrich*
- Anidrido metacrílico - *Aldrich*
- Tetraborato de sódio - *Synth*
- Bicarbonato de sódio - *Synth*
- Solução de hidróxido de sódio 0,1 N - *Synth*
- Solução de ácido clorídrico 0,1 N - *Synth*
- Acetato de etila - *Synth*
- Benzeno - *Synth*
- Éter - *Synth*
- Tetraidrofurano - *Synth*
- Hexano - *Synth*
- Diclorometano - *Synth*

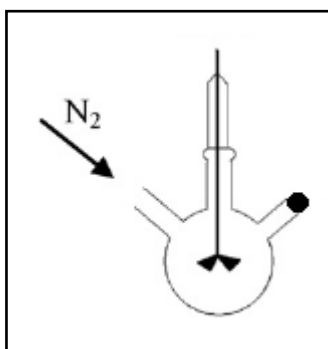
#### 7.2.1.2 Equipamentos

- Balança analítica *Bioprecisa*, modelo FA2104N
- Agitador mecânico *Fisatom*, modelo 713 D
- Rotaevaporador *Fisatom*, modelo 802
- Manta aquecedora *Fisatom*, modelo 102K
- Estufa a vácuo *Quimis*
- Espectrofotômetro *Thermo Scientific*, modelo Nicolet 6700
- Espectrômetro RMN *Bruker*, modelo Avance DRX400

## 7.2.2. MÉTODOS

### 7.2.2.1. Modificação da DOPA

Para a realização da síntese foi empregado um balão de 50 mL, tritubulado, equipado com um agitador mecânico digital e um sistema de entrada de nitrogênio, para evitar oxidação da DOPA por ação do oxigênio, como representado na Figura 6.2. As reações se desenvolveram na ausência de calor.



**Figura 7.4.** Sistema empregado na síntese da DOPA modificada.

Inicialmente foram realizadas sínteses de DOPA\_AM. Para tal, foram preparados 100 mL de tampão contendo 10 g de tetraborato de sódio e 4 g de bicarbonato de sódio. Após completa dissolução dos sais, o tampão foi purgado com nitrogênio, durante 15 minutos. A DOPA dissolvida no tampão borato forma um complexo estável em pH compreendido entre 7 e 10, com proteção do catecol da degradação. Cinco gramas (5 g) da DOPA foram pesados e adicionados ao balão contendo o tampão, em atmosfera de nitrogênio. O sistema permaneceu sob agitação por 15 minutos e 5 mL de anidrido metacrílico, previamente solubilizados em 5 mL de tetraidrofurano, foram adicionados ao meio, gota a gota, com o auxílio de uma seringa. A reação permaneceu sob agitação por 1 hora, em atmosfera inerte. O pH da reação foi monitorado e, quando necessário, foi ajustado para acima de 8, com solução de NaOH 0,1 N. Decorridos os 60 minutos, foi recolhida uma solução rosa-claro. Em seguida, 450 mL de hexano foram adicionados ao produto, sob agitação vigorosa. A mistura foi



deixada em geladeira (4° C) por 16 horas e o precipitado, de cor rosa-claro foi recolhido e seco em estufa a vácuo, a 40° C.

Um segundo procedimento foi testado para obtenção da DOPA modificada, empregando o GMA, em substituição ao AM. Como descrito anteriormente, a etapa inicial foi a proteção do anel catecol pela dissolução da DOPA em tampão borato. Em seguida, 5 g da DOPA foram pesados e adicionados ao reator. O sistema permaneceu em agitação por 15 minutos e 5 mL de GMA foram adicionados. A agitação continuou por 1 hora, sob atmosfera de nitrogênio. Durante toda a reação, o pH do meio permaneceu acima de 9, não sendo necessário o ajuste. Ao final da reação, uma solução amarelada foi obtida. O pH foi reduzido para 2 utilizando solução de HCl 0,1 N e o produto foi extraído 3 vezes com acetato de etila. A fração recolhida foi novamente extraída em diclorometano, com posterior dissolução do produto em benzeno, precipitação em éter e secagem em estufa a vácuo, a 40° C. Ao final, foi obtido um pó cristalino cinza.

Os produtos obtidos a partir das reações descritas foram caracterizados pelas técnicas de espectrometria por infravermelho com transformada de Fourier e por ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

#### **7.2.2.2. Caracterização do produto de reação por FTIR**

As modificações na DOPA foram monitoradas por espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros dos monômeros foram obtidos em espectrômetro Thermo Scientific Nicolet 6700, sendo depositada uma gota de monômero na célula, no modo de absorção, com resolução melhor que  $4\text{ cm}^{-1}$ , adquiridos com 64 acumulações. Os sólidos foram analisados em modo de reflexão direta, utilizando microscópio Centaurus acoplado ao espectrômetro. Espectros de

micro-FTIR na região de 650 - 4000  $\text{cm}^{-1}$  foram coletados com resolução espectral melhor que 4  $\text{cm}^{-1}$ , adquiridos com 64 acumulações, sob purga de nitrogênio seco.

#### **7.2.2.3. Caracterização do produto de reação por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$**

Os produtos que tiveram a funcionalização confirmada por FTIR foram submetidos a análises de espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , em equipamento Bruker DRX 400 Avance, operando em frequência de 400 MHz. Os espectros foram adquiridos por detecção direta em sonda dual  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ , com diâmetro de 5 mm, a 27° C, utilizando TMS como referência interna. Os experimentos foram realizados mediante sequência de pulsos padrão da biblioteca do equipamento, empregando água deuterada como solvente para as amostras.

#### **7.2.2.4. Copolimerização do produto de reação**

A DOPA modificada, considerada adequada após avaliação dos resultados de caracterização, foi enxertada no Copolímero A (obtido no Capítulo 5) via reação química. Foram tomados 50 mL da dispersão polimérica aos quais foi adicionado 1 grama do monômero (3,5%p/p em massa do copolímero), sob agitação mecânica, até completa dispersão. Posteriormente, foi adicionado o par redox formado pelo persulfato de amônia e o ditionito de sódio, na concentração final de 0,285 g (1%p/p em massa do polímero). A reação foi mantida sob agitação durante 3 horas, a temperatura ambiente. Foram preparados filmes por *casting*, a temperatura ambiente, que foram submetidos aos ensaios de caracterização por FTIR.

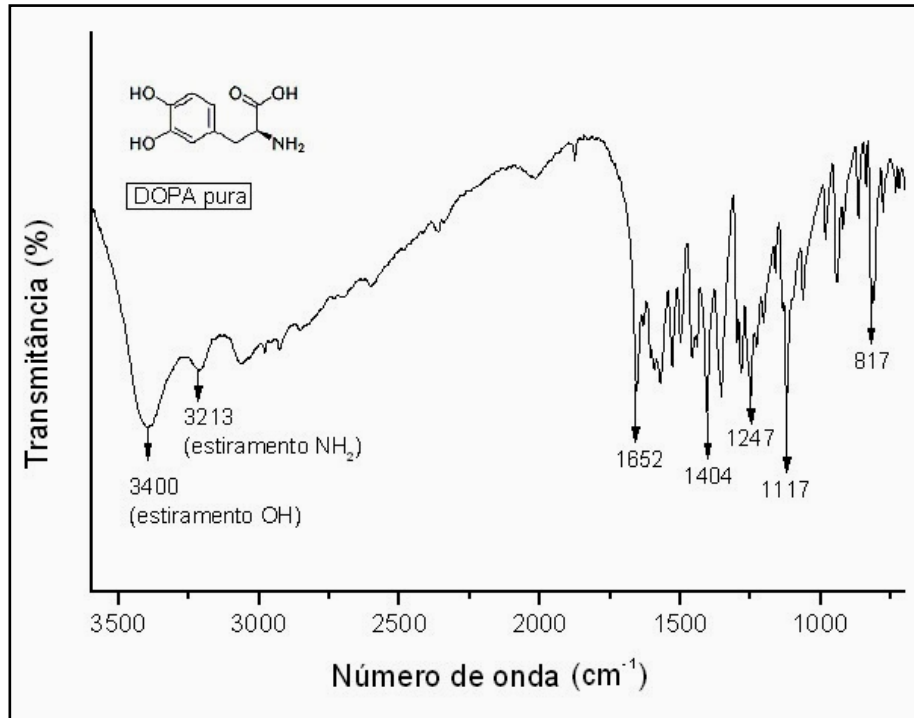
### 7.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 14 reações de síntese visando a funcionalização da DOPA pelos monômeros AM ou GMA. O rendimento de todas foi baixo, obtendo-se entre 500 e 1000 mg em cada partida. Todos os produtos obtidos nas sínteses apresentaram coloração que variou de rosa, amarelo-claro, cinza escuro ou preto, demonstrando a baixa estabilidade da DOPA, mesmo depois de protegida pelo tampão borato. A coloração de todos os produtos alterou-se com o tempo, tornando-se mais escuros e indicando oxidação contínua do material. Alguns autores relatam a observação de fenômeno semelhante, com colorações de rosa à cinza (Lee *et al.*, 2007; Jaber & Lambert, 2009). Os produtos foram analisados por FTIR.

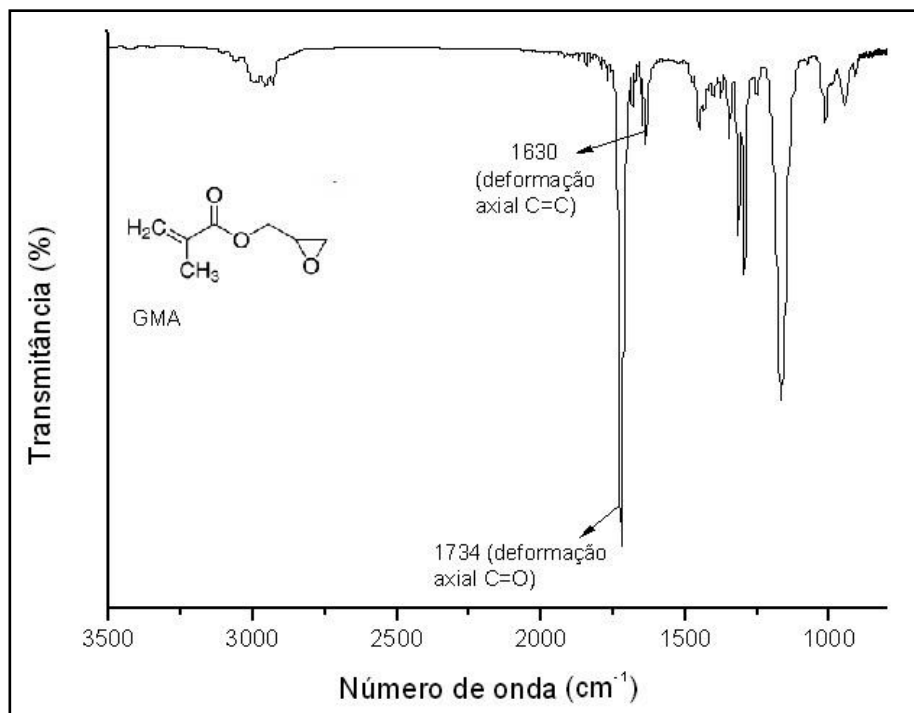
#### 7.3.1. Caracterização por FTIR

O espectro FTIR da DOPA (Figura 6.5) apresentou bandas características nas seguintes regiões: 3500 a 3400  $\text{cm}^{-1}$ , referentes ao estiramento da ligação O-H; 3200  $\text{cm}^{-1}$ , indicativa de estiramento de ligações N-H; e, 1650  $\text{cm}^{-1}$ , 1400  $\text{cm}^{-1}$  e 820  $\text{cm}^{-1}$ , relativas a vibrações no anel aromático. Outros picos característicos são a 1117  $\text{cm}^{-1}$ , 1241  $\text{cm}^{-1}$  e 1274  $\text{cm}^{-1}$  (Clarke, 2004).

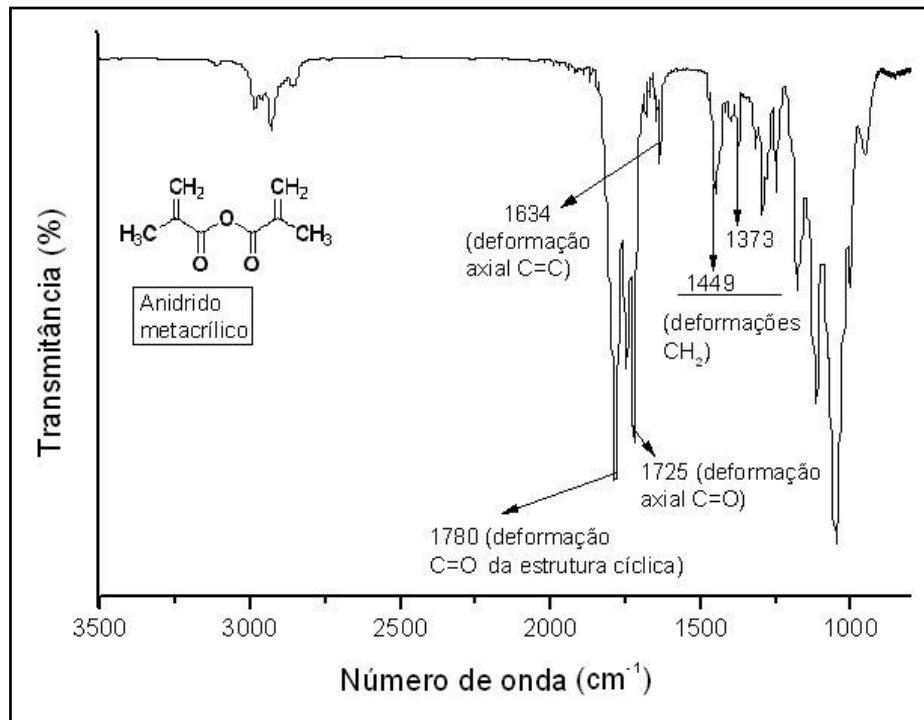
Para o GMA, as principais bandas encontradas na literatura são: 3060  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-H do anel epóxido); 3000 – 2900  $\text{cm}^{-1}$  (estiramento C-H); 1720  $\text{cm}^{-1}$  (deformação axial da ligação C=O do éster conjugado); 1628  $\text{cm}^{-1}$  (deformação axial da dupla ligação C=C); 1253  $\text{cm}^{-1}$  (vibração do anel epóxido); 908 e 842  $\text{cm}^{-1}$  (deformação assimétrica e simétrica do anel epoxídico, respectivamente) (Tarducci *et al.*, 2000). Para o anidrido metacrílico, os picos característicos descritos são: 1860 e 1780  $\text{cm}^{-1}$  (C=O da estrutura cíclica); 1720  $\text{cm}^{-1}$  (C=O); 1620  $\text{cm}^{-1}$  (C=C) e na região entre 1440 e 1370  $\text{cm}^{-1}$  (deformação CH<sub>2</sub>) (Takao *et al.*, 1999). Os espectros dos monômeros GMA e do AM são apresentados nas Figuras 7.6 e 7.7.



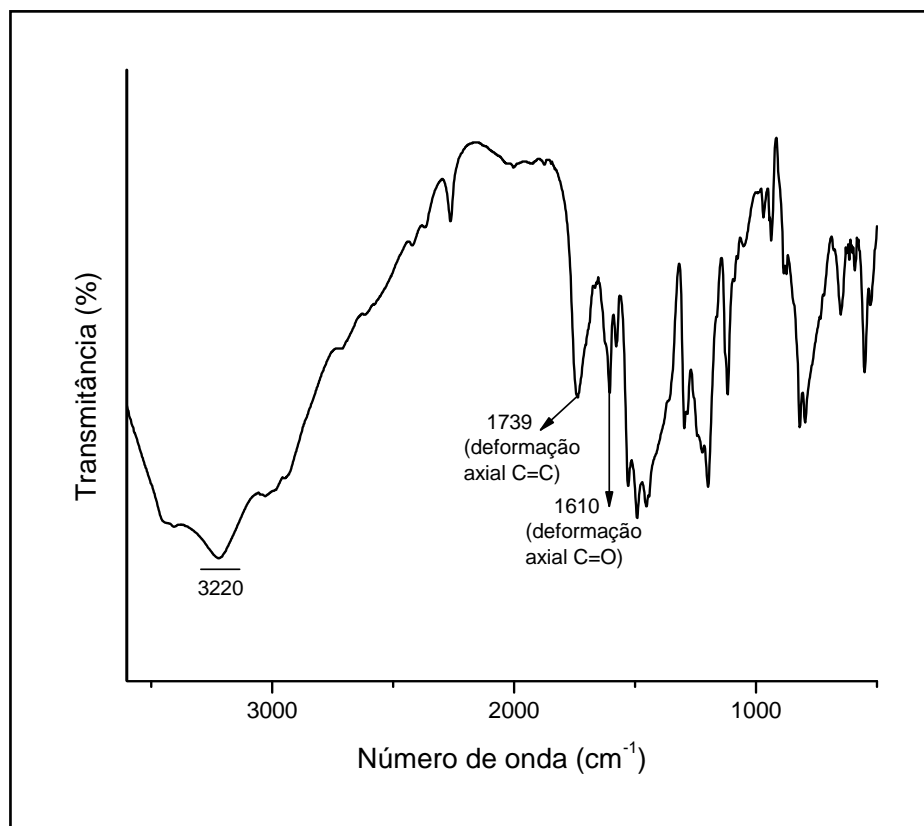
**FIGURA 7.5.** Espectro FTIR da 3,4-L-di-hidroxifenilalanina (DOPA).



**FIGURA 7.6.** Espectro FTIR do monômero metacrilato de glicidila (GMA).



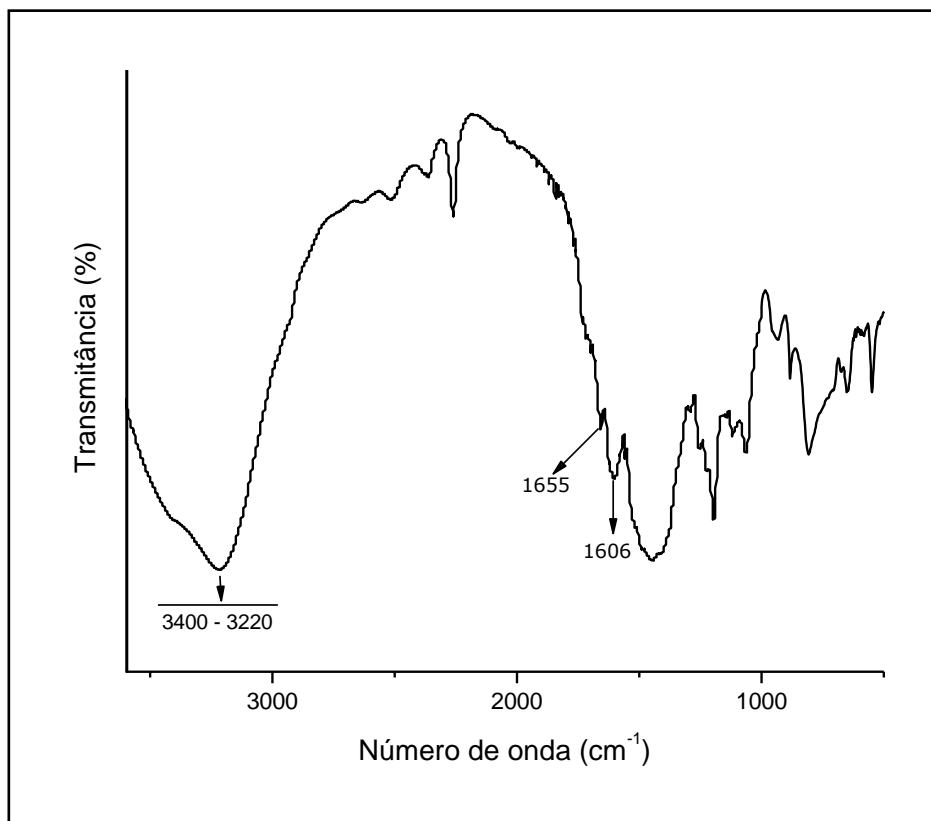
**FIGURA 7.7.** Espectro FTIR do monômero anidrido metacrílico (AM).



