

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**Anamaria Teodora Coêlho Rios da Silva**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO  
COPOLÍMERO PLGA E ESTUDOS *IN*  
*VITRO* DE SUA DEGRADAÇÃO E  
LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ATENOLOL**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Geraldo de Sousa**

**Belo Horizonte, Fevereiro de 2015.**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

Anamaria Teodora Coêlho Rios da Silva

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COPOLÍMERO PLGA  
E ESTUDOS *IN VITRO* DE SUA DEGRADAÇÃO E  
LIBERAÇÃO DO FÁRMACO ATENOLOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da UFMG como requisito para obtenção do grau de doutor em Engenharia Química.

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Geraldo de Sousa**

**Belo Horizonte, Fevereiro de 2015.**

*À minha mãe e meu pai... a saudade hoje parece ser maior, a vontade de tê-los aqui é imensa, mas a certeza de que estão ao meu lado me dá coragem para seguir em frente!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente, por estar sempre ao meu lado guiando meus passos...

Em especial aos meus pais, Telma (*in memoriam*) e Otaviano (*in memoriam*), pelos ensinamentos e exemplos deixados. Mamãe, essa vitória é sua!

Ao meu orientador Prof. Ricardo Geraldo de Sousa, pela amizade, sabedoria, ensinamentos, compreensão, incentivo, dedicação e paciência.

Ao meu maninho, Mateus, por ser meu amigo, pelo amor, companheirismo, incentivo, carinho, enfim por ser meu porto seguro.

Ao Leonardo, pelo amor, paciência, compreensão, carinho, motivação, cumplicidade, companheirismo e ajuda.

À Cynthia, por ser como uma mãe pra mim, pela paciência, sabedoria, tranquilidade e por estar sempre ajudando nos momentos mais difíceis.

A todos os meus familiares, pelo carinho e por estarem, mesmo que de longe, torcendo pela minha vitória.

Às amigas que fiz no laboratório: Karen, Layla, Adriana, Mariana, Raquel Azevedo, Ana Paula Lelis, Emilene, Bárbara, Getúlio, Rianny, pela ajuda com as análises, pela amizade, pelos momentos de descontração e pelo apoio nos momentos de dificuldades.

Ao Prof. Roberto Freitas, por ter me recebido inicialmente como orientanda, pela amizade, pelas contribuições e incentivos.

Ao Prof. Rodrigo Oréfice por compartilhar a estrutura do laboratório, em especial a utilização do equipamento de electrospinning.

Ao meu amigo Tadeu, pela ajuda, paciência, pelos momentos de descontração e pelos momentos difíceis.

À Sandra e a Profa. Marivalda Magalhães pela ajuda com a realização do Teste de Citotoxicidade.

Ao Prof. Alfredo Goes do departamento de imunologia e bioquímica, por ter gentilmente cedido os osteoblastos humanos de linhagem (SAOS) para realização do Teste de Citotoxicidade.

A todos meus amigos de Viçosa, Divinópolis e Formiga, por estarem sempre ao meu lado torcendo por mim e me incentivando.

Ao apoio financeiro da FAPEMIG, CEMIG, PETROBRÁS, CAPES e CNPq.

Ao Laboratório de Ciência e Tecnologia de Polímeros da UFMG e ao Departamento de Engenharia Química da UFMG pelas instalações para a realização deste projeto.

Enfim a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho. Obrigada por estarem ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória.

## RESUMO

Neste trabalho foi sintetizado o copolímero poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), PLGA, um biomaterial de aplicação em sistemas de liberação de fármacos. Os copolímeros foram sintetizados por meio da abertura dos anéis dos dímeros cíclicos dos monômeros D,L-lactídeo e glicolídeo. As reações foram realizadas com duração de 2 horas e temperatura em torno de 175°C. Empregaram-se proporções diferentes de monômeros para as sínteses de PLGA: 50/50, 70/30 e 82/18, expressas entre a proporção em massa de D,L-lactídeo e glicolídeo, respectivamente. Essa última foi escolhida como objeto de estudo por apresentar maior reprodutibilidade, ser de fácil manuseio e por ser uma das proporções entre os monômeros mais aplicada em sistemas de liberação de fármacos. Para a realização do estudo de degradação *in vitro* foram produzidos dispositivos de PLGA 82/18 em forma de bastões e para o estudo de liberação do fármaco atenolol, além dos bastões, também foram produzidos dispositivos na forma de mantas de nanofibras (por eletrofiação) de PLGA 82/18. Utilizaram-se os seguintes métodos e técnicas de análise: termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), reometria, citotoxicidade, espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). As sínteses dos copolímeros de PLGA foram realizadas com sucesso, sendo comprovada pelas técnicas de análises realizadas. O estudo do processo de degradação hidrolítica *in vitro* do PLGA, em forma de bastão, indicou que ele sofre uma degradação pronunciada com 28 dias, quando em solução tampão fosfato salino (PBS). O teste de citotoxicidade, usando a técnica de redução do MTT, mostrou que os copolímeros PLGA's sintetizados, liofilizados e processados por eletrofiação podem não ser prejudiciais, pois não causaram danos em células isoladas do corpo. Os testes de liberação do atenolol a partir dos dispositivos de PLGA, em forma de mantas de nanofibra, em solução de PBS, apresentaram liberação entre 65 e 72% do fármaco em 24 dias de estudo. Os dispositivos de PLGA com atenolol, em forma de bastões, apresentaram uma liberação mais lenta em comparação com as mantas, liberando entre 5 e 10%, aproximadamente, da quantidade inicial após 30 dias em solução PBS. O

modelo utilizado para estudo do mecanismo de liberação do atenolol, a partir desses dispositivos, não foi adequado para descrever a cinética de liberação do fármaco. Os dois tipos de dispositivos estudados apresentaram perfis de liberação bem diferentes. Ao comparar os dois tipos de dispositivos do PLGA, antes e após o estudo de liberação, notou-se que eles sofreram o processo de degradação hidrolítica em suas cadeias poliméricas. Os estudos realizados mostraram que o copolímero PLGA sintetizado apresentou potencial para aplicação em sistemas de liberação modificada de fármacos.

## ABSTRACT

In this present work, the copolymer poly (D,L-lactide-co-glycolide), PLGA, a biomaterial for application in drug delivery systems, was synthesized. The copolymers were synthesized by opening the rings of the cyclic dimers of the D,L-lactide and glycolide monomers. The reactions were performed during 2 hours at 175°C. Different ratios of monomers in the synthesis of PLGA were used: 50/50, 70/30 and 82/18, expressed as the ratio between the mass of D,L-lactide and glycolide, respectively. The latter one was chosen due its greater reproducibility, ease to handle and for being the ratio of monomers that is most applied in drug delivery systems. For the study of *in vitro* degradation of PLGA 82/18 devices were produced in the form of rod-shaped and the release study of atenolol drug, in addition to rod-shaped, were also produced devices in the form of nanofiber mats (by electrospinning) of PLGA 82/18. Thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), rheometry, cytotoxicity, ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) and scanning electron microscopy (SEM) were used as methods and analysis techniques. The synthesis of PLGA copolymers were performed successfully, and proven by the analysis techniques. The *in vitro* hydrolytic degradation of PLGA, rod-shaped, showed a marked decrease in 28 days, when in phosphate buffered saline (PBS) solution. The cytotoxicity test, using the MTT reduction technique, showed that the synthesized copolymer PLGA's, lyophilized and processed by electrospinning may not be harmful, because it not caused damage in isolated cells of the body. The atenolol release tests from the PLGA devices, as nanofiber mats, in PBS solution, showed release of 72% of the drug within 24 days of study. The PLGA devices with rod-shaped atenolol showed a slower release in comparison to the mat shaped ones, releasing 8.0% of the initial amount after 30 days in PBS solution. The model used to study the mechanism of release of atenolol from these devices was not adequate to describe the drug release kinetics. The two types of devices presented very different release profiles. By comparing two types of PLGA devices before and after the release study, it was observed that, have undergone the process of hydrolytic

degradation in its polymer chains. The studies showed that the synthesized copolymer has potential for application in a modified drug delivery systems.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
2.1. OBJETIVO GERAL .....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	4
3.1. POLÍMEROS.....	4
3.1.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	8
3.1.2. POLÍMERO PLA .....	11
3.1.3. POLÍMERO PGA .....	12
3.1.4. COPOLÍMERO PLGA.....	13
3.2 DEGRADAÇÃO.....	18
3.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS .....	23
3.4 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERAÇÃO .....	28
3.5 ATENOLOL.....	30
3.6 TÉCNICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS .....	31
3.6.1 TERMOGRAVIMETRIA .....	32
3.6.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	32
3.6.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	33
3.6.4 REOMETRIA .....	33
3.6.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	34
3.6.6 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL.....	35
3.6.7 CITOTOXICIDADE .....	35
3.6.8 ELETROFIAÇÃO .....	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1. MATERIAIS.....	39
4.2. SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA.....	41
4.3. CARACTERIZAÇÃO DO PLGA .....	44
4.3.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	44
4.3.2. TERMOGRAVIMETRIA .....	45

4.3.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	45
4.3.4. ANÁLISE POR REOMETRIA.....	45
4.3.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	46
4.3.6. CITOTOXICIDADE .....	46
4.3.7. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL.....	48
4.4. ESTUDO DA DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA <i>IN VITRO</i> .....	49
4.5. ESTUDO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	50
4.5.1 PRODUÇÃO DE BASTÕES DE PLGA CONTENDO O FÁRMACO ATENOLOL.....	50
4.5.2 PRODUÇÃO DE MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA CONTENDO O FÁRMACO ATENOLOL.....	51
4.5.3 ENSAIO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1. SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA.....	54
5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS PLGA .....	56
5.2.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	56
5.2.2 TERMOGRAVIMETRIA .....	58
5.2.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	61
5.2.4 ANÁLISE POR REOMETRIA.....	64
5.2.5 CITOTOXICIDADE .....	65
5.3. ESTUDO DA DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA <i>IN VITRO</i> .....	67
5.3.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	67
5.3.2 TERMOGRAVIMETRIA .....	70
5.3.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	72
5.3.4 ANÁLISE POR REOMETRIA.....	74
5.3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	77
5.4. ESTUDO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	80
5.4.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO .....	85
5.4.2 PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA MANTA DE NANOFIBRA DE PLGA 82/18 .....	87
5.4.3 PERFIL DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> DO BASTÃO DE PLGA 82/18 .....	89

5.4.4	MODELAGEM CINÉTICA DAS CURVAS DE LIBERAÇÃO .....	90
5.4.5	ANÁLISE DOS DISPOSITIVOS DE PLGA APÓS O INTERVALO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO.....	96
5.4.5.1	ANÁLISE DOS BASTÕES DE PLGA APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO.....	96
5.4.5.2	ANÁLISE DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO.....	103
6.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS .....	109
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	112
	ANEXO I – QUANTIDADES DOS MONÔMEROS E DOS REAGENTES UTILIZADAS NAS SÍNTESES DOS PLGA's 70/30 e 50/50. ....	124
	ANEXO II – VOLUMES DE REAGENTES, TEMPO DE AGITAÇÃO E RENDIMENTO DAS SÍNTESES DOS PLGA's 70/30 E 50/50. ....	125
	ANEXO III – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30. ....	126
	ANEXO IV – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50.....	129
	ANEXO V – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18.....	130
	ANEXO VI – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30. ....	136
	ANEXO VII – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50. ....	139
	ANEXO VIII – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18. ....	140
	ANEXO IX – CURVAS DSC e DrDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30. ....	148
	ANEXO X – CURVAS DSC e DrDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50. ....	151
	ANEXO XI – CURVAS DSC E DrDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18. ....	152
	ANEXO XII - CURVAS DOS MÓDULOS ELÁSTICO (G') E VISCOSO (G'') PARA OS PLGA 82/18, SÍNTESES 4 A 15.....	167
	ANEXO XIII – RESULTADOS DO ENSAIO COM O MTT .....	172
	ANEXO XIV – ESPECTROS FTIR DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDOS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	173

ANEXO XV – CURVAS TG E DrTG DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	177
ANEXO XVI – CURVAS DSC E DrDSC DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	183
ANEXO XVII – CURVAS DOS MÓDULOS ELÁSTICO (G') E VISCOZO (G'') DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	189
ANEXO XVIII – PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO ACUMULADA DE ATENOLOL A PARTIR DOS DISPOSITIVOS DE PLGA (EM FORMA DE MANTA DE NANOFIBRAS) EM FUNÇÃO DO TEMPO (EM MINUTOS).....	194
ANEXO XIX – PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO ACUMULADA DE ATENOLOL A PARTIR DOS DISPOSITIVOS DE PLGA (EM FORMA DE BASTÕES) EM FUNÇÃO DO TEMPO (EM MINUTOS).....	195
ANEXO XX – PORCENTAGEM DA RAZÃO DE LIBERAÇÃO $M_t/M_\infty$ EM FUNÇÃO DO TEMPO (MINUTOS), DOS DISPOSITIVOS DE PLGA EM FORMA DE MANTAS DE NANOFIBRAS E BASTÕES .....	196
ANEXO XXI – CURVAS TG E DrTG DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	198
ANEXO XXII – CURVAS DSC E DrDSC DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15) COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	201
ANEXO XXIII – ESPECTROS FTIR DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	204
ANEXO XXIV – CURVAS TG E DrTG DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	207
ANEXO XXV – CURVAS DSC E DrDSC DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	210
ANEXO XXVI – ESPECTROS FTIR DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL,	

ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> ESTUDADO .....	213
---	-----

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação de síntese do poli(lactídeo).....	12
Figura 2 - Reação de síntese do poli(glicolídeo). ....	13
Figura 3 - Estruturas química dos dímeros e do polímero PLGA e reação de copolimerização do PLGA. ....	14
Figura 4- Reação de degradação do PGA / PLA / PLGA [MERKLI <i>et al.</i> (1998)]. ....	19
Figura 5- Representação esquemática do perfil da curva farmacocinética para: (A) terapia convencional e (B) liberação modificada (adaptado de SOUSA, 2009). ....	25
Figura 6- Representação da fórmula molecular e da molécula de atenolol (indicação dos átomos na molécula: esfera azul - nitrogênio, esfera cinza clara - hidrogênio, esfera cinza escura - carbono e esfera vermelha – oxigênio) (adaptado de SOUSA, 2009). ....	31
Figura 7 - Ilustração esquemática da montagem de um sistema de eletrofiação. (Adaptado de: JÚNIOR, 2010).....	37
Figura 8 – Fotografia do aparelho de eletrofiação.....	51
Figura 9 - Espectro FTIR do copolímero PLGA - síntese 15. ....	56
Figura 10 - Espectros FTIR dos copolímeros de PLGA - sínteses 1 a 15. ....	57
Figura 11 - Curvas TG do PLGA 82/18 – sínteses 1 a 15. ....	59
Figura 12- Curvas DSC para os PLGA's 82/18, sínteses de 1 a 15, 2ª corrida. ....	62
Figura 13- Resultado do ensaio com o MTT após 72 horas de contato. ....	66
Figura 14 - Fotografia do bastão de PLGA para o estudo de degradação. ....	67
Figura 15 - Espectros FTIR do PLGA 82/18 e das amostras desse copolímero imersas em solução tampão fosfato salino. ....	68
Figura 16 - Curvas TG do PLGA 82/18, síntese 15, antes e depois do ensaio de degradação <i>in vitro</i> . ....	70
Figura 17 - Curvas DSC das amostras de PLGA 82/18, síntese 15.....	73

Figura 18 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 15. ....	75
Figura 19 - Massa molar média para amostras de PLGA 82/18, síntese 15, em função do tempo de degradação. ....	76
Figura 20 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18, síntese 15. ....	77
Figura 21 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1. ....	78
Figura 22 - Micrografia dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2. ....	78
Figura 23 - Micrografia dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3. ....	78
Figura 24 – Fotografia de uma manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, contendo atenolol. ....	80
Figura 25- Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 40 vezes. ....	81
Figura 26- Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 100 vezes. ....	82
Figura 27 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 250 vezes. ....	82
Figura 28 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 500 vezes. ....	82
Figura 29 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento 500 vezes. ....	83
Figura 30 - Micrografia da manta de nanofibra de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento 2000 vezes. ....	83
Figura 31 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 5000 vezes. ....	84
Figura 32 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 7000 vezes. ....	84
Figura 33 – Determinação do comprimento de onda de absorbância máxima do fármaco atenolol em PBS. ....	85
Figura 34 - Curva de calibração analítica da absorbância em função da concentração do atenolol em PBS. ....	86

Figura 35 – Perfis de liberação acumulada de atenolol a partir de três amostras (M1, M2 e M3) de mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15). .....	87
Figura 36 - Perfis de liberação acumulada de atenolol a partir de três amostras (B1, B2 e B3) de bastões de PLGA 82/18 (síntese 15). .....	89
Figura 37 - Porcentagem de atenolol liberado em relação ao total liberado a partir das mantas de nanofibras de PLGA 82/18, amostras M1, M2 e M3. ....	91
Figura 38 - Porcentagem de atenolol liberado em relação ao total liberado a partir dos bastões de PLGA 82/18, amostras B1, B2 e B3. ....	91
Figura 39 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 60% de liberação, para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18, amostras M1 (A), M2 (B) e M3 (C). ....	92
Figura 40 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 60% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18, amostras B1 (A), B2 (B) e B3 (C). ....	93
Figura 41 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 20% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18, amostras B1 (A), B2 (B) e B3 (C). ....	95
Figura 42 - Curvas TG para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) os ensaios de liberação. ....	97
Figura 43 - Curvas DSC (2ª corrida) para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) os ensaios de liberação. ....	99
Figura 44 - Espectro FTIR para o fármaco atenolol. ....	101
Figura 45 - Espectros FTIR para PLGA 82/18 (síntese 15), atenolol, bastão de PLGA com o atenolol antes da liberação e amostras dos bastões de PLGA (B1, B2 e B3) após o período de liberação estudado. ....	102

Figura 46 - Curvas TG para o atenolol e para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) os ensaios de liberação.....	103
Figura 47 - Curvas DSC (2ª corrida) para o atenolol e para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) os ensaios de liberação. ....	105
Figura 48 - Espectros FTIR para PLGA 82/18 (síntese 15), atenolol, manta de nanofibra de PLGA com o atenolol antes da liberação e amostras das mantas de nanofibras de PLGA (M1, M2 e M3) após o período de liberação estudado.....	107
Figura A.III.1 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 1.....	126
Figura A.III.2 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 2.....	126
Figura A.III.3 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 3.....	127
Figura A.III.4 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 4.....	127
Figura A.III.5 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 5.....	127
Figura A.III.6 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 6.....	128
Figura A.III.7 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 7.....	128
Figura A.III.8 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 8.....	128
Figura A.IV.1 - Espectro FTIR do PLGA 50/50, síntese 1. ....	129
Figura A.IV.2 - Espectro FTIR do PLGA 50/50, síntese 2. ....	129
Figura A.V.1 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 1. ....	130
Figura A.V.2 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 2. ....	130
Figura A.V.3 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 3. ....	131
Figura A.V.4 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 4. ....	131
Figura A.V.5 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 5. ....	131
Figura A.V.6 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 6. ....	132
Figura A.V.7 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 7. ....	132
Figura A.V.8 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 8. ....	132
Figura A.V.9 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 9. ....	133
Figura A.V.10 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 10. ....	133
Figura A.V.11 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 11. ....	133
Figura A.V.12 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 12. ....	134
Figura A.V.13 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 13. ....	134
Figura A.V.14 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 14. ....	134

Figura A.V.15 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 15. ....	135
Figura A.VI.1 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 1. ....	136
Figura A.VI.2 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 2. ....	136
Figura A.VI.3 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 3. ....	137
Figura A.VI.4 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 4. ....	137
Figura A.VI.5 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 5. ....	137
Figura A.VI.6 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 6. ....	138
Figura A.VI.7 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 7. ....	138
Figura A.VI.8 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 8. ....	138
Figura A.VII.1 - Curvas TG e DrTG do PLGA 50/50, síntese 1. ....	139
Figura A.VII.2 - Curvas TG e DrTG do PLGA 50/50, síntese 2. ....	139
Figura A.VIII.1 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 1. ....	140
Figura A.VIII.2 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 2. ....	140
Figura A.VIII.3 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 3. ....	141
Figura A.VIII.4 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 4. ....	141
Figura A.VIII.5 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 5. ....	142
Figura A.VIII.6 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 6. ....	142
Figura A.VIII.7 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 7. ....	143
Figura A.VIII.8 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 8. ....	143
Figura A.VIII.9 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 9. ....	144
Figura A.VIII.10 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 10. ....	144
Figura A.VIII.11 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 11. ....	145
Figura A.VIII.12 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 12. ....	145
Figura A.VIII.13 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 13. ....	146
Figura A.VIII.14 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 14. ....	146
Figura A.VIII.15 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15. ....	147
Figura A.IX.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 1. ....	148
Figura A.IX.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 2. ....	148
Figura A.IX.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 3. ....	149
Figura A.IX.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 4. ....	149
Figura A.IX.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 5. ....	149
Figura A.IX.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 6. ....	150
Figura A.IX.7 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 7. ....	150
Figura A.IX.8 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 8. ....	150

Figura A.X.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 50/50, síntese 1. ....	151
Figura A.X.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 50/50, síntese 2. ....	151
Figura A.XI.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 1. ....	152
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	152
Figura A.XI.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 2. ....	153
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	153
Figura A.XI.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 3. ....	154
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	154
Figura A.XI.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 4. ....	155
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	155
Figura A. XI.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 5. ....	156
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	156
Figura A.XI.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 6. ....	157
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	157
Figura A.XI.7 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 7. ....	158
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	158
Figura A.XI.8 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 8. ....	159
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	159
Figura A.XI.9 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 9. ....	160
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	160
Figura A.XI.10 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese	
10. ....	161
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	161
Figura A.XI.11 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese	
11. ....	162
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	162
Figura A.XI.12 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese	
12. ....	163
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	163
Figura A.XI.13 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese	
13. ....	164
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	164
Figura A.XI.14 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese	
14. ....	165

(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	165
Figura A.XI.15 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15. ....	166
(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida. ....	166
Figura A.XII.1 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 4. ....	167
Figura A.XII.2 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 5. ....	167
Figura A.XII.3 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 6. ....	168
Figura A.XII.4 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 7. ....	168
Figura A.XII.5 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 8. ....	168
Figura A.XII.6 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 9. ....	169
Figura A.XII.7 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 10. ....	169
Figura A.XII.8 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 11. ....	169
Figura A.XII.9 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 12. ....	170
Figura A.XII.10 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 13. ....	170
Figura A.XII.11 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 14. ....	170
Figura A.XII.12 - Curvas dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 15. ....	171
Figura A.XIV.1 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 1 (A, B e C). ....	173
Figura A.XIV.2 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 2 (A, B e C). ....	174
Figura A.XIV.3 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 3 (A, B e C). ....	174

Figura A.XIV.4 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 4 (A, B e C). .....	175
Figura A.XIV.5 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 5 (A e B).....	175
Figura A.XIV.6 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 6 (A, B e C). .....	176
Figura A.XV.1 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	177
amostra 1 (A, B e C).....	177
Figura A.XV.2 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	178
amostra 2 (A, B e C).....	178
Figura A.XV.3 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	179
amostra 3 (A, B e C).....	179
Figura A.XV.4 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	180
amostra 4 (A, B e C).....	180
Figura A.XV.5 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	181
amostra 5 (A e B). .....	181
Figura A.XV.6 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15,.....	182
amostra 6 (A, B e C).....	182
Figura A.XVI.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	183
amostra 1 (A, B e C).....	183
Figura A.XVI.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	184
amostra 2 (A, B e C).....	184
Figura A.XVI.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	185
amostra 3 (A, B e C).....	185
Figura A.XVI.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	186
amostra 4 (A, B e C).....	186
Figura A.XVI.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	187
amostra 5 (A e B). .....	187
Figura A.XVI.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, .....	188

amostra 6 (A, B e C).....	188
Figura A.XVII.1 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1 (A, B e C).....	189
Figura A.XVII.2 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2 (A, B e C).....	190
Figura A.XVII.3 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3 (A, B e C).....	191
Figura A.XVII.4 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 4 (A, B e C).....	192
Figura A.XVII.5 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 5. ....	193
Figura A.XXI.1 - Curvas TG e DrTG para o atenolol. ....	198
Figura A.XXI.2 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.....	198
Figura A.XXI.3 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B1, após estudo de liberação. ....	199
Figura A.XXI.4 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B2, após estudo de liberação. ....	199
Figura A.XXI.5 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B3, após estudo de liberação. ....	200
Figura A.XXII.1 - Curvas DSC e DrDSC para o atenolol. ....	201
Figura A.XXII.2 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.....	201
Figura A.XXII.3 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B1, após estudo de liberação.....	202
Figura A.XXII.4 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B2, após estudo de liberação.....	202
Figura A.XXII.5 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B3, após estudo de liberação.....	203
Figura A.XXIII.1 - Espectro FTIR para o atenolol. ....	204

Figura A.XXIII.2 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, antes do estudo de liberação.....	204
Figura A.XXIII.3 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B1.....	205
Figura A.XXIII.4 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B2.....	205
Figura A.XXIII.5 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B3.....	206
Figura A.XXIV.1 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação. ....	207
Figura A.XXIV.2 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M1. ....	208
Figura A.XXIV.3 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M2. ....	208
Figura A.XXIV.4 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M3. ....	209
Figura A.XXIV.5 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, sem atenolol. ....	209
Figura A.XXV.1 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.....	210
Figura A.XXV.2 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M1. ....	211
Figura A.XXV.3 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M2. ....	211
Figura A.XXV.4 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M3. ....	212
Figura A.XXV.5 - Curvas DSC e DrDSC (1ª corrida) para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação. ....	212
Figura A.XXVI.1 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, antes do estudo de liberação. ....	213

Figura A.XXVI.2 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M1. ....	213
Figura A.XXVI.3 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M2. ....	214
Figura A.XXVI.4 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M3. ....	214

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Lista representativa dos polímeros usados em sistemas de liberação de fármacos (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001).....	9
Tabela 2- Propriedades dos polímeros PLA e PGA e de copolímeros de PLGA.....	15
Tabela 3- Algumas características dos copolímeros disponíveis no mercado (adaptado de MOTTA, 2002).....	22
Tabela 4- Tipos de sistemas de liberação controlada (COSTA, 2003).....	27
Tabela 5 - Quantidades dos monômeros e reagentes usadas nas sínteses do PLGA 82/18. ....	43
Tabela 6- Dados utilizados na construção da curva de calibração.....	48
Tabela 7- Identificação das amostras dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, estudadas em função do tempo de degradação <i>in vitro</i> . ....	49
Tabela 8- Volumes de reagentes, tempo de agitação e rendimento das sínteses do PLGA 82/18.....	55
Tabela 9- Bandas de absorção referente ao PLGA e suas atribuições.....	57
Tabela 10 - Propriedades térmicas dos copolímeros de PLGA 82/18 por TG.....	59
Tabela 11 - Temperaturas de transição vítrea dos copolímeros PLGA 82/18. ....	63
Tabela 12 - Massa molar média dos copolímeros PLGA 82/18. ....	64
Tabela 13 - Resultados das análises de TG para o estudo de degradação <i>in vitro</i> do PLGA 82/18, síntese 15.....	71
Tabela 14 - Resultados das $T_g$ 's e dos pH's para o estudo de degradação <i>in vitro</i> do PLGA 82/18, síntese 15.....	73
Tabela 15 - Resultados da análise reométrica do estudo de degradação <i>in vitro</i> do PLGA 82/18, síntese 15.....	76
Tabela 16 - Valores de concentração e absorbância para soluções de atenolol.....	86
Tabela 17 - Valores de $n$ , $k$ e $R^2$ obtidos pela regressão linear da Eq. 4, para os valores de até 60% de liberação, para as mantas de	

nanofibras (amostras M1, M2 e M3) e para os bastões (amostras B1, B2 e B3) de PLGA 82/18.....	93
Tabela 18 - Valores de $n$ , $k$ e $R^2$ obtidos pela regressão linear da Eq. 4, para os valores de até 20% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18,.....	95
amostras B1, B2 e B3. ....	95
Tabela 19- Bandas de absorção no FTIR e suas respectivas atribuições identificadas para o fármaco atenolol.....	101
Tabela A I. 1 - Quantidades dos monômeros e reagentes usadas nas sínteses do PLGA's 70/30 e 50/50. ....	124
Tabela A.II.1 - Volumes de reagentes, tempo de agitação e rendimento das sínteses dos PLGA's 70/30 e 50/50.....	125
Tabela A.XIII.1. – Resultado do ensaio com o MTT após 72 horas de contato. ....	172
Tabela A.XVIII.1 – Porcentagem de liberação de atenolol acumulada em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA, amostras M1, M2 e M3.....	194
Tabela A.XIX.1 – Porcentagem de liberação de atenolol acumulada em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA, amostras B1, B2 e B3. ....	195
Tabela A.XX.1 – Porcentagem da razão de liberação $M_t/M_\infty$ em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA em forma de mantas de nanofibras, amostras M1, M2 e M3. ....	196
Tabela A.XX.2 – Porcentagem da razão de liberação $M_t/M_\infty$ em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA em forma de bastões, amostras B1, B2 e B3.....	197

## NOTAÇÕES

AbsA	Absorbância das células em contato com as amostras
AbsC	Absorbância do controle
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
DrDSC	Calorimetria exploratória diferencial derivada
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DrTG/DrTGA	Derivada da curva termogravimétrica
D,L-PLA	Mistura racêmica do poli(lactídeo)
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle Medium</i>
D-PLA	Forma dextrógira do poli(lactídeo)
ETC	Câmara de teste ambiental
FTIR	Espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G'	Módulo elástico
G''	Módulo viscoso
HCl	Ácido clorídrico
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
$k$ (Eq. 1)	Constante que agrupa características estruturais e geométricas do sistema de liberação
$k$ (Eq. 2)	Constante de proporcionalidade que incorpora características da rede macromolecular
ln	Logaritmo neperiano
L-PLA	Forma levógira do poli(lactídeo)
M	Quantidade total de fármaco liberada
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
M <sub>t</sub>	Quantidade cumulativa de fármaco liberada no tempo t
M <sub>∞</sub>	Quantidade cumulativa de fármaco liberada no tempo infinito
MTT	sal de tetrazolina [3-(4,5-dimetyl-2-thiazolyl-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)]
n	Expoente de liberação

PA	Poli(acrilamida)
PBS	Solução tampão fosfato salino
PGA	Poli(glicolídeo)
pH	Potencial hidrogeniônico
PHEMA	Poli(2-hidroxi-etil-metacrilato)
PLA/PLLA	Poli(lactídeo)
PLGA	Poli(lactídeo-co-glicolídeo)
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
PVP	Poli(vinilpirrolidona)
SAOS	Células de sarcoma humano de linhagem
SDS	Duodecil sulfato de sódio
SFB	Soro fetal bovino
R <sup>2</sup>	Coeficiente de correlação linear
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Sn(Oct) <sub>2</sub>	Octanoato de estanho
t	Tempo em minutos (estudo de liberação)
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea
TG/TGA	Termogravimetria
T <sub>i</sub>	Temperatura de início de evento térmico
T <sub>m</sub>	Temperatura de fusão
T <sub>deg.máx.</sub>	Temperatura onde a taxa de degradação de evento térmico na TG é máxima
UV-VIS	Espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível
VC	Viabilidade celular (%)
λ	Comprimento de onda

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a descoberta dos polímeros, muitos estudos vêm sendo realizados para ampliar sua capacidade de aplicação. A grande maioria desses polímeros está no nosso dia a dia e podem ser divididos, de acordo com o comportamento mecânico, em duas grandes classes de materiais: elastômeros (borracha) e plásticos. Sacos plásticos feitos de polietileno, painéis com revestimento de Teflon<sup>®</sup>, pneus de carro, Isopor<sup>®</sup>, látex extraído da seringueira, celulose extraída da madeira e colágeno presente em cartilagens e ossos são alguns desses polímeros que estão no nosso cotidiano.

Muitos tipos de dispositivos cirurgicamente implantáveis, que exercem função temporária no organismo, podem ser obtidos a partir de polímeros que, ao sofrerem degradação, geram produtos totalmente metabolizados no meio fisiológico (STEVANOVIĆ *et al.*, 2009; HOFFMAN, 2008; PARK *et al.*, 2008; PAMULA e MENASZAK, 2008). Uma grande vantagem desses polímeros, que são utilizados como materiais biorreabsorvíveis, é que antes de serem eliminados cumprem a proposta inicial de recuperação do tecido ou órgão. Apesar das primeiras aplicações desses polímeros terem sido como materiais de suturas cirúrgicas, outras aplicações como implante para fixação de fraturas e dispositivos de liberação de drogas já fazem parte de procedimentos médicos (DUARTE *et al.*, 2014; STEVANOVIĆ e SHOKOVIĆ, 2009; STEVANOVIĆ *et al.*, 2008; LIANGA *et al.*, 2013; MENGA *et al.*, 2011).

Devido suas diversas aplicações e funcionalidades, especialmente em terapias de liberação de fármaco, os polímeros estão dentre os excipientes mais utilizados para a obtenção de formas farmacêuticas (RIOS, 2005). Durante a liberação de fármaco o polímero é usado como um agente ativo protetor (MUNDARGI *et al.*, 2008; COHEN-SELA *et al.*, 2009; BAE *et al.*, 2009).

As pesquisas farmacêuticas básicas concentram-se, há muitos anos, na busca de novas fórmulas com ações terapêuticas mais seletivas, duradouras e com efeitos colaterais menores e menos intensos. Simultaneamente, com a investigação de novos fármacos ou de sua melhoria, vários trabalhos têm sido direcionados na busca de novas formas de administração, que também ofereçam benefícios para os pacientes, buscando uma via de administração mais cômoda, diminuindo o número de aplicações, em intervalos de tempo cada vez maiores, e otimizando a atividade terapêutica. Assim, surgiram as formas

farmacêuticas de liberação retardada (em que o fármaco é liberado totalmente, mas não imediatamente após sua administração, e sim após um tempo pré-fixado), de liberação prolongada (em que ocorre a liberação do princípio ativo ao longo do tempo que assegura níveis plasmáticos terapêuticos durante 6 a 8 horas) e formas de liberação sustentada (em que a liberação se prolonga durante um intervalo relativamente longo, que pode ser alguns dias até vários meses). Atualmente, prefere-se o termo, mais geral, de liberação modificada, onde se incluem todas aquelas que, de uma forma ou outra, promovem modificações nos processos que são determinantes na liberação do fármaco (AHUJA *et al.*, 1997).

Na década de 70 do século passado surgiu no mercado o primeiro copolímero (Vicril®) constituído por unidades provenientes do ácido láctico e do ácido glicólico, o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) - PLGA. O grande interesse nesse copolímero vem do fato de suas propriedades mecânicas e do tempo de degradação poderem ser modificados por meio da razão entre os monômeros (SOARES *et al.*, 2005; JI *et al.*, 2012; KANG *et al.*, 2008, QI *et al.*, 2014; SUN *et al.*, 2013; ERBETTA *et al.*, 2011; ERBETTA *et al.*, 2012).

Diante do exposto, desenvolveu-se este trabalho que será descrito pelos itens a seguir. Item 2, objetivos geral e específicos. Item 3, revisão bibliográfica introduzindo e discutindo alguns conceitos relativos aos polímeros em geral, polímeros biodegradáveis (em especial o poli(lactídeo) - PLA, o poli(glicolídeo) - PGA e o copolímero PLGA), processos de degradação, sistemas de liberação de fármaco, modelagem de liberação, o fármaco atenolol e algumas técnicas de caracterização. O item seguinte aborda a metodologia e os materiais utilizados na parte experimental. Os experimentos envolveram a realização da síntese do PLGA e sua caracterização, o estudo da sua degradação e o estudo de liberação do fármaco atenolol. No item 5 os resultados obtidos na parte experimental são apresentados e discutidos. As conclusões obtidas no presente trabalho e as sugestões para estudos futuros aparecem no item 6. No final do documento encontram-se os anexos com todos os dados obtidos durante a execução deste trabalho.

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Padronizar a rota de síntese do PLGA, desenvolvida por ERBETTA (2010), caracterizá-lo utilizando-se várias técnicas, estudar sua degradação *in vitro* e avaliar seu potencial como dispositivo para liberação de fármacos.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o PLGA;
- Caracterizar o PLGA sintetizado pelas técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) e reometria;
- Produzir dispositivos de PLGA com e sem o fármaco atenolol incorporado na forma de bastões e na forma de mantas de nanofibras, caracterizando-os por FTIR, DSC, TG e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Estudar a degradação do PLGA em solução tampão fosfato salino (PBS) por meio das técnicas de FTIR, DSC, TG, MEV e reometria;
- Avaliar a atividade citotóxica do PLGA sintetizado, com e sem o fármaco atenolol, como início do estudo de sua biocompatibilidade e avaliar sua potencialidade para aplicação clínica;
- Investigar a liberação do atenolol, a partir dos dispositivos produzidos, em solução tampão fosfato salino por meio de análise da concentração da solução, utilizando-se a espectrofotometria de absorção na região ultravioleta-visível;
- Estudar a cinética de liberação do atenolol a partir dos dois tipos de dispositivos: bastões e mantas de nanofibras de PLGA;
- Caracterizar os dispositivos de PLGA, após os ensaios de liberação do fármaco atenolol, por FTIR, DSC e TG.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste tópico são abordados conceitos importantes para o desenvolvimento do trabalho, tais como:

- ✓ Polímeros, no que diz respeito a sua estrutura, classificação e mecanismos de polimerização e degradação;
- ✓ Classe de polímeros biodegradáveis, em especial os polímeros lactídeo, glicolídeo e PLGA;
- ✓ Liberação de fármacos, aplicação de polímeros em sistemas de liberação e mecanismos e modelos cinéticos de liberação;
- ✓ Características do fármaco atenolol;
- ✓ Técnicas e métodos analíticos utilizados nesta pesquisa.

#### 3.1. POLÍMEROS

A palavra polímero tem origem no vocábulo grego *polumeres*, composto por *polu* (que pode ser traduzido como *muitas*) e *meres* que significa *partes*. Polímeros são, portanto, substâncias químicas formadas por muitas partes. A estrutura molecular de um polímero consiste na repetição de pequenas unidades, ligadas por covalência, originando uma molécula muito grande.

De acordo com a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), polímero pode ser definido como: “Substâncias compostas de átomos ou grupos de átomos (unidades de repetição ou monômeros) interligados entre si em quantidades suficientes para desenvolver um conjunto de propriedades que não varie significativamente com a adição de uma ou mais unidades de repetição” (GEDDE, 1999).

Polímeros são macromoléculas caracterizadas por seu tamanho, estrutura química e interações intra e intermoleculares. A diferença entre macromoléculas e polímero consiste no fato de que nesse a alta massa molar é proveniente de unidades estruturais simples e, no caso de macromoléculas, é consequência da complexidade molecular, como as macromoléculas presentes nos organismos vivos. Assim, os polímeros são considerados macromoléculas, mas a recíproca não é obrigatoriamente verdadeira (AKCELRUD, 2007).

Existem também moléculas de baixa massa molar, conhecidas como oligômeros, que consiste em uma substância com poucos meros. Suas

propriedades físicas variam com a adição ou a remoção de um ou mais meros de sua estrutura molecular (SILVA, 2006).

As moléculas que constituem os polímeros geralmente estão ligadas umas as outras por meio de ligações covalentes, enquanto moléculas separadas ou segmentos de uma mesma molécula são atraídos por forças intermoleculares, também chamadas de forças secundárias, tais como ligações de hidrogênio e forças de *Van der Waals*. As ligações covalentes são caracterizadas por sua grande energia (35 a 150Kcal.mol<sup>-1</sup>), pequena distância interatômica e por manter os ângulos entre as ligações sucessivas relativamente constantes. As forças secundárias são mais difíceis de caracterizar, pois atuam entre as moléculas ou segmentos da mesma molécula. A intensidade desse tipo de força, que pode chegar até 10Kcal.mol<sup>-1</sup>, diminui significativamente com o aumento da distância entre as moléculas e pode ser vista como a energia de equilíbrio entre as forças de atração e repulsão das moléculas (RODRIGUEZ, 1982).

De uma forma geral, as ligações covalentes governam a estabilidade térmica e fotoquímica dos polímeros. Já as forças secundárias determinam a maioria das propriedades físicas associadas a compostos específicos. Propriedades como fusão, dissolução, adsorção, difusão, deformação, etc. envolvem a formação e/ou o rompimento dessas interações secundárias. Nos polímeros essas forças também são responsáveis pelos movimentos de segmentos da molécula (RODRIGUEZ, 1982).

Os monômeros são moléculas simples que reagem entre si para dar origem aos polímeros. A reação que promove a união dos monômeros para formar um polímero é chamada de polimerização.

Quando o polímero é formado por apenas um tipo de monômero ou unidade repetitiva, usa-se a expressão homopolímero ou simplesmente polímero. Já quando há mais de um tipo de monômero na composição do polímero, emprega-se o termo copolímero. Os copolímeros cujas unidades de repetição não seguem qualquer ordenação, dispendo-se ao acaso, são chamados de copolímeros estatísticos ou aleatórios. Quando há uma perfeita regularidade de constituição, com os monômeros dispendo-se de modo alternado, são chamados de copolímeros alternados. Quando, ao invés de uma unidade monomérica de cada tipo, alternam-se sequências de unidades iguais, o

produto é denominado copolímero em bloco. No caso particular desses blocos existirem como ramificações poliméricas da cadeia principal da macromolécula, o copolímero é dito graftizado ou enxertado (MANO, 1991).

No estado sólido, o polímero pode apresentar dois arranjos distintos: amorfo (também denominado de estado vítreo) e parcialmente cristalino. Esse último é formado pela estabilização de parte das cadeias poliméricas em uma estrutura regular e ordenada, semelhante aos metais. Dependendo do grau de cristalinidade que o polímero apresentar, essa estrutura regular estará inserida em regiões amorfas ou as conterá em seu meio. A cristalinidade depende de alguns requisitos para ocorrer. Quanto mais linear o polímero, maior a possibilidade de se ter regiões cristalinas em sua estrutura. As ramificações impedem a aproximação das cadeias poliméricas e, conseqüentemente, a formação dos arranjos cristalinos. Outro requisito diz respeito às forças secundárias, que devem manter as regiões dessas estruturas ordenadas e estáveis. Além disso, a cristalinidade ainda está relacionada com as propriedades óticas dos materiais. Para um polímero puro a cristalinidade é proporcional à transparência do material, isto é, quanto mais cristalino mais opaco será o polímero (SILVA, 2006).

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e a temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) são as temperaturas que registram as mudanças de estado físico do polímero. A  $T_g$  pode ser definida como sendo a temperatura na qual a mobilidade das cadeias moleculares se restringe devido à interação entre as moléculas com a diminuição da temperatura. Isso ocorre como consequência da rotação das ramificações em torno das ligações primárias e está relacionada com a parte amorfa dos polímeros. Abaixo da  $T_g$ , o material torna-se rígido, pois não há mobilidade e, acima  $T_g$ , a molécula polimérica tem mais energia, chegando a ser possível o movimento de pequeno alcance dos segmentos moleculares. Nesse estado, os movimentos que podem conduzir o material a fluir estão limitados pela reticulação ou emaranhamento das cadeias poliméricas, que conduzem à formação de ligações secundárias entre as moléculas. Nos casos de polímeros parcialmente cristalinos, as zonas de cristalinidade podem, também, restringir o fluxo do material (MANO, 1991). A  $T_m$  pode ser definida como sendo a temperatura em que, acima da qual, as cadeias poliméricas têm

liberdade de movimento para fluírem. Ela separa ou delimita o estado líquido viscoso (*melt*) do estado de borracha.

Acima da  $T_m$ , o polímero encontra-se no estado líquido viscoso, ou seja, as moléculas do polímero possuem energia suficiente para vencer as restrições impostas pelo emaranhamento de sua cadeia e pelas forças secundárias, podendo fluir. Isso só ocorrerá se a temperatura de fusão for inferior à temperatura de decomposição do material. Reduzindo a temperatura abaixo de  $T_m$ , pode ocorrer a formação de cristais na cadeia até se atingir a temperatura de transição vítrea,  $T_g$ , em que, abaixo dela, não há mais a possibilidade de cristalização. Vale ressaltar que a taxa de cristalização do polímero depende da taxa de resfriamento do sistema, ou seja, se o resfriamento for rápido a formação de cristais vai ser menor que em um resfriamento lento. Entre  $T_m$  e  $T_g$ , existe o estado chamado de borracha, em que as moléculas se dispõem aleatoriamente, como resultado da livre rotação em torno das ligações covalentes simples da cadeia principal. Várias propriedades mudam de valor consideravelmente ao se passar do estado de borracha para o estado vítreo, como consequência da variação na mobilidade molecular (SILVA, 2006).

Quanto à síntese do polímero, a polimerização por adição é uma reação em cadeia, em que unidades monoméricas bifuncionais são agrupadas, uma de cada vez, para formar uma macromolécula. Apresenta três etapas reacionais: iniciação, propagação e terminação. Na iniciação, um centro ativo capaz de propagação é formado por meio de uma reação entre uma espécie iniciadora e uma unidade monomérica. A propagação envolve o crescimento da molécula à medida que unidades do monômero são adicionadas sucessivamente ao centro ativo formado na fase de iniciação, gerando novo centro ativo. A terminação envolve a desativação da cadeia que se propaga por meio de reações com espécies químicas ativas ou inertes, encerrando o crescimento (MANO e MENDES, 2001; CALLISTER, 2002).

A polimerização por condensação é uma reação em estágios, há formação de polímeros mediante reações químicas intermoleculares, etapa por etapa, normalmente envolvendo mais de um tipo de monômero. Geralmente existe um subproduto de baixa massa molar, como água, sendo eliminado. Nenhum componente reagente possui a fórmula química da unidade mero que

se repete e a reação intermolecular ocorre toda vez que uma unidade de mero repetida é formada (MANO e MENDES, 2001; CALLISTER, 2002).

### **3.1.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS**

O crescimento explosivo da indústria de polímeros, após a segunda guerra mundial, levou à descoberta de alguns novos materiais com propriedades variadas. Inicialmente, a pesquisa de biomateriais poliméricos foi restrita a polímeros estáveis, tais como o Dacron<sup>®</sup> e o Teflon<sup>®</sup>, que eram considerados “biologicamente inertes” naquela época. Durante a década de 1980 foi reconhecido que a inatividade nem sempre é a propriedade mais desejada. Nesse tempo, grandes avanços foram alcançados com o desenvolvimento de novos polímeros biodegradáveis (PARATO, 2005).

Polímeros biodegradáveis podem ser de origem sintética ou natural. O uso de polímeros naturais é limitado pela dificuldade na purificação e produção em larga escala. Com o avanço na ciência dos polímeros, muito conhecimento foi adquirido ao longo dos últimos 30 anos na síntese, manuseio e mecanismo de degradação de muitos polímeros biodegradáveis sintéticos. Hoje, muitos polímeros biodegradáveis sintéticos estão sendo empregados com sucesso na liberação de fármacos. Independente de sua fonte e composição química, todos os polímeros biodegradáveis possuem algumas características comuns, tais como: estabilidade e compatibilidade com a molécula do fármaco, biocompatibilidade e biodegradabilidade, facilidade na produção em larga escala, possibilidade de esterilização e flexibilidade para oferecer vários perfis de liberação. Polímeros biodegradáveis podem ser divididos em polímeros solúveis em água e polímeros insolúveis em água. O polímero biodegradável solúvel em água pode ser usado como transportador (veículo) para direcionar fármacos a locais específicos (XIAOLING e HASKARA, 2006).

A biocompatibilidade e a ausência de toxicidade do polímero são considerações importantes no projeto de um sistema de liberação de fármacos, especialmente para aqueles projetados para aplicações sistêmicas (XIAOLING e HASKARA, 2006).

Na Tabela 1 pode-se ver uma lista representativa de polímeros que têm sido investigados para aplicações em liberação de fármacos e que podem ser amplamente classificados em biodegradáveis e não-biodegradáveis.

Tabela 1- Lista representativa dos polímeros usados em sistemas de liberação de fármacos (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001).

<b>Classificação</b>	<b>Polímeros</b>
<b>Polímeros naturais</b>	
Polímeros a base de proteínas	Colágeno, albumina, gelatina
Polissacarídeos	Agarose, alginato, carragenina, ácido hialurônico, dextran, quitosana, ciclodextrinas
<b>Polímeros Sintéticos Biodegradáveis</b>	
Poliéster	Poli(ácido lático), poli(ácido glicólico) poli(hidroxibutirato), poli( $\epsilon$ -caprolactona) poli(ácido $\beta$ -málico), poli(dioxanonas)
Polianidridos	Poli(ácido sebácico), poli(ácido adípico) poli(ácido terftálico) e vários copolímeros
Poliamidas	Poliaminocarbonatos, poliaminoácidos
Polímeros fosforosos	Polifosfatos, polifosfonatos, polifosfazenos
Outros	Policiano acrilatos, poliuretanos, éster poliorto, polidihidropirans
<b>Polímeros Sintéticos Não-Biodegradáveis</b>	
Derivados da celulose	Carboximetil celulose, etilcelulose, celulose acetato, celulose acetato propionato, hidroxipropil, metilcelulose
Silicones	Poli(dimetilsiloxano), sílica coloidal
Polímeros acrílicos	Polimetacrilatos, poli(metilmetacrilato), Poli(hidroetilmetacrilato)
Outros	Poli(vinilpirrolidona), etilvinilacetato, polioxameros, polioxaminas

Os poliésteres poli(lactídeo) – PLA - e poli(glicolídeo) - PGA, foram os primeiros materiais a serem usados com sucesso como suturas ao longo das últimas quatro décadas e seus produtos de degradação são conhecidos por serem não tóxicos, sendo seu processo de eliminação bem estabelecido (XIAOLING e HASKARA, 2006). Eles são polímeros de grande utilização na área

farmacêutica. Fazem parte do grupo de polímeros que possuem grupos hidrolisáveis em suas cadeias (CHERA e RUSTGI, 1998), os quais são susceptíveis à biodegradação (ANGELOVA e HUNKELER, 1999).

A biodegradação é um processo natural pelo qual produtos químicos orgânicos no ambiente são convertidos a componentes simples, mineralizados e redistribuídos por meio dos ciclos elementares como os do carbono, nitrogênio e enxofre (CHERA e RUSTGI, 1998).

Com respeito aos polímeros biodegradáveis, é essencial reconhecer que a degradação é um processo químico e a erosão é um fenômeno físico dependente dos processos de difusão e dissolução (PILLAIL e PANCHAGNULA, 2001). A biodegradabilidade pode ser manipulada pela incorporação de uma variedade de grupos instáveis como éster, ortoéster, anidrido, carbonato, amida, ureia e uretano na cadeia principal (MANO *et al.*, 2004). Essas vias de degradação podem ocorrer separadamente ou de forma simultânea e são muitas vezes influenciadas pelos seguintes fatores: estrutura e composição química do polímero, fatores físico-químicos (carga iônica, força iônica e pH), fatores físicos (forma, tamanho, defeitos na cadeia), morfologia (amorfo, semi-cristalino, microestrutura, estresse residual), mecanismo de degradação (enzimático, hidrolítico, microbiano), distribuição de massa molar, rota de administração e sítio de ação (PILLAIL e PANCHAGNULA, 2001).

Inúmeros polímeros biodegradáveis sintéticos estão disponíveis e ainda em desenvolvimento para aplicações em liberação modificada e direcionada de fármacos. Existem muitos trabalhos na literatura que descrevem vários meios de alterar o desempenho desses polímeros em sistemas de liberação. Desenvolvimento e otimização de tais sistemas de liberação de fármacos podem oferecer conforto e condescendência ao paciente. Esses sistemas, em muitos casos, reduzem a dose de ingestão e, portanto, a toxicidade indesejada, bem como oferece uma melhor eficácia terapêutica devida à contínua disponibilidade do fármaco em doses terapêuticas por um longo período de tempo. Sistemas de microesferas e implantes têm assumido a liderança nos sistemas de liberação de fármacos usando polímeros biodegradáveis. No entanto, questões relacionadas com inflamação no local da injeção, reprodutibilidade na liberação do fármaco e transferência da escala de laboratório para lotes industriais viáveis, precisam ser

abordadas para estender os benefícios do sistema biodegradável de liberação para um maior grupo de fármacos e condições terapêuticas (XIAOLING e HASKARA, 2006).

### 3.1.2. POLÍMERO PLA

PLA é um poliéster relativamente hidrofóbico, instável em condições úmidas e biodegradável a subprodutos atóxicos (ácido lático, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O), presentes no metabolismo de animais e microrganismos. Portanto, apresenta potencial para aplicações nas áreas médicas e farmacêuticas, principalmente como dispositivos temporariamente implantáveis (suturas, grampos, nano-reservatórios para drogas, etc.).

O ácido lático possui um carbono beta assimétrico que permite a obtenção de polímeros nas formas levógira (L-PLA), dextrógira (D-PLA) ou racêmica (D,L-PLA), sendo que as formas levógira e dextrógira são semicristalinas, devido à elevada regularidade da cadeia polimérica, e a forma racêmica é amorfa, por apresentar irregularidades na estrutura da cadeia do polímero (MERKLI *et al.*, 1998).

O polímero semicristalino L-PLA é um material que exhibe alta resistência à tração e baixa elasticidade e, conseqüentemente, tem alto módulo de tensão, algo que o torna mais apto para aplicações de suporte de carga como em fixação ortopédica e suturas. O poli(D,L-lactídeo) (D,L-PLA) é um polímero amorfo exibindo uma distribuição aleatória de ambas as formas isômeras do ácido lático, portanto, não é capaz de organizar-se em uma estrutura cristalina. Esse material tem menor resistência à tração, maior alongamento e um menor tempo de degradação, tornando-o mais atrativo para aplicações em sistema de liberação de fármacos. O L-PLA tem cerca de 37% de cristalinidade, com ponto de fusão entre 175 e 178°C e temperatura de transição vítrea de 60 a 65°C. O tempo de degradação do L-PLA é muito maior que o do D,L-PLA, necessitando de mais de 2 anos para ser completamente decomposto. Copolímeros de L-PLA e D,L-PLA têm sido preparados para alterar a cristalinidade do L-PLA e acelerar seu processo de degradação (MIDDLETON e TIPTON, 1998).

PLA apresenta o perfil geral de degradação típico dos poliésteres semicristalinos alifáticos biorreabsorvíveis, sofrendo clivagem das cadeias por cisão hidrolítica das ligações éster. A cisão ocorre de forma randômica, não enzimática, com o processo de biorreabsorção ocorrendo em duas fases, hidrólise e metabolização (DESOGUS *et al.*, 2005).

Quando o PLA é obtido diretamente a partir da policondensação do ácido láctico, usando esse como monômero, ele é chamado poli(ácido láctico), e quando é obtido a partir do dímero, por abertura do anel do lactídeo, chama-se poli(lactídeo). O poli(ácido láctico) e o poli(lactídeo) apresentam a mesma fórmula estrutural, sendo a diferença de nomenclatura utilizada apenas para diferenciar o processo de síntese, por meio da identificação do monômero de partida (DESOGUS *et al.*, 2005). A equação de síntese do PLA a partir do lactídeo é apresentada na Figura 1.

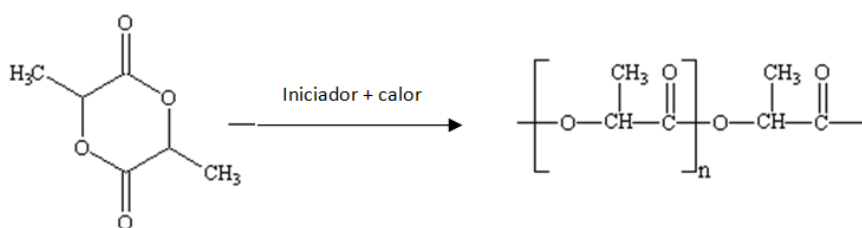


Figura 1 - Equação de síntese do poli(lactídeo).

### 3.1.3. POLÍMERO PGA

PGA é o mais simples poliéster alifático linear e foi utilizado para desenvolver a primeira sutura sintética totalmente absorvível, comercializada como Dexon<sup>®</sup> a partir de 1960. O monômero glicolídeo é sintetizado a partir da dimerização do ácido glicólico. A polimerização via abertura do anel gera materiais de alta massa molar, com cerca de 1 a 3% de monômeros residuais presentes. A equação de síntese do PGA a partir do glicolídeo é mostrada na Figura 2. PGA apresenta cristalinidade em torno de 45 a 55%, com ponto de fusão entre 220 e 225°C e temperatura de transição vítrea na faixa de 35 a 40°C. Devido ao seu grau de cristalinidade, ele não é solúvel na maioria dos solventes orgânicos; as exceções são solventes altamente fluorados, tal como o

hexafluorisopropanol. Fibras de PGA apresentam alta resistência e módulo de tensão e são demasiadamente rígidas para serem utilizadas como suturas, exceto sob forma de material trançado. Suturas de PGA perdem cerca de 50% de sua resistência após 2 semanas, 100% em 4 semanas e são completamente degradadas entre 4 e 6 meses. Glicólídeo tem sido copolimerizado com outros monômeros para reduzir a rigidez das fibras (MIDDLETON e TIPTON, 1998).

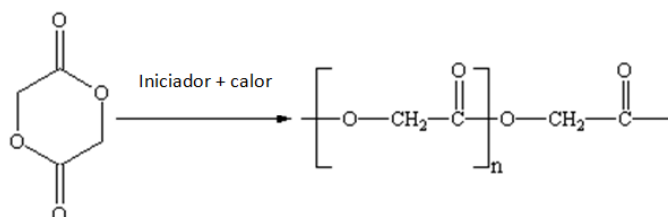


Figura 2 - Equação de síntese do poli(glicolídeo).

O interesse sobre o PGA, como um polímero biodegradável de aplicação médica, reside no fato de que o produto de degradação do ácido glicólico é um metabólito natural. Numerosos estudos têm estabelecido um mecanismo simples de degradação via erosão homogênea. O processo de degradação ocorre em duas fases, a primeira envolve a difusão de água para as regiões amorfas da matriz com a simples cisão hidrolítica da cadeia dos grupos ésteres. A segunda etapa da degradação envolve amplamente as regiões cristalinas do polímero, as quais se tornam predominantes quando a maioria das regiões amorfas são erodidas (GUNATILLAKE e ADHIKARI, 2003).

#### 3.1.4. COPOLÍMERO PLGA

Os copolímeros de ácido lático e ácido glicólico são poliésteres cuja principal característica é a ligação éster presente entre os meros (Figura 3). Esses copolímeros podem apresentar cadeias lineares e ramificadas, taxa constante de biodegradação, cristalinidade, geometria regular de cadeias individuais e comportamento termoplástico. Eles possuem um centro assimétrico, apresentado pelo ácido lático (PLA) em uma mistura racêmica (D,L-PLA) ou por uma das suas formas levógira (L-PLA) ou dextrógira (D-PLA), ligada

de forma alternada ao polímero ácido glicólico (PGA) (JAIN, 2000; HANS e LOWMAN, 2002; CAI *et al.*, 2003; MERKLI *et al.*, 1998; KHARE *et al.*, 2014). A equação de copolimerização do PLGA e as estruturas químicas dos dímeros e do PLGA são apresentadas na Figura 3 (KIREMITÇI – GÜMÜSDERELIOGLU e DENIZ, 1999).

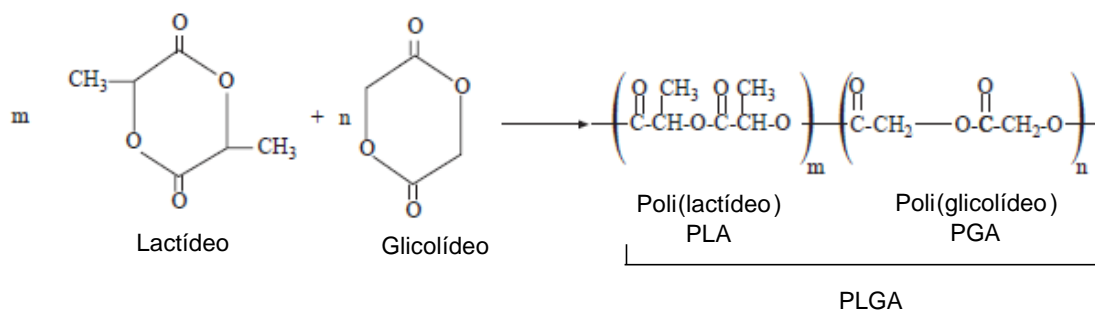


Figura 3 - Estruturas químicas dos dímeros e do polímero PLGA e equação de copolimerização do PLGA.

Até 1960, polímeros hidroliticamente instáveis eram considerados uma descoberta desastrosa. Entretanto, com o avanço das pesquisas, esses materiais passaram a despertar o interesse nas áreas médica e farmacêutica, especialmente devido à possibilidade de serem utilizados em implantes temporários (suturas, grampos, nanorreservatórios para fármacos, etc.). Semelhante ao PLA, o PLGA é também um poliéster relativamente hidrofóbico, instável em condições úmidas e biodegradável a subprodutos atóxicos (ácido láctico, ácido glicólico, dióxido de carbono e água). Os polímeros derivados dos ácidos láctico e glicólico têm recebido muita atenção nas pesquisas de polímeros biodegradáveis alternativos, existindo diversos estudos demonstrando sua baixa toxicidade, inclusive com aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para a utilização como sistemas de liberação de fármacos (SOARES *et al.*, 2005; STEVANOVIĆ *et al.*, 2009; STEVANOVIĆ e SKOKOVIĆ, 2009).

O lactídeo é mais hidrofóbico que o glicolídeo, portanto copolímeros de PLGA ricos em ácido láctico são menos hidrofílicos, absorvem menos água e degradam mais lentamente (JAIN, 2000). É importante salientar que a relação entre a razão entre ácido glicólico e ácido láctico, com as propriedades físico-químicas do correspondente copolímero, não é linear. Embora o PGA seja

altamente cristalino, a cristalinidade é rapidamente perdida em copolímeros de ácido lático e ácido glicólico. Essas mudanças morfológicas levam a um incremento nas taxas de hidratação e hidrólise (RATNER e HOFFMAN, 1996).

O glicolídeo é muito mais reativo que o D,L-lactídeo. Isso leva à formação de copolímeros com sequência de blocos ao longo da cadeia (BENDIX, 1998). Inclusão de glicolídeo na cadeia do poli(lactídeo) altera a cristalinidade, solubilidade, taxa de biodegradação e absorção de água pelo polímero (XIAOLING e HASKARA, 2006). Segundo GILDING e REED (1979), o glicolídeo tem uma reatividade maior que o lactídeo e é sempre encontrado no polímero final em uma maior proporção que aquela em que foi adicionado na mistura de monômeros antes da reação ter início. Essa maior reatividade por parte do glicolídeo, durante a polimerização, pode ser comprovada pela técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (ERBETTA *et al.*, 2012).

A hidrofiliabilidade e a lipofiliabilidade dos polímeros de PLGA são determinadas pela proporção de ácidos lático e glicólico na sua constituição. O ácido lático possui maior hidrofobicidade devido à presença do grupo metila na sua estrutura e o PGA é bastante susceptível a hidrólise (FIALHO *et al.*, 2003).

Alguns dados referentes ao comportamento dos diferentes copolímeros de PLGA, do PLA e PGA são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Propriedades dos polímeros PLA e PGA e de copolímeros de PLGA.

Polímeros ou copolímeros	Temperatura de transição vítrea (°C)	Temperatura de fusão (°C)	Tempo de degradação aproximado (meses)*
PLGA 50:50	45 a 50	Amorfo	2
PLGA 75:25	60	Amorfo	2 a 4
PLGA 85:15	45	Amorfo	5
D,L-PLA	57 a 59	Amorfo	12 a 16
L-PLA	60 a 67	172 a 174	18 a 24
PGA	36	230	2 a 4

\* O tempo de degradação pode variar de acordo com a superfície, porosidade e massa molar do sistema.  
Fonte: Lewis, (1990)

O polímero PLGA na proporção 75:25 (PLGA 75/25), constituído por 75% de D,L-PLA e 25% de PGA apresenta temperatura de transição vítrea em torno de 60°C (Tabela 2), estado amorfo e degradação em um período de dois a quatro meses. Diferentes valores nas transições vítreas e degradabilidade podem ser observados, uma vez que dependem da forma de processamento dos materiais e do tamanho da cadeia polimérica. Por exemplo, um estudo desenvolvido por FIALHO e colaboradores (2003) mostrou que a temperatura de transição vítrea para o PLGA 75/25 foi de, aproximadamente, 50°C e o tempo de degradação desse copolímero foi de dois meses.

A principal vantagem do PLGA sobre outros polímeros biorreabsorvíveis é que esse copolímero requer um menor tempo para sua completa degradação, implicando menor probabilidade de reações adversas, as quais decorrem, muitas das vezes, de fragmentos cristalinos liberados por polímeros cujo tempo de degradação seja excessivamente longo. Por sua cadeia polimérica possuir o mero proveniente do ácido glicólico, que possui menor impedimento ao ataque das moléculas de água quando comparado ao ácido láctico, a estrutura química do PLGA é mais suscetível à reação de hidrólise quando se compara ao PLLA, cuja cadeia polimérica é formada apenas por meros oriundos do ácido láctico (ASTETE e SABLIOV, 2006; HOUCHIN e TOPP, 2008; TRACY *et al.*, 1999; TSUKADAA *et al.*, 2009; XIÃO *et al.*, 2014)

Muitos pesquisadores têm investigado e documentado a biodegradação e biocompatibilidade do PLA e PLGA. Os primeiros trabalhos sobre liberação controlada de fármacos utilizando o PLA foram relatados por Boswell, Yolles, Sinclair, Wise e Beck (JAIN, 2000, WU, 1995; LEWIS, 1990, VERT, 1996). Desde então, um número expressivo de literatura a respeito de liberação controlada usando PLA e, especialmente PLGA, tem sido publicado. Vários dispositivos poliméricos como microesferas, microcápsulas, nanopartículas, *pellets*, implantes e filmes têm sido fabricados usando esses polímeros para liberação de uma variedade de classes de fármacos.

Os primeiros trabalhos sobre a síntese de polímeros de baixa massa molar do lactídeo e glicolídeo foram realizados há algumas décadas. Durante o final dos anos 1960 e início dos anos 1970, vários pesquisadores publicaram

trabalhos pioneiros sobre a utilização desses polímeros como suturas e fibras. Lowe foi o primeiro a reportar os métodos para síntese desses polímeros com alta massa molar (TICE e TABIBI, 1991; WU, 1995; LEWIS, 1990; KITCHELL E WISE, 1985).

A copolimerização do PLGA pode ser realizada basicamente por dois caminhos: 1) reação de policondensação direta do ácido lático e do ácido glicólico, obtendo-se copolímero de baixa massa molar (LUNT, 1998); 2) polimerização via abertura dos dímeros cíclicos do ácido lático (lactídeo) e do ácido glicólico (glicolídeo), resultando em copolímeros de alta massa molar e, conseqüentemente, propriedades mecânicas distintas (BENDIX, 1998).

O estado físico do ácido lático (D,L-PLA) é amorfo por apresentar irregularidades na estrutura da cadeia do polímero (MERKLI *et al.*, 1998). Logo, prefere-se a utilização do PLGA nesse estado, uma vez que é possível uma dispersão mais homogênea do fármaco na matriz polimérica (ATHANASIOU *et al.*, 1996).

Na produção de polímeros para aplicações médicas, dois sais de estanho, cloreto de estanho(II) e 2-etilexanoato de estanho(II), abreviado como octanoato de estanho [Sn(Oct)<sub>2</sub>], têm sido usados como iniciadores (BENDIX, 1998).

O Sn(Oct)<sub>2</sub> é frequentemente escolhido como iniciador da reação de polimerização, via abertura dos anéis dos dímeros cíclicos, em virtude de apresentar alta taxa de reação, baixo grau de racemização (mesmo em altas temperaturas) e também pelo fato de ser aprovado pelo FDA. Além disso, esse composto é comercialmente disponível, fácil de manusear e solúvel em solventes orgânicos comuns e monômeros de éster cíclicos (KORHONEN *et al.*, 2001). O uso do octanoato de estanho é permitido como aditivo alimentar em muitos países, o que significa que a sua toxicidade é extremamente baixa quando comparada a outros sais de metais pesados (KRICHELDORF *et al.*, 1995). Iniciadores baseados em Sn (II) são utilizados industrialmente por empresas como Cargil<sup>®</sup> e Dow<sup>®</sup> (KOWALSKI *et al.*, 2000).

O mecanismo de reação do Sn(Oct)<sub>2</sub> ainda não foi totalmente elucidado, apesar dos recentes progressos nesse sentido. Vários mecanismos têm sido propostos para polimerização induzida pelo Sn(Oct)<sub>2</sub> (SCHWACH *et al.*, 1997;

ZHANG *et al.*, 1994; DUDA *et al.*, 2000). De acordo com a maioria dos resultados (KOWALSKI *et al.*, 2000; DUDA *et al.*, 2000), o Sn(Oct)<sub>2</sub> reage primeiramente com compostos contendo grupos hidroxilas para formar um alcóxido de estanho, o qual atua como iniciador na polimerização, sendo esse mais reativo que o Sn(Oct)<sub>2</sub>. Com isso, o uso de álcool, como co-iniciador, tende a aumentar a taxa da reação de polimerização. A propagação é interrompida por meio de uma transferência de cadeia com outra molécula de álcool que gera polímeros com terminação hidroxila, de massa molar dependente da razão entre monômero/co-iniciador. A estrutura do polímero depende do álcool usado como co-iniciador. Álcoois mono e bifuncionais geram polímeros lineares, enquanto que álcool com número de hidroxilas maior que 2 gera polímeros ramificados (KORHONEN *et al.*, 2001). O iniciador octanoato de estanho é bastante ativo na promoção de reação de gelificação, porém é muito sensível com relação à estabilidade hidrolítica. Na presença de água ou umidade, o estanho é facilmente oxidado (VILAR, 2004).

A polimerização geralmente ocorre por um período de duas a seis horas, sob temperatura em torno de 175°C, utilizando como iniciador, principalmente, o Sn(Oct)<sub>2</sub>. Durante o processo pode ser adicionado álcool laurílico para tentar controlar a massa molar (CHASIN e LANGER, 1990).

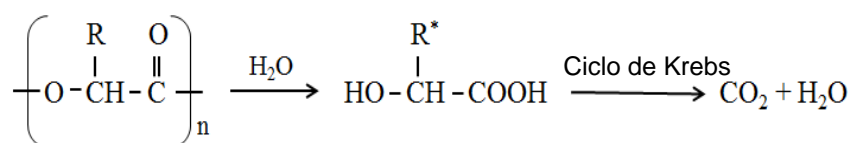
### **3.2 DEGRADAÇÃO**

A degradação de polímeros é um nome genérico dado para vários processos que provocam mudanças nas propriedades físicas e químicas devido às interações dos polímeros com agentes ambientais (SCHNABEL, 1981). Diversos tipos de degradação podem ocorrer simultaneamente quando os polímeros são expostos ao ambiente de trabalho ou durante o seu processamento (CLOUGH, 1988).

O PLGA tem sido amplamente utilizado em diversas áreas, tais como sistemas de liberação de fármacos e engenharia de tecidos, entre outras. É muito importante conhecer o comportamento de degradação do PLGA, em especial, no caso de aplicação farmacêutica para liberação de fármacos.

Sabe-se que dispositivos biodegradáveis, uma vez implantados no corpo, devem manter suas propriedades mecânicas pelo tempo necessário, até serem degradados, reabsorvidos e eliminados sem deixar traços. Tanto a degradação *in vivo* como a *in vitro* dos copolímeros de PLGA ocorre num ambiente aquoso por meio da quebra das ligações ésteres presentes na cadeia do polímero (JALIL e NIXON, 1990). E como essas degradações *in vivo* e *in vitro* ocorrem praticamente em uma mesma taxa, pode-se dizer que não existe uma contribuição significativa das enzimas do organismo no processo de degradação do copolímero de PLGA (MOTTA, 2002).

A biodegradação do poliéster PLGA ocorre por erosão *bulk*, liberando os ácidos lático e glicólico. Esses ácidos, por serem metabólitos naturais do organismo, são eliminados pelo ciclo de Krebs na forma de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O), como mostrado na Figura 4 (ATHANASION *et al.*, 1996, LAO *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2005).



R = H (ácido glicólico) ou R = CH<sub>3</sub> (ácido lático)

\* Os produtos de degradação: (1) Ácido lático (caso o polímero seja PLA), (2) Ácido glicólico (polímero de origem PGA), (3) Ambos (polímero de origem PLGA).

Figura 4- Equação de degradação do PGA / PLA / PLGA [MERKLI *et al.* (1998)].

Pelo fato da taxa de hidrólise da cadeia do polímero ser dependente somente de variações significativas na temperatura, pH ou presença de catalisadores, pouca diferença é observada na taxa de degradação em diferentes locais do corpo, com poucas exceções. Essa é sem dúvida uma vantagem no que diz respeito a formulações de liberação de fármacos (LEWIS, 1990).