**FIGURA 7.8.** Espectros FTIR do produto modificado pelo GMA (DOPA 11).

O produto designado DOPA 11 refere-se à funcionalização pelo GMA (Figura 7.8). Quando seu espectro é comparado com o da DOPA pura, podem ser observadas alterações nítidas nas regiões entre  $3400$  e  $3220\text{ cm}^{-1}$ , o que pode indicar a existência de interações entre a DOPA e o GMA. Alterações significativas podem ser observadas com o surgimento das bandas a  $1739\text{ cm}^{-1}$  e  $1610\text{ cm}^{-1}$ , que podem ser atribuídas, respectivamente, à deformação axial C=C e C=O do GMA.

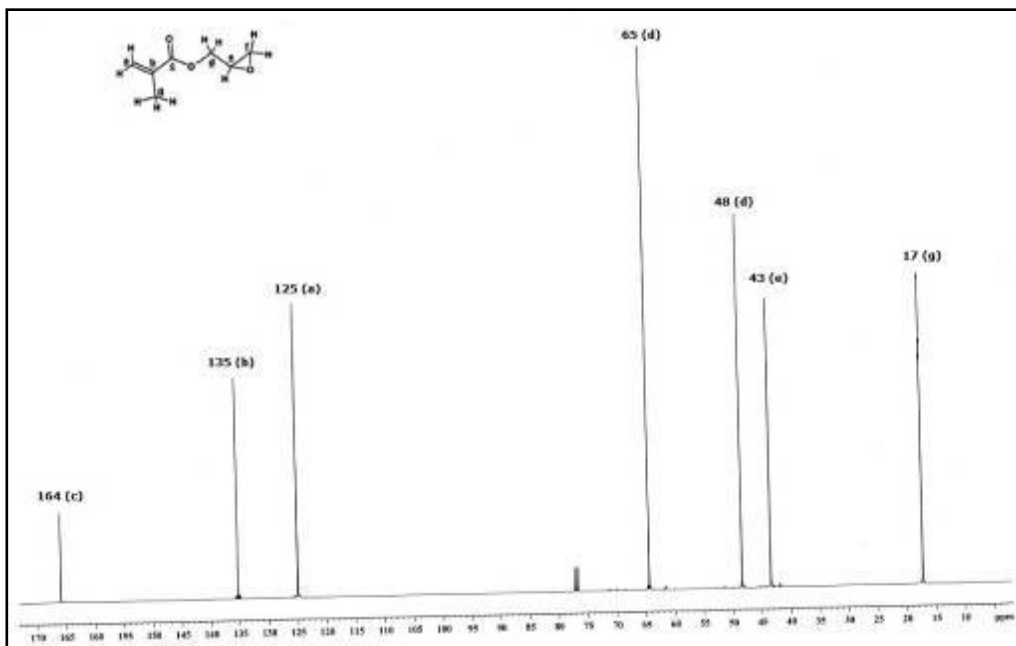
Já o produto 12 (Figura 7.9) foi modificado pelo anidrido metacrílico. O espectro apresenta-se alterado em relação ao da DOPA pura. Porém, somente uma banda a  $1608\text{ cm}^{-1}$  pode ser evidenciada, não sendo suficiente para caracterizar a inclusão de grupos vinílicos na DOPA.



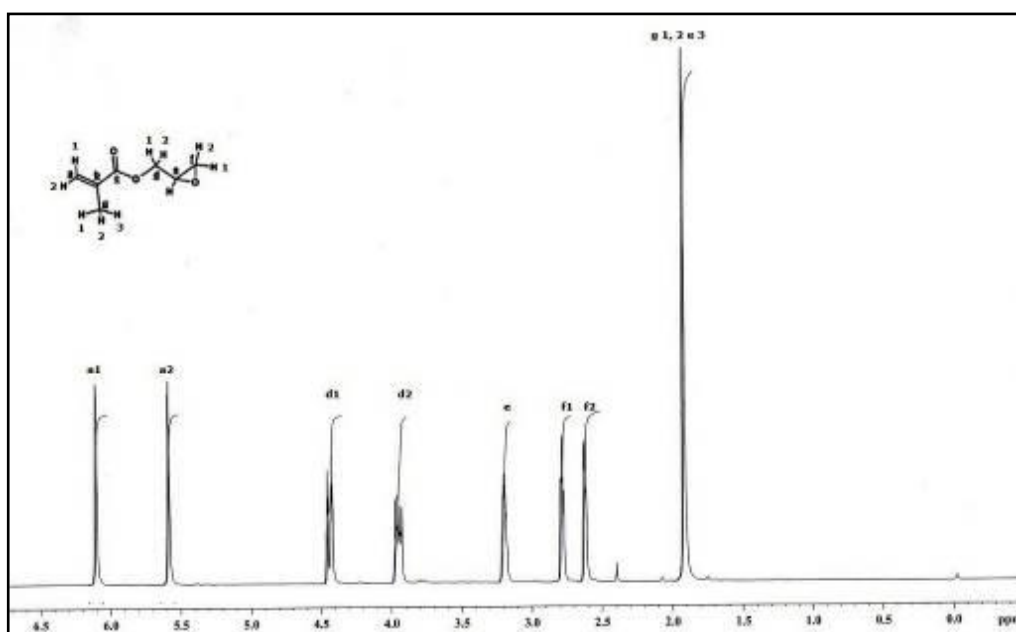
**FIGURA 7.9.** Espectro FTIR do produto modificado pelo AM (DOPA 12).

### 7.3.2. Caracterização por RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Na tentativa de confirmar a incorporação de duplas ligações no produto DOPA 11, esclarecer o mecanismo de reação e conhecer a estrutura dos produtos das reações, os produtos de partida e a DOPA 11 foram submetidas à análise pela técnica de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . As atribuições dos sinais são dadas na Tabela 7.1.

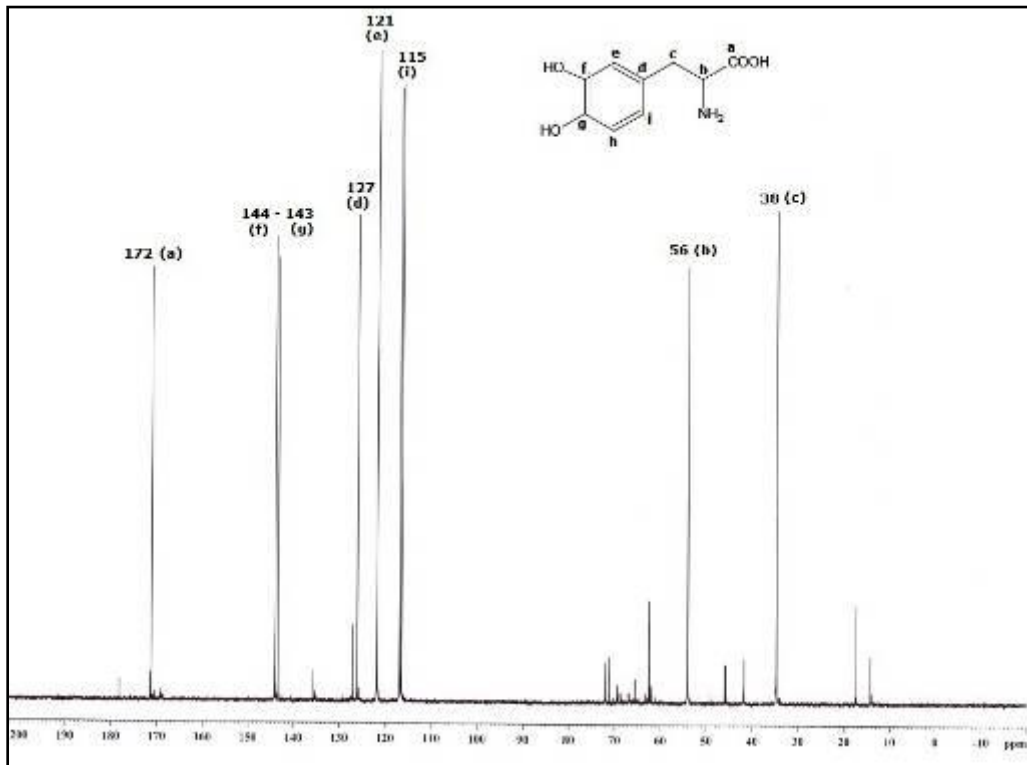


**FIGURA 7.10.** Espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  do GMA puro.



**FIGURA 7.11.** Espectro RMN de  $^1\text{H}$  do GMA puro.

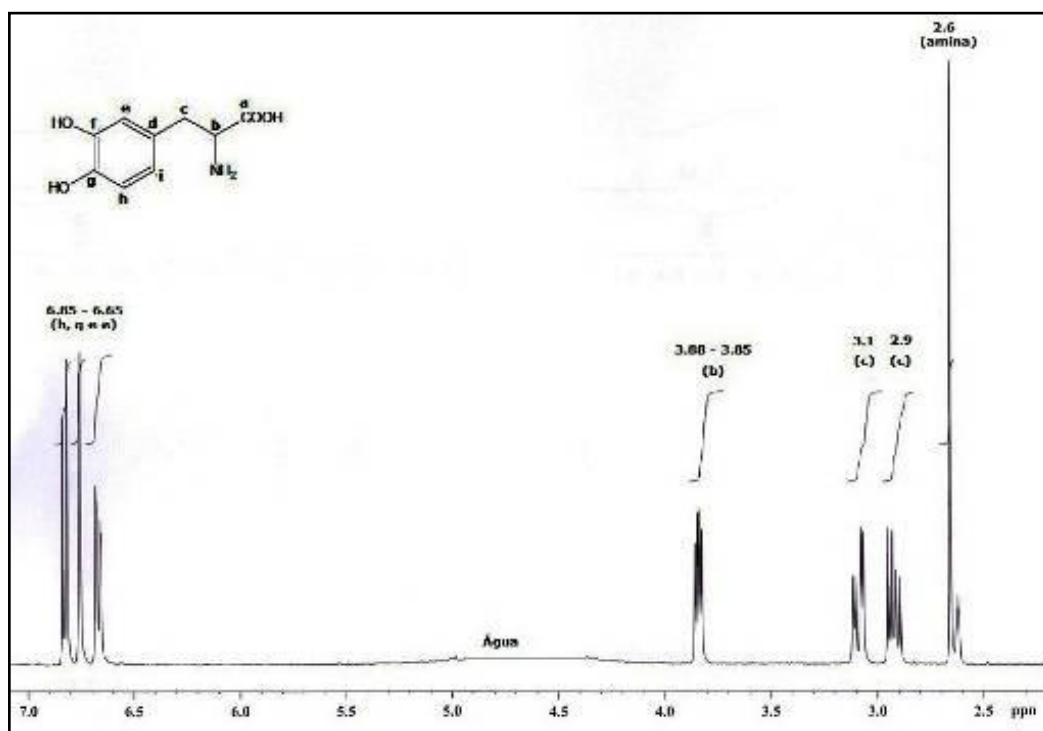
As Figuras 7.10 e 7.11, referem-se aos espectros RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do GMA puro. Os picos de ressonância em ambos correspondem ao núcleo da molécula de GMA, em concordância com a literatura (Reis *et al.*, 2009). Já as Figuras 7.12 e 7.13, referem-se aos espectros RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  da DOPA pura.



**FIGURA 7.12.** Espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  da L-DOPA em água- $\text{d}_6$ .

Os sinais no espectro RMN de  $^{13}\text{C}$  da L-DOPA encontram-se de acordo com aqueles relatados na literatura. As hidroxilas do catecol (f e g) apresentaram-se como dubletos a  $\delta$  144 e  $\delta$  143 ppm, respectivamente. Os carbonos aromáticos foram detectados na forma de tripletos a  $\delta$  127,  $\delta$  121 e  $\delta$  115 ppm. Os carbonos alifáticos apresentaram sinais a  $\delta$  56 e  $\delta$  38 ppm. Tais valores estão de acordo com aqueles observados por Park e colaboradores (2008) para a L-DOPA, exceto o sinal referente ao grupo carboxila, a  $\delta$  177 ppm, que encontrou-se deslocado para  $\delta$  172 ppm.





**FIGURA 7.13.** Espectro RMN de  $^1\text{H}$  da L-DOPA em água- $\text{d}_6$ .

Já no espectro de  $^1\text{H}$ , os prótons ligados aos átomos de carbono (e), (h) e (i) do anel aromático, apresentaram sinais entre  $\delta$  6.89 ppm e  $\delta$  6.65 ppm, característicos de hidrogênios vinílicos. Os hidrogênios do grupo  $\text{CH}_2$ , ligados ao carbono (c) apresentaram-se como multipletos, com sinais entre  $\delta$  2.9 ppm e  $\delta$  3.1 ppm. O hidrogênio do carbono (b) também foi detectado como multipletos entre  $\delta$  3.88 ppm e  $\delta$  3.85 ppm. Por último, o sinal a  $\delta$  2.6 ppm é referente à amina ligada ao carbono (b).

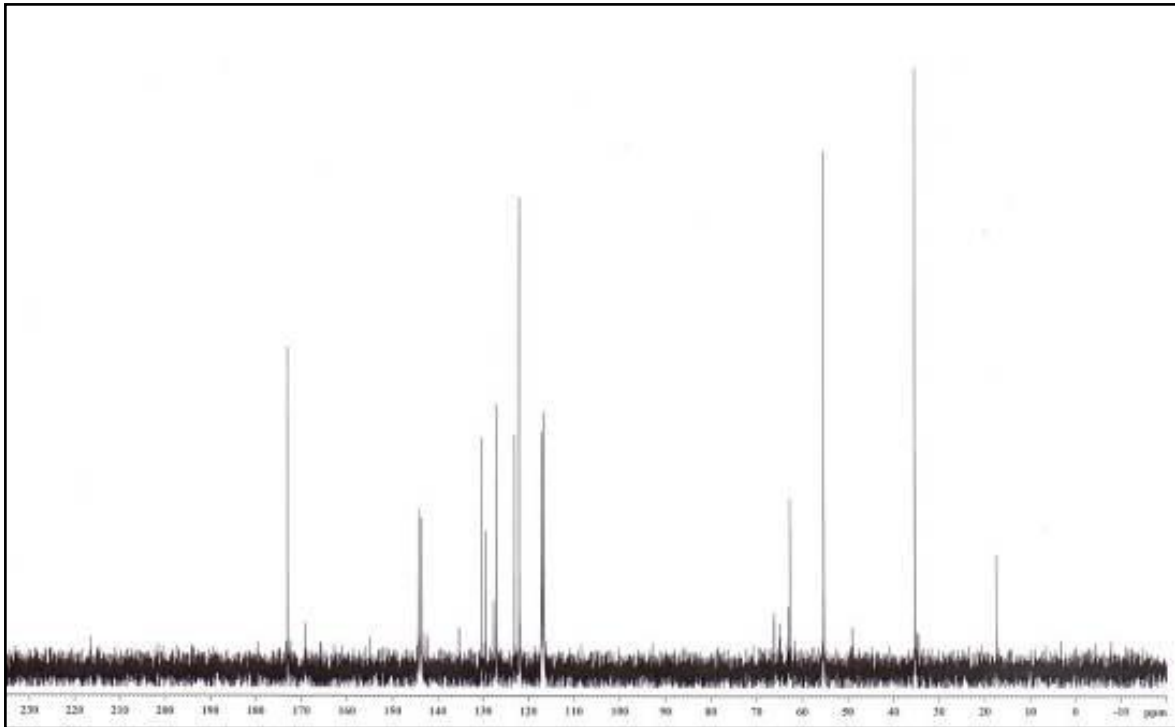
Sinais ligeiramente alterados com relação ao espectro original podem estar relacionados à oxidação da DOPA ou formação de um novo composto entre DOPA e GMA. Os seguintes sinais podem ser vistos no espectro de  $^{13}\text{C}$ :  $\delta$  173,16 ppm;  $\delta$  144,2 ppm;  $\delta$  143,5 ppm;  $\delta$  130,2 ppm;  $\delta$  129,5 ppm;  $\delta$  127,6 ppm;  $\delta$  123,9 ppm;  $\delta$  117,1 ppm;  $\delta$  116,7 ppm;  $\delta$  63,1 ppm;  $\delta$  55,2 ppm;  $\delta$  49,0 ppm;  $\delta$  35,3 ppm e  $\delta$  17,5 ppm. No espectro de  $^1\text{H}$  podem ser observados os seguintes sinais: multipletos entre  $\delta$  6,8 e  $\delta$  6,5 ppm; tripletos próximos a  $\delta$  4 ppm; multipletos entre  $\delta$  3 e  $\delta$  2,9 ppm e a  $\delta$  1,78 ppm.