A erosão refere-se à dissolução e/ou degradação de fragmentos solúveis do polímero e perda de massa progressiva da matriz. O perfeito entendimento do mecanismo de erosão é essencial para modulação das características de

liberação. Biodegradação, entretanto, refere-se à clivagem e encurtamento da cadeia polimérica que é causada pela reação hidrolítica ou enzimática ou ainda por ambas. Desse modo, para a maioria dos sistemas biodegradáveis, a biodegradação dos polímeros precede à erosão da matriz. Erosão pode ser classificada como erosão matricial (*bulk*) ou superficial com base nas características do polímero

Os polímeros que sofrem erosão superficial perdem materiais apenas na superfície, tornando-se menores e com formato semelhante ao inicial. Já nos polímeros que sofrem erosão de forma matricial (*bulk*), o tamanho da cadeia do polímero permanece constante em um período de tempo prolongado, sem apresentar perda de massa. A vantagem da erosão de superfície está na possibilidade de prever o comportamento de desintegração, previsão que fica difícil de ser feita para os polímeros que sofrem erosão matricial (SALIBA, 2007). Por exemplo, poliésteres sofrem erosão *bulk*. Na absorção de água, a cisão aleatória da cadeia do polímero gera oligômeros e monômeros de baixa massa molar. Como eles alcançam baixas massas molares, eles tornam-se solúveis em água e ocorre a erosão da matriz. Em geral, a absorção de água é mais rápida do que a cisão da cadeia do polímero. O pH também desenvolve um papel importante no processo de erosão *bulk*. Os produtos de degradação dos poliésteres são ácidos por natureza, baixando o pH do microambiente da matriz polimérica ou dispositivo. Essa redução do pH pode causar degradação autocatalítica do polímero, a qual é mais rápida na erosão *bulk* do que na superficial (XIAOLING e HASKARA, 2006).

Polímeros biodegradáveis geralmente sofrem três tipos de degradação. Na degradação tipo I, a degradação ocorre na cadeia principal do polímero. A clivagem das ligações entre os meros resulta na dissolução do polímero. Muitos dos polímeros biodegradáveis lineares pertencem a essa categoria. Se o polímero insolúvel em água se torna solúvel, inicialmente pela quebra da ligação covalente por hidrólise, tal degradação se refere a degradação tipo II. A degradação tipo III envolve a degradação da cadeia lateral do polímero. Um polímero hidrofóbico ou insolúvel em água pode tornar-se solúvel em água por hidrólise, ionização ou protonação da cadeia lateral. Os polímeros tornam-se solúveis em água quando a cadeia lateral do grupo carboxílico é ionizada. Em

geral, a degradação dos polímeros é influenciada por vários fatores, os quais incluem (XIAOLING e HASKARA, 2006):

- Estrutura química e composição;
- Massa molar;
- Concentração do polímero;
- Hidrofilicidade/hidrofobicidade;
- Propriedades morfológicas do dispositivo tal como tamanho, forma, porosidade e cristalinidade;
- Aditivos ao sistema (ácidos, bases, monômeros, fármacos);
- Condições do microambiente tal como pH;
- Local do implante;
- Método de preparação;
- Esterilização.

A degradação da matriz de PLGA ocorre por meio da quebra de ligações a uma taxa uniforme. A maior parte da literatura indica que a biodegradação do PLGA não envolve nenhuma atividade enzimática, sendo puramente por meio de hidrólise (GIUNCHEDI e CONTE, 1995; JAIN, 2000).

A taxa de degradação do PLGA depende de uma série de parâmetros, incluindo a razão entre os monômeros, massa molar, forma e estrutura da matriz. A grande utilização desses copolímeros biocompatíveis pode ser atribuída, em parte, à aprovação pelo FDA para uso em seres humanos, a uma boa processabilidade que permite a fabricação de uma variedade de estruturas e formas, a taxas controláveis de degradação e ao sucesso como suturas biodegradáveis, em comparação com suturas de outros materiais. Portanto, tem ocorrido uma investigação intensa da utilização do PLGA para aplicações médicas, tais como, liberação modificada de fármacos e engenharia de recuperação de tecidos, entre outras (LAKSHMI e LAURENCIN, 2007).

No PLGA, quanto maior a proporção de lactídeo maior a hidrofobicidade do copolímero, já que absorve menos água e, conseqüentemente, menor será a velocidade de degradação. Além disso, a massa molar e o grau de cristalinidade

podem influenciar nas propriedades mecânicas, na capacidade de hidrólise e na velocidade de degradação desses polímeros (BLANCO-PRIETO *et al.*, 1998; LEWIS, 1990). Outros fatores responsáveis por alterações no período de degradação dos polímeros biodegradáveis são: distribuição da massa molar dos polímeros, presença de monômeros e oligômeros, tamanho e forma da superfície do sistema, morfologia dos componentes do sistema (amorfo, semicristalino, cristalino) e local de implantação (FIALHO *et al.*, 2003).

Alguns dos PLGA's comerciais e suas respectivas aplicações para o caso de implantes são mostrados na Tabela 3. Para todos os PLGA's apresentados nessa Tabela, o processo de degradação ocorre por erosão matricial.

Tabela 3- Algumas características dos copolímeros disponíveis no mercado (adaptado de MOTTA, 2002).

Polímero	Tempo para perdas de massa e propriedades mecânicas	Área de aplicação	Produtos aprovados para uso
PLGA 82/18 *	4-12 meses	Âncoras de suturas Pinos e placas para reparos craniomaxilofacial	SurgicalDynamics® Biomet®
PLGA 70/30 *	2-12 meses	Muito usado em reconstrução na região do crânio e maxilofacial	Lactosorb®
PLGA 50/50 *	2 meses	Materiais de suturas	Purasorb®
PLGA 10/90 *	1-2 meses	Suturas periodontal	Vicryl suture® Vicryl Mesh®

\*Razão entre as unidades do lactídeo/glicolídeo, respectivamente.

A taxa de degradação do polímero e a capacidade do local do implante em eliminar os produtos ácidos originários da degradação são de suma importância para se evitar algum tipo de reação inflamatória ou mesmo outro tipo

de resposta tóxica por parte do tecido circunjacente ao implante (SUGANUMA e ALEXANDER, 1993).

### 3.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Sistemas de liberação de fármacos, com base em materiais poliméricos (descobertos por volta de 1960), têm sido utilizados para uso clínico, incluindo reservatórios de liberação de esteroides para contraceptivos (Norplant<sup>®</sup> e Progestasert<sup>®</sup>), dispositivo de liberação de pilocarpina para terapia do glaucoma (Ocuser<sup>®</sup>), entre outros (LAWRENCE *et al.*, 1997).

Um grande desafio para qualquer país, é tornar seus produtos mais competitivos. Entre as tecnologias com grande potencial nesse sentido encontram-se os sistemas de liberação de fármacos, que envolvem processos complexos que permitem incorporar, a um princípio ativo, novas propriedades funcionais e inteligentes, tornando o produto final mais eficaz (RÉ, 2000).

Sistemas de liberação de fármacos podem ser obtidos a partir da combinação de um polímero, natural ou sintético, com um ou mais fármacos. Esses sistemas podem apresentar uma liberação constante ou cíclica (por um período de tempo pré-determinado), ativada pelo ambiente ou outro fator externo (TORCHILIN, 2001; HUSMANN *et al.*, 2002). Portanto, pode-se dizer que esses sistemas buscam manter a concentração do fármaco constante no nível sanguíneo, entre o máximo e o mínimo desejado da concentração terapêutica.

Os polímeros usados como biomateriais são comumente chamados de biopolímeros. Uma variedade grande desse tipo de material vem sendo usada em aplicações biomédicas graças as suas características físico-químicas e a sua versatilidade estrutural, que permitem adequá-los em termos de propriedades a cada aplicação específica. A possibilidade de alterar um ou outro grupamento químico pertencente à arquitetura macromolecular das cadeias pode viabilizar, por exemplo, o estabelecimento de interações específicas entre o polímero e o tecido hospedeiro. Dentre os polímeros mais usados, esses podem ter origem natural ou sintética e podem ser biodegradáveis ou estáveis quando expostos ao ambiente corpóreo (ORÉFICE *et al.*, 2006).

Um polímero ideal para o uso como biomaterial deve apresentar as seguintes características (adaptado de MOTTA, 2002):

- Não provocar respostas tóxicas e/ou inflamatórias no tecido no qual foi implantado;
- Ser metabolizado pelo organismo após ter cumprido sua proposta de recuperação, sem deixar traços;
- Ser facilmente esterilizável.
- Ter maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e sustentada do fármaco, a partir da degradação da matriz;
- Ter direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas;
- Poder incorporar tanto substâncias hidrofílicas quanto hidrofóbicas;
- Apresentar melhor aceitação do tratamento pelo paciente.

Além dessas características, como critérios na seleção de um polímero para uso como biomaterial, outros dois fatores são importantes: as propriedades mecânicas e o tempo de degradação em função das necessidades da aplicação (MIDDLETON e TRIPTON, 2000).

Entre as mais diversas áreas de aplicação, a indústria farmacêutica tem experimentado um grande avanço no desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos. Entre as principais, em relação à administração convencional (administração oral), destacam-se a possibilidade do agente ativo estar disponível especificamente para o sítio de ação, taxas de liberação e duração adequadas para produzir o efeito desejado, diminuição do número de doses diárias, diminuição de efeitos colaterais e proteção do fármaco de eventual degradação nos fluidos biológicos (CERCENÁ, 2008).

Em geral, os sistemas de liberação de fármacos procuram ter um perfil de liberação que minimize os efeitos tóxicos, promovendo o efeito terapêutico desse por meio do alcance de quantidades adequadas e permanência no sítio de ação desejado. Os perfis farmacocinéticos associados com a administração convencional (A) e a de sistemas de liberação modificada (B) são comparados na Figura 5. Na situação A, após a ingestão ou injeção de formas de dosagem

padrão, com a administração do fármaco várias vezes ao dia, o nível de concentração de fármaco no sangue aumenta, vai até um máximo e então decai quando o fármaco é excretado e/ou metabolizado, requerendo novamente a administração de outra dose (DASH e CUDWORTH, 1998; LANGER, 1990). Já que tais fármacos têm uma faixa terapêutica acima da qual é tóxico e abaixo da qual é ineficaz, as oscilações dos níveis de concentração do fármaco podem causar períodos alternantes de toxicidade e ineficiência, respectivamente (LANGER, 1990). Por essa razão, o desenvolvimento de dispositivos de liberação que podem manter um nível desejado de concentração do fármaco no plasma, por certo período de tempo, sem alcançar o nível tóxico ou ir aquém do nível efetivo mínimo, é de grande interesse (situação B) (ANSEL *et al.*, 2005). Dependendo da formulação e da aplicação, esse tempo pode ser de 24 horas, como, por exemplo, para a Procardia XL<sup>®</sup>, ou de 1 mês, no caso do Lupron Depot<sup>®</sup>, ou ainda de 5 anos, no caso do Norplant<sup>®</sup> (PEPPAS, 2014).

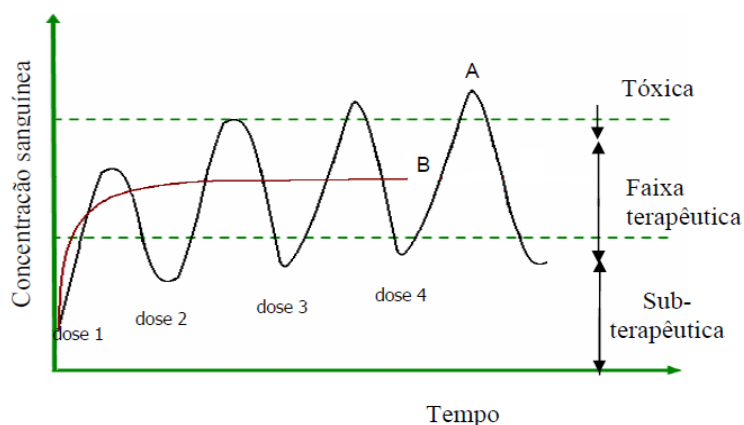


Figura 5- Representação esquemática do perfil da curva farmacocinética para: (A) terapia convencional e (B) liberação modificada (adaptado de SOUSA, 2009).

Além dessa vantagem, esses sistemas podem: direcionar a liberação do fármaco a um ponto específico do organismo, evitando reações paralelas; proteger o agente ativo de condições severas do organismo, como as existentes no trato gastrointestinal e sob a ação de enzimas; e permitir a diminuição da quantidade de medicamento ingerida pelo paciente, uma vez que haverá uma redução no tempo de tratamento. Isso ocorre porque a concentração do fármaco permanece constante dentro da faixa terapêutica, melhorando a eficácia do

tratamento e propiciando um maior conforto ao paciente (LANGER e PEPPAS, 2003).

Alguns dos polímeros mais utilizados comercialmente em sistemas de liberação de fármaco são: poli(2-hidroxi-etil-metacrilato) (PHEMA), poli(N-vinilpirrolidona) (PVP), poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(acrilamida) (PA), poli(lactídeo) (PLA), poli(glicolídeo) (PGA), poli(lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA), polianidridos, entre outros (RATNER e HOFFMAN, 1996).

Além da clara vantagem terapêutica dos produtos de liberação modificada, existem também razões financeiras convincentes para desenvolver tais dispositivos. Devido à regulamentação cada vez mais rigorosa do FDA, o alto custo para introduzir uma nova droga e não é incomum que o desenvolvimento requeira mais que 10 anos de pesquisa. Então, essa é uma das razões para as indústrias farmacêuticas tentarem maximizar seu retorno financeiro para cada fármaco pesquisado, tendo em vista uma extensão na vida útil da patente do fármaco. Um meio de fazer isto é desenvolver uma formulação patenteada de liberação modificada. Entretanto, a viabilidade comercial de tal estratégia é baseada na demonstração de que a formulação de liberação seja de fato superior à tradicional e, o mais importante, que o custo da formulação de liberação modificada seja baixo o suficiente para garantir uma razoável penetração no mercado (RATNER e HOFFMAN, 1996).

Na Tabela 4 são listados alguns sistemas de liberação modificada (lipossomas, nanocápsulas, nanoesferas, microcápsulas, microesferas, *patches* e bioadesivos) que podem ser administrados pelas três vias principais de administração (oral, transdérmica e intravenosa) (COSTA, 2003).

Nas últimas três décadas, materiais como as poliamidas, os poliuretanos e as poliacrilamidas têm sido utilizados na obtenção desses dispositivos (JAIN, 2000). Além desses, os poliésteres alifáticos PLA, PGA e, especialmente, o copolímero PLGA, têm despertado um enorme interesse para esse tipo de aplicação, devido as suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade (JALIL e NIXON, 1990).

Tabela 4- Tipos de sistemas de liberação controlada (COSTA, 2003).

Sistemas de liberação modificada/sustentada	Descrição
Lipossomas	Vesículas formadas por camadas lipídicas com um núcleo aquoso (KALLINTERI <i>et al.</i> , 2002).
Nanocápsulas	Apresentam uma fina camada polimérica com uma cavidade interna oca ou oleosa de 1 a 1000nm (SOPPIMATH <i>et al.</i> , 2001; HANS e LOWMAN, 2002).
Nanoesferas	Partículas esféricas constituídas por uma rede polimérica de 1 a 1.000nm (POHLMANN, 2002).
Microcápsulas	Carreadores com fina camada polimérica do tipo reservatório de 1 a 1.000µm (SINGH <i>et al.</i> , 2001).
Microesferas	Matriz polimérica densa onde o fármaco encontra-se distribuído de 1 a 1.000µm (BERKLAND <i>et al.</i> , 2001).
Patches ou bioadesivos	Dispositivos poliméricos não biodegradáveis de administração contínua do fármaco, atravessando as barreiras da pele até o sistema circulatório (QVIST <i>et al.</i> , 2002).

Nos sistemas poliméricos para liberação de fármacos, construídos de PLGA, podem-se observar, basicamente, três etapas de liberação (LEE *et al.*, 2010):

1. *Burst*: ocorre liberação elevada do fármaco a partir da superfície do implante por um curto período;
2. Difusão e quebra das cadeias: ocorre liberação do fármaco por difusão, que é controlada pela solubilidade inerente do fármaco no meio de incubação. Ocorre a quebra aleatória do polímero por clivagem hidrolítica, o que aumenta a porosidade e a área de superfície para a difusão do fármaco;
3. Biodegradação e perda de massa: nessa etapa a liberação do fármaco é associada com a biodegradação da matriz polimérica, à perda de massa do implante e a um *burst* final em alguns sistemas de liberação.

### 3.4 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERAÇÃO

A modelagem matemática de sistemas de liberação e previsibilidade de disponibilização de fármacos é um campo muito importante, tanto acadêmica quanto industrialmente, apresentando um enorme potencial de aplicação no futuro. Estes modelos visam elucidar o comportamento do material e fornecer mecanismos de previsão da cinética de liberação (LAO *et al.*, 2011).

O processo de liberação de fármacos pode ser dividido em quatro etapas, consecutivas ou não:

- 1) permeação do meio de liberação para dentro do dispositivo;
- 2) dissolução do fármaco;
- 3) difusão do fármaco através da matriz devido ao gradiente de concentração;
- 4) transferência convectiva do fármaco para dentro do meio de liberação.

Umas ou mais dessas etapas podem controlar o processo de liberação do fármaco (LI *et al.*, 2004). Entretanto, para a maior parte dos sistemas de liberação modificada de fármacos descritos na literatura, o mecanismo de liberação do fármaco pode ser modelado baseado nas soluções das equações de Fick para difusão ou nas expressões simplificadas de Higuchi (HIGUCHI, 1963).

O modelo de Higuchi é fundamentado na segunda lei de Fick e a cinética de liberação pode ser descrita pela Equação 1, onde se espera obter uma reta para a quantidade liberada em função da raiz quadrada do tempo,

$$M = kt^{1/2} \quad \text{(Equação 1)}$$

em que M é a quantidade total de fármaco liberada, k é a constante de liberação e t é o tempo. A constante k agrupa características estruturais e geométricas do sistema de liberação. Esse modelo segue os seguintes postulados: (a) a concentração inicial do fármaco no sistema deve ser maior que a sua solubilidade no meio; b) a análise matemática é baseada em difusão unidimensional; c) a dissolução do sistema de liberação é desprezível; d) o

coeficiente de difusão do fármaco é constante; e) é válido somente para os primeiros 60% de liberação do fármaco (SOUSA, 2009).

Existe outro modelo (RITGER e PEPPAS, 1987) que utiliza uma equação mais generalizada para a cinética de liberação de drogas. Nesse modelo, a equação empírica (Equação 2) é usada para relacionar a liberação fracional do fármaco com o tempo,

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (\text{Equação 2})$$

em que  $M_t$  é a quantidade cumulativa de fármaco liberada no tempo  $t$ ,  $M_\infty$  é a quantidade cumulativa de fármaco liberada no tempo infinito,  $k$  é a constante de proporcionalidade que incorpora características da rede macromolecular e da droga e o expoente  $n$  é usado para obter informações sobre o mecanismo de liberação difusional (SOUSA, 2009).

Para sistemas que obedecem à lei de Fick (quando a taxa de difusão é muito lenta em relação ao tempo de relaxação da cadeia polimérica), um valor de  $n$  igual a 0,5 é obtido. Um valor de  $n$  entre 0,5 e 1,0 descreve a difusão anômala (quando os tempos de difusão e de relaxação das cadeias são comparáveis). O limite superior, ou seja,  $n = 1,0$ , corresponde ao Caso II, quando a difusão é muito mais rápida em comparação com o processo de relaxação das cadeias, os quais ocorrem simultaneamente.

Segundo RITGER e PEPPAS (1987), a análise do expoente de difusão para verificar o mecanismo de transferência de massa no sistema polímero-soluto, na liberação do soluto para o meio, só é válida, com uma boa aproximação, para os primeiros 60% de massa de soluto liberada a partir da matriz polimérica com formato plano e liberação unidimensional (premissa igual ao do modelo de Higuchi). Apesar de alguns pesquisadores usarem a análise do coeficiente de difusão para outras geometrias (por exemplo, cilíndrica e esférica), ela permite uma boa aproximação somente para 15% a 20% da massa inicial liberada. No entanto, podem-se prever novos limites inferiores para o expoente de difusão para geometrias cilíndricas e esféricas para os primeiros 60% da massa liberada. Esses novos limites são diferentes de 0,5 para a difusão Fickiana e possuem valores de  $n = 0,451$  para cilindros e  $n = 0,432$  para esferas. O limite superior para  $n = 1,0$  ainda é válido para qualquer geometria, ou seja, o

soluto pode ser liberado a uma taxa constante (ordem zero) em qualquer geometria (RITGER e PEPPAS, 1987).

O modelo de RITGER e PEPPAS é genericamente utilizado para analisar a liberação de formas farmacêuticas poliméricas, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando mais de um tipo de mecanismo de liberação está envolvido (MANADAS *et al.*, 2002).

### 3.5 ATENOLOL

O atenolol é descrito quimicamente como (R)-4-[hidroxi-3-isopropilaminopropoxi] fenilacetamida. Constitui-se de um fármaco beta-bloqueador hidrofílico, de fórmula molecular  $C_{14}H_{22}N_2O_3$  e massa molar  $266,34g.mol^{-1}$  (SOUSA, 2009; REYNOLDS, 1996).

Fármacos beta-bloqueadores são considerados como medicamentos de primeira linha para o tratamento da hipertensão. Dentre esses, o atenolol é um dos beta-bloqueadores mais utilizados clinicamente, sendo frequentemente usado como fármaco de referência em tentativas controladas randomizadas de pacientes que sofrem de hipertensão. Os beta-bloqueadores são utilizados, principalmente, em doenças cardiovasculares (COSTA, 2010; WADWORTH *et al.*, 1991).

O atenolol apresenta-se como um pó branco ou quase branco e é um composto relativamente polar, sendo moderadamente solúvel em água ( $26,5mg.mL^{-1}$  a  $37^{\circ}C$ ), solúvel em álcool desidratado e pouco solúvel em diclorometano. Tem sido empregado como droga modelo em vários trabalhos relatados na literatura. (SOUSA *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2010; COSTA, 2010; CHO & SHIN, 2004; GOLDMAN & AUSIELLO, 2005; KATZUNG, 2006). Por meio de modelamento molecular, empregando o *software HyperChem Professional*<sup>TM</sup> 8.0.3, na configuração de menor energia, SOUSA (2009) estimou o tamanho da molécula de atenolol, o qual ficou em torno de 0,6 a 1,4nm, conforme mostrado na Figura 6. A fórmula molecular desse fármaco também é apresentada nessa figura. Essas dimensões indicam que as moléculas de atenolol podem entrar nos poros de material mesoporoso.

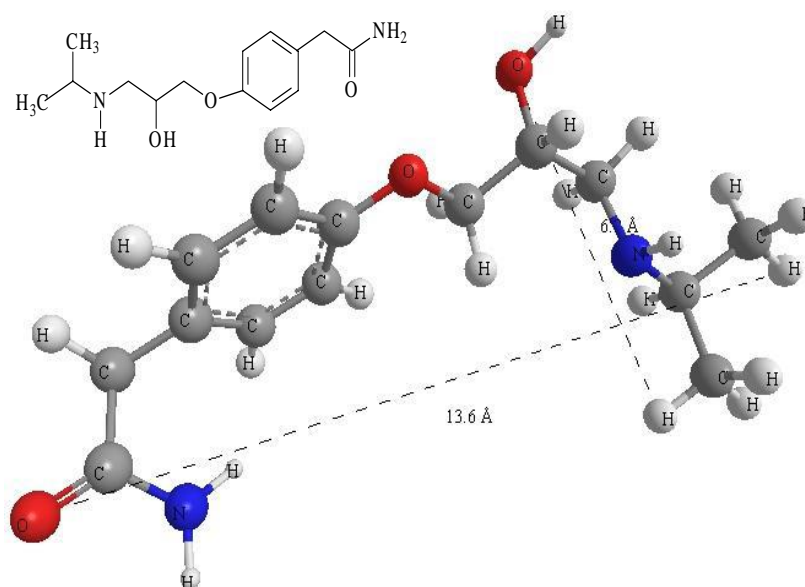


Figura 6- Representação da fórmula estrutural e da molécula de atenolol (indicação dos átomos na molécula: esfera azul - nitrogênio, esfera cinza clara - hidrogênio, esfera cinza escura - carbono e esfera vermelha – oxigênio) (adaptado de SOUSA, 2009).

Introduzido em 1976, o atenolol foi desenvolvido como um substituto para o propranolol no tratamento da hipertensão. A hipertensão é uma condição clínica na qual a pressão sanguínea em repouso excede constantemente 140/90mmHg, conforme definido pela Organização Mundial de Saúde. Essa patologia é considerada um fator de risco para ataques cardíacos, infarto e sérios danos renais (COSTA, 2010; LEITE *et al.*, 2006).

Nesse trabalho, a seleção do atenolol foi feita de acordo com sua atividade farmacológica, estrutura, solubilidade em água, baixo custo e por ter o procedimento de caracterização analítica bem conhecido e difundido na literatura.

### 3.6 TÉCNICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS

As características físicas e químicas do PLGA, tais como: massa molar, temperaturas de transição vítrea, estabilidade térmica, citotoxicidade, entre outras, são de suma importância para o estudo do comportamento biodegradável em sistemas de liberação de fármacos.

Para determinação dessas características, utilizaram-se as seguintes técnicas e métodos analíticos: termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial, espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier, reometria, microscopia eletrônica de varredura, espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível, citotoxicidade e eletrofiação.

### **3.6.1 TERMOGRAVIMETRIA**

Termogravimetria (TG) é uma técnica que mede a variação de massa de uma substância como uma função da temperatura ou do tempo (WEST, 1984).

As áreas de aplicação de TG incluem a determinação de pureza, de teores de umidade, de voláteis e de resíduos, da composição de blendas e copolímeros, da estabilidade térmica do material, da eficiência de retardantes de chama e antioxidantes, da cinética de reações e muitas outras.

Sua aplicação na análise de polímeros se deu em função da necessidade do conhecimento de fatores como estabilidade térmica e oxidativa de polímeros, tão importantes e determinantes das condições de processamento do material (OHLWEILER, 1978).

### **3.6.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL**

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é usada para investigar as propriedades térmicas de materiais orgânicos e inorgânicos. Ela fornece informações quantitativas sobre essas mudanças térmicas, incluindo a taxa de transferência de calor (WEST, 1984).

A técnica de DSC pode ser usada para investigar propriedades térmicas de uma variedade de materiais e é particularmente empregada para caracterizar materiais orgânicos, inorgânicos, biológicos e poliméricos. Dentre as aplicações podem ser citadas a determinação qualitativa e quantitativa de transições de fases tais como ponto de fusão, temperatura de transição vítrea, cristalização, estudo de cinética de polimerização, de decomposição, de cura e testes de estabilidade oxidativa, entre outras.

### 3.6.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é aplicada para análises qualitativas e quantitativas de compostos orgânicos e inorgânicos. A técnica de FTIR pode ser usada para caracterizar e identificar materiais, para monitorar reações químicas e para determinar a ausência ou presença de grupos químicos específicos (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Uma molécula emite sinal na espectroscopia de infravermelho se houver uma mudança no momento de dipolo durante uma vibração, o que significa que as moléculas que têm ligações assimétricas são ativadas por radiação infravermelho. Moléculas simples têm somente um tipo de ligação, a qual pode estirar. Moléculas mais complexas têm mais ligações, as quais podem vibrar de várias formas diferentes, como estiramento (*stretching*) simétrico e assimétrico, tesoura (*scissoring*), balanço (*rocking*), abano (*wagging*) e torção (*twisting*) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

### 3.6.4 REOMETRIA

A reologia é a ciência que estuda o escoamento e a deformação da matéria. Ela analisa as respostas (deformações ou tensões) de um material provocadas pela aplicação de uma tensão ou deformação. Polímeros fundidos e soluções poliméricas apresentam um comportamento reológico diferenciado em relação aos fluidos mais comuns.

As propriedades de fluxo de fluidos viscoelásticos são dependentes da temperatura, da taxa de deformação e do tempo de observação. Dentre as propriedades reológicas, a viscosidade é um dos parâmetros mais utilizados no estudo do comportamento dos materiais poliméricos durante o processamento, uma vez que a maioria dos processos de transformação ocorre em fluxos cisalhantes. Medidas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em cisalhamento, que estão relacionados com a energia armazenada e energia dissipada durante um ciclo, respectivamente, também são muito utilizadas no estudo de processamento de polímeros. O módulo elástico é dependente da rigidez das

macromoléculas e do seu emaranhamento, enquanto que o módulo viscoso é dependente das ligações que controlam as mudanças conformacionais dos segmentos das cadeias e do deslocamento de uma cadeia com relação a outra. Os comportamentos elástico e viscoso desses materiais podem ser alterados pela taxa de aplicação de tensão ou deformação e pela temperatura do ensaio (OSSWALD e MENGES, 1995; FERRY, 1970).

Na caracterização reológica de polímeros, os testes realizados a baixas deformações, de maneira a garantir que a relação entre tensão e deformação seja linear (região de viscoelasticidade linear), são de grande importância, pois os parâmetros determinados nessas condições não dependem do valor de deformação aplicada, podendo ser relacionados diretamente com a estrutura molecular do polímero (FARIAS, 2009). Com base nos resultados do ensaio de *frequency sweep* e em modelos que descrevem a relação entre propriedades reológicas e tempos de relaxação, a massa molar média de polímeros pode ser estimada por reometria (MAIER, 1998 *et al*; THIMM *et al*, 1999).

### **3.6.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA**

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostra as alterações na superfície da amostra. Ela mostra a mudança na morfologia e topografia, a rugosidade, fissuras ou outra heterogeneidade na superfície. A superfície da amostra é explorada com um feixe de elétrons. Os elétrons secundários e retro-espalhados produzidos são detectados e usados para gerar uma imagem da amostra (AMIN *et al.*, 2007).

O microscópio eletrônico de varredura é capaz de produzir imagens de alta ampliação (até 300.000 vezes) e resolução. As imagens fornecidas pelo MEV possuem um caráter virtual, pois o que é visualizado no monitor do aparelho é a transcodificação da energia emitida pelos elétrons da superfície da amostra.

Outra característica importante do MEV é a aparência tridimensional da imagem das amostras, resultado direto da grande profundidade de campo. O MEV permite, também, o exame em pequenos aumentos e com grande

profundidade de foco, o que é extremamente útil, pois a imagem eletrônica complementa a informação dada pela imagem óptica (DEDAVID *et al.*, 2007).

### **3.6.6 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL**

Na espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) são usados instrumentos destinados à medida da energia radiante emitida ou absorvida por dada substância pesquisada. A amostra analisada absorve certa fração da luz incidente e transmite a restante. A luz transmitida é captada por um detector, que a transforma em um sinal elétrico, o qual é intensificado por um amplificador. Por meio desse sinal elétrico é expresso um valor de absorbância que pode ser correlacionado com a concentração da substância pesquisada (WILLARD *et al.*, 1979; SKOOG *et al.*, 2002).

### **3.6.7 CITOTOXICIDADE**

A citotoxicidade é um fenômeno complexo *in vivo*, o qual pode resultar em um amplo espectro de efeitos, desde morte celular até aberrações metabólicas, onde ocorrem alterações funcionais ou em alguma via específica.

Testar a citotoxicidade é a primeira etapa para assegurar a biocompatibilidade e a avaliação da potencialidade de aplicação clínica de um novo material, os quais são de extrema importância durante o desenvolvimento de produtos (químicos, farmacêuticos, alimentícios, biológicos e físicos) destinados ao uso humano ou em animais.

Uma técnica amplamente utilizada para determinação da viabilidade celular é a de redução do sal de tetrazolina [MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina] pelo complexo enzimático piruvato desidrogenase presente na matriz de mitocôndrias. Esse complexo enzimático transforma o sal de tetrazolina em produtos finais de metabolização, chamados de cristais de formazan, de cor azul, que ao serem dissolvidos absorvem na região do visível, podendo, dessa forma, ser quantificados por espectrofotometria de absorção molecular na região do UV-Vis (MOSMAN, 1983). Esse ensaio deve ser usado

especificamente para a funcionalidade mitocondrial. A mitocôndria é uma das organelas celulares mais importantes, uma vez que é responsável pela respiração celular. Portanto, a quantificação de sua viabilidade leva indiretamente à viabilidade da célula.

Os valores de viabilidade celular correspondentes a cada condição são expressos em porcentagem relativamente à absorbância determinada nas células controle.

### **3.6.8 ELETROFIAÇÃO**

Eletrofiação é o processo que utiliza forças eletrostáticas para formar fibras sintéticas. Essa metodologia é conhecida há mais de 100 anos e possui seus fundamentos baseados em estudos anteriores. A evolução do uso de corrente elétrica para a obtenção de fibras iniciou-se em 1745, quando Bose descreveu a formação de aerossol por meio da aplicação de uma corrente elétrica alta em soluções. O primeiro equipamento que utilizou corrente elétrica para a obtenção de um jato líquido foi patenteado por Cooley e Morton em 1902. Porém, somente em 1934 Anton Formhals patenteou o primeiro equipamento no qual fibra polimérica, à base de celulose e solvente acetona/álcool, pôde ser obtida, demonstrando a viabilidade do processo de eletrofiação (SILL e RECUM, 2008; GREINER *et al.*, 2007).

Utilizando-se campos elétricos, a técnica de eletrofiação produz fibras de polímeros com diâmetros nanométricos. Essa técnica atraiu maior atenção devido ao seu uso em uma ampla variedade de aplicações: biomédicas, vestuários de proteção, *scaffolds* para engenharia de tecido, biotecnologia, compósitos, equipamentos eletrônicos, defesa e segurança, engenharia ambiental, entre outras. Motivada por esse leque de aplicações, a comunidade científica tem revelado especial interesse na fabricação de nanofibras poliméricas nos últimos anos (SONG *et al.*, 2008; HUANG *et al.*, 2003; CHRONAKIS, 2005; BHARDWAJ e KUNDU, 2010; KULKARNI *et al.*, 2010; BOWLIN, 2011).

O princípio operacional do processo de eletrofiação é relativamente simples, o que o torna bastante vantajoso quando comparado aos outros

métodos de fabricação de nanofibras. Além disso, o controle dimensional das nanofibras geradas, a reprodutibilidade de resultados e o grande potencial para aplicações industriais em larga escala fizeram com que o processo de eletrofiação se tornasse bastante difundido nos últimos anos (RAMAKRISHNA *et al.*, 2005; JÚNIOR, 2010).

A técnica de eletrofiação envolve a aplicação de um forte campo elétrico entre o polímero e um coletor metálico, conforme ilustrado na Figura 7. Geralmente, o polímero, fundido ou em solução, está contido em um reservatório com um tubo capilar. Tipicamente, utiliza-se uma seringa hipodérmica para armazenar o polímero, que é forçado a escoar através de uma agulha por ação da gravidade ou pelo auxílio de uma bomba de infusão. Embora seja possível utilizar fontes de alta tensão de corrente alternada, o mais comum é o uso de fontes de corrente contínua com tensões entre 10 e 40kV (NORRIS *et al.*, 2000; ANDRADY, 2008; JÚNIOR, 2010).

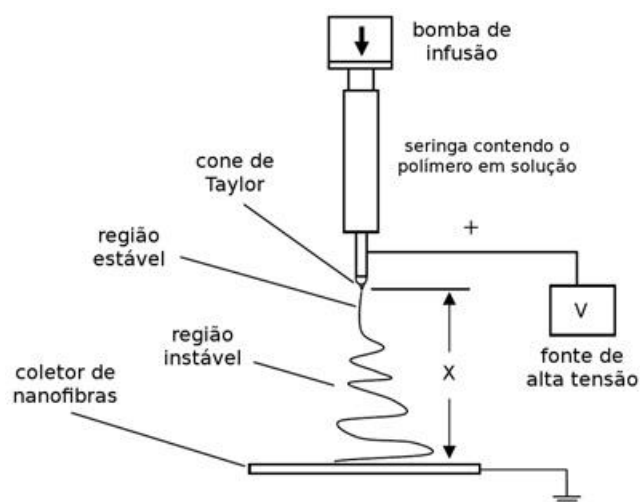


Figura 7 - Ilustração esquemática da montagem de um sistema de eletrofiação.  
(Adaptado de: JÚNIOR, 2010)

Quando se aplica uma alta tensão elétrica no tubo capilar (agulha da seringa), que está localizado a uma certa distância de um coletor (plano e estacionário ou cilíndrico e rotativo), ocorre uma polarização nas moléculas do polímero. Quando a diferença de potencial elétrico entre o tubo capilar e o coletor ultrapassa um valor crítico, a força eletrostática atuando no polímero

passa a ser maior do que a tensão interfacial da solução na ponta da agulha, formando o chamado cone de Taylor e acarretando na formação de um jato que é atraído em direção ao coletor. Nesse ponto, o campo elétrico é responsável por alongar o jato, tornando-o cada vez mais fino, dando origem às fibras de diâmetros micro ou nanométricos (DOSHI e RENEKER, 1995, JÚNIOR, 2010).

Embora o princípio de funcionamento da eletrofiação seja simples, existem diversos parâmetros de processamento que podem influenciar o formato, o diâmetro e as dimensões das fibras (SILL e RECUM, 2008). Dessa forma, fica evidente que as propriedades da solução (viscosidade, tensão interfacial, condutividade elétrica, massa molar do polímero e o efeito dielétrico do solvente) irão desempenhar um papel importante no processo de geração das nanofibras. Outros fatores de grande influência na eletrofiação estão relacionados aos parâmetros de operação do processo propriamente dito. Dentre esses fatores, pode-se citar a diferença de potencial utilizada para se gerar o campo elétrico, a vazão da solução, a temperatura, o tipo de coletor utilizado, o diâmetro do orifício da seringa e a distância entre a seringa e o coletor. Fatores ambientais, tais como a umidade relativa do ar, a pressão e a composição da atmosfera (utilização de gases diferentes) também podem influenciar nos resultados obtidos pelo processo de eletrofiação (RAMAKRISHNA *et al.*, 2005; RENEKER e YARIN, 2008; JÚNIOR, 2010).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse item são apresentados os materiais utilizados e a metodologia empregada na síntese do PLGA, nas técnicas de caracterização desses copolímeros, na produção e caracterização dos dispositivos de PLGA, nos ensaios de degradação *in vitro*, de liberação do fármaco atenolol e de citotoxicidade.

### 4.1. MATERIAIS

Foram utilizados os seguintes materiais e equipamentos nos ensaios experimentais:

- ❖ Acetonitrila da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Ácido acético da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Ácido clorídrico da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Ácido fórmico da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Agitador magnético da marca Quimis, modelo Q261-12
- ❖ Álcool metílico anidro P.A. (metanol) da marca Vetec;
- ❖ Aparelho de eletrofição;
- ❖ Atenolol da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Analisador termogravimétrico da marca Shimadzu, modelo TGA-50 WS;
- ❖ Anfotericina-b da marca Gibco BRL, NY , EUA;
- ❖ Balança analítica da marca Shimadzu, modelo AEL-405M;
- ❖ Banho metabólico da Marca SOLAB, modelo SL 157;
- ❖ Bomba a vácuo da marca Vulkan Lokaring, modelo VP- 340D;
- ❖ Calorímetro exploratório diferencial, marca Shimadzu, modelo DSC-60;
- ❖ Dessecador da marca J. Prolab;

- ❖ Diclorometano (cloreto de metileno P.A. anidro) da marca Vetec;
- ❖ Dodecan-1-ol (álcool laurílico) da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Dulbecco's *modified eagle medium* (DMEM) da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Duodecil sulfato de sódio da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ *Eppendorf* de polipropileno;
- ❖ Espectrofotômetro UV-Vis da marca VARIAN, modelo Cary 50;
- ❖ Espectrofotômetro UV-Vis da marca Thermo Scientific, modelo Varioskan Reader;
- ❖ Espectroscópio FTIR da marca Thermo Fisher SCIENTIFIC, modelo Nicolet 6700;
- ❖ Estanho(II) 2-etilexanoato (octanoato de estanho) da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Estufa da marca Vacuoterm, modelo 6030A;
- ❖ Geladeira da marca Electrolux;
- ❖ Liofilizador da marca Liotop, modelo k105;
- ❖ Micropipetas automáticas da marca Eppendorf Research;
- ❖ Microscópio eletrônico de varredura da marca Hitachi, modelo TM3000 Tabletop Microscope;
- ❖ Monômero glicolídeo (1,4-dioxano-2,5-diona) da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Monômero lactídeo (3,6-dimetil-1,4-dioxano-2,5-diona) da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Moinho analítico da marca IKA, modelo A11 basic S1;
- ❖ MTT [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide] da marca Sigma-Aldrich
- ❖ Nitrogênio líquido;
- ❖ Óleo de silicone da marca Vetec;

- ❖ Peagâmento da marca Denver Instrument, modelo 220;
- ❖ Penicilina G sódica da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Placa de aquecimento com agitador magnético da marca Fisatom, modelo 752A;
- ❖ Reômetro rotacional da marca TA Instruments, modelo AR-G2;
- ❖ Solução tampão fosfato salino;
- ❖ Soro fetal bovino da marca Gibco BRL, NY, EUA;
- ❖ Sulfato de estreptomicina da marca Sigma-Aldrich;
- ❖ Tabuleiro de Teflon<sup>®</sup>;
- ❖ Termômetros;
- ❖ Triton X 100 (1%) da marca Sigma-Aldrich;

#### **4.2. SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA**

Os copolímeros de PLGA foram sintetizados via polimerização em massa, por meio da abertura dos anéis dos diésteres cíclicos de seus monômeros (D,L-lactídeo e glicolídeo). Variáveis como proporção (em massa) de iniciador (0,02% sobre a massa total de monômeros) e coiniciador (0,01% sobre a massa total de monômeros) foram escolhidas com base em um estudo realizado por ERBETTA (2010). Para as outras variáveis do processo, tais como, tempo de reação (2h) e temperatura (175°C), utilizaram-se como referências os estudos de BENDIX (1998), ERBETTA e colaboradores (2011, 2012).

Foi utilizado como iniciador da reação de copolimerização de PLGA o octanoato de estanho, por ser bastante reativo, de grande aplicação nas áreas alimentícia e farmacêutica e com reconhecimento pelo FDA para tais fins. O co-iniciador, álcool laurílico, foi empregado a fim de se obter o copolímero com alta massa molar.

Os monômeros D,L-lactídeo e glicolídeo, o iniciador octanoato de estanho e os demais reagentes: álcool laurílico, óleo de silicone, metanol p.a. anidro e cloreto de metileno p.a. anidro foram usados como adquiridos. Os monômeros

foram acondicionados em geladeira e os demais armazenados em condição ambiente.

Toda vidraria usada foi previamente lavada, secada e mantida em dessecador por, no mínimo, 24h antes do uso, a fim de minimizar a presença de umidade durante o processo.

Foram realizadas sínteses nas razões entre os monômeros de D,L-lactídeo e glicolídeo de 50/50, 70/30 e 82/18 (em massa), respectivamente. Por se tratar de uma síntese com maior reprodutibilidade, de fácil manuseio e por ser a proporção entre os monômeros mais aplicada em sistemas de liberação de fármacos, escolheu-se a proporção 82/18 para o PLGA a ser pesquisado nesse trabalho com o intuito de seu uso como dispositivos de liberação de medicamentos, teste de citotoxicidade e ensaios de degradação *in vitro*.

O procedimento para as sínteses dos PLGA's 50/50, 70/30 e 82/18 foi basicamente o mesmo, mudando somente as quantidades dos monômeros em relação às proporções utilizadas. Foram realizadas 25 sínteses, sendo 8 sínteses do PLGA na proporção 70/30, 2 sínteses do PLGA na proporção 50/50 e 15 sínteses do PLGA proporção 82/18.

As quantidades dos monômeros e dos solventes utilizadas nas sínteses do PLGA com proporção 82/18 são mostradas na Tabela 5. Tabelas semelhantes para os PLGA's 70/30 e 50/50 encontram-se no Anexo I (vide página 124).

Inicialmente, pesaram-se os monômeros em uma balança analítica (Shimadzu, modelo AEL-40SM), transferindo-os para um frasco ampola de vidro. Destaca-se aqui que os monômeros utilizados nas sínteses 14 e 15 do PLGA 82/18 foram retirados de frascos que se encontravam inicialmente lacrados, portanto sem a possibilidade de presença de umidade.

Posteriormente, foram medidos os respectivos volumes do iniciador (octanoato de estanho) 0,02% (sobre a massa total de monômeros) e do co-iniciador (álcool laurílico) 0,01% (sobre a massa total de monômeros) por meio de micropipetas automáticas (marca Eppendorf Research). Esses foram adicionados sobre as massas de monômeros no frasco reacional. Também foi

introduzida uma barra magnética e, em seguida, o frasco ampola foi vedado com uma rolha de borracha.

Logo após essa etapa, com o auxílio de uma seringa com agulha na ponta, adaptada à linha de sucção de uma bomba de vácuo (Vulkan, modelo VP340D), foi feito vácuo no frasco reator.

Tabela 5 - Quantidades dos monômeros e solventes usadas nas sínteses do PLGA 82/18.

Síntese	Massa de D,L-lactídeo (g)	Massa de glicolídeo (g)	Volume de cloreto de metileno (mL)	Volume de metanol (mL)
PLGA 1	13,94	3,06	80	240
PLGA 2	13,94	3,06	80	240
PLGA 3	13,94	3,06	100	310
PLGA 4	14,76	3,24	120	560
PLGA 5	14,76	3,24	120	420
PLGA 6	14,76	3,24	80	400
PLGA 7	14,76	3,24	160	400
PLGA 8	13,94	3,06	80	240
PLGA 9	13,95	3,06	100	260
PLGA 10	13,95	3,06	120	640
PLGA 11	13,94	3,06	80	400
PLGA 12	13,95	3,07	120	480
PLGA 13	13,94	3,06	60	340
PLGA 14	13,94	3,06	140	400
PLGA 15	13,94	3,06	120	400

O frasco reacional foi introduzido em banho de óleo de silicone sobre uma placa aquecedora (com agitador magnético, marca Quimis, modelo Q261-12), à temperatura de 175°C. A agitação magnética foi ligada e mantida até que o aumento de viscosidade não permitisse mais a movimentação da barra metálica. O tempo de permanência do frasco reacional no banho de silicone foi de 2h. O procedimento das sínteses dos copolímeros de PLGA foi feito de acordo com os trabalhos de ERBETTA e coautores (2010, 2011 e 2012).

Para controle da temperatura foi utilizado um termômetro imerso no óleo de silicone. Todas as sínteses foram realizadas à temperatura de 175±2°C.

Ao final de cada reação, o frasco com o copolímero PLGA formado foi retirado do banho de óleo e deixado ao ambiente durante, aproximadamente, 24h.

Foi adicionado cloreto de metileno anidro nos frascos dos copolímeros PLGA e mantido por 24h. Para algumas sínteses foi necessário usar agitação magnética para facilitar o processo de dissolução. Em seguida, os copolímeros PLGA foram precipitados em metanol anidro, em excesso. Para garantir que toda massa de copolímero fosse precipitada, a quantidade de metanol utilizada foi sempre maior que o dobro de cloreto de metileno gasto.

Posteriormente ao processo de dissolução e precipitação, o material precipitado foi separado da parte líquida e colocado em um tabuleiro de Teflon<sup>®</sup> para secagem em estufa (Vacuoterm, modelo 6030A), entre 60 e 70°C, sob vácuo (-60cmHg) por, aproximadamente, 24h. O processo de secagem foi utilizado com a intenção de se remover solventes residuais.

O rendimento de cada síntese foi calculado comparando a massa do copolímero obtida após o processo de secagem com a massa total dos monômeros utilizada na copolimerização.

Os polímeros PLGA's foram submetidos à moagem, utilizando um moinho analítico (Marca: IKA, Modelo: A11 basic S1). O PLGA moído, na forma de pó, foi acondicionado em frasco plástico e armazenado na geladeira.

### **4.3. CARACTERIZAÇÃO DO PLGA**

Nesse subitem são descritos os procedimentos experimentais das técnicas e métodos de análises utilizados para caracterização do PLGA.

#### **4.3.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL**

O equipamento de DSC utilizado, um Shimadzu modelo DSC-60, foi programado para aquecimento das amostras em duas corridas distintas. A primeira corrida foi da temperatura ambiente ( $\approx 20^\circ\text{C}$ ) até  $150^\circ\text{C}$ , a uma razão de aquecimento de  $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , com o propósito de se apagar a história térmica do

material. A segunda corrida foi de  $-50^{\circ}\text{C}$  (resfriada com  $\text{N}_2$  líquido) até  $200^{\circ}\text{C}$ , a uma razão de  $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . O porta amostra utilizado foi de alumínio, selado com um furo na tampa. Utilizou-se  $\text{N}_2$  como gás de arraste, a uma vazão de  $50\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A massa das amostras analisadas foi de 10mg, com variação máxima de  $\pm 1\text{mg}$ . Por DSC, determinaram-se as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ).

#### **4.3.2. TERMOGRAVIMETRIA**

A análise foi realizada a uma razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , da temperatura ambiente ( $\approx 20^{\circ}\text{C}$ ) até  $400^{\circ}\text{C}$ , em porta amostra de platina não selado e atmosfera de nitrogênio, a uma vazão de  $50\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . O equipamento empregado foi um Shimadzu modelo TGA-50WS. A massa das amostras analisadas foi de  $(5,00\pm 1,00)\text{mg}$ . Por meio dessa técnica, foi possível determinar a temperatura de início da degradação térmica e a variação da massa em função do aumento da temperatura. Foi feita a derivada da curva TG (termogravimetria derivada) para identificar a temperatura em que a taxa de degradação é máxima.

#### **4.3.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER**

Os espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras, na faixa de  $4000$  a  $650\text{cm}^{-1}$ , foram obtidos em espectrofotômetro FTIR modelo Nicolet 6700 da ThermoFisher SCIENTIFIC, no modo ATR, com 64 varreduras e resolução de  $4\text{cm}^{-1}$ . Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente ( $\approx 20^{\circ}\text{C}$ ) com adição direta da amostra (em forma de pó) no aparelho, sem tratamento prévio. Esse ensaio foi realizado com o objetivo de identificar os grupos químicos presentes no copolímero PLGA sintetizado e no fármaco atenolol.

#### **4.3.4. ANÁLISE POR REOMETRIA**

Os ensaios reológicos foram realizados em um reômetro rotacional modelo AR-G2 (TA *Instruments*), utilizando geometria placa-placa de 8mm, com aquecimento pela câmara de teste ambiental (ETC) do próprio equipamento.

Para determinar o valor de deformação a ser aplicada nos ensaios reológicos (região de viscoelasticidade linear) foram traçadas as curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função de uma ampla faixa de deformação (0,01 a 100%), por meio do ensaio de varredura de deformação (*strain sweep*), mantendo-se constante a frequência em 1Hz. O ensaio de varredura de frequência (*frequency sweep*) foi realizado para determinar a massa molar média das amostras. A faixa adotada para a frequência foi de 0,8 a 400rad.s<sup>-1</sup> (0,1 a 64Hz), com deformação de 5%, que se encontra dentro da faixa de viscoelasticidade linear. Os ensaios foram realizados na temperatura de 80°C.

#### 4.3.5. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As microscopias foram realizadas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Marca: Hitachi, Modelo: TM3000 TABLETOP MICROSCOPE) na voltagem de 5,0kV e uma distância de trabalho entre 3 e 10mm. As imagens obtidas foram processadas utilizando o *software* TM3000. Todas as amostras foram analisadas à temperatura ambiente de ≈20°C. Esse microscópio opera sob baixo vácuo.

#### 4.3.6. CITOTOXICIDADE

Para o estudo de toxicidade, os materiais foram submetidos a uma avaliação de citotoxicidade *in vitro*. Os ensaios foram realizados de acordo com a norma ISO 10993-5:1999 (*Biological evaluation of medical devices; Part 5: tests for in vitro cytotoxicity*).

O teste de citotoxicidade foi utilizado com cultura de células de sarcoma humano de linhagem (SAOS), oriundas do Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. As células foram cultivadas em *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) com 10% de soro fetal bovino - SFB - (Marca: Gibco BRL, NY, EUA), penicilina G sódica (10un.mL<sup>-1</sup>), sulfato de estreptomicina (10mg.mL<sup>-1</sup>) e 0,25mg.mL<sup>-1</sup> de anfotericina-b (Marca: Gibco BRL, NY, EUA). Essas células ficaram em estufa

(Quimis, modelo Q819V2) com atmosfera de CO<sub>2</sub> a 5% e à temperatura 37°C, por 4h.

No ensaio de redução do sal de tetrazolina (MTT), as células SAOS foram plaqueadas ( $1 \times 10^4$  células/poço) em placa de 24 poços. Foram utilizadas as seguintes amostras: (i) PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol em forma de manta de nanofibra, denominada nesse ensaio de PLGA 15-M; (ii) PLGA 82/18 (síntese 15), denominada de PLGA 15; e (iii) PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol após o processo de liofilização, denominada de PLGA 15-At. Todas essas amostras foram preparadas na concentração de  $0,0032 \text{mg.mL}^{-1}$ . As amostras foram esterilizadas com radiação UV por 60min. Foram utilizados como controle de referência o meio DMEM com 10% de SFB, como controle positivo o reagente Triton X 100 (1%) (da marca Sigma) e, como controle negativo, lascas estéreis de *Eppendorf* de polipropileno (1mg de lascas para cada mL da solução controle de referência). Após 72h, todo o meio foi aspirado e foram colocados 210µL de meio de cultura com soro em cada poço. Foram acrescentados 170µL de MTT ( $5 \text{mg.mL}^{-1}$ ; SIGMA-ALDRICH, USA) em cada poço e incubadas por 4h em estufa (Quimis, modelo Q819V2) a 37°C e com 5% de CO<sub>2</sub>. Em seguida foram colocados 100µL de solução de SDS (duodecil sulfato de sódio)/4%HCl, em cada poço, permanecendo por 16h ao ambiente para dissolver os cristais de formazan produzidos na etapa anterior. Depois foram retirados 100µL de cada poço e transferidos para uma placa plana com 96 poços para quantificação da absorbância, que foi obtida em espectrofotômetro Varioskan Reader (Thermo Scientific) com comprimento de onda de 595nm. Os valores obtidos foram expressos em percentual de células viáveis de acordo com a Equação 3:

$$VC = \frac{AbsA}{AbsC} * 100 \quad \text{(Equação 3)}$$

Sendo:

VC = Viabilidade celular (%);

AbsA = Absorbância das células em contato com as amostras;

AbsC = absorbância do controle.

Consideraram-se os valores controle (poços com células e sem amostras) como 100% de viabilidade celular.

#### 4.3.7. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

Preparou-se uma solução tampão fosfato salino (pH = 7,4) com 5mg de atenolol em balão volumétrico de 100mL. Essa solução foi nomeada de “solução mãe”, tendo uma concentração final de  $50\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Para construção da curva de calibração, inicialmente foi realizada uma varredura com solução de concentração de  $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (obtida pela diluição da “solução mãe”), em que foi determinado o comprimento de absorbância máxima do atenolol ( $\lambda=225\text{nm}$ ), utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis (marca VARIAN, modelo Cary 50), na faixa entre 200 e 400nm.

Construiu-se a curva de calibração analítica com dez soluções de atenolol, de diferentes concentrações, utilizando-se o comprimento de onda de absorção máxima do atenolol. A partir dessa curva, determinaram-se sua equação e seu coeficiente de correlação ( $R^2$ ).

As soluções com diferentes concentrações de atenolol foram obtidas por meio de diluição da “solução mãe”. O volume dos balões utilizados para diluição foi de 10mL. O detalhamento dos valores utilizados na construção da curva de calibração é apresentado na Tabela 6.

Tabela 6- Dados utilizados na construção da curva de calibração.

Solução	Alíquotas da “solução mãe” (mL)	Concentração final ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
1	0,1	0,5
2	0,2	1
3	0,4	2
4	1,0	5
5	1,6	8
6	2,0	10
7	2,4	12
8	3,0	15
9	4,0	20
10	5,0	25

#### 4.4. ESTUDO DA DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA *IN VITRO*

Inicialmente, 1200mg do PLGA 82/18, síntese 15, foram solubilizados em 10mL de acetonitrila. Em seguida a solução foi transferida para tubo Falcon, congelada em nitrogênio líquido e liofilizada por 48h à temperatura de 80°C (Liotop, modelo k105).

Após a liofilização, a massa de PLGA foi moldada em forma de bastões, utilizando-se espátula e uma superfície antiaderente sobre uma chapa de aquecimento (Quimis, modelo Q261-12) à temperatura de  $\approx 80^{\circ}\text{C}$ .

Os bastões de PLGA 82/18, síntese 15, foram imersos em tubos de ensaio contendo solução tampão de fosfato salino (pH = 7,4). Os tubos foram fechados e inseridos em banho metabólico (Marca SOLAB, modelo: SL 157).

Em períodos determinados de tempo: 0, 6, 12, 19, 28, 40 e 55 dias, os bastões foram retirados, lavados em água destilada (80mL) e secados em estufa a vácuo (60°C), por 48h. Os bastões foram caracterizados por DSC, TG, FTIR, reometria e MEV. As condições experimentais dessas análises foram iguais às descritas nos itens 4.3.1, 4.3.2, 4.3.3, 4.3.4 e 4.3.5, respectivamente.

Após a retirada dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, dos tubos, o pH das soluções foi medido em um peagâmetro da marca Denver Instrument, modelo 220.

As amostras dos bastões de PLGA 82/18 foram identificadas de acordo com o tempo de degradação em solução PBS, conforme pode-se ver na Tabela 7. O estudo de degradação hidrolítica foi realizado em triplicata.

Tabela 7- Identificação das amostras dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, estudadas em função do tempo de degradação *in vitro*.

<b>Identificação</b>	<b>Tempo de degradação (dias)</b>
PLGA	0
PLGA Amostra 1	6
PLGA Amostra 2	12
PLGA Amostra 3	19
PLGA Amostra 4	28
PLGA Amostra 5	40
PLGA Amostra 6	55

#### **4.5. ESTUDO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO***

Para esse estudo, foram produzidos dispositivos na forma de bastões e mantas de nanofibras de PLGA (síntese 15), ambos contendo 20% (em massa) do fármaco atenolol. Foi escolhida essa porcentagem com o objetivo de que os dispositivos tivessem, pelo menos, a quantidade mínima desse fármaco presente em comparação com medicamentos convencionais existentes no mercado.

O processo de obtenção dos dispositivos de PLGA contendo atenolol e o ensaio de liberação são descritos a seguir.

##### **4.5.1 PRODUÇÃO DE BASTÕES DE PLGA CONTENDO O FÁRMACO ATENOLOL**

Os bastões contendo atenolol foram preparados baseado no método desenvolvido por Fialho e Silva-Cunha (2005).

Inicialmente, 240mg de atenolol foram solubilizados em 10mL de água destilada e 1200mg de PLGA 15 em 15mL de acetonitrila. Essa quantidade foi escolhida com o objetivo de se obter uma mistura (PLGA e atenolol) suficiente para produção dos bastões. Em seguida, a solução de atenolol foi incorporada à solução de PLGA, adicionando-se mais acetonitrila ( $\approx 40\text{mL}$ ) até obtenção de uma solução límpida.

A solução final foi transferida para tubo Falcon, congelada em nitrogênio líquido e liofilizada por 48h (Liotop, modelo k105).

Obteve-se uma massa homogênea constituída pelo copolímero PLGA e o fármaco atenolol. Essa massa foi moldada em forma de bastões, com o auxílio de uma espátula e uma superfície antiaderente sobre uma chapa de aquecimento (Quimis, modelo Q261-12) à temperatura de  $\approx 80^\circ\text{C}$ .

O estudo de liberação do fármaco atenolol, a partir do PLGA na forma de bastões, foi realizado em triplicata, sendo as amostras dos bastões de PLGA 82/18 com atenolol denominados de B1, B2 e B3.



O estudo de liberação do fármaco atenolol, a partir do PLGA na forma de mantas de nanofibras, também foi realizado em triplicata, recebendo as amostras das mantas de PLGA 82/18 com atenolol a seguinte identificação: M1, M2 e M3.

#### **4.5.3 ENSAIO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO***

Os dispositivos de PLGA com e sem atenolol, na forma de bastões e mantas de nanofibras, foram imersos em béqueres contendo 50mL de solução tampão fosfato salino (selados com plástico Parafilm) e colocados em banho metabólico (Marca SOLAB, modelo: SL 157), sob agitação de 30rpm e temperatura de 37°C. Essa temperatura foi utilizada com o propósito de simular a temperatura do corpo humano.

Em intervalos determinados de tempo a solução foi retirada dos béqueres e analisada no espectrofotômetro UV-Vis (VARIAN, modelo Cary 50) com comprimento de absorvância ( $\lambda$ ) igual a 225nm. Uma nova solução de PBS (50mL) foi introduzida nos béqueres com os dispositivos para continuidade dos ensaios de liberação do fármaco. Esse procedimento foi repetido durante um período de 30 dias para os dispositivos em forma de bastões e 24 dias para as mantas de nanofibras. Com a absorvância das soluções, medida pelo espectrofotômetro, determinaram-se as concentrações de atenolol nessas soluções por meio da curva de calibração construída antes desses ensaios.

O copolímero PLGA, após um certo estágio de degradação, começa a liberar subprodutos, como ácido láctico e ácido glicólico, capazes de serem detectados por espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis, no comprimento de onda estudado ( $\lambda=225\text{nm}$ ). Com o objetivo de detectar o início de liberação desses subprodutos, foram colocados dispositivos de PLGA sem atenolol na forma de manta de nanofibras e bastão no banho metabólico, sob as mesmas condições dos dispositivos contendo o fármaco atenolol. Verificou-se que o dispositivo em forma de manta de nanofibras sem o atenolol começou a apresentar leitura no espectrofotômetro no mesmo comprimento de onda determinado para o atenolol, a partir do 25º dia. Assim, foram considerados os valores de absorvância do atenolol nas mantas de nanofibras com o fármaco até

o 24° dia após o início da liberação. Para o dispositivo na forma de bastão sem o atenolol, observou-se que esse mesmo fato ocorreu a partir do 31° dia. Portanto, o estudo de liberação do atenolol na forma de bastões foi considerado até o 30° dia. Após esses períodos de estudo, os dispositivos foram retirados do meio, colocados em estufa a vácuo (Vacuoterm, modelo-6030A) à temperatura de 40°C, por 48h, sendo, em seguida, caracterizados por TG, DSC e FTIR.

Para efeito dos cálculos do estudo de liberação, considerou-se que todo o atenolol utilizado foi incorporado nos dispositivos. Portanto, como os dispositivos foram produzidos contendo 20% de atenolol em massa, o valor máximo de massa de atenolol nos bastões foi de  $21,6 \pm 0,3$ mg e nas mantas de  $21,4 \pm 0,1$ mg.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados e discutidos os resultados obtidos a partir das sínteses e das caracterizações dos copolímeros de PLGA 82/18.

Também serão mostrados os resultados do estudo de degradação hidrolítica *in vitro* do copolímero PLGA 82/18 (dispositivos em forma de bastões), do estudo de liberação *in vitro* do fármaco atenolol (a partir dos dispositivos de PLGA 82/18 em forma de bastões e mantas de nanofibras), da caracterização desses dispositivos, bem como a discussão pertinente a eles.

No início deste estudo, com o objetivo de tentar padronizar a rota de síntese desenvolvida por ERBETTA (2010), os PLGA's 50/50 e 70/30 foram sintetizados e caracterizados por FTIR, TG e DSC. Foram realizadas 2 sínteses do PLGA 50/50 e 8 do PLGA 70/30. Devido à dificuldade de manuseio, copolímero extremamente viscoso, foi descartado o estudo com o PLGA 50/50 e, em função de não se conseguir a reprodutibilidade desejada na síntese do PLGA 70/30, optou-se pela síntese do PLGA 82/18 que não apresentou nenhum desses problemas. Portanto, ao longo deste item, serão apresentados e discutidos os resultados relativos ao copolímero PLGA 82/18. Os resultados referentes às sínteses dos PLGA's 50/50 e 70/30, bem como as caracterizações realizadas desses copolímeros, serão apresentados em anexos com a simples intenção de informá-los, sem nenhuma discussão sobre eles.

### 5.1. SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA

Os resultados dos volumes dos reagentes gastos na dissolução e precipitação do copolímero (cloreto de metileno e metanol, respectivamente), tempo de agitação e rendimento obtidos nas sínteses dos PLGA 82/18 são mostrados na Tabela 8. Resultados similares referentes às sínteses dos PLGA's 70/30 e 50/50 são apresentados no Anexo II (vide página 125).

Quando a solução reacional foi submetida a aquecimento sob agitação, pôde-se notar que, na maioria das sínteses, não era possível manter a agitação no sistema reacional por muito tempo, devido à solução se tornar cada vez mais viscosa. O aumento da viscosidade do meio reacional é um indício de que a polimerização está ocorrendo.

O rendimento de todas as sínteses foi bem satisfatório (acima de 67%), tendo algumas delas rendimentos excelentes, próximos ou superiores a 90%, exceto para as sínteses 5 e 9, que apresentaram um menor rendimento (47 e 48%, respectivamente).

Tabela 8- Volumes de solventes, tempo de agitação e rendimento das sínteses do PLGA 82/18.

Síntese	Volume de cloreto de metileno (mL)	Volume de metanol (mL)	Tempo de agitação (min.)	Rendimento (%)
1	80	240	24	75
2	80	240	41	80
3	100	310	38	73
4	120	560	62	80
5	120	420	120	47
6	80	400	24	89
7	160	400	11	89
8	80	240	45	67
9	100	260	120	48
10	120	640	70	88
11	80	400	85	71
12	120	480	28	88
13	60	340	80	69
14	140	400	20	94
15	120	400	35	91

Nas sínteses 5 e 9 verificou-se que, com o passar do tempo, a agitação foi ficando mais lenta, mas se manteve até o final. Uma explicação para esse fato poderia ser a possível presença de umidade nos monômeros utilizados para a realização dessas sínteses. A presença de umidade dificulta a polimerização do PLGA.

Quando os monômeros foram retirados dos frascos abertos pela primeira vez, observou-se um maior rendimento e um menor tempo de agitação para as sínteses do PLGA. Além disso, as temperaturas de transição vítrea desses copolímeros estão entre as mais altas (sínteses 14 e 15), conforme será apresentado no subitem 5.2.3. Os frascos foram fornecidos pelo fabricante selados à vácuo e foram mantidos no refrigerador após abertos.

Para que a realização da polimerização do copolímero PLGA seja bem sucedida, é necessário um meio com ausência de umidade juntamente com atmosfera inerte (ERBETTA, 2010). Nesse sentido, foi feito vácuo no meio

reacional para evitar ou diminuir, ao máximo, a presença de umidade, algo que talvez não tenha ocorrido de forma eficiente nas sínteses 5 e 9.

## 5.2. CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS PLGA

A caracterização dos copolímeros sintetizados neste trabalho, bem como a discussão dessa caracterização são apresentados a seguir.

### 5.2.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

O espectro FTIR para o PLGA 82/18, síntese 15, está apresentado na Figura 9 e os espectros FTIR referentes a todos os copolímeros de PLGA 82/18 sintetizados neste trabalho (sínteses 1 a 15) são mostrados na Figura 10. Os espectros FTIR de cada um dos copolímeros de PLGA's 70/30, 50/50 e 82/18 podem ser observados com mais detalhes nos Anexos III, IV e V, respectivamente (vide páginas 126, 129 e 130).

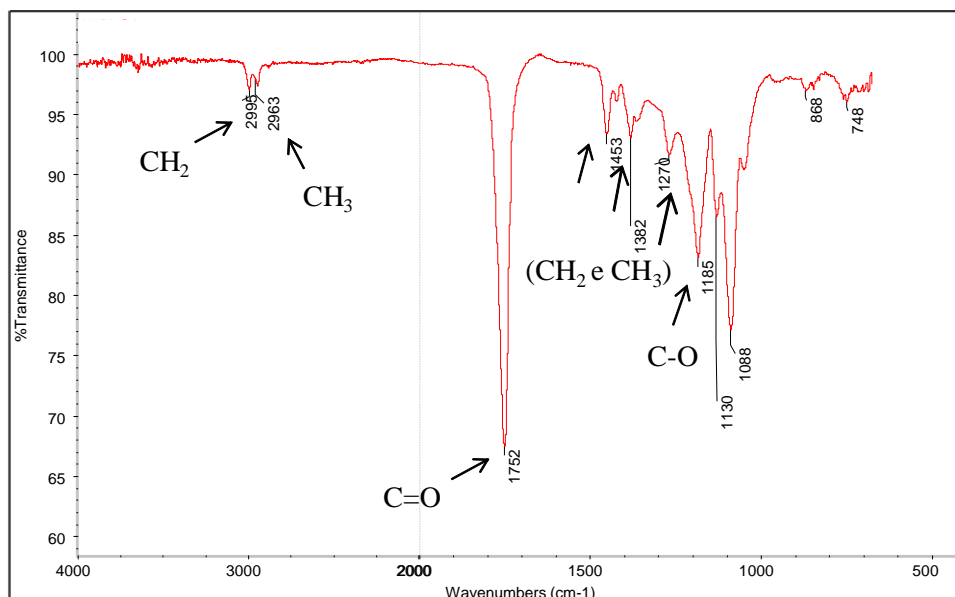


Figura 9 - Espectro FTIR do copolímero PLGA - síntese 15.

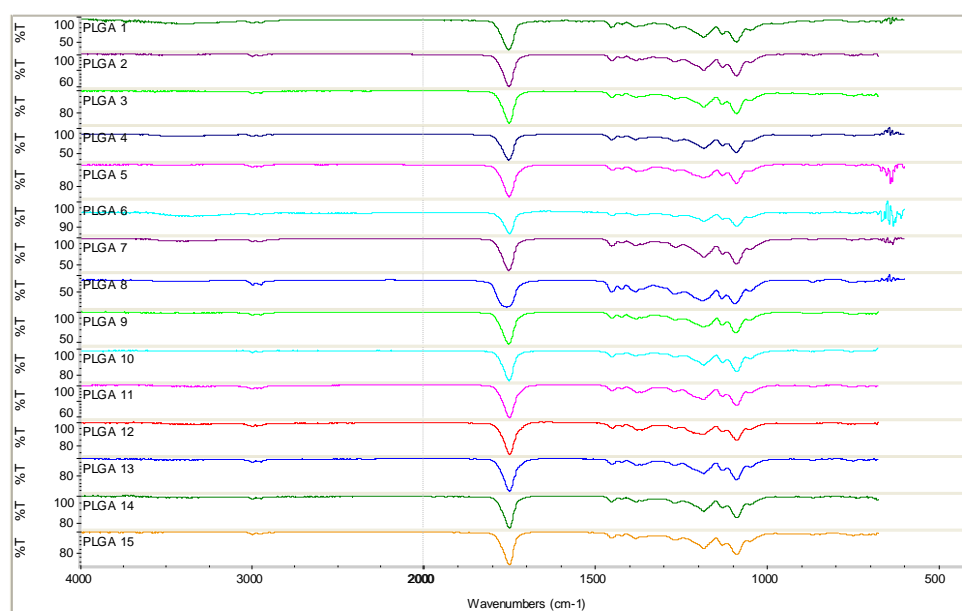


Figura 10 - Espectros FTIR dos copolímeros de PLGA - sínteses 1 a 15.

As bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes no copolímero PLGA (observadas nos espectros das Figuras 9 e 10) e suas respectivas atribuições são apresentadas na Tabela 9. Todas essas bandas aparecem em todos os espectros FTIR dos copolímeros PLGA 82/18, exceto a banda de absorção referente ao grupo hidroxila (OH) que não está nítida nos espectros FTIR dos PLGA's 82/18 das sínteses 3, 9, 10, 12, 14 e 15, conforme pode ser visto mais claramente nos espectros FTIR apresentados no Anexo V (vide página 130).

Tabela 9- Bandas de absorção referente ao PLGA e suas atribuições.

Banda de absorção (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3.700 – 3.100	OH (estiramento)
3000 – 2700	CH, CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (estiramento assimétrico)
1760 – 1750	C=O (estiramento)
1500 – 1250	CH <sub>3</sub> e CH <sub>2</sub> (deformação angular simétrica)
1350 – 1150	CH <sub>2</sub> e CH (deformação angular assimétrica)
1300 – 1150	C-O (estiramento)

Não se percebe nenhuma relação entre a presença ou não da banda de absorção do grupo OH, nos espectros FTIR dos copolímeros PLGA 82/18, com

os rendimentos alcançados nas sínteses desses copolímeros. Por exemplo, o PLGA 82/18 nas sínteses 9 e 15 não apresenta em seus espectros FTIR a banda característica da hidroxila e os rendimentos foram de 48 e 91%, respectivamente. Ao contrário, os espectros FTIR das sínteses 5, 6 e 7 apresentaram a banda de absorção do grupo OH e seus rendimentos foram, respectivamente, 47, 89 e 89%. Ou seja, em síntese, tem-se espectros FTIR com bandas de absorção da hidroxila com rendimentos altos e baixos, bem como o contrário, espectros FTIR sem essa banda, também com rendimentos altos e baixos. Portanto, não se pode fazer uma correlação entre os resultados de FTIR com os rendimentos obtidos nas sínteses dos PLGA's 82/18.

A presença da banda de absorção do grupo hidroxila em alguns espectros FTIR (PLGA 82/18 - sínteses 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 11 e 13) talvez seja devido à presença de umidade no ambiente onde foram realizadas essas análises.

Os espectros FTIR mostrados na Figura 10 são praticamente idênticos, com exceção para a banda de absorção da hidroxila que não aparece nitidamente em alguns desses espectros.

Comparando os espectros FTIR obtidos para os copolímeros PLGA sintetizados neste trabalho com alguns da literatura (HUMMEL, 2001; ERBETTA *et al.*, 2012; MOTTA e DUEK, 2006) observa-se grande semelhança entre eles, o que pode ser considerado como um indício de que a síntese do PLGA ocorreu conforme previsto e de forma plena.

### 5.2.2 TERMOGRAVIMETRIA

As curvas termogravimétricas (TG ou TGA) para as amostras do PLGA - sínteses 1 a 15 são apresentadas na Figura 11. As curvas TG e suas derivadas (curvas DrTG ou DrTGA), para cada uma das sínteses do PLGA 70/30, 50/50 e 82/18, são mostradas nos Anexos VI, VII e VIII, respectivamente (vide páginas 136, 139 e 140). Os resultados obtidos a partir das curvas TG e DrTG, dos copolímeros de PLGA 82/18, encontram-se resumidos na Tabela 10. Nessa Tabela são apresentados os valores de percentual de perdas de massa (1° e 2° eventos térmicos),  $T_i$  (temperatura de início de evento térmico) e  $T_{deg.máx.}$

(temperatura em que a taxa de degradação de evento térmico na curva TG é máxima, obtida na curva DrTG).