**Tabela 7.1.** Sinais nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para os materiais de partida

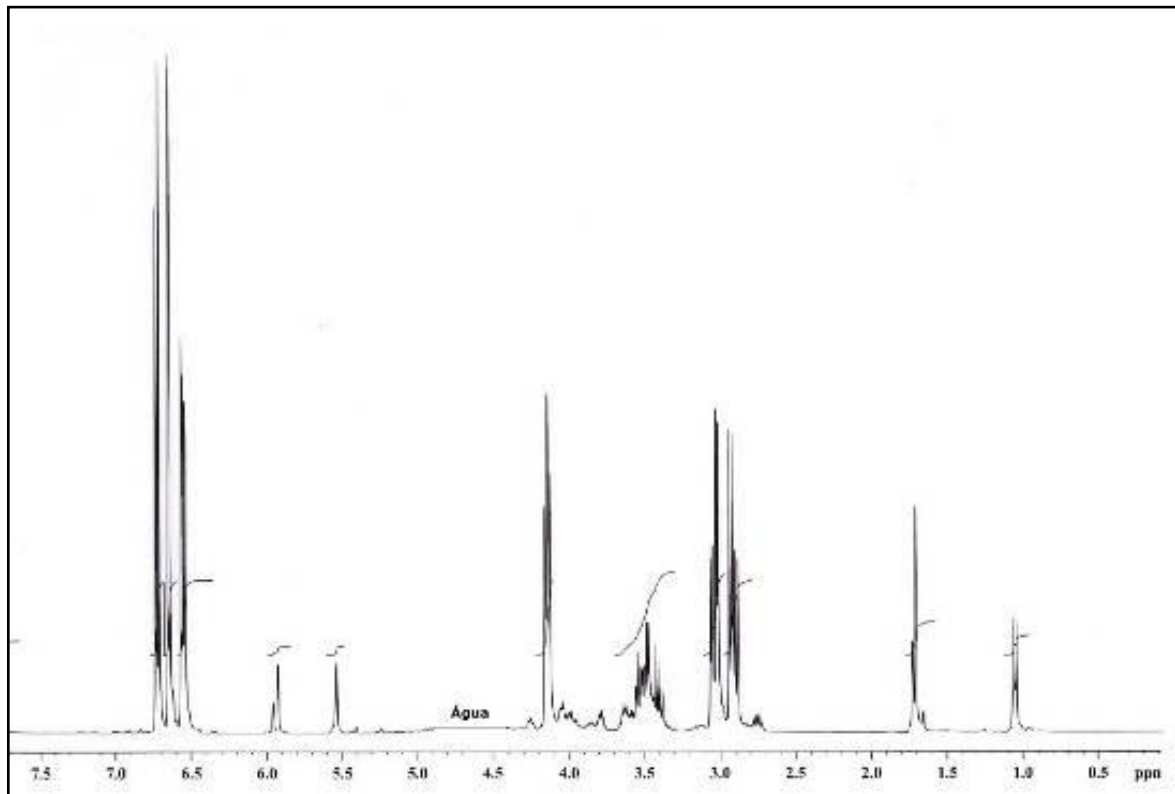
| Átomo C | GMA                                   | DOPA               |
|---------|---------------------------------------|--------------------|
| a       | $\delta$ 125,0 ppm                    | $\delta$ 172,0 ppm |
| b       | $\delta$ 135,0 ppm                    | $\delta$ 56,0 ppm  |
| c       | $\delta$ 166,0 ppm                    | $\delta$ 38,0 ppm  |
| d       | $\delta$ 48,0 ppm e $\delta$ 65,0 ppm | $\delta$ 127,0 ppm |
| e       | $\delta$ 35,0 ppm                     | $\delta$ 121,0 ppm |
| f       | -                                     | $\delta$ 144,0 ppm |
| g       | $\delta$ 17,0 ppm                     | $\delta$ 143,0 ppm |
| h       | -                                     | $\delta$ 121,0 ppm |
| i       | -                                     | $\delta$ 115,0 ppm |

**Tabela 7.2.** Sinais presentes nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para o GMA e DOPA

| Átomo H              | GMA              | DOPA              |
|----------------------|------------------|-------------------|
| a <sub>1</sub>       | $\delta$ 6,2 ppm | -                 |
| a <sub>2</sub>       | $\delta$ 5,6 ppm | -                 |
| b                    | -                | $\delta$ 3,85 ppm |
| c <sub>1</sub>       | -                | $\delta$ 2,1 ppm  |
| c <sub>2</sub>       | -                | $\delta$ 2,9 ppm  |
| d <sub>1</sub>       | $\delta$ 4,4 ppm | -                 |
| d <sub>2</sub>       | $\delta$ 3,9 ppm | -                 |
| e                    | $\delta$ 3,2 ppm | $\delta$ 6,65 ppm |
| f <sub>1</sub>       | $\delta$ 2,8 ppm | -                 |
| f <sub>2</sub>       | $\delta$ 2,6 ppm | -                 |
| g <sub>1,2,3</sub>   | $\delta$ 1,8 ppm | $\delta$ 6,75 ppm |
| h                    | -                | $\delta$ 6,85 ppm |
| i                    | -                | -                 |
| j (NH <sub>2</sub> ) | -                | $\delta$ 2,6 ppm  |



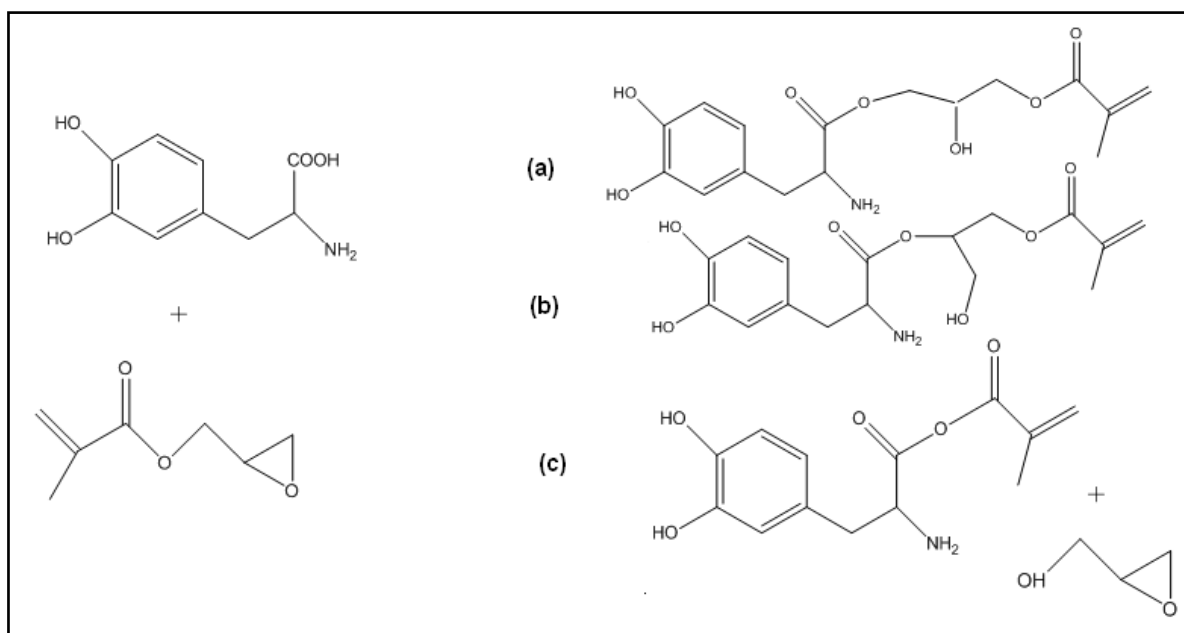
**FIGURA 7.14.** Espectro RMN de <sup>13</sup>C do produto entre a DOPA e o GMA, em água-d<sub>6</sub>.



**FIGURA 7.15.** Espectro RMN de <sup>1</sup>H do produto entre a DOPA e o GMA, em água-d<sub>6</sub>.

Conforme mencionado na literatura, podem ser previstas duas vias reacionais para o acoplamento DOPA-GMA: (1) abertura do anel epoxídico ou (2)

transesterificação. Deve-se considerar, para cada uma das vias de acoplamento, a possibilidade da formação de diferentes produtos. Em ambas as vias, a carboxila da DOPA se ligará à carbonila do monômero, originando um éster, cujos átomos de carbono passarão a ser diferentes, sendo um primário e outro secundário. Os produtos obtidos pela via de transesterificação serão o monômero metacrilatado e o glicícol. A Figura 7.16 apresenta alguns prováveis produtos da reação DOPA-GMA.

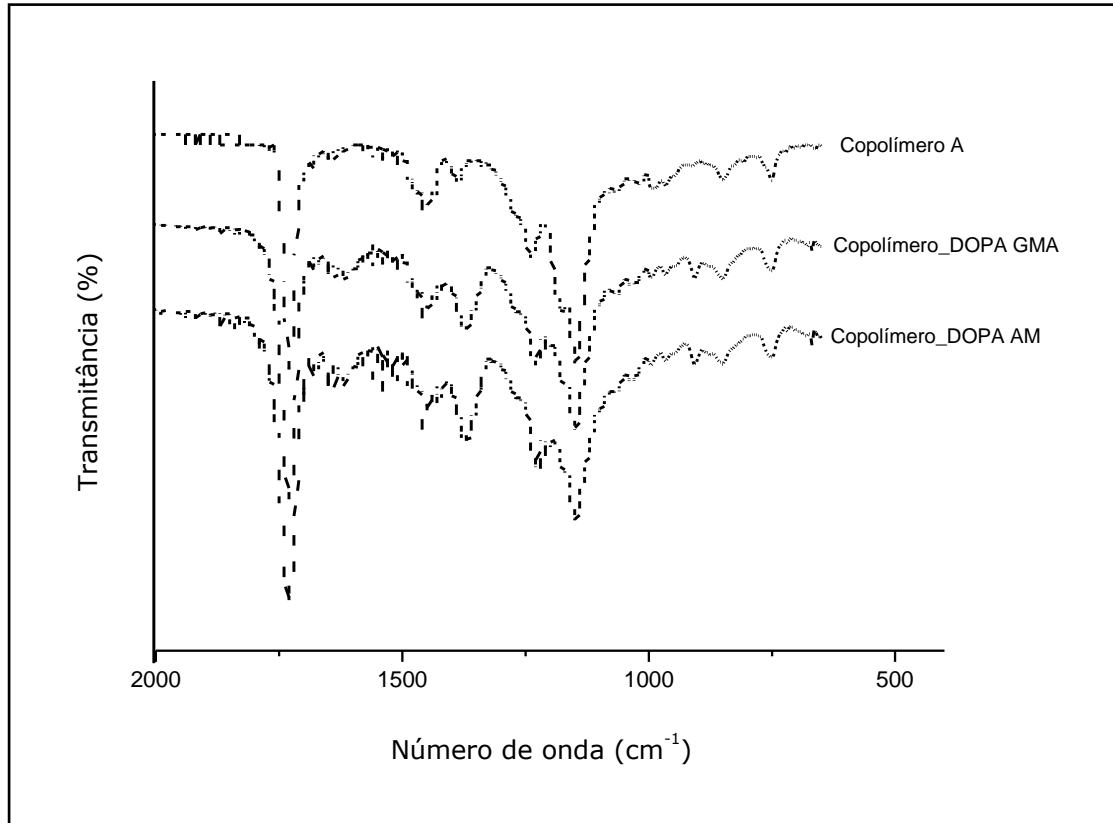


**FIGURA 7.16.** Estruturas químicas prováveis dos produtos oriundos do acoplamento DOPA-GMA, via abertura do anel epoxídico (a e b) e pela rota de transesterificação (c).

### 7.3.3. Copolimerização da DOPA modificada e caracterização por FTIR

A enxertia da DPA\_GMA no Copolímero A originou um produto leitoso, aparentemente homogêneo, de coloração cinza claro. Ao final de 1 semana, a emulsão polimérica tornou-se mais escura, indicando oxidação da DOPA. O filme preparado logo após a enxertia foi deixado secar em dessecador, a temperatura ambiente. Após 2 dias, os mesmos estavam pretos, mas íntegros revelando a possibilidade de incorporação da DOPA modificada nos polímeros acrílicos. Não puderam ser visualizadas alterações significativas nos espectros FTIR do copolímero puro e dos filmes contendo DOPA

(Figura 7.17), com exceção da região entre  $1600$  e  $1650\text{cm}^{-1}$  que dizem respeito a presença de bandas características nos espectros da DOPA pura e GMA puro (ver Figuras 7.5 e 7.6).



**FIGURA 7.17.** Espectros FTIR do Copolímero A puro e dos filmes (1 e 2) preparados por copolimerização por enxertia da DOPA 11.

#### **7.4. CONCLUSÕES**

Foram detectados alguns indícios da reação entre os monômeros e a DOPA. No entanto, não foi possível determinar se os produtos obtidos foram os monômeros metacrilatados, impurezas ou uma mistura entre os materiais de partida. O controle da reação química durante a modificação, bem como a pesquisa de impurezas devem ser melhor idealizados. O uso de técnicas de separação e identificação como espectrometria de massas acoplada à cromatografia de alto desempenho pode ser útil na elucidação das estruturas formadas. Cuidados especiais devem ser tomados ao manipular a 3,4-diidroxil-L-fenilalanina, uma vez que esta sofre oxidação quando exposta ao oxigênio ambiente, a temperatura e a valores de pH abaixo de 8. Perspectivas futuras recaem sobre o delineamento de novas rotas de incorporação dos monômeros a DOPA.

## **CAPÍTULO 8**

---

### **Conclusões Gerais**

Foi possível obter, a partir da técnica de polimerização em suspensão, excipientes sólidos, na forma de *beads*, com propriedades micromeríticas adequadas à preparação de matrizes por compressão direta.

As nanofibras de celulose atuaram como coestabilizantes e afetaram, positivamente, o tamanho e a distribuição granulométrica dos *beads* acrílicos, contribuindo para uma melhor fluidez e compressibilidade dos mesmos.

Copolímeros acrílicos foram preparados, com sucesso, pela técnica em emulsão, utilizando água como fase dispersante, reação em dois estágios, emprego de dois pares de oxirredução e uso de ultrassom, dando origem à látices polidispersos, com alto teor em sólidos, elevado potencial zeta e baixa viscosidade.

Emulsões poliméricas foram secas por liofilização originando partículas sólidas com morfologia irregular, elevado tamanho e granulometria heterogênea, o que contribuiu para a obtenção de excipientes com propriedades micromeríticas inferiores às dos *beads* BNWCs.

Apectina de baixa metoxilação foi adequadamente funcionalizada pelo metacrilato de glicidila (GMA), em meio ácido, com a introdução de duplas ligações no polissacarídeo, que foi posteriormente copolimerizado com os monômeros acrílicos.



**B**eads acrílicos, preparados via polimerização em suspensão, contendo pectina modificada pelo GMA (Pec\_GMA), apresentaram morfologia esférica e tamanho de partícula inferior a 100 µm, originando sólidos com características apropriadas ao uso como excipientes para a preparação de matrizes por compressão direta.

**C**opolímeros preparados pela técnica de polimerização em emulsão, contendo pectina modificada (EPEC) apresentaram ângulos de contato e viscosidade sinérgica aumentadas, variando conforme a quantidade de Pec\_GMA na formulação, sugerindo a possibilidade da ocorrência de mucoadesão.

**F**oram detectados indícios de reação entre os monômeros e a DOPA. Não foi possível determinar se os produtos foram monômeros metacrilatados, impurezas ou uma mistura de ambos. Cuidados devem ser tomados ao manipular a DOPA, uma vez que esta sofre oxidação quando exposta ao oxigênio ambiente, à temperatura e à valores de pH abaixo de 8.

**O** tempo de compressão, o tipo e a quantidade de excipiente empregados influenciaram nos perfis de liberação: compressão por 2 minutos, uso de excipientes baseados nos *beads* e em quantidade superiores a 48%p/p em massa das formulações, originaram perfis de liberação mais lentos.

**C**opolímeros baseados em monômeros acrílicos e metacrílicos originam excipientes capazes de formarem matrizes com maior dureza, menor porosidade, menor permeabilidade ao meio de dissolução e liberação mais lenta.

**D**e acordo com esperado, foi possível obter comprimidos matriciais, via compressão direta, a partir dos copolímeros preparados pelos processos em suspensão e em polimerização. Porém, os *beads* contendo *nanowhiskers* de celulose (Fórmula 4) e os *beads* baseados na pectina modificada (Fórmulas 7 e 8) geraram matrizes que apresentaram perfis de liberação mais adequados, sustentando a liberação por períodos de 12 horas.

**O**s modelos matemáticos que melhor representaram as cinéticas de liberação foram o de Higuchi e o de Korsmeyer-Peppas, sugerindo a liberação do fármaco por difusão, segundo a Lei de Fick. Tais modelos são comumente aplicados à SLFs orais sólidos.

**O**s ensaios preliminares de viabilidade celular, realizados pelo método do MTT, sugeriram que os *beads* puros, os *beads* BNWC, os *beads* BPEC e os Copolímeros A e B apresentaram viabilidade celular semelhante aos controles positivos, indicando que os mesmos são atóxicos e podem ser empregados no preparo de SLFs.

**A** partir dos conhecimentos em Ciências de Materiais, variando a técnica de preparo, o tipo e a quantidade de monômeros nos sistemas, foi possível desenvolver materiais com propriedades farmacêuticas adequadas à compressão direta e ao controle da liberação de fármacos, demonstrando a necessidade de maior interação entre as áreas.

**CAPÍTULO 9**

---

**Perspectivas Futuras**

## PERSPECTIVAS FUTURAS

**D**e acordo com os requerimentos das indústrias farmacêuticas, os fabricantes de polímeros estão atentos aos fatores que interferem nas necessidades de seus clientes. Um importante aspecto é a tendência mundial pela busca de produtos que não causem impacto negativo ao meio ambiente. Neste sentido, esforços têm sido investidos para a obtenção de dispersões poliméricas aquosas, em substituição às orgânicas (*solvent free*). Formulações poliméricas à base de água e polímeros sólidos vêm ganhando espaço no mercado de excipientes. Outra perspectiva que tem merecido destaque é a combinação entre polímeros sintéticos e macromoléculas naturais. Estes sistemas apresentam baixa toxicidade, boa estabilidade, baixo custo, biodegradabilidade específica e inúmeras possibilidades de modificações moleculares. A idealização de polímeros mucoadesivos, capazes de aumentar o tempo de retenção das formas farmacêuticas no organismo, é outro objetivo de grande interesse para as indústrias farmacêuticas.

Propriedades fundamentais de um sólido particulado - morfologia, tamanho, distribuição, área superficial, densidade, porosidade, morfologia - afetam a funcionalidade do excipiente, tais como fluxo, compressibilidade, potencial de diluição, sensibilidade ao lubrificante e higroscopia, entre outros. Portanto, é possível delinear materiais com propriedades manipuladas conforme cada necessidade, a partir de monômeros acrílicos e metacrílicos, dada a elevada reatividade dos mesmos. Tão relevante quanto o desenvolvimento de novos materiais, caracterizá-los adequadamente, conforme a aplicabilidade prevista, isto é, no contexto de relevância de uso para os mesmos, é de grande importância.

Neste sentido, o objetivo de desenvolver um excipiente sólido, com propriedades micromeríticas apropriadas, atóxicos e aplicáveis ao desenvolvimento

farmacotécnico de matrizes para liberação prolongada de fármacos, preparados via compressão direta, foi alcançado.

Porém, para atender aos requerimentos para uso em humanos, a caracterização e o perfil de degradação dos polímeros precisam ser bem estabelecidos. A presença de contaminantes de baixa massa molar, como antioxidantes, estabilizantes, tensoativos, iniciadores e monômeros residuais, pode comprometer a aplicabilidade dos materiais na preparação de SLFs. Qualquer novo excipiente polimérico desenvolvido, antes de permitida a sua introdução no mercado farmacêutico pelos órgãos regulatórios oficiais, deve ser submetido a várias etapas de aprovação. Além das propriedades físicas e químicas, devem ser documentados e avaliados os resultados de testes toxicológicos (*screening* toxicológico, citotoxicidade, imunotoxicidade, toxicidade aguda) e parâmetros biológicos como dose eficaz e dose letal média. Portanto, existe um longo caminho a ser percorrido até a comercialização de polímeros idealizados para aplicações farmacêuticas, tornando-se crescente a necessidade de cooperação entre áreas afins no sentido de obter materiais que atendam aos requisitos não somente da engenharia de materiais, mas, aos segmentos médico, odontológico e farmacêutico.

Assim, pretende-se, além de otimizar propriedades dos materiais obtidos, principalmente dos Copolímeros preparados pelo processo em emulsão, submeter os excipientes preparados a testes biológicos e toxicológicos, visando a aprovação dos mesmos pelos órgãos regulatórios oficiais para uso farmacêutico. Outro objetivo a ser alcançado é conseguir a transposição de escala na produção dos excipientes, visando à preparação de lotes de medicamentos em escala semi-industrial para avaliar o comportamento do material frente às variáveis a que estão sujeitos sob condições reais de produção em grande escala.

**REFERÊNCIAS**

---

Ahrabi, S.F., Madsen, G., Dyrstad, K., Sande, S.A., Graffner, C. 2000. Development of pectin matrix tablets for colonic delivery of model drug ropivacaine. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 10, 43-52.

Ai, Z., Deng, R., Zhou, Q., Liao, S., Zang, H. 2010. High solid content latex: Preparation methods and application. *Adv. Colloid. Interface Sci.* 159, 45-49.

Akhgari, A., Farahmand, F., Garekani, H.A., Sadeghi, F., Vandamme, T.F., 2006. Permeability and swelling studies on free films containing inulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. *Eur.J. Pharm. Sci.* 28, 307-314.

Alexopoulos, A. H., Kiparissides, C., 2007. On the prediction of internal particle morphology in suspension polymerization of vinyl chloride. Part I: the effect of primary particle size distribution. *Chem. Eng. Sci.* 62, 3970-3983.

Allen, L.V., Popovich, N.G., Ansel, H.C. 2005. *Ansel's pharmaceutical dosage forms.* 8th ed. Lippincot Williams & Wilkins, Baltimore.