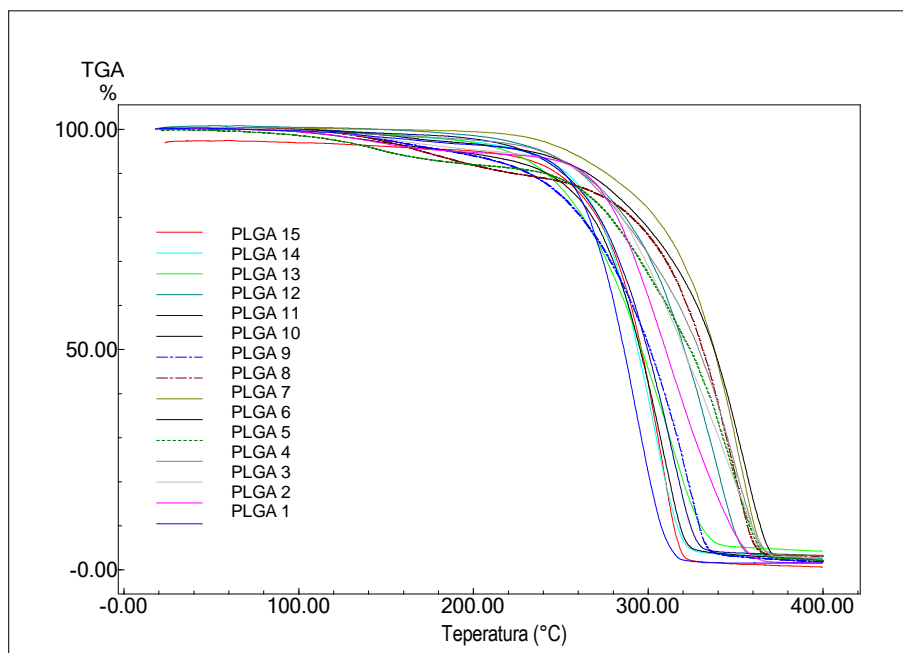


Figura 11 - Curvas TG do PLGA 82/18 – sínteses 1 a 15.

Tabela 10 - Propriedades térmicas dos copolímeros de PLGA 82/18 por TG.

Amostra	Perda de massa(%)		T <sub>i</sub>	T <sub>deg.máx.</sub> (°C)
	1° evento	2° evento		
	115 a 240°C	240 a 380°C		
1	4,47	94,01	144	295
2	6,31	92,38	126	309
3	6,35	91,16	145	345
4	3,52	93,96	180	351
5	9,26	88,38	115	316
6	5,34	92,71	160	345
7	1,39	95,66	206	353
8	12,46	84,73	124	342
9	7,03	91,17	144	323
10	6,56	90,83	120	327
11	2,39	94,59	161	315
12	4,88	92,6	180	336
13	2,74	93,27	170	312
14	4,24	93,53	180	293
15	2,76	95,40	178	325

Ao observar individualmente as curvas TG da Figura 11, mostradas no Anexo VIII (vide página 126), percebe-se duas perdas de massa, uma pequena perda de massa entre 115 e 240°C, aproximadamente, e outra, bem significativa, compreendida na faixa de temperatura que vai de 240 até 380°C. Essa última perda de massa está relacionada com a degradação completa das cadeias poliméricas do PLGA. Acima de 380°C as amostras de PLGA 82/18 encontram-se praticamente todas degradadas, pois o percentual de perda de massa foi de  $97,6 \pm 0,6\%$ , restando apenas cinzas.

Na Tabela 10 pode-se notar que as sínteses 5 e 8 do PLGA 82/18 apresentaram os maiores valores de perda de massa para o 1º evento térmico, 9,3 e 12,5, respectivamente. Todas as outras sínteses tiveram perdas de massa, para esse evento térmico, menores ou igual a 7,0%.

Ao se analisar as curvas DrTG para todos os PLGA's 82/18, apresentadas no Anexo VIII, percebe-se somente um pico referente à perda de massa relacionada à degradação dos copolímeros. Nessas curvas não se vê nenhum outro pico relacionado à variação de massa, indicando que a perda de massa antes do evento da degradação completa das cadeias poliméricas é pequena ( $5,3 \pm 2,8\%$ ).

Em função dos resultados apresentados pela espectroscopia na região do infravermelho e pela secagem a que as amostras foram submetidas antes das análises por termogravimetria, acredita-se que elas não continham água nem de solvente residual. Essa observação também é corroborada pelas curvas DSC obtidas na primeira corrida térmica, que não indicaram nenhum evento térmico, além da  $T_g$ , na faixa de temperatura relacionada com a primeira perda de massa, conforme será apresentado no subitem 5.2.3.

Um explicação para essa pequena perda de massa pode ser devido à degradação de cadeias poliméricas em regiões do PLGA de menor densidade de entrelaçamento. Durante a síntese do copolímero, existe a possibilidade de terem sido formadas cadeias poliméricas de PLGA de tamanhos diferentes, implicando em uma larga faixa de distribuição de massa molar, além de cadeias ramificadas. Os resultados da análise por reometria (subitem 5.2.4), indicaram

que as massas molares dos PLGA's 82/18 variaram entre  $2,4 \times 10^5$  e  $3,1 \times 10^7 \text{ g.mol}^{-1}$ . Portanto, as cadeias poliméricas de diferentes tamanhos, com e sem ramificações, podem se emaranhar promovendo densidades de entrelaçamentos distintas em diferentes regiões do copolímero. As regiões que apresentarem menor densidade de entrelaçamento podem dissipar a energia térmica de forma mais eficiente, favorecendo o início da degradação das cadeias poliméricas, nessas regiões, em temperaturas menores, comparadas às cadeias poliméricas que se encontrem em regiões de maiores densidades de entrelaçamento.

Os resultados de termogravimetria apresentados indicam que os copolímeros sintetizados iniciam a perda de massa a partir de  $115^\circ\text{C}$  (PLGA 5). Portanto, em relação a esse fenômeno, pode-se considerar que os PLGA's sintetizados são termicamente estáveis até essa temperatura. Essa temperatura é mais do que suficiente para utilização desses copolímeros em sistemas de liberação de fármacos, tendo-se em vista que a temperatura corporal humana está na faixa entre  $36,5$  e  $37,0^\circ\text{C}$ , não ultrapassando  $42,0^\circ\text{C}$  quando em estado febril severo.

A variação observada na  $T_{\text{deg.máx.}}$  para os copolímeros PLGA, entre  $293$  e  $353^\circ\text{C}$ , determinada a partir das curvas DrTG, também pode ser devida ao fato dos copolímeros PLGA 82/18 apresentarem regiões com distintas densidades de entrelaçamento, formadas a partir do emaranhamento e/ou conformações de cadeias poliméricas (massas molares) de diferentes tamanhos.

### **5.2.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)**

As curvas DSC (referentes à segunda corrida) para os copolímeros PLGA 82/18, sínteses de 1 a 15, são apresentadas na Figura 12. As curvas DSC e DrDSC para cada um dos PLGA's 70/30, 50/50 e 82/18 são mostradas nos Anexos IX, X e XI, respectivamente (vide páginas 148, 151 e 152). As curvas DSC para todos os PLGA 82/18 obtidas durante a primeira corrida térmica também são mostradas no Anexo XI (vide página 152).

Para determinação da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) utilizou-se como referência a curva DSC da segunda corrida.

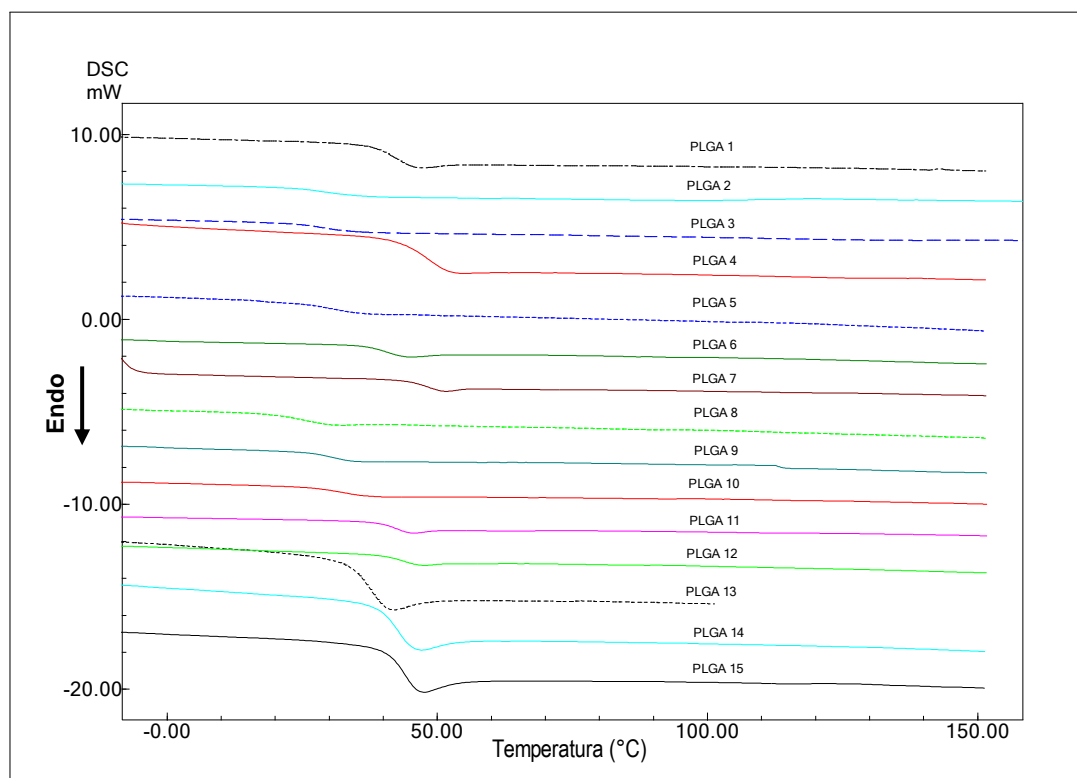


Figura 12- Curvas DSC para os PLGA's 82/18, sínteses de 1 a 15, 2ª corrida.

Na Figura 12 pode-se observar a transição térmica relacionada com a transição vítrea (mudança de inclinação da linha de base na curva DSC). Percebe-se também, a ausência de evento de transição de fase (fusão). Com isso, pode-se inferir que todos os copolímeros PLGA analisados tratam-se de copolímeros amorfos, o que está de acordo com a literatura. PLGA's contendo menos que 85% de glicolídeo são amorfos (KUMAR e BANKER, 1993; ERBETTA, 2010). Também não se verifica a presença de monômeros residuais nos copolímeros, uma vez que nas curvas DSC não foram detectados picos endotérmicos relativos à fusão do D,L-lactídeo (125°C) ou do glicolídeo (81°C).

Os resultados de temperatura de transição vítrea dos copolímeros PLGA 82/18 encontram-se resumidos na Tabela 11. As  $T_g$ 's indicadas na Tabela 11 referem-se às temperaturas dos picos nas curvas DrDSC, que foram obtidas a

partir da derivada das curvas DSC para cada PLGA. Essas curvas são apresentadas no Anexo XI (vide página 1152).

Tabela 11 - Temperaturas de transição vítrea dos copolímeros PLGA 82/18.

Amostra	T <sub>g</sub> (°C)
PLGA1	42
PLGA 2	28
PLGA 3	28
PLGA 4	48
PLGA 5	29
PLGA 6	41
PLGA 7	48
PLGA 8	27
PLGA 9	32
PLGA 10	32
PLGA 11	39
PLGA 12	44
PLGA 13	38
PLGA 14	43
PLGA 15	45

JAMSHIDI e colaboradores (1988) relataram que a T<sub>g</sub> dos PLGA's diminui com a diminuição da massa molar.

Segundo ASTETE e SABLIOV (2006), o PLGA apresenta temperatura de transição vítrea entre 40 e 60°C.

Percebe-se pela Tabela 11 que vários copolímeros PLGA apresentaram T<sub>g</sub>'s abaixo dessa faixa (PLGA's: 2, 3, 5, 8, 9, 10, 11 e 13 ). Ao analisar os resultados obtidos por reometria no subitem 5.2.4, nota-se que as massas molares desses copolímeros foram as menores encontradas (em torno de 10<sup>5</sup>g.mol<sup>-1</sup>), exceto para os PLGA's 2 e 3, cujas massas molares não foram determinadas. Portanto, essa menor massa molar pode ter influenciado no menor valor para T<sub>g</sub>.

Os PLGA's (4, 6, 7, 12, 14 e 15) apresentaram T<sub>g</sub>'s entre 41 e 48°C e massas molares maiores (10<sup>6</sup> a 10<sup>7</sup>g.mol<sup>-1</sup>), resultado esse em concordância com o que é descrito na literatura (JAMSHIDI *et al.*, 1988).

Os resultados de TG e DSC corroboram os resultados de FTIR no sentido de que o copolímero PLGA 82/18 foi realmente sintetizado com sucesso.

#### 5.2.4 ANÁLISE POR REOMETRIA

Utilizando-se a técnica de reometria, especificamente o ensaio de *strain sweep*, determinou-se a região de viscoelasticidade linear entre 0,2 e 10% de *strain*. O valor de *strain* escolhido para o ensaio de *frequency sweep* foi de 5%. A massa molar média de cada amostra foi estimada com base nos resultados do ensaio de *frequency sweep* e em modelos que descrevem a relação entre propriedades reológicas e tempos de relaxação com a distribuição de massa molar (MAIER *et al.*, 1998; THIMM *et al.*, 1999). As curvas dos módulos elástico e viscoso, obtidas pelo ensaio de *frequency sweep* para as amostras de PLGA 82/18, encontram-se nas Figuras do Anexo XII (vide página 167). Os resultados de massa molar média das amostras de PLGA 82/18, sínteses 4 a 15, obtidos indiretamente por reometria, são apresentados na Tabela 12 juntamente com as temperaturas de transição vítrea (para facilidade de comparação). Para as amostras de PLGA, sínteses 1 a 3, não foi possível a realização do ensaio por reometria devido ao fato de não se ter amostra suficiente quando da execução desses ensaios.

Tabela 12 - Massa molar média dos copolímeros PLGA 82/18.

Amostra	T <sub>g</sub> (°C)	Massa molar média (g.mol <sup>-1</sup> )
PLGA 1	42	---
PLGA 2	28	---
PLGA 3	28	---
PLGA 4	48	31.400.000
PLGA 5	29	667.000
PLGA 6	41	1.040.000
PLGA 7	48	28.900.000
PLGA 8	27	558.000
PLGA 9	32	580.000
PLGA 10	32	814.000
PLGA 11	39	730.000
PLGA 12	44	1.850.000
PLGA 13	38	236.000
PLGA 14	43	1.470.000
PLGA 15	45	1.526.000

Os valores de massas molares médias mostrados na Tabela 12, para os PLGA's 4 a 15, variaram entre  $2,36 \times 10^5$  (PLGA 13) a  $3,14 \times 10^7 \text{g.mol}^{-1}$  (PLGA 4).

Nota-se que as sínteses 4 e 7 do PLGA 82/18 apresentaram as maiores massas molares, na ordem de  $10^7 \text{g.mol}^{-1}$ , bem como os maiores valores de  $T_g$  ( $48^\circ\text{C}$ ). Os PLGA's, sínteses 6, 12, 14 e 15, apresentaram massas molares na ordem de  $10^6 \text{g.mol}^{-1}$  e  $T_g$ 's entre  $41$  e  $45^\circ\text{C}$ . Seguindo essa tendência, os PLGA's com  $T_g$ 's abaixo de  $40^\circ\text{C}$  (sínteses 5, 8, 9, 10, 11 e 13) apresentaram menores valores de massa molar média, na ordem de  $10^5 \text{g.mol}^{-1}$ . Esse comportamento está coerente com o esperado, pois quanto maior a massa molar média, maior o tamanho das cadeias poliméricas, maior o entrelaçamento entre elas, menor a mobilidade e, conseqüentemente, maior a temperatura de transição vítrea. Portanto, os resultados obtidos por reometria convergem com os obtidos por DSC.

### 5.2.5 CITOTOXICIDADE

A atividade mitocondrial foi avaliada pela redução do sal de tetrazolina (MTT). Essa técnica é utilizada especificamente para avaliar a viabilidade celular por meio da função mitocondrial. Os resultados do ensaio com o MTT realizado após 72 horas de contato com as amostras PLGA 15-M, PLGA 15 e PLGA 15-At são apresentados na Figura 13. Os valores utilizados para construção dessa figura são mostrados no Anexo XIII (vide página 172).

No controle negativo foram utilizadas lascas estéreis de *Eppendorf* de polipropileno como parâmetro de amostra não tóxica e no controle positivo o reagente Triton X100, que é tóxico e, conseqüentemente, possui a viabilidade celular muito baixa (parâmetro de toxicidade). Ao observar a Figura 13, nota-se que a porcentagem de viabilidade celular das 3 amostras tiveram resultados muito próximos do controle negativo e das células de linhagem SAOS (controle) e, ao mesmo tempo, bem distantes do controle positivo. Portanto, as três amostras analisadas (PLGA 15, mistura liofilizada de PLGA 15 com atenolol – PLGA 15-At – e manta de nanofibras de PLGA 15 com atenolol – PLGA 15-M) não apresentaram toxicidade após 72 horas de contato com as células de linhagem SAOS.

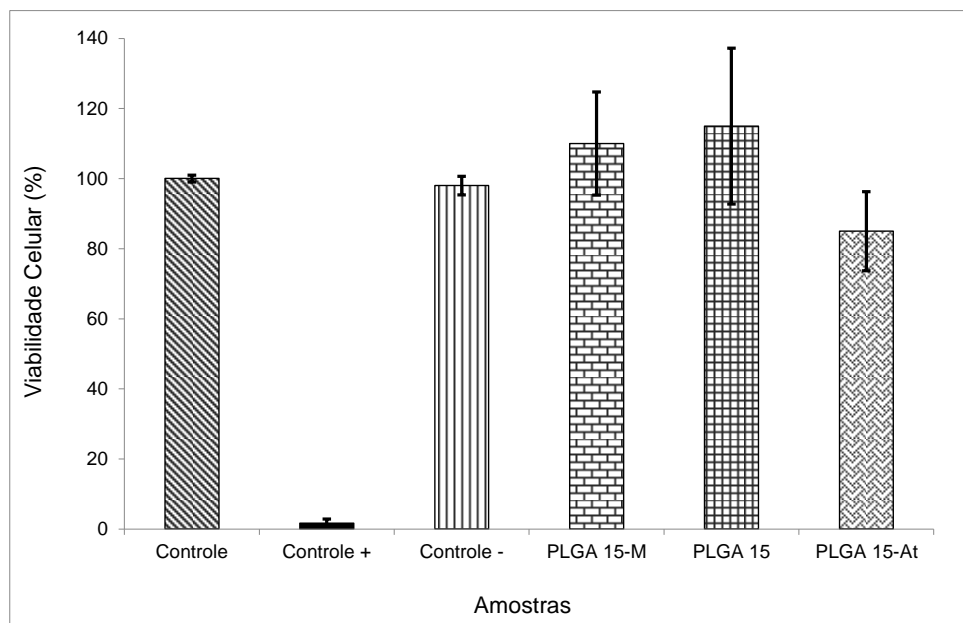


Figura 13- Resultado do ensaio com o MTT após 72 horas de contato.

Ao comparar os resultados das três amostras, umas com as outras, não é possível dizer qual é a melhor ou menos tóxica, pois não houve variação significativa nos resultados, exceto pela amostra PLGA 15-At que apresentou valores da viabilidade celular um pouco abaixo das outras duas amostras, porém dentro da margem de erro.

Esse teste indica que o produto final (amostra PLGA 15) do processo escolhido para a realização da síntese do copolímero PLGA não é tóxico.

As amostras obtidas após o processo de liofilização (amostra PLGA 15-At) e após o processo de eletrofiliação (amostra PLGA 15-M) também não apresentaram toxicidade, mostrando que os métodos utilizados foram adequados e não deixaram quantidades significativas de resíduos tóxicos.

O teste com a redução do sal de tetrazolina, realizado para avaliar a viabilidade celular por meio da função mitocondrial, indicou que os copolímeros PLGA's obtidos, liofilizados e processados por eletrofiliação podem não ser prejudiciais ou que a quantidade é insuficiente para causar danos agudos em células isoladas do corpo. Entretanto, apesar do mérito do teste, não se pode afirmar que os PLGA's sintetizados nesta pesquisa podem ser considerados biocompatíveis, uma vez que o teste de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro passo para a análise do material em estudo.

### 5.3. ESTUDO DA DEGRADAÇÃO HIDROLÍTICA *IN VITRO*

O copolímero PLGA 82/18 escolhido para a realização do estudo de degradação hidrolítica *in vitro* foi o da síntese 15 por apresentar valor de  $T_g$  (45°C) acima da temperatura corporal (37°C), ser bastante estável termicamente ( $T_i = 178^\circ\text{C}$ ) e ter excelente rendimento de síntese (91%). Os bastões de PLGA produzidos apresentaram diâmetro médio de  $2,60 \pm 0,05\text{mm}$ , comprimento médio de  $29,95 \pm 0,60\text{mm}$  e massa média de  $203 \pm 4\text{mg}$ . A fotografia de um dos bastões de PLGA, síntese 15, é mostrada na Figura 14.

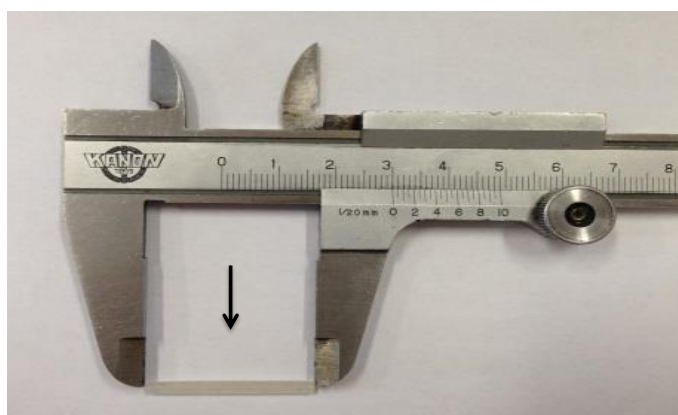


Figura 14 - Fotografia do bastão de PLGA para o estudo de degradação.

Durante o estudo de degradação, as amostras dos bastões, retiradas nos intervalos de tempo pré-determinados (0, 6, 12, 19, 28, 40 e 55 dias), foram analisadas por FTIR, TG, DSC, reometria e MEV. Os resultados são apresentados e discutidos a seguir.

#### 5.3.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros FTIR do PLGA 82/18, síntese 15, e das amostras desse copolímero imersas em solução tampão fosfato salino durante os intervalos de tempo pré-determinados para o estudo de degradação *in vitro*, são mostrados na Figura 15. Os espectros para cada uma dessas amostras de PLGA são mostrados no Anexo XIV (vide página 173).

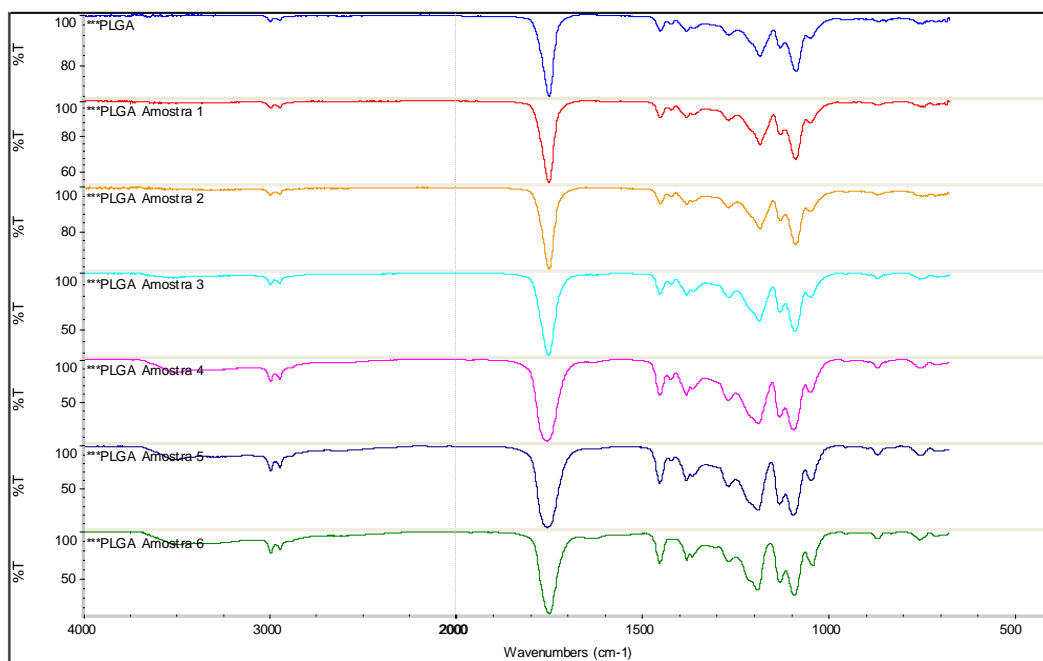


Figura 15 - Espectros FTIR do PLGA 82/18 e das amostras desse copolímero imersas em solução tampão fosfato salino.

No espectro FTIR da amostra de PLGA (Figura 15), é possível observar uma intensa banda de absorção na região entre  $1760$  e  $1750\text{cm}^{-1}$ , região característica da carbonila (C=O) presente nos dois monômeros. Também se observa banda característica do grupamento (C-O), entre  $1300$  e  $1150\text{cm}^{-1}$ , que é região característica de grupos ésteres. Essas bandas já foram apresentadas anteriormente (vide Figura 9 e Tabela 9 nas páginas 54 e 55, respectivamente). As bandas de absorção características dos grupos funcionais presentes no copolímero PLGA podem ser observadas nos espectros FTIR das amostras 1 a 6, submetidas aos ensaios de degradação hidrolítica *in vitro* (Figura 15). Os espectros apresentados nessa Figura são muito semelhantes, o que mostra que as bandas características dos grupos ésteres presentes no PLGA também podem ser observadas nos subprodutos da degradação.

Um fato interessante é observado nos espectros FTIR da Figura 15, na região entre  $3700$  e  $3100\text{cm}^{-1}$ , região característica do grupo hidroxila (OH). Essa observação é melhor visualizada nos espectros FTIR apresentados no Anexo XIV (vide página 173). Ao comparar a amostra do PLGA 82/18 (síntese 15), com as amostras desse PLGA retiradas da solução PBS, nos tempos pré-determinados (6, 12, 19, 28, 40 e 55 dias), durante o estudo de degradação,

nota-se o aparecimento da banda de absorção do grupo hidroxila. Além disso, percebe-se que a intensidade dessa banda aumenta com o tempo de permanência das amostras, 1 a 6 do PLGA, na solução PBS.

De acordo com o que foi mencionado no subitem 3.3 da Revisão Bibliográfica, a biodegradação do PLGA ocorre por clivagem da cadeia polimérica por hidrólise (a presença de água no meio de degradação quebra as ligações ésteres do PLGA), liberando os ácidos lático e glicólico. Quando o PLGA estiver completamente degradado, restarão apenas esses dois ácidos, que poderão ser convertidos em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  pelo ciclo de Krebs. No entanto, os bastões de PLGA 82/18, identificados de 1 a 6, analisados por FTIR, encontravam-se no estado sólido, cada vez mais frágeis e quebradiços com o tempo de imersão na solução de PBS, mas no estado sólido e não líquido. Antes da análise de FTIR, os bastões retirados no meio de degradação, em função do tempo de estudo, foram lavados em água destilada e secados em estufa a vácuo ( $60^\circ\text{C}$ ), por 48h. Portanto, era de se esperar que eles não tivessem os ácidos lático e glicólico. Esses ácidos, formados durante a degradação do PLGA, estariam no meio (solução) de degradação. Assim sendo, acredita-se que antes da completa degradação do PLGA, esse sofre cisão (quebra de ligações ésteres) em partes de sua cadeia, diminuindo o tamanho das cadeias poliméricas e, possivelmente, formando os polímeros poli(ácido lático) e poli(ácido glicólico). Com a diminuição do tamanho das cadeias, aumentam as quantidades de terminações ( $\text{COOH}$ ), o que justificaria o aparecimento da banda de absorção do grupo OH. Conforme observado, o aumento na intensidade das bandas de absorção da hidroxila pode estar relacionado ao fato de que, com o aumento do tempo de permanência dos bastões de PLGA 82/18 na solução de PBS, uma maior quantidade de cadeias poliméricas menores estão sendo formadas, em função da quebra (hidrólise) contínua que as cadeias poliméricas do PLGA estão sofrendo. Isso explicaria o aumento de intensidade registrado, pois uma maior quantidade de grupos hidroxila estaria presente nos bastões de PLGA analisados.

### 5.3.2 TERMOGRAVIMETRIA

As curvas TG do PLGA 82/18, síntese 15, antes e depois dos ensaios de degradação *in vitro* em solução tampão fosfato salino, são mostradas na Figura 16. As curvas TG e DrTG, para cada uma dessas amostras de PLGA, são mostradas no Anexo XV. Os resultados referentes a  $T_i$  (1º evento térmico),  $T_{deg.máx.}$  (2º evento térmico) e percentual de perda de massa (1º e 2º eventos térmicos), obtidos a partir dessas curvas, em função do número dias relacionados com o estudo de degradação *in vitro*, são mostrados na Tabela 13.

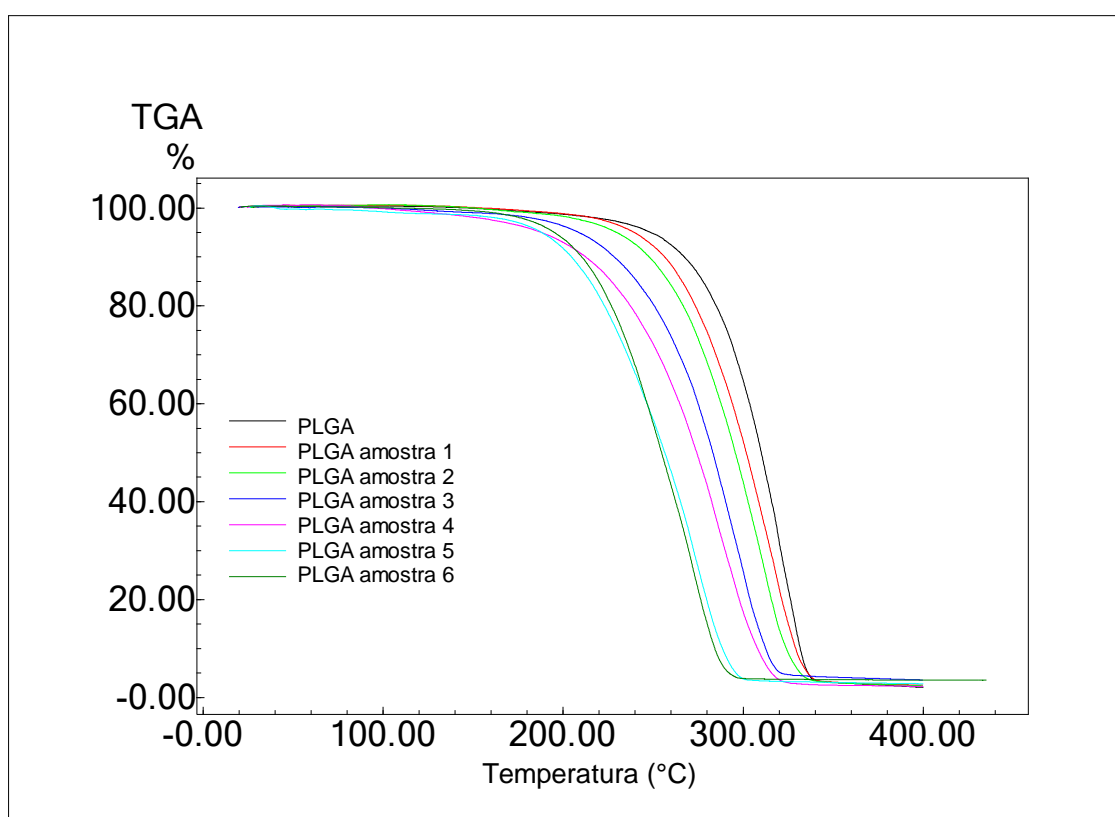


Figura 16 - Curvas TG do PLGA 82/18, síntese 15, antes e depois do ensaio de degradação *in vitro*.

Tabela 13 - Resultados das análises de TG para o estudo de degradação *in vitro* do PLGA 82/18, síntese 15.

Amostras	Tempo de degradação (dias)	TG			
		T <sub>i</sub> (°C)	T <sub>deg.máx.</sub> (°C)	% perda de massa	
				1° evento	2° evento
PLGA	0	178,0	325,0	2,8	95,4
PLGA Amostra 1	6	163,3±4,0	310,0±1,0	2,7±0,6	94,7±1,1
PLGA Amostra 2	12	155,7±7,9	300,7±8,7	2,7±0,2	95,2±0,2
PLGA Amostra 3	19	134,7±21,1	303,1±11,9	2,4±0,7	95,4±0,6
PLGA Amostra 4	28	98,3±2,1	285,0±7,2	3,9±0,1	94,9±1,5
PLGA Amostra 5	40	90,0±1,0	269,0±6,7	1,7±0,0	94,3±0,9
PLGA Amostra 6	55	84,7±9,2	265,6±4,4	2,0±0,4	94,9±0,3

Nas curvas TG da Figura 16 ou pelos valores apresentados na Tabela 13 é possível observar que os valores de T<sub>i</sub> e T<sub>deg.máx.</sub>, de maneira geral, diminuiram com o aumento do tempo de contato do PLGA com a solução tampão fosfato. Isso possivelmente se deve ao fato de que à medida que o copolímero PLGA começa a se degradar com o tempo ele vai perdendo a estabilidade térmica. Os perfis das curvas de decomposição do PLGA de todas as amostras são bem semelhantes. As amostras 5 e 6, correspondentes aos tempos de degradação de 40 e 55 dias, apresentaram curvas TG quase que sobrepostas, indicando que essas amostras se encontram em um mesmo estágio de degradação. Além disso, essas duas amostras apresentaram um estágio de degradação mais pronunciado do que as demais, uma vez que suas temperaturas T<sub>i</sub> e T<sub>deg.máx.</sub> foram menores que as observadas para as outras amostras.

Ao observar todas as curvas TG separadamente, mostradas no Anexo XV (vide página 177), nota-se a ocorrência de uma pequena perda de massa (2,7±0,8%), antes da perda de massa (95,0±0,4%) relacionada à degradação completa das cadeias poliméricas do PLGA. Os resultados de termogravimetria, no intervalo de temperatura estudado, indicam que as amostras de PLGA se

decompuseram quase que totalmente, uma vez que as perdas de massa para os dois eventos térmicos foram próximas a 100%.

Percebe-se também que o intervalo de temperatura em que ocorre a primeira perda de massa altera-se de 178 a 226°C (PLGA) para 85 a 168°C (PLGA Amostra 6), com o aumento do tempo de degradação. Da mesma forma, tem-se uma mudança no intervalo de temperatura para o segundo evento térmico, que passa de 226 a 343°C (PLGA) para 168 a 309°C (PLGA Amostra 6). Em relação à temperatura de início de perda de massa, pode-se considerar que as amostras de PLGA estudadas são termicamente estáveis até, aproximadamente, 85°C (PLGA Amostra 6). Essa temperatura é mais do que suficiente para utilização desse copolímero em sistemas de liberação de fármacos.

A ocorrência da pequena perda de massa, registrada no 1º evento térmico nas curvas TG, talvez possa ser explicado pela presença de cadeias poliméricas menores. Essas podem permitir regiões com densidades de entrelaçamento bem menores, quando comparadas com as cadeias poliméricas maiores, por esse motivo, necessitam de menores quantidades de energia (temperatura) para iniciar o processo de degradação.

### **5.3.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL**

As curvas DSC para o PLGA 82/18 e para suas amostras ensaiadas *in vitro*, em solução tampão fosfato salino, são apresentadas na Figura 17. Os valores das temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ 's), obtidos a partir das curvas DSC, bem como os valores de pH das soluções, após retirada dos bastões, são mostrados na Tabela 14. As curvas DSC e DrDSC, para cada uma dessas amostras de PLGA, são mostradas no Anexo XVI (vide página 183).

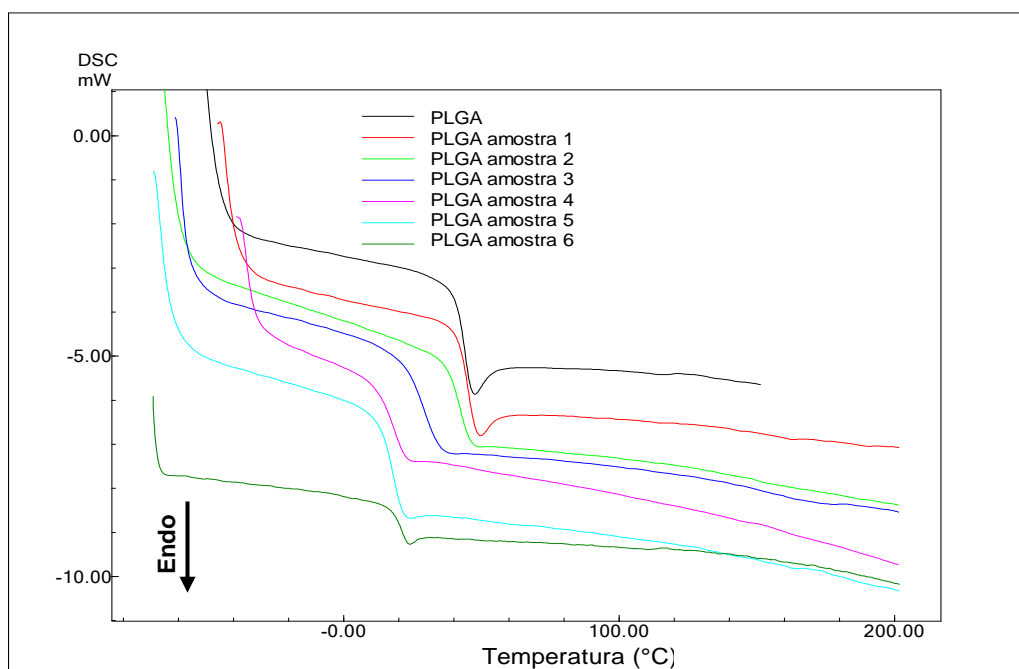


Figura 17 - Curvas DSC das amostras de PLGA 82/18, síntese 15, antes e depois do ensaio de degradação *in vitro*.

Tabela 14 - Resultados das  $T_g$ 's e dos pH's para o estudo de degradação *in vitro* do PLGA 82/18, síntese 15.

Amostras	Tempo de degradação (dias)	$T_g$ (°C)	pH
PLGA	0	45	---
PLGA Amostra 1	6	43,7±0,4	7,4±0,1
PLGA Amostra 2	12	42,4±0,3	7,4±0,0
PLGA Amostra 3	19	30,8±1,1	7,4±0,0
PLGA Amostra 4	28	15,9±1,0	6,9±0,0
PLGA Amostra 5	40	18,8±0,6	2,5±0,1
PLGA Amostra 6	55	19,8±0,5	2,3±0,0

Durante o processo de degradação *in vitro*, nota-se uma queda pronunciada da temperatura de transição vítrea, passando de 45°C, no tempo zero, para  $\approx 16^\circ\text{C}$ , após 28 dias do estudo de degradação. De 28 para 55 dias a  $T_g$  se estabiliza em torno de  $18,1 \pm 1,6^\circ\text{C}$ . O início lento do processo de degradação, observado pela pequena queda da  $T_g$  durante os primeiros 12 dias (de 45 para  $42^\circ\text{C}$ ), pode estar associado ao início da quebra das ligações ésteres presentes no PLGA, em função da hidrólise que esse copolímero sofre em contato com a solução de PBS. A formação dos polímeros poli(ácido lático) e

poli(ácido glicólico), com cadeias poliméricas (massas molares) menores do que as do PLGA, bem como a diminuição no tamanho das cadeias poliméricas do PLGA, devido à hidrólise que o mesmo está sofrendo, tendem a diminuir o valor da  $T_g$ . (JAMSHIDI *et al.*, 1988). O aumento da taxa de degradação do copolímero, evidenciado pela grande redução na  $T_g$  (de 42 para 18°C no período de 12 para 40 dias, permanecendo, aproximadamente, nesse valor até o final do estudo de degradação), ocorre pela maior quantidade de cadeias de poli(ácido lático) e poli(ácido glicólico) e cada vez mais cadeias poliméricas menores de PLGA, produtos da degradação que esse copolímero está sofrendo. Essa mesma tendência é observada para o pH do meio (solução) onde o PLGA está se degradando. No início, o pH cai de 7,4 para 6,9 (em 28 dias). Depois, de 28 para 40 dias de estudo, percebe-se uma queda brusca no valor do pH do meio onde o PLGA sofre o processo de degradação, passando de 6,9 para 2,5, aproximadamente (Tabela 14). Com a contínua decomposição do PLGA, a tendência do pH do meio é diminuir devido à liberação de ácidos lático e glicólico no meio reacional. O aumento da taxa de degradação do copolímero também pode ser evidenciado pela grande redução no pH. Essa queda brusca é devido à maior quantidade de ácidos lático e glicólico presentes no meio reacional, oriundos da degradação por hidrólise a que o PLGA está sendo submetido. Além disso, acredita-se que a degradação do PLGA pode estar sendo autocatalisada pela redução do pH, conforme relatado por XIAOLING e HASKARA (2006).

#### 5.3.4 ANÁLISE POR REOMETRIA

A partir do ensaio de *strain sweep*, via reometria, determinou-se a região de viscoelasticidade linear entre 0,2 e 10% de *strain*. O valor de *strain* escolhido para o ensaio de *frequency sweep* foi de 5%. O resultado obtido pelo ensaio reológico de *frequency sweep*, para o PLGA 82/18 (síntese 15) antes do estudo de degradação *in vitro*, é apresentado na Figura 18. As curvas geradas pelo *software* do equipamento mostram  $G'$  (módulo elástico, em vermelho) e  $G''$  (módulo viscoso, em azul) em função da frequência angular.

As curvas dos módulos elástico e viscoso, obtidas para as amostras 1 a 5 de PLGA 82/18 (síntese 15) que sofreram degradação *in vitro*, em solução tampão fosfato salino, são apresentadas nas figuras do Anexo XVII (vide página 189). Devido ao estágio de degradação de integridade física em que se encontrava a amostra de PLGA com 55 dias (amostra 6), não foi possível realizar a análise reométrica para se obter a massa molar média dessa amostra, pois não havia quantidade suficiente de amostra para ser ensaiada no reômetro.

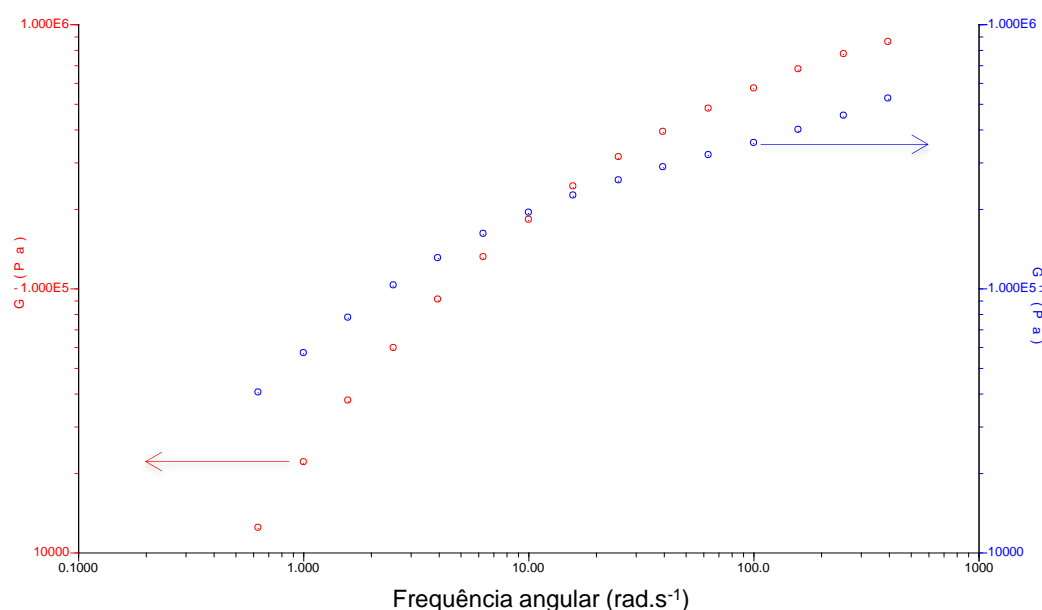


Figura 18 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 15.

Observa-se pelas curvas da Figura 18 o domínio do comportamento viscoso sobre o elástico ( $G'' > G'$ ) até a frequência angular de  $10\text{rad.s}^{-1}$ , aproximadamente, com inversão dos comportamentos a partir dessa frequência.

A massa molar ponderal média de cada amostra foi estimada com base nos resultados do ensaio de *frequency sweep* e em modelos que descrevem a relação entre propriedades reológicas e tempos de relaxação com a distribuição de massa molar (MAIER *et al.*, 1998; THIMM *et al.*, 1999). Os resultados de massa molar média das amostras de PLGA, no estudo de degradação *in vitro*

em solução tampão fosfato salino, obtidos indiretamente por reometria, são apresentados na Figura 19 e na Tabela 15.

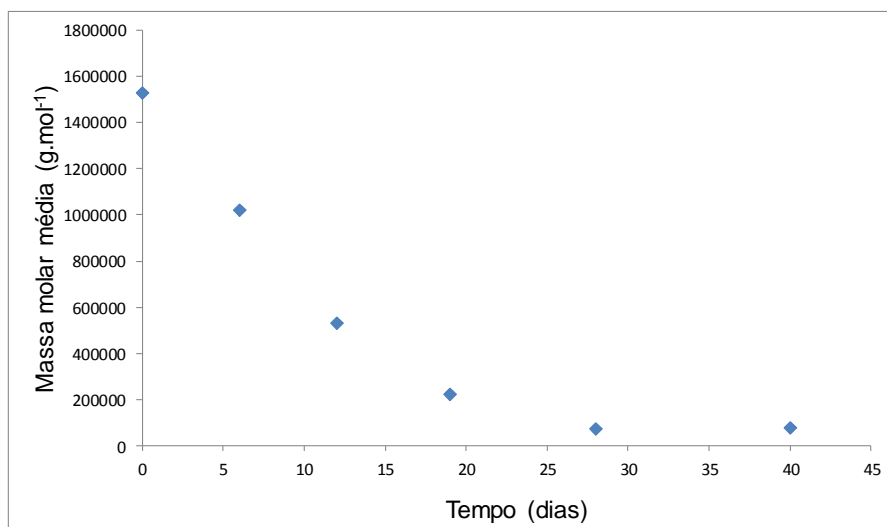


Figura 19 - Massa molar média para amostras de PLGA 82/18, síntese 15, em função do tempo de degradação.

Tabela 15 - Resultados da análise reométrica do estudo de degradação *in vitro* do PLGA 82/18, síntese 15.

Amostras	Tempo de degradação (dias)	Massa molar média (g.mol <sup>-1</sup> )
PLGA	0	1.526.000
PLGA Amostra 1	6	1.021.000±193.278
PLGA Amostra 2	12	532.400±36.184
PLGA Amostra 3	19	221.200±41.135
PLGA Amostra 4	28	74.640±4.528
PLGA Amostra 5	40	76.190±3.685
PLGA Amostra 6	55	---

Pode-se observar pela Figura 19 e Tabela 15 que o copolímero PLGA 82/18, sintetizado com massa molar média da ordem de  $10^6 \text{g.mol}^{-1}$ , durante o processo de degradação *in vitro* em solução tampão fosfato salino, teve a massa molar média diminuída para ordem de  $10^4 \text{g.mol}^{-1}$  em, aproximadamente, 28 dias (PLGA amostra 4), o que corresponde a uma queda de aproximadamente 95%. Até chegar a esse valor, percebe-se uma queda contínua e acentuada da massa molar do PLGA com o tempo de degradação. Conforme discutido anteriormente, isso pode ser devido à diminuição que as cadeias poliméricas do PLGA estão

sofrendo durante o processo de degradação *in vitro*. Esses resultados de massas molares são coerentes com os valores de  $T_g$ , determinados via DSC, apresentando a mesma tendência em função do mesmo fenômeno.

### 5.3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As micrografias obtidas para os bastões de PLGA, síntese 15, antes e durante o estudo de degradação *in vitro*, para as amostras 1, 2 e 3, respectivamente, são mostradas nas Figuras 20 a 23. A morfologia da superfície dos bastões de PLGA foi acompanhada durante o processo de degradação até o 19º dia. Nas amostras 4, 5 e 6 não foi possível a análise das superfícies das amostras por MEV, devido ao estágio de degradação das mesmas. Essas amostras, ao serem inseridas no equipamento, tiveram seu processo de degradação acelerado pela incidência do feixe de elétrons, tornando impossível a obtenção da imagem da superfície (micrografia) dessas amostras.

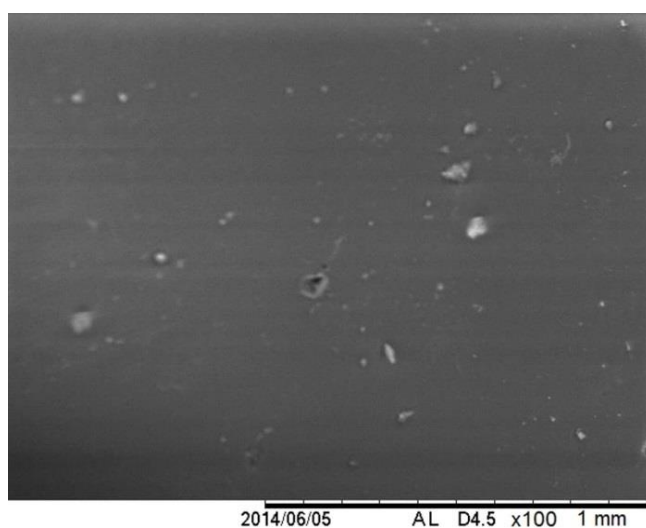


Figura 20 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18, síntese 15.

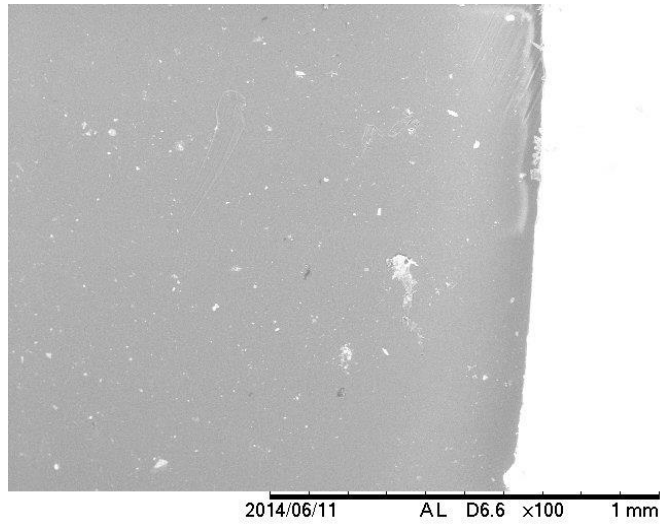


Figura 21 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1.

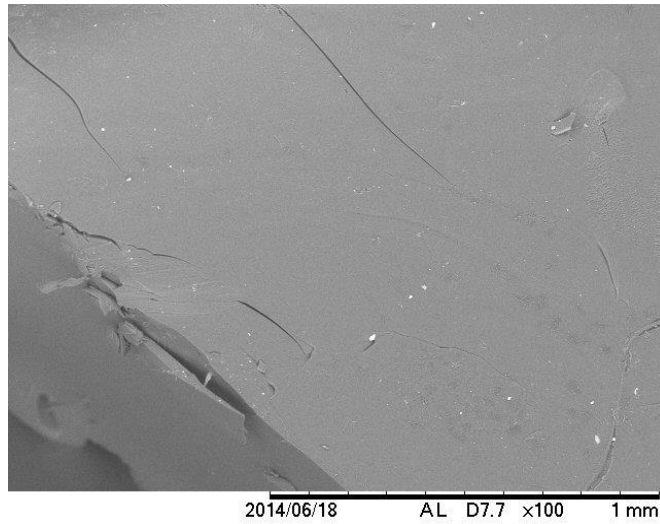


Figura 22 - Micrografia dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2.

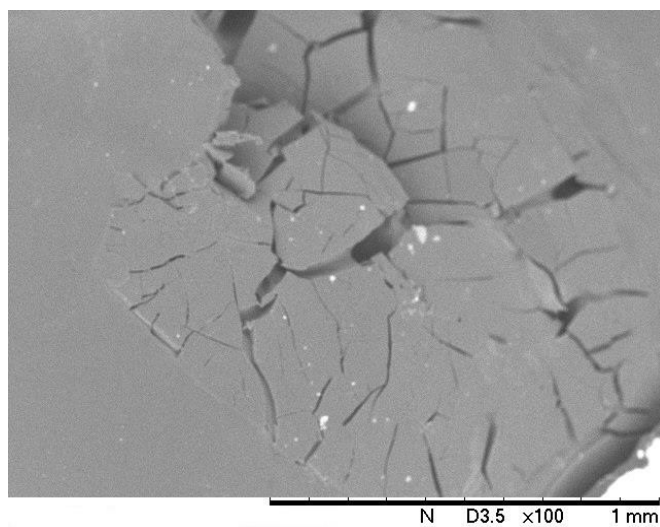


Figura 23 - Micrografia dos bastões de PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3.

A micrografia da Figura 20 mostra a superfície do bastão de PLGA 82/18, síntese 15, antes do início do processo de degradação, cuja aparência apresenta-se não porosa e íntegra, com algumas irregularidades na superfície, devido, talvez, ao processo de produção dos bastões. Após 6 dias de degradação (Figura 21), pode-se observar que o aspecto da amostra continua íntegro e não poroso, sem indício visível de início de degradação. Transcorridos 12 dias de imersão em solução tampão fosfato salino, a micrografia do bastão de PLGA amostra 2 (Figura 22) apresenta o surgimento de algumas trincas na superfície do bastão, provavelmente devido ao início de degradação do PLGA. Esse fenômeno fica bem mais claro e evidente a partir da aparência da micrografia referente ao PLGA 82/18 amostra 3, após 19 dias de degradação (Figura 23). Observa-se uma superfície com muitas trincas e rachaduras, indicando uma intensidade de degradação mais pronunciada. A partir desse tempo, a integridade física dos bastões de PLGA 82/18, quando em contato com solução tampão fosfato salino, fica comprometida.

Comportamento similar foi observado com os resultados de DSC, mais especificamente com os valores encontrados para a temperatura de transição vítrea em função do tempo de degradação *in vitro* das amostras de PLGA. Conforme mostrado na Tabela 14, pode-se observar que a primeira diminuição significativa no valor da  $T_g$ , de 42 para 31°C, ocorreu no intervalo de tempo de 12 para 19 dias, em solução tampão fosfato salino. Após esse período, a  $T_g$  diminui ainda mais, caindo para aproximadamente 18°C, acompanhada também de uma diminuição drástica no valor de pH do meio, indicando o comprometimento na integridade física dos bastões. Esse mesmo comportamento e tendência foram observados para a massa molar média, obtida por reometria.

A partir dos resultados do estudo de degradação hidrolítica, percebe-se claramente uma queda acentuada no valor da  $T_g$ , da massa molar e do pH do meio, quando as amostras de PLGA completam entre 19 e 28 dias de imersão em solução tampão fosfato salino. A queda observada nessas propriedades pode ser devida à quebra de ligações ésteres por hidrólise com a consequente diminuição do tamanho das cadeias poliméricas de PLGA e produção dos polímeros poli(ácido láctico) e poli(ácido glicólico) e dos ácidos láctico e glicólico

no meio reacional, provenientes do processo de degradação *in vitro* do PLGA. As cadeias poliméricas menores de PLGA, PLA e PGA podem exercer efeito plastificante nas amostras, justificando as quedas relatadas nas temperaturas de transição vítrea e nas massas molares. A produção dos ácidos láctico e glicólico no meio reacional diminui o valor de pH e podem estar acelerando o processo de degradação. Além disso, foi observado durante o manuseio das amostras que elas se tornavam cada vez mais quebradiças e frágeis a partir desse período de degradação *in vitro* em solução tampão fosfato salino.

#### 5.4. ESTUDO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Os testes de liberação do fármaco atenolol *in vitro* foram realizados com dispositivos produzidos a partir do PLGA 82/18 (síntese 15) nas formas de bastões e mantas de nanofibras.

Os bastões de PLGA com atenolol apresentaram diâmetro médio de  $0,22\pm 0,00\text{mm}$ , comprimento médio de  $2,50\pm 0,03\text{mm}$  e massa média de  $108,10\pm 2,00\text{mg}$ .

A fotografia de uma das mantas de nanofibras de PLGA contendo atenolol, obtidas pelo processo de eletrospinação, é mostrada na Figura 24. A massa média das mantas de PLGA produzidas foi de  $107,00\pm 0,27\text{mg}$ .



Figura 24 – Fotografia de uma manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, contendo atenolol.

A morfologia da superfície de sistemas poliméricos tem um papel importante no processo de degradação e de liberação dos fármacos presentes nesses sistemas. Ela pode esclarecer os aspectos superficiais dos implantes desenvolvidos e possibilitar uma avaliação, quanto ao aspecto morfológico, dos diferentes perfis de liberação (BYRRO *et al.*, 2009, ALVES, 2013).

As imagens obtidas para a superfície do bastão do PLGA 82/18 (síntese 15) com o atenolol são mostradas nas Figuras 25 a 28, por meio da microscopia eletrônica de varredura, para diferentes ampliações. Pode-se observar que a superfície do bastão aparentemente não apresenta poros, parecendo ser íntegra e homogênea. Mesmo com uma ampliação de até 500 vezes não se percebe nenhuma alteração na superfície. Não foi possível obter micrografias com ampliação maior que 500 vezes para os dispositivos na forma de bastões, pois à medida em que se aumentou a incidência do feixe de elétrons durante a análise, começou a ocorrer a degradação da amostra, tornando impossível a obtenção da imagem da superfície.

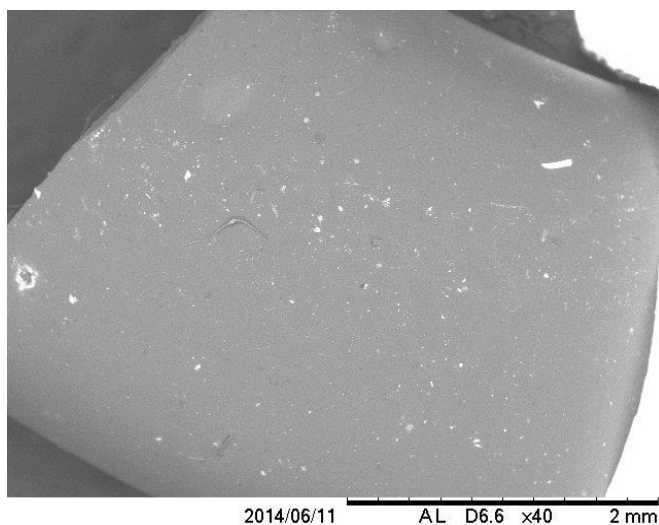


Figura 25- Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 40 vezes.

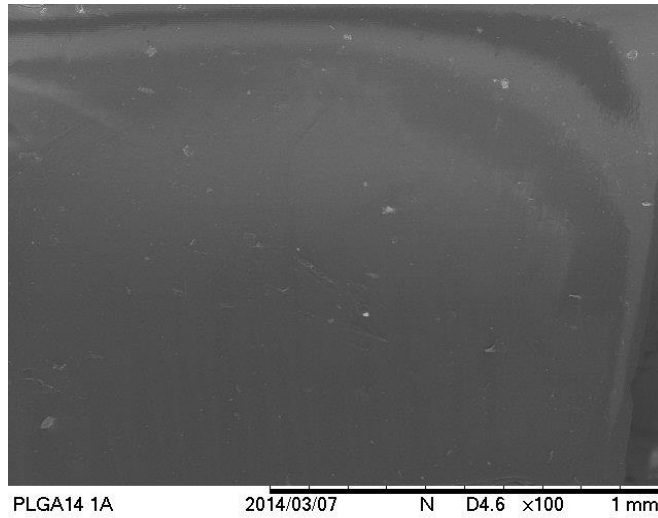


Figura 26- Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 100 vezes.

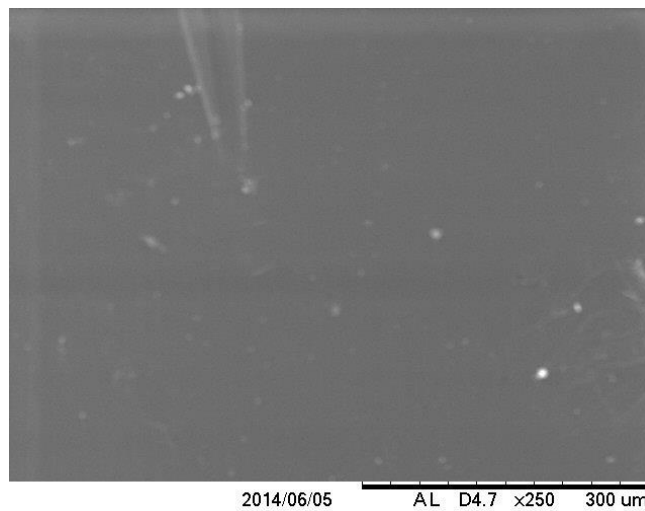


Figura 27 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 250 vezes.

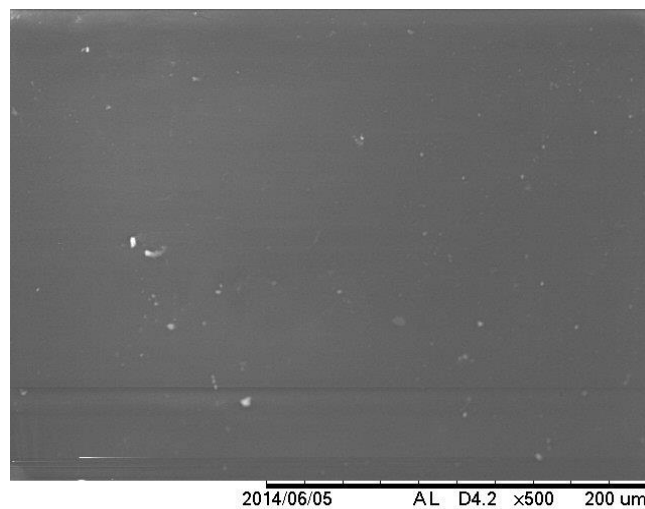


Figura 28 - Micrografia do bastão de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 500 vezes.

As imagens obtidas para a superfície da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com o atenolol, por meio da microscopia eletrônica de varredura, para diferentes ampliações são apresentadas nas Figuras 29 a 32. Observa-se, nessas micrografias, uma estrutura em rede formada por fibras com muito espaço vazio entre elas. A distribuição das fibras parece ser homogênea. Ao analisar as micrografias verificou-se que os diâmetros dessas fibras são da ordem de nanômetros. Nas Figuras 31 e 32, pode-se observar os valores dos diâmetros de algumas fibras (por exemplo: 348, 335, 386, 456, 505, 685nm) medidos por meio do *software* do equipamento.

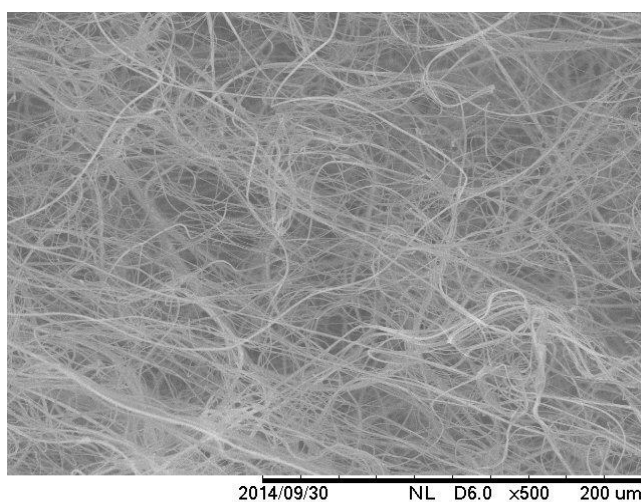


Figura 29 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento 500 vezes.

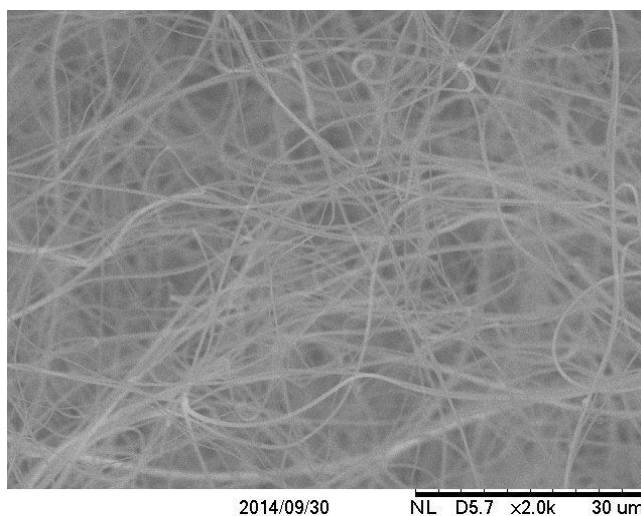


Figura 30 - Micrografia da manta de nanofibra de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento 2000 vezes.

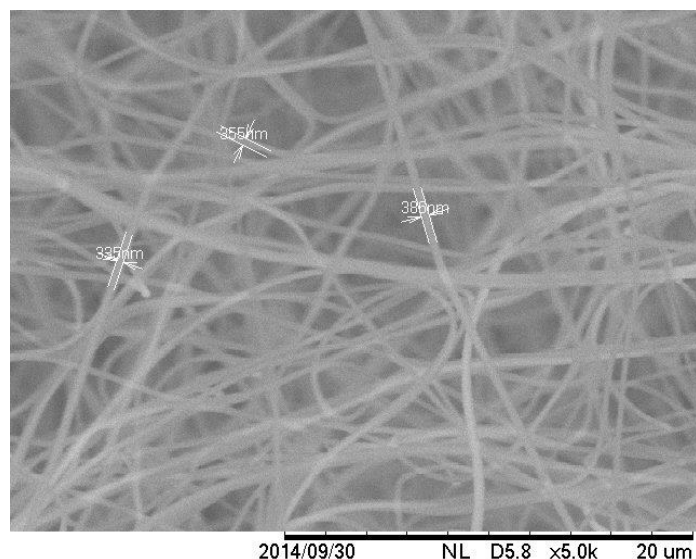


Figura 31 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 5000 vezes.

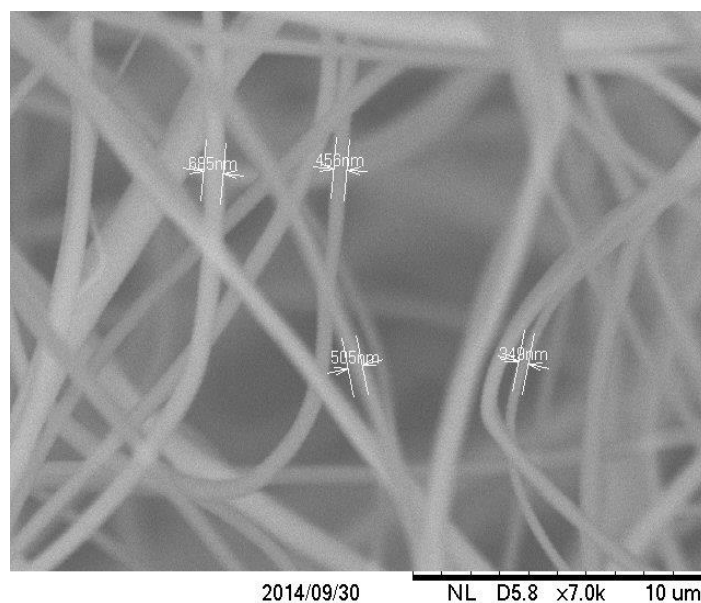


Figura 32 - Micrografia da manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, aumento de 7000 vezes.

A presença do fármaco atenolol não foi detectada nas micrografias obtidas para os bastões e as mantas de nanofibras de PLGA 82/18, mostradas nas Figuras 25 a 32. A molécula de atenolol é muito pequena para ser detectada pelo equipamento utilizado, a estimativa de seu tamanho está entre 0,6 e 1,4nm (vide Figura 6 na página 31). A resolução máxima do equipamento usado é de

30nm (o que corresponde a uma ampliação de 30.000 vezes, valor muito superior ao utilizado na obtenção das micrografias apresentadas nas Figuras 25 a 32).

Analisando-se a estrutura molecular do atenolol, apresentada na Figura 6, e do copolímero PLGA, mostrada na Figura 3 (página 14), acredita-se que a interação entre o atenolol e o copolímero ocorra por meio de ligações secundárias entre os grupos hidroxila (OH) e amina ( $\text{NH}_2$ ) do fármaco com os grupos carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ) presentes nas unidades repetitivas do PLGA e/ou os grupos carbonila do atenolol com os grupos metileno e metil ( $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  respectivamente) do PLGA. Essas ligações secundárias provavelmente são ligações de hidrogênio.

#### 5.4.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de varredura do comprimento de onda na faixa entre 200 e 400nm, em função da absorbância, obtida por meio da solução de atenolol em PBS com concentração de  $10\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  é apresentada na Figura 33. Ao observar essa curva, nota-se que o comprimento de onda de absorbância máxima foi de 225nm. Esse valor foi utilizado para realização da curva de calibração analítica.

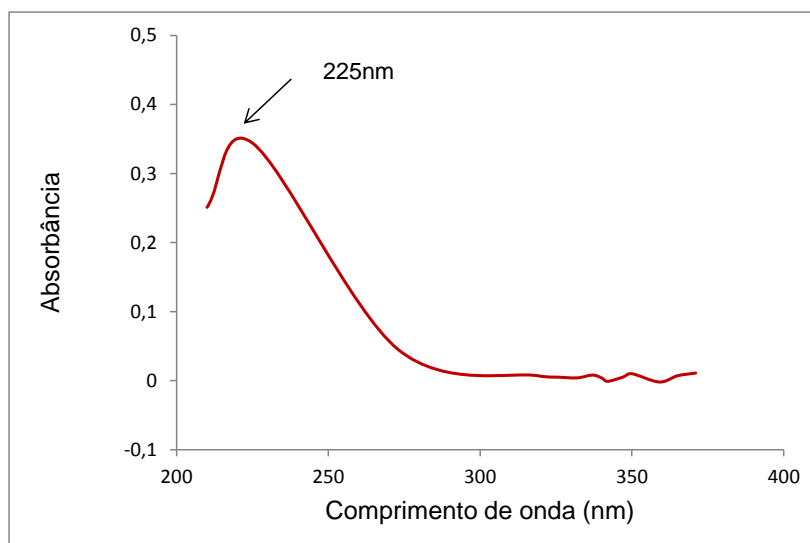


Figura 33 – Determinação do comprimento de onda de absorbância máxima do fármaco atenolol em PBS.

A curva de calibração do atenolol em PBS foi construída utilizando os valores de absorvância de dez soluções com concentrações diferentes, mostrados na Tabela 16.

Tabela 16 - Valores de concentração e absorvância para soluções de atenolol.

Concentração ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	Absorvância
0,5	0,0224
1	0,0478
2	0,0844
5	0,1824
8	0,2800
10	0,3657
12	0,4224
15	0,5155
20	0,6702
25	0,8445

A curva de calibração (ou analítica) da absorvância em função da concentração de atenolol em PBS é mostrada na Figura 34. A equação que representa essa curva e o seu coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) são apresentados nessa figura.

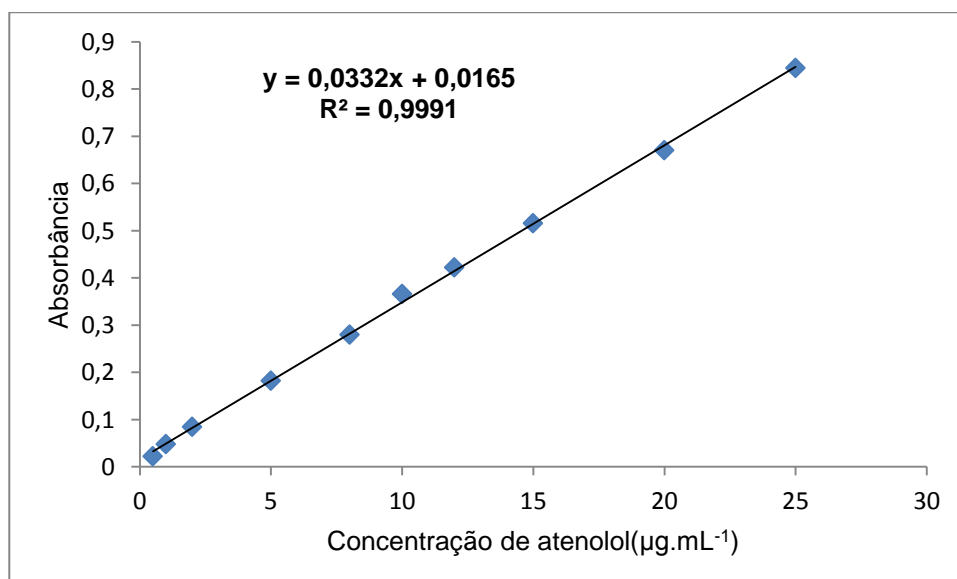


Figura 34 - Curva de calibração analítica da absorvância em função da concentração do atenolol em PBS.