Amidon, G.E., Peck, G.E., Block, L.H., Moreton, R.C., Katdare, A., Lafaver, R., Sheehan, C. 2007. Proposed new USP general information chapter, excipient performance <1059>. *Pharmacopeial Fórum*, 33, 3, 1311-1323.

Anderson, C.D., Daniels, E.S. 2003. Emulsion polymerisation and latex applications. *Rapra Rev. Rep.*, 14, 4, 3-31.

Apu, A.S., Pathan, A.H., Shrestha, D., Kibria, G., Jalil, R. 2008. Investigation of in vitro release kinetics of carbamazepine from Eudragit® RS PO and RL PO matrix tablets. *Trop. J. Pharmaceut. Res.* 8, 2, 145-152.

Araújo, P. H. H., Giudici, R. 2003. Optimization of semicontinuous emulsion polymerization reactions by IDP procedure with variable time intervals. *Comput. Chem. Eng.* 27, 1345-1360.

Ashokkumar, M., Grieser., Teo, B.M. F. 2008. Microemulsion polymerizations via high-frequency ultrasound irradiation. *J. Phys. Chem. B*, 112, 17, 5265-5267.

Asua, J.M. 2002. Miniemulsion polymerization. *Prog. Polym. Sci.* 27, 1283-1346.

Asua, J.M. 2004. Emulsion polymerization: from fundamental mechanisms to process

developments. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 42, 1025-1041.

Aulton, M. (Ed). 2007. *Aulton's Pharmaceuticals: the design and manufacture of medicines*. 3th ed. Elsevier, Canada.

Aveyard, R., Clint, J.H., Horozov, T.S. 2003. Aspects of the stabilization of emulsions by solid particles: effects of line tension and monolayer curvature energy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5, 11, 2398-2409.

Bachinger, A., Kikelbick, G. 2010. Pickering emulsions stabilized by anatase nanoparticles. *Monatsh. Chem.* 141, 685-690.

Bae, Y.H., Yin, H. 2008. Stability issues of polymeric micelles. *J. Control. Rel.* 131, 2-4.

Bansil, R., Turner, B.S. 2006. Mucin structure, aggregation, physiological functions. *Curr. Opin. Colloid. Interface. Sci.* 11, 164-170.

Basak, S.C., Kumar, K.S., Ramalingam, M. 2008. Design and release characteristics of sustained release tablet containing metformin HCl. *Braz. J. Pharmac. Sci.* 44, 3, 477-483.

Battacharyya, S.B., Battacharyya, I., Patro, N. 2010. Standardization and optimization of micromeretic properties of nimesulide for processing into a tablet dosage form by crystallo-co-agglomeration technology. *Asian J. Pharm.* 4, 1, 24-27.

Be Miller, J. N. (1986). An introduction to pectin: structure and properties. In: *Chemistry & Function of Pectins*. Fishman, M.L., Jen, J.J. (Eds). American Chemical Society, Washington. p. 2-12.

Becher, P. 2001. *Emulsions: Theory and Practice*. 3th ed. American Chemical Society, Washington.

Becquart, F., Taha, M., Zerroukhi, A., Kaczun, J., Stebani, U. 2003. Functionalization of a poly(vinyl alcohol) in the solid state with a swelling agent by methacrylic anhydride. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 42, 1618-1629.

Beneke, C.E., Viljoen, A.M., Hamman, J.H. 2009. Polymeric plant-derived excipients in drug delivery. *Molecules.* 14, 2602-2620.

Beneke, C.E., Viljoen, A.M., Hamman, J.H. 2009. Polymeric Plant-derived Excipients in



Drug Delivery. *Molecules*, 14, 2602-2620.

Bernal, C., Couto, A.B., Breviglieri, S.T., Cavalheiro, E.T.G. 2002. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Quím. Nova*. 25, 5, 849-855.

Bernini, R., Barontini, M., Crisante, F., Ginnasi, M.C., Saladino, R. 2009. A novel and efficient synthesis of DOPA and DOPA peptides by oxidation of tyrosine residues with IBX. *Tetrahedron Lett.* 50, 6519–6521.

Bernkop-Schnürch, A. 2005. Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57, 1569– 1582.

Bhattacharya, A., Misra, B.N. 2004. Grafting: a versatile means to modify polymers techniques, factors and applications. *Prog. Polym. Sci.* 29, 767–814.

Bhimte, N.A., Tayade, P.T. 2007. Evaluation of microcrystalline cellulose prepared from sisal fibers as a tablet excipient: a technical note. *AAPS PharmSciTech.* 8, 1, E1-E7.

Block, L.C. 2007. Desenvolvimento e caracterização de comprimidos de metformina de 500 mg de liberação imediata: efeito de aglutinantes. Itajaí: Faculdade de Farmácia da UNIVALI (Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Produtos Naturais e Substâncias Bioativas). 213p.

Bolhuis, G.K., Eissens, A.C., Adrichem, T.P., Wesselingh, J.A., Frijlink, H.W. 2003. Hollow filler–binders as excipients for direct compaction. *Pharmaceut. Res.* 20, 3, 515-518.

Boutti, S., Graillat, C., McKenna, T.F. 2004. High solids content emulsion polymerisation without intermediate seeds. Part I. Concentrated monomodal lattices. *Polymer*, 46, 1189-1210.

Bradley, M.A., Prescott, S.W., Schoonbrood, H.A.S., Landfester, K., Grieser, F. 2005. Miniemulsion copolymerization of methyl methacrylate and butyl acrylate by ultrasonic initiation. *Macromolecules.* 38, 6346-6351.

British Pharmacopoeia. 2009. Her Majesty's Stationery Office, London, CD-Rom version.

Brittain, H.G. (Ed). 1995. Physical characterization of pharmaceutical solids. Marcel Dekker, New York.

Bruschi, M. L., Jones, D.S., Panzeri, H., Gremião, M.P.D., Freitas, O., Lara, E.H.G. 2007. Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: in vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. *J. Pharm. Sci.* 96, 2074–2089.

Builders, P.F., Bonaventure, A.M., Tiwalade, A., Okpako, L.C., Attama, A.A. 2010. Novel multifunctional pharmaceutical excipients derived from microcrystalline cellulose–starch microparticulate composites prepared by compatibilized reactive polymer blending. *Int. J. Pharm.* 388, 159-167.

Burke, S.A., Ritter-Jones, M., Lee, B.P., Messersmith, P.B. 2007. Thermal gelation and tissue adhesion of biomimetic hydrogels. *Biomed. Mater.* 2, 4, 203–210.

Callens, C., Ceulemans, J., Ludwig, A., Foreman, P., Remon, J.P. 2003. Rheological study on mucoadhesivity of some nasal powder formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 55, 323-328.

Cañamero, P.F., De la Fuente, J.L., Madruga, E.L., Fernández-García, M. 2004. Atom transfer radical polymerization of glycidyl methacrylate: a functional monomer. *Macromol. Chem. Phys.* 205, 16, 2221–2218.

Cao, X., Gao, Q., Gao, P., Ding, P., Gao, Z., Sun, X. 2007. Preparation and characterization of a novel aqueous dispersion of Eudragit E for coating. *Asian J. Pharm. Sci.* 2, 1, 29-37.

Capadona, J.R., Shanmuganathan, K., Trittschuh, S., Seidel, S., Rowan, S.J., Weder, C. 2009. Polymer nanocomposites with nanowhiskers isolated from microcrystalline cellulose. *Biomacromolecules.* 10, 712–716.

Caraballo, I., Fernandez-Arevalo, M., Holgado, M.A., Rabasco, A.M. 1993. Percolation theory: application to the study of the release behavior from inert matrix systems. *Int. J. Pharmc.* 96, 175-181.

Carr, R.L. 1965. Evaluating flow properties of solids. *Chem. Eng.* 72, 163-168.

Carvalho, S., Oliveira, A., Andrade, V., Leite, M. F., Goes, A., Pereira, M. M. 2009. Comparative effect of the ionic products from bioactive glass dissolution on the behavior of cementoblasts, osteoblasts and fibroblasts. *Key Eng. Mater.* 396-398, 55-59.

Cernohous, J.J., Macosko, C.W., Hoyer, T.R. 1997. Anionic synthesis of polymers functionalized with a terminal anhydride group. *Macromolecules,* 30, 5213-5219.

Charlton, S. T., Davis, S. S., Illum, L. 2007. Evaluation of bioadhesive polymers as

delivery systems for nose to brain delivery: In vitro characterisation studies. *J. Control. Rel.* 118, 225–234.

Chen, D.T.N., Wen, Q., Janmey, P.A., Crocker, J.C., Yodh, A.G. 2010. Rheology of soft materials. *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.* 1, 301-322.

Chen, J., Davis, S.S. 2002. The release of diazepam from poly(hydroxybutyrate-hydroxyvalerate) microspheres. *J. Microencapsul.* 19, 2, 191-201.

Chen, M. 2008. Lipid excipients and delivery systems for pharmaceutical development: a regulatory perspective. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60, 768-777.

Chen, Y., Zhou, S., Li, Q. 2010. Mathematical modeling of degradation for bulk-erosive polymers: Applications in tissue engineering scaffolds and drug delivery systems. *Acta Biomater.* doi:10.1016/j.actbio.2010.09.038.

Cheremisinoff, N.P. (Ed). 1989. *Handbook of Polymer Science and Technology. Volume 1: Synthesis and Properties.* CRC Press, New York.

Chern, C.S. 2006. Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. *Prog. Polym. Sci.* 31, 443-486.

Chhabra, R.P., Richardson, J.F. 2008. *Non-Newtonian flow and applied rheology. Engineering applications.* 2th ed. Butterworth-Heinemann, Oxford.

Chourasia, M.K., Jain, S.K. 2003. Pharmaceutical approaches to colon target drug delivery systems. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 6, 1, 33-66.

Clarke's Isolation and Identification of Drugs. 2004. 2th ed, Pharmaceutical Press, London, CD-Rom version.

Conley, R., Gupta, S.K., Sathyan, G. 2006. Clinical spectrum of the osmotic-controlled release oral delivery system (OROS®), an advanced oral delivery form. *Curr. Med. Res. Opin.* 22, 10, 1879–1892.

Coviello T, Matricardi P, Marianecchi C, Alhaique F. 2007. Polysaccharide hydrogels for

Cristescu, R., Mihailescu, I.N., Stamatina, I., Doraiswamy, A., Narayan, R.J., Westwood, G., Wilker, J.J., Stafslin, S., Chisholm, B., Chrisey, D.B. 2009. Thin films of polymer mimics of cross-linking mussel adhesive proteins deposited by matrix assisted pulsed laser evaporation. *Appl. Surf. Sci.* 255, 5496–5498.

Dalsin, J.L., Hu, H., Lee, B.P., Messersmith, P.B. 2003. Mussel Adhesive Protein Mimetic Polymers for the Preparation of Nonfouling Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* 125, 4253-4258.

Dashevsky, A., Kolter, K., Bodmeier, R. 2004. Compression of pellets coated with various aqueous polymer dispersions, *Int. J. Pharm.* 279, 19–26.

Deming, T.J. 1999. Mussel byssus and biomolecular materials. *Current Opinion in Chemical Biology.* 3, 100–105.

Denizot, F.; Lang, R. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods.* 89, 2, 271-277.

Derle, D.V., Boddu, S.H.S., Shete, R.V., Gandhi P.P. 2009. Evaluation of comparative efficiency of plastic polymer in development of controlled release drug delivery system. *Arch. Pharm. Sci. & Res.* 1, 1, 175-180.

Dittgen, M., Durrani, M., Lehmann, K. 1997. Acrylic polymers: a review of pharmaceutical applications. *S.T.P. Pharma Sci.* 6, 403-437.

Dobkowski, Z. 1999. Thermal analysis techniques for characterization of polymer materials. *Polym. Degrad. Stab.* 91, 488-493.

Dodou, D., Breedveld, P., Wieringa P.A. 2006. Mucoadhesives in the gastrointestinal tract: revisiting the literature for novel applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 60, 1–16

Downing, P.J., Vincent, B. 2000. Suspension polymerisation to form polymer beads. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 161, 259-269.

Du, Y., Ma, G., Nagai, M., Omi, S. 2002. Synthesis of high solid latices by thermally initiated emulsion polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.* 85, 2478-2483.

Du, Y.Z., Hu, F.Q, Yuan, H., Omi, S. 2006. Thermal emulsion polymerization without any conventional initiators and emulsifiers. *Chin. Chem. Lett.* 17, 4, 553-556.

Dufour, M.N., Guyot, A. 2003. Nonionic reactive surfactants. I. Synthesis and characterization. *Colloid. Polym. Sci.* 281, 97–104.

Dufresne, A. 2010. Processing of polymer nanocomposites reinforced with

polysaccharide Nanocrystals. *Molecules*. 15, 4111-4128

Ebba, F., Piccerelle, P., Prinderre, P., Opota, D., Joachim, J. 2001. Stress relaxation studies of granules as a function of different lubricants. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 52, 211-220.

Egen, M., Zentel, R. 2004. Surfactant-Free Emulsion Polymerization of various methacrylates: towards monodisperse colloids for polymer opals. *Macromol. Chem. Phys.* 205, 1479–1488.

Einhorn-Stoll, U., Kunzek, H., Dongowski, G. 2007. Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. *Food Hydrocol.* 21, 1101-1112.

Elizalde-Peña, E.A., Flores-Ramirez, N., Luna-Barcenas, G., Vásquez-García, S.R., Arámbula-Villa, G., García-Gaitán, B., Rutiaga-Quiñones, J.G., González-Hernández, J. 2007. Synthesis and characterization of chitosan-g-glycidyl methacrylate with methyl methacrylate. *Eur. Polym. J.* 43, 3963–3969.

Emeje, M.O., Kunle, O., Ofoefule, S.I. 2006. Effect of the molecular size of carboxymethylcellulose and some polymers on the sustained release of theophylline from a hydrophilic matrix. *Acta Pharm.* 56, 325-335.

Erol, I., Poyraz, B., Koroğlu, M.A., Cifci, C. 2009. Copolymerization of 2-methyl-N-1,3-thiazole-2-ylacrylamide with glycidyl methacrylate: synthesis, characterization, reactivity ratios and biological activity. *J. Polym. Res.* 16, 19–28.

Eudragit® NE 30D. Evonik Röhm GmbH. Basic Info 7.6/E. [Catálogo]. Disponível em: <[http://www.higuchi-inc.co.jp/pharma/excipient/eudragit/pdf/detail\\_eudragitNE30D.pdf](http://www.higuchi-inc.co.jp/pharma/excipient/eudragit/pdf/detail_eudragitNE30D.pdf)>. Acesso em 30/10/2010.

Eudragit® NE 40D. Evonik Röhm GmbH. Basic Info 7.11/E. [Catálogo]. Disponível em: <[http://www.higuchi-inc.co.jp/pharma/excipient/eudragit/pdf/detail\\_eudragitNE40D.pdf](http://www.higuchi-inc.co.jp/pharma/excipient/eudragit/pdf/detail_eudragitNE40D.pdf)>. Acesso em 30/10/2010.

Farmacopeia Brasileira 1988. V.I Métodos Gerais. 4ª ed. Atheneu, São Paulo 1988.

Florence, A.T. and Attwood, D. 2005. *Physicochemical Principles of Pharmacy*. 4th ed. Pharmaceutical Press, New York.

Frenning, G. 2011. Modelling drug release from inert matrix systems: from moving-boundary to continuous-field descriptions. *Int. J. Pharmc.* doi:10.1016/j.ijpharm.2010.11.030.

Gal, A., Nussinovitch, A. 2009. Plasticizers in the manufacture of novel skin-bioadhesive patches. *Int. J. Pharm.* 370, 103-109.

Gao, Q., Wang, C., Liu, H., Chen, Y., Tong, Z. 2010. Dual nanocomposite multihollow polymer microspheres prepared by suspension polymerization based on a multiple Pickering emulsion. *Polym. Chem.* 1, 75-77.

Gao, Q., Wang, C., Liu, H., Wang, C., Liu, X., Tong, Z. 2009. Suspension polymerization based on inverse Pickering emulsion droplets for thermo-sensitive hybrid microcapsules with tunable supracolloidal structures. *Polymer.* 50, 2587-2594.

Gennaro, A.R. (Ed.) 2005. Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 21th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, CD-Rom version.

Georgiadou, S., Brooks, B. W. 2006. Suspension polymerization of methyl methacrylate using ammonium polymethacrylate as a suspending agent. *Chem. Eng. Sci.* 61, 6892-6901.

Ghaffari, A., Navaee, K., Oskoui, M., Bayati, K., Rafiee-Tehrani, M. 2007. Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/Eudragit® RS intended for sigmoidal drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67, 175-186.

Gohel, M.C., Jogani, P.D. 2005. A review of co-processed directly compressible excipients. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 8, 1, 73-96.

Gohsh, S., Krishnamurti N. 2000. Use of glycidyl methacrylate monomers for developing crosslinkable pressure sensitive adhesives. *Eur. Polym. J.* 36, 10, 2125-2131.

Gonnissen, Y., Remon, J.P., Vervaet, C. 2007. Development of directly compressible powders via co-spray drying. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67, 220-226.

Grassi, M., Grassi, G. 2005. Mathematical modelling and controlled drug delivery: matrix systems. *Cur. Drug Deliv.* 2, 97-116.

Guerero-Sanchez, C., Erdmenger, T., Sereda, P. Wouters, D., Schubert, U.S. 2006. Water-soluble ionic liquids as novel stabilizers in suspension polymerization reactions: engineering polymer beads. *Chem. Eur. J.* 12, 9036 - 9045,

Guerra, B.B., Furtado, Furtado, C.R.G, Coutinho, F.M.B. 2004. Avaliação reológica de elastômeros e suas composições. *Polímeros.* 14, 4, 289-294.

Guerrini, L.M., Oliveira, M.P., Branciforti, M.C., Custódio, T.A., Bretas, R.E.S. 2006.

Eletrofição do poli(álcool vinílico) via solução aquosa. *Polímeros: Ciência and Tecnologia*, 16, 4, 286-293.

Gunawan, R.C., King, J.A., Lee, B.P., Messersmith, P.B., Miller, W.M. 2007. Surface presentation of bioactive ligands in a nonadhesive background using DOPA-tethered biotinylated poly(ethylene glycol). *Languimir*, 23, 10635-10643.

Guvendiren, M., Messersmith, P.B., Shull, K.R. 2008. Self-assembly and adhesion of DOPA-modified methacrylic triblock hydrogels. *Biomacromolecules*. 9, 122-128.

Guyot, A., Chu, F., Schneider, M., Graillat, C., McKenna, T.F. 2002. High solid content latexes. *Prog. Polym. Sci.* 27, 1573-1615.

Hägerström, H. 2003. Polymer gels as pharmaceutical dosage forms: rheological performance and physicochemical interactions at the gel-mucus interface for formulations intended for mucosal drug delivery. Upsala: Acta Universitatis Upsaliensis. 76p.

Hagesaether, E., Hiorth, M., Sande, S.A. 2009. Mucoadhesion and drug permeability of free mixed films of pectin and chitosan: An in vitro and ex vivo study. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 71, 325-331.

Hagesaether, E., Sande, S.A. 2008. In vitro measurements of mucoadhesive properties of 6 types of pectin. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33, 417-425.

Hagesaether, E., Sande, S.A. 2008. In vitro mucoadhesion of pectin films, effect of type of pectin and plasticizer. *Pharm. Dev. Technol.* 13, 105-114.

Hamman, J.H.; Tarirai, C. 2006. Functional excipients. *Chim. Oggi*. 24, 57-62.

Han, T.L., Kumar, R.N., Rozman, H.D., Noor, A.M. GMA grafted sago starch as a reactive component in ultra violet radiation curable coatings. 2003. *Carbohydr. Polym.* 54, 509-516.