A curva de calibração para determinação da concentração de atenolol em PBS pode ser expressa por equação de uma reta, com excelente coeficiente de correlação linear (0,9991). Essa curva é válida para o intervalo de concentração de atenolol entre 0,5 e 25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

#### 5.4.2 PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DA MANTA DE NANOFIBRA DE PLGA 82/18

Os perfis de liberação acumulada do fármaco atenolol, a partir das mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15), em função do tempo, podem ser vistos na Figura 35. Essa também contém uma figura interna com a escala ampliada para os primeiros 300 minutos de liberação acumulada. Verifica-se uma significativa liberação de atenolol a partir dos dispositivos em forma de manta de nanofibras, chegando a um valor acumulado de atenolol entre 65 e 72% do valor inicial utilizado para produção do dispositivo em forma de manta.

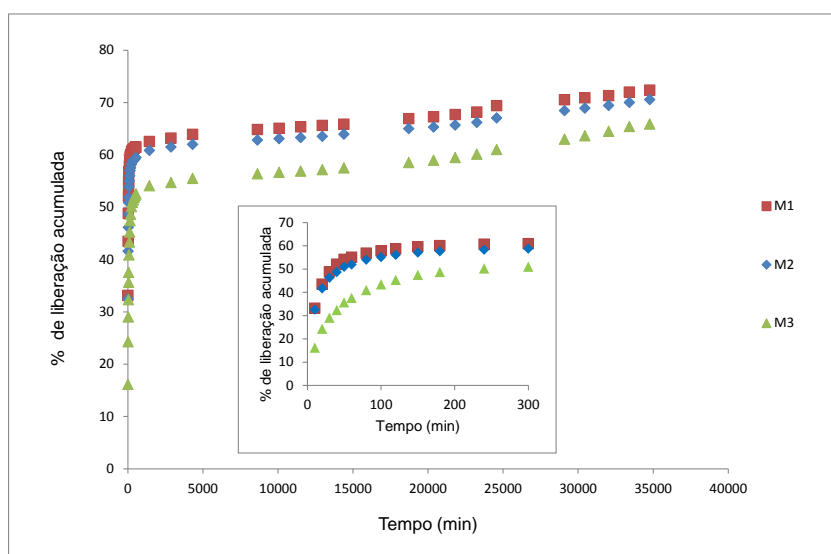


Figura 35 – Perfis de liberação acumulada de atenolol a partir de três amostras (M1, M2 e M3) de mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15).

A liberação do atenolol a partir das mantas (Figura 35) parece ter ocorrido por duas etapas bem distintas. Inicialmente, observa-se uma grande liberação do fármaco (aproximadamente 77% da quantidade total liberada) em torno de 2

horas. Depois, a liberação torna-se lenta, levando por volta de 24 dias para liberar o restante do atenolol, dentro do período investigado. No Anexo XVIII (vide página 194) encontram-se os valores de porcentagem de liberação do atenolol em função do tempo em minutos, os quais foram utilizados para construir as curvas de liberação apresentadas na Figura 35.

A liberação rápida em um período pequeno de tempo pode ser devido a uma certa quantidade de fármaco que fica depositada na superfície da manta. Além disso, a manta de nanofibra parece apresentar uma rede tridimensional com grande área superficial e muitos espaços vazios, conforme visto nas micrografias obtidas por MEV (Figuras 29 a 32). Essa maior área superficial e presença de espaços vazios facilitaria a difusão do fármaco para a superfície da manta e a penetração das moléculas de água da solução PBS para o seu interior, aumentando, dessa forma, a liberação do fármaco no meio.

O estudo de liberação *in vitro*, em solução PBS, foi realizado a 37°C, simulando a temperatura corporal. Conforme será apresentado no subitem 5.4.5.2, a temperatura de transição vítrea observada para a manta de nanofibras de PLGA 82/18 com atenolol, antes de iniciar a liberação, foi de 36,2°C. Essa temperatura é menor do que a temperatura do ensaio de liberação, portanto, as mantas de nanofibras de PLGA (amostras M1, M2 e M3) encontravam-se no estado de borracha. Esse fato também pode ter contribuído para uma liberação mais pronunciada do atenolol a partir dos dispositivos de PLGA em forma de mantas de nanofibras. Nesse estado, as cadeias poliméricas têm certa liberdade de movimento, facilitando a difusão do atenolol e, conseqüentemente, aumentando sua liberação para o meio.

Uma vez liberada a maior parte do fármaco a ser liberado durante o ensaio realizado, a taxa de liberação diminui drasticamente, provavelmente devido ao pequeno gradiente de potencial químico, nesse caso, diferença de concentração, existente depois que a maior parte do atenolol já foi liberada. Essa segunda etapa de liberação, também pode estar relacionada com velocidade de degradação do polímero e as interações entre o fármaco atenolol e as cadeias poliméricas do PLGA. Ou seja, a liberação ocorreria de forma lenta e contínua em função da reação de hidrólise (degradação) sofrida pelo PLGA, liberando as moléculas de atenolol para a solução de PBS.

### 5.4.3 PERFIL DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* DO BASTÃO DE PLGA 82/18

Os perfis de liberação acumulada de atenolol a partir dos bastões de PLGA 82/18 (síntese 15) em função do tempo são mostrados na Figura 36. Na Figura 36 também pode-se ver uma figura interna com a escala ampliada para os primeiros 360 minutos de liberação acumulada.

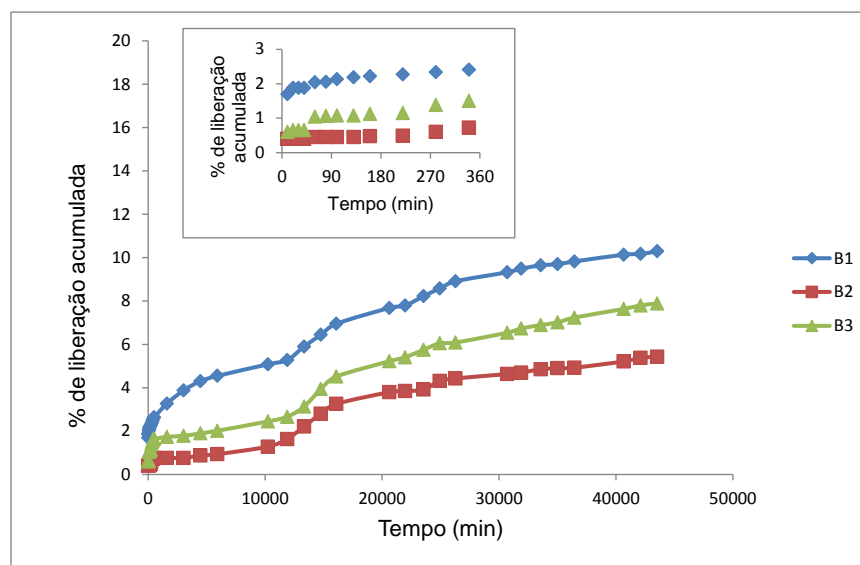


Figura 36 - Perfis de liberação acumulada de atenolol a partir de três amostras (B1, B2 e B3) de bastões de PLGA 82/18 (síntese 15).

Ao observar a Figura 36, nota-se que a quantidade de atenolol liberada a partir dos bastões de PLGA é bem menor do que a constatada a partir das mantas de nanofibras. A quantidade máxima liberada, durante o período de tempo para esses ensaios de liberação, ficou entre 5 e 10% da quantidade inicial utilizada para produção do dispositivo em forma de bastão. No Anexo XIX (vide página 195), encontram-se os valores de porcentagem de liberação do atenolol em função do tempo em minutos, os quais foram utilizados para construir as curvas de liberação apresentadas na Figura 36.

Outra diferença em relação aos perfis de liberação observados para os bastões de PLGA foi quanto à taxa de liberação. Percebe-se uma liberação lenta e gradual (quase constante) em função do tempo. Na primeira hora, a taxa de liberação é um pouco maior, mas nada comparada com a taxa observada no início do ensaio de liberação com as mantas de nanofibras. Na sequência, a

taxa diminui um pouco e tende a ficar constante, com a liberação do atenolol ocorrendo lentamente sem tendência em estabilizar-se em um patamar fixo, dentro do período de tempo pesquisado.

Essa liberação mais lenta pode ser devida aos bastões possuírem área superficial menor em comparação com as mantas de nanofibras. As micrografias dos bastões (Figuras 25 a 28) apresentaram superfície homogênea e aparentemente sem a presença de poros ou espaços vazios. Os dispositivos em forma de bastões parecem ser mais densos (em comparação com as mantas de nanofibras), fazendo com que o processo de difusão do fármaco, a partir dos bastões de PLGA, seja mais lento, devido ao maior impedimento físico da estrutura, dificultando a penetração de água para dentro do bastão, o que também retarda o processo de liberação do atenolol para a solução PBS.

Esse estudo foi observado até o 30° dia. Pode ser que após esse período a taxa de liberação do fármaco venha a aumentar um pouco, em função do estágio de degradação mais avançado do PLGA, conforme verificado nos testes de degradação *in vitro* neste trabalho. Portanto, a formação de trincas e rachaduras na matriz polimérica do bastão facilitaria a difusão e liberação do atenolol, bem como a penetração de moléculas de água.

Os dispositivos em forma de mantas de nanofibras e bastões apresentaram perfis de liberação bem diferentes. Esse fato pode ser bem interessante, pois permite que esses dois dispositivos possam ser destinados a diferentes aplicações clínicas que necessitam de tempos distintos para tratamento.

#### **5.4.4 MODELAGEM CINÉTICA DAS CURVAS DE LIBERAÇÃO**

As porcentagens da razão de liberação  $M_t/M_\infty$  em função do tempo são mostradas nas Figuras 37 e 38, em que  $M_t$  é a massa de atenolol liberada no tempo “t” e  $M_\infty$  é a massa total de atenolol liberada a partir dos dispositivos de PLGA 82/18, síntese 15, em forma de manta de nanofibras (Figura 37) e em forma de bastão (Figura 38). Os valores de  $M_t/M_\infty$  e do tempo (min) utilizados para construção das curvas apresentadas nas Figuras 37 e 38 estão no Anexo XX (vide página 196).

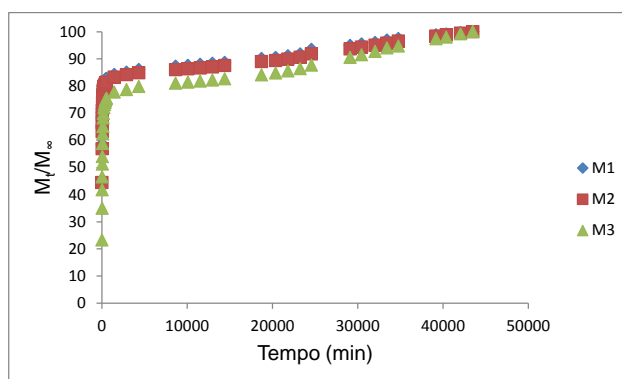


Figura 37 - Porcentagem de atenolol liberado em relação ao total liberado a partir das mantas de nanofibras de PLGA 82/18, amostras M1, M2 e M3.

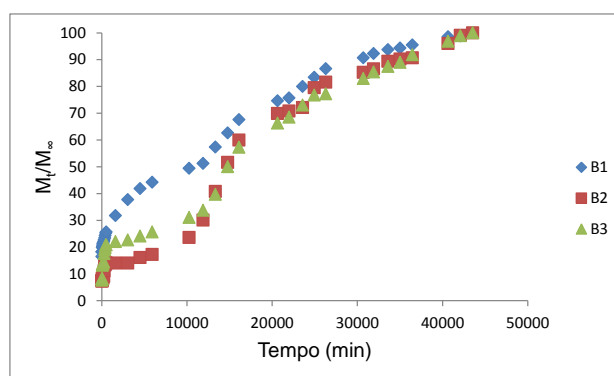


Figura 38 - Porcentagem de atenolol liberado em relação ao total liberado a partir dos bastões de PLGA 82/18, amostras B1, B2 e B3.

A Equação 2 (RITGER e PEPPAS, 1987), usada para relacionar a liberação fracional do fármaco com o tempo, pode ser escrita na forma da Equação 4:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \text{(Equação 2)}$$

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = n \ln(t) + \ln(k) \quad \text{(Equação 4)}$$

A Equação 4 foi utilizada para se determinar os valores do expoente relacionado ao mecanismo de liberação difusional ( $n$ ) e da constante de proporcionalidade que incorpora características da rede macromolecular ( $k$ ).

É importante lembrar que foram usados, aproximadamente, os 60% iniciais da quantidade de atenolol liberado para cada dispositivo, em conformidade com as restrições de aproximação desses modelos, descritas no subitem 3.4.

O logaritmo neperiano ( $\ln$ ) da razão de liberação  $M_t/M_\infty$  em função de  $\ln$  do tempo (minutos), para os dispositivos em forma de manta de nanofibras e bastão, são apresentados nas Figuras 39 e 40, respectivamente. Essas curvas foram ajustadas seguindo o modelo de Ritger e Peppas com o intuito de se determinar os parâmetros cinéticos  $n$  e  $k$ . Esses parâmetros, juntamente com o valores de  $R^2$  para cada curva, são apresentados na Tabela 17.

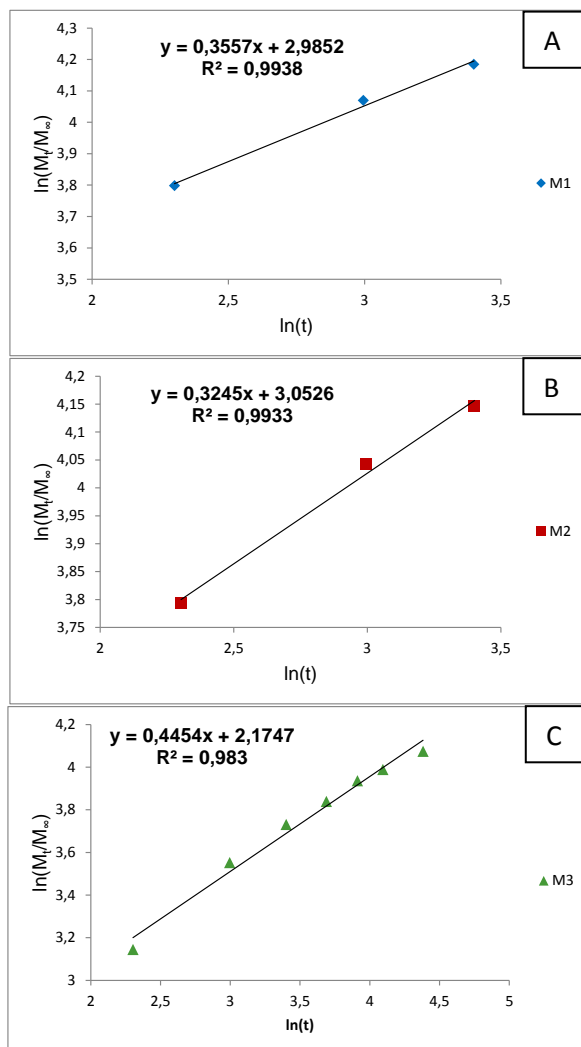


Figura 39 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 60% de liberação, para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18, amostras M1 (A), M2 (B) e M3 (C).

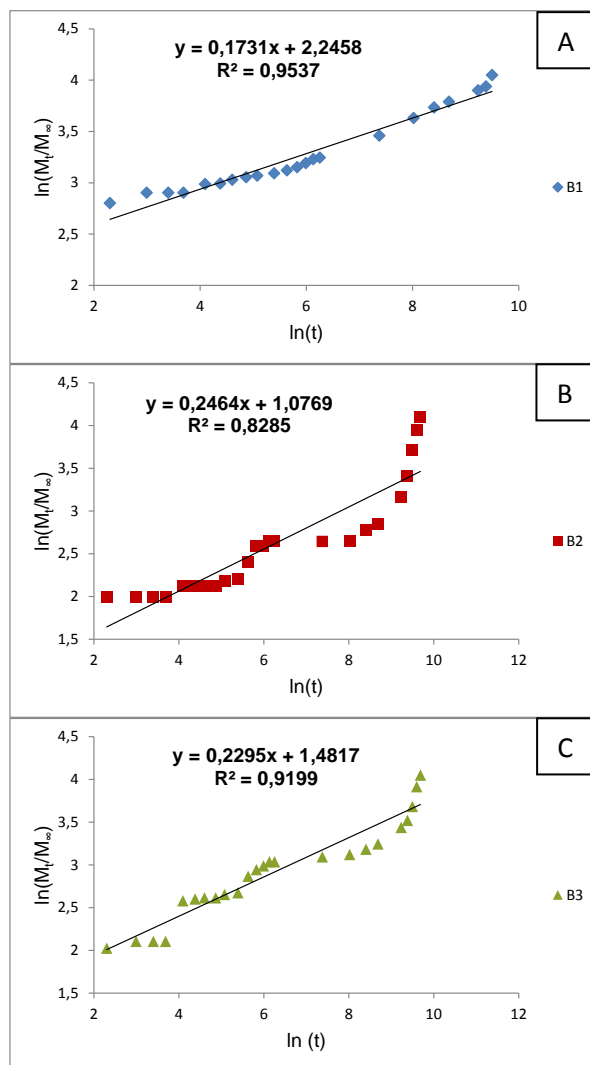


Figura 40 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 60% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18, amostras B1 (A), B2 (B) e B3 (C).

Tabela 17 - Valores de  $n$ ,  $k$  e  $R^2$  obtidos pela regressão linear da Eq. 4, para os valores de até 60% de liberação, para as mantas de nanofibras (amostras M1, M2 e M3) e para os bastões (amostras B1, B2 e B3) de PLGA 82/18.

Dispositivos		$n$	$k$	$R^2$
Mantas de nanofibras de PLGA 82/18	M1	0,356	19,790	0,994
	M2	0,325	21,179	0,993
	M3	0,445	8,802	0,983
Bastões de PLGA 82/18	B1	0,173	9,450	0,954
	B2	0,246	2,910	0,829
	B3	0,230	4,402	0,920

Ao observar a Tabela 17, nota-se que todos coeficientes de correlação linear ( $R^2$ ), estão acima de 0,95, exceto para dois dispositivos B2 e B3, cujos valores foram 0,83 e 0,92, respectivamente. Os dispositivos em forma de mantas foram os que obtiveram os melhores valores de  $R^2$  (acima de 0,98).

As amostras de mantas de nanofibras de PLGA (M1, M2 e M3) apresentaram valores para “n” menores do que 0,5, indicando que esses dispositivos não se adequaram ao modelo de difusão Fickiano proposto por Ritger e Peppas. Apesar das mantas possuírem o formato de disco plano, a liberação do fármaco, a partir das mesmas, não deve ter sido unidimensional. Esses resultados são coerentes com o que foi observado pela rápida liberação da maior parte do atenolol (77%) em um pequeno intervalo de tempo (2 horas) e pela estrutura em forma de rede tridimensional das mantas, visualizada por MEV, indicando que a liberação a partir das mantas pode ter ocorrido em mais de uma direção.

Como a constante  $k$  é um parâmetro agrupado que inclui, propriedades geométricas da matriz polimérica, o coeficiente de difusão, propriedades do soluto e interações polímero-soluto, não foi possível fazer uma análise mais profunda sobre quais parâmetros estão tendo maior influência em seus valores, uma vez que os dados obtidos são insuficientes para isso.

Os bastões de PLGA 82/18 (B1, B2 e B3) apresentaram valores para “n” menores do que os apresentados pelas mantas de nanofibras, ou seja, menores do que 0,5. A princípio, esses dispositivos também não se enquadram ao modelo de difusão Fickiano. No entanto, os resultados de liberação do atenolol, observados a partir dos bastões de PLGA, indicaram uma liberação lenta: 5 a 10% da quantidade total incorporada em 30 dias de ensaio de liberação. Talvez pelo fato dos bastões (formato cilíndrico) não terem o formato plano, os primeiros 60% de massa de soluto liberada utilizados nos cálculos não tenha permitido uma boa aproximação para o modelo em questão.

Sendo assim, como sugerido por Ritger e Peppas (1987), novo modelamento foi feito para as curvas de liberação do atenolol a partir dos bastões de PLGA (amostras B1, B2 e B3), porém considerando somente os primeiros 20% da massa inicial liberada, pelo fato desses bastões terem formato

cilíndrico. As curvas  $[\ln (M_t/M_\infty)]$  em função de  $[\ln (t)]$ , tendo como restrição o limite de 20%, são apresentadas na Figura 41 e os parâmetros cinéticos  $n$  e  $k$ , bem como os valores de  $R^2$ , obtidos a partir dessas curvas, são mostrados na Tabela 18.

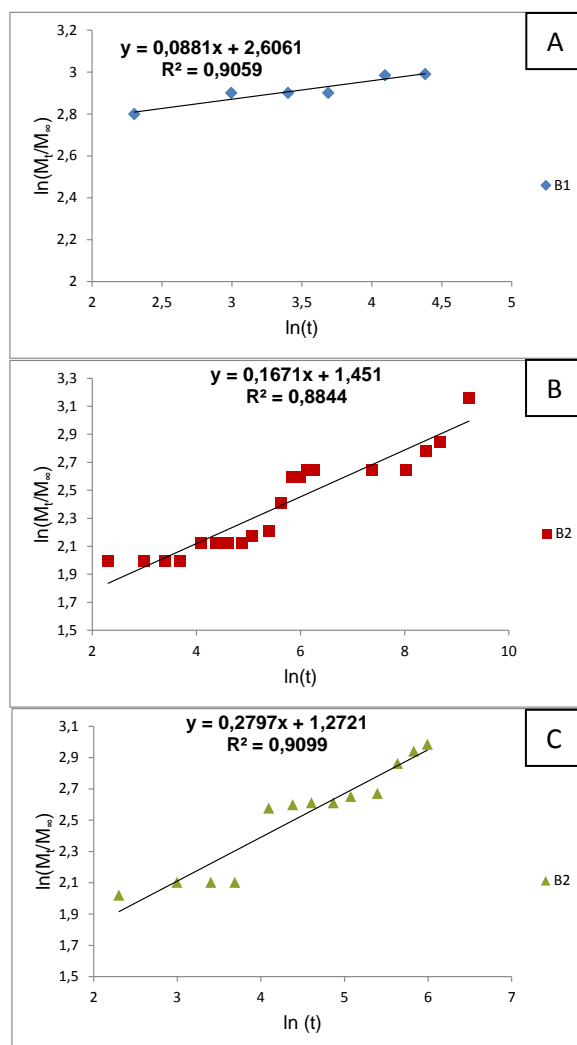


Figura 41 - Curvas de liberação em função do tempo, ajustadas pelo modelo de Ritger e Peppas (1987), para os valores de até 20% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18, amostras B1 (A), B2 (B) e B3 (C).

Tabela 18 - Valores de  $n$ ,  $k$  e  $R^2$  obtidos pela regressão linear da Eq. 4, para os valores de até 20% de liberação, para os bastões de PLGA 82/18, amostras B1, B2 e B3.

Dispositivos		$n$	$k$	$R^2$
Bastões de PLGA 82/18	B1	0,088	13,545	0,906
	B2	0,167	4,267	0,884
	B3	0,280	3,568	0,910

Novamente, os bastões de PLGA 82/18 (B1, B2 e B3) apresentaram valores para “n” menores do que 0,5. Os valores para  $R^2$  foram piores do que os encontrados anteriormente, indicando que esses dispositivos realmente não se enquadram ao modelo utilizado para estudo cinético de liberação.

Os valores da constante  $k$ , encontrados e apresentados nas Tabelas 17 e 18, para as amostras (B1, B2 e B3) dos bastões de PLGA 82/18, também não permitem uma análise mais profunda sobre quais fatores estão tendo maior influência em seus valores, uma vez que os dados obtidos são insuficientes para compreender melhor esse parâmetro agrupado.

O modelo de Ritger e Peppas (1987) usado para estudo do mecanismo de liberação do fármaco atenolol, a partir dos dispositivos de PLGA 82/18, síntese 15, em forma de manta de nanofibras e em bastão, não foi adequado para descrever a cinética de liberação do atenolol desses dois dispositivos.

#### **5.4.5 ANÁLISE DOS DISPOSITIVOS DE PLGA APÓS O INTERVALO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO**

Após o período de liberação *in vitro*, os dispositivos foram analisados por TG, DSC e FTIR e os resultados são apresentados e discutidos a seguir.

##### **5.4.5.1 ANÁLISE DOS BASTÕES DE PLGA APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO**

As curvas TG para o fármaco atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) o período de liberação *in vitro* estudado são apresentadas na Figura 42. As curvas TG e DrTG para as essas amostras podem ser observadas separadamente e com mais detalhes no Anexo XXI (vide página 198).

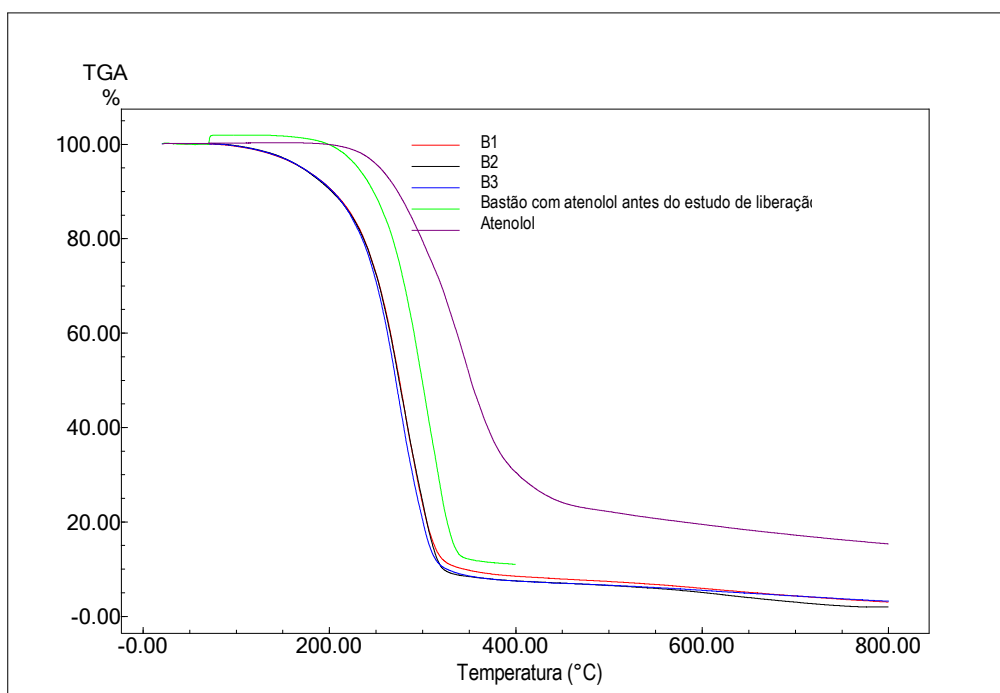


Figura 42 - Curvas TG para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) os ensaios de liberação.

Ao analisar a Figura 42, percebe-se na curva referente ao atenolol que, até a temperatura de 400°C, a amostra perdeu cerca de 70% da quantidade inicial de massa analisada. Entre 400 e 800°C perdeu algo em torno de 15% de sua massa inicial, restando um resíduo de, aproximadamente, 15%.

A curva TG para a amostra do bastão de PLGA com atenolol, antes do estudo de liberação, mostra uma perda de massa em torno de 91% até a temperatura de 400°C. Levando em consideração que o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, sem atenolol, perde em torno de 98% de massa inicial até essa temperatura (conforme mostrado na Figura 11 e a Tabela 10), pode-se supor que o restante de massa presente na amostra do bastão de PLGA com atenolol, deve ser devido ao fármaco atenolol no bastão, pois uma quantidade significativa ( $\approx 30\%$ ) desse fármaco existe acima de 400°C, conforme indica a curva TG para o atenolol apresentada na Figura 42. Ao observar as curvas das amostras B1, B2, B3, nota-se que ocorreu, aproximadamente, 92,3% de perda de massa das amostras até a temperatura de 400°C. Esse valor é um pouco maior do que o observado para o bastão de PLGA com atenolol antes do ensaio

de liberação (91%). Essa pequena diferença deve estar relacionada com a pouca quantidade de atenolol que foi liberada durante o estudo realizado (5 a 10% da massa inicial incorporada aos bastões). Esse fato indica, também, que a maior parte do atenolol ainda encontra-se presente nos bastões de PLGA após 30 dias de testes de liberação *in vitro*.

Os resultados de termogravimetria apresentados indicam uma menor estabilidade térmica para os bastões após o período de liberação estudado, uma vez que a temperatura de início de perda de massa, em torno de 90°C, foi menor do que a observada antes desse estudo (178°C – Tabela 10). Essa temperatura caracteriza o início da perda de estabilidade térmica do polímero.

As curvas DSC (2ª corrida) para o fármaco atenolol e para os bastões de PLGA 82/18, com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) o período de liberação *in vitro* estudado são mostradas na Figura 43. As curvas DSC e DrDSC individuais para essas amostras são apresentadas no Anexo XXII (vide página 201).

A curva DSC do atenolol, apresentada na Figura 43, mostra um pico endotérmico estreito e muito bem definido, característico de substâncias puras, relacionado à fusão desse fármaco, ocorrendo em 154°C, aproximadamente. Nessa mesma figura pode-se ver a curva DSC para o bastão de PLGA 82/18 com atenolol, antes do estudo de liberação, onde se vê um evento térmico referente à  $T_g$ , em torno de 45°C, e o início de outro evento muito discreto, a partir de 150°C, possivelmente relacionado ao que seria a fusão do atenolol. O atenolol presente nos bastões de PLGA parece encontrar-se em uma situação um pouco inacessível, tanto que muito pouco desse fármaco foi liberado nos ensaios *in vitro* (menos de 10%), em meio PBS. Além disso, a partir dos resultados de MEV e do estudo de degradação encontrados, acredita-se que os bastões sejam mais densos/integros do que as mantas, dissipando energia de forma menos eficiente do que essas. Desta forma, a fusão do atenolol presente nos bastões fica “mascarada”, não sendo bem definida na curva DSC apresentada na Figura 43.

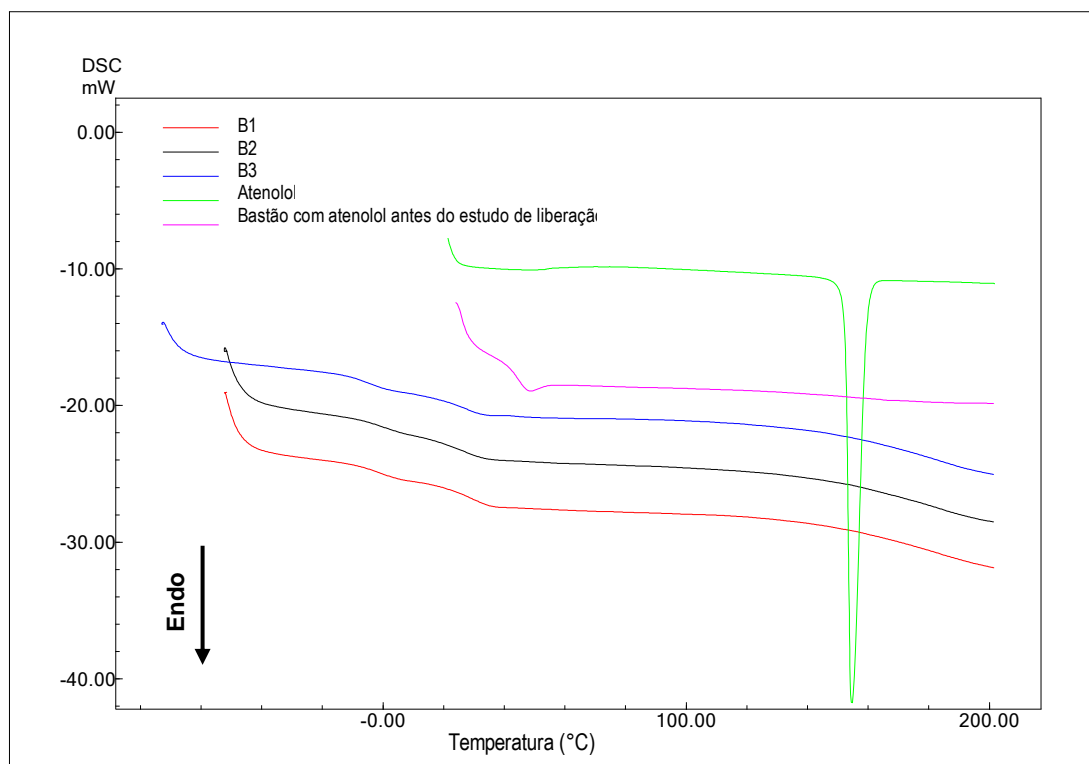


Figura 43 - Curvas DSC (2ª corrida) para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) os ensaios de liberação.

Essa mesma tendência/comportamento pode ser observada para as curvas DSC dos bastões de PLGA, com atenolol, após ensaio de liberação, mostradas na Figura 43. Nessas curvas, além do início de evento térmico creditado à fusão do atenolol (acima de 150°C), percebem-se dois outros eventos térmicos nas temperaturas de  $-1,5 \pm 2,7^\circ\text{C}$  e  $27,4 \pm 1,3^\circ\text{C}$ . Acredita-se que ambos eventos estejam relacionados ao fenômeno de transição vítrea, sendo o primeiro mais sutil e discreto quando comparado ao segundo.

É conhecido que alguns polímeros podem apresentar mais de uma transição vítrea, porém o bastão de PLGA 82/18 com atenolol, antes do ensaio de liberação, apresentou somente uma  $T_g$  (em  $45^\circ\text{C}$ ). Entretanto, as amostras B1, B2 e B3, dos bastões de PLGA 82/18 com atenolol, foram analisadas após 30 dias de imersão em solução de PBS (testes de liberação *in vitro*). Portanto, o estágio de degradação dessas amostras pode ter causado mudanças estruturais nos bastões de forma que eles vieram não só a apresentar uma  $T_g$  principal, em

temperaturas inferiores ( $\approx 27^{\circ}\text{C}$ ), como também o aparecimento de uma outra, menos pronunciada, na temperatura de  $-1,5^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente.

No estudo da degradação *in vitro* do PLGA 82/18 (subitem 5.3), na forma de bastão, sem atenolol e em solução de PBS, constatou-se que, após 28 dias imerso, o bastão de PLGA apresentou um pronunciado estágio de degradação, com redução drástica na  $T_g$  (45 para  $16^{\circ}\text{C}$ ) e na massa molar ( $10^6$  para  $10^4\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ), conforme relatado nos subitens 5.3.3 e 5.3.4, respectivamente.

Assim, a hipótese de mudanças estruturais/conformacionais nos bastões de PLGA 82/18, com atenolol (amostras B1, B2 e B3), que permitiriam não só o abaixamento da  $T_g$  predominante como o surgimento de outra, é factível. Além da diminuição da massa molar, a degradação sofrida pelos bastões de PLGA pode também ter aumentado a distribuição da massa molar, permitindo a formação de regiões emaranhadas/entrelaçadas de diferentes densidades. Essas regiões poderiam permitir o escoamento de pequeno alcance, de um aglomerado/conjunto de cadeias poliméricas, em outro nível energético, propiciando o aparecimento de outra transição vítrea.

Outra observação que pode ser constatada é que a  $T_g$  do PLGA 82/18, com e sem atenolol, antes do ensaio de liberação, diminuiu de  $45^{\circ}\text{C}$  para  $27^{\circ}\text{C}$  ( $T_g$  predominante dos bastões de PLGA com atenolol, após 30 dias de ensaio de liberação) e para  $16^{\circ}\text{C}$ , considerando-se os bastões de PLGA, sem atenolol, após 28 dias de estudo de degradação *in vitro*. Esse abaixamento no valor da  $T_g$  certamente é devido ao estágio de degradação do PLGA. O processo de rompimento das cadeias poliméricas tende a diminuir a massa molar do polímero e, conseqüentemente, a temperatura de transição vítrea. Ponderando que o tempo de imersão no meio PBS, tanto dos bastões de PLGA com atenolol quanto dos bastões de PLGA sem atenolol, seja praticamente o mesmo, percebe-se que a  $T_g$  dos bastões de PLGA com atenolol ( $27^{\circ}\text{C}$ ) foi maior do que a dos bastões de PLGA sem atenolol ( $16^{\circ}\text{C}$ ). Isso talvez seja devido a uma maior estabilidade proporcionada pela presença do atenolol nos bastões de PLGA, conforme suposição feita anteriormente.

O espectro FTIR para o fármaco atenolol é mostrado na Figura 44.

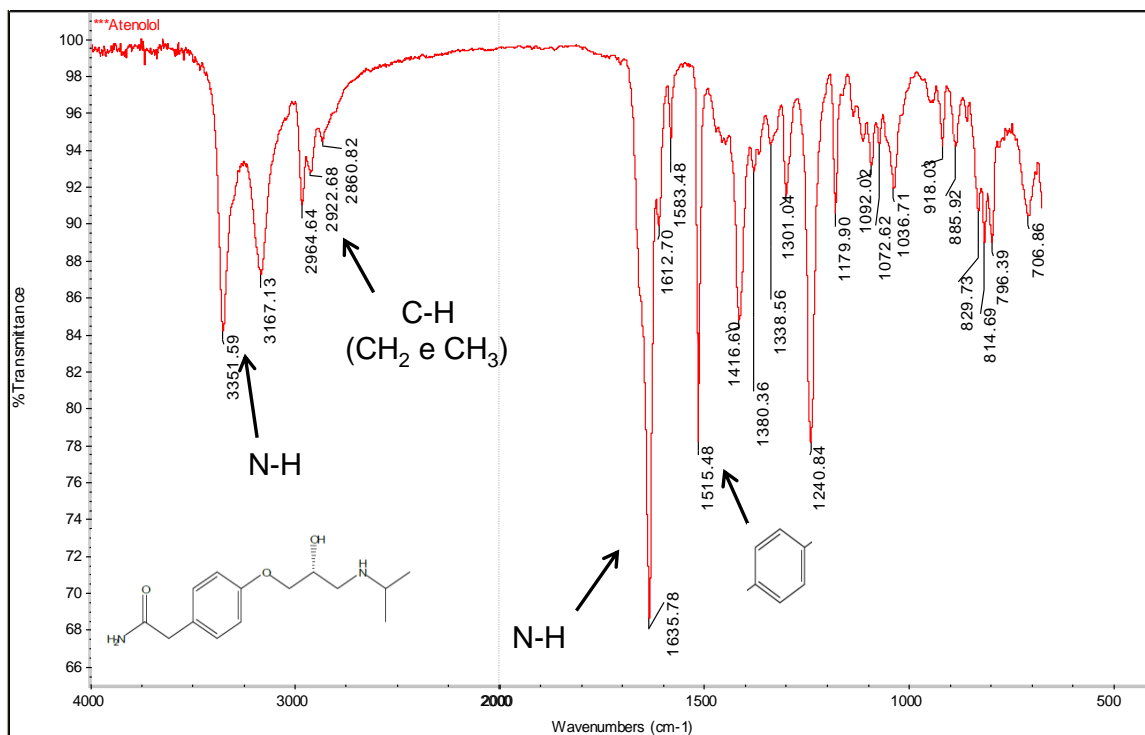


Figura 44 - Espectro FTIR para o fármaco atenolol.

As principais bandas de absorção referente às funções encontradas na molécula de atenolol são apresentadas na Tabela 19 e podem ser observadas no espectro FTIR da Figura 44.

Tabela 19- Bandas de absorção no FTIR e suas respectivas atribuições identificadas para o fármaco atenolol.

Banda de absorção (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
3.400 a 3.100	NH (estiramento)
3.000 a 2.800	CH (CH <sub>2</sub> e CH <sub>3</sub> - estiramento)
1636	NH (deformação)
1.600 a 1.500	Deformação de anel aromático

Os espectros FTIR para o PLGA 82/18 (síntese 15), para o atenolol e para os dispositivos em forma de bastão antes e após o estudo de liberação (amostras B1, B2, B3) são apresentados na Figura 45, para efeito de comparação. Os espectros FTIR do atenolol e das outras quatro amostras podem ser observados separadamente no Anexo XXIII (vide página 204).

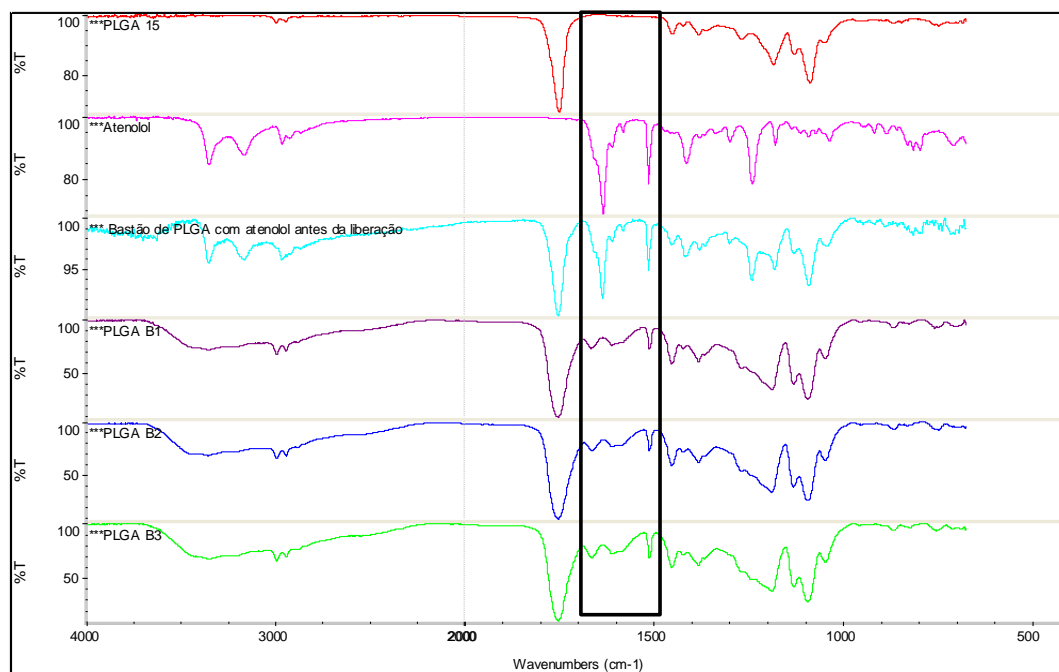


Figura 45 - Espectros FTIR para PLGA 82/18 (síntese 15), atenolol, bastão de PLGA com o atenolol antes da liberação e amostras dos bastões de PLGA (B1, B2 e B3) após o período de liberação estudado.

Ao analisar a Figura 45, é possível notar no espectro FTIR do atenolol a banda de absorção em  $1.636\text{cm}^{-1}$  referente à deformação do grupo carbonila de amida I (NH) e entre  $1.600$  a  $1.500\text{cm}^{-1}$  referente à deformação do anel aromático. Essas bandas de absorção foram utilizadas para identificar a presença do fármaco nos bastões, pois no espectro FTIR do PLGA 15 essas bandas não estão presentes.

Outro fato importante é observado ao se comparar as amostras B1, B2 e B3 com a amostra do bastão de PLGA com o atenolol antes do estudo de liberação. Nota-se uma diminuição na intensidade das bandas de absorção de  $1.636\text{cm}^{-1}$  (deformação do grupo amida) e entre  $1.600$  a  $1.500\text{cm}^{-1}$  (deformação do anel aromático) nas amostras B1, B2 e B3, o que mostra um decréscimo na concentração (quantidade) do atenolol nessas amostras, indicando, qualitativamente, que parte do fármaco foi liberada durante os ensaios de liberação.

#### 5.4.5.2 ANÁLISE DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO

As curvas TG para o atenolol e para mantas de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) o período de liberação *in vitro* estudado são apresentadas na Figura 46. As curvas TG e DrTG para essas as amostras são apresentadas no Anexo XXIV (vide página 207), exceto para o atenolol, pois foram apresentadas no Anexo XXI (Figura A.XXI.1 na página 198)

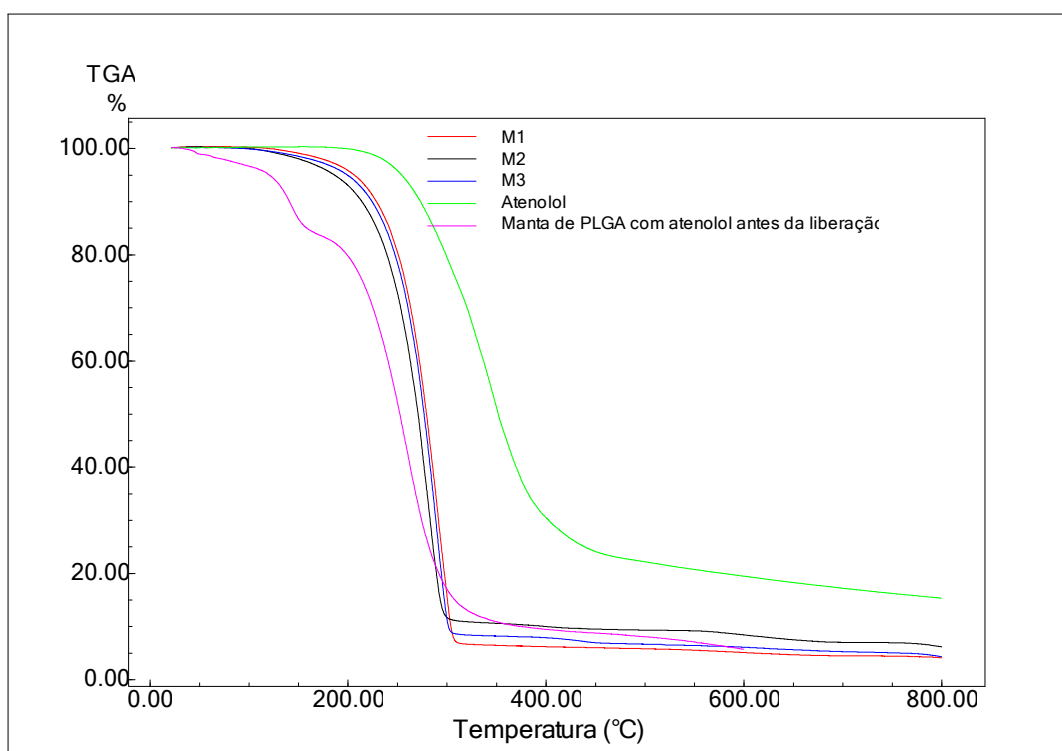


Figura 46 - Curvas TG para o atenolol e para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) os ensaios de liberação.

A curva termogravimétrica do atenolol, mostrada na Figura 46, é a mesma apresentada na Figura 42, ou seja, a amostra perdeu cerca de 70% da quantidade inicial de massa analisada até a temperatura de 400°C, algo em torno de 15% de sua massa inicial entre 400 e 800°C e 15% de resíduo, aproximadamente.

As curvas TG's para as amostras de nanofibras de PLGA 82/18 com atenolol, após os testes de liberação (M1, M2 e M3), indicaram uma perda de massa de 95%, aproximadamente, até a temperatura de 400°C. A curva TG para a manta de nanofibras do PLGA sem atenolol apresentou perda de massa de 98% (conforme mostra a Figura A.XXIV.5 do Anexo XXIV, na página 209 ), até essa temperatura. Pode-se supor que o restante de massa presente nas amostras das mantas de PLGA com atenolol deve ser devido ao fármaco ainda presente nessas mantas, pois uma quantidade significativa ( $\approx 30\%$ ) do atenolol existe acima de 400°C. A diferença de 3% deve ser devida à pouca quantidade de atenolol presente nas mantas de nanofibras, já que uma grande quantidade (entre 65 e 72% da massa inicial incorporada às mantas) foi liberada durante o estudo realizado. Esse fato, ao contrário do observado para os bastões de PLGA, indica que uma pequena parte do atenolol ainda encontrava-se presente nas mantas de PLGA após 24 dias de testes de liberação *in vitro*.

A curva TG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18 com atenolol, antes do período de liberação *in vitro* estudado, apresentou um perfil de perda de massa diferente dos perfis das amostras M1, M2 e M3. Até a temperatura de 400°C, a perda de massa foi de 90%, aproximadamente. Porém, percebem-se três perdas de massa distintas até essa temperatura, algo não observado nas amostras de mantas de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após ensaio de liberação. Além disso, as duas perdas de massa que ocorreram até a temperatura de 200°C não apareceram nas curvas TG das outras amostras, algo incompatível e que não faz sentido. Essa análise foi repetida, encontrando-se um perfil de perda de massa exatamente igual ao apresentado na Figura 46. Assim, fica difícil fazer suposições do que poderia ter ocorrido, prejudicando essa análise em específico.

Os resultados de termogravimetria também mostraram que as temperaturas de início de perda de massa ocorreram por volta de 100°C, indicando uma redução na estabilidade térmica do polímero PLGA. Resultado esse similar ao apresentado pelos bastões de PLGA.

As curvas DSC para o atenolol e para as amostras das mantas de nanofibras de PLGA, antes e após (amostras M1, M2 e M3) o período de liberação *in vitro* estudado, são mostradas na Figura 47. As curvas DSC e

DrDSC para as amostras podem ser observadas no Anexo XXV (vide página 210), exceto para o atenolol, pois foram apresentadas no Anexo XXII (Figura A.XXII.1 na página 201).

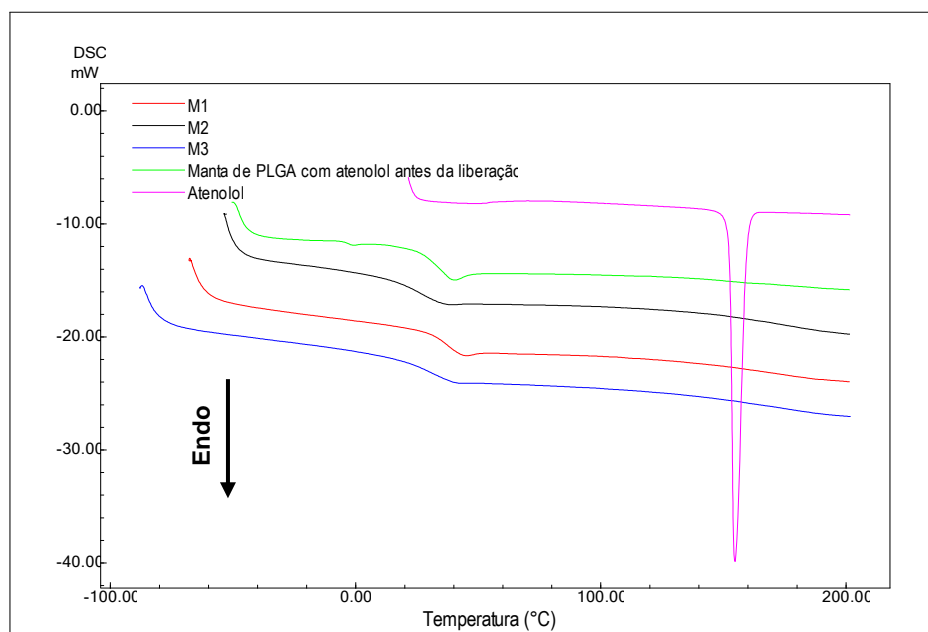


Figura 47 - Curvas DSC (2ª corrida) para o atenolol e para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) os ensaios de liberação.

A curva DSC do atenolol, apresentada na Figura 47, é idêntica à mostrada na Figura 43. Ela relata um pico endotérmico em 154°C, aproximadamente, relacionado à fusão do atenolol. Nessa mesma figura, pode-se observar a curva DSC referente a amostra da manta de nanofibras de PLGA com atenolol, antes do estudo de liberação. Ela apresenta dois eventos térmicos evidentes e, talvez, de forma não tão evidente, o início de outro acima de 150°C. O primeiro evento, endotérmico, próximo a 0°C, parece ser um pico de fusão devido, possivelmente, à presença de água. No entanto, essa análise de DSC refere-se à 2ª corrida, portanto, a manta já tinha sido aquecida até 200°C, eliminando essa possibilidade (curva DSC, referente à 1ª corrida, apresentada na Figura A.XXV.5 do Anexo XXV na página 212). Esse pico, próximo a 0°C, não aparece nas curvas DSC das mantas de nanofibras de PLGA 82/18, com

atenolol, amostras M1, M2 e M3 (Figura 47). Para esclarecimento da origem desse pico necessita-se de mais estudo. O segundo evento térmico, em torno de 36°C, indica a transição vítrea do PLGA em forma de manta de nanofibras. O evento térmico que se inicia a partir de 150°C, poderia estar relacionado ao que seria a fusão do atenolol. A quantidade de atenolol presente nas mantas de nanofibras de PLGA é bem menor do que a presente nos bastões de PLGA. Talvez isso explique o fato desse evento ser menos perceptível nas curvas DSC das mantas, comparadas às dos bastões. Novamente, a fusão do atenolol presente nas mantas estaria “mascarada”, não sendo bem definida pela curva DSC.

Essa mesma tendência/comportamento pode ser observada para as curvas DSC das mantas de PLGA, com atenolol, após ensaio de liberação, mostradas na Figura 47, porém sem o pico endotérmico próximo de 0°C. Nessas curvas, além do início de evento térmico creditado à fusão do atenolol (acima de 150°C), percebe-se outro evento térmico na temperatura de 32±4°C. Esse evento está relacionado à transição vítrea do copolímero PGLA 82/18, em forma de mantas de nanofibras, com atenolol e após os ensaios de liberação.

Percebe-se uma diminuição no valor da  $T_g$ , comparada com a curva DSC da manta de PLGA com atenolol, antes do estudo de liberação (36,2°C). Essa diminuição na  $T_g$ , juntamente com o decréscimo da estabilidade térmica, observada nas análises das curvas TG (Figura 46), evidencia mais uma vez o processo de quebra das cadeias poliméricas do PLGA, ocorrido durante o período de 24 dias, quando dos ensaios de liberação.

Ainda em relação à curva DSC para amostra da manta de nanofibras de PLGA com atenolol, antes do estudo de liberação (Figura 47), pode-se observar que não há evento térmico até 200°C que poderia ser relacionado com as duas perdas de massa indicadas pela curva TG, na Figura 46, para essa mesma amostra. Dessa forma, talvez possa ter ocorrido alguma contaminação dessa amostra quando foi analisada por termogravimetria.

A seguir são apresentados, na Figura 48, os espectros FTIR para o PLGA 82/18 (síntese 15), para o atenolol e para os dispositivos em forma de manta de nanofibra de PLGA com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) o estudo

de liberação. Os espectros FTIR para essas amostras podem ser observados no Anexo XXVI (vide página 213), exceto para o atenolol, pois foi apresentado no Anexo XXIII (Figura A.XXIII.1 na página 204).

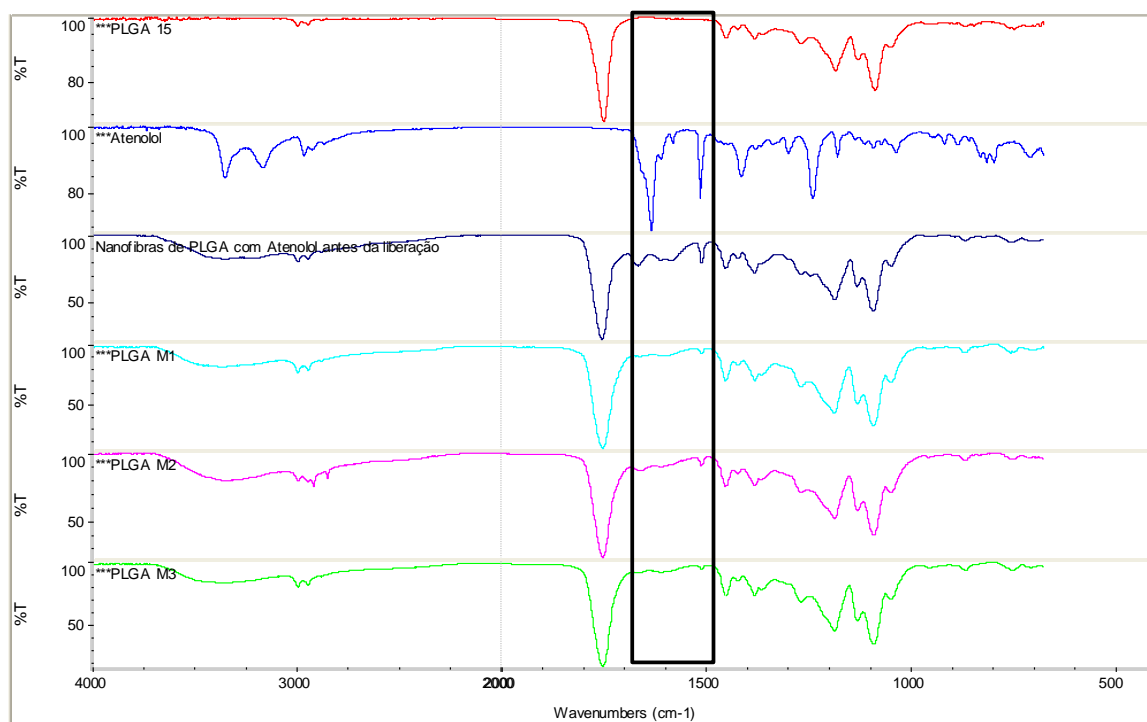


Figura 48 - Espectros FTIR para PLGA 82/18 (síntese 15), atenolol, manta de nanofibra de PLGA com o atenolol antes da liberação e amostras das mantas de nanofibras de PLGA (M1, M2 e M3) após o período de liberação estudado.

Observando a Figura 48, é possível notar no espectro FTIR do atenolol as bandas de absorção em  $1.636\text{cm}^{-1}$  referente à deformação do grupo carbonila de amida I (NH) e entre  $1.600$  a  $1.500\text{cm}^{-1}$  referente à deformação do anel aromático, que não aparecem no espectro FTIR do PLGA 15. Essas bandas também foram identificadas na manta de nanofibras de PLGA 15, com atenolol, antes do estudo de liberação, porém com uma intensidade bem menor. No entanto, essas bandas de absorção na região ( $1640$  a  $1500\text{cm}^{-1}$ ) não estão presentes nos espectros FTIR do PLGA 15, amostras M1, M2 e M3, exceto por um pequeno pico em, aproximadamente,  $1514\text{cm}^{-1}$ .

Ao comparar os espectros FTIR da manta de nanofibras de PLGA com atenolol, antes do ensaio de liberação, com os espectros FTIR das amostras das

mantas de nanofibras de PLGA com o atenolol, após a liberação (M1, M2 e M3), nota-se que as bandas características do grupo amina ( $\text{NH}_2$ ) desapareceram, exceto por um pequeno pico em  $1514\text{cm}^{-1}$ , aproximadamente. Esse desaparecimento e diminuição na intensidade do pico indica uma diminuição na concentração (quantidade) do atenolol nos dispositivos (amostras M1, M2 e M3), evidenciando, por outra técnica e de forma indireta, a liberação do fármaco atenolol a partir dessas mantas.

Ao comparar os dispositivos do PLGA, em forma de mantas de nanofibras e bastões, antes e após o estudo de liberação, nota-se que esses dispositivos também sofreram processo de degradação hidrolítica em suas cadeias poliméricas. Essa constatação pode ser observada tanto pelas análises termogravimétricas, em que verificou-se uma diminuição da estabilidade térmica do PLGA (diminuição da temperatura de início de degradação), quanto pelas análises calorimétricas, por meio da queda de suas temperaturas de transição vítrea.

## 6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A síntese do PLGA foi realizada com sucesso, uma vez que os resultados obtidos por meio das técnicas TG, DSC e FTIR, foram bastante coerentes com os dados disponíveis na literatura. Os copolímeros sintetizados apresentaram temperatura de transição vítrea entre 28 e 48°C, massa molar média entre  $10^5$  e  $10^7$ g.mol<sup>-1</sup> e estabilidade térmica até 115°C.

Observou-se que algumas variáveis são fundamentais para padronização da rota da síntese do copolímero PLGA, tais como: a ausência de umidade no meio, agitação adequada e vácuo eficiente. Um fato interessante foi observado na realização das últimas duas sínteses (PLGA 82/18, sínteses 14 e 15), em que os monômeros utilizados foram retirados de frascos abertos pela primeira vez, ou seja, sem a possibilidade de presença de umidade. Esses copolímeros apresentaram valores para T<sub>g</sub> e massa molar média muito próximos, 43 e 45°C e  $1,47 \times 10^6$  e  $1,53 \times 10^6$ g.mol<sup>-1</sup>, respectivamente, indicando uma reprodutibilidade na rota de síntese do copolímero PLGA.

Para realização dos estudos de degradação e liberação *in vitro* foram produzidos dispositivos do PLGA 82/18, sínteses 15, sem e com atenolol em forma de bastões. Foi utilizada a técnica de eletrofiação para produzir, pela primeira vez, dispositivos em forma de mantas de nanofibras de PLGA 82/18 com atenolol.

O teste de citotoxicidade pela redução do sal de tetrazolina, realizado para avaliar a viabilidade celular por meio da função mitocondrial, mostrou que os copolímeros PLGA's sintetizados, liofilizados e processados por eletrofiação não apresentaram toxicidade, pois não deixaram quantidades significativas de resíduos tóxicos para causar danos agudos em células isoladas do corpo.

O estudo de degradação *in vitro* do copolímero PLGA, em solução tampão fosfato salino, indicou que, com 28 dias de imersão nessa solução, a degradação torna-se bem mais pronunciada. Esse comportamento foi observado a partir da diminuição nos valores da temperatura de transição vítrea, de 45 para aproximadamente 18°C, da massa molar média, de  $1,5 \times 10^6$  para  $7,5 \times 10^4$ g.mol<sup>-1</sup> e do pH do meio, de 7,4 para 2,5. O pH do meio tem uma influência significativa

no perfil de degradação do copolímero, pois quando diminui parece acelerar o processo de degradação.

Os testes de liberação do atenolol (em PBS), a partir dos dispositivos de PLGA 82/18 em forma de mantas de nanofibras, apresentaram liberação entre 65 e 72% do fármaco em 24 dias de estudo. Essa liberação parece ter ocorrido por meio de duas etapas: a primeira, com uma maior taxa de liberação, liberando uma quantidade significativa de atenolol (aproximadamente 77% da quantidade total liberada) durante um curto intervalo de tempo (2 horas), e a segunda, com uma taxa mais lenta, liberando o restante do atenolol dentro do período investigado de 24 dias.

Os dispositivos de PLGA com atenolol, em forma de bastões, apresentaram uma liberação do fármaco bem menor em comparação com as mantas de nanofibras, liberando entre 5 e 10%, da quantidade inicial, após 30 dias em solução PBS. Outra diferença em relação aos perfis de liberação dos bastões de PLGA foi quanto a taxa de liberação, que foi mais lenta e gradual em função do tempo, em comparação com o observado para as mantas de nanofibras de PLGA.

O estudo de liberação com os dois tipos de dispositivos produzidos mostrou perfis de liberação bem diferentes. Esse fato pode ser bem interessante, pois permite que esses dois dispositivos possam ser destinados a diferentes aplicações clínicas que necessitam de tempos distintos para tratamento.

O modelo utilizado para a avaliação da cinética de liberação do atenolol, a partir dos dispositivos de PLGA 82/18, síntese 15, em formas de mantas de nanofibras e bastões, não foi apropriado para elucidar o mecanismo liberação do atenolol nesses dispositivos.

Ao comparar os dispositivos do PLGA, em forma de mantas de nanofibras e bastões, antes e após o estudo de liberação, observou-se que, além da diminuição da concentração do fármaco atenolol, esses dispositivos também sofreram processo de degradação hidrolítica em suas cadeias poliméricas. Esse fato foi constatado pela diminuição da estabilidade térmica (abaixamento na temperatura de início de degradação, observado pelas análises

termogravimétricas) e pela queda das temperaturas de transição vítrea (notada pelas análises calorimétricas).

Nesta pesquisa foram feitos, pela primeira vez, o estudo da degradação *in vitro* do copolímero PLGA 82/18 na forma de bastão, em solução tampão fosfato salino, e o estudo de liberação *in vitro* do fármaco atenolol a partir de dispositivos desse copolímero em forma de bastão e mantas de nanofibras. Os estudos realizados nesse trabalho mostraram que os dispositivos produzidos apresentaram potencialidade para aplicação em sistemas de liberação modificada de fármacos.

Abaixo listam-se algumas sugestões para trabalhos futuros:

- ✓ Fazer um estudo comparativo dos resultados obtidos a partir das caracterizações dos copolímeros sintetizados com diferentes proporções: 70/30, 50/50 e 82/18;
- ✓ Estudar a degradação *in vitro* do copolímero PLGA, avaliando a forma do dispositivo, como, por exemplo: manta de nanofibras, microesferas, filmes, placas, parafusos, entre outros;
- ✓ Realizar estudo da degradação *in vivo* do PLGA 82/18, com o propósito de avaliar o seu comportamento em organismos vivos;
- ✓ Montar ou construir um sistema que permitisse o fluxo contínuo de solução PBS em uma célula contendo o dispositivo de PLGA com o fármaco. Desta forma, a liberação não seria cumulativa, pois a diferença de potencial químico entre o dispositivo e a solução seria sempre maximizada. Além disso, o pH do meio tenderia a não sofrer alteração, evitando uma aceleração na degradação do PLGA;
- ✓ Investigar e aplicar algum modelo cinético conhecido aos resultados de liberação obtidos nesse trabalho ou fazer uma modelagem cinética a partir dos perfis de liberação dos bastões e mantas de nanofibras do PLGA.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHUJA, A.; KHAR R. K.; ALI, J. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.23, n. 5, p- 489-515, 1997.
- AKCELRUD, L. *Fundamentos da ciência dos polímeros*, 1ª edição, Barueri: Manole, 2007, 308p.
- ALVES, A. A., *Desenvolvimento de implantes biodegradáveis constituídos de copolímero dos ácidos lático e glicólico e losartan*. Dissertação de mestrado - Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte. 2013.
- AMIN, M.; AKBAR, M.; SALMAN, M. Composite and their aging: an overview. *Science in China Series: Technological Sciences*, v. 50, p. 697-713, 2007.
- ANDRADY, A. L. *Science and Technology of Polymer Nanofibers*. New Jersey, USA: John Wiley & Sons Inc., 2008. 404 p.
- ANGELOVA, N.; HUNKELER, D. Rationalizing the design of polymeric biomaterials. *Trends Biotechnol*, Amsterdam, v. 17, p. 409-421, 1999.
- ANSEL, H. C.; ALLEN L. V. Jr.; POPOVICH N. G., *Formas Farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 9ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2013. 716p.
- ASTETE, C.E.; SABLIOV, C.M. Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles. *J Biomater Sci Polym*, v. 17, p. 247-289, 2006.
- ATHANASIOU, K.A.; NIEDERAUER, G.G.; AGRAWAL, C.M. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/polyglycolic acid copolymers. *Biomaterials*, v. 17, p. 93-102, 1996.
- BAE, S. E.; SON, J. S.; PARK, K.; HAN, D. K. Fabrication of covered porous PLGA microspheres using hydrogen peroxide for controlled drug delivery and regenerative medicine. *J. Control. Release*, v. 133, p. 37-43, 2009.
- BENDIX, D., Chemical synthesis of polylactideo and its copolymers for medical applications. *Polym.Degrad.Stab*, v.59, p.129-135, 1998.
- BERKLAND, C.; KIM, K. K.; PACK, D. W. Fabrication of PLG microspheres with precisely controlled and monodisperse size distributions. *Journal of Controlled Release*, v. 73, n. 1, p. 59-74, 2001.
- BHARDWAJ, N., KUNDU, S.C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, v. 28, p. 325-347, 2010.
- BLANCO-PRIETO, M.J.; FATTAL, E.; PUISIEUX F. COUVREUR P. *The multiple emulsion as a common step for the design of polymeric microparticles*. In: Grossiord JL, Seiller M. Multiple emulsions: structure, properties e applications. France: Editions de Santé. 1998. 435 p.

- BLASI P., D'SOUZA S. S., SELMINC F., DELUCA P.P. Plasticizing effect of water on poly(lactide-co-glycolide). *Journal of Controlled Release*, v. 108, p. 1-9, 2005.
- BOWLIN, G.L. Electrospinning jets and nanofibrous structures. *Biomicrofluidics*, v. 5, 13403, 2011.
- BYRRO, R. M. D.; MIYASHITA, D; ALBUQUERQUE, B. V.; CRUZ, A. A. V.; SILVA-CUNHA, A., Sistemas biodegradáveis contendo acetato de prednisolona para administração orbitária. *Arq. Bras. Oftalmol.*, v. 72, p. 444-450, 2009.
- CAI, Q.; SHI, G.; BEI, J.; WANG, S. Enzymatic degradation behavior and mechanism of poly(lactideo-co-glicolideo) foams by trypsin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 24, p. 629-638, 2003.
- CALLISTER, W. D. Jr. *Ciência e engenharia dos materiais: uma introdução*. Rio de Janeiro: Ed. LTC S.A. 2002. 589 p.
- CERCENÁ, R., *Liberção de fármacos modelo a partir de filmes de acetato de celulose/poli (caprolactona triol)*. Dissertação de mestrado – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- CHASIN, M.; LANGER, R. *Biodegradable polymers as drug delivery systems* New York: CRC Press. 1990. 368p.
- CHEN T.; FOWLER A.; TONER M., Literature review: supplemented phase diagram of the trehalose–water binary mixture. *Cryobiology*, v. 40, p. 277–282, 2000.
- CHERA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, v. 23, p. 1273-1335, 1998.
- CHO, C. W.; SHIN, S. C. Enhanced transdermal delivery of atenolol from the ethylenen vinyl acetate matrix. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 287, p. 61-71, 2004.
- CHRONAKIS, I.S. Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process - A review. *Journal of Materials Processing Technology*. v. 167, p. 283–293, 2005.
- CLOUGH, R. L. Radiation resistant polymers. In: *Encyclopedia of polymer science and engineering*. 2nd ed.. New York: John Wiley & Sons, v. 13 p.667-708, 1988.
- COHEN-SELA, E.; CHORNY, M.; KOROUKHOV, N.; DANENBERG, H. D.; GOLOMB, G. A new double emulsion solvent diffusion technique for encapsulating hydrophilic molecules in PLGA nanoparticles. *J. Control. Release*, v. 133, p. 90–95, 2009.

- COSTA, I. O. *Estudo de bioequivalência de duas formulações de atenolol em voluntários sadios de ambos os sexos e genotipagem dos polimorfismos dos genes eca e cyp2d6\*4*. Dissertação de mestrado - Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte. 2010.
- COSTA, R. M. R. *Citotoxicidade e atividade antitumoral do ácido úsnico de cladonia substellata encapsulado em microesferas de copolímero de ácido láctico e glicólico (PLGA)*. Dissertação de mestrado – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pernambuco, Recife. 2003.
- DASH, A. K.; CUDWORTH, G. C. Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. *Pharmacol. Toxicol. Meth.* v. 40, p. 1-12, 1998.
- DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. *Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e Preparações de Amostras*. Porto Alegre: Centro de Microscopia Eletrônica e Microanálise (CEMM) do IDEIA. 2007. 60p.
- DESOGUS N.; ENNAS F.; LEUZE R.; MALECI A., Posterior lumbar interbody fusion with peek cages: personal experience with 20 patients. *J. Neurosurg Sci*, v. 49, n. 4, p. 137-141, 2005.
- DOSHI, J.; RENEKER, D. H. Electrospinning process and application of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, v. 35, p. 151–160, 1995.
- DUARTE, M. A. T.; DUEK, E. A. R.; MOTTA, A. C. *In Vitro* Degradation of Poly (L-co-D,L lactic acid) Containing PCL-T. *Polímeros*, v. 24, p. 1-8, 2014.
- DUDA A.; PENCZEK S.; KOWALSKI A. Polymerizations of  $\epsilon$ -caprolactone and L,L-dilactide initiated with stannous octoate and stannous butoxide - a comparison. *Macromol Symp*, v.153, p. 41-53, 2000.
- ERBETTA, C. D. C. *Síntese e caracterização do copolímero PLGA visando sua aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos*. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia Química, UFMG, Belo Horizonte. 2010.
- ERBETTA, C. D. C. ; SOUSA, R. G. ; V., C. C. B. ; FREITAS, R. F. S. . Síntese e caracterização térmica e química do copolímero poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). *Polímeros*, v. 21, p. 376-382, 2011.
- ERBETTA, C. D. C.; ALVES, R. J.; MAGALHÃES, J. R.; FREITAS, R. F. S.; SOUSA, R. G. Synthesis and Characterization of Poly(D,L-Lactide-co-Glycolide) Copolymer. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v. 3, p. 208-225, 2012.
- FARIAS, T. M., *Determinação de espectros de relaxação e distribuição de massa molar de polímeros lineares por reometria*. Dissertação de mestrado - Departamento de engenharia Química, UFRGS, Porto Alegre. 2009.
- FERRY, J. D. - “*Viscoelastic Properties of Polymers*”, Second Edition, New York : Jonh Wiley & Sons. 1970. 671p.

- FIALHO, S. L.; REGO, M. G. B.; CARDILLO, J. A.; SIQUEIRA, R. C.; JORGE, R.; CUNHA JUNIOR, A. S. Implantes biodegradáveis destinados à administração intra-ocular. *Arq. Bras. Oftalmol.*, v. 66, p. 891-896, 2003.
- FIALHO, S. L.; SILVA-CUNHA, A., Manufacturing techniques of biodegradable implants intended for intraocular application. *Drug Delivery*, v. 12, p. 109-116, 2005.
- GEDDE, U. W. *Polymer physics*. Netherlands: Kluwer Academic Publisher. 1999. 298p.
- GILDING, DM.; REED, A. M., Biodegradable polymers for use in surgery polyglycolid /poly(lactic acid) homo and copolymers. *Polymer*, v. 20, n. 12, p. 1459-1464, 1979.
- GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. *STP Pharm.a Sci.*, v. 5, p. 276-290, 1995.
- GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D.C. *Tratado de Medicina Interna*. 22ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier LTDA. 2005. 3000p.
- GREINER, A.; WENDORFF, J. H. ANGEW. Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Chem. Int. Ed. Engl.*, v. 46, n. 30, p. 5670–5703, 2007.
- GUNATILLAKE, P. A. e ADHIKARI, R. Biodegradable Synthetic Polymers for Tissue Engineering. *European Cells e Materials*, v. 5, p. 1-16, 2003.
- HANCOCK B.C., ZOGRAFI G., The relationship between the glass transition temperature and water content of amorphous. *Pharmaceutical Research*, v. 11, p. 471– 477, 1994.
- HANS, M. L.; LOWMAN, A. M., Biodegradable Nanoparticles for Drug Delivery and Targeting. *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, v.6 p.319-327, 2002.
- HATAKEYAMA, H.; HATAKEYAMA, T. Interaction between water and hydrophilic polymers. *Thermochimica Acta*, v. 308, p. 3-22, 1998.
- HIGUCHI T., Mechanism of sustained-action medication. theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J Pharm Sci.*, v. 52, p. 1145-1149, 1963.
- HOFFMAN, A. S., The origins and evolution of ‘controlled’ drug delivery systems. *J. Control. Release*, v. 132, p. 153–163, 2008;
- HOUCHIN, M.L., TOPP, E.M. Chemical degradation of peptides and proteins in PLGA: a review of reactions and mechanisms. *J Pharm Sci*, v. 97, p. 2395-2404, 2008.

- HUANG, Z-M; ZHANG, Y-Z; KOTAKI, M; RAMAHRISHNA, S., Review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, v. 63, p. 2223–2253, 2003.
- HUMMEL, D., *Atlas of Polymer and Plastics Analysis*, Wiley, New York, 2001.
- HUSMANN, M.; SCHENDERLEIN, S.; LÜCK, M.; LINDNER, H.; KLEINEBUDDE, P. Polymer erosion on PLGA microparticles produced by phase separation method. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 242, p. 277-280, 2002.
- JAIN, R. A., The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA) devices. *Biomaterials*, v. 21, p. 2475-2490, 2000.
- JALIL, R.; NIXON, J. R. Biodegradable poly (lactídeo acid) and Poly (lactídeo acid-co-glicolídeo) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release proprieties. *Journal of Microencapsulation*, v. 7, p. 297-325, 1990.
- JAMSHIDI, K.; HYON, S.H.; IKADA, Y., Thermal characterization of polylactides. *Polymer*, v. 29, p. 2229-2234, 1988.
- JI, W., YANG, F., SEYEDNEJAD, H., CHEN, Z., HENNINK, W. E., ANDERSON, J. M., BEUCKEN, J. J.J.P. V., JANSEN, J., Biocompatibility and degradation characteristics of PLGA-based electrospun nanofibrous scaffolds with nanoapatite incorporation. *Biomaterials*, v. 33, p. 6604-6614, 2012.
- JÚNIOR, J. A. *Nanomembranas Interlaminares Para Compósitos de Alto Desempenho*. Dissertação de Mestrado – Engenharia Mecânica, UFMG, Belo Horizonte, 2010.
- KALLINTERI, P.; ANTIMISIARIS, S. G.; KARNABATIDIS, D.; KALOGEROPOULOU, C.; TSOTA, I.; SIABLIS, D., Dexamethasone incorporating liposomes: an *in vitro* study of their applicability as a slow releasing delivery system of dexamethasone from covered metallic stents. *Biomaterials*, v. 23, n. 24, p. 4819-4826, 2002.
- KANG, S.W.; YANG, H.S.; SEO, S.W.; HAN, D.K.; KIM, B.S., Apatite-coated poly(lactic-coglycolic acid) micro-spheres as an injectable scaffold for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*, v. 85, p. 747–756, 2008.
- KATZUNG, B. G., *Farmacologia: Básica & Clínica*. 9ª Edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 2006. 1380p.
- KIREMITÇI-GÜMÜSDERELIOGLU, M.; DENIZ, G. Synthesis, characterization and *in vitro* degradation of poly(D,L-lactídeo ) / poly(D,L-lactídeo -co-glycolide). *Turk J. Chem*, v. 23, p. 153-161, 1999.
- KITCHELL, J. P.; WISE, D. L., Poly(lactic/glycolic acid) biodegradable drug-polymer matrix systems. *Methods Enzymol*, v. 112, p. 436-448, 1985.

- KHARE, V.; KOUR, S.; ALAM, N.; DUBEY, R. D.; SANEJA A.; KOUL, M.; GUPTA, A. P.; SINGH, D.; SINGH, S.; SAXENA, A. K.; GUPTA, P. N., Synthesis, characterization and mechanistic-insight into the antiproliferative potential of PLGA-gemcitabine conjugate. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 470, p. 51-62, 2014.
- KORHONEN, H.; HELMINEN, A.; SEPPALA J. V., Synthesis of Poly lactídeos in the Presence of co-initiators with different numbers of hydroxyl groups. *Polymer*, v. 42, p. 7541-7549, 2001.
- KOWALSKI, A.; DUDA, A.; PENCZEK, S., Kinetics and Mechanism of Cyclic Esters Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate. 3. Polymerization of L,L-Dilactídeo. *Macromolecules*, v. 33, n. 20, p. 7359-7370, 2000.
- KRICHELDORF, H. R.; KREISER-SAUNDERS, I.; BOETTCHER, C., Polylactones: 31. Sn(II)octoate-initiated polymerization of L-lactídeo: a mechanistic study. *Polymer*, v. 36, n. 6, p. 1253-1259, 1995.
- KULKARNI, A.; BAMBOLE, V.A.; MAHANWAR, P.A., Electrospinning of Polymers, Their Modeling and Applications. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, v. 49, p. 427-441, 2010.
- KUMAR, V.; BANKER, G. S., Chemically-Modified Cellulosic Polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 19, p. 1-31, 1993.
- LAKSHMI S. N.; LAURENCIN, C. T., Biodegradable polymers as biomaterials. *Prog. Polym. Sci.*, v. 32, p. 762-798, 2007.
- LANGER, R., New methods of drug delivery. *Science*, v. 249, p. 1527-1533, 1990.
- LANGER, R.; PEPPAS, N.A., Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology. *Alche J.*, v. 49, n. 12, p. 2990-3006, 2003.
- LAO, L. L.; PEPPAS, N. A.; BOEY, F. Y. C.; VENKATRAMAN, S. S.; Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.418, p.28-41, 2011.
- LAWRENCE, K. F.; MARK, W. S., Polymeric implants for cancer chemotherapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 26, p. 209-230, 1997.
- LEE, S. S.; HUGHES, P.; ROSS, A. D.; ROBINSON, M. R., Biodegradable implants for sustained drug release in the eye. *Pharmaceutical Research*, v. 27, p. 2043-2053, 2010.
- LEITE, F. S.; CHIGNALIA, A. Z.; CARMONA, M. J. C.; JUNIOR, J. O. C. A.; SANTOS, S. R. C. J., Disposição cinética do atenolol em pacientes coronarianos submetidos a revascularização do miocárdio. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v .42, n.2, 2006.

- LEWIS D. H. Controlled release of bioactive agents from lactídeo/glicolídeo polymers. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*, New York: Marcel Dekker, p. 1-41, 1990.
- LIANGA, R.; LI, X.; SHIA, Y.; WANG, A.; SUN, K.; LIU, W.; LI, Y., Effect of water on exenatide acylation in poly(lactide-co-glycolide) microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 454, p. 344– 353, 2013.
- LI, H.; CHANG, J., pH-compensation effect of bioactive inorganic fillers on the degradation of PLGA. *Composites Science and Technology*, v. 65, p. 2226-2232, 2005.
- LI, H.; YAN, G.P.; WU, S.N.; WANG, Z.J.; LAM, K.Y. Numerical simulation of controlled nifedipine release from chitosan microgels. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 93, n. 4, p. 1928-1937, 2004.
- LUNT, J., Large-scale Production, Properties and Commercial Applications of Polylactic Acid Polymers. *Polym. Degrad. Stab*, v. 59, p. 145-152, 1998.
- MAIER, D.; ECKSTEIN, A.; FRIEDRICH C.; HONERKAMP J., Evaluation of models combining rheological data with the molecular weight distribution. *J. Rheol.*, v. 42, n. 5, p.1153-1173, 1998.
- MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F.; A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 38, p. 375-399, 2002.
- MANO, E. B., *Polímeros como materiais de engenharia*. 1ed. Rio de Janeiro: Ed. Edgard Blucher Ltda, 1991, p. 218.
- MANO E. B; MENDES L. C. *Introdução a polímeros*. 2ed. Sao Paulo: Ed. Edgard Blucher Ltda., 2001. 191 p.
- MANO, J.; SOUSA, R.; BOESEL, L.; NEVES N.; BIOINERT, Biodegradable and Injectable Polymeric Matrix Composites for Hard Replacement: State of the Art and Recent Developments. *Composites Science e Technology*, v. 64, p. 789–817, 2004.
- MENGA, Z.X.; ZHENG, W.; LIA L.; ZHENG Y.F., Fabrication, characterization and *in vitro* drug release behavior of electrospun PLGA/chitosan nanofibrous scaffold. *Materials Chemistry and Physics*, v. 125, p. 606–611, 2011.
- MERKLI, A.; TABATABAY, C.; GURNY, R.; HELLER, J., Biodegradable polymers for the controlled release of ocular drugs. *Prog Polym Sci*, v. 23, p. 563-80, 1998.
- MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J., Synthetic Biodegradable Polymers as Medical Devices. *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 1998.

- MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J., Synthetic Biodegradable Polymers as orthopedic devices. *Biomaterials*, v. 20, p. 2335-2346, 2000.
- MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R., Síntese, Caracterização e Degradação “*in vitro*” do poli( L-ácido láctico-co-ácido glicólico). *Revista Matéria*, v. 11, n. 3, p. 340-350, 2006.
- MOTTA, A. C. *Síntese e caracterização do Poli (L-ácido Láctico)- PLLA e Poli (L-ácido láctico- co- ácido glicólico)- PLGA e estudo de degradação “in vitro”*. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia de Materiais, UNICAMP, Campinas. 2002.
- MOSMANN, T., Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- MUNDARGI, R. C.; BABU, V. R.; RANGASWAMY, V.; PATEL, P.; AMINABHAVI, T. M. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J. Control. Release*, v. 125, p. 193–209, 2008.
- NORRIS, L.; DSHAKER, M. M.; KO, F. K.; MACDIARMID, A. G., Electrostatic fabrication of ultrafine conducting fibers: Polyaniline/polyethylene oxide blends. *Synthetic Metals*, v. 114, p. 109–114, 2000.
- OHLWEILER, O. A., *Métodos Termométricos. In: - Métodos Instrumentais de Análise Química*, São Paulo, Livros Técnicos e Científicos. 1978.
- ORÉFICE, R. L., PEREIRA, M. M., MANSUR, H.S., *Biomateriais: Fundamentos e Aplicações*, Rio de Janeiro: Cultura Médica. 2006. 538p.
- OSSWALD, T., MENGES, G. - *Materials Science of Polymers for Engineers*, New York : Hanser Publishers. 1995. 475p.
- PAMULA, E.; MENASZAK, E., *In vitro* and *in vivo* degradation of poly(L-lactide-co-glycolide) films and scaffolds. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v. 19, p. 2063–2070, 2008.
- PARATO, A. L. *Avaliação biológica de compósitos de polímeros biodegradáveis em uma matriz de biocerâmica com adição de tetraciclina*. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Odontologia, UFMG, Belo Horizonte. 2005.
- PARK, J. H.; LEE, S.; KIM, J. H.; PARK, K.; KIM, K.; KWON, I. C., Polymeric nanomedicine for cancer therapy. *Prog. Polym. Sci.*, v. 33, p. 113–137, 2008.
- PEPPAS, L. B., *Biomaterials - Polymers in Controlled Drug Delivery*; Disponível em <http://www.mddionline.com/article/polymers-controlled-drug-delivery>, acesso em 12/2014.
- PERRY, R. H. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 1984. 2700p.

- PILLAIL, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, London, v. 5, p. 447-451, 2001.
- POHLMANN, A. R.; WEISS, V.; MERTINS, O.; SILVEIRA, N. P.; GUTERRES, S. S., Spray-dried indomethacin-loaded polyester nanocapsules and nanospheres: development, stability evaluation and nanostructure models. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 16, n. 4-5, p. 305-312, 2002.
- QI, F.; WUA, J.; YANG, T.; MAA, G.; SU, Z., Mechanistic studies for monodisperse exenatide-loaded PLGA microspheres prepared by different methods based on SPG membrane emulsification. *Acta Biomaterialia*, v. 10, p. 4247–4256, 2014.
- QVIST, M. H.; HOECK, U.; KREILGAARD, B.; MADSEN, F.; FROKJAER, S., Release of chemical permeation enhancers from drug-in-adhesive transdermal patches. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 231, n. 2, p. 253-263, 2002.
- RAMAKRISHNA, S.; FUJIHARA, K.; TEO, W.; LIM, T.; MA, Z., *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*. Singapore: World Scientific Publishing Company, 2005. 396 p.
- RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S., *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine*. San Diego: Elsevier, 1996. 484p.
- RÉ, M. I., Tecnologia Industrial. *Ciência Hoje*, v. 27, n. 162, p. 24-29, 2000.
- RENEKER, D. H.; YARIN, A. L., Electrospinning jets and polymer nanofibers. *Polymer*, v. 49, p. 2387–2425, 2008.
- REYNOLDS, J. E. F. Martindale - *The Extra Pharmacopoeia*. 31<sup>a</sup> Edição. London: Royal Pharmaceutical Society. 1996. 398p.
- RIOS, M., Polymers for Controlled Release: Formulation Follows Function. *Pharm. Technol.*, v. 29, n. 6, p. 42-50, 2005.
- RITGER, P.L. & PEPPAS, N.A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, v. 5, p. 37-42, 1987.
- RODRIGUEZ, F. *Chemical engineering series: Principles of polymer system*. 2a ed. New York: McGraw-Hill, 1982. 592p.
- SALIBA, J. B. *Sistemas biodegradáveis de administração intra-ocular contendo ciclosporina (A) para tratamento da uveíte posterior*. Dissertação de Mestrado – Departamento de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte. 2007.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NUMAN, T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman. 2002. 836p.

- SCHNABEL W. Polymer degradation - *Principles and practical applications*. Munique: Carl Hanser Verlag. 1981. 328 p.
- SCHWACH G.; COUDANE J.; ENGEL R.; VERT M., J., More about the polymerization of lactides in the presence of stannous octoate. *Polym Sci Part A: Polym Chem*, v. 35, p. 3431-3440, 1997.
- SILL, T. J.; RECUM, H. A. V., Electrospinning for Tissue Engineering and Drug Delivery. *Biomaterials*, v. 29, n. 13, p. 1989-2006, 2008.
- SILVA, F. P. *Síntese e Caracterização de Hidrogéis de Poli(N-Isopropilacrilamida)-co-(ácido metacrílico)] e sua Aplicação como Sistemas de Liberação Controlada de Medicamentos*. Dissertação de Mestrado – Departamento de Engenharia Química, UFMG, Belo Horizonte. 2006.
- SILVERSTEIN, R., WEBSTER, M., FRANCIS X., KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490p.
- SINGH, M.; SHIRLEY, B.; BAJWA, K.; SAMARA, E.; HORA, M.; O'Hagan, D. Controlled release of recombinant insulin-like growth factor from a novel formulation of polylactide-co-glycolide microparticles. *Journal of Controlled Release*, v. 70, p. 21-28, 2001.
- SOARES, A. Q.; OLIVEIRA, L. F.; RABELO, D.; SOUZA, A. R., Polímeros Biodegradáveis: Novas Perspectivas para as Ciências Farmacêuticas. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 2, n. 2, p. 202-205, 2005.
- SONG, J.H.; KIM, H.E.; KIM, H.W., Production of electrospun gelatin nanofiber by water-based co-solvent approach. *J Mater Sci: Mater Med*, v. 19, p. 95–102, 2008.
- SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M.; KULKARNI, A. R.; RUDZINSKI, W. E., Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, v. 70, p.1-20, 2001.
- SOUSA, A. *“Híbridos de gel polimérico em sílica mesoporosa estruturalmente ordenada para liberação controlada de fármacos”*. Tese de Doutorado - Departamento de engenharia química, UFMG, Belo Horizonte. 2009.
- SOUSA, A.; MARIA, D. A.; SOUSA, R. G.; SOUSA, E. M. B., Synthesis and characterization of mesoporous silica/ poly(N-isopropylacrylamide) functional hybrid useful for drug delivery. *J Mater Sci*, v. 45, p. 1478–1486, 2010.
- SOUSA, A.; SOUZA, K. C.; LEITE, P. M. S.; SOUSA, R. G.; SOUSA, E. M. B., A Dual-Functional [SBA-15/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/P(N-iPAAm)] Hybrid System as a Potential Nanoplatfom for Biomedical Application. *Journal of Nanomaterials*, v. 2014, p. 1-10, 2014.

- STEVANOVIĆ, M.; MAKSIN, T.; PETKOVIĆ, J.; FILIPIĆ, M.; USKOKOVIĆ, D., An innovative, quick and convenient labeling method for the investigation of pharmacological behavior and the metabolism of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanospheres. *Nanotechnology*, v. 20, p. 1-12, 2009.
- STEVANOVIĆ, M.; RADULOVIĆ, A.; JORDOVIĆ, B.; USKOKOVIĆ, D., Poly(DL-lactide-co-glycolide) nanospheres for the sustained release of folic acid. *J. Biomed. Nanotechnol*, v. 4, p. 349–358, 2008.
- STEVANOVIĆ, M.; SKOKOVIĆ, D., Poly(lactide-co-glycolide)-based micro and nanoparticles for the controlled drug delivery of vitamins. *Curr. Nanosci.*, v. 5, p. 1-14, 2009.
- SUGANUMA, J.; ALEXANDER H., Biological response of intramedullary bone to poly(L- lactid acid). *J Appl. Biomater*, v. 4, p. 13-27, 1993.
- SUN, L.; XIE, Z.; ZHAO, Y.; WEI, H.; GU, Z., Optical monitoring the degradation of PLGA inverse opal film. *Chinese Chemical Letters*, v. 24, p. 9–12, 2013.
- THIMM, W.B.; FRIEDRICH C.; MARTH M.; HONERKAMP J., Analytical relationship between relaxation time spectrum and molecular weight distribution. *J. Rheol.*, v. 43, n. 6, p.1663-1672, 1999.
- THIMM W.B.; FRIEDRICH C.; MARTH M.; HONERKAMP J., On the Rouse spectrum and the determination of the molecular weight distribution from rheological data. *J. Rheol.*, v. 44, n. 2, p. 429-438, 1999.
- TICE, T.R., TABIBI, E.S. *Treatise on controlled drug delivery: fundamentals, optimization and applications*. New York: Ed Marcel Dekker, 1991. 568p.
- TORCHILIN, V. P., Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. *Journal of controlled Release*, v. 73, p. 137-172, 2001.
- TRACY, M.A.; WARD, K.L.; FIROUZABADIAN, L.; WANG, Y.; DONG, N.; QIAN, R. Factors affecting the degradation rate of poly(lactide-co-glycolide) microspheres *in vivo* and *in vitro*. *Biomaterials*, v. 20, p. 1057-1062, 1999.
- TSUKADAA, Y.; HARAA, K.; BANDO, Y.; HUANG, C.C.; KOUZAKA, Y.; KAWASHIMAC, Y.; MORISHITAD, R.; TSUJIMOTO, H., Particle size control of poly(dl-lactide-co-glycolide) nanospheres for sterile applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 370, p. 196-201, 2009.
- VERT M. *The complexity of PLAGA-based drug delivery systems*. Proceedings of the International Conference on Advances in Controlled Delivery, Baltimore, MD, p. 32-36, 1996.
- VILAR, W. D. *Química e Tecnologia de Poliuretanos*. 3ª edição. Rio de Janeiro: Vilar consultoria técnica, 2004. 400p.
- WADSWORTH, A.N.; MURDOCH, D.; BROGDEN, R.N., Atenolol: A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in cardiovascular disorders. *Drugs*, v. 42, n. 3, p. 468-510, 1991.

- WEST, A. R., *Solid State Chemistry and its Applications*. New York: John Wiley & Sons, 1984. 320p.
- WILLARD, H; MERRITT, L. JR.; DEAN, J. *Análise instrumental*. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979. 986p.
- WU XS., *Synthesis e properties of biodegradable lactic/glycolic acid polymers*. In: Wise et al., editors. *Encyclopedic Handbook of Biomaterials e Bioengineering*. New York: Marcel Dekker, p. 1015-54, 1995.
- XIÃO, D.; LIUA, Q.; WANGA, D.; XIEA, T.; GUOA, T.; DUANA, K.; WENGA, J., Room-temperature attachment of PLGA microspheres to titanium surfaces for implant-based drug release. *Applied Surface Science*, v. 309, p. 112-118, 2014.
- XIAOLING, Li, HASKARA R. J. *Design of controlled release drug delivery systems*. New York: MacGraw-Hill, 2006. 435p.
- ZHANG, X.; MACDONALD, D. A.; GOOSEN, M. F. A.; MC AULEY, K. B., Mechanism of lactide polymerization in presence of stannous octoate: the effect of hydroxyl and carboxyl substances. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, v. 32, n. 15, p. 2965-2970, 1994.

**ANEXO I – QUANTIDADES DOS MONÔMEROS E DOS REAGENTES UTILIZADAS NAS SÍNTESES DOS PLGA'S 70/30 E 50/50.**

As quantidades dos monômeros e dos reagentes utilizadas nas sínteses do PLGA com proporções 70/30 e 50/50 são mostradas na Tabela A.I.1.

Tabela A I. 1 - Quantidades dos monômeros e reagentes usadas nas sínteses do PLGA's 70/30 e 50/50.

<b>Proporção de monômeros</b>	<b>Síntese</b>	<b>Massa de D,L-lactídeo (g)</b>	<b>Massa de glicolídeo (g)</b>	<b>Volume de cloreto de metileno (mL)</b>	<b>Volume de metanol (mL)</b>
70/30	1	11,93	5,16	115	380
	2	11,96	5,14	180	460
	3	11,90	5,12	140	280
	4	11,93	5,15	140	380
	5	11,92	5,11	160	360
	6	11,91	5,10	80	280
	7	11,90	5,11	170	450
	8	11,90	5,10	110	260
50/50	1	8,50	8,50	340	740
	2	8,50	8,50	300	680

**ANEXO II – VOLUMES DE REAGENTES, TEMPO DE AGITAÇÃO E RENDIMENTO DAS SÍNTESES DOS PLGA'S 70/30 E 50/50.**

Os volumes de reagentes, tempo de agitação e rendimento das sínteses dos PLGA's 70/30 e 50/50 são mostrados na Tabela A.II.1.

Tabela A.II.1 - Volumes de reagentes, tempo de agitação e rendimento das sínteses dos PLGA's 70/30 e 50/50.

<b>Proporção de monômeros</b>	<b>Síntese</b>	<b>Volume de cloreto de metileno (mL)</b>	<b>Volume de metanol (mL)</b>	<b>Tempo de agitação (min.)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
70/30	1	115	380	34	80
	2	180	460	22	69
	3	140	280	21	82
	4	140	380	32	26
	5	160	360	9	92
	6	80	280	17	90
	7	170	450	15	90
	8	110	260	14	95
50/50	1	340	740	12	81
	2	300	680	34	80

## ANEXO III – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30.

Os espectros FTIR dos copolímeros PLGA 70/30, sínteses 1 a 8, são apresentados nas Figuras A.III.1 a A.III.8.

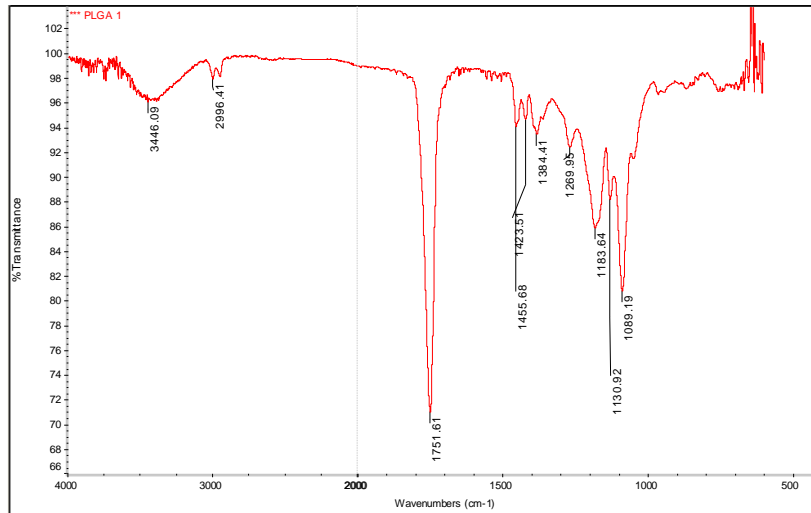


Figura A.III.1 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 1.

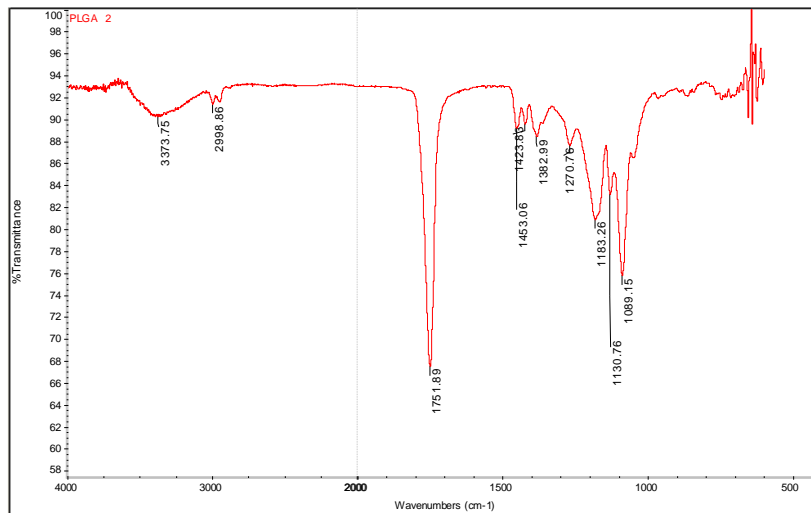


Figura A.III.2 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 2.

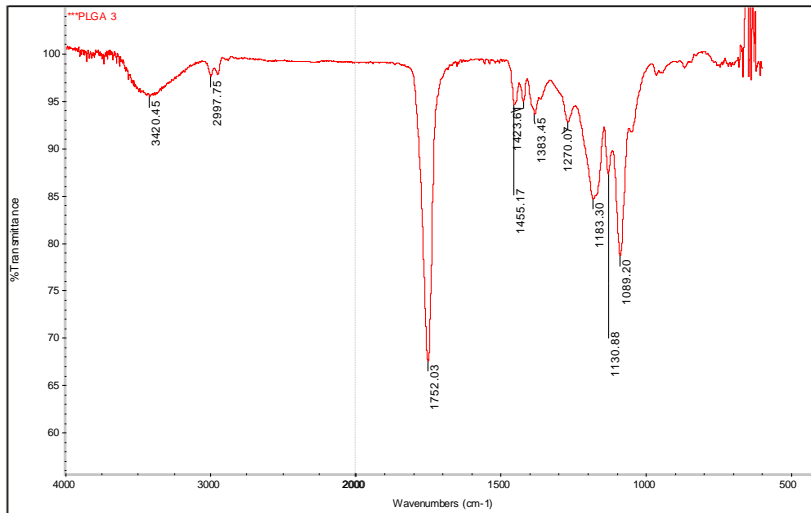


Figura A.III.3 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 3.

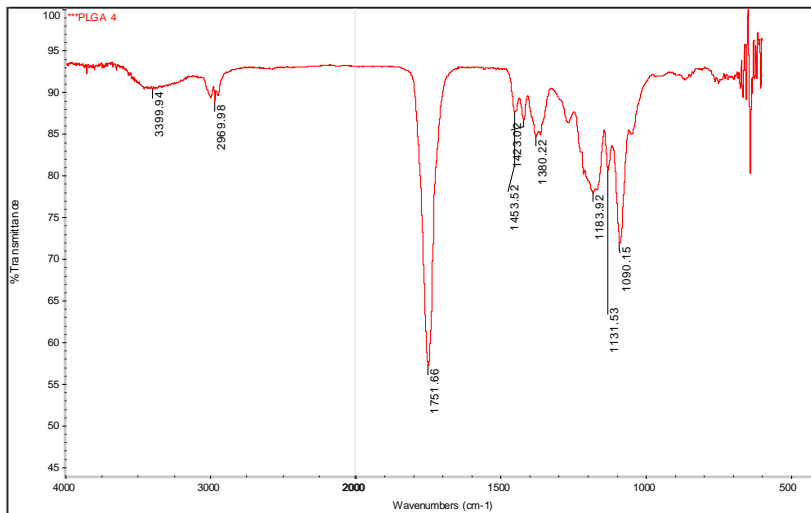


Figura A.III.4 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 4.

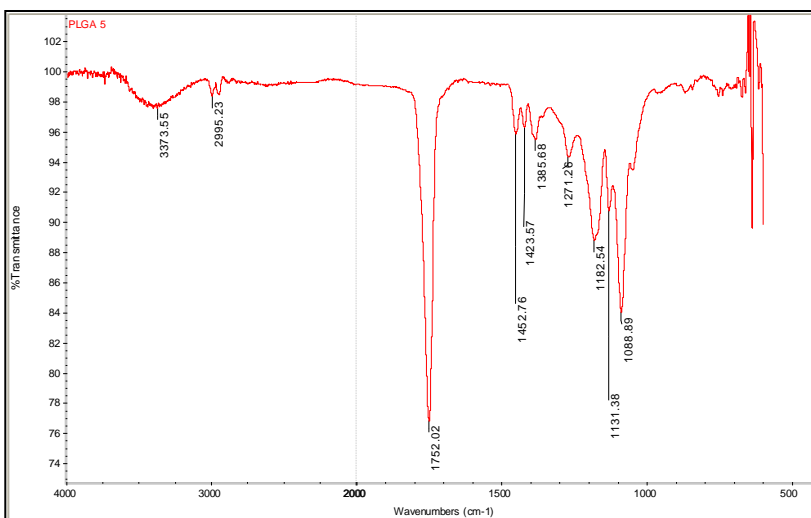


Figura A.III.5 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 5.

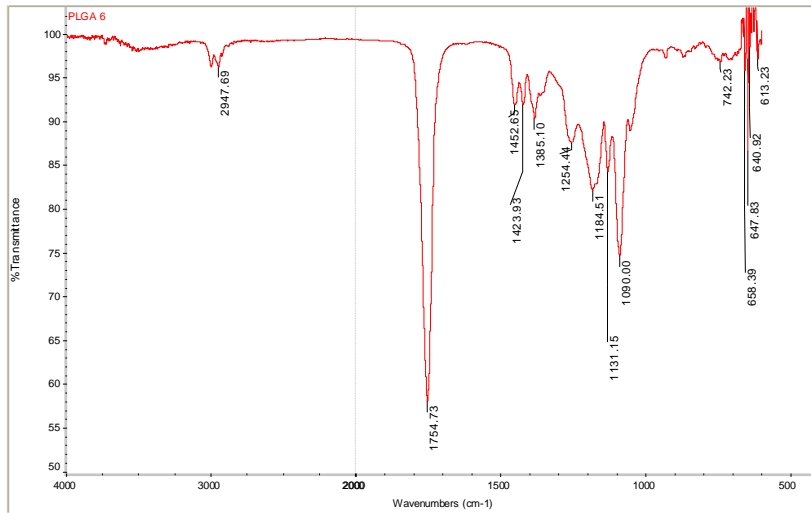


Figura A.III.6 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 6.

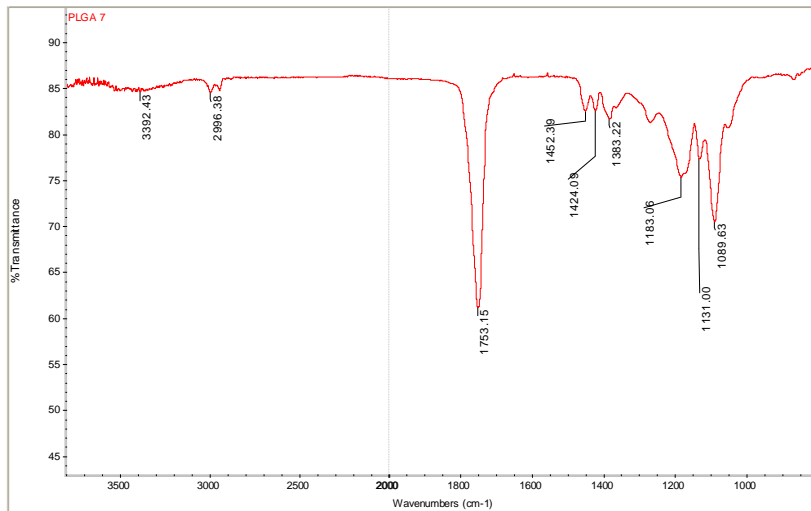


Figura A.III.7 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 7.

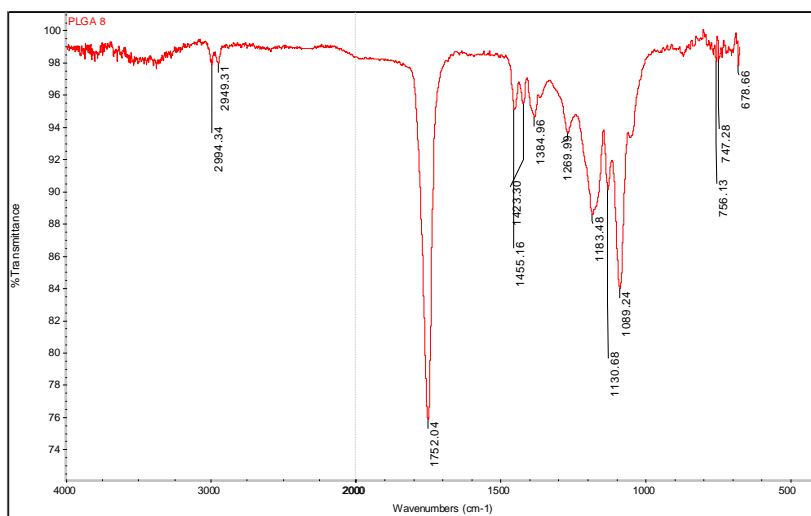


Figura A.III.8 - Espectro FTIR do PLGA 70/30, síntese 8.

## ANEXO IV – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50.

Os espectros FTIR dos copolímeros PLGA 50/50, sínteses 1 e 2, são apresentados nas Figuras A.IV.1. e A.IV.2.

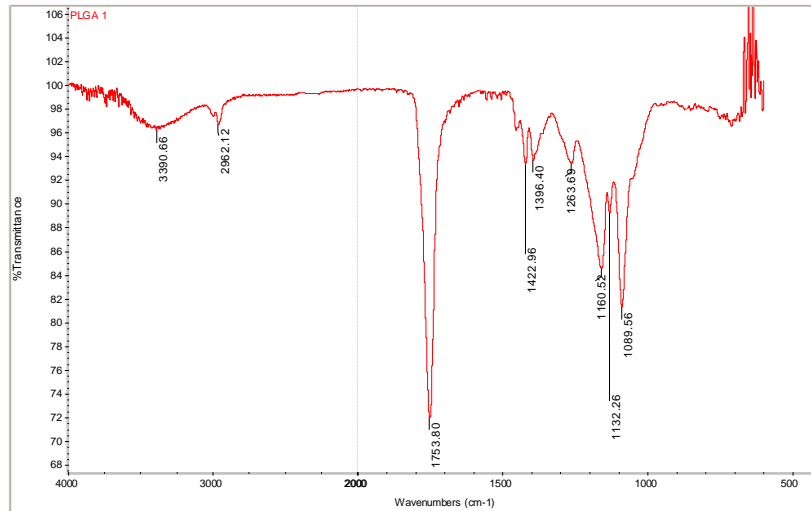


Figura A.IV.1 - Espectro FTIR do PLGA 50/50, síntese 1.

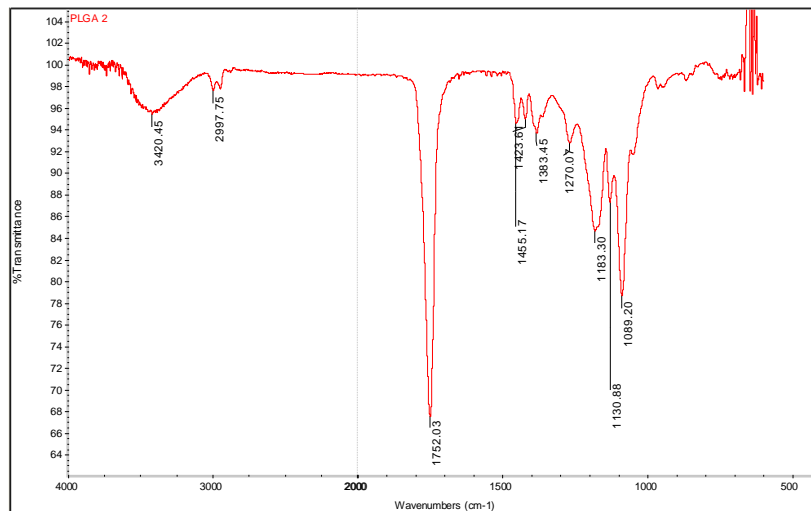


Figura A.IV.2 - Espectro FTIR do PLGA 50/50, síntese 2.

## ANEXO V – ESPECTROS FTIR DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18.

Os espectros FTIR dos copolímeros PLGA 82/18, sínteses 1 a 15, são apresentados nas Figuras A.V.1 a A.V.15.

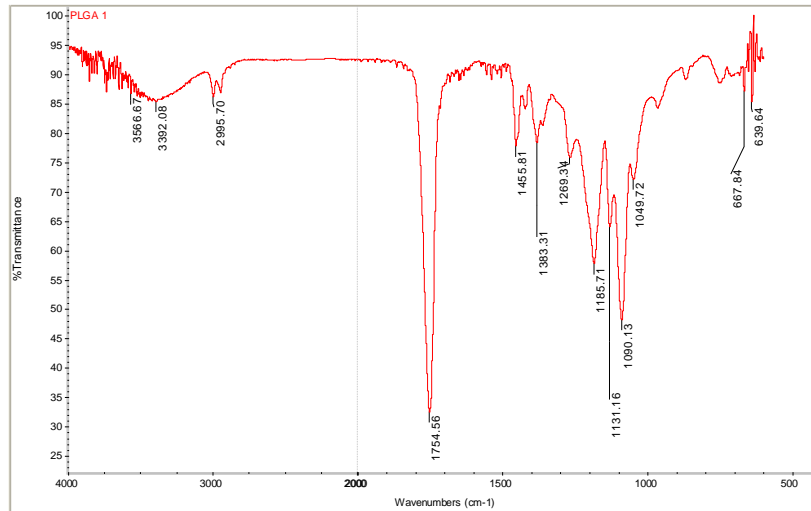


Figura A.V.1 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 1.

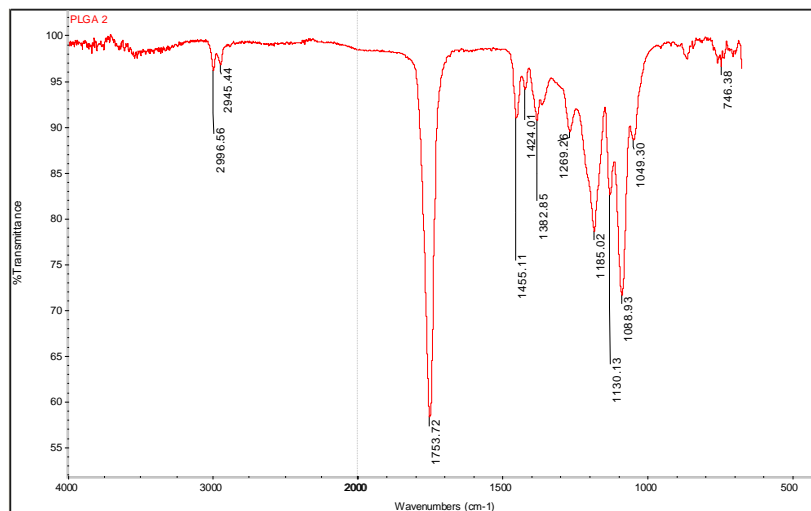


Figura A.V.2 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 2.

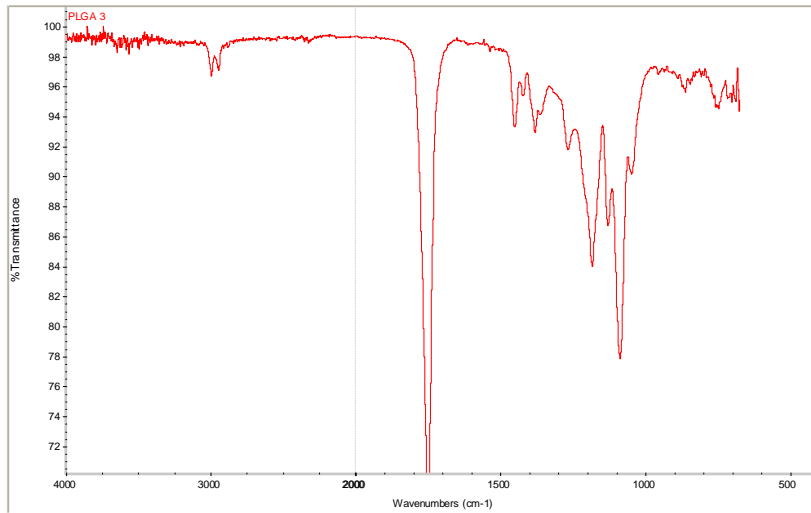


Figura A.V.3 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 3.

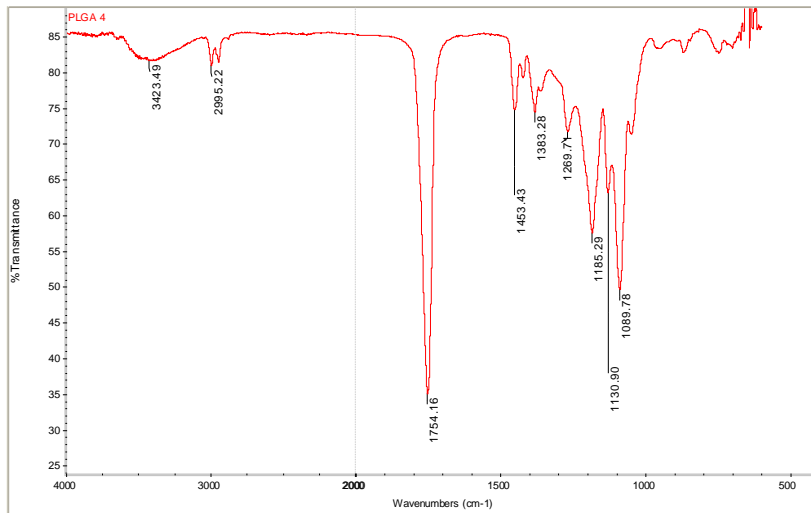


Figura A.V.4 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 4.

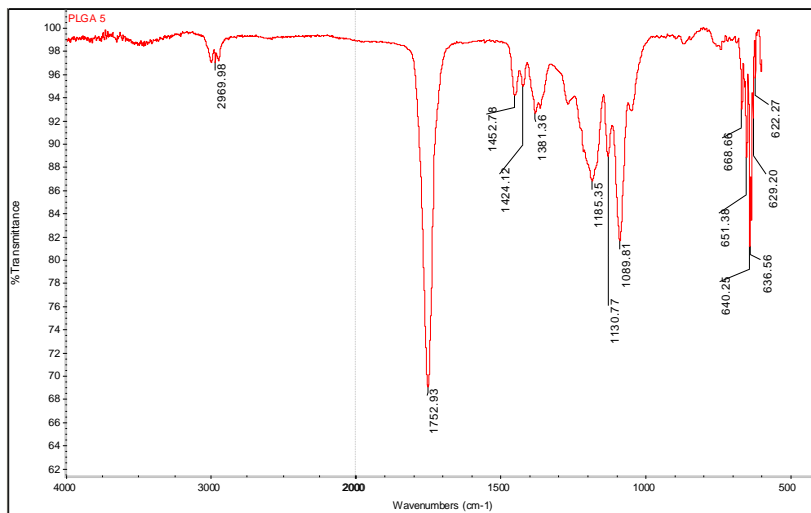


Figura A.V.5 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 5.

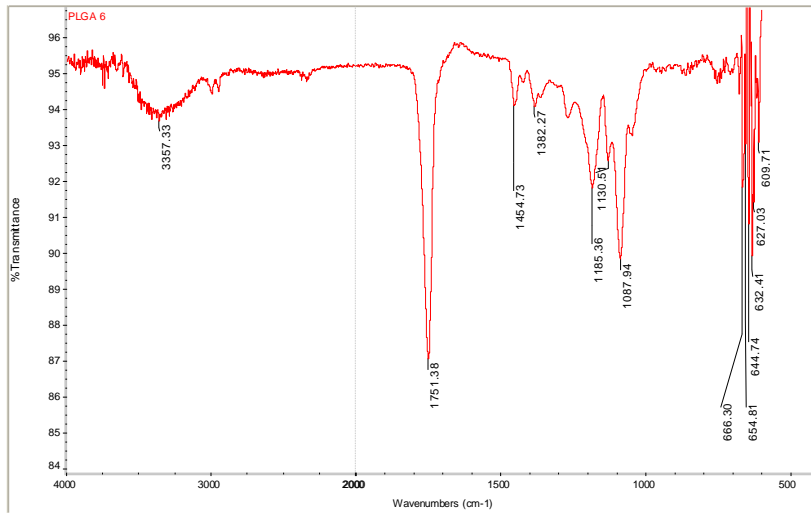


Figura A.V.6 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 6.

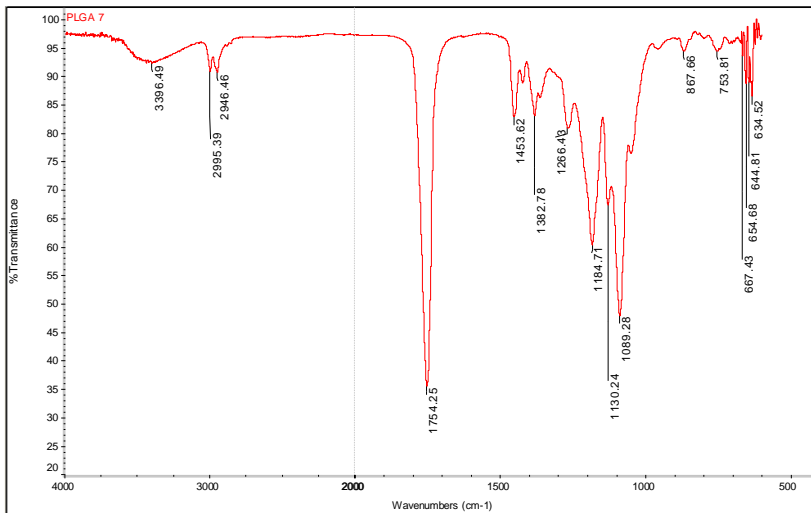


Figura A.V.7 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 7.

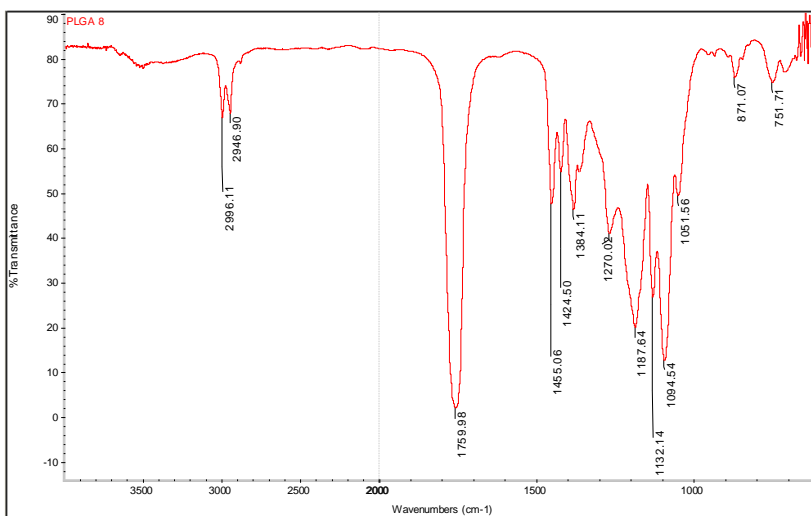


Figura A.V.8 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 8.

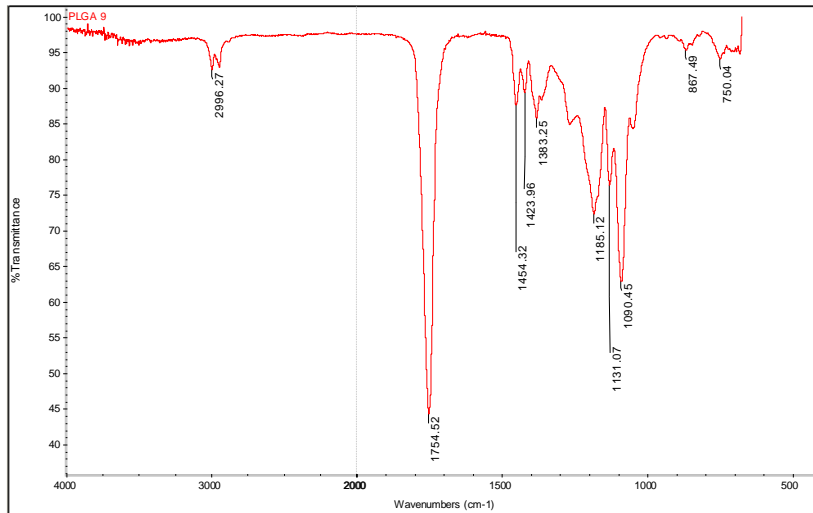


Figura A.V.9 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 9.

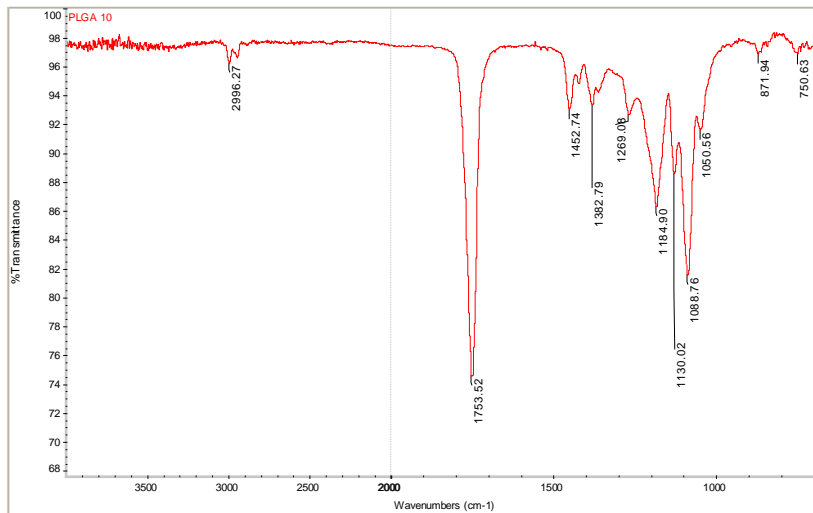


Figura A.V.10 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 10.

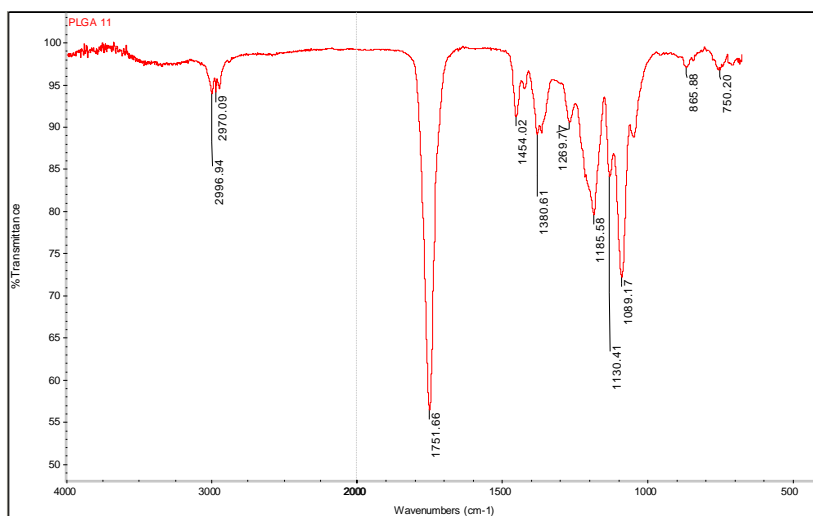


Figura A.V.11 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 11.

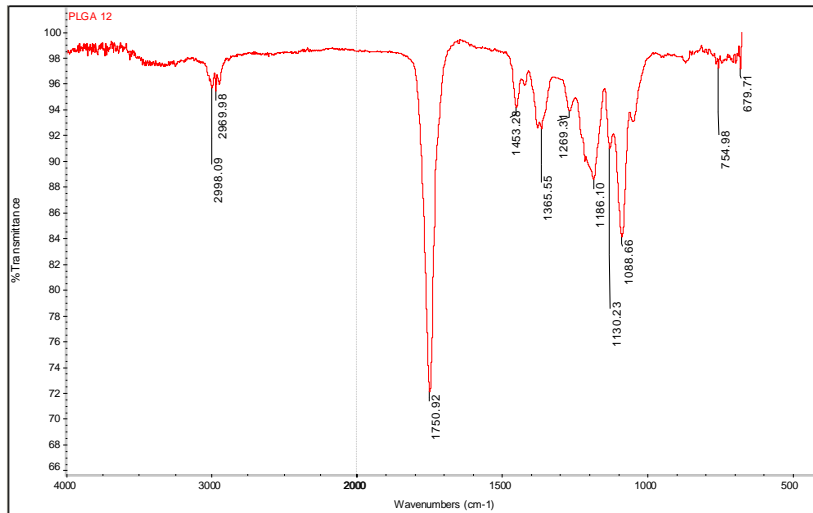


Figura A.V.12 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 12.

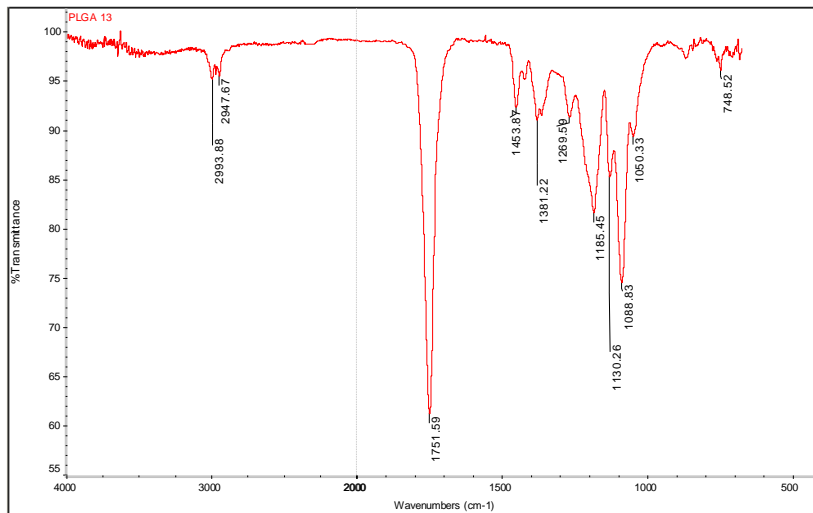


Figura A.V.13 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 13.

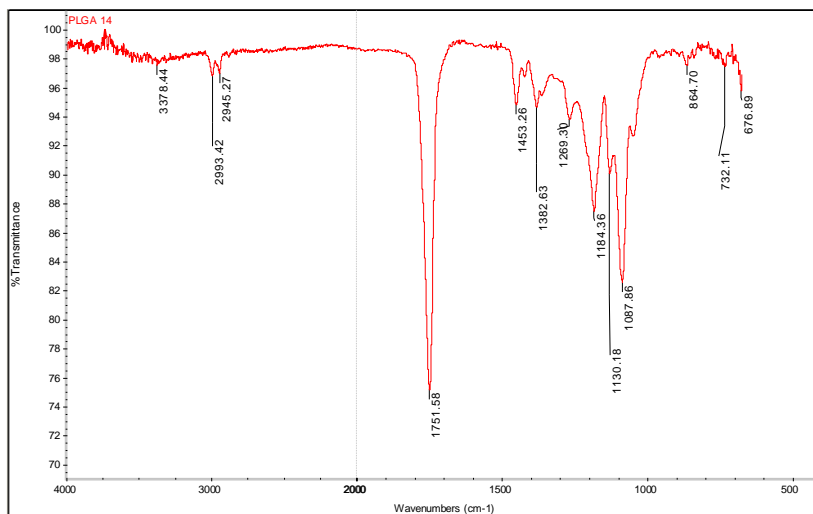


Figura A.V.14 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 14.

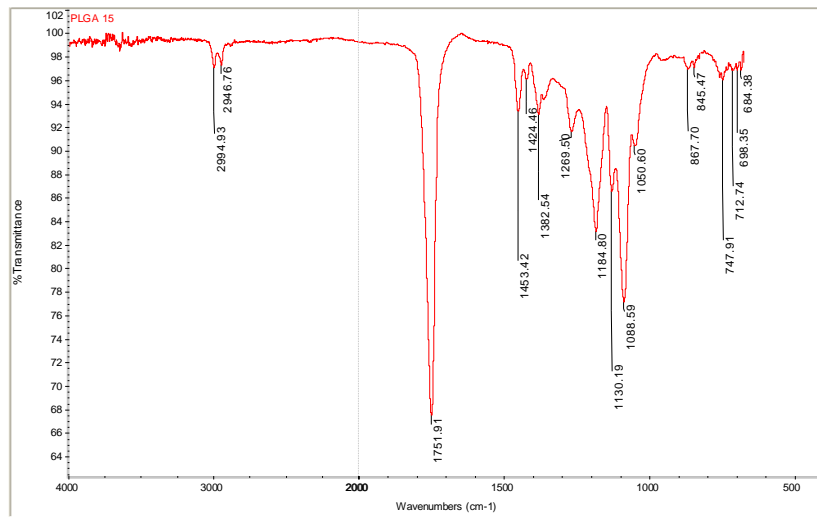


Figura A.V.15 - Espectro FTIR do PLGA 82/18, síntese 15.

**ANEXO VI – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30.**

As curvas TG e a derivada dessas curvas (DrTG), em função da temperatura (°C), dos copolímeros PLGA 70/30, sínteses 1 a 8, são apresentadas nas Figuras A.VI.1 a A.VI.8.

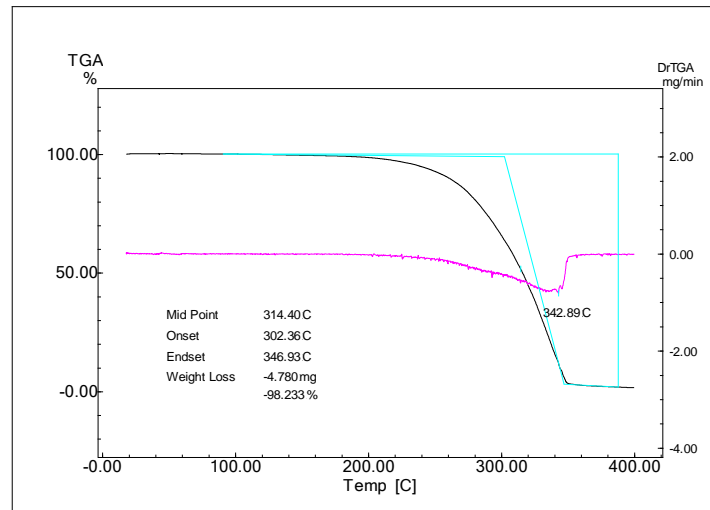


Figura A.VI.1 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 1.

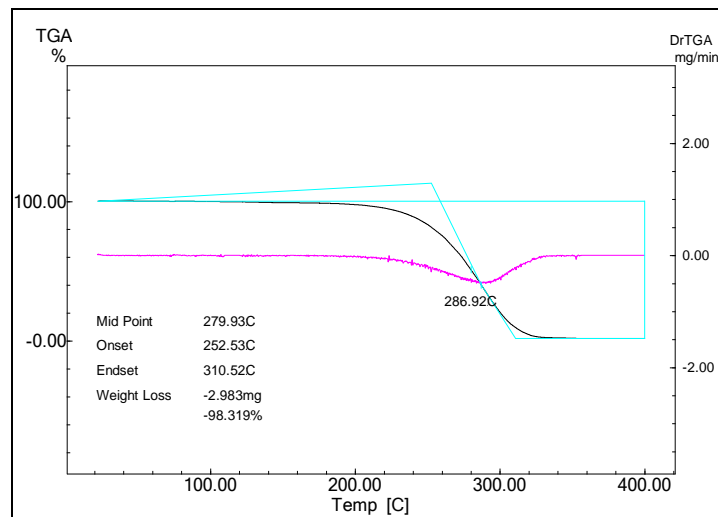


Figura A.VI.2 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 2.

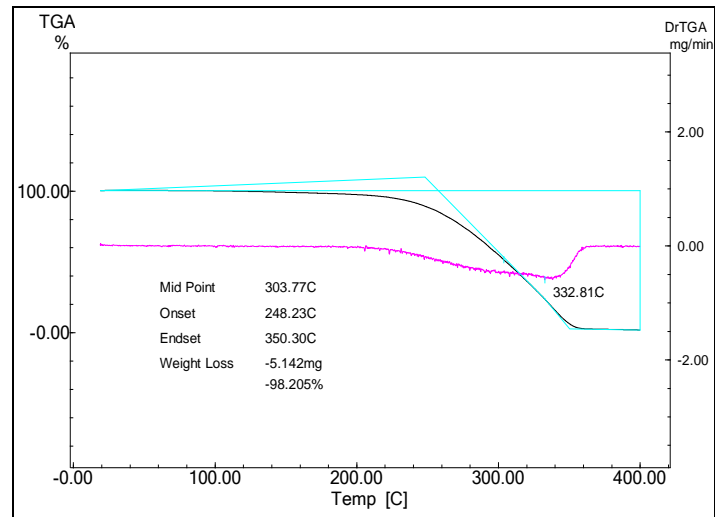


Figura A.VI.3 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 3.

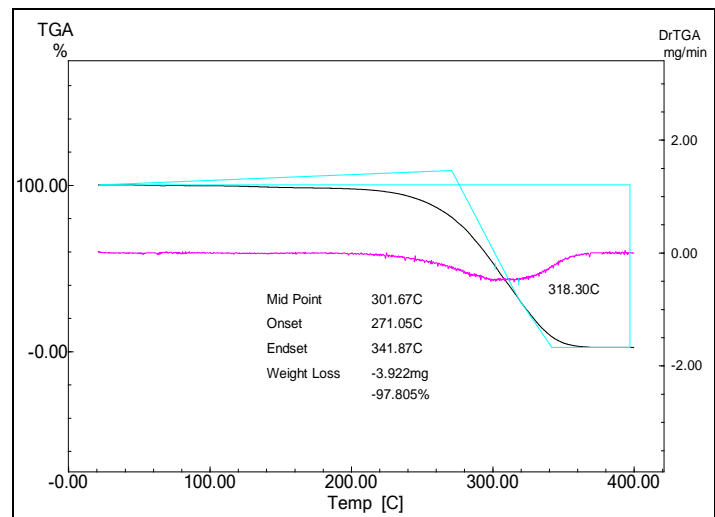


Figura A.VI.4 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 4.

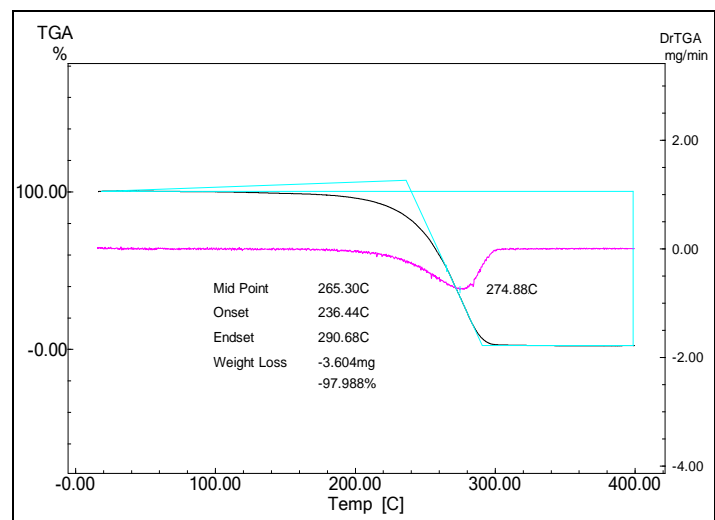


Figura A.VI.5 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 5.

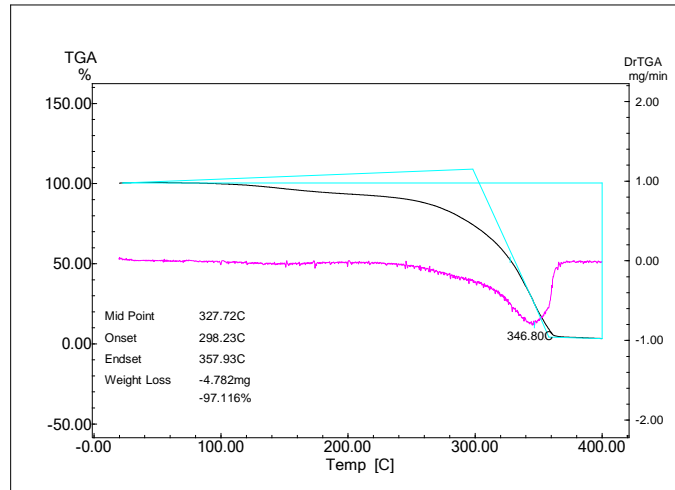


Figura A.VI.6 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 6.

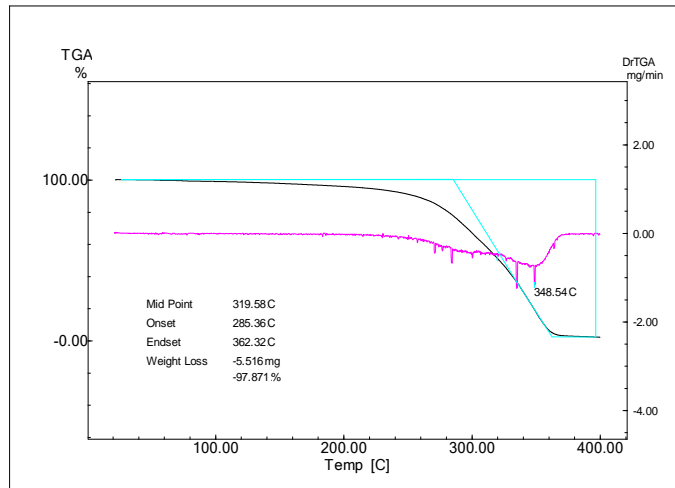


Figura A.VI.7 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 7.

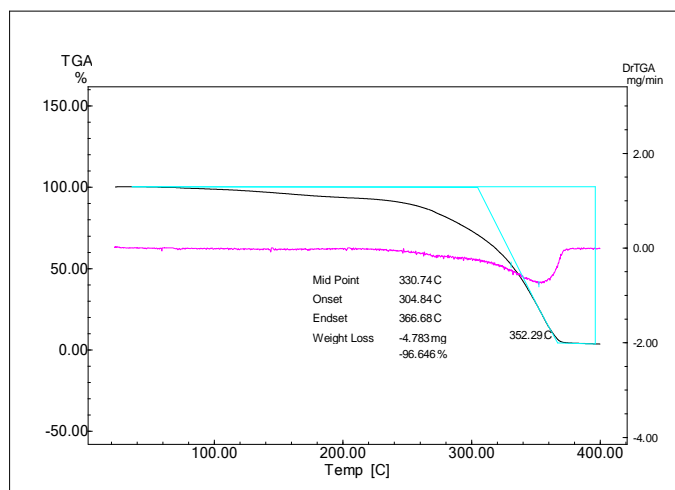


Figura A.VI.8 - Curvas TG e DrTG do PLGA 70/30, síntese 8.

**ANEXO VII – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50.**

As curvas TG e a derivada dessas curvas (DrTG), em função da temperatura (°C), dos copolímeros PLGA 50/50, sínteses 1 e 2, são apresentadas nas Figuras A.VII.1 e A.VII.2.

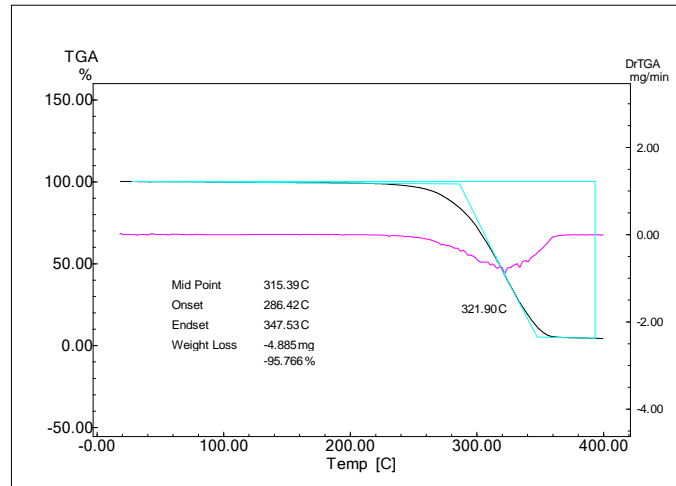


Figura A.VII.1 - Curvas TG e DrTG do PLGA 50/50, síntese 1.

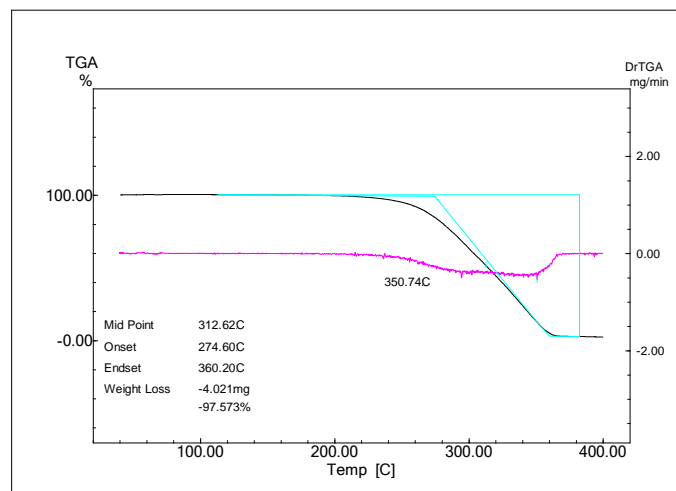


Figura A.VII.2 - Curvas TG e DrTG do PLGA 50/50, síntese 2.

## ANEXO VIII – CURVAS TG E DrTG DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18.

As curvas TG e a derivada dessas curvas (DrTG), em função da temperatura (°C), dos copolímeros PLGA 82/18, sínteses 1 a 15, são apresentadas nas Figuras A.VIII.1 a A.VIII.15.

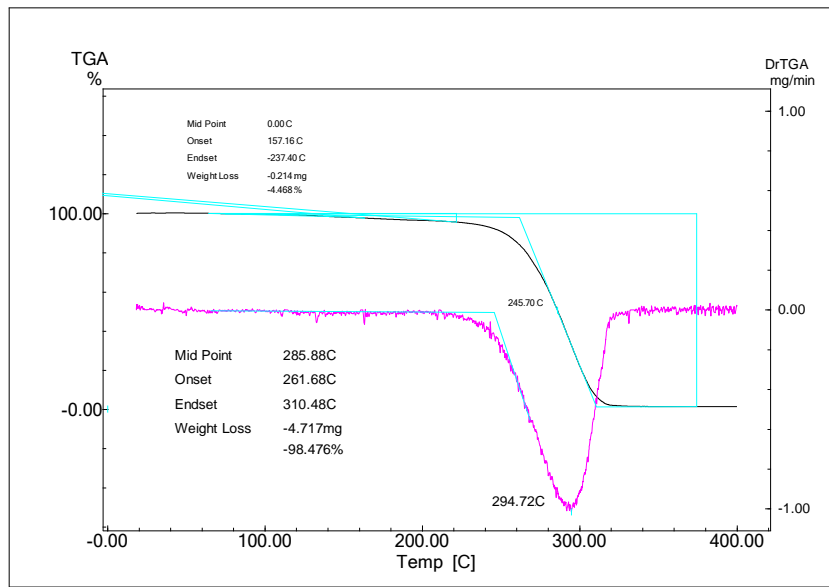


Figura A.VIII.1 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 1.

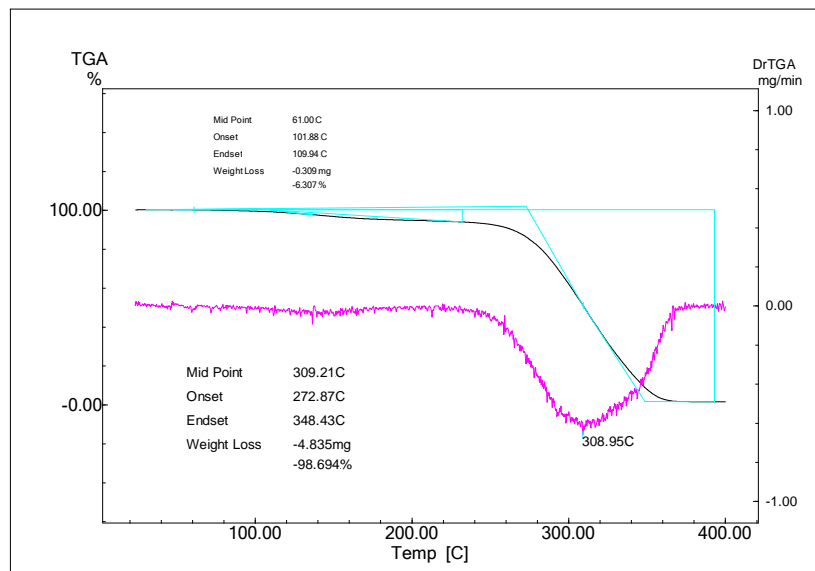


Figura A.VIII.2 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 2.