Handbook of Pharmaceutical Excipients. 2006. 5th ed. American Pharmaceutical Society of Great Britain, Washington, CD-Rom version.

Harding, T.S., Davis, S.S., Deacon, M.P., Fiebrig, I. 1999. Biopolymer mucoadhesives. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 16, 41-86.

Hashim, S., Brooks, B.W. 2002. Drop mixing in suspension polymerisation. *Chem.*

Eng. Sci. 57, 3703-3714.

Hashim, S., Brooks, B.W. 2004. Mixing of stabilised drops in suspension polymerisation. Chem. Eng. Sci. 59, 2321-2331.

Hassan, E.E., Gallo, J.M. 1990. A simple rheological method for the invitro assessment of mucin-polymer bioadhesive bond strength. Pharm. Res. 7, 491-495.

Hatakeyama, T., Quinn, F.X. 1999. Thermal analysis fundamentals and applications to polymer science. 2th ed. Jhon Wiley & Sons, New York.

Hausner, H. 1967. Friction conditions in a mass of metal powder. Int. J. Powder Metall. 3, 4, 7-13.

Haware, R.V., Tho, I., Bauer-Brandl, A. 2010. Evaluation of a rapid approximation method for the elastic recovery of tablets. Powder Tech. 202, 71-77.

He, X.D., Ge, X.W., Liu, H.R., Zhou, H.X., Zhang, Z.C. 2007. Self-assembly of latex particles at droplet interface to prepare monodisperse emulsion droplets. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp. 301, 80-84.

He, Y., Howes, T., Litster, J., Ko, G. H. 2002. Experimental study of drop-interface coalescence in the presence of polymer stabilizers. Physicochem. Engng. Aspects 207, 89-104.

Hirota, W.H., Reis, M.M., Sayer, C., Giudici, R., Araújo, P.H.H. 2004. Efeitos da temperatura e do tipo de iniciador na redução do teor de monômero residual durante reações de copolimerização em emulsão. Polímeros: Ciência and Tecnologia, 14, 1, 51-54.

Hlinak, A.J., Kuriyan, K., Morris, K.L., Reklaitis, G.V., Basu, P.K. 2006. Understanding critical material properties for solid dosage form design. J. Pharm. Innov. 1, 1, 12-17.

Hongqiang, L., Xingrong, Z., Jianhua, G. 2010. Epoxidation of styrene-isoprene-styrene block copolymer and research on its reaction mechanism. Journal of Wuhan University of Technology - Mater. Sci. Ed. 25, 3, 403-407.

Hu, H., Johnston, K.P., Williams, R.O. 2004. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs. Drug Dev. Ind. Pharm. 30, 233-245.

Huang, Y., Leobandung, W., Foss, A., Peppas, N.A. 2000. Molecular aspects of muco- and bioadhesion: tethered structures and site-specific surfaces. J. Control. Release.



65, 63–71.

Immanuel, C.D., Wang, Y., Bianco, N. 2008. Feedback controllability assessment and control of particle size distribution in emulsion polymerisation. *Chem. Eng. Sci.* 63, 1205 – 1216

Ishikawa, Y., Katoh, Y., Ohshima, H. 2005. Colloidal stability of aqueous polymeric dispersions: effect of pH and salt concentration. *Colloids Surf. B: Bioint.* 42, 53–58.

Jahanzad, F., Sajjadi, S., Brooks, B.W. 2005. Comparative study of particle size in suspension polymerization and corresponding monomer-water dispersion. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44, 4112-4119.

Jahanzad, F., Sajjadi, S., Yianneskis, M., Brooks, B.W. 2008. In situ mass-suspension polymerization. *Chem. Eng. Sci.* 63, 4412 – 4417.

Jain, A., Gupta, Y., Jain, S.K. 2007. Perspectives of biodegradable natural polysaccharides for site-specific drug delivery to the colon. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* 10, 1, 86-128.

Jain, M., Vora, R.A., Satpathy, U.S. 2003. Kinetics of emulsion copolymerization of methylmethacrylate and ethylacrylate: effect of type and concentration of initiator in unseeded polymerization system. *European Polymer J.* 39, 2069-2076.

Jivraj, M.; Martini, L.G.; Thomson, C.M. 2000. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharm. Sci. Technol. Tod.* 3, 2, 58-63.

Karbowiak, T., Debeaufort, F., Voilley, A. 2006. Importance of surface tension characterization for food, pharmaceutical and packaging products: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46, 391-407.

Ke, W., Hsu, T., Ho, H., Sheu, M. 2006. Physical and chemical characterization of ambroxol SR matrix tablets containing melt-coated granules of ambroxol with Compritol® 888. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1, 35-42.

Khan, G. M. 2001. Controlled release oral dosage forms: some recent advances in matrix type drug delivery systems. *Science*, 1, 5, 350-354.

Khan, M.A., Reddy, I.K. 1997. Controlled drug delivery: development of solid oral dosage forms with acrylate polymers. *S.T.P. Pharm..Sci.* 7, 6, 483-490.

Khunawattanakul, W., Puttipipatkachorn, S., Rades, T., Pongjanyakul, T. 2008. Chitosan–magnesium aluminum silicate composite dispersions: Characterization of

rheology, flocculate size and zeta potential. *Int. J. Pharm.* 161, 149–159.

Kichatov, B. V., Korshunov, A.M., Assorova, P. V. 2003. Particle size distribution of the product of suspension polymerization. *Theor. Found. Chem. Eng.* 37, 306-307.

Kim, H., Venkatesh, G., Fassihi, R. 1998. Compactibility characterization of granular pectin for tableting operation using a compaction simulator. *Int. J. Pharm.* 161, 149–159.

Kim, J., Lee, D., Shum, H.C., Weitz, D.A. 2008. Colloid surfactants for emulsion stabilization. *Adv. Mater.* 20, 3239–3243.

Kim, S., Kima, J., Jeon, O., Kwon, I.C., Park, K. 2009. Engineered polymers for advanced drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 71, 3, 420-430.

Klein, S. Polysaccharides in Oral Drug Delivery – Recent Applications and Future Perspectives. In: *Polysaccharide Materials: Performance by Design*. Edgar, K. et al. (Eds). American Chemical Society, Washington. p.13-30.

Kotoulas, C., Kiparissides, C. 2006. A generalized population balance model for the prediction of particle size distribution in suspension polymerization reactors. *Chem. Eng. Sci.* 61, 332-346.

Krishnaiah, Y.S.R., Styanarayana, S. 2000. Colonspecific drug delivery systems. In: Jain, N.K. (ED). *Advances in Controlled and Novel Drug Delivery*. CBS Publishers and Distributors, New Delhi. P. 89-119.

Kuentz, M., Leuenberger, H. 2000. A new model for the hardness of a compacted particle system, applied to tablets of pharmaceutical polymers. *Powder Technol.* 111, 145–153.

Külkamp, I.C., Paese, K., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R. 2009. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. *Quim. Nova*, 32, 8, 2078-2084.

Kumar, A.P., Depan, D., Tomer, N.S., Singh, R.P. Nanoscale particles for polymer degradation and stabilization - Trends and future perspectives. 2009. *Prog. Polym. Sci.* 34, 479–515.

Kurita, O., Fujiwara, T., Yamazaki, E. 2008. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. *Carbohydr. Polym.* 74, 725-730.

Lai, S.K., Wang, Y., Hanes, J. 2009. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and

gene delivery to mucosal tissues. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61, 158-171.

Land, E. J., Ramsden, C. A., Riley, P. A. 2003. Tyrosinase autoactivation and the chemistry of ortho-quinone amines. *Acc. Chem. Res.* 36, 300-308.

Landfester, K. 2002. On the stability of liquid nanodroplets of polymerizable miniemulsions. *J. Disp. Sci. Technol.* 23, (1-3), 167-173.

Landfester, K. 2006. Synthesis of colloidal particles in miniemulsions. *Annu. Rev. Mater. Res.* 36, 231-279.

Landfester, K., Eisenblätter, J., Rothe, R. 2004. Preparation of polymerizable miniemulsions by ultrasonication. *JCT Research.* 1, 1, 65-68.

Lao, L.L., Peppas, N.A., Boey, C.F.Y., Venkatraman, S.S. 2011. Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. *Int. J. Pharm.* doi:10.1016/j.ijpharm.2010.12.020

Larpernt, C. 2003. Microemulsion Polymerization: A Way to Synthesize Well-Defined Highly Functionalized Nanoparticle. In: Elaissari, A. (Ed). *Colloidal Polymers: Synthesis and Characterization.* Marcel Dekker, New York.

Lee, B., Dalsin, J.L., Messersmith, P.B. 2002. Synthesis and gelation of DOPA-modified poly(ethylene glycol) hydrogels. *Biomacromolecules.* 3, 1038-47.

Lee, B., Dalsin, J.L., Messersmith, P.B. 2006. Biomimetic adhesive polymers based on mussel adhesive proteins. In: Smith, A.M. & Callow, J.A. (Ed.) *Biological Adhesives.* Springer, Berlin.

Lee, B.P., Chao, C., Nunalee, F.N., Motan, E., Shull, K.R., Messersmith, P.B. 2006. Rapid gel formation and adhesion in photocurable and biodegradable block copolymers with high DOPA content. *Macromolecules.* 39, 1740-1748.

Lee, B.P., Huang, K., Nunalee, F.N., Shull, K.R., Messersmith, P.B. 2004. Synthesis of 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) containing monomers and their copolymerization with PEG-diacrylate to form hydrogels. *J. Biomater. Sci.* 15, 449-64.

Lee, H., Dellatore, S.M., Miller, W.M., Messersmith, P.B. 2007b. Mussel-inspired surface chemistry for multifunctional coatings. *Science.* 318, 426-430.

Lee, H., Lee, B.P., Messersmith, P.B. 2007a. A reversible wet/dry adhesive inspired by

mussels and geckos. *Nature*. 448, 19, 338-342.

Li, Q., Wang, D., Elisseeff, J.H. 2003. Heterogeneous-phase reaction of glycidyl methacrylate and chondroitin sulfate: mechanism of ring-opening-transesterification competition. *Macromolecules*. 36, 2556-2562.

Li, Q., Zhou, J., Zhang, L. Structure and Properties of the nanocomposite Films of Chitosan Reinforced with Cellulose Whiskers. 2009. *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* 47, 1069-1077.

Li, X., Jasti, B.R. 2006. Design off controlled release drug delivery systems. McGraw Hill, New York.

Linden, S.K., Sutton, P., Karlsson, N.G., Korolik, V., Mcguckin, A. 2008. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol.* 1, 3, 183-197.

Lionzo, M.I.Z. 2006. Micropartículas de PHBHV e blendas de PHBHV:PCL contendo dexametasona ou acetato de dexametasona como modelos de fármacos: caracterização físico-química e perfis de liberação in vitro. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia da UFRGS (Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 125p.

Liu, L., Fishman, M.L., Hicks, K.B., Kende, M. 2005. Interaction of various pectin formulations with porcine colonic tissues. *Biomaterials*. 26, 5907-5916.

Ma, H., Luo, M., Sanyal, S., Rege, K., Dai, L.L. 2010. The one-step pickering emulsion polymerization route for synthesizing organic-inorganic nanocomposite particles. *Materials*. 3, 1186-1202.

Macosko, C. W. 1994. *Rheology: Principles, Measurements and Applications*. Wiley-VCH, New York.

Maggioris, D., Goulas, A., Alexopoulos, A. H., Chatzi. E. G., Kiparissides, C. 2000. Prediction of particle size distribution in suspension polymerization reactors: effect of turbulence nonhomogeneity. *Chem. Eng. Sci.* 55, 4611-4627.

Malvern Instruments. 2004. *Zeta Sizer Nano Series - User Manual Nano 317*. England. 270 p.

Malvern. 2007. *Characterisation of polymers using light scattering techniques*. Technical Note.

Malvern. 2009. *Characterisation of polymers using light scattering techniques*.

Technical Note.

Manadas, R., Pina, M.E., Veiga, F. 2002. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Rev. Bras. Ciênc. Farmac.*, 38, 4, 375-399.

Mangiacapra, P., Gorrasi, G., Sorrentino, A., Vittoria, V. 2006. Biodegradable nanocomposites obtained by ball milling of pectin and montmorillonites. *Carbohydr. Polym.* 64, 516-523.

Manrique, G.D., Lajolo, F.M. 2002. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 25, 90-107.

Mariz, I.F., Cal, J.C., Leiza, J.R. 2010. Control of particle size distribution for the synthesis of small particle size high solids content latexes. *Polymer*, 51, 4044-4052.

Mark, F.M. (Ed). 2003. *Encyclopedia of polymer science and technology*. 3th ed. Jhon Wiley & Sons, New York, 1, 79-99.

Marschütz, K., Bernkop-Schnürch, A. 2002. Thiolated polymers: self-crosslinking properties of thiolated 450 kDa poly(acrylic acid) and their influence on mucoadhesion. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15, 387-394.

Martindale: The complete drug reference. 37th ed. Pharmaceutical Press, London, 2007. CD-Rom version.

Martines, M.A.U., Davolos, M.R., Júnior, M.J. 1999. O efeito do ultrassom em reações químicas. *Quim. Nova.* 23, 2, 251-256.

Martínez, L., Villalobos, R., Sánchez M., Cruz, J., Ganem, A., Melgoza, L. M. 2009. Monte Carlo simulations for the study of drug release from cylindrical matrix systems with an inert nucleus. *Int. J. Pharm.* 369, 38-46.

May, C.A. *Epoxy resins, chemistry and technology*. 2th ed. Marcel Dekker, New York. 1988.

Mehrgan, H., Mortazavia, S.A. 2005. The release behavior and kinetic evaluation of diltiazem hcl from various hydrophilic and plastic based matrices. *Iran. J. Pharmac. Res.* 3, 137-146.

Mesquita, J.P., Donnici, C.L., Pereira, F.V. 2010. Biobased nanocomposites from layer-by-layer assembly of cellulose nanowhiskers with chitosan. *Biomacromolecules.* 11,

473–480.

Mishra, R.K., Anis, A., Mondal, S., Dutt, M., Banthia, A.K. 2009. Preparation and characterization of amidated pectin based polymer electrolyte membranes. *Chinese J. Polym. Sci.* 27, 5, 639-646.

Mishra, R.K., Datt, M., Banthia, A.K. 2008. Synthesis and characterization of pectin/PVP hydrogel membranes for drug delivery system. *AAPS PharmSciTech*, 9, 2, 395-403.

Morishita, C., Kawaguchi, M. 2009. Rheological and interfacial properties of Pickering emulsions prepared by fumed silica suspensions pre-adsorbed poly(N-isopropylacrylamide). *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 335, 138–143.

Mortazavi, S.A., Smart, J.D. 1995. An investigation of some factors influencing the in-vitro assessment of mucoadhesion. *Int. J. Pharm.* 116, 223– 230.

Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* 65, 55–63.

Murphy, J.L., Vollenweider, L., Xu, F., Lee, B.P. 2010. Adhesive performance of biomimetic adhesive-coated biologic scaffolds. *Biomacromolecules.* 11, 2976–2984.

Nemen, D., Lemos-Senna, E. 2011. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. *Quím. Nova.* In press.

Niazi, S.K. 2009. Handbook of pharmaceutical manufacturing formulations. Handbook of pharmaceutical manufacturing formulations: compressed solid products. 2a ed. Informa Health Care, New York.

Odian, G. 2004. Principles of polymerization. 4th ed. John Wiley and Sons, New York.

Ojoe, E., Myauchi, M.E., Kaneko, T.M., Velasco, M.V.R., Consiglieri, V.O. 2005. In vitro evaluation of theophylline Eudragit® controlled release tablets containing theophylline. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 43, 71-79.

Olenick, A.J. 2005. Properties of surfactants: emulsions. *Cosmetics and Toiletries*, 120, 12, 91-102.

Olenick, A.J. 2005. Properties of surfactants: wetting. *Cosmetics and Toiletries*, 120,

7, 43-50.

Ostroski, A.S., Stambaugh, R.B. 1950. Emulsion polymerization with ultrasonic vibration. *J. Appl. Phys.* 21, 478-482.

Ozawa, T. 2000. Thermal analysis - review and prospect. *Thermochim. Acta.* 355, 35-42.

Ozturk, T., Cakmak, I. 2007. Synthesis of block copolymers via redox polymerization process: a critical review. *Iran. Polym. J.* 16, 8, 561-581.

Paese, K. 2008. Desenvolvimento tecnológico, estudo de fotoestabilidade e avaliação da permeação cutânea in vitro da benzofenona-3 a partir de nanocápsulas incorporadas em diferentes veículos semissólidos. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia da UFRGS (Dissertação, Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 213p.

Palma M., Giudici, R. 2006. Copolimerização em emulsão de acetato de vinila e acrilato de butila com alto teor de sólidos. *Polímeros: Ciência and Tecnologia*, 16, 4, 269-275.

Palmieri, G.F., Joiris, E., Bonacucina, G., Cespi, M., Mercuri, A. 2005. Differences between eccentric and rotary tablet machines in the evaluation of powder densification behaviour. *Int. J. Pharmac.* 298, 164-175.

Papov, V.V., Diamond, T.V., Biemann, K., Waite, J.H. 1995. droxyarginine-containing polyphenolic proteins in the adhesive plaques of the marine mussel *Mytilus edulis*. *270, 34, 20183-20192.*

París, R., Mosquera, B., Fuente, J.L. 2008. Atom transfer radical copolymerization of glycidyl methacrylate and allyl methacrylate, two functional monomers. *Eur. Pol. J.* 44, 2920-2926.

Park, T., Kim, J., Kim, J., Park, H., Choi, S., Kim, Y. 2008. Characterization of melanin-TiO<sub>2</sub> complexes using FT-IR and <sup>13</sup>C solid-state NMR spectroscopy. *Bull. Korean Chem. Soc.* 29, 12, 2459-2464.

Parojčić, J., Đurić, Z., Jovanović, M. Ibrić, S. 2004. An Investigation into the factors influencing drug release from hydrophilic matrix tablets based on novel Carbomer polymers. *Drug Deliv.* 11, 1, 59-65.

Patel, M.V., Dolia, M.B., Patel, J.N., Patel, R.M. 2005. Synthesis and characterization of novel acrylic copolymers: determination of monomer reactivity ratios and biological

activity. *React. Funct. Polym.* 65, 195–204.

Patel, N., Patel, J., Gandhi, T., Soni, T., Shah, S. 2008. Novel pharmaceutical approaches for colon-specific drug delivery: an overview. *Journal of Pharmacy Research*, 1, 1, 2-10.

Patel, R., Patel, H., Patel, G. 2010. Optimization of propranolol hydrochloride controlled release matrix tablet using factorial design. *Pharmac. Sci.* 1, 10, 1-14.

Pei, A., Zhou, Q., Berglund, L.A. 2010. Functionalized cellulose nanocrystals as biobased nucleation agents in poly(L-lactide) (PLLA) – Crystallization and mechanical property effects. *Compos. Sci. Technol.* 70, 815–821.

Peppas, N. A. 1985. Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta Helv.* 60, 110-111.

Peppas, N. A., Huang, Y. 2004. Nanoscale technology of mucoadhesive interactions. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 56, 1675–1687.

Perez-Marcos, B., Iglesias, R., Gomez-Amoza, J.L., Martinez-Pacheco, R., Souto, C., Concheiro, A. 1991. Mechanical and drug-release properties of atenolol–Carbomer hydrophilic matrix tablets. *J. Control. Rel.* 17, 267–276.

Petersson, L., Kvien, I., Oksman, K. 2007. Structure and thermal properties of poly(lactic acid)/cellulose whiskers nanocomposite materials. *Compos. Sci. Technol.* 67, 2535–2544.