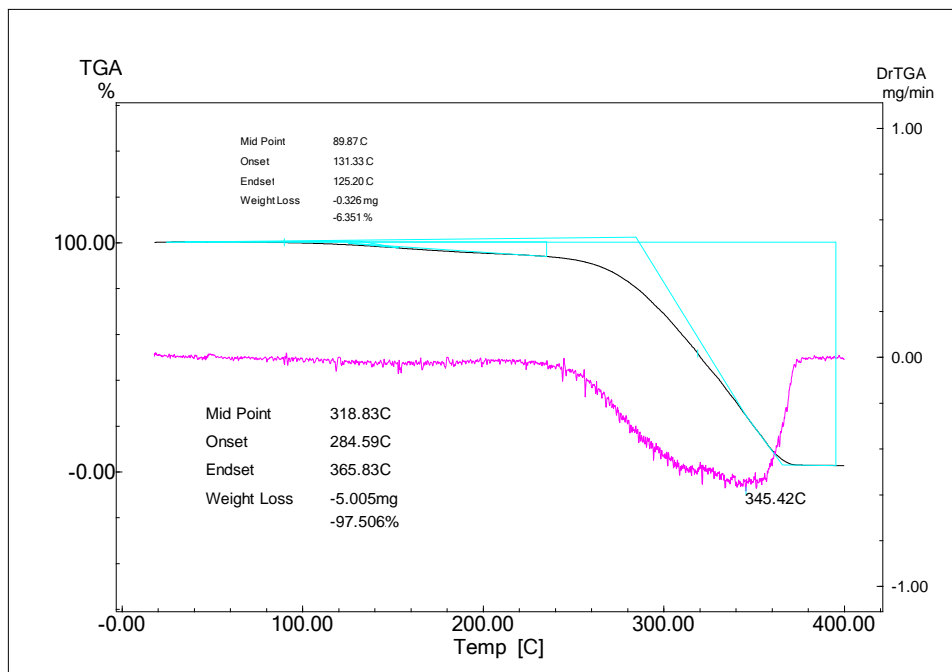


Figura A.VIII.3 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 3.

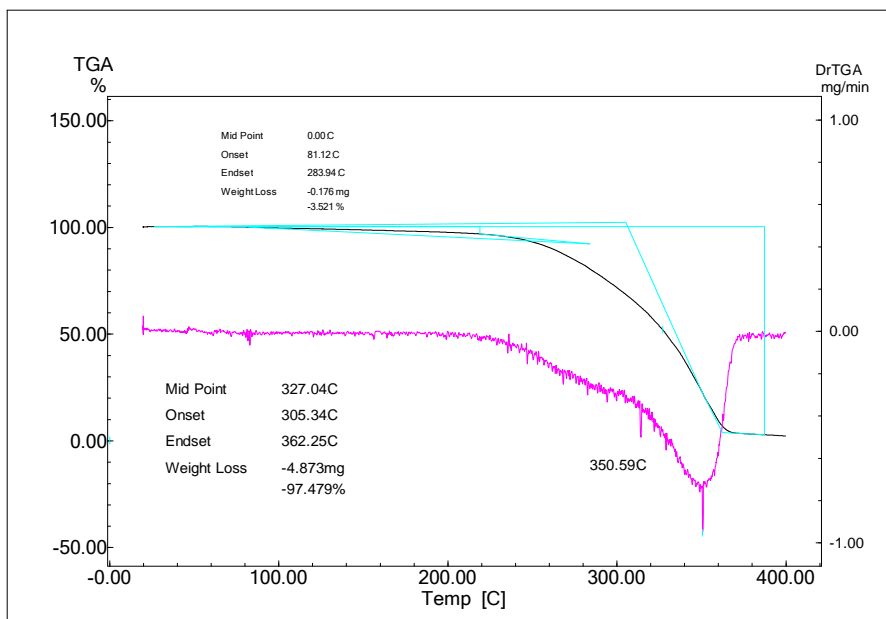


Figura A.VIII.4 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 4.

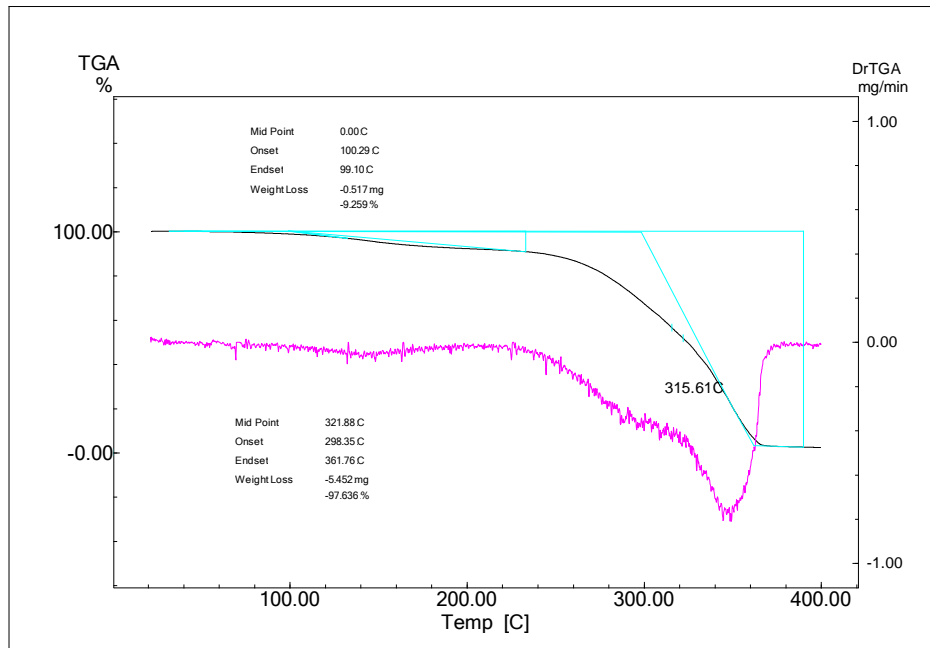


Figura A.VIII.5 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 5.

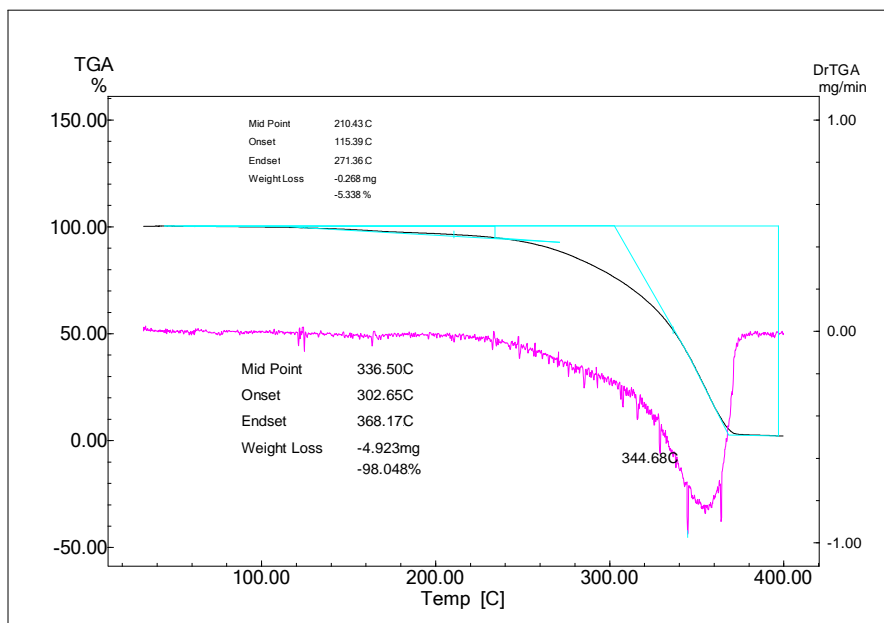


Figura A.VIII.6 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 6.

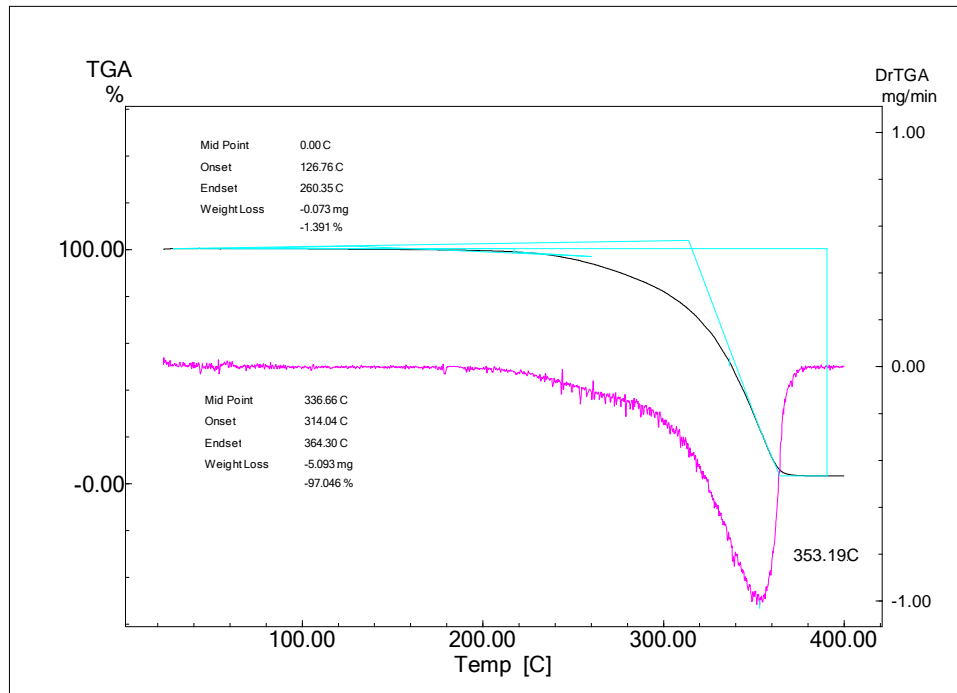


Figura A.VIII.7 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 7.

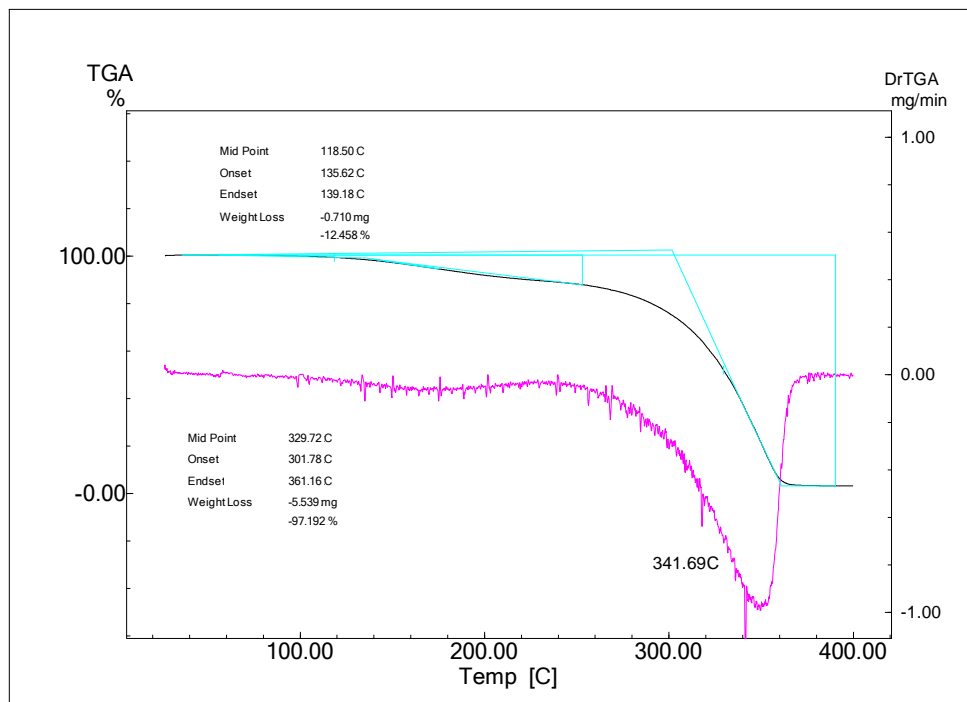


Figura A.VIII.8 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 8.

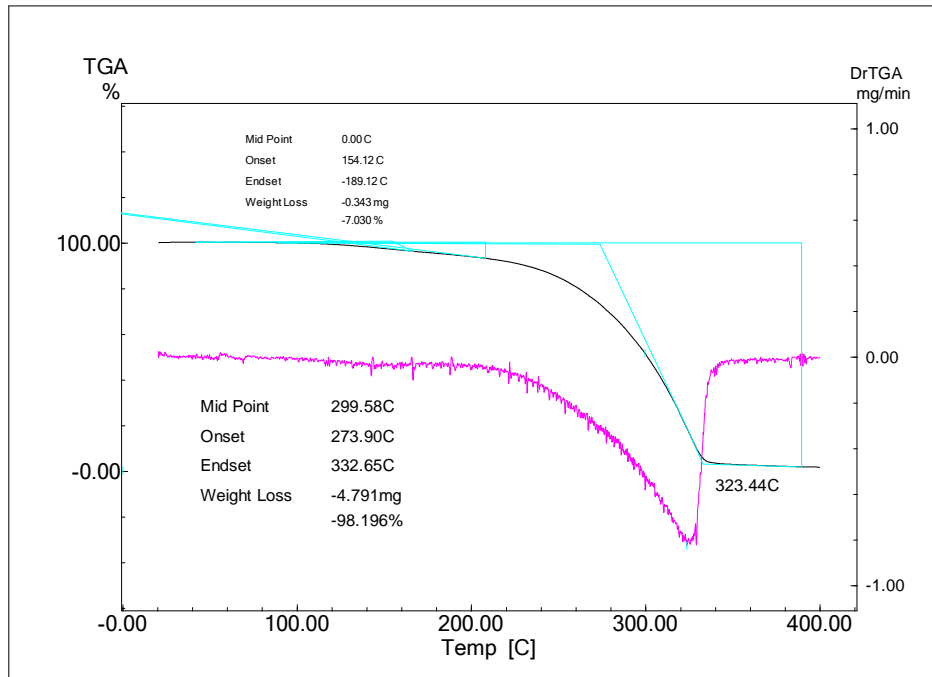


Figura A.VIII.9 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 9.

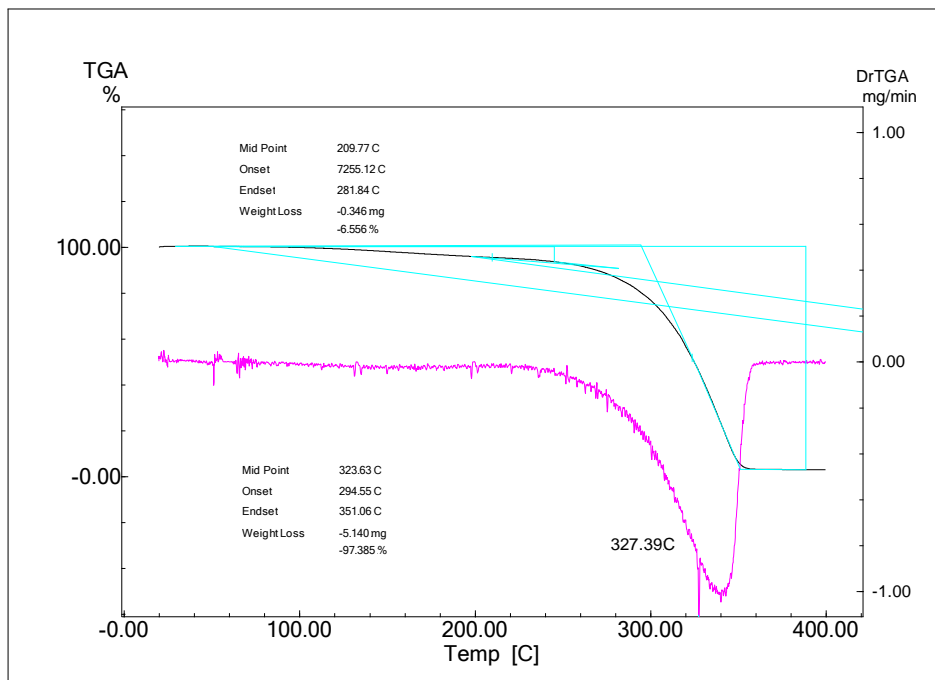


Figura A.VIII.10 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 10.

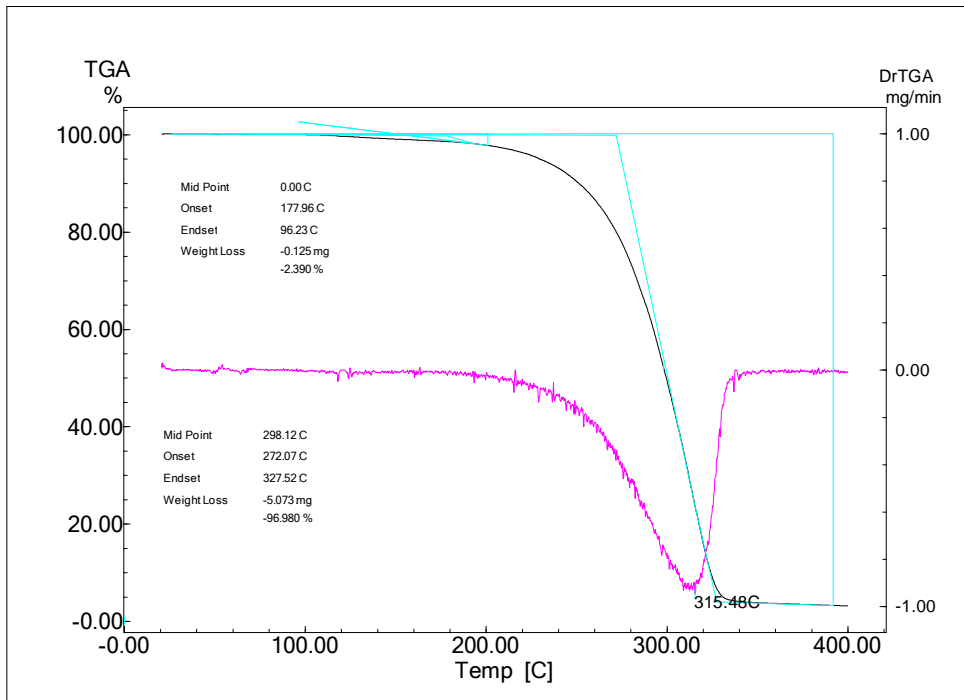


Figura A.VIII.11 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 11.

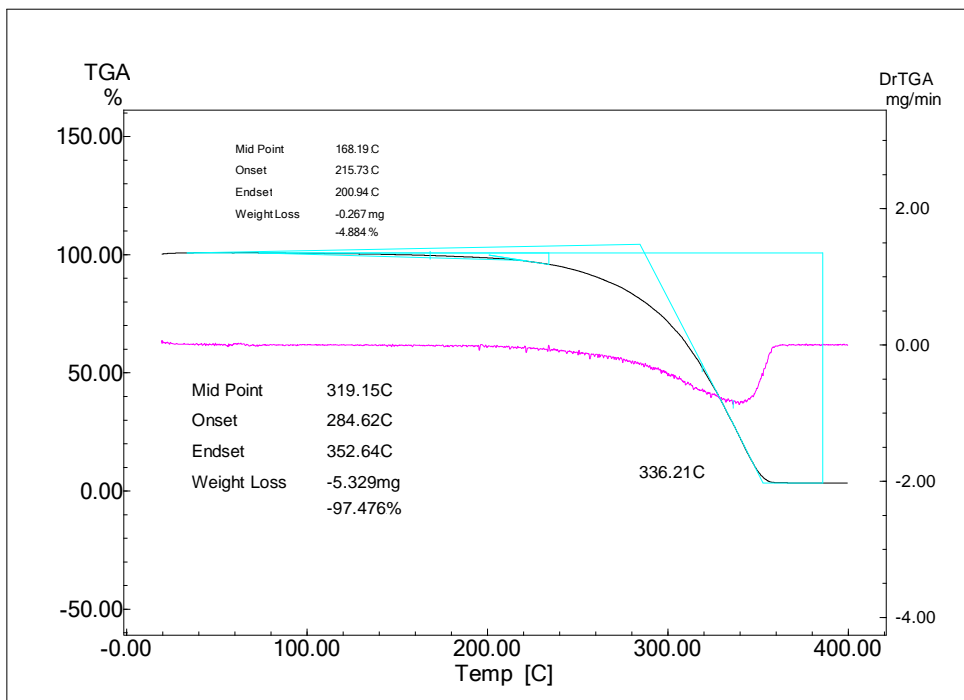


Figura A.VIII.12 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 12.

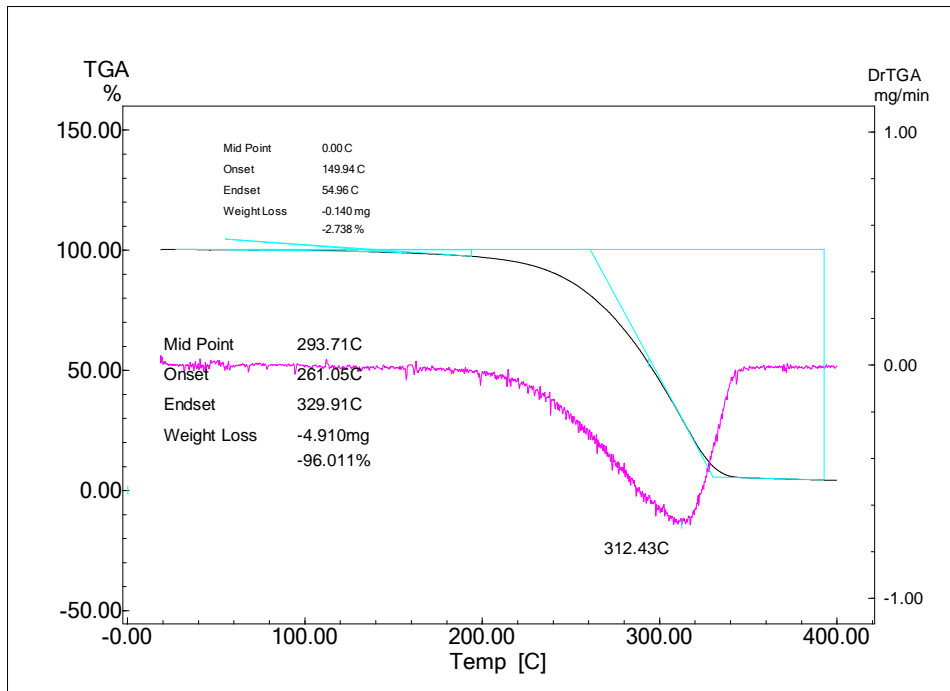


Figura A.VIII.13 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 13.

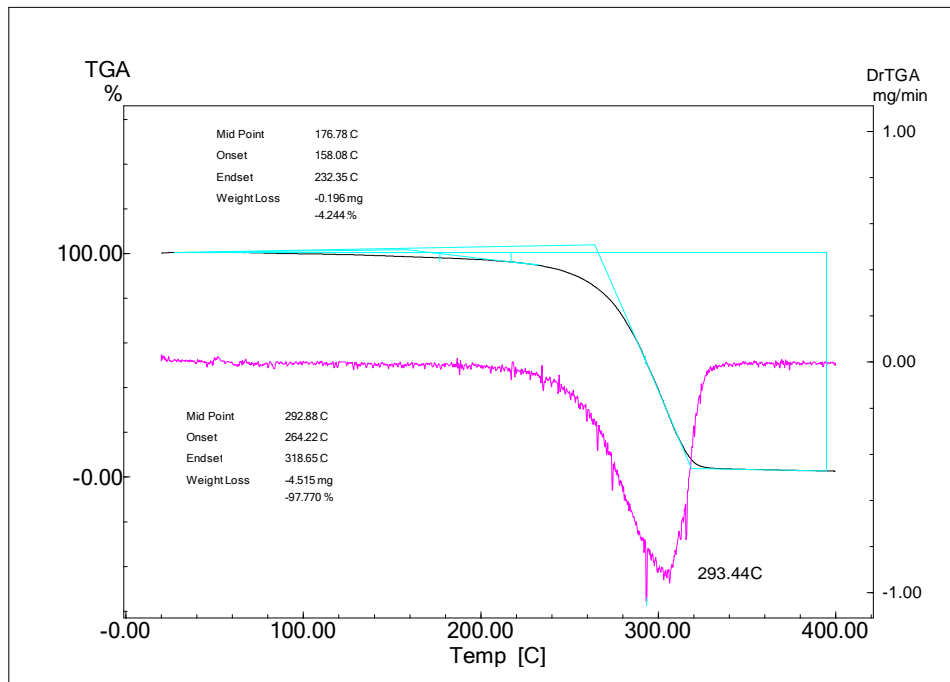


Figura A.VIII.14 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 14.

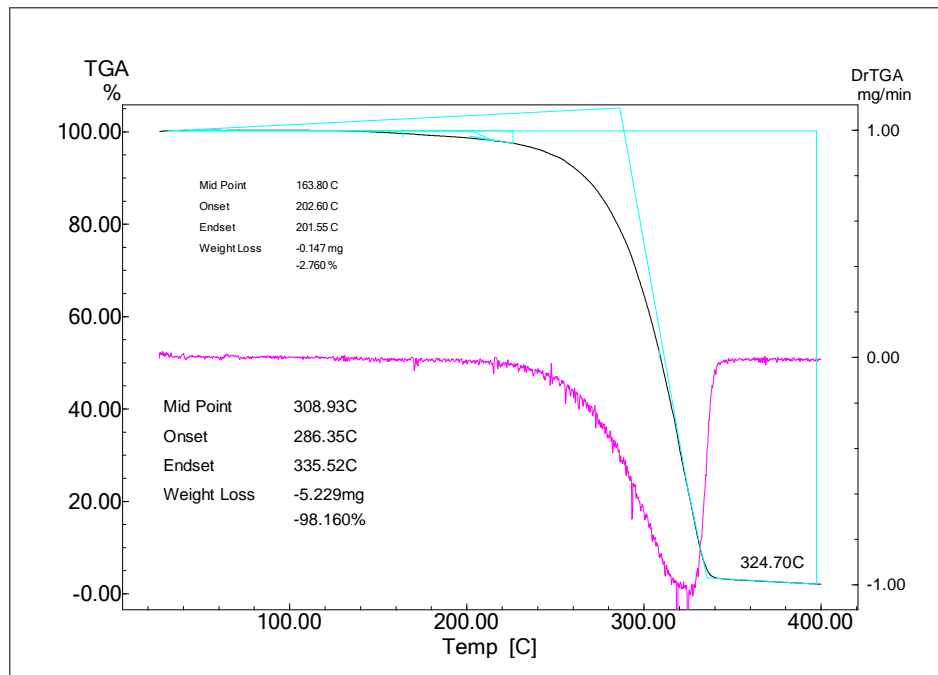


Figura A.VIII.15 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15.

**ANEXO IX – CURVAS DSC E DrDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 70/30.**

As curvas DSC e as derivadas dessas curvas (DrDSC) dos copolímeros PLGA 70/30, sínteses 1 a 8, são apresentadas nas Figuras A.IX.1 a A.IX.8. Essas curvas referem-se à 2ª corrida.

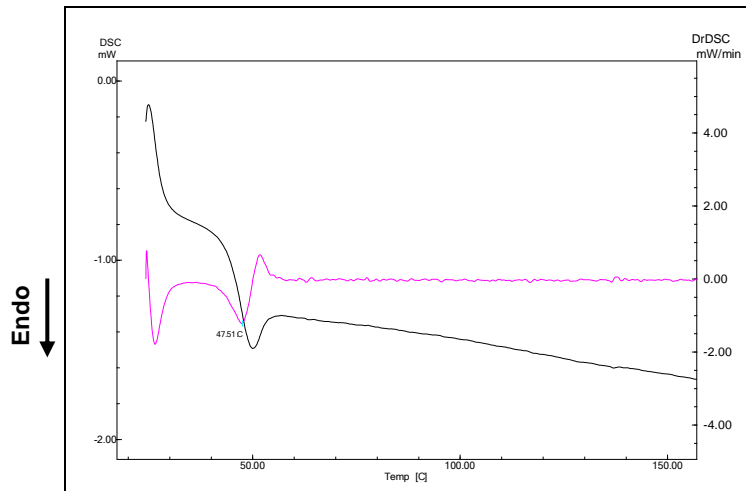


Figura A.IX.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 1.

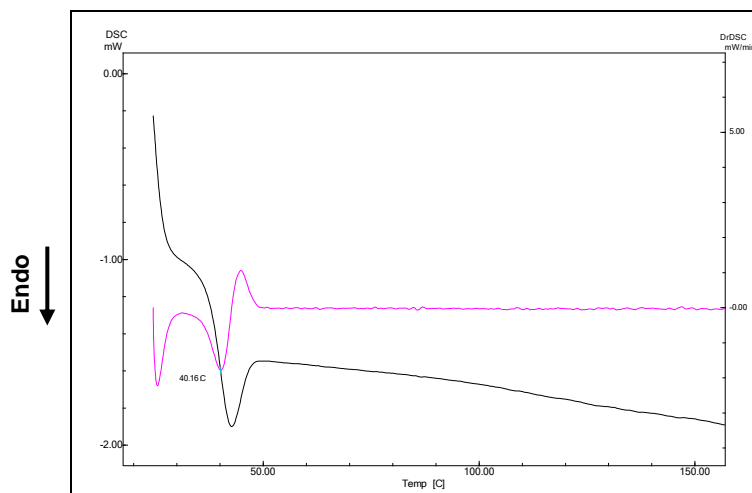


Figura A.IX.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 2.

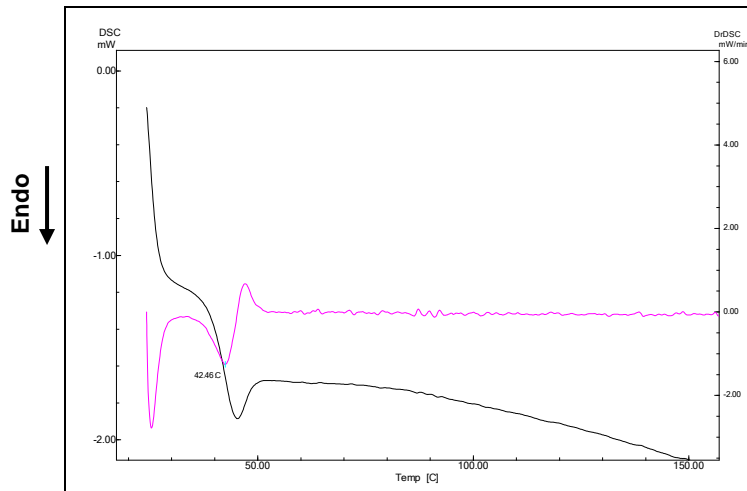


Figura A.IX.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 3.

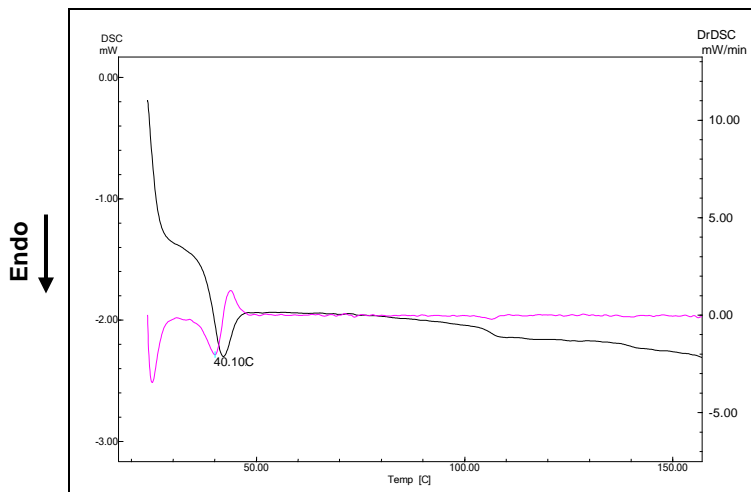


Figura A.IX.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 4.

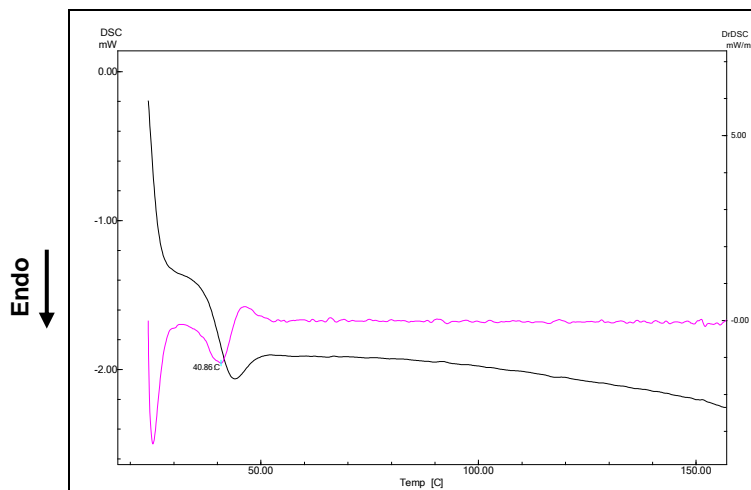


Figura A.IX.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 5.

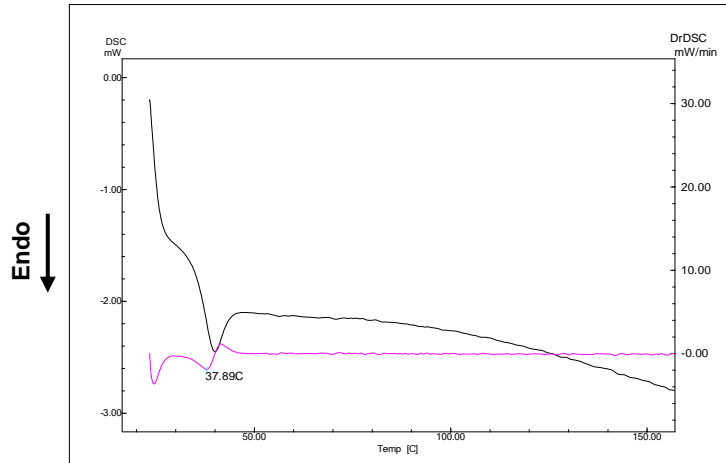


Figura A.IX.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 6.

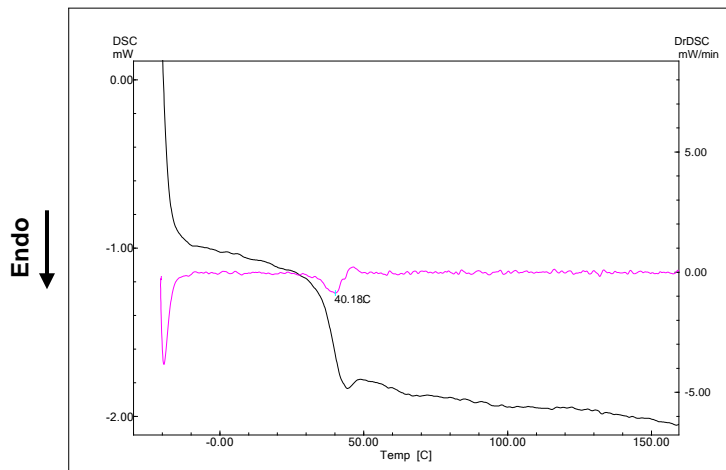


Figura A.IX.7 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 7.

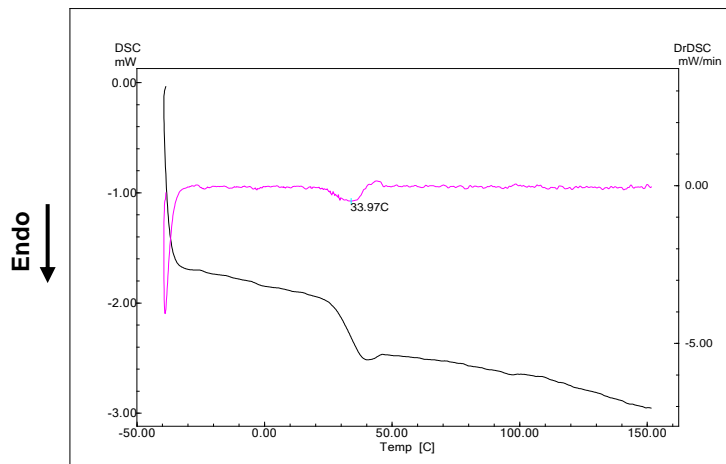


Figura A.IX.8 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 70/30, síntese 8.

**ANEXO X – CURVAS DSC E DrDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 50/50.**

As curvas DSC e as derivadas dessas curvas (DrDSC) dos copolímeros PLGA 50/50, sínteses 1 e 2, são apresentadas nas Figuras A.X.1 e A.X.2. Essas curvas referem-se à 2ª corrida.

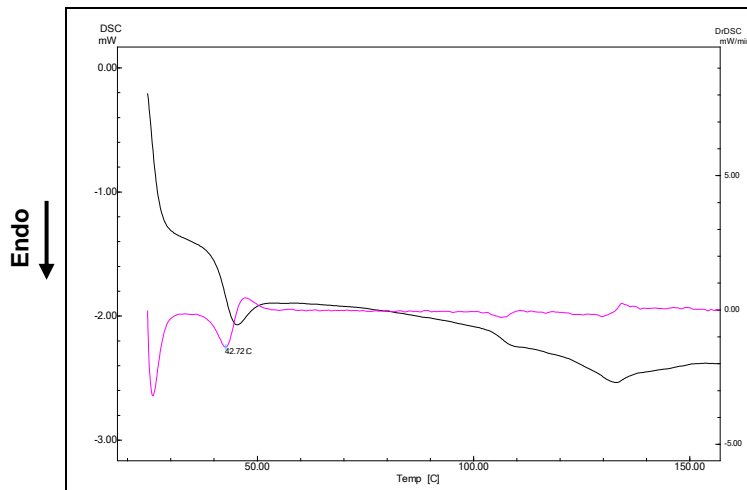


Figura A.X.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 50/50, síntese 1.

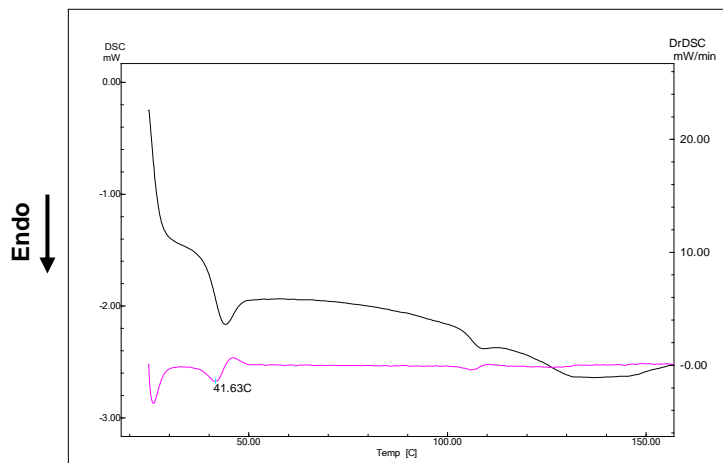


Figura A.X.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 50/50, síntese 2.

## ANEXO XI – CURVAS DSC E DRDSC DOS COPOLÍMEROS PLGA 82/18.

As curvas DSC e as derivadas dessas curvas (DrDSC) dos copolímeros PLGA 82/18, sínteses 1 a 15, são apresentadas nas Figuras A.XI.1 a A.XI.15. Essas curvas referem-se às 1ª e 2ª corridas.

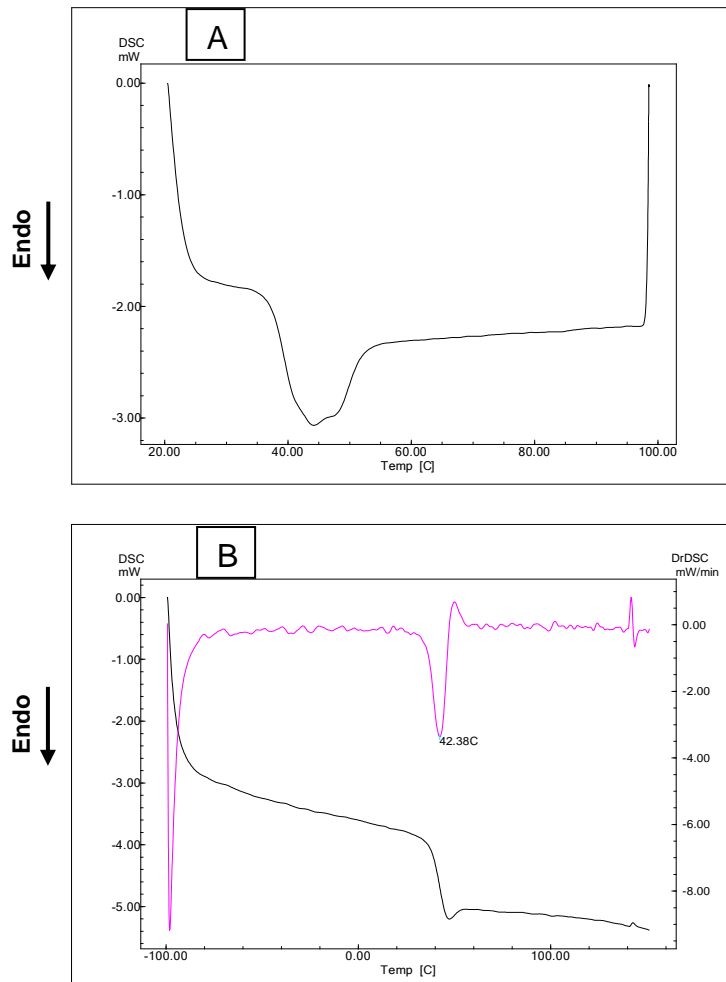


Figura A.XI.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 1.

(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida.

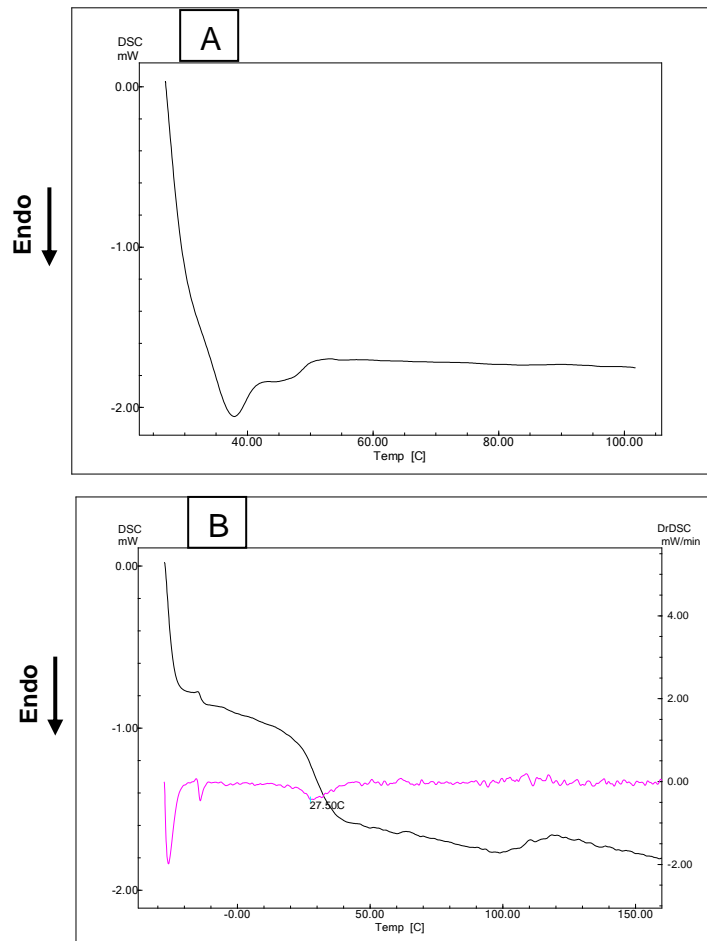


Figura A.XI.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 2.

(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida.

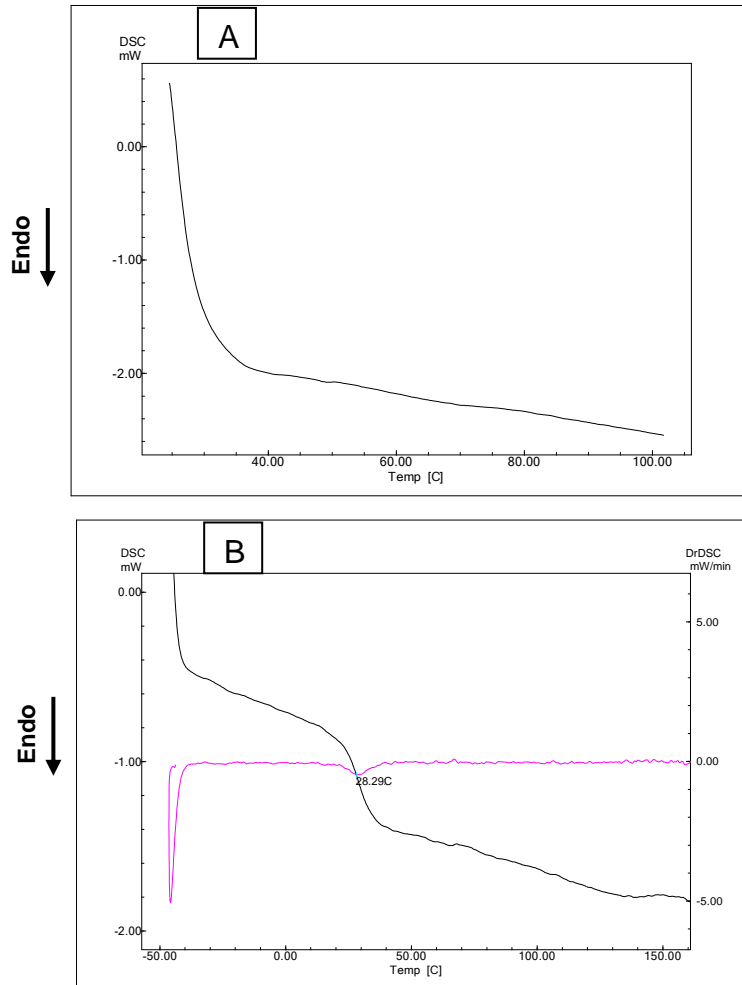


Figura A.XI.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 3.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

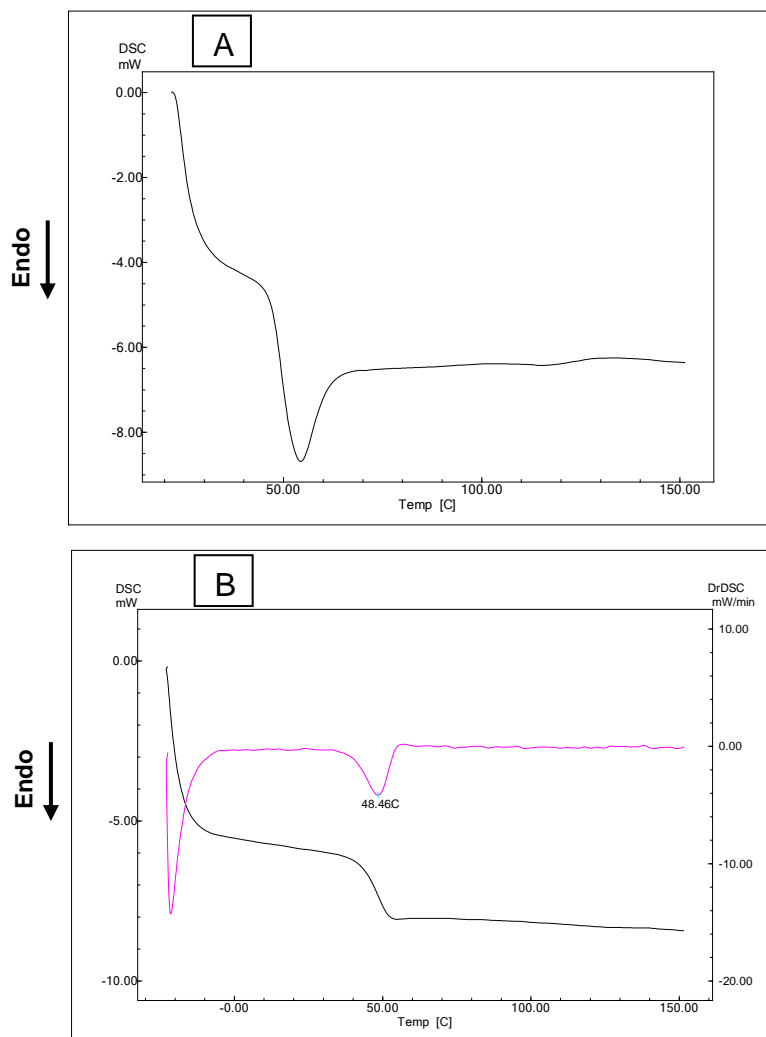


Figura A.XI.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 4.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

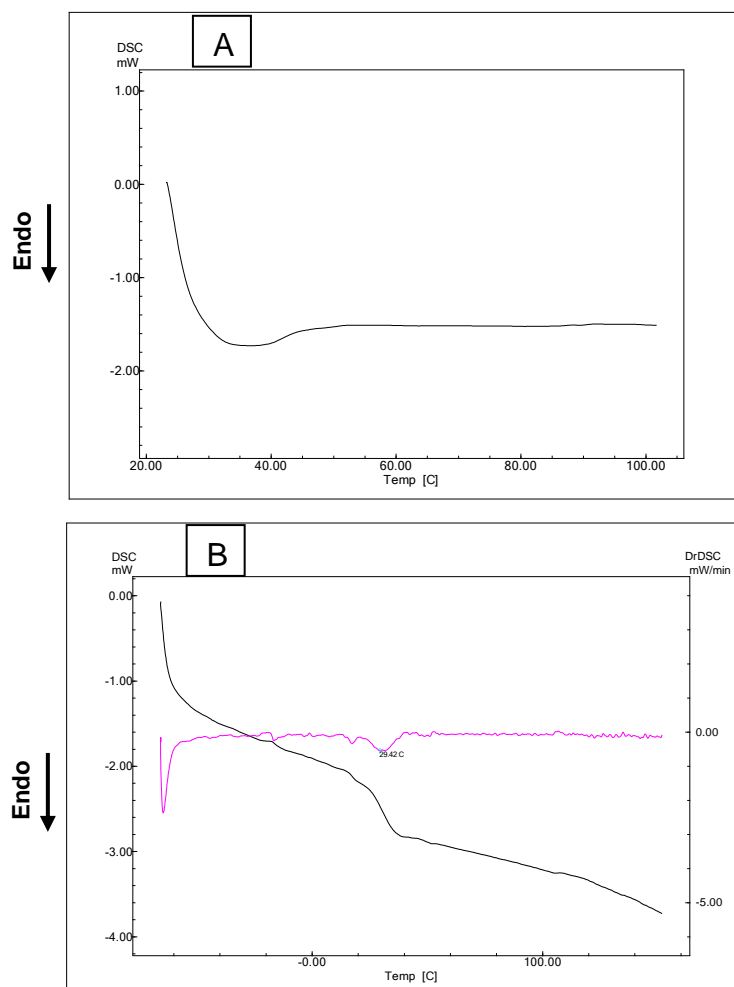


Figura A. XI.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 5.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

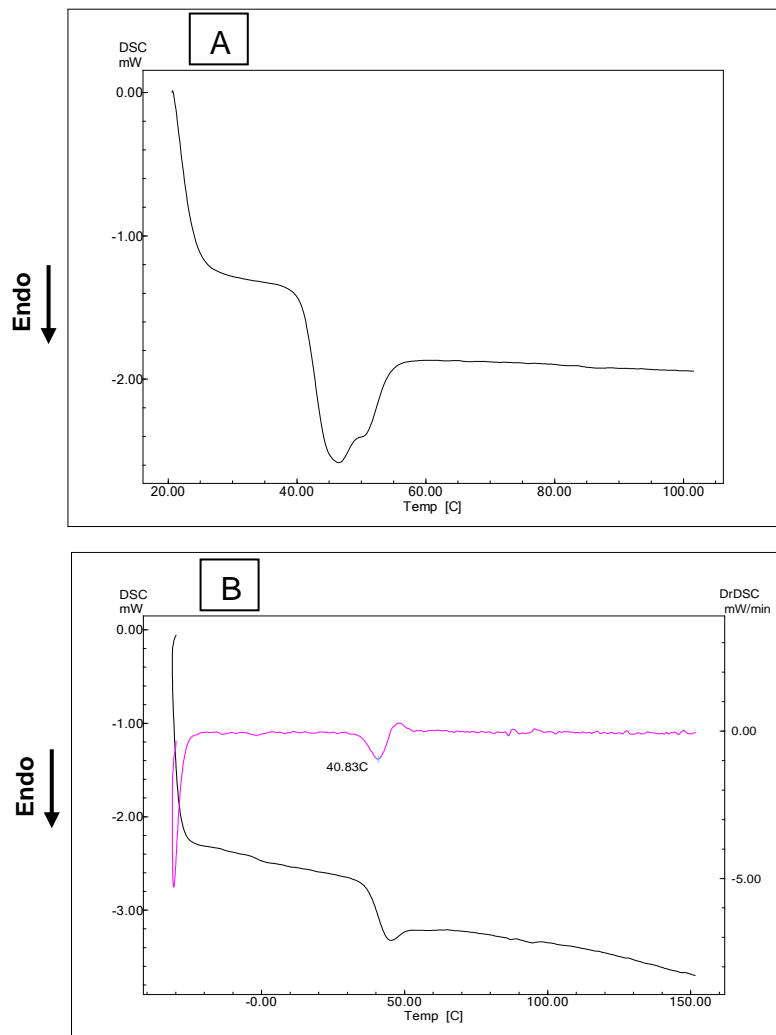


Figura A.XI.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 6.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

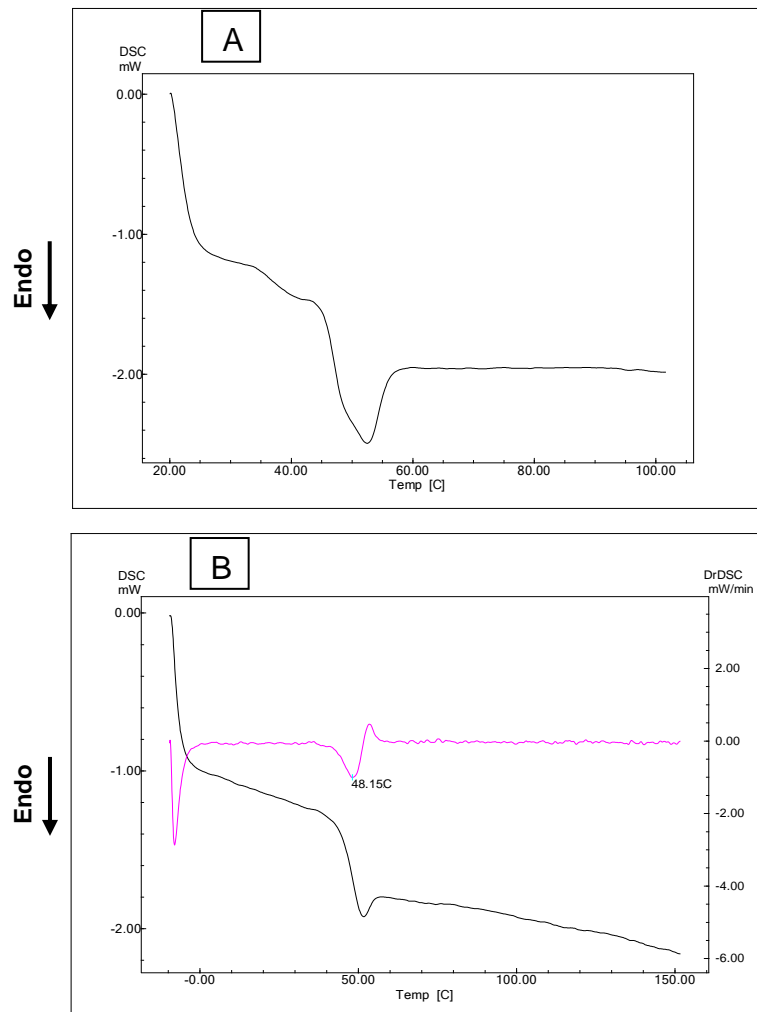


Figura A.XI.7 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 7.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

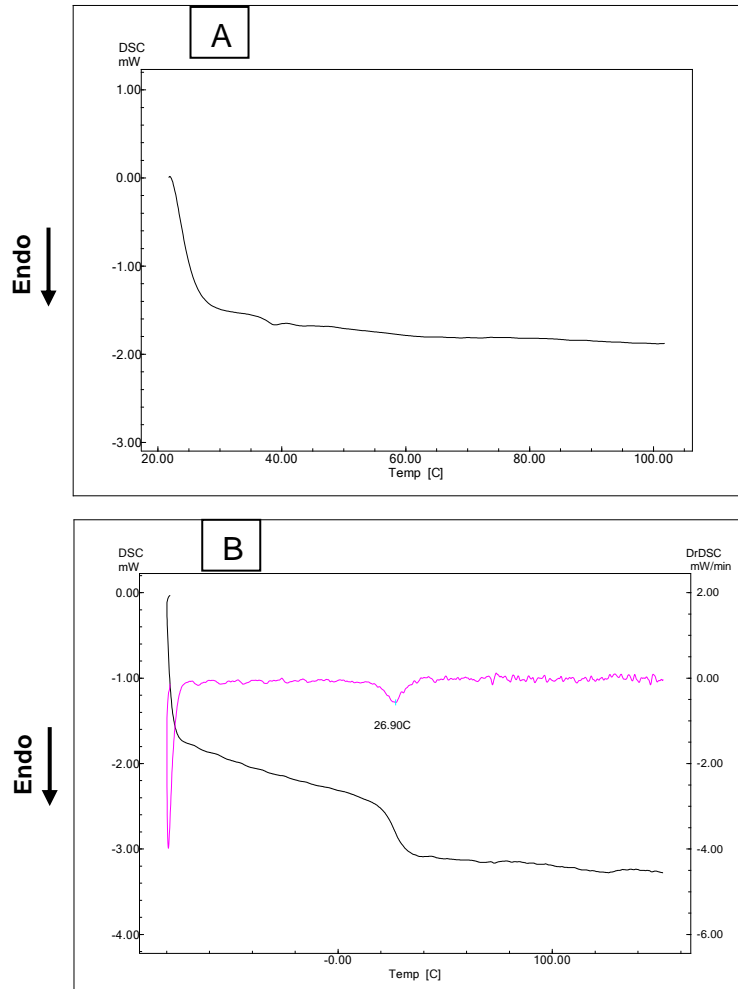


Figura A.XI.8 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 8.

(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida.

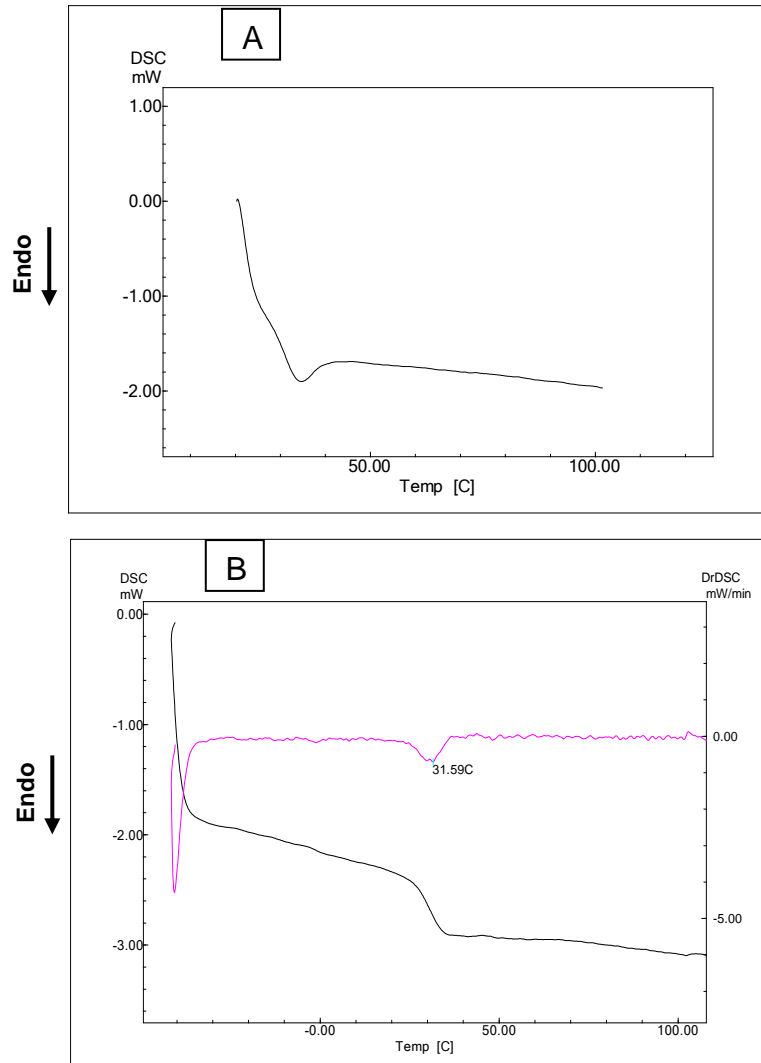


Figura A.XI.9 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 9.  
(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

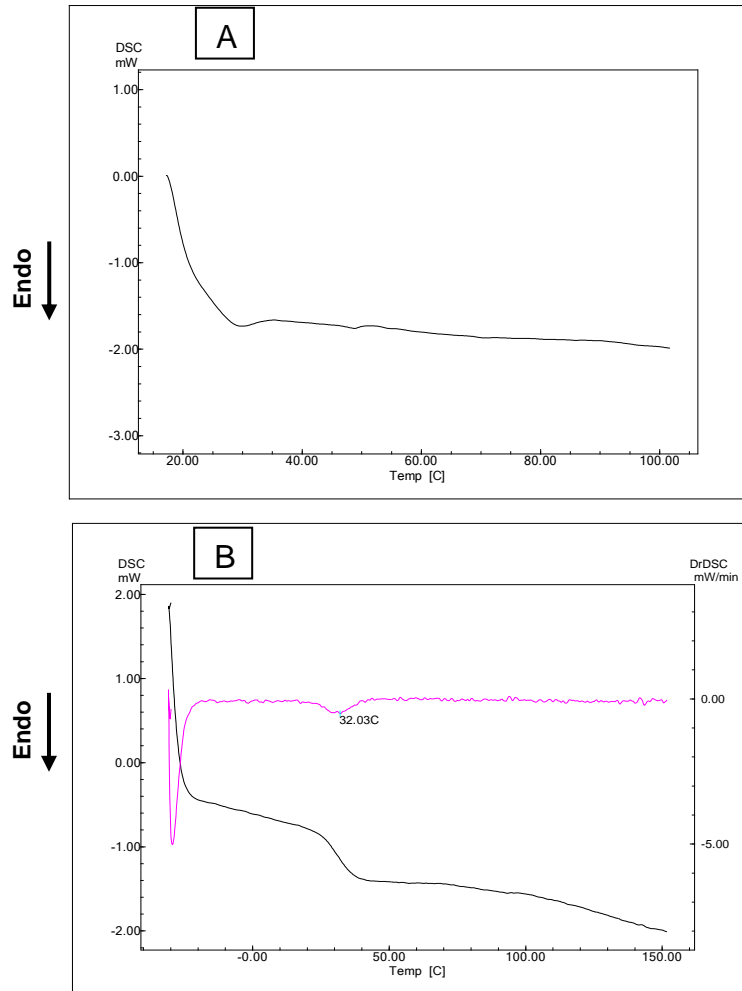


Figura A.XI.10 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 10.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

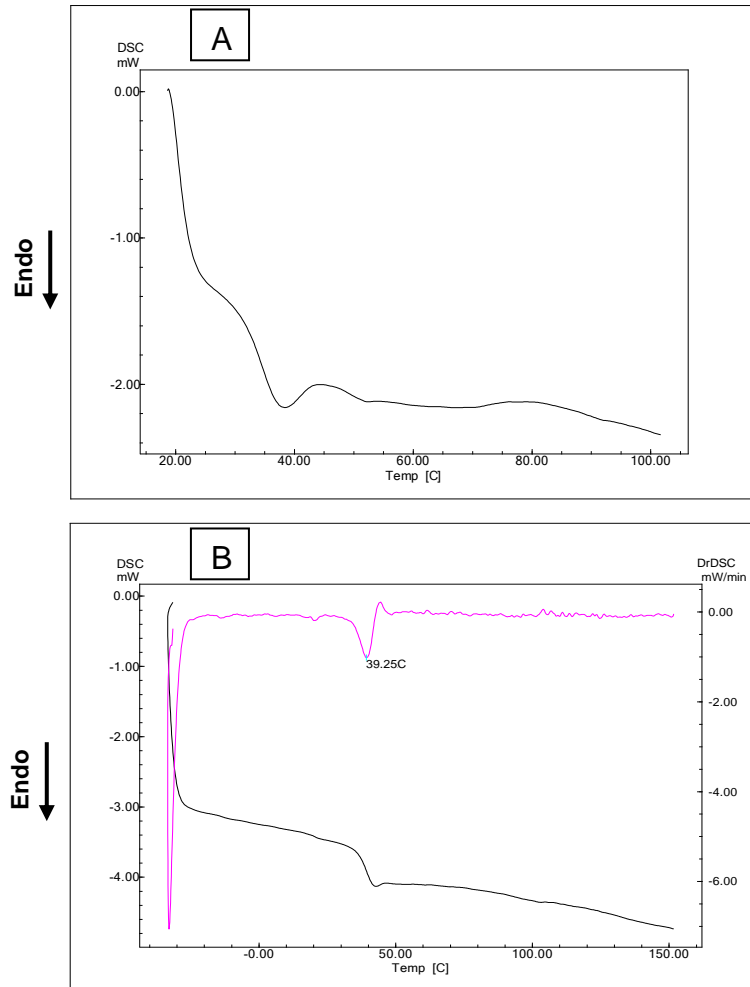


Figura A.XI.11 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 11.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

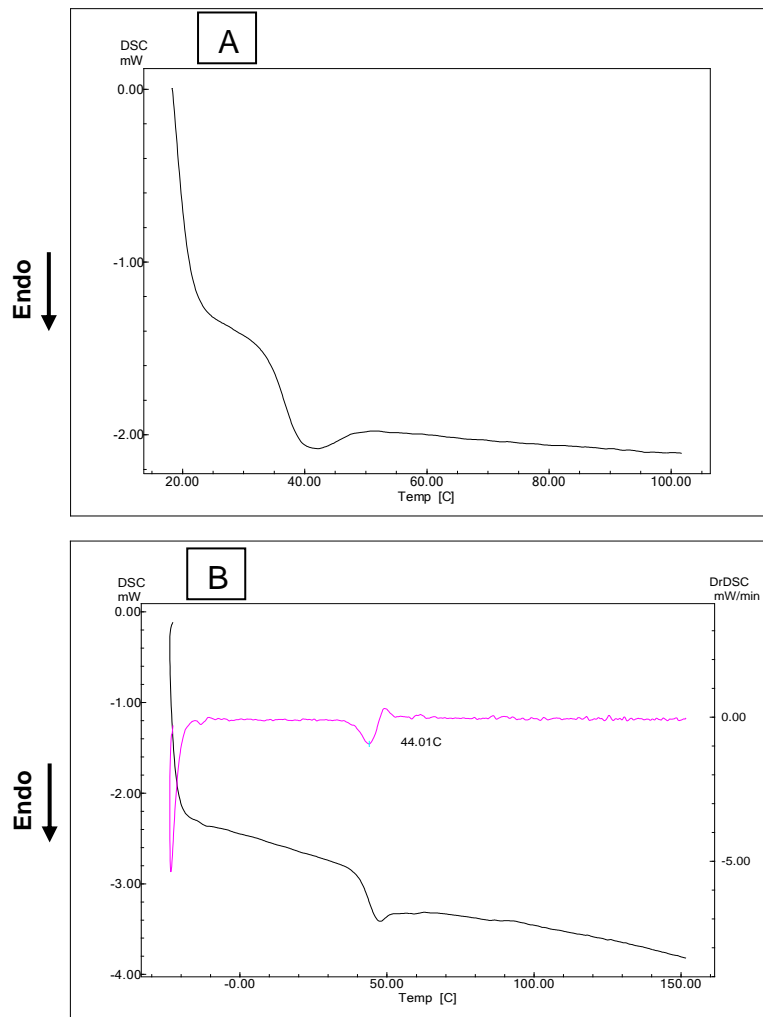


Figura A.XI.12 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 12.

(A) 1ª corrida e (B) 2ª corrida.

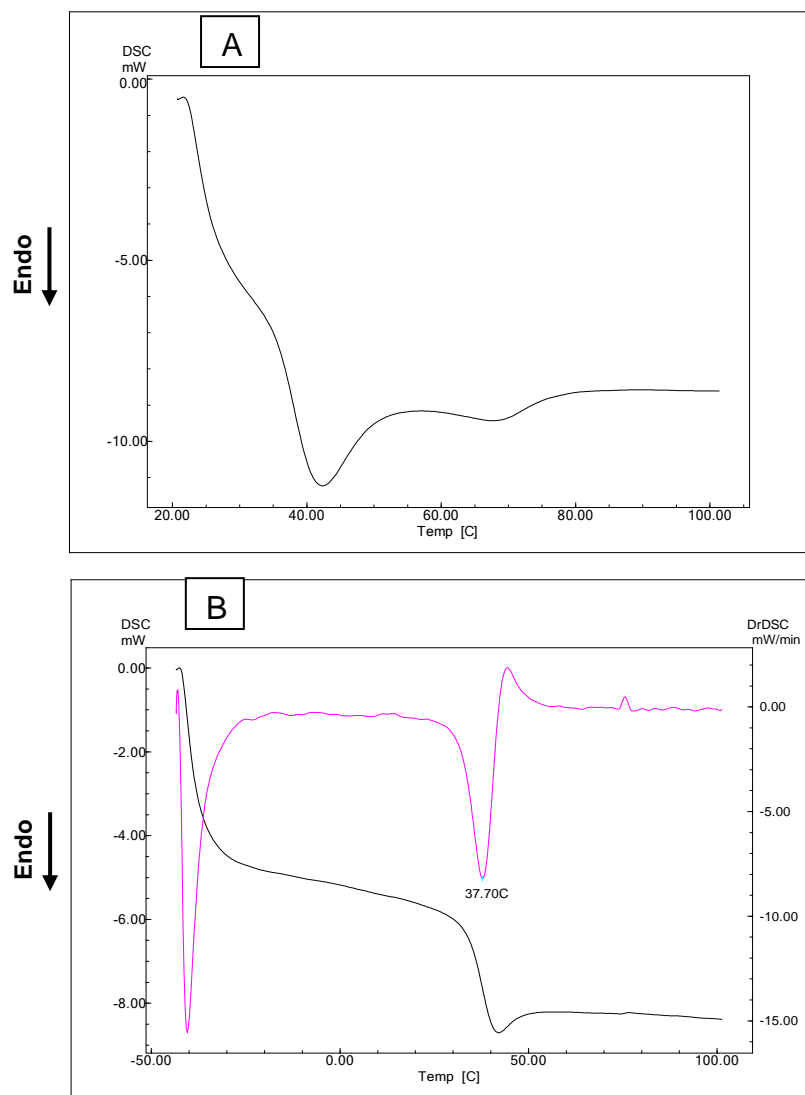


Figura A.XI.13 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 13.  
(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

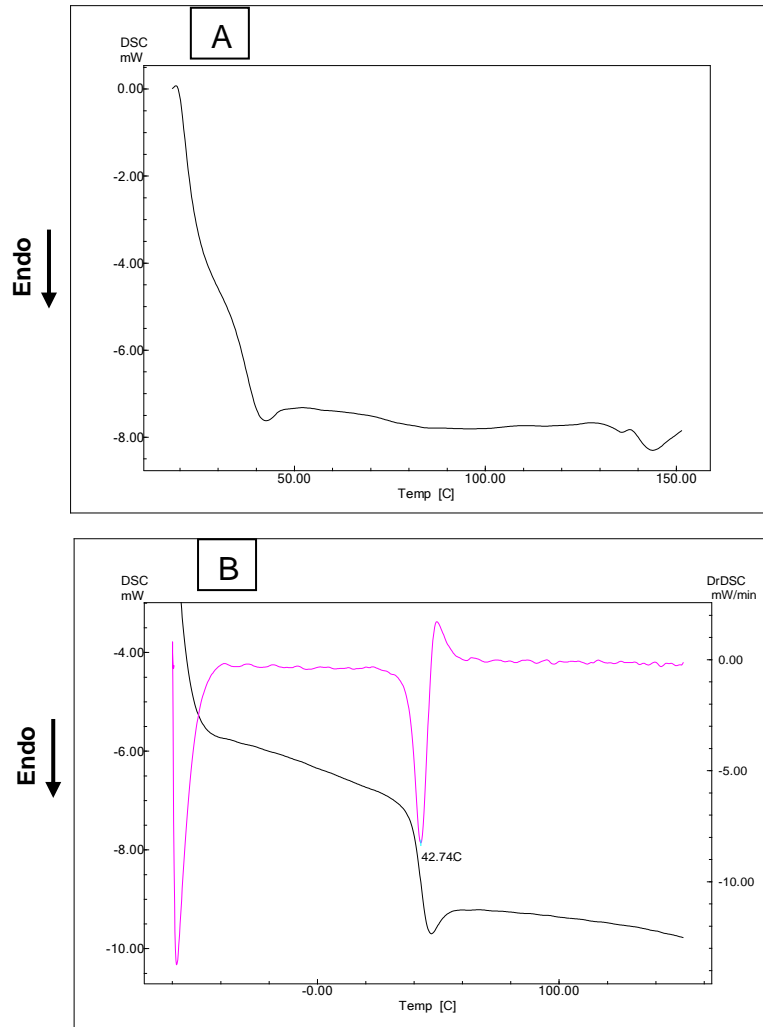


Figura A.XI.14 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 14.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

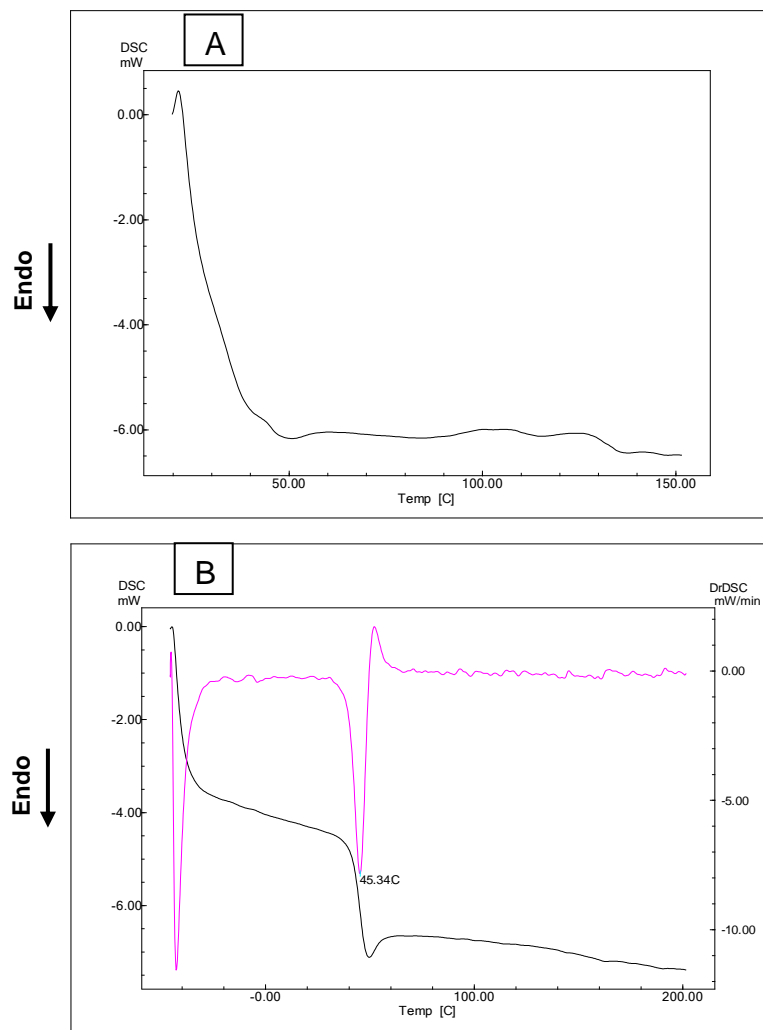


Figura A.XI.15 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15.