Petersson, L., Mathew, A.P., Oksman, K. 2009. Dispersion and properties of cellulose nanowhiskers and layered silicates in cellulose acetate butyrate nanocomposites. 2009. *J. Appl. Polym. Sci.* 112, 2001–2009.

Pezzini, B.R., Silva, M.A.S. Ferraz, H.G. 2007. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. *Rev. Bras. Ciênc. Farmac.* 43, 4, 491-502.

Pickering, S.U. 1907. Emulsions. *J. Chem. Soc.* 91, 2001–2021.

Pifferi, G., Restani, P. 2003. The safety of pharmaceutical excipients. *Il Farmaco.* 58, 541-550.

Pifferi, G., Santoro, P., Pedrani, M. 1999. Quality and functionality of excipients. *Il*



Fármaco. 54, 1-14.

Porras, M., Solans, C., González, C., Martínez, A., Guinart, A., Gutiérrez, J.M. 2004. Studies of formation of W/O nano-emulsions. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 249, 215-218.

Proietti, N., Amato, M.E., Masci, G., Segre, A.L. 2002. Polyelectrolyte/surfactant interaction. *Macromolecules*, 35, 11, 4365-4372.

Quental, A.C., Carvalho, F.P., Tada, E.S., Felisberti, M.I. 2010. Blendas de PHB e seus copolímeros: miscibilidade e compatibilidade. *Qím. Nova*, 33, 2, 438-446.

Rathbone, M.J. 2008. *Modified-release drug delivery technology*. 2th. Informa Health Care, New York.

Ravi, V., S., Kumar, T.M.P. 2008. Influence of natural polymer coating on novel colon targeting drug delivery system. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 19, 2131-2136.

Rawle, A. 2003. Basic of principles of particle-size analysis. *Surf. Coat. Intern. Part A, Coat. J.* 86, 2, 58-65.

Reis, A.V., Cavalcanti, O.A., Rubira, A.F., Muniz, E.C. 2003. Synthesis and characterization of hydrogels formed from a glycidyl methacrylate derivative of galactomannan. *Int. J. Pharm.* 267, 13-25.

Reis, A.V., Fajardo, A.R., Schuquel, I.T.A., Guilherme, M.R., Cavalcanti, O.A., Vidotti, G.J., Rubira, A.F., Muniz, E.C. 2009. Reaction of glycidyl methacrylate at the hydroxyl and carboxylic groups of poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid): is this reaction mechanism still unclear? *J. Org. Chem.* 74, 3750-3757.

Reis, A.V., Guilherme, M.R., Cavalcanti, O.A., Rubira, A.F., Muniz, E.C. 2006. Synthesis and characterization of pH-responsive hydrogels based on chemically modified Arabic Gum polysaccharide. *Polymer*, 47, 6, 2023-2029.

Reza, M.S., Quadir, M.A., Haider, S.S. 2002. Development of theophylline sustained release dosage form based on Kollidon® SR. *Pak. J. Pharm Sci.* 15, 63-70.

Reza, S., Quadir, M.A., Haider, S.S. 2003. Comparative evaluation of plastic, hydrophobic and hydrophilic polymers as matrices for controlled-release drug delivery. *J. Pharm. Pharmac. Sci.* 6, 2, 282-291.

Riddle, E.H. 1954. Monomeric acrylic esters. Reinhold Publishing Co., New York.

Rossi, S., Ferrari, F., Bonferoni, M. C., Caramella, C. 2001. Characterization of chitosan hydrochloride–mucin rheological interaction: influence of polymer concentration and polymer:mucin weight ratio. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12, 479–485.

Sacanna, S., Kegel, W.K., Philipse, A.P. 2007. Thermodynamically Stable Pickering Emulsions. *Phys. Rev. Lett.* 98, 1-4.

Sackett, C.K., Narasimhan, B. 2010. Mathematical modeling of polymer erosion: consequences for drug delivery. *Int. J. Pharm.* doi:10.1016/j.ijpharm.2010.11.048.

Safa, K.D., Nasirtabrizi, M.H. 2006. Ring opening reactions of glycidyl methacrylate copolymers to introduce bulky organosilicon side chain substituents. *Polym. Bull.* 57, 293–304.

Sajjadi, S. 2006. Effect of mixing protocol on formation of fine emulsions. *Chem. Eng.Sci.* 61, 3009-3017.

Sajjadi, S., Jahanzad, F., Yianneskis, M. 2004. Catastrophic phase inversion of abnormal emulsions in the vicinity of the locus of transitional inversion. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 240, 149–155.

Samyn, P., Rühle, J., Biesalski, M. 2010. Polymerizable biomimetic vesicles with controlled local presentation of adhesive functional DOPA groups. *Languimir.* 1, 26, 8573-81.

Sandolo, C., Coviello, T., Matricardi, P., Alhaique, F. 2007. Characterization of polysaccharide hydrogels for modified drug delivery. *Eur. Biophys. J.* 36, 693–700.

Santos, J.C., Lopes, C.N., Reis, M.M, Giudici, R., Sayer, C., Machado, R.A.F., Araújo, P.H.H. 2008. Comparison of techniques for the determination of conversion during suspension polymerization reactions. *Braz. J. Chem. Eng.* 25, 2, 399-407.

Sapozhnikov, D.A., Volkova, T.V., Sakharova, A.A., Gasanov, R.G., Voytekunas, V.Y., Abadie, M.J.M., Sanchez, J., Vygodskii, Y.S. 2008. Photopolymerization of (meth)acrylates in the presence of polyheteroarylenes. *Polym. Sci. Ser. B*, 51, 1-2, 1-12.

Sapozhnikov, D.A., Volkova, T.V., Sakharova, A.A., Gasanov, R.G., Voytekunas, V.Y., Abadie, M.J.M., Sanchez, J., Vygodskii, Y.S. 2009. Copolymers formation by photopolymerization of (meth)acrylates containing dissolved polyheteroarylenes. *Int.*

J. Pol. Sci. doi:10.1155/2009/527046

Saravanan, M., Sri, K.N., Ganesh, K.S. 2002. The effect of tablet formulation and hardness on in vitro release of cephalexin from Eudragit L 100 based extended release tablets. *Biol. Pharm. Bull.* 25, 4, 541–545.

Sarisuta, N., Mahahpant, P. 1994. Effects of compression force and type of fillers on release of diclofenac sodium from matrix tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, 1049–1061.

Schmidgall, J., Hensel, A. 2002. Bioadhesive properties of polygalacturonides against colonic epithelial membranes. *Int. J. Biol. Macromol.* 30, 217–225.

Schneider, M., Claverie, J., Guyot, A., McKenna, T.F. 2002. High solids content emulsions. I. A study of the influence of the particle size distribution and polymer concentration on viscosity. *J. Appl. Polym. Sci.* 84, 10, 1878–1896.

Schneider, M., Graillat, C., Guyot, A., Betre-Mieux, I. McKenna, T.F. 2002. High solids content emulsions. IV. improved strategies for producing concentrated latices. *J. Appl. Polym. Sci.* 84, 1935–1948.

Schossler, P. 2001. Caracterização química de materiais pictóricos artísticos: acrílicos e vinílicos. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Exatas da UFMG (Dissertação, Mestrado em Química - Química Orgânica). 152p.

Schüssele, A., Bauer-Brandl, A. 2003 Note on the measurement of flowability according to the European Pharmacopoeia. *Int. J. Pharm.* 257, 301–304.

Scott, D. M. 2008. Industrial process sensors. CRC Press, New York.

Semdé, R., Amighi, K., Devleeschouwer, M.J., Moës, J.A. 2000. Studies of pectin HM:Eudragit® RL:Eudragit® NE film-coating formulations intended for colonic drug delivery. *Int. J. Pharm.* 197, 181-192.

Shanthi C, Panduranga Rao K. 2001. Chitosan modified poly(glycidyl methacrylate-butyl acrylate) copolymer grafted bovine pericardial tissue-anticalcification properties. *Carbohydr. Polym.* 44, 2, 123–131.

Shekunov, B.Y., Chattopadhyay, P., Tong, H.H.Y., Chow, A.H.L. 2007. Particle Size Analysis in Pharmaceutics: Principles, Methods and Applications. *Pharmac. Res.*, 24, 2, 203-227.

Siepmann, F., Siepmann, J., Walther, M., MacRae, R.J., Bodmeier, R. 2008. Polymer

blends for controlled release coatings. *J. Control. Release.* 125, 1–15.

Siepmann, J., Peppas, N.A. 2001. Modelling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 48, 2-3, 139-157.

Siepmann, J., Siepmann, F. 2008. Mathematical modeling of drug delivery. *Int. J. Pharm.* 364, 328–343.

Silva, E.C., Paola, M.V.R.V., Matos, J.R. 2007. Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Braz. J. Pharm. Sci.* 43, 3, 347-356.

Silva, L., Tonkovich, A.T., Qiu, D., Neagle, P., Pagnatto, K., Perry, S. 2005. Enabling advanced emulsions in microchannel architecture. *Cosmetics and Toiletries*, 120, 8, 41-46.

Silva, R., Haraguchi, S.K., Muniz, E.C., Rubira, A.F. 2009. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Quim. Nova.* 32, 3, 661-671.

Silverstein R.M., Webster F.X., Kiemle, D. 2005. Spectrometric identification of organic compounds. 7th ed. Jhon Wiley & Sons, New York.

Sinha, V. R., Kumria, R. 2001. Polysaccharides in colonspecific drug delivery. *Int. J. Pharm.* 224, 19-38.

Sinko, P.J. 2006. Martin's physical Pharmacy and Pharmaceutical sciences. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Smart, J.D. 2005. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57, 1556-1568.

Solans, C. Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcia-Celma, M.J. 2005. Nano-emulsions. *Curr. Opin. Colloid. Interface Sci.* 10, 102-110.

Sonntag, R.C. 1988. Hydrophilic-lipophilic balance system and the emulsification of coatings components. *J. Coating Technol.* 60, 57, 53-61.

Souto-Maior, J.F.A., Reis, A.V., Muniz, E.C., Cavalcanti, O. A. 2008. Reaction of pectin and glycidyl methacrylate and ulterior formation of free films by reticulation. *Int. J. Pharm.* 355, 184-194.

Souto-Maior, J.F.A., Reis, A.V., Pedreiro, L.N., Cavalcanti, O.A. 2009. Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: preparation and physicochemical characterization. *Polym. Int.* 59, 127–135.

Sriamornsak, P. 2003. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. *SUIJ.* 3, 206-228.

Sriamornsak, P., Wattanakorn, N. 2008. Rheological synergy in aqueous mixtures of pectin and mucin. *Carbohydr. Polym.* 74, 3, 474–481.

Sriamornsak, P., Wattanakorn, N., Nunthanid, J., Puttipipatkachorn, S. 2008. Mucoadhesion of pectin as evidence by wettability and chain interpenetration. *Carbohydr. Polym.* 74, 3, 458-467.

Statz, A.R., Meagher, R.J., Barron, A.E., Messersmith, P.B. 2005. New peptidomimetic polymers for antifouling surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 7972-7973.

Streubel, A., Siepmann, J., Bodmeier, R. 2006. Gastroretentive drug delivery systems. *Expert. Opin. Drug Deliv.* 3, 2, 217-233.

Sullivan, C.I., Mallios, P.D. Polymer latex. United States Patent 3244655. 1966.

Svensson, O., Asnebrant, T. 2010. Mucin layers and multilayers — Physicochemical properties and applications. *Curr. Opin. Colloid. Interface. Sci.* 15, 395-405.

Swarbrick, J. 2007. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3<sup>th</sup> ed. Informa Healthcare, New York, CD-Rom version.

Synytsya, A., Čopíková, J., Matějka, P., Machovič, V. 2003. Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydr. Polym.* 54, 97-106.

Tadros, T. 2009. Polymeric surfactants in disperse systems. *Adv. Colloid Interface Sci.* 147, 148, 281-299.

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv. Colloid. Interface Sci.* 108-109, 303-318.

Takao, Y., Miyagawa, N., Takahara, S., Yamaoka, T. 1999. Cyclized copolymer of methacrylic anhydride and an application to photoresist with photo-acid generator. *J. Polym. Sci. Technol.* 12, 5, 769-772.

Tanaka, Y., Gong, J.P., Osada, Y. 2005. Novel hydrogels with excellent mechanical performance. *Prog. Polym. Sci.* 30, 1–9.

Tang, S., Martinez, L.J., Sharma, A., Chai, M. 2006. Synthesis and characterization of water-soluble and photostable L-DOPA dendrimers. *Org. Lett.* 8, 20, 4421-4424.

Tarducci, C., Kinmond, E.J., Badyal, J.P.S. 2000. Epoxide-functionalized solid surfaces. *Chem. Mater.* 12, 1884-1889.

Tarimala, S., Ranabothu, S.R., Verneti, J.P., Dai, L.L. 2004. Mobility and in situ aggregation of charged microparticles at oil-water interfaces. *Langmuir*, 20, 5171–5173.

Teo, B.M., Grieser, F., Ashokkumar, M. 2009. High intensity ultrasound initiated polymerization of butyl methacrylate in mini- and microemulsions. *Macromolecules*, 42, 4479–4483.

Teo, B.M., Prescott, S.W., Ashokkumar, M., Grieser, F. 2008. Ultrasound initiated miniemulsion polymerization of methacrylate monomers. *Ultrason. Sonochem.* 15, 1, 89-94.

Thirawong, N., Kennedy, R. A., Sriamornsak, P. 2008. Viscometric study of pectin–mucin interaction and its mucoadhesive bond strength. *Carbohydr. Polym.* 71, 2, 170–179.

Thirawong, N., Nunthanid, J., Puttipipatkachorn, S., Sriamornsak, P. 2007. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: an in vitro evaluation using texture analyzer. *Eur. J. Pharmac. Biopharmac.* 67, 1, 132–140.

Torrado, J.J., Illum, L., Davis, S.S. 1989. Particle size and size distribution of albumin microspheres produced by heat and chemical stabilization. *Int. J.Pharm.* 51, 85–93.

Tynan, J.F., Merken, H. 1965. Analytical and quality control methods for emulsion polymers. In: *Proceedings of the 51st Mid-Year Meeting of the Chemical Specialties Manufacturers Association*, New York. 1-5.

Uchegbu, I., Schatzlein, A. (Eds). 2006. *Polymers in drug delivery*. CRC Press, Boca Raton.

United States Pharmacopeia 32, National Formulary 27. 2009. 32<sup>th</sup> ed. United States Pharmacopeial Convention Rockville, CD-Rom version.

Vaidya, B.K., Karale, A.J., Suthar, H.K., Ingavle, G., Pathak, T.S., Ponrathnam, S., Nene, S. 2007. Immobilization of mushroom polyphenol oxidase on poly(allyl glycidyl ether-co-ethylene glycol dimethacrylate) macroporous beaded copolymers. *Reac. Funct. Polym.* 67, 905-915.

Vale, H.M., McKenna, T.F. 2005. Modeling particle size distribution in emulsion polymerization reactors. *Prog. Polym. Sci.* 30, 1019-1048.

Vandamme, T.F., Lenourry, A., Charrueau, C. Chaumeil, J. 2002. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. *Carbohydr. Polym.* 48, 219-231.

Varma, A.J., Kennedy, J.F., Galgali, P. 2004. Synthetic polymers functionalized by carbohydrates: a review. *Carbohydr. Polym.* 56, 429-445.

Velasco, M.V.; Ford, J.L., Rowe, P., Rajabi-Siahboomi, A.R. 1999. Influence of drug:hydroxypropylmethylcellulose ratio, drug and polymer particle size and compression force on the release of diclofenac sodium from HPMC tablets. *J. Control. Rel.* 57, 75-85.

Villanova, J.C.O. 2001. Desenvolvimento de comprimidos de liberação modificada contendo cloridrato de propranolol: Avaliação do perfil de dissolução. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêutica da USP (Dissertação, Mestrado em Fármaco e Medicamentos). 198p.

Villanova, J.C.O., Oréfice, R.L., Cunha, A.S. 2010. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 20, 1, 51-64.

Virtanen, S., Antikainen, O., Rääkönen, H., Yliruusi, J. 2010. Granule Size Distribution of Tablets. *J. Pharm. Sci.* 99, 2061-2069.

Voor, D.J., Ming, W., van Herk, A. 2006. Polymer-clay nanocomposite latex particles by inverse pickering emulsion polymerization stabilized with hydrophobic montmorillonite platelets. *Macromolecules*, 39, 2137-2143.

Waite, J. H., Tanzer, M. L. 1981. Polyphenolic substance of *mytilus-edulis*: novel adhesive containing l-DOPA hydroxyproline. *Science*. 212, 4498, 1038-1040.

Wang, C., Zhang, C., Li, Y., Chen, Y., Tong, Z. 2009. Facile fabrication of nanocomposite microspheres with polymer cores and magnetic shells by Pickering suspension polymerization. *React. Funct. Polym.* 69, 750-754.

Wang, J., Tahir, M.N., Kappl, M., Tremel, W., Metz, N., Barz, M., Theato, P., Butt, H. 2008. Influence of binding-site density in wet bioadhesion. *Adv. Mater.* 20, 3872-3876.

- Wang, L., Xu, Y. 2006. Preparation and characterization of graft copolymerization of ethyl acrylate onto hydroxypropyl methylcellulose in aqueous medium. *Cellulose*. 13, 191 -200.
- Wang, S., Schork, F.J., Poehlein, C.W., Cooch, J.W. 1996. Emulsion and miniemulsion copolymerization of acrylic monomers in the presence of alkyd resin. *J. Appl. Polymer Sci.* 60, 2069-2076.
- Wen, H., Park, K. 2010. Introduction and overview of oral controlled release formulation design. In: Wen, H., Park, K. (Eds.). *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice*. Wiley, Hoboken.
- Wolters, D., Meyer-Zaika, M., Bandermann, F. 2001. Suspension Polymerization of Styrene with Pickering Emulsifiers. *Macromol. Mater. Eng.* 286, 2, 94-106.
- Wu, C., McGinity, J.W. 2003. Influence of an enteric polymer on drug release rates of theophylline from pellets coated with Eudragit RS 30D. *Pharm. Dev. Technol.* 8, 103-110.
- Xiang, A., McHugh, A.J. 2011. A generalized diffusion-dissolution model for drug release from rigid polymer membrane matrices. *J. Membr. Sci.* 366, 104-115.
- Xu, X., Gan, L.M. 2005. Recent advances in the synthesis of nanoparticles of polymer latexes with high polymer-to-surfactant ratios by microemulsion polymerization. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 10, 239 - 244.
- Yang, L., Chu, J.S., Fix, J.A. 2002. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.* 235, 1-15.
- Yin, N., Chen, K. 2005a. Particle formation mechanism and kinetic model of ultrasonically initiated emulsion polymerization. *Eur. Polym. J.* 41, 1357-1372.
- Yin, N., Chen, K. 2005b. Two-stage mathematical model of ultrasonically initiated emulsion polymerization part one, stage I. *Polymer*, 46, 12729-12736.
- Yuan, H. G., Kalfas, G., Ray, W. H. 1991. Suspension polymerization. *J. Macromol. Sci., Part A: Pure Appl. Chem.* 31, 215-299.
- Zanin, S. M. W., Miguel, M. D., Chimelli, M. C., Oliveira, A. B. 2002. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de óleos de origem vegetal. *Visão Acadêmica*. 3, 1, 13-18.



Zhang, H., Tong, S., Zhang, X., Cheng, S. , Zhuo, R., Li, H. Novel solvent-free methods for fabrication of nano- and microsphere drug delivery systems from functional biodegradable polymers. *J. Phys. Chem.* 111, 12681-12685.