(A) 1<sup>a</sup> corrida e (B) 2<sup>a</sup> corrida.

## ANEXO XII - CURVAS DOS MÓDULOS ELÁSTICO ( $G'$ ) E VISCOSO ( $G''$ ) PARA OS PLGA 82/18, SÍNTESES 4 A 15.

As curvas dos módulos elástico e viscoso, obtidas para as sínteses 4 a 15 do PLGA 82/18, são apresentadas nas Figuras A.XII.1 a A.XII.12.

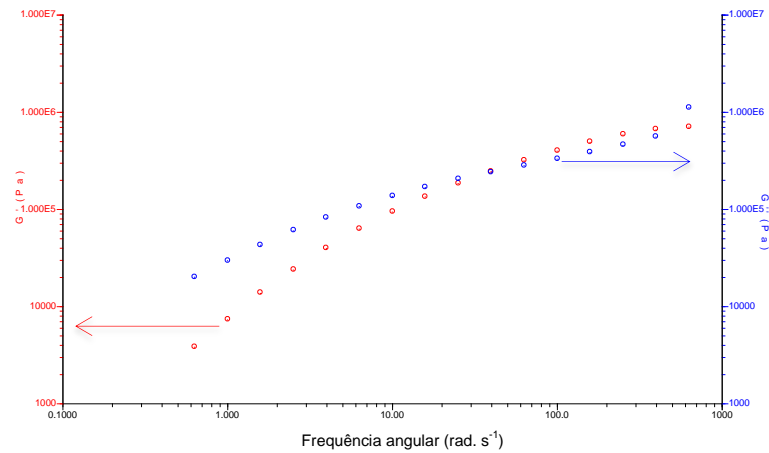


Figura A.XII.1 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 4.

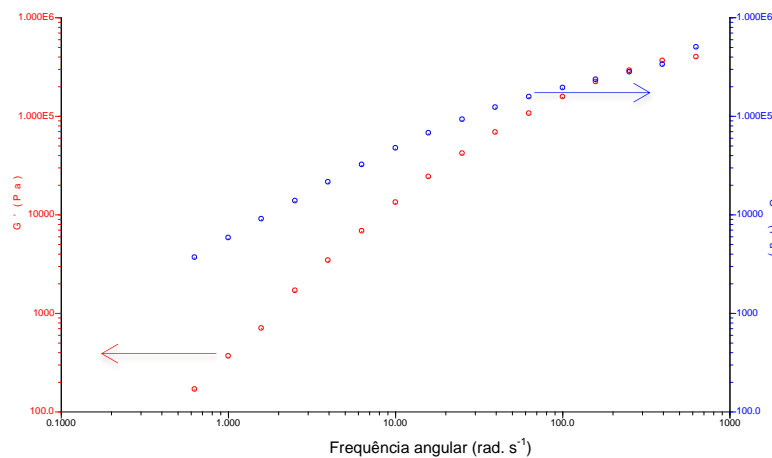


Figura A.XII.2 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 5.

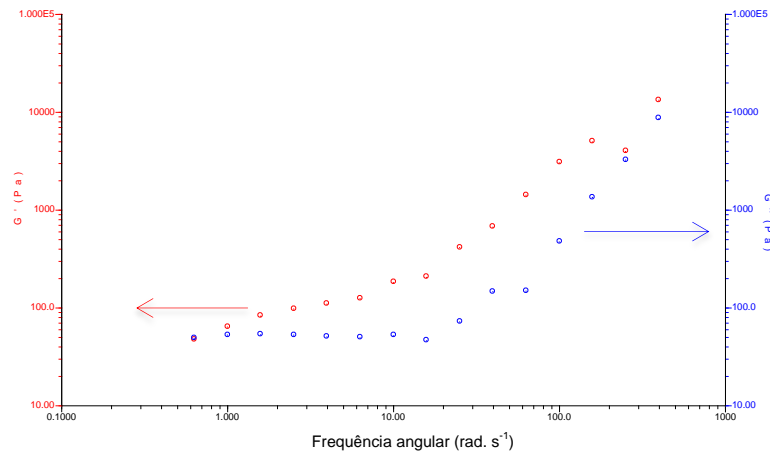


Figura A.XII.3 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 6.

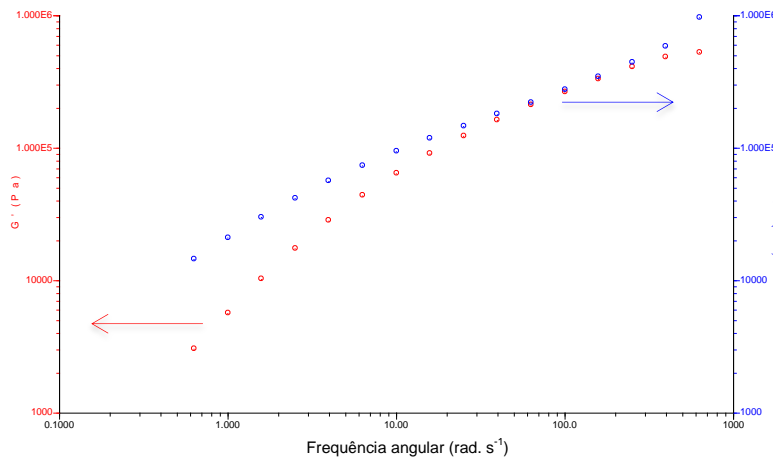


Figura A.XII.4 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 7.

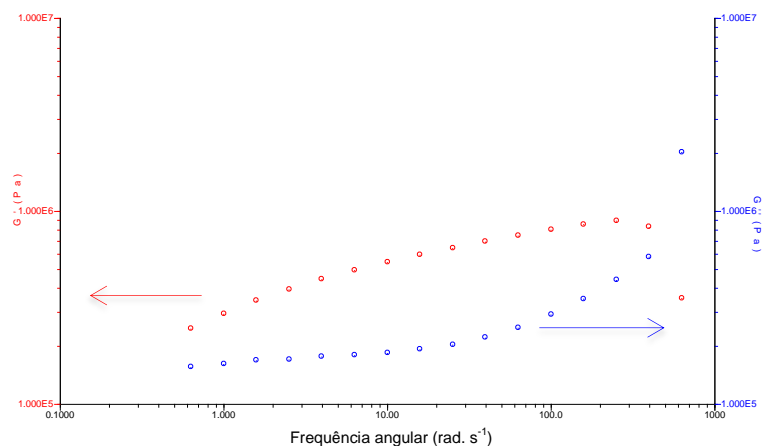


Figura A.XII.5 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 8.

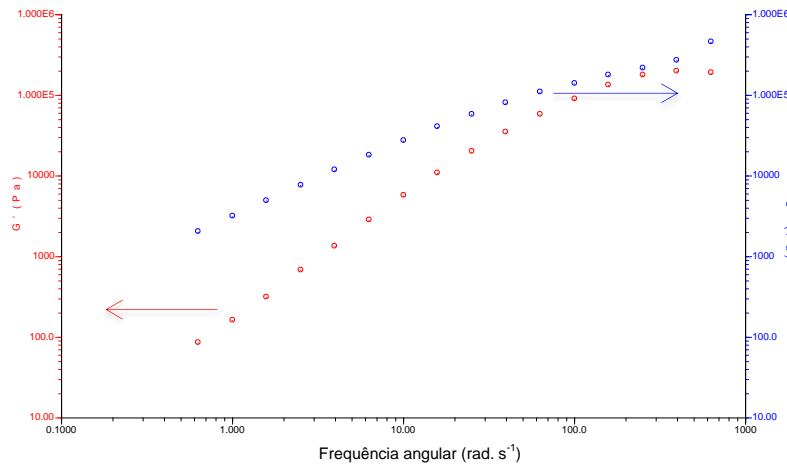


Figura A.XII.6 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 9.

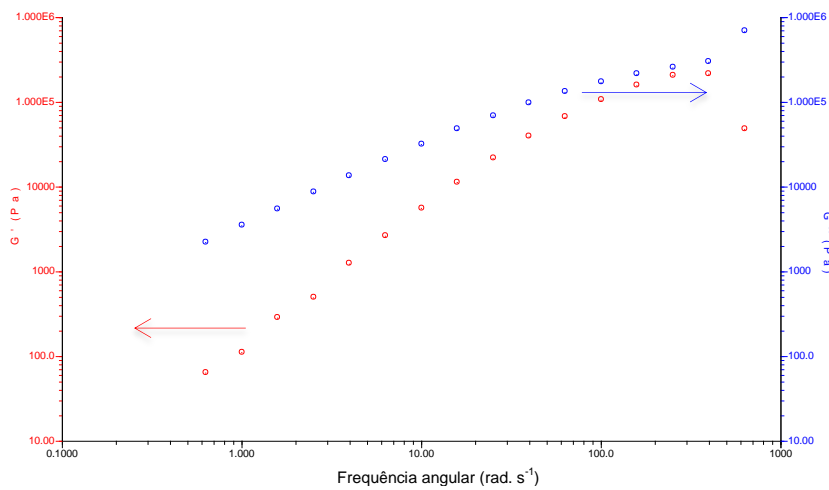


Figura A.XII.7 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 10.

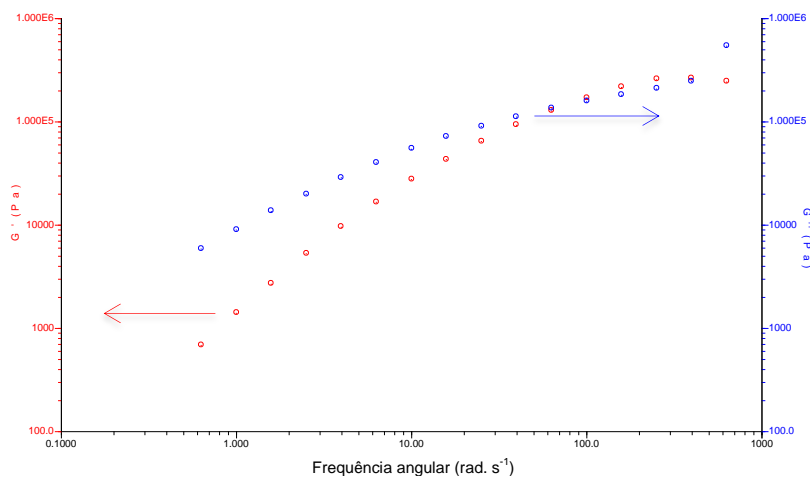


Figura A.XII.8 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 11.

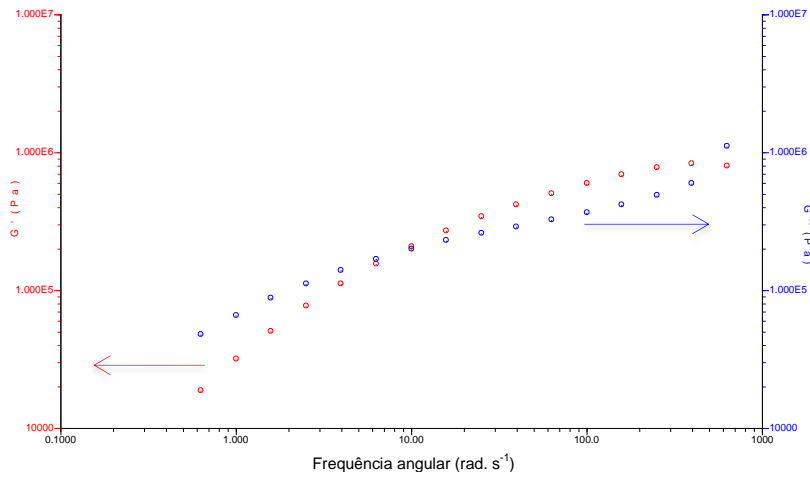


Figura A.XII.9 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 12.

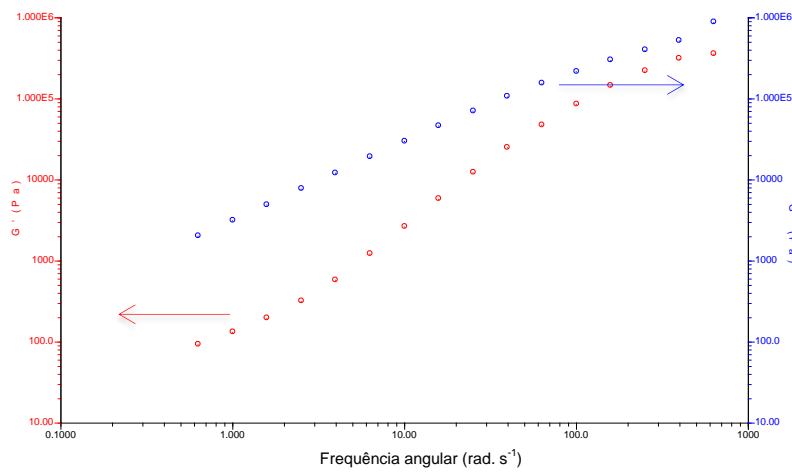


Figura A.XII.10 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 13.

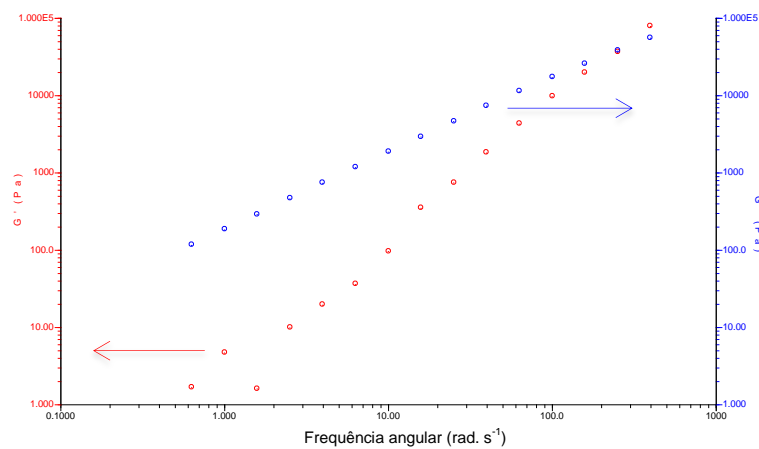


Figura A.XII.11 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 14.

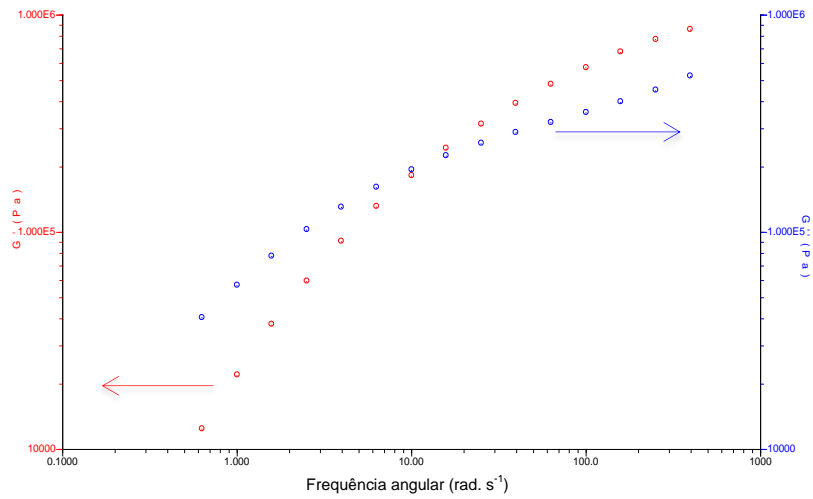


Figura A.XII.12 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência angular para o PLGA 82/18, síntese 15.

**ANEXO XIII – RESULTADOS DO ENSAIO COM O MTT**

Os resultados obtidos a partir do ensaio executado com o sal de tetrazolina (MTT) são apresentados na Tabela A.XIII.1.

Tabela A.XIII.1. – Resultado do ensaio com o MTT após 72 horas de contato.

<b>Nome da amostra</b>	<b>Viabilidade Celular (%)</b>
Controle	100,00 ± 1,00
Controle +	1,67 ± 1,15
Controle -	98,00 ± 2,65
PLGA 15-M	110,00 ± 4,73
PLGA 15	115,00 ± 22,27
PLGA 15-At	85,00 ± 11,27

**ANEXO XIV – ESPECTROS FTIR DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDOS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO***

Os espectros FTIR para as amostras, 1 a 6, do PLGA 82/18, síntese 15, em triplicata, que participaram do estudo de degradação hidrolítica, são apresentados nas Figuras A.XIV.1 a A.XIV.6. Durante o estudo de degradação ocorreu a perda de uma das amostras 5, portanto, não existe o espectro FTIR para essa amostra.

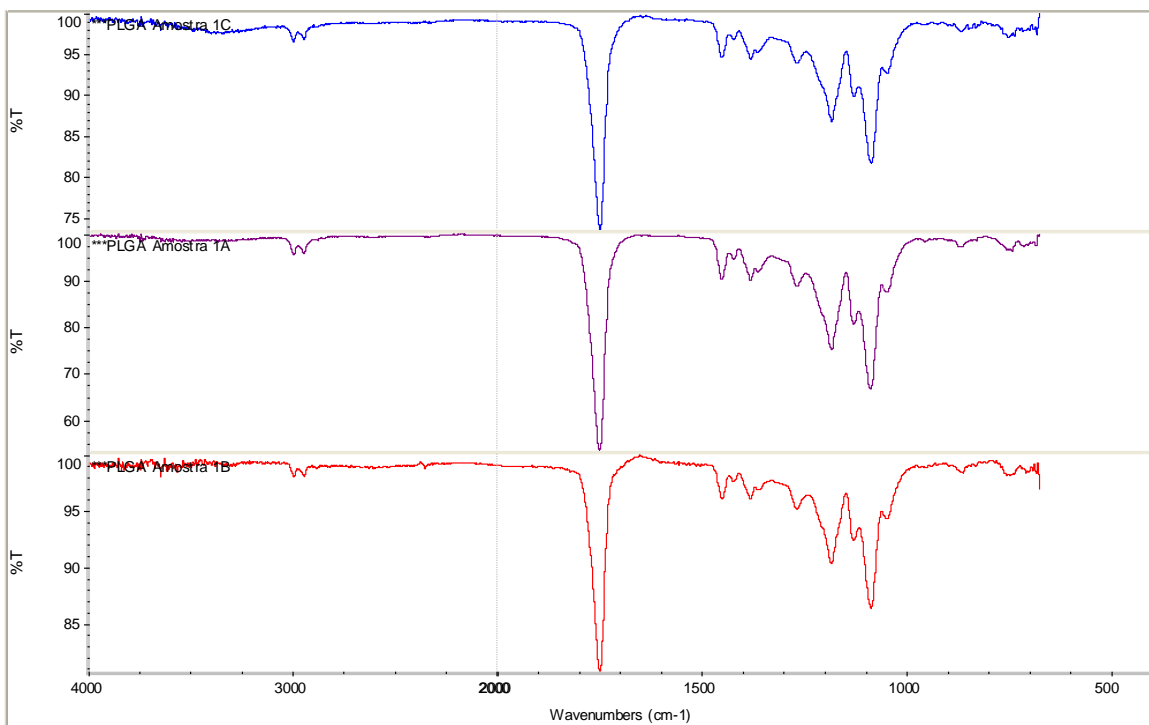


Figura A.XIV.1 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 1 (A, B e C).

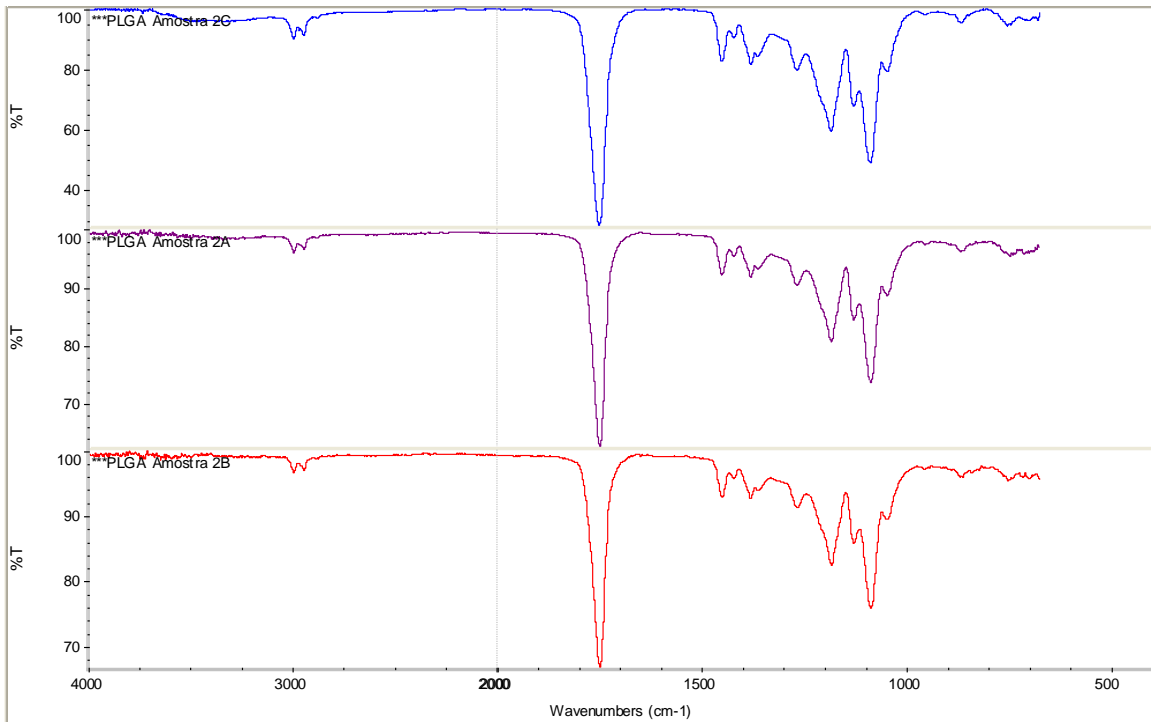


Figura A.XIV.2 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 2 (A, B e C).

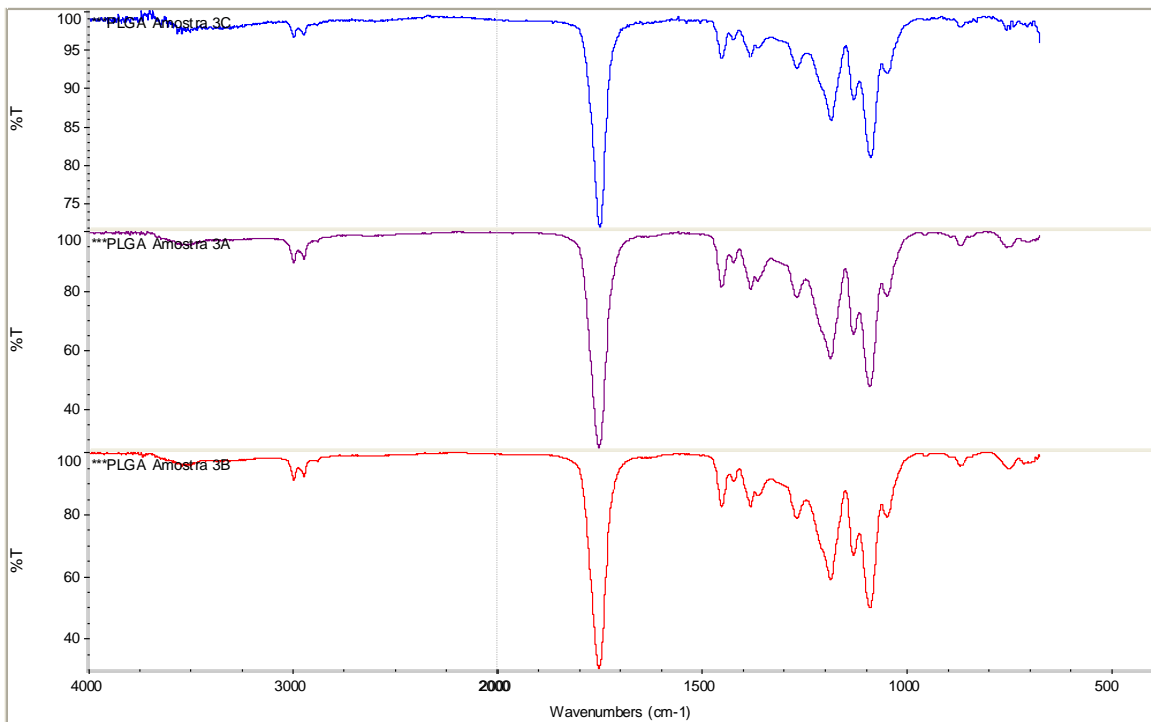


Figura A.XIV.3 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 3 (A, B e C).

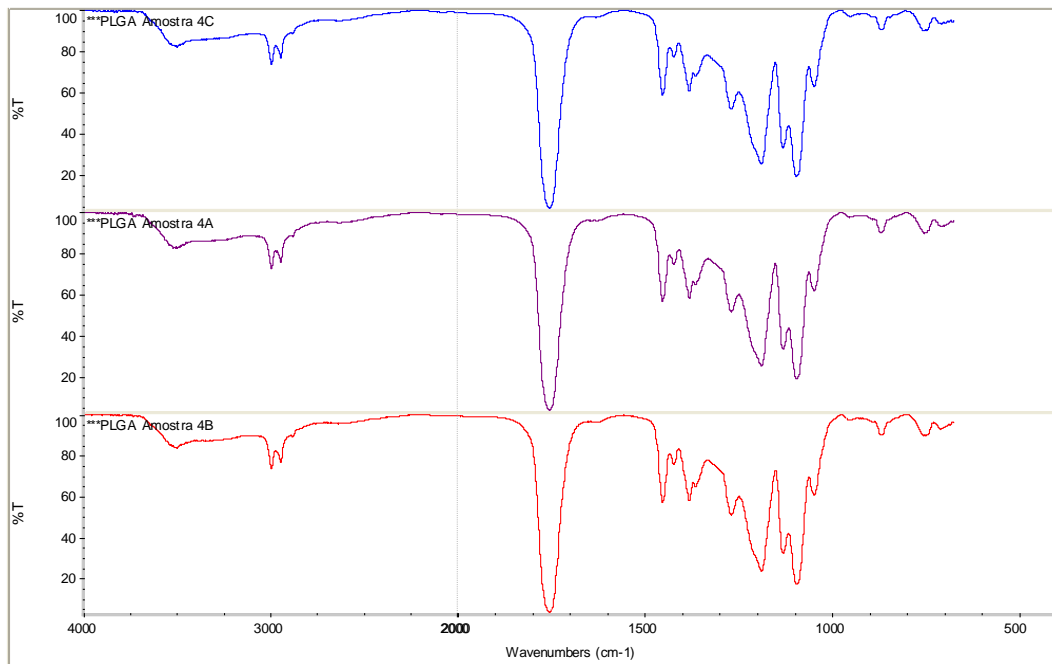


Figura A.XIV.4 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 4 (A, B e C).

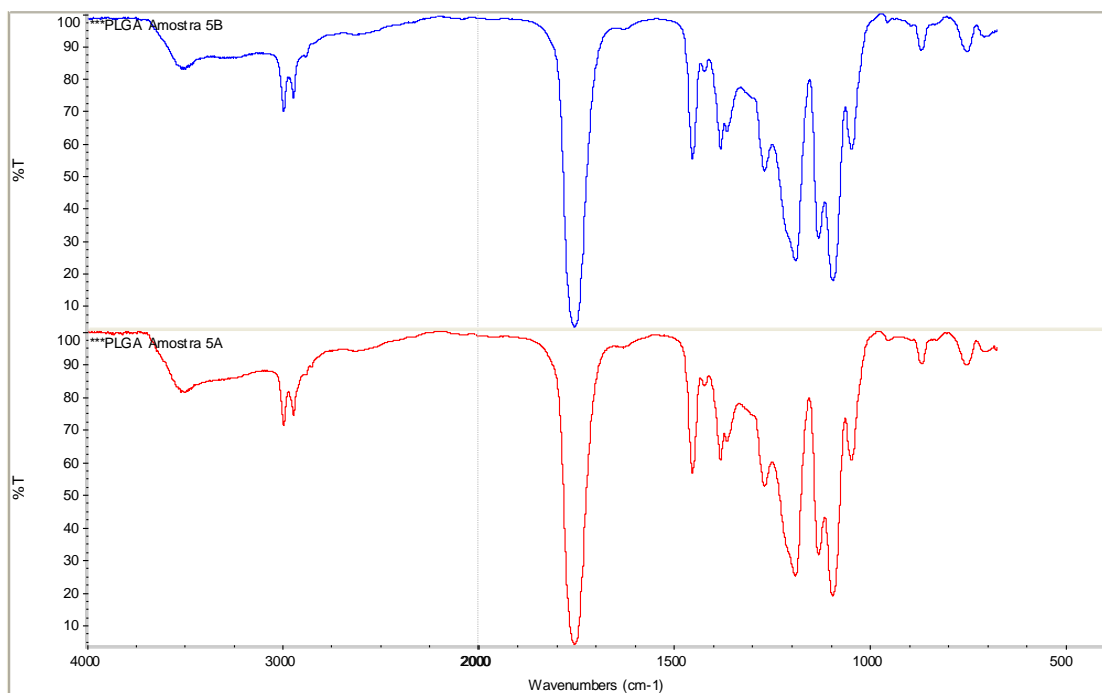


Figura A.XIV.5 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 5 (A e B).

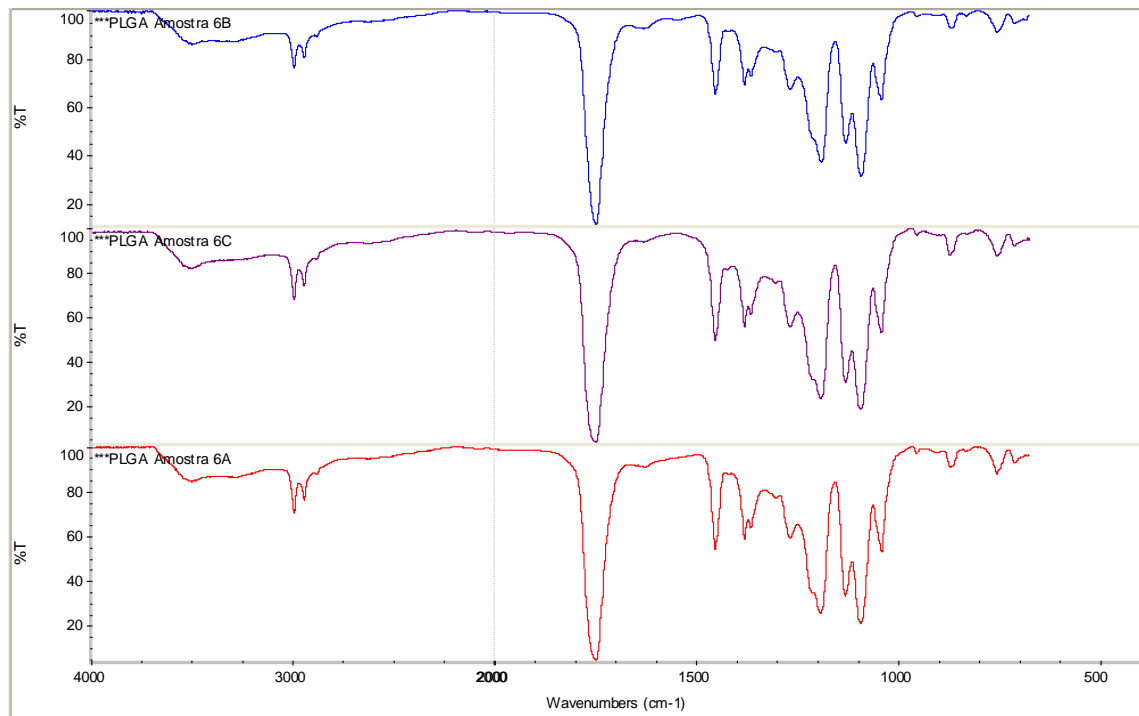


Figura A.XIV.6 - Espectros FTIR do PLGA 82/18, amostra 6 (A, B e C).

**ANEXO XV – CURVAS TG E DrTG DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO***

As curvas TG e DrTG para as amostras, 1 a 6, do PLGA 82/18, síntese 15, em triplicata, que participaram do estudo de degradação hidrolítica, são apresentadas nas Figuras A.XV.1 a A.XV.6. Devido à perda de uma das amostras 5, para essa amostra os ensaios foram em duplicata.

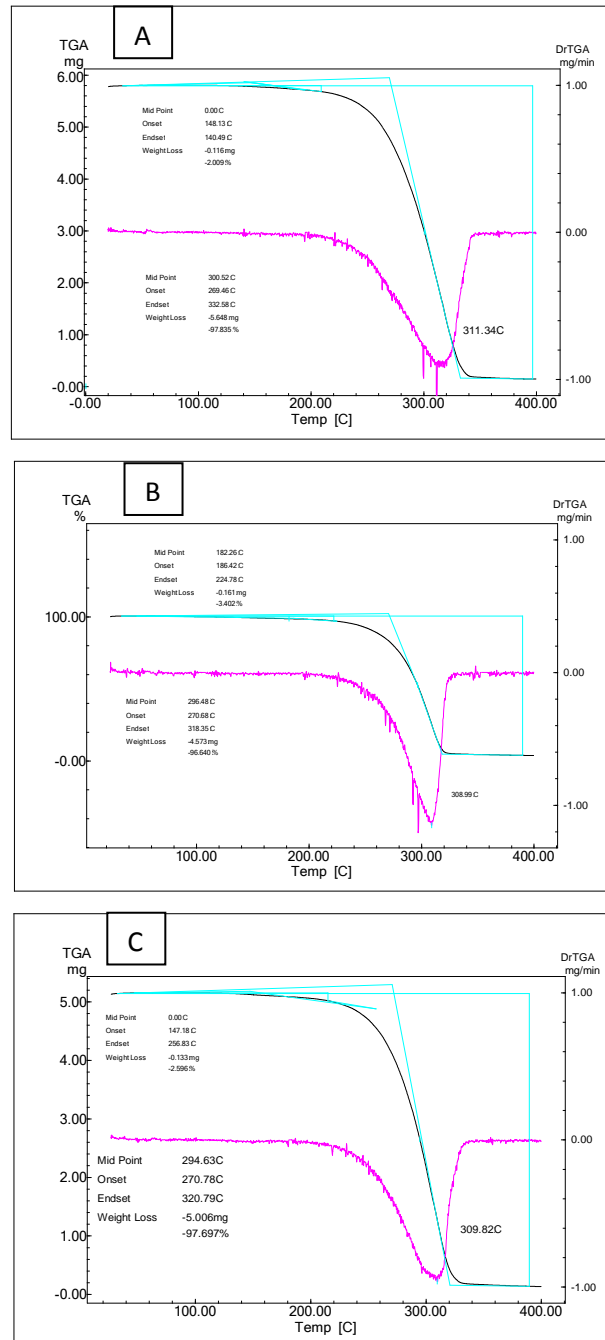


Figura A.XV.1 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1 (A, B e C).

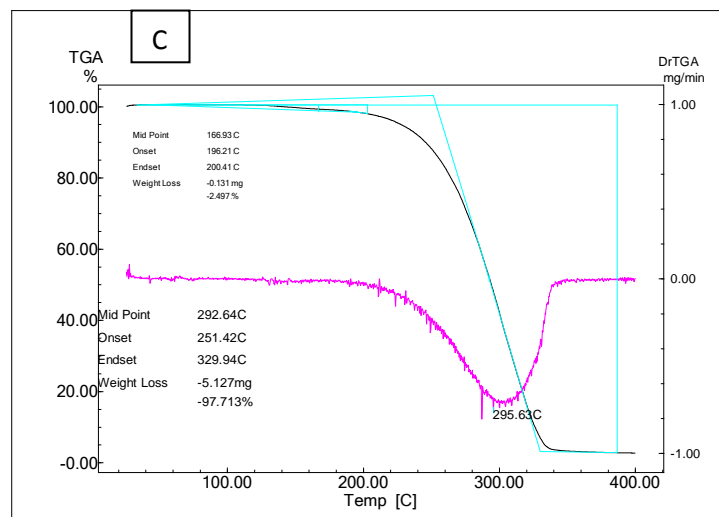
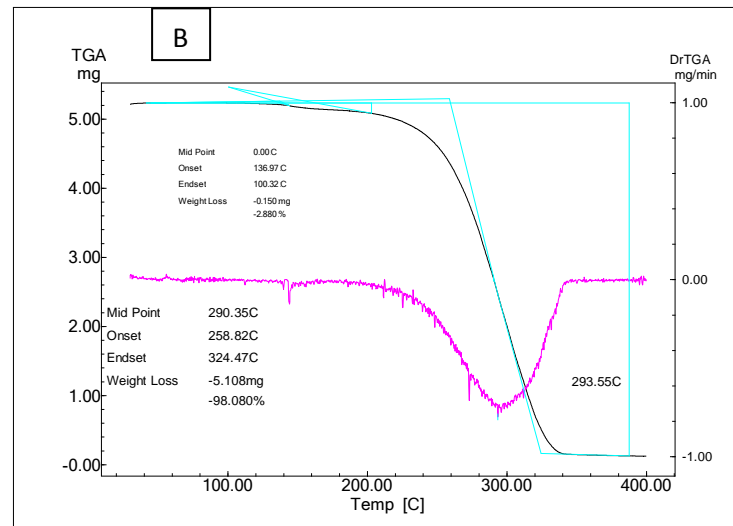
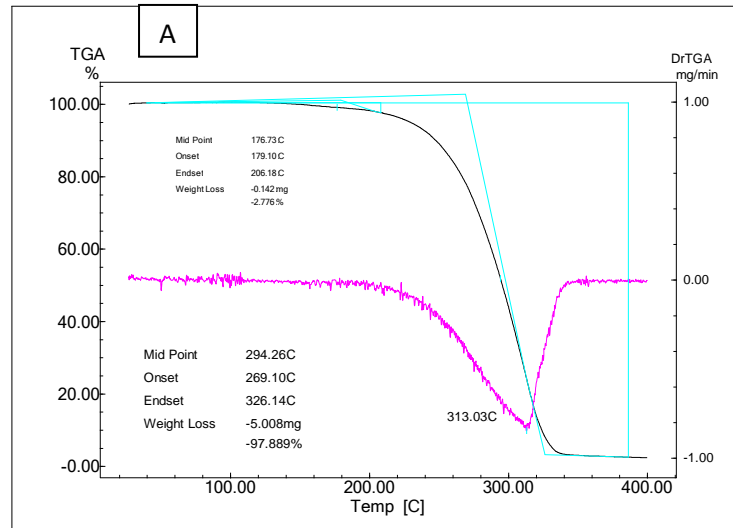


Figura A.XV.2 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2 (A, B e C).

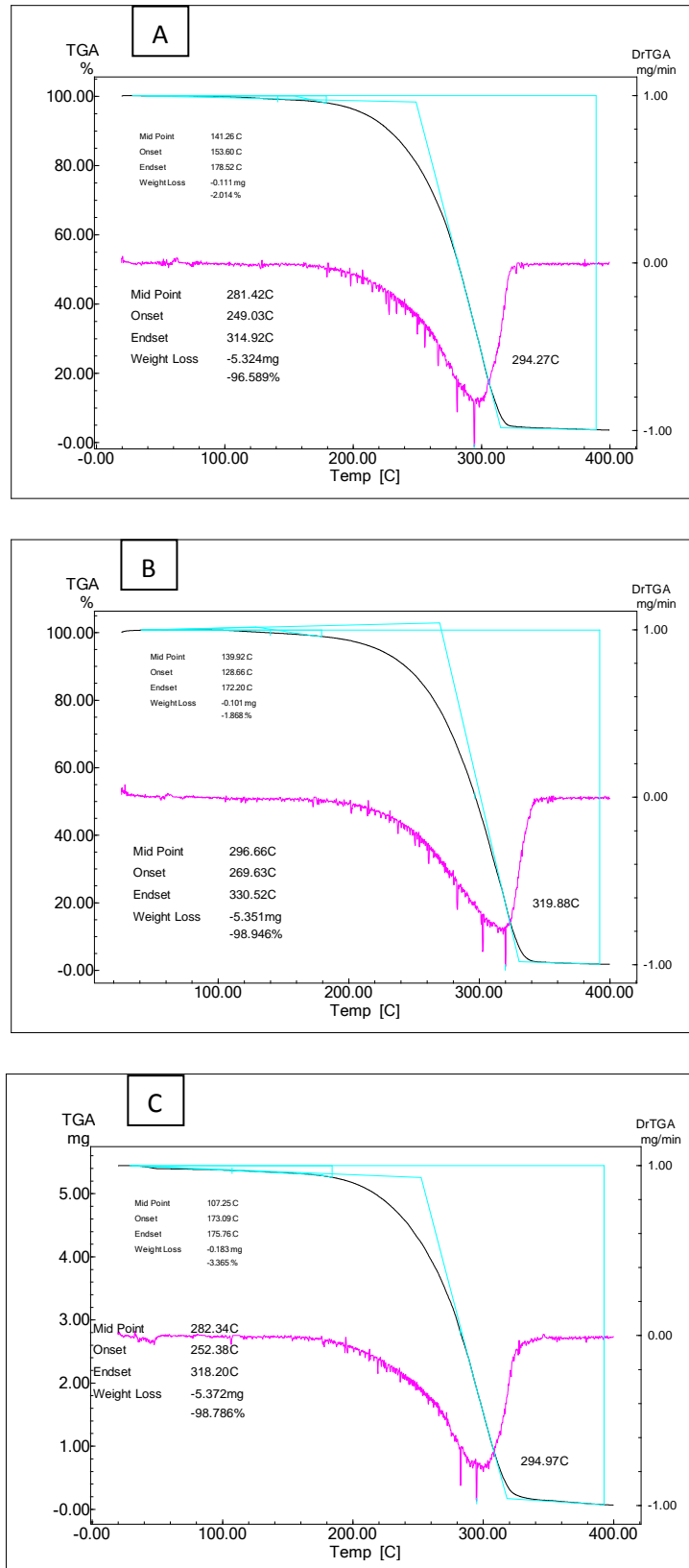


Figura A.XV.3 - Curvas TG e DWTG para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3 (A, B e C).

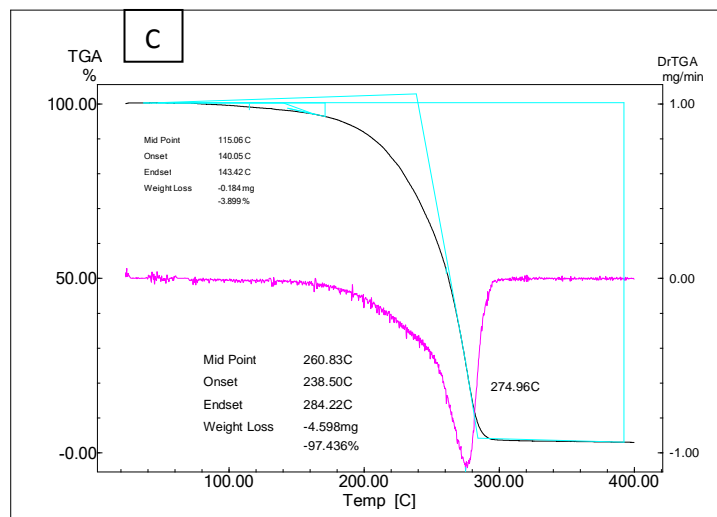
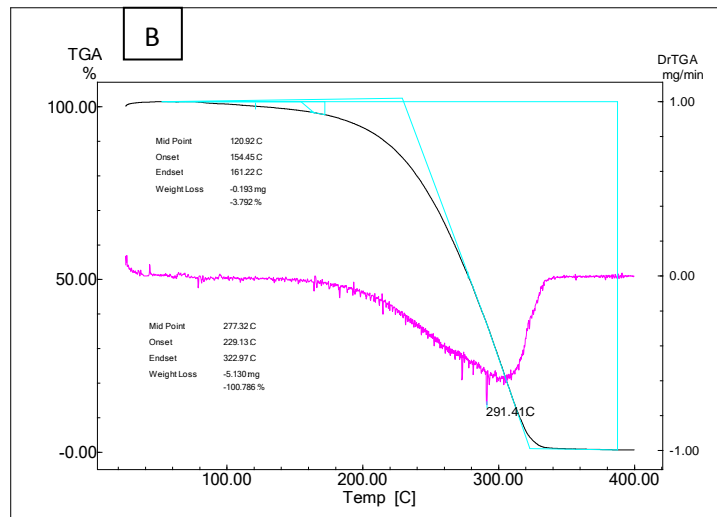
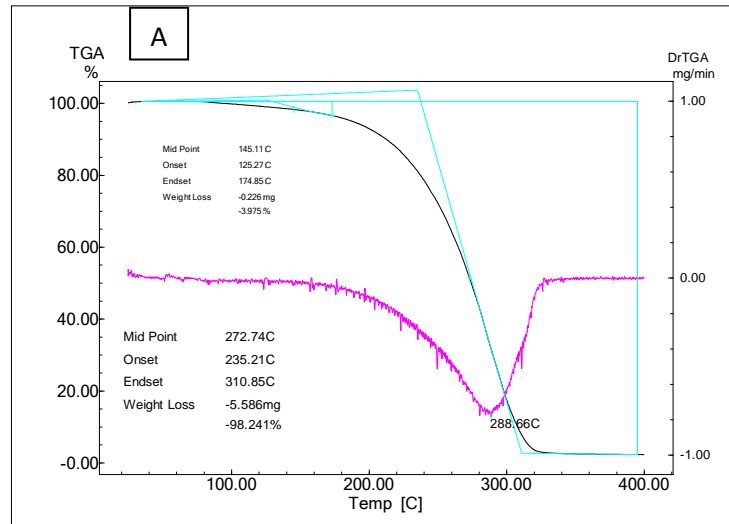


Figura A.XV.4 - Curvas TG e DSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 4 (A, B e C).

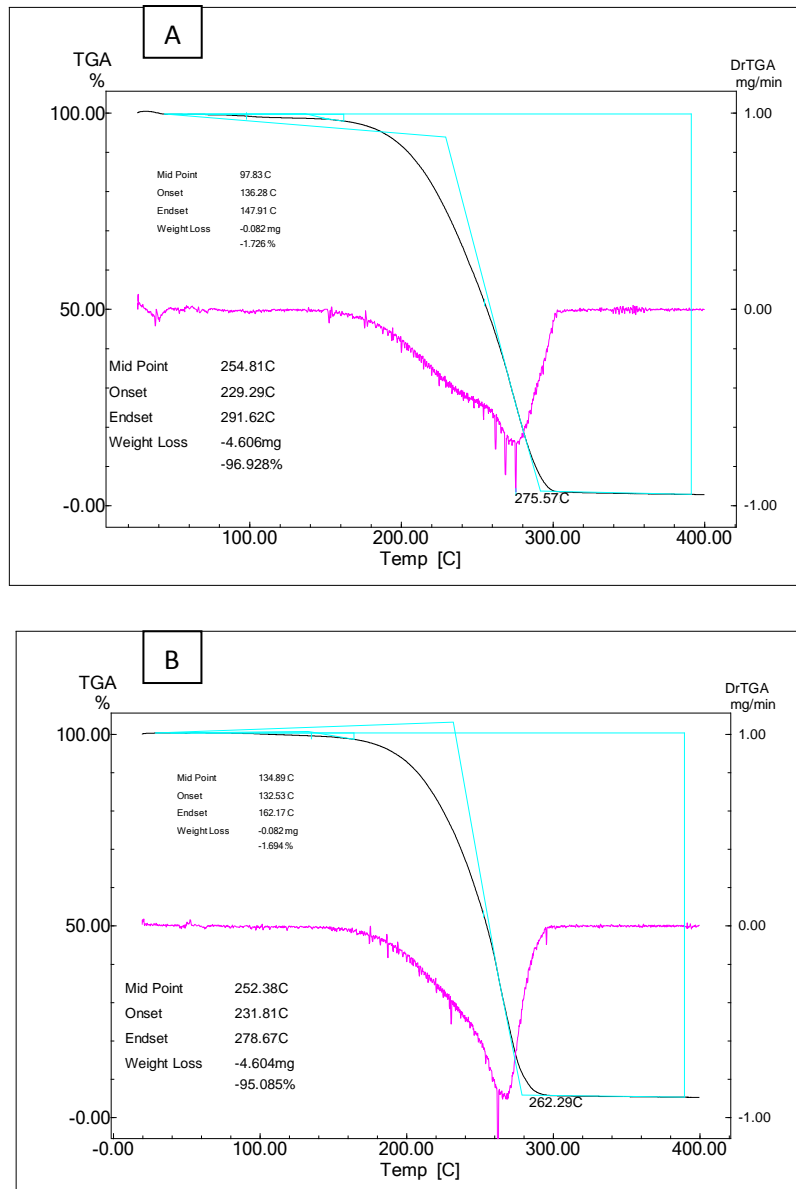


Figura A.XV.5 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 5 (A e B).

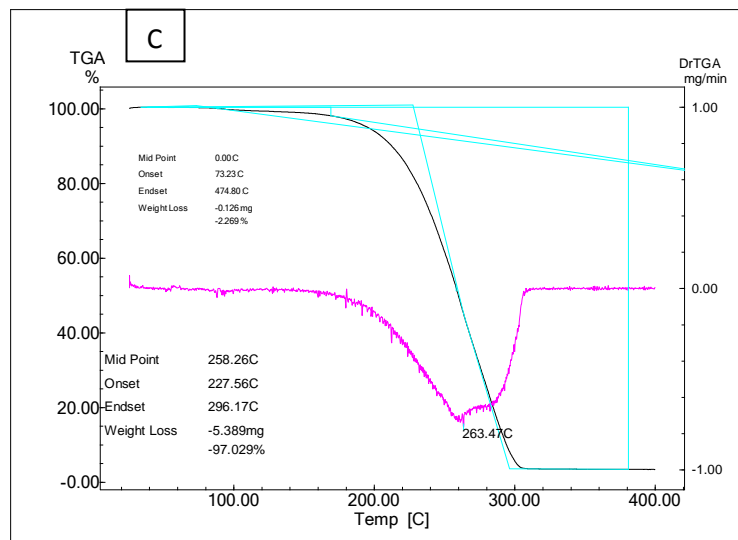
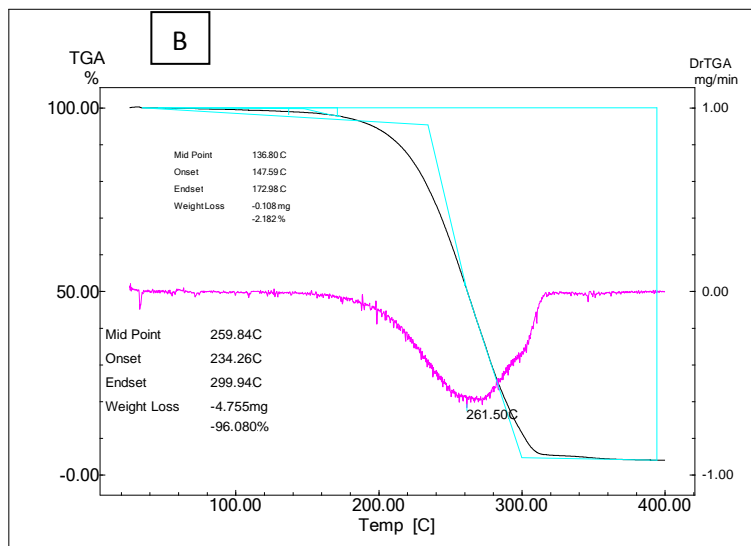
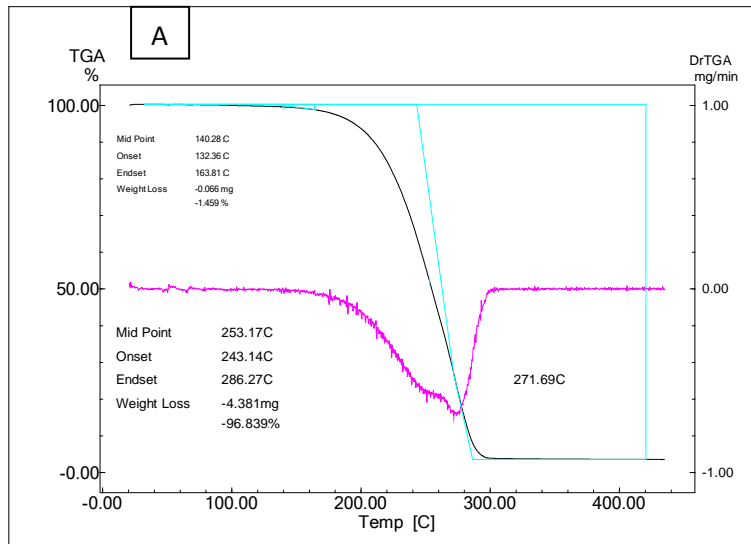


Figura A.XV.6 - Curvas TG e DrTG para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 6 (A, B e C).

**ANEXO XVI – CURVAS DSC E DrDSC DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO***

As curvas DSC e DrDSC para as amostras, 1 a 6, do PLGA 82/18, síntese 15, em triplicata, que participaram do estudo de degradação hidrolítica, são apresentadas nas Figuras A.XVI.1 a A.XVI.6. Devido à perda de uma das amostras 5, para essa amostra os ensaios foram em duplicata.

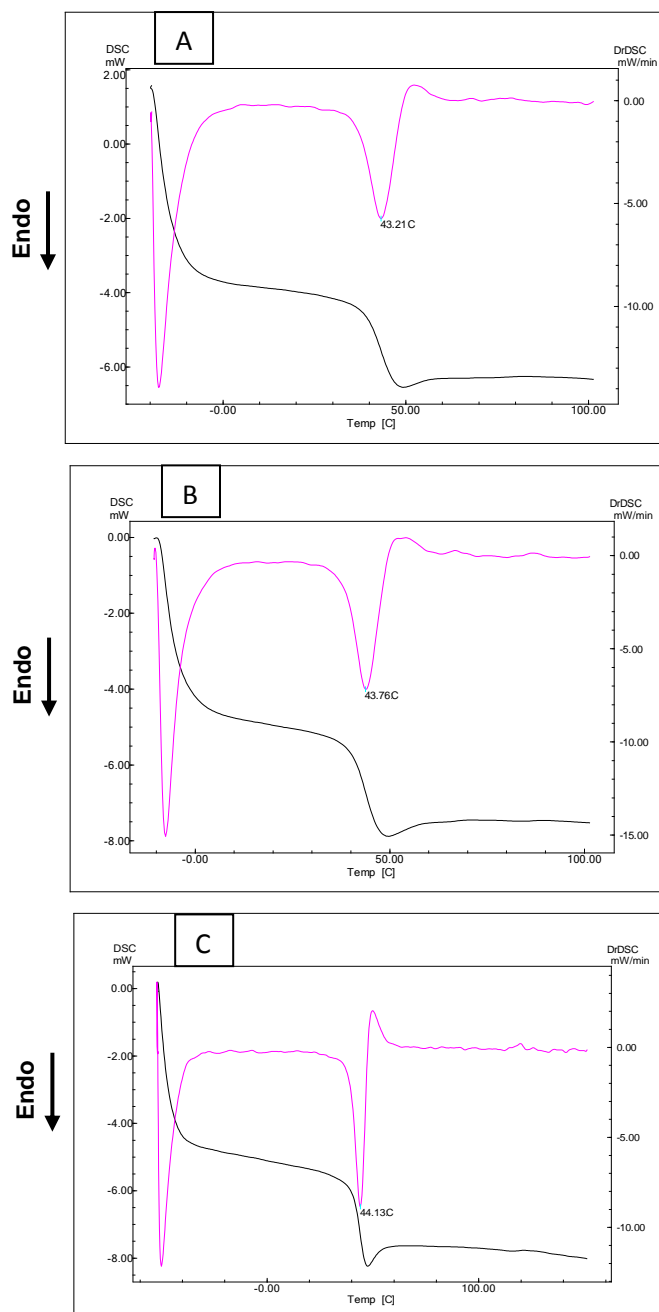


Figura A.XVI.1 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1 (A, B e C).

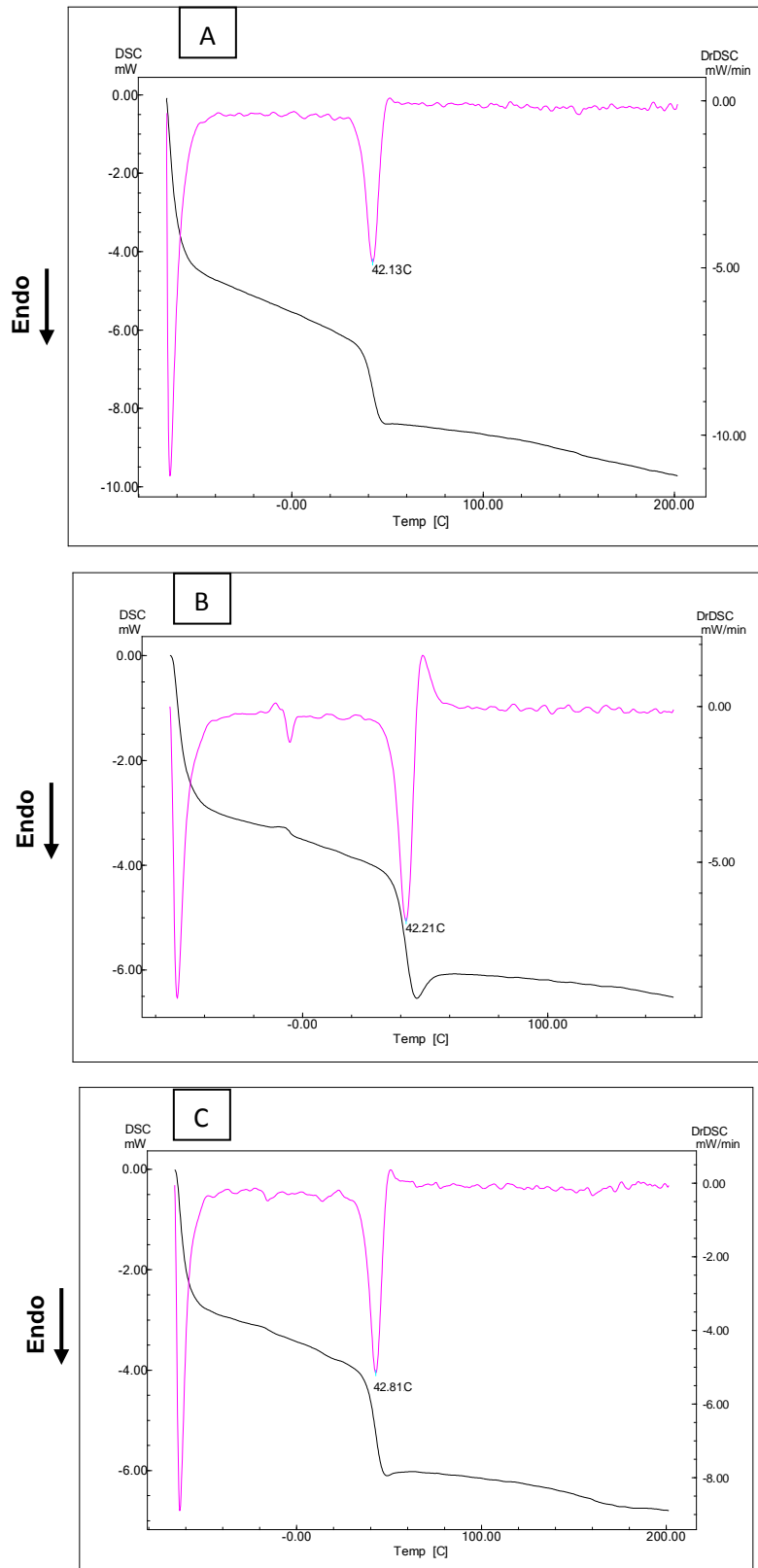


Figura A.XVI.2 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2 (A, B e C).

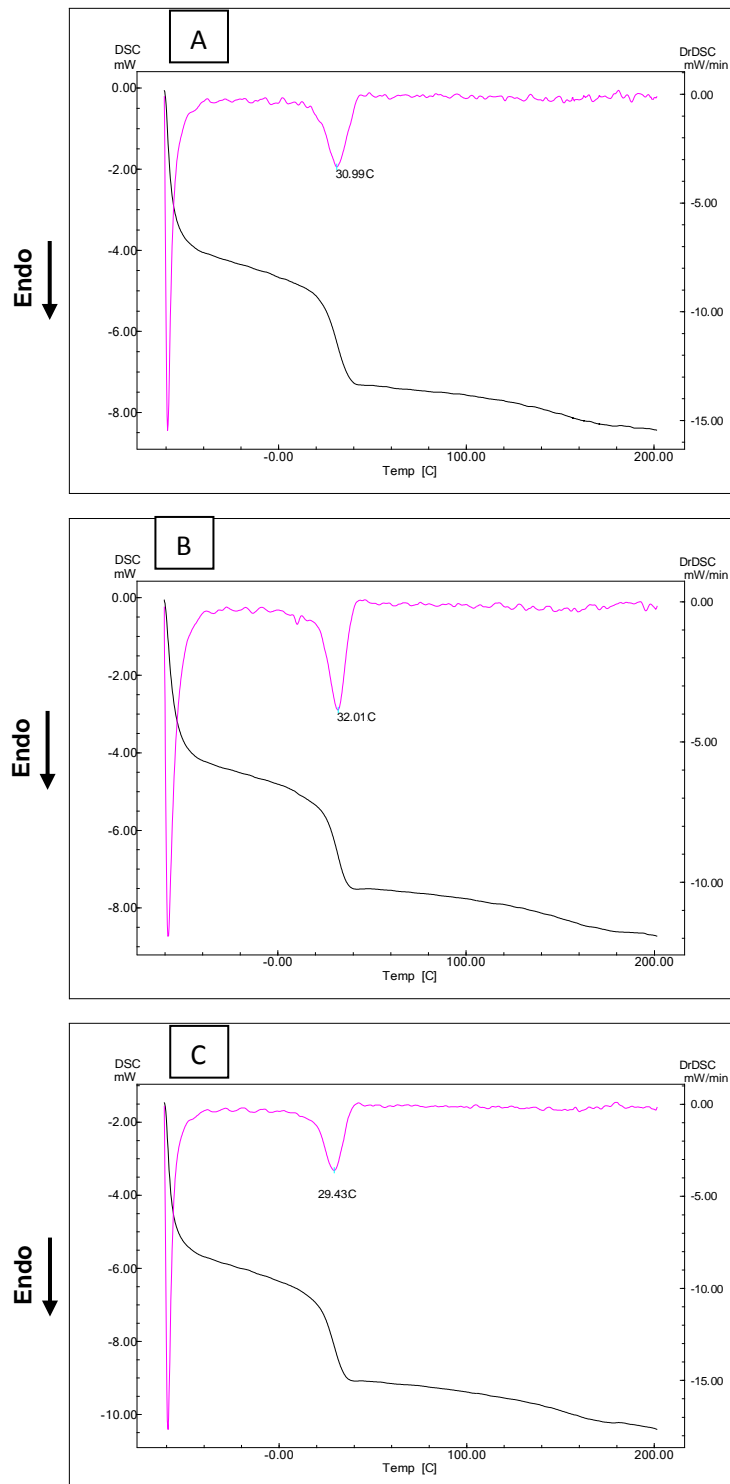


Figura A.XVI.3 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3 (A, B e C).

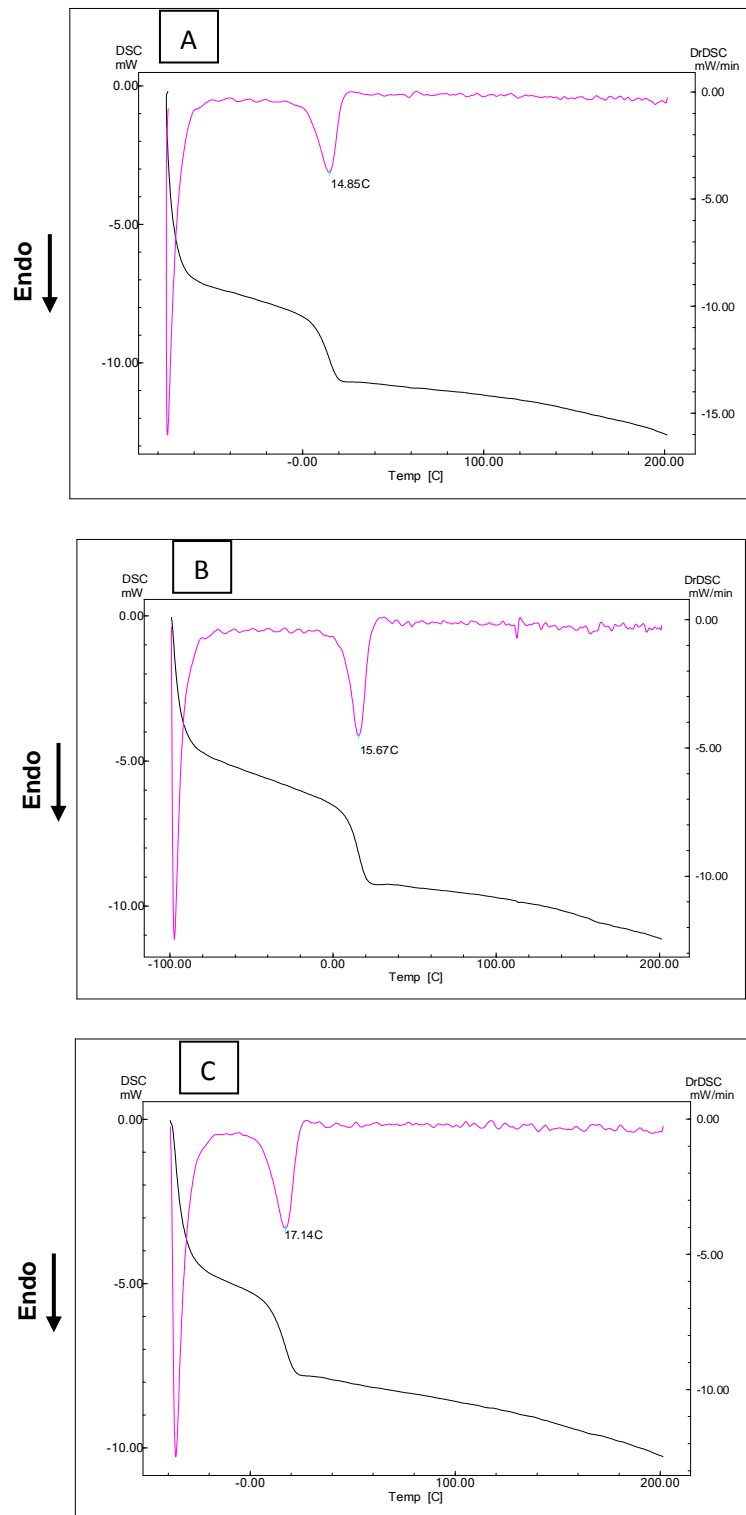


Figura A.XVI.4 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 4 (A, B e C).

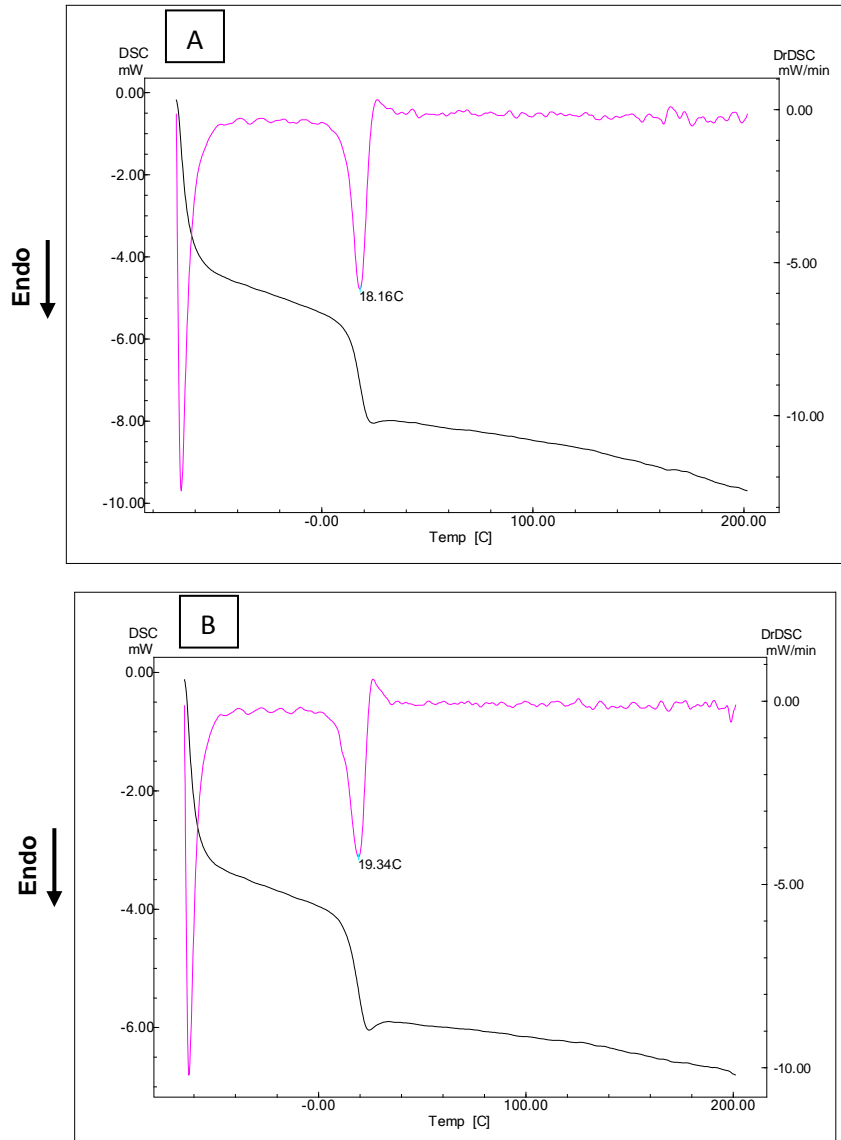


Figura A.XVI.5 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 5 (A e B).