Zhang, W., Torabinejad, D.M., Li, Y. 2003. Evaluation of Cytotoxicity of MTAD Using the MTT-Tetrazolium Method. *J. Endod.* 29, 10, 654-657.

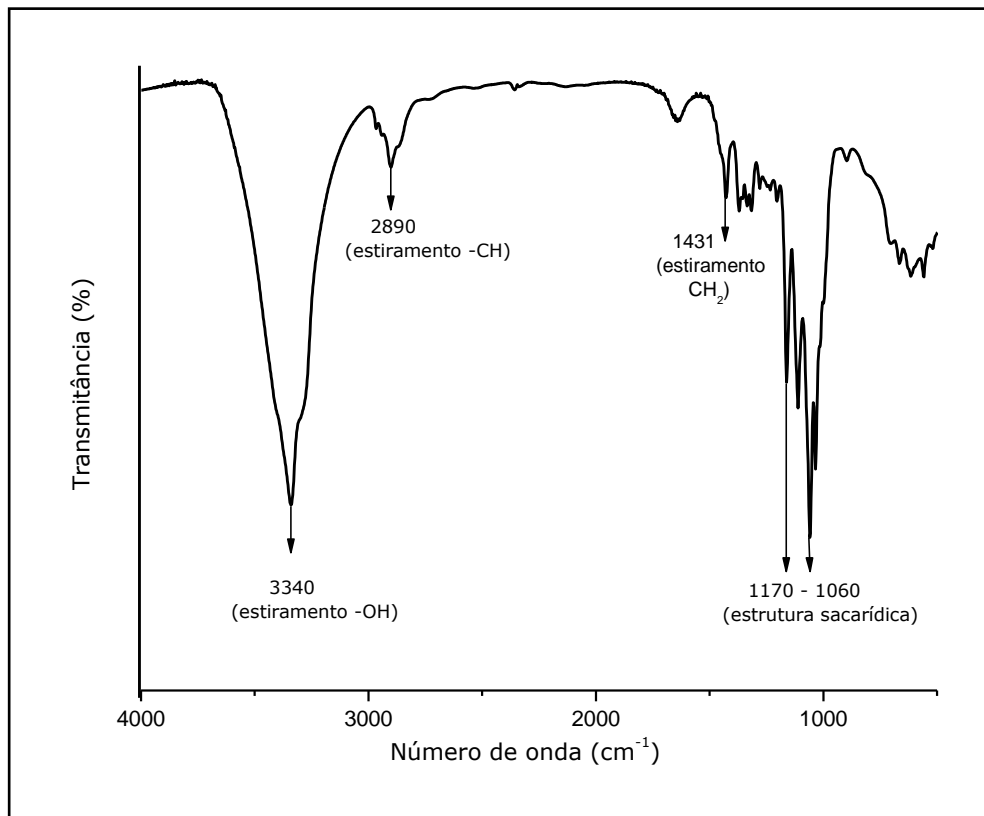
Zheng, W., McGinity, J.W. 2003. Influence of Eudragit NE 30 D blended with Eudragit L 30D-55 on the release of phenylpropanolamine hydrochloride from coated pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29, 357-366.

Zhenxing, H., Xiaowei, Y., Junliang, L., Yuping, Y., Ling, W., Yanwei, Z. 2011. An investigation of the effect of sodium dodecyl sulfate on quasi-emulsifier-free emulsion polymerization for highly monodisperse polystyrene nanospheres. *Eur. Polym. J.* 47, 24-30.

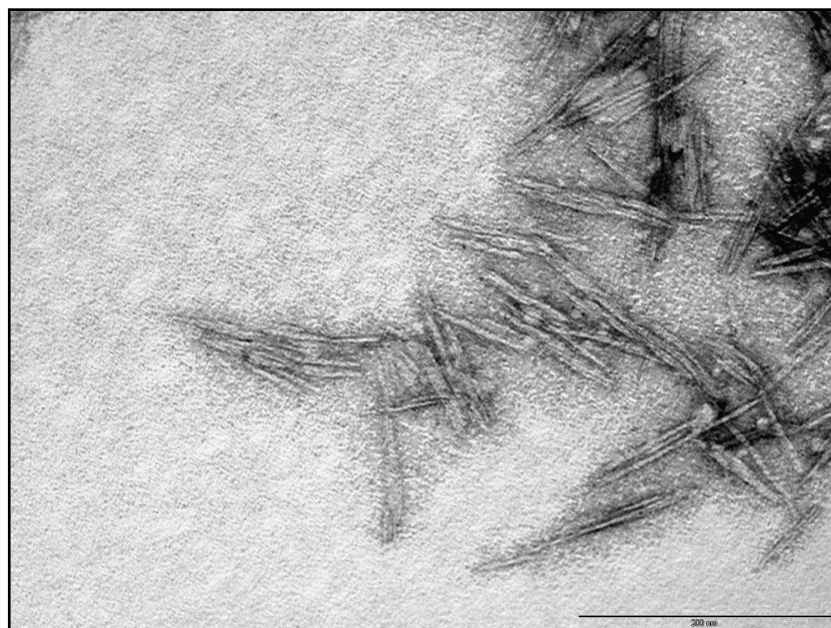
Zhu, L., Yu, J., Xu, Y., Xi, Z., Zhu, B. 2009. Surface modification of PVDF porous membranes via poly(DOPA) coating and heparin immobilization. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 69, 152-155.



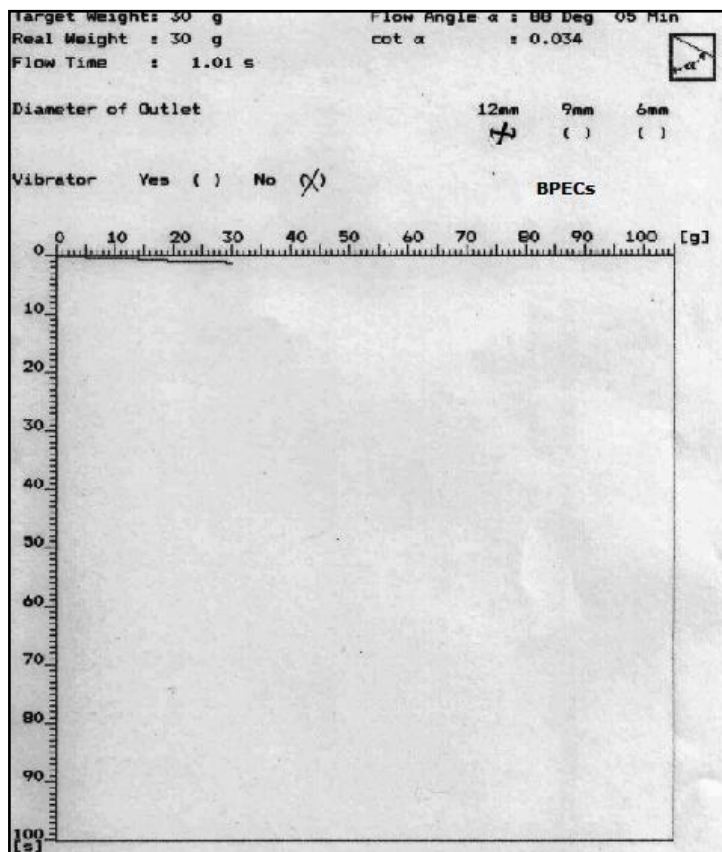
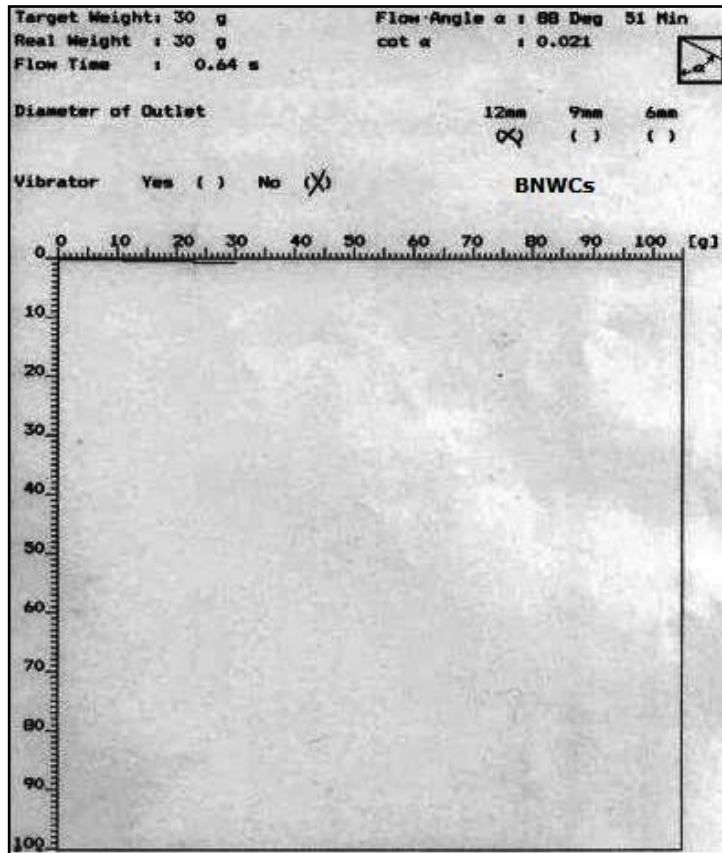
**ANEXO I** – Espectro FTIR com picos característicos das nanofibras de celulose (NWC)

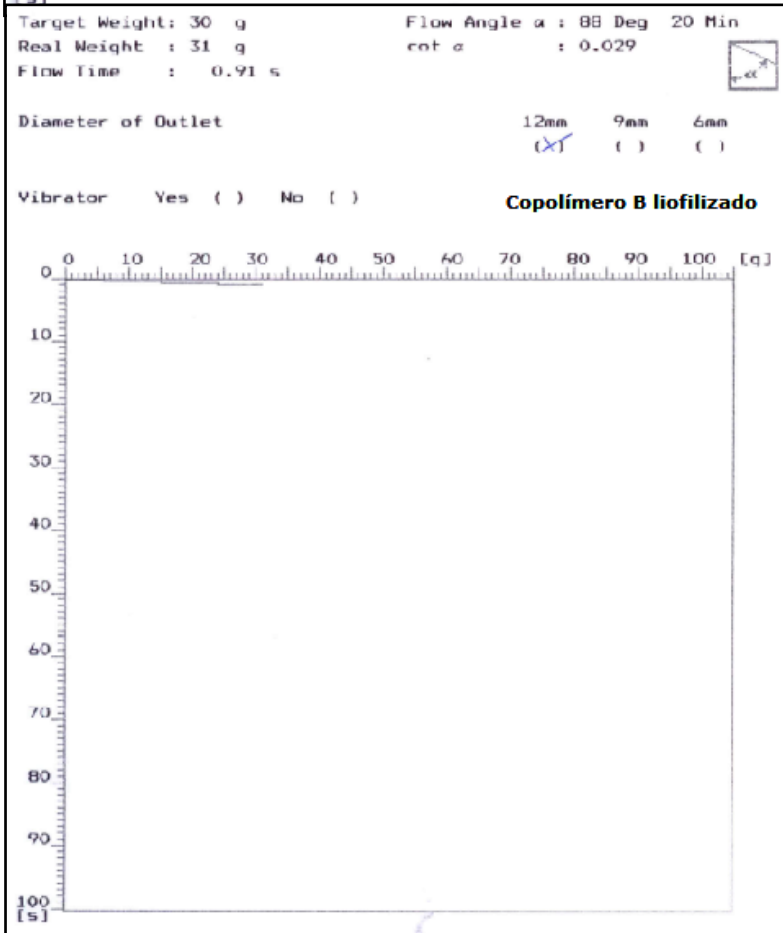
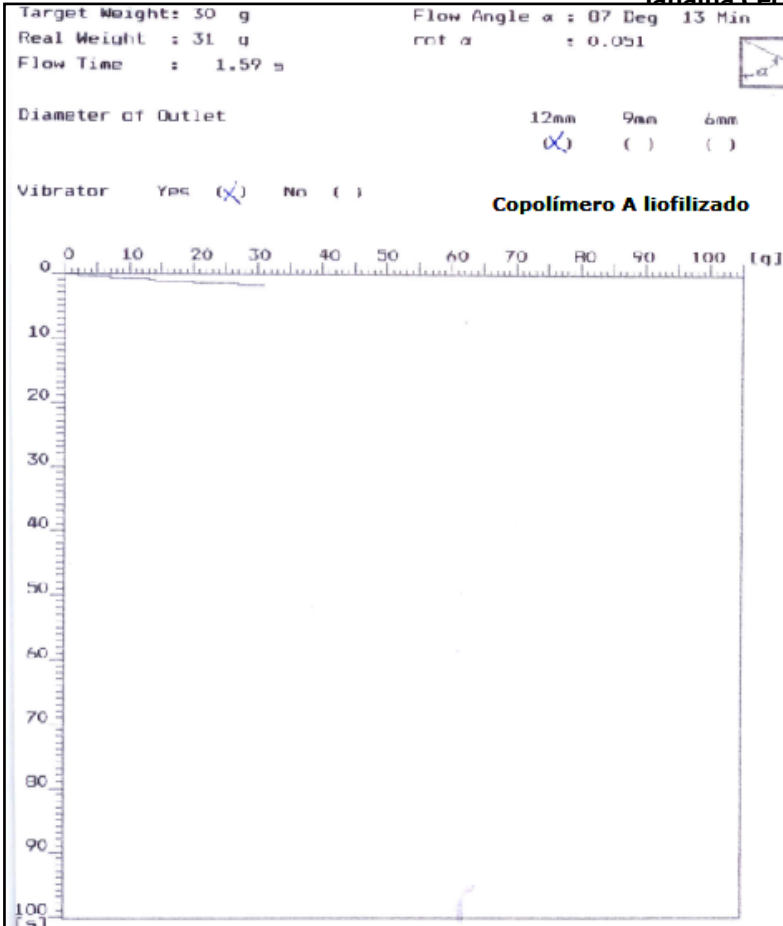


**ANEXO II** – Microscopia eletrônica de transmissão (MET) das NWC obtidas da polpa de eucalipto. Escala = 200 nm (Imagem cedida por Mesquita et al., 2009)

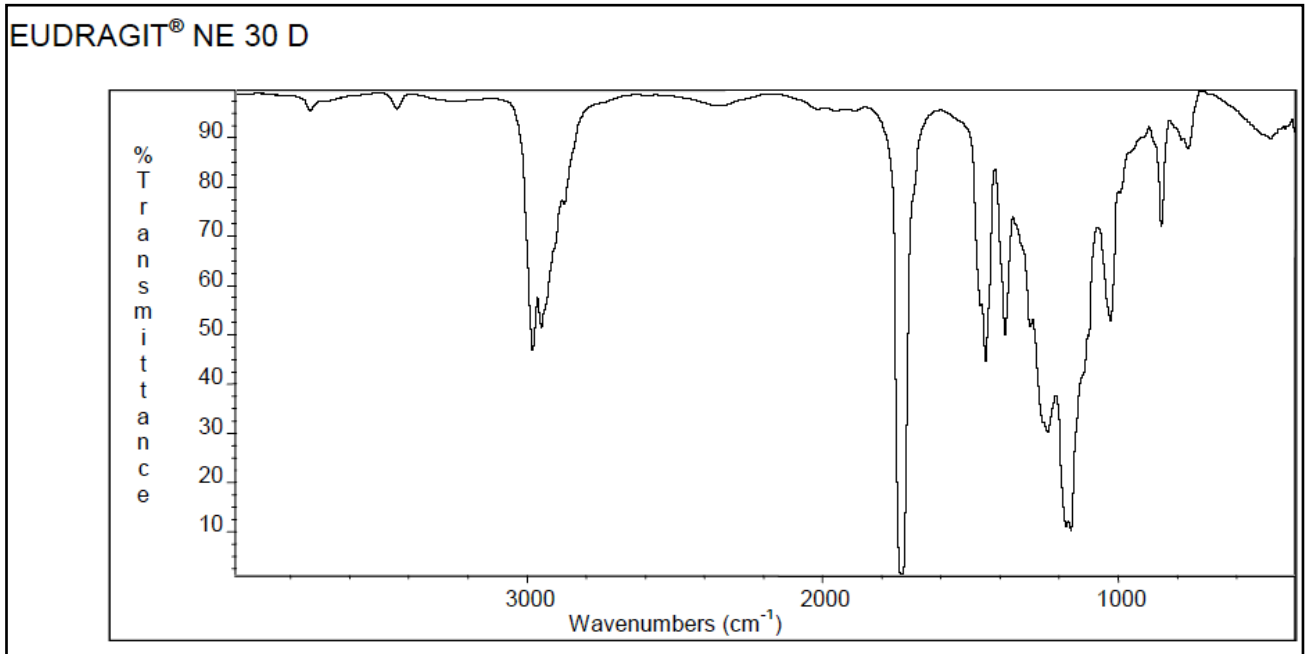


**ANEXO III** – Resultados dos tempos de escoamento e das cotangentes de  $\alpha$  para os excipientes sólidos

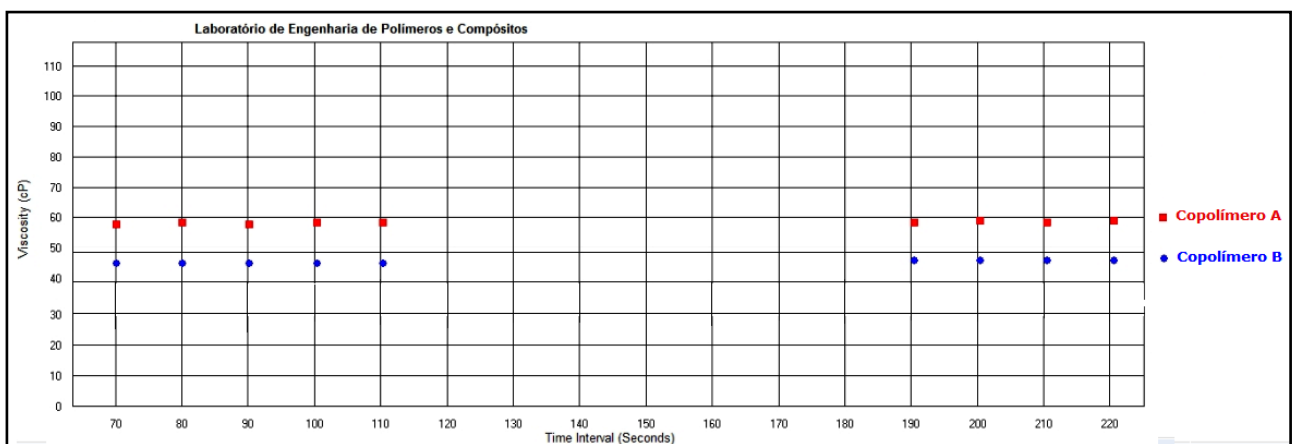




**ANEXO IV** – Espectro FTIR da dispersão polimérica comercialmente disponível Eudragit® NE 30 D (Evonik Röhm GmbH, 2007-09, INFO 7.6 E)



**ANEXO V** – Medidas da viscosidade aparente dos Copolímeros A e B, utilizando *spindle* SC4-21, nas velocidades de 200 e 100 rpm, a 25° C



**ANEXO VI – Medidas do potencial zeta para os Copolímeros A (1, 2 e 3) e B (4, 5 e 6)**

| Record | Type | Sample Name                | Measurement Date and Time       | T<br>°C | ZP<br>mV | Zeta Deviation<br>mV | Mob<br>µmcm/Vs | Cond<br>mS/cm |
|--------|------|----------------------------|---------------------------------|---------|----------|----------------------|----------------|---------------|
| 1      | Zeta | copolimero acrilico_agua 1 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -64,6    | 10,8                 | -5,063         | 0,168         |
| 2      | Zeta | copolimero acrilico_agua 2 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -64,0    | 9,45                 | -5,023         | 0,169         |
| 3      | Zeta | copolimero acrilico_agua 3 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -66,8    | 9,84                 | -5,240         | 0,170         |
| 4      | Zeta | copolimero acrilico_agua 1 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -64,5    | 9,82                 | -5,053         | 0,167         |
| 5      | Zeta | copolimero acrilico_agua 2 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -61,8    | 9,74                 | -4,841         | 0,167         |
| 6      | Zeta | copolimero acrilico_agua 3 | terça-feira, 19 de outubro de 2 | 25,0    | -59,9    | 9,21                 | -4,691         | 0,167         |

**Anexo VII – Análise da distribuição granulométrica da amostra BPEC**

```

SYMPATEC HELOS VECTRA - User identification
SYMPATEC HELOS Particle size analysis
Measure method suspension cell (SUCELL) Sonication time 60 s
Dispersant Hexamet.Sodio Pause s
Additive 0.05% Stirring rate
Focal length = 50 mm Date 07/12/10 / 15:24
Measuring time = 6 s Filename C:\SYMPATEC\ISABEL\AM10055.HEL
Operator = Isabel
Sample name = BPEC JANAINA - density 2.70 g/cm**3
Comments1
Comments2

```

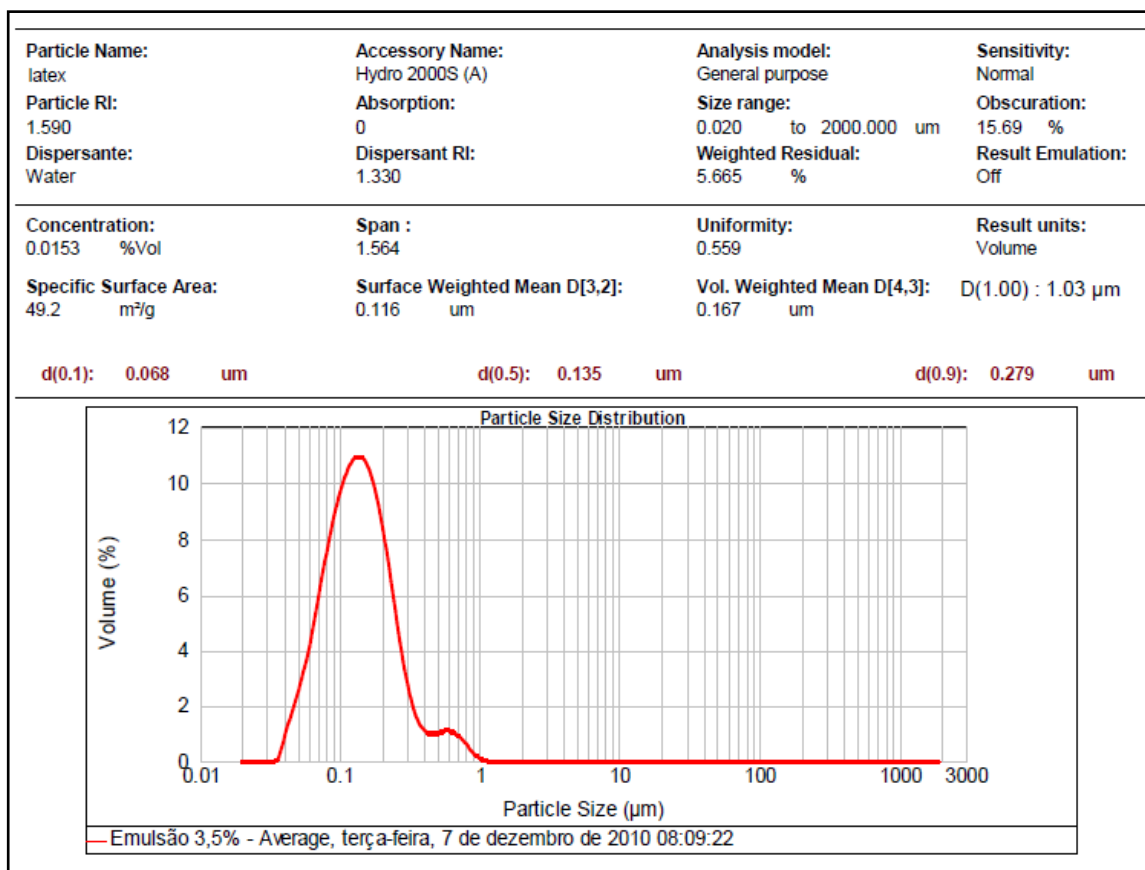
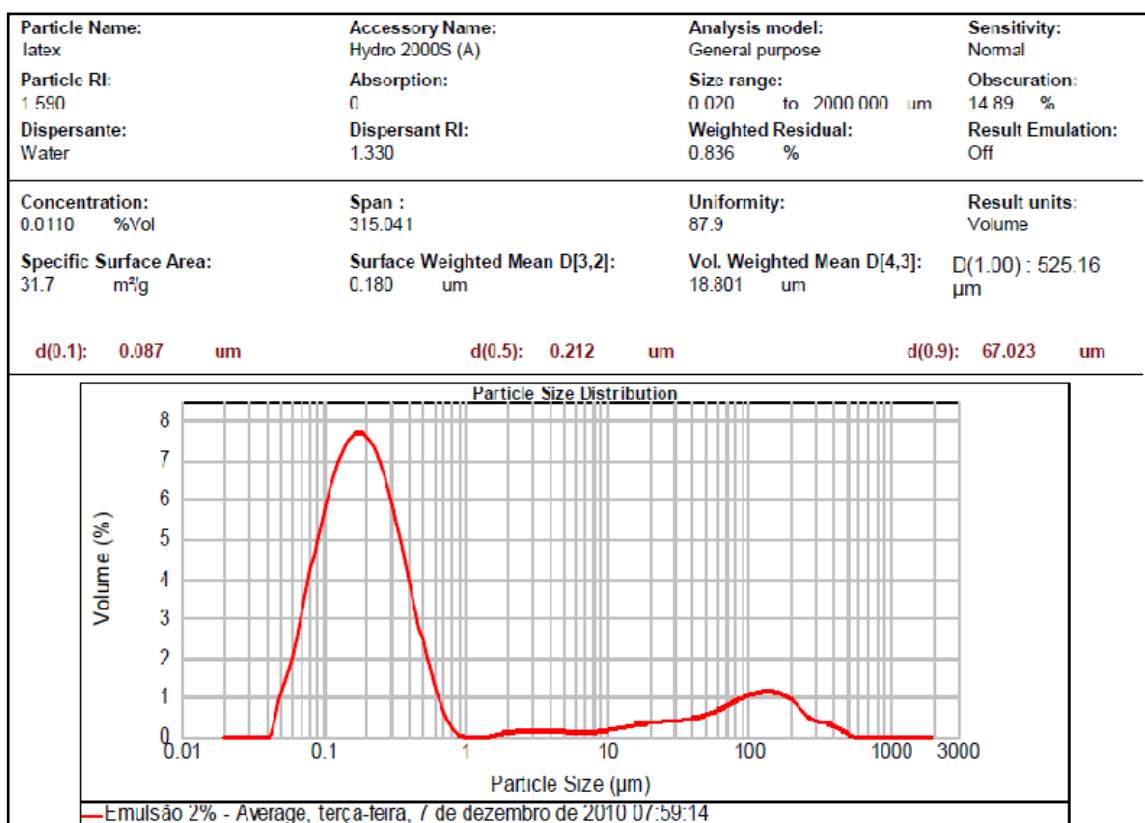
| xo/mym | Q3/% I | xo/mym | Q3/% I  | xo/mym | Q3/% I  | xo/mym | Q3/%   |
|--------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|
| 0.45   | 0.50 I | 1.55   | 6.33 I  | 6.25   | 24.63 I | 25.50  | 46.27  |
| 0.55   | 0.85 I | 1.85   | 8.12 I  | 7.50   | 27.07 I | 30.50  | 48.37  |
| 0.65   | 1.27 I | 2.15   | 9.84 I  | 9.00   | 29.60 I | 36.50  | 51.14  |
| 0.75   | 1.74 I | 2.50   | 11.72 I | 10.50  | 31.81 I | 43.50  | 56.59  |
| 0.90   | 2.51 I | 3.00   | 14.16 I | 12.50  | 34.44 I | 51.50  | 65.88  |
| 1.10   | 3.64 I | 3.75   | 17.35 I | 15.00  | 37.46 I | 61.50  | 79.36  |
| 1.30   | 4.82 I | 4.50   | 20.03 I | 18.00  | 40.71 I | 73.50  | 93.01  |
|        |        | 5.25   | 22.24 I | 21.50  | 43.81 I | 87.50  | 100.00 |

```

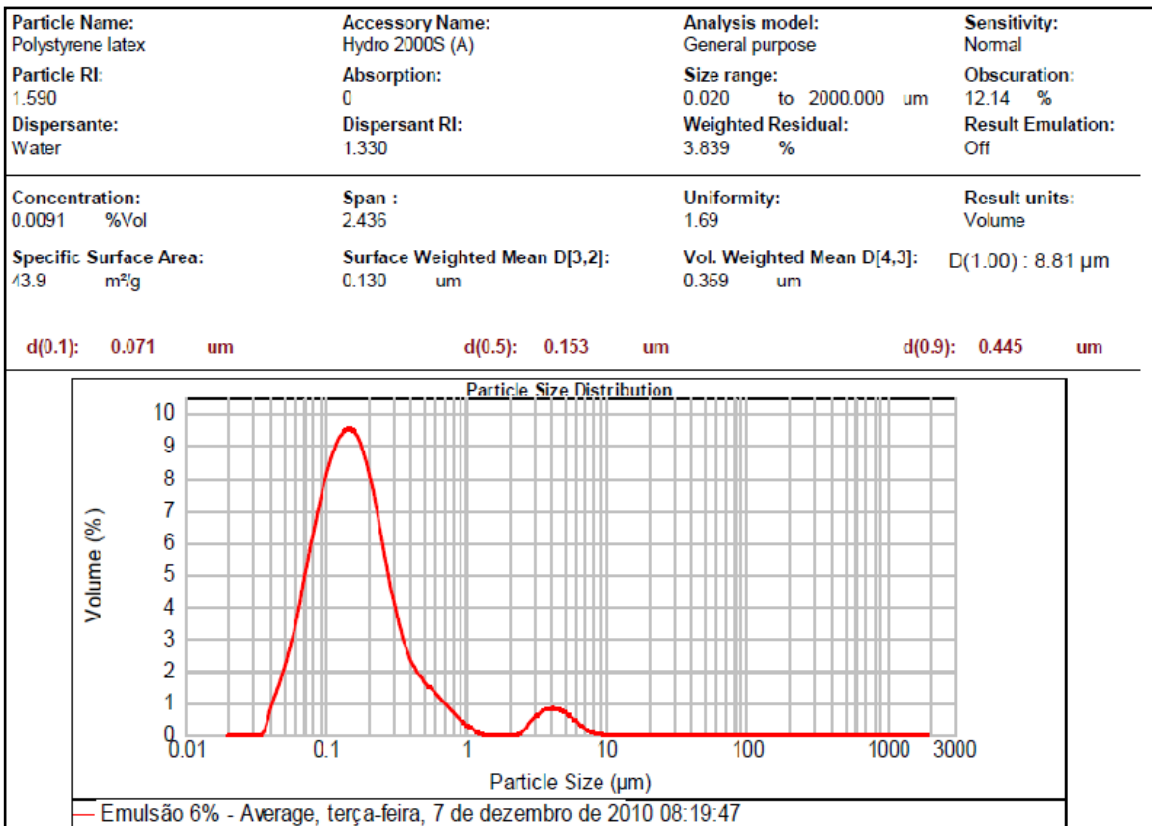
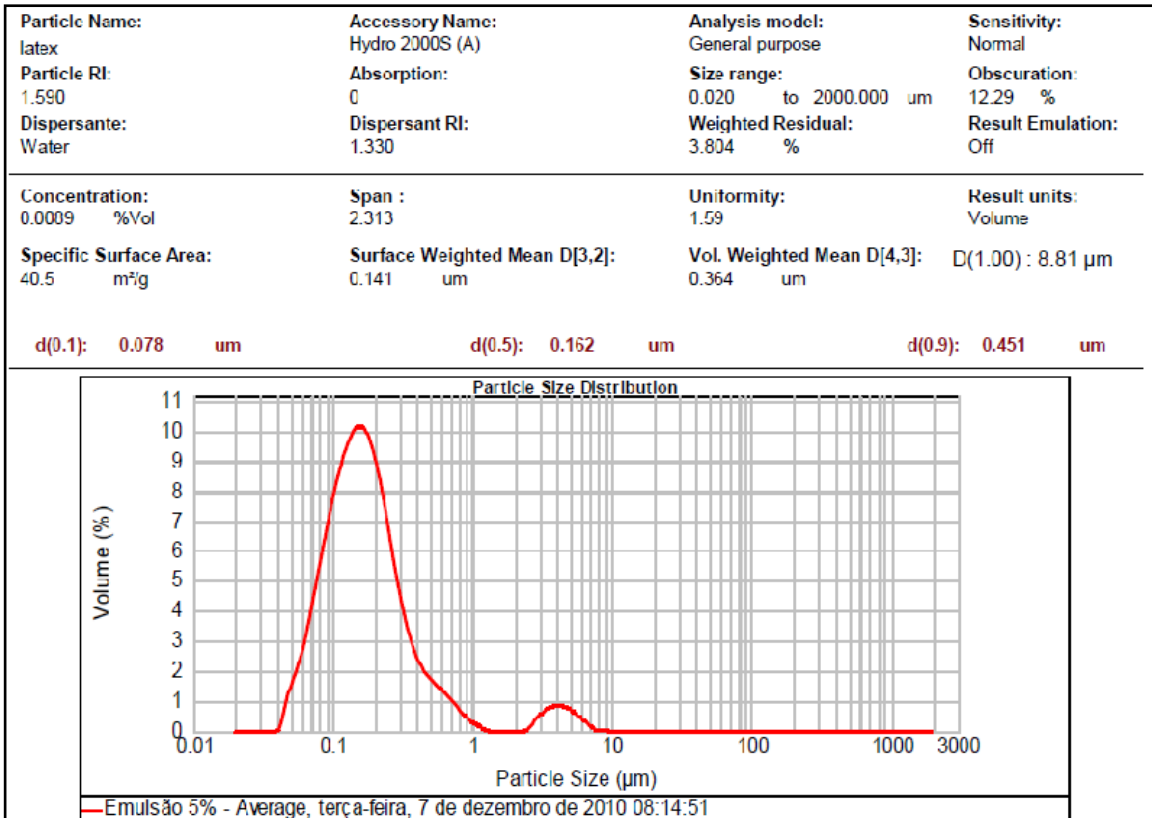
x10 = 2.18 mym      x50 = 34.03 mym      x90 = 70.85 mym
x5 = 1.33 mym      x16 = 3.43 mym      x84 = 65.58 mym
sv = 0.989 m2/cm3  Sm = 3664.76 cm2/g  c_opt = 9.2 %

```

**ANEXO VIII – Distribuição granulométrica nos copolímero em emulsão (EPEC)**









## ANEXO IX – Artigos aceitos para publicação

ScienceDirect - European Journal of Pharmaceuti...

European Journal of Pharmaceutical Sciences  
Article in Press, Accepted Manuscript - Note to users

doi:10.1016/j.ejps.2011.01.005 | How to Cite or Link Using DOI  
Copyright © 2011 Published by Elsevier B.V.  
Permissions & Reprints

## Pharmaceutical Acrylic Beads Obtained By Suspension Polymerization Containing Cellulose Nanowhiskers As Excipient For Drug Delivery

J.C.O. Villanova<sup>a</sup>, E. Ayres<sup>b</sup>, S.M. Carvalho<sup>a</sup>, P.S. Patrício<sup>c</sup>, F.V. Pereira<sup>d</sup> and R.L. Oréfice<sup>a</sup>  

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais–UFMG, Faculdade de Engenharia, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Av. Antônio Carlos, 6627, sala 3551, Bloco 2, Pampulha, CEP: 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Minas Gerais–UEMG, Departamento de Materiais, Tecnologias e Processos–Escola de Design–Belo Horizonte–MG

<sup>c</sup> Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais–CEFET/MG, Departamento de Química–Belo Horizonte–MG

<sup>d</sup> Universidade Federal de Minas Gerais–UFMG, Departamento de Química - Campus Pampulha–Belo Horizonte–MG

Received 27 November 2010; revised 5 January 2011; accepted 11 January 2011. Available online 15 January 2011.

### Abstract

Direct compression is one of the most popular techniques to prepare tablets but only a few commercial excipients are well adapted for this for this process into controlled release formulations. In the last years, the introduction of new materials for drug delivery matrix tablets has become more important. This paper evaluated the physicochemical and flow properties of new polymeric excipient of ethyl acrylate, methyl methacrylate and butyl metacrylate, synthesized by suspension polymerization using cellulose nanowhiskers as co-stabilizer, to be used as direct compression for modified release tablets. Infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the success of the copolymerization reaction. Scanning electron microscopy (SEM) showed that excipient was obtained how spherical beads. Thermal properties of the beads were characterized by thermogravimetric (TG) analysis. Particle size analysis of the beads with cellulose nanowhiskers (CNWB) indicated that the presence of the nanowhiskers led to a reduction of particle size and to a narrower size distribution. *In vitro* test showed that the nanowhiskers and beads produced are nontoxic. Parameters such as Hausner ratio, Carr's index and cotangent of angle  $\alpha$  were employed to characterize the flow properties of CNWB beads. Furthermore, the beads are used to produce tablets by direct compression contained propranolol hydrochloride as model drug. Dissolution tests performed suggested that beads could be used as excipient in matrix tablets with a potential use in drug controlled release.

**Keywords:** Beads; Cellulose nanowhiskers; Controlled release tablets; Direct compression; Excipient; Suspension polymerization

**Polímeros**  
version ISSN 0104-1428


### Abstract

VILLANOVA, Janaina C. O.; OREFICE, Rodrigo L. and CUNHA, Armando S., **Aplicações farmacêuticas de polímeros**. *Polímeros* [online]. 2010, vol.20, n.1, pp. 51-64. Epub Mar 05, 2010. ISSN 0104-1428. doi: 10.1590/S0104-14282010005000009.

Os polímeros representam uma das classes de materiais mais versáteis disponíveis para aplicações em diversas áreas, inclusive a farmacêutica. Polímeros naturais, naturais modificados e sintéticos são empregados como excipientes farmacêuticos para a formulação de cosméticos e medicamentos de liberação convencional e de liberação modificada. Nos dias atuais, polímeros são desenvolvidos para atuarem como moduladores e direcionadores da liberação de fármacos em sítios específicos no organismo. Polímeros biodegradáveis, bioadesivos, biomiméticos e hidrogéis responsivos têm sido amplamente incluídos em formulações farmacêuticas. Os avanços na idealização de novos Sistemas de Liberação de Fármacos somente são e serão permitidos a partir do desenvolvimento de polímeros projetados especificamente para a área farmacêutica. Neste sentido, o presente artigo visa a revisar e apresentar informações sobre o uso de polímeros em aplicações farmacêuticas que poderão ser úteis no planejamento de novos sistemas com desempenhos superiores.

**Keywords :** Biopolímeros; sistemas de liberação de fármacos; excipientes; biomateriais.







**My SciELO**

 Custom services

---

**Services on Demand**

Article

-  Article in pdf format
-  Article in xml format
-  Article references
-  How to cite this article
-  Automatic translation
-  Send this article by e-mail

Indicators

Related links

Bookmark