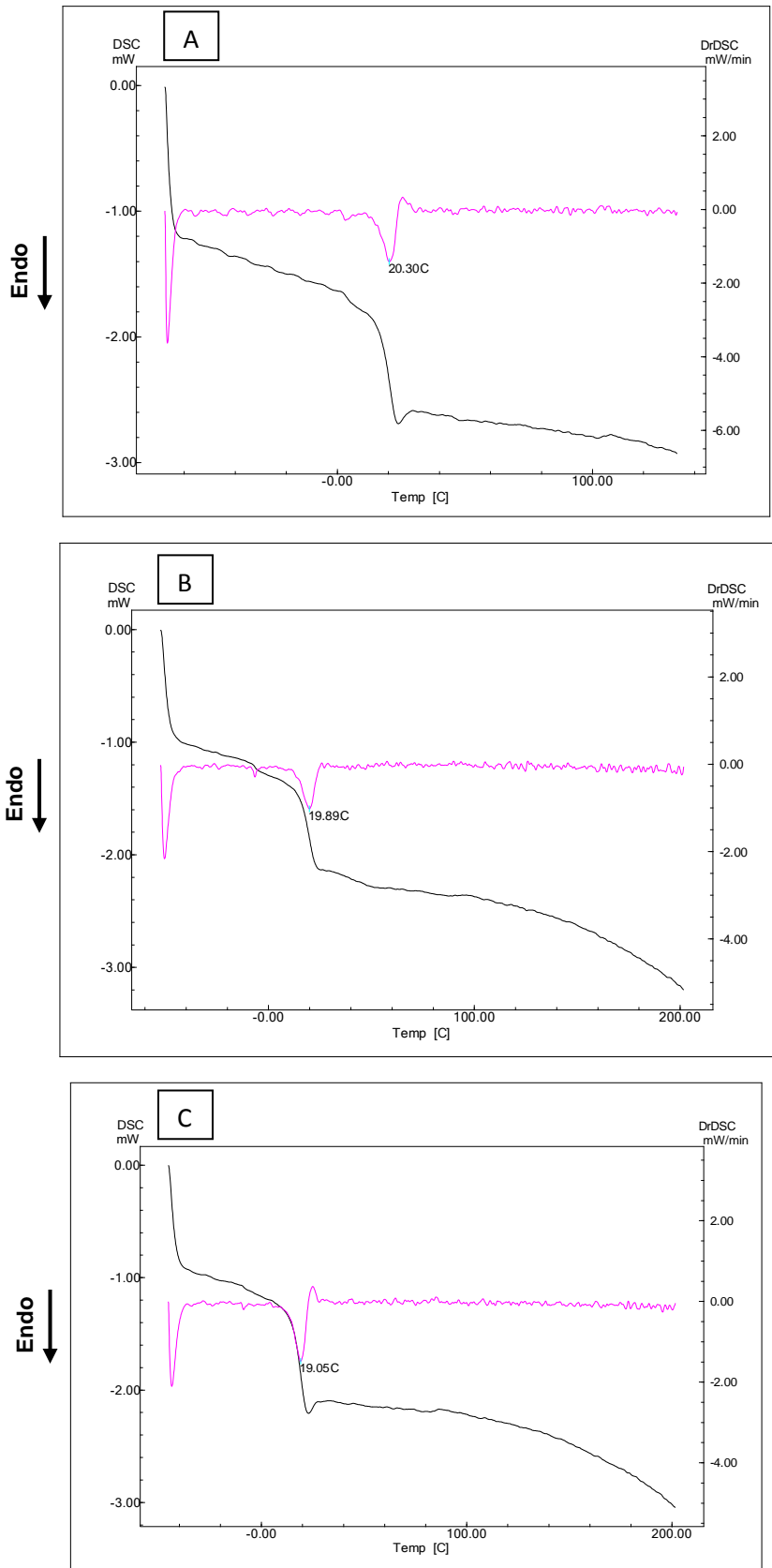


Figura A.XVI.6 - Curvas DSC e DrDSC para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 6 (A, B e C).

## ANEXO XVII – CURVAS DOS MÓDULOS ELÁSTICO ( $G'$ ) E VISCOZO ( $G''$ ) DAS AMOSTRAS DO PLGA 82/18, SÍNTESE 15, OBTIDAS A PARTIR DO ESTUDO DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO*

As curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para as amostras, 1 a 5, do PLGA 82/18, síntese 15, em triplicata, que participaram do estudo de degradação hidrolítica, são apresentadas nas Figuras A.XVII.1 a A.XVII.5. Devido à quantidade das amostras 5 e 6, foi possível fazer somente um ensaio para a amostra 5 e nenhum para a amostra 6.

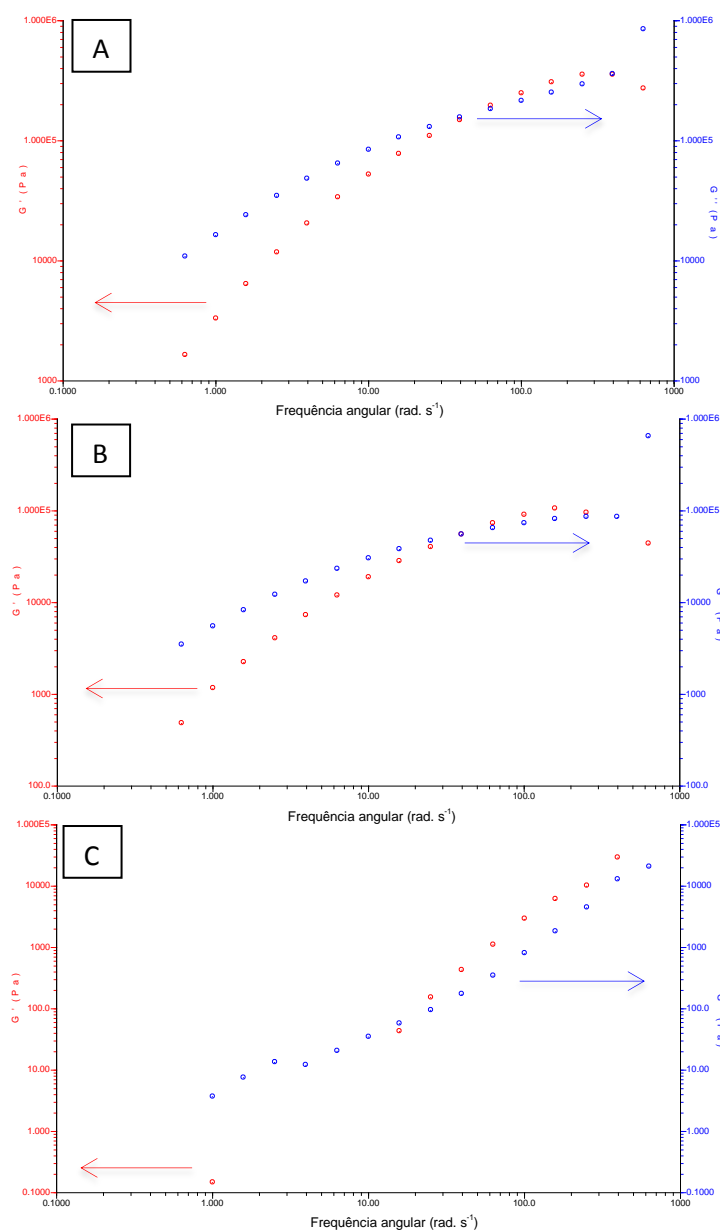


Figura A.XVII.1 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 1 (A, B e C).

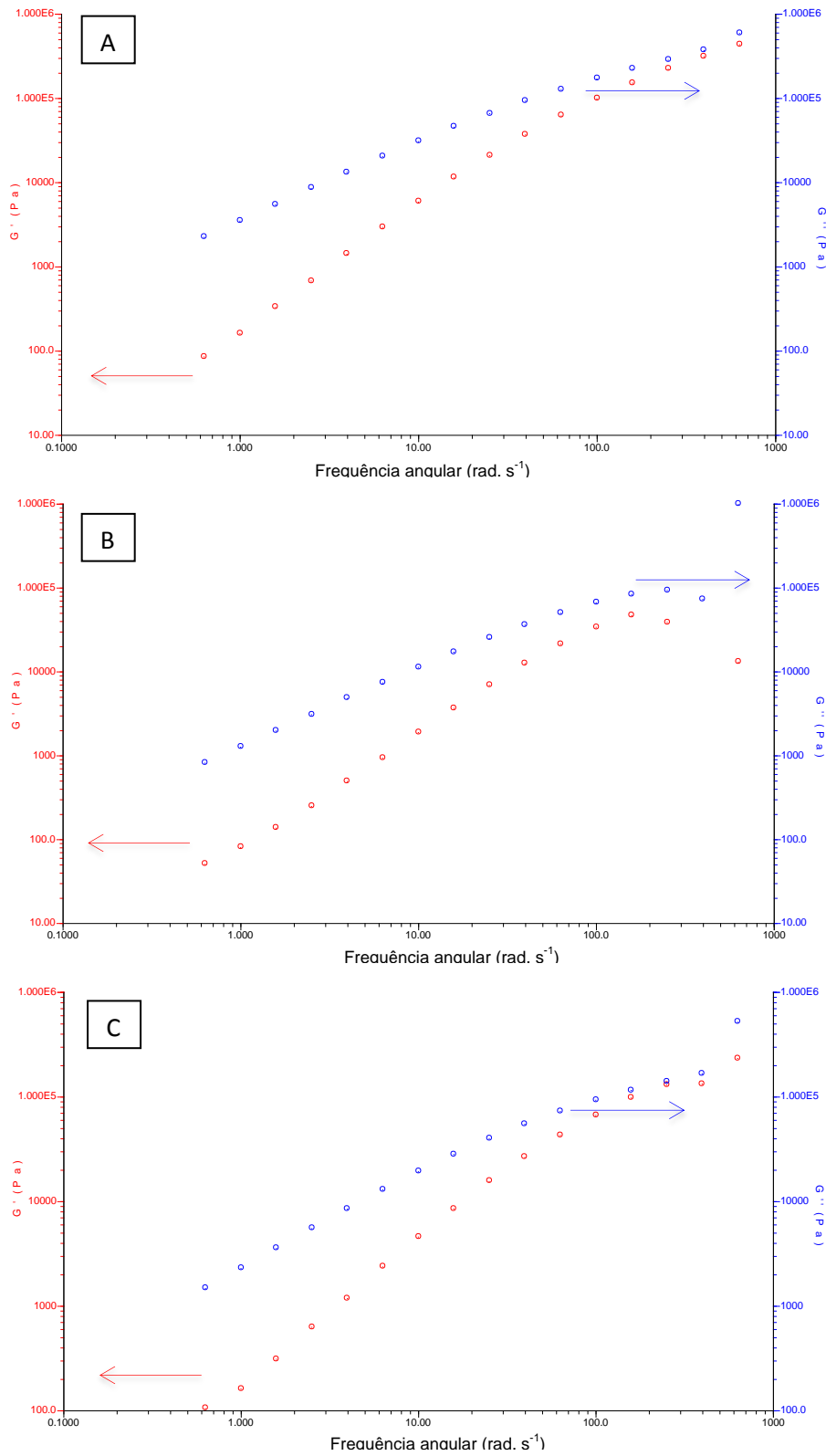


Figura A.XVII.2 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 2 (A, B e C).

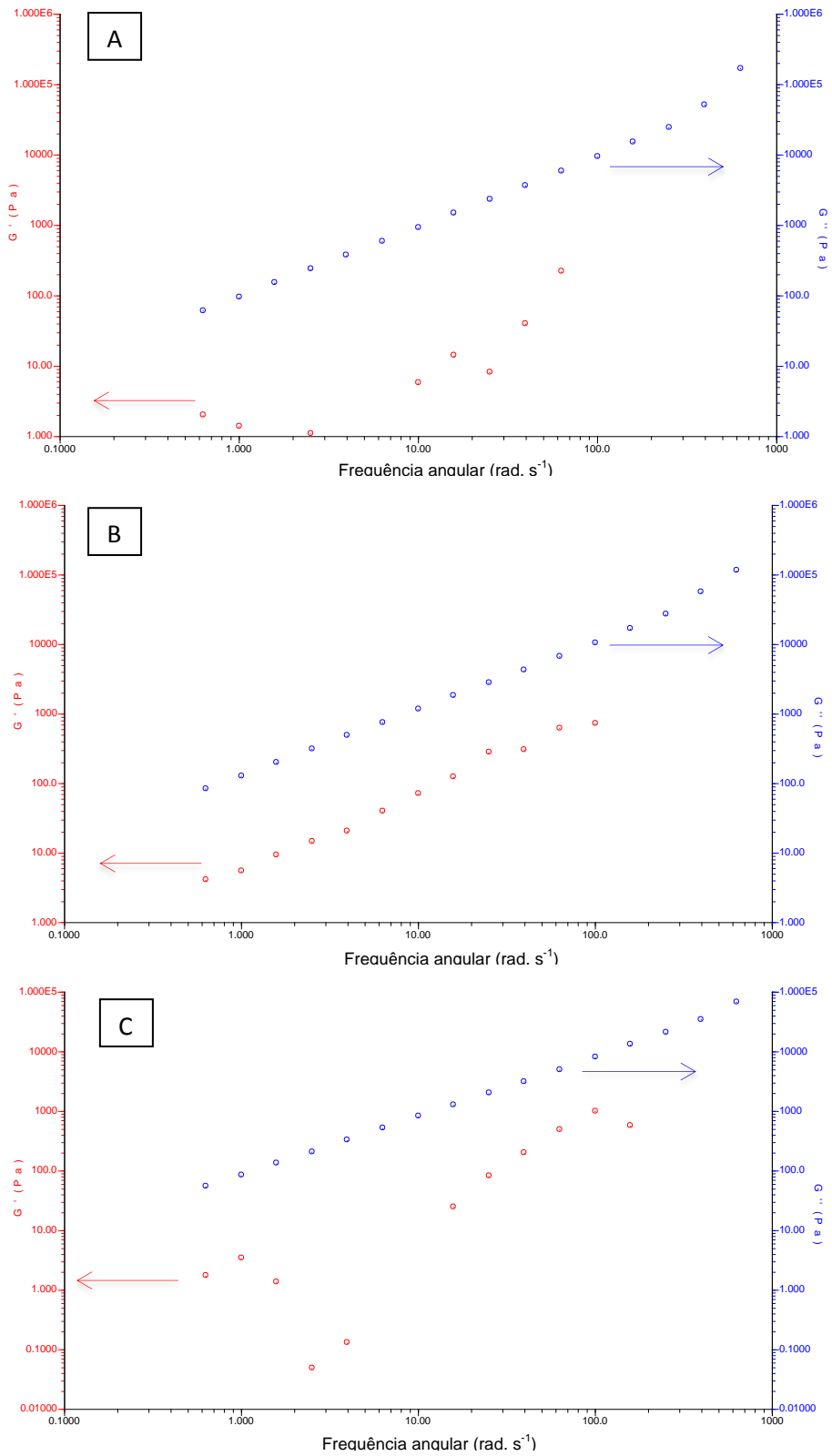


Figura A.XVII.3 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 3 (A, B e C).

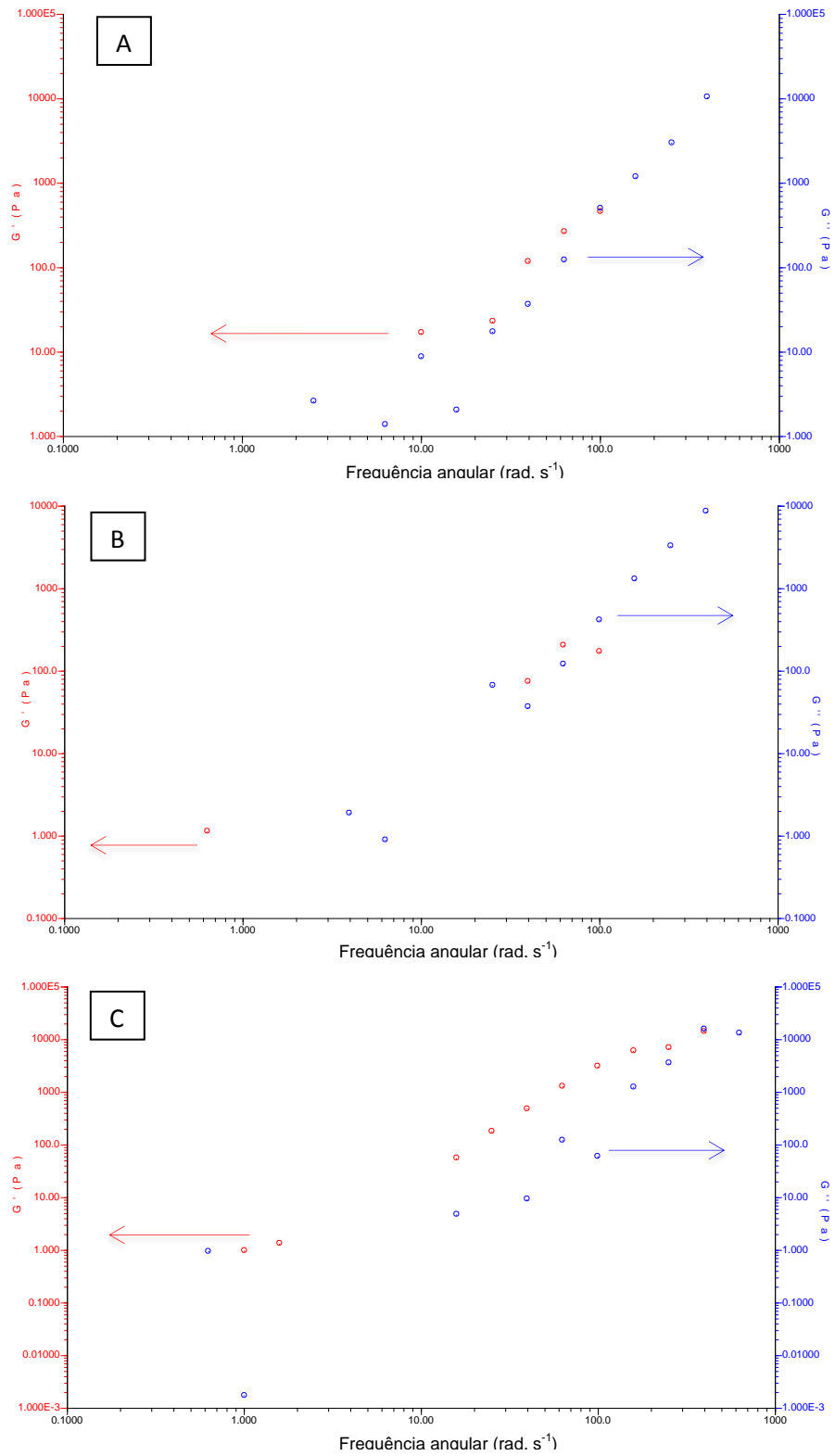


Figura A.XVII.4 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 4 (A, B e C).

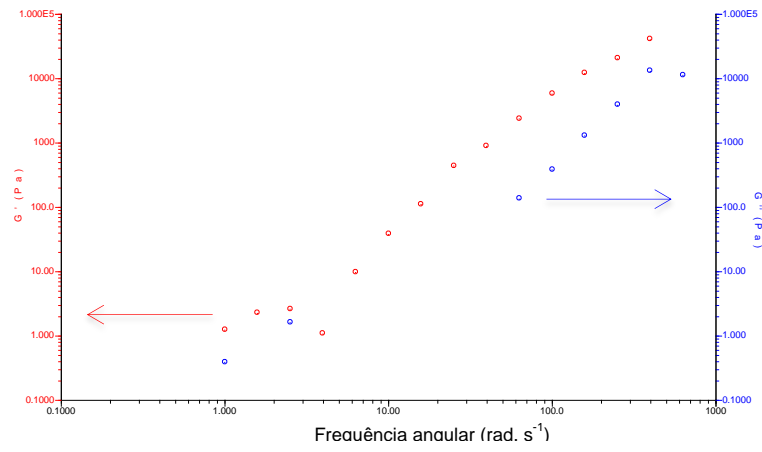


Figura A.XVII.5 - Curvas dos módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) para o PLGA 82/18, síntese 15, amostra 5.

**ANEXO XVIII – PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO ACUMULADA DE ATENOLOL A PARTIR DOS DISPOSITIVOS DE PLGA (EM FORMA DE MANTA DE NANOFIBRAS) EM FUNÇÃO DO TEMPO (EM MINUTOS).**

Os valores de porcentagem de liberação acumulada de atenolol observados a partir dos dispositivos de PLGA, em forma de manta de nanofibras (amostras M1, M2, M3), em função do tempo, em minutos, são apresentados na Tabela A.XVIII.1.

Tabela A.XVIII.1 – Porcentagem de liberação de atenolol acumulada em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA, amostras M1, M2 e M3.

Tempo (minutos)	% de liberação acumulada			Tempo (minutos)	% de liberação acumulada		
	M1	M2	M3		M1	M2	M3
10	33,2	32,5	16,1	2880	63,2	61,5	54,7
20	43,5	41,6	24,3	4320	63,9	62,0	55,5
30	48,8	46,2	29,0	8640	64,8	62,8	56,4
40	52,1	48,6	32,3	10080	65,1	63,1	56,7
50	54,2	50,9	35,6	11520	65,3	63,3	56,9
60	55,1	51,8	37,5	12960	65,6	63,6	57,2
80	56,8	53,9	40,9	14400	65,9	64,0	57,5
100	57,8	55,1	43,3	18720	66,9	65,0	58,5
120	58,7	56,0	45,3	20370	67,2	65,3	59,0
150	59,6	57,0	47,4	21810	67,7	65,7	59,5
180	60,1	57,5	48,6	23250	68,2	66,2	60,1
240	60,6	58,2	50,1	24570	69,4	67,1	61,0
300	60,9	58,7	50,9	29100	70,5	68,4	63,0
360	61,1	58,9	51,4	30450	70,9	68,9	63,6
420	61,3	59,1	51,9	32040	71,3	69,4	64,5
480	61,4	59,3	52,2	33420	72,0	70,0	65,4
540	61,5	59,5	52,5	34770	72,4	70,6	65,9
1440	62,6	60,9	54,1	-	-	-	-

**ANEXO XIX – PORCENTAGEM DE LIBERAÇÃO ACUMULADA DE ATENOLOL A PARTIR DOS DISPOSITIVOS DE PLGA (EM FORMA DE BASTÕES) EM FUNÇÃO DO TEMPO (EM MINUTOS).**

Os valores de porcentagem de liberação acumulada de atenolol observados a partir dos dispositivos de PLGA, em forma de bastão (amostras B1, B2, B3), em função do tempo, em minutos, são apresentados na Tabela A.XIX.1.

Tabela A.XIX.1 – Porcentagem de liberação de atenolol acumulada em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA, amostras B1, B2 e B3.

Tempo (minutos)	% de liberação acumulada			Tempo (minutos)	% de liberação acumulada		
	B1	B2	B3		B1	B2	B3
10	1,7	0,4	0,6	10240	5,1	1,3	2,4
20	1,9	0,4	0,6	11890	5,3	1,6	2,7
30	1,9	0,4	0,6	13330	5,9	2,2	3,1
40	1,9	0,4	0,6	14770	6,4	2,8	3,9
60	2,0	0,5	1,0	16090	6,9	3,3	4,5
80	2,0	0,5	1,1	20620	7,7	3,8	5,2
100	2,1	0,5	1,1	21970	7,8	3,8	5,4
130	2,2	0,5	1,1	23560	8,2	3,9	5,8
160	2,2	0,5	1,1	24940	8,6	4,3	6,0
220	2,3	0,5	1,1	26290	8,9	4,4	6,1
280	2,3	0,6	1,4	30700	9,3	4,6	6,5
340	2,4	0,7	1,5	31900	9,5	4,7	6,7
400	2,5	0,7	1,6	33580	9,6	4,8	6,9
460	2,6	0,8	1,6	35020	9,7	4,9	7,0
520	2,6	0,8	1,6	36460	9,8	4,9	7,2
1600	3,3	0,8	1,7	40660	10,1	5,2	7,6
3040	3,9	0,8	1,8	42100	10,2	5,4	7,8
4480	4,3	0,9	1,9	43540	10,3	5,4	7,9
5920	4,5	0,9	2,0	-	-	-	-

## ANEXO XX – PORCENTAGEM DA RAZÃO DE LIBERAÇÃO $M_t/M_\infty$ EM FUNÇÃO DO TEMPO (MINUTOS), DOS DISPOSITIVOS DE PLGA EM FORMA DE MANTAS DE NANOFIBRAS E BASTÕES

As porcentagens da razão de liberação  $M_t/M_\infty$  ( $M_t$  é a massa de atenolol liberada no tempo “t” e  $M_\infty$  é a massa total de atenolol liberada nos dispositivos) em função do tempo, em minutos, para os dispositivos em forma de manta de nanofibras (M1, M2 e M3) e em forma de bastão (B1, B2, B3), respectivamente, são apresentadas nas Tabelas A.XX.1 e A.XX.2.

Tabela A.XX.1 – Porcentagem da razão de liberação  $M_t/M_\infty$  em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA em forma de mantas de nanofibras, amostras M1, M2 e M3.

Tempo (minutos)	% de liberação acumulada			Tempo (minutos)	% de liberação acumulada		
	M1	M2	M3		M1	M2	M3
10	45,8	46,0	24,5	2880	87,3	87,2	83,0
20	60,1	59,0	36,8	4320	88,4	87,9	84,2
30	67,4	65,4	44,0	8640	89,6	89,1	85,6
40	72,0	68,9	49,0	10080	89,9	89,4	86,0
50	74,9	72,1	54,0	11520	90,3	89,7	86,3
60	76,1	73,5	57,0	12960	90,7	90,1	86,8
80	78,5	76,4	62,0	14400	91,0	90,7	87,3
100	79,9	78,1	65,8	18720	92,5	92,1	88,8
120	81,1	79,4	68,7	20370	92,9	92,6	89,5
150	82,4	80,8	72,0	21810	93,6	93,1	90,3
180	83,0	81,5	73,8	23250	94,2	93,8	91,2
240	83,8	82,5	76,0	24570	95,9	95,1	92,6
300	84,2	83,1	77,3	29100	97,5	97,0	95,6
360	84,4	83,4	78,0	30450	98,0	97,7	96,6
420	84,7	83,8	78,7	32040	98,6	98,4	97,9
480	84,9	84,0	79,2	33420	99,5	99,2	99,2
540	85,0	84,3	79,7	34770	100	100	100
1440	86,5	86,3	82,1	-			

Tabela A.XX.2 – Porcentagem da razão de liberação  $M_t/M_\infty$  em função do tempo, em minutos, a partir dos dispositivos de PLGA em forma de bastões, amostras B1, B2 e B3.

Tempo (minutos)	% de liberação acumulada			Tempo (minutos)	% de liberação acumulada		
	B1	B2	B3		B1	B2	B3
10	16,4	7,4	7,5	10240	23,6	31,0	49,3
20	18,2	7,4	8,2	11890	30,1	33,7	51,2
30	18,2	7,4	8,2	13330	40,8	39,7	57,3
40	18,2	7,4	8,2	14770	51,6	49,9	62,6
60	19,8	8,3	13,1	16090	59,9	57,2	67,5
80	19,9	8,3	13,4	20620	69,9	66,2	74,6
100	20,6	8,3	13,6	21970	70,8	68,5	75,7
130	21,2	8,3	13,6	23560	72,1	73,0	79,9
160	21,5	8,8	14,2	24940	79,5	76,7	83,3
220	22,0	9,1	14,5	26290	81,6	77,1	86,5
280	22,6	11,1	17,5	30700	85,3	82,9	90,6
340	23,3	13,4	18,9	31900	86,6	85,3	92,2
400	24,3	13,4	19,8	33580	89,3	87,4	93,7
460	25,2	14,1	20,8	35020	90,2	88,9	94,2
520	25,6	14,1	20,8	36460	90,7	91,8	95,4
1600	31,7	14,1	22,0	40660	96,0	96,8	98,4
3040	37,7	14,1	22,6	42100	99,1	98,9	98,8
4480	41,8	16,1	24,0	43540	100,0	100,0	100,0
5920	44,2	17,2	25,5	-	-	-	-

## ANEXO XXI – CURVAS TG E DrTG DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO

As curvas TG e DrTG, em função da temperatura, para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) o estudo de liberação, são apresentadas nas Figuras A.XXI.1 a A.XXI.5.

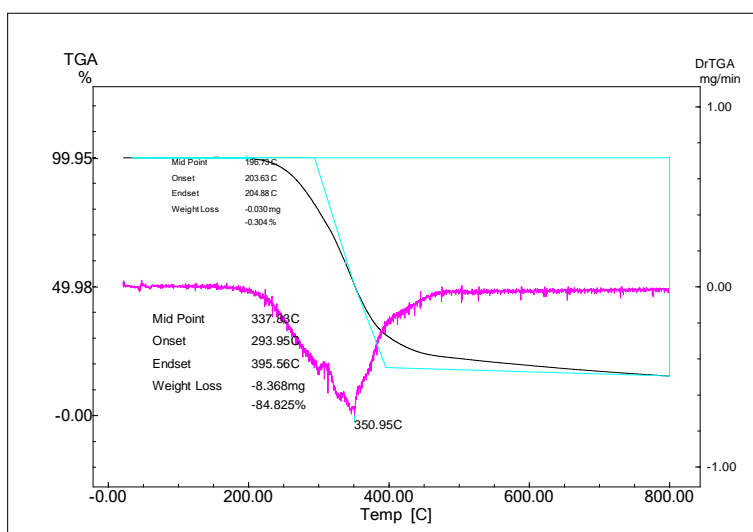


Figura A.XXI.1 - Curvas TG e DrTG para o atenolol.

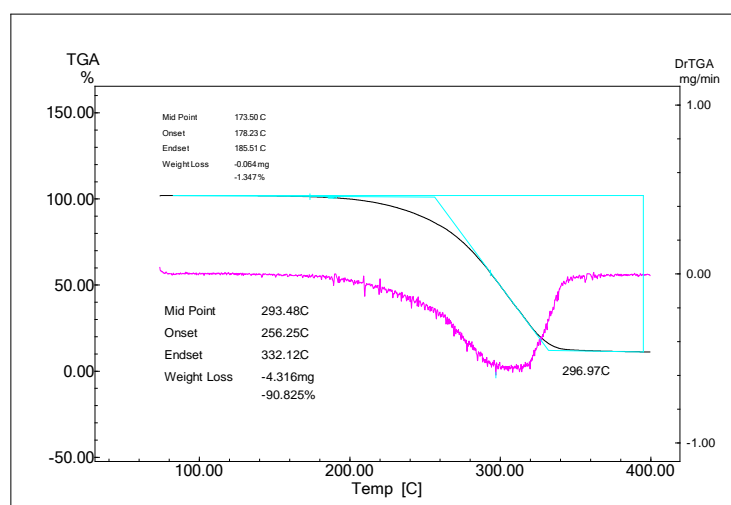


Figura A.XXI.2 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.

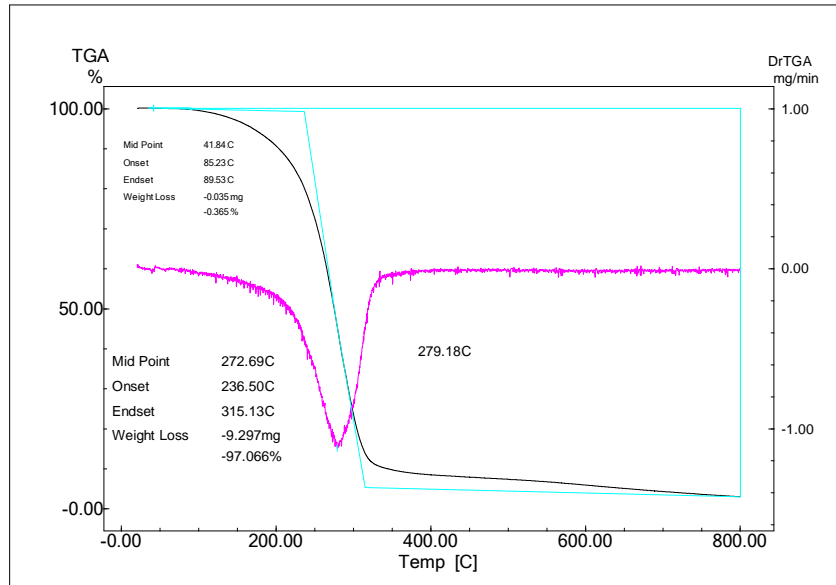


Figura A.XXI.3 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B1, após estudo de liberação.

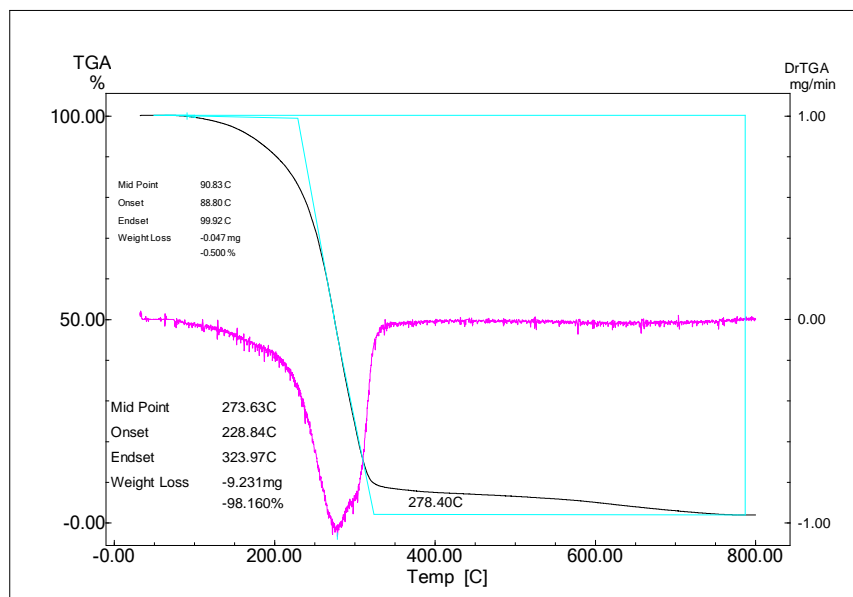


Figura A.XXI.4 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B2, após estudo de liberação.

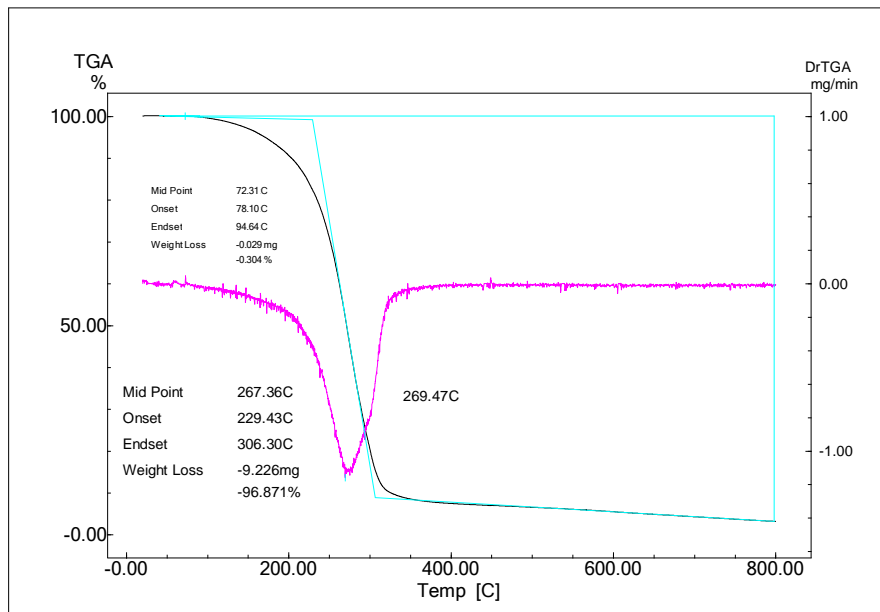


Figura A.XXI.5 - Curvas TG e DrTG para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B3, após estudo de liberação.

## ANEXO XXII – CURVAS DSC E DrDSC DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15) COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO

As curvas DSC e DrDSC (2ª corrida), em função da temperatura (°C), para o atenolol e para os bastões de PLGA 82/18 (síntese 15) com atenolol, antes e após (amostras B1, B2 e B3) o estudo de liberação, são apresentadas nas Figuras A.XXII.1 a A.XXII.5.

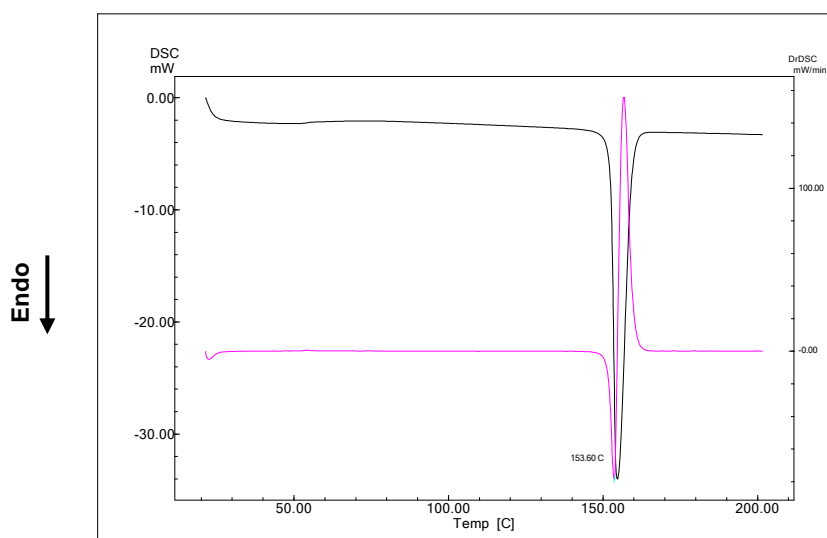


Figura A.XXII.1 - Curvas DSC e DrDSC para o atenolol.

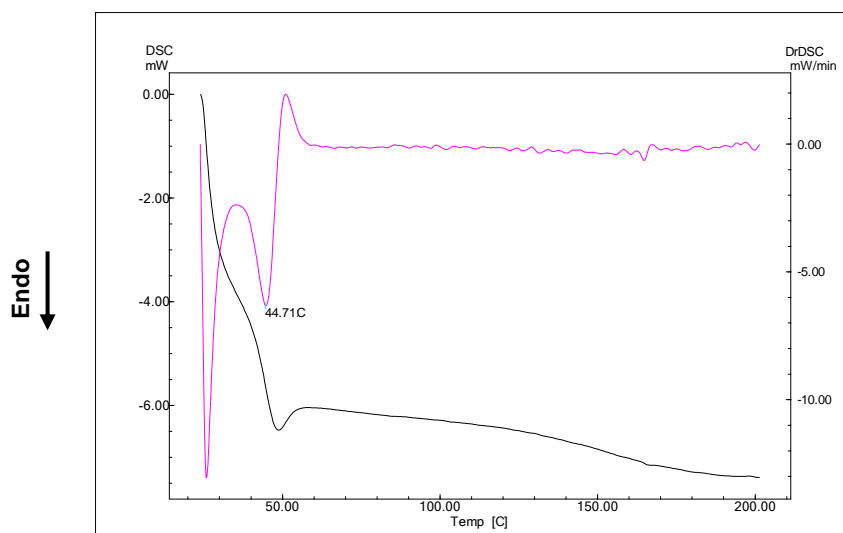


Figura A.XXII.2 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.

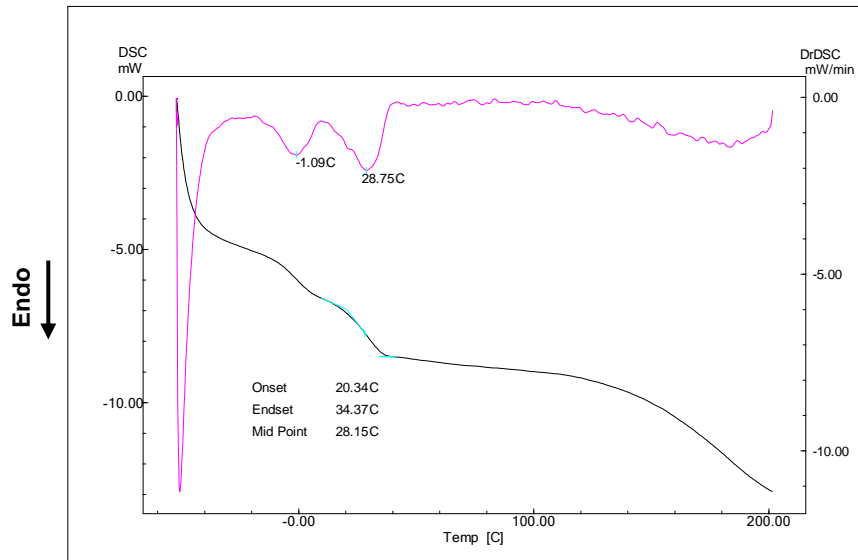


Figura A.XXII.3 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B1, após estudo de liberação.

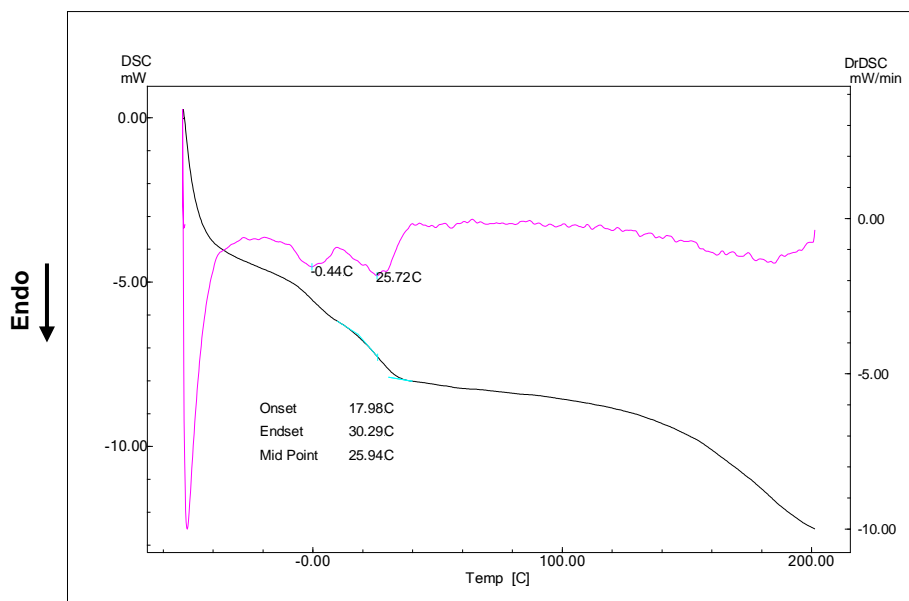


Figura A.XXII.4 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B2, após estudo de liberação.

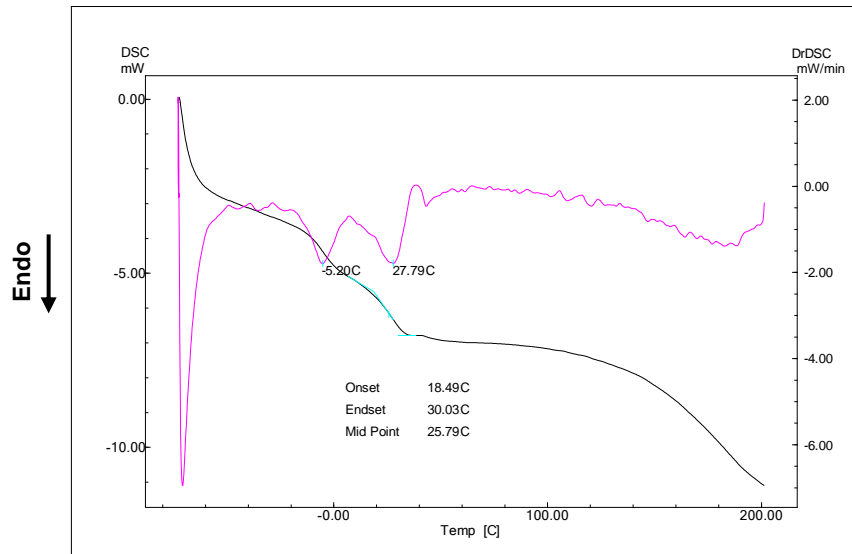


Figura A.XXII.5 - Curvas DSC e DrDSC para o bastão de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra B3, após estudo de liberação.

## ANEXO XXIII – ESPECTROS FTIR DO ATENOLOL E DOS BASTÕES DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO

Os espectros FTIR do fármaco atenolol e dos bastões de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após o período de liberação estudado, são apresentados nas Figuras A.XXIII.1 a A.XXIII.5.

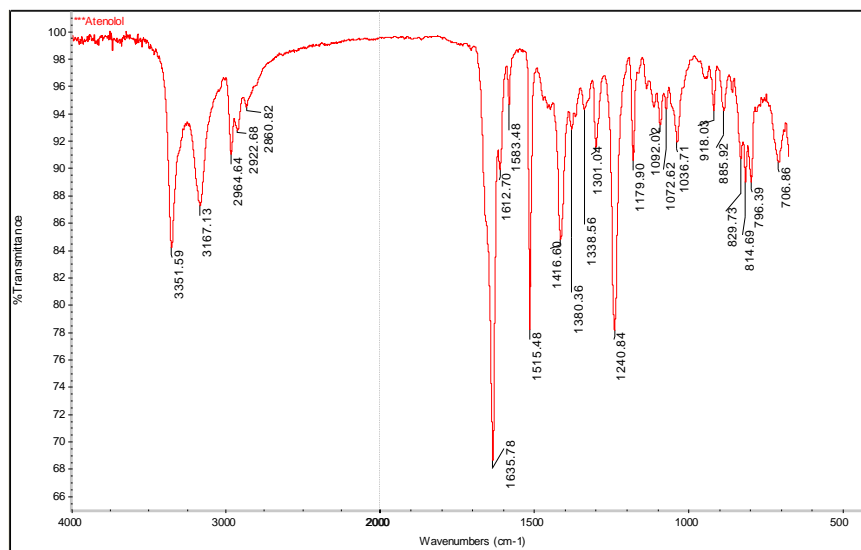


Figura A.XXIII.1 - Espectro FTIR para o atenolol.

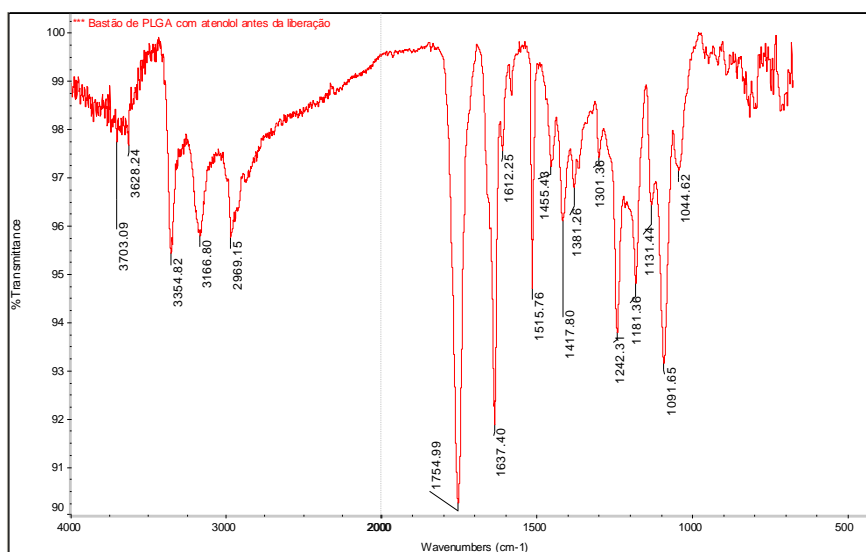


Figura A.XXIII.2 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, antes do estudo de liberação.

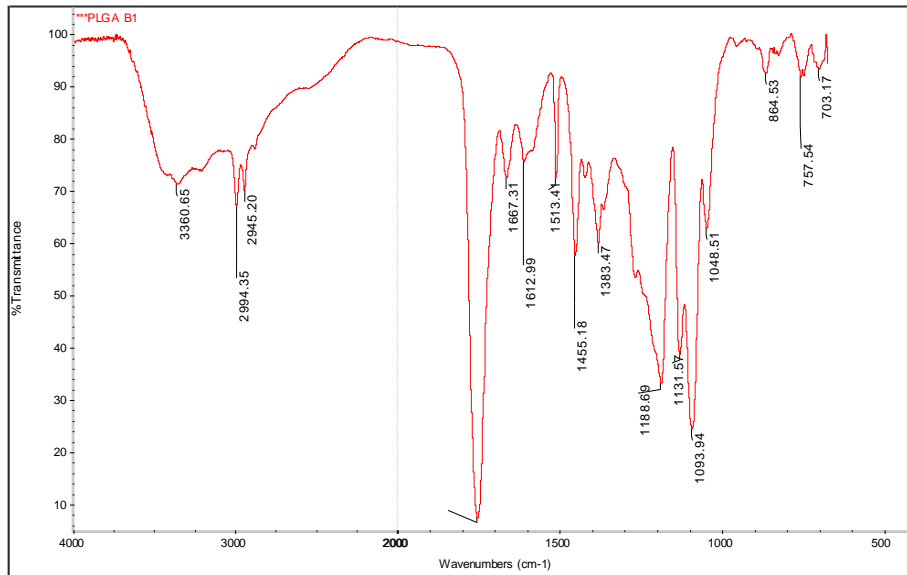


Figura A.XXIII.3 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B1.

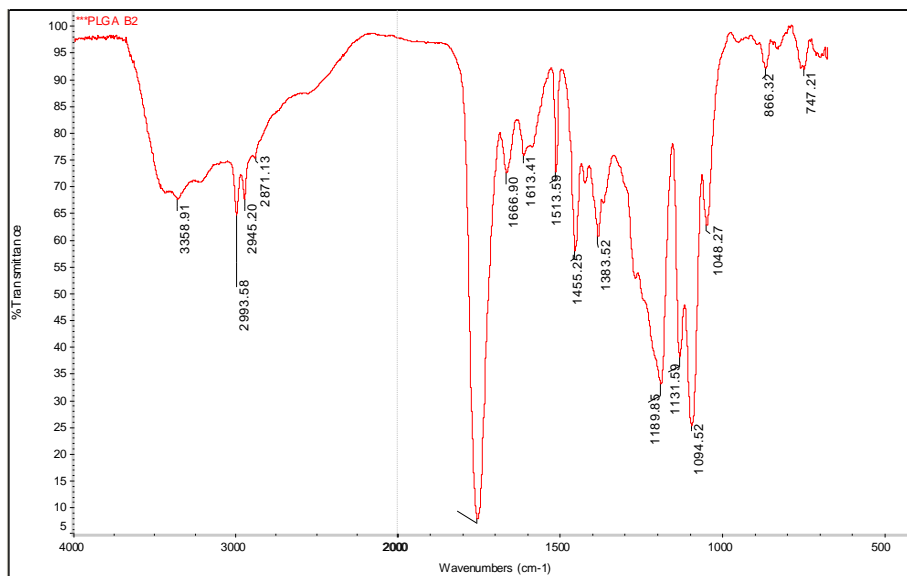


Figura A.XXIII.4 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B2.

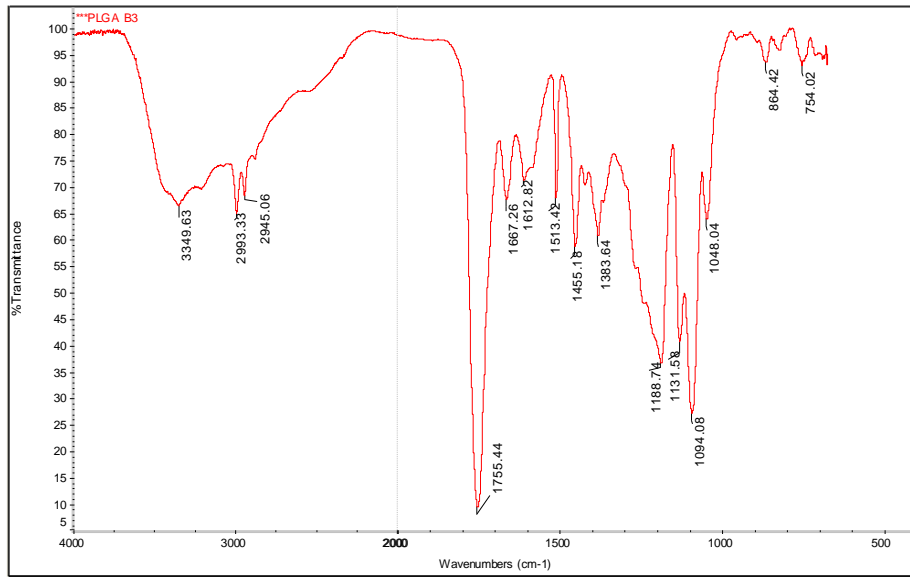


Figura A.XXIII.5 - Espectro FTIR do bastão de PLGA 82/18, com atenolol, após o estudo de liberação, amostra B3.

**ANEXO XXIV – CURVAS TG E DrTG DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO**

As curvas TG e DrTG, em função da temperatura, para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15), sem atenolol, com atenolol antes e após (amostras M1, M2 e M3) o estudo de liberação, são apresentadas nas Figuras A.XXIV.1 a A.XXIV.5.

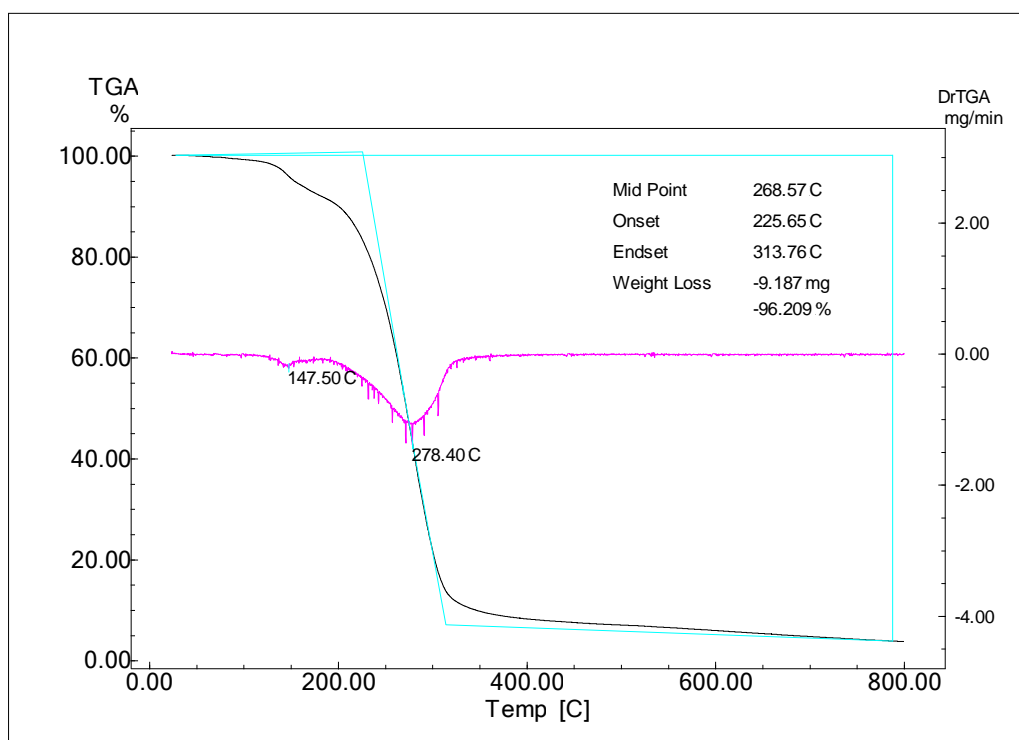


Figura A.XXIV.1 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.

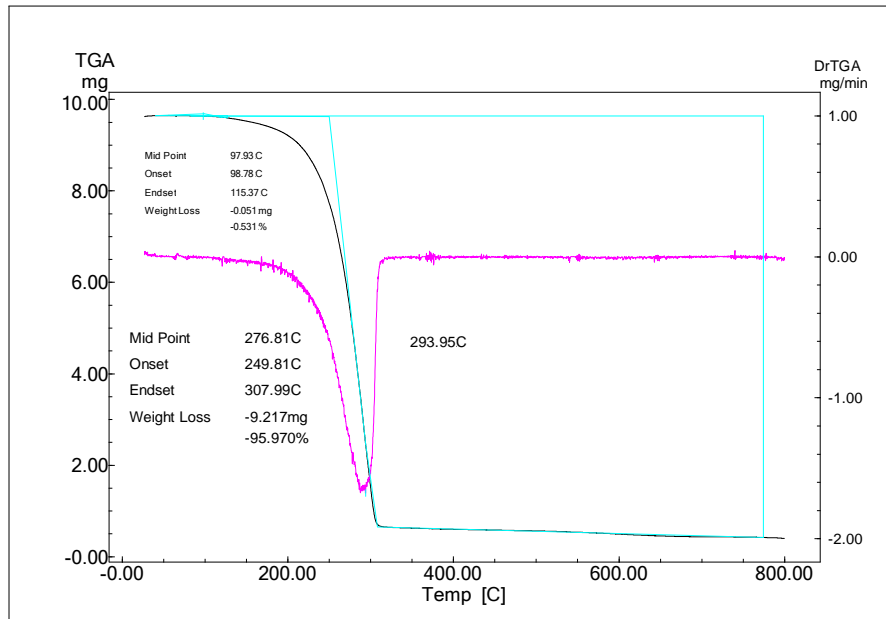


Figura A.XXIV.2 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M1.

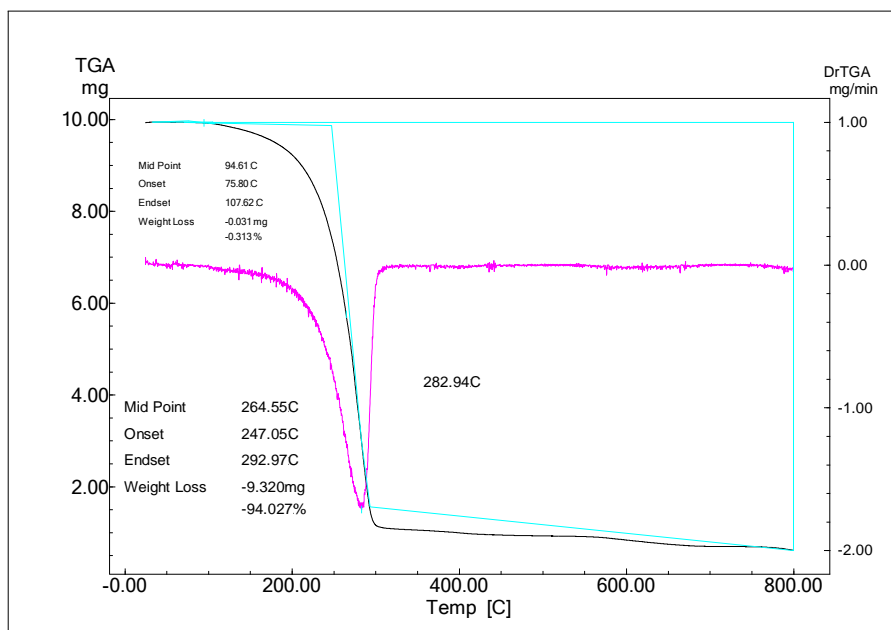


Figura A.XXIV.3 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M2.

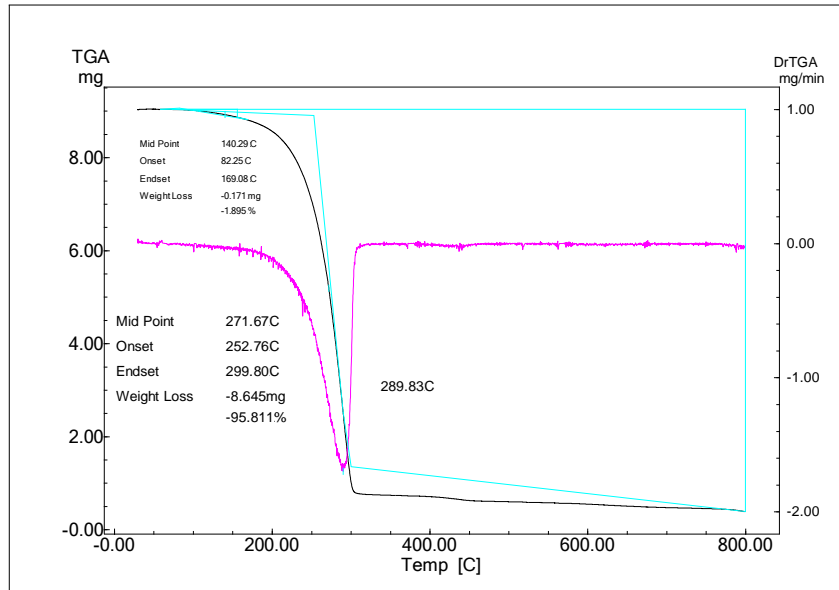


Figura A.XXIV.4 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M3.

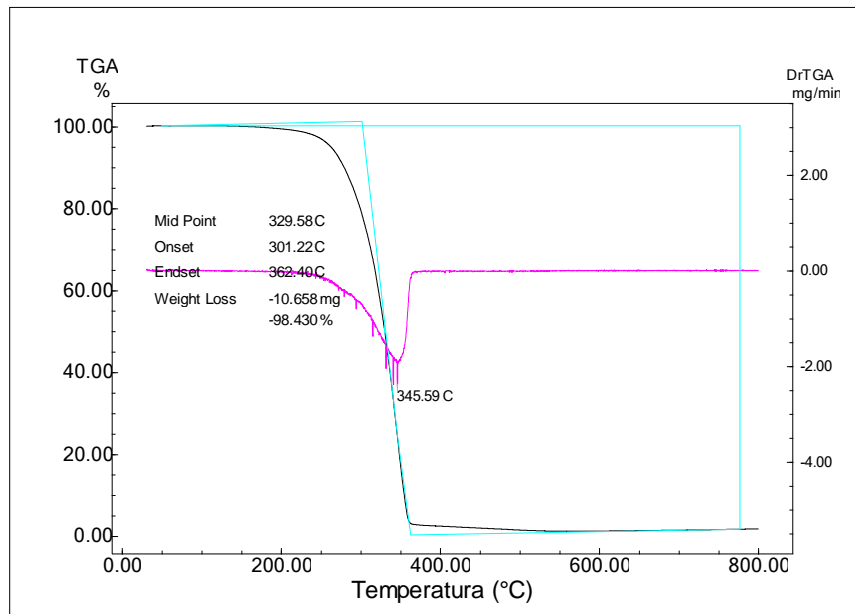


Figura A.XXIV.5 - Curvas TG e DrTG para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, sem atenolol.

## ANEXO XXV – CURVAS DSC E DrDSC DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO

As curvas DSC e DrDSC (2ª corrida), em função da temperatura, para as mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após (amostras M1, M2 e M3) o estudo de liberação, são apresentadas nas Figuras A.XXV.1. a A.XXV.4.

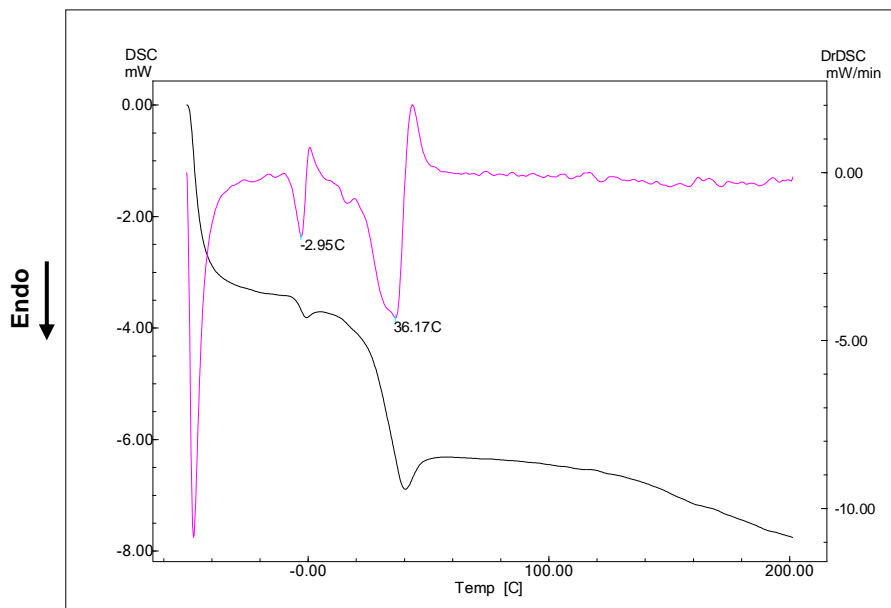


Figura A.XXV.1 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.

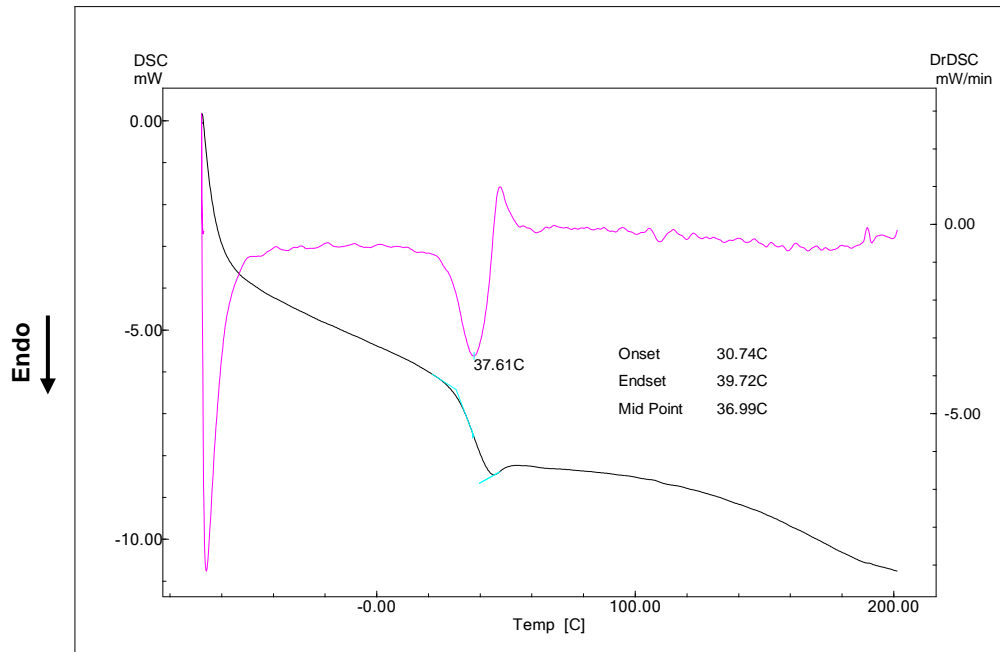


Figura A.XXV.2 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M1.

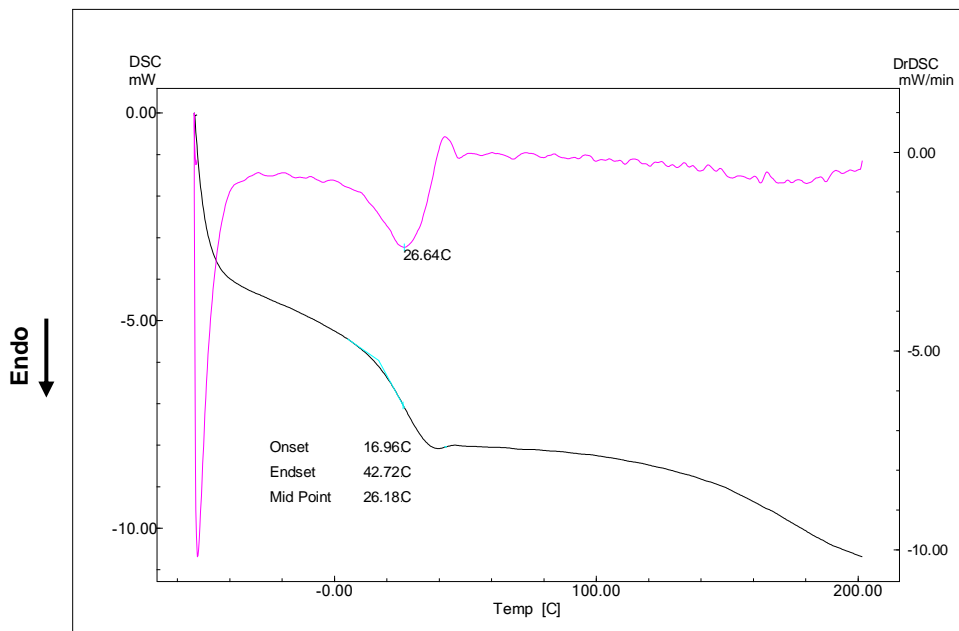


Figura A.XXV.3 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M2.

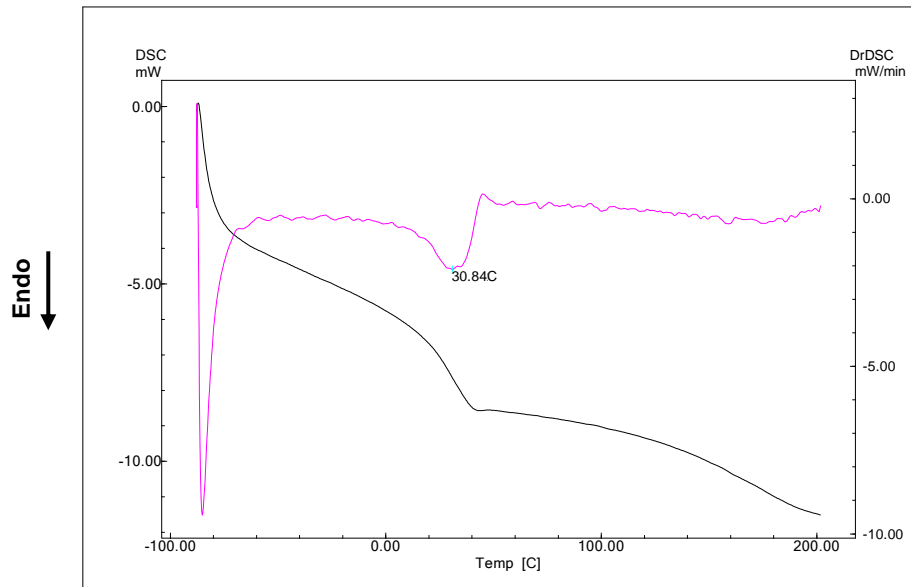


Figura A.XXV.4 - Curvas DSC e DrDSC para a manta de nanofibra de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, amostra M3.

As curvas DSC e DrDSC (1ª corrida), em função da temperatura, para a manta de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes do estudo de liberação, são apresentadas nas Figuras A.XXV.5.

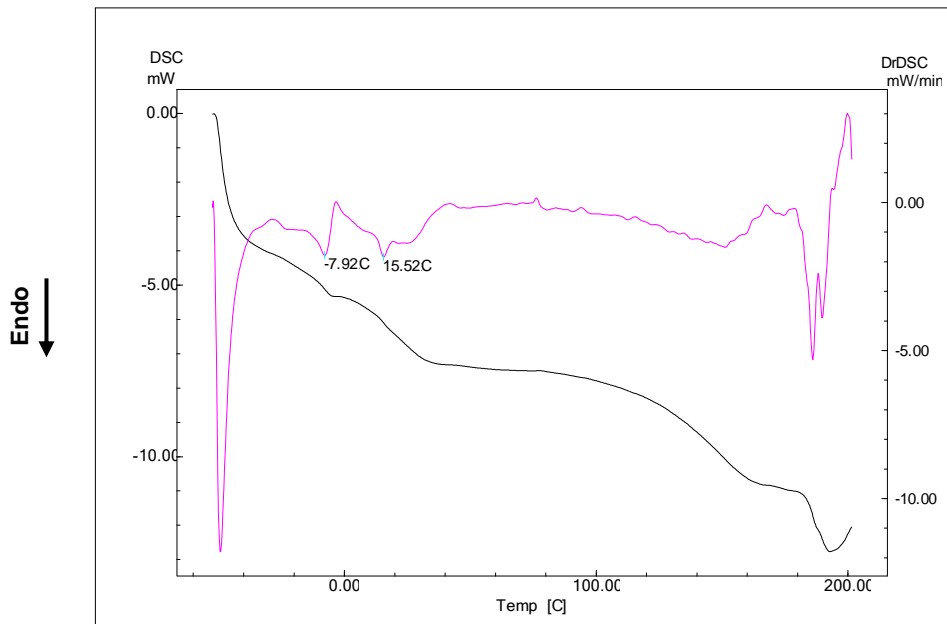


Figura A.XXV.5 - Curvas DSC e DrDSC (1ª corrida) para a manta de nanofibras de PLGA 82/18, síntese 15, com atenolol, antes do estudo de liberação.

## ANEXO XXVI – ESPECTROS FTIR DAS MANTAS DE NANOFIBRAS DE PLGA 82/18 (SÍNTESE 15), COM ATENOLOL, ANTES E APÓS O PERÍODO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO* ESTUDADO

Os espectros FTIR das mantas de nanofibras de PLGA 82/18 (síntese 15), com atenolol, antes e após o período de liberação estudado, são apresentados nas Figuras A.XXVI.1 a A.XXVI.4.

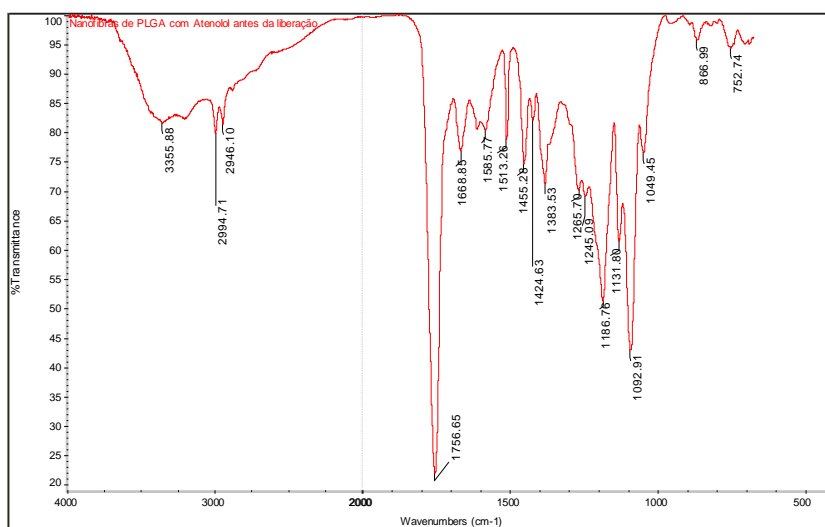


Figura A.XXVI.1 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, antes do estudo de liberação.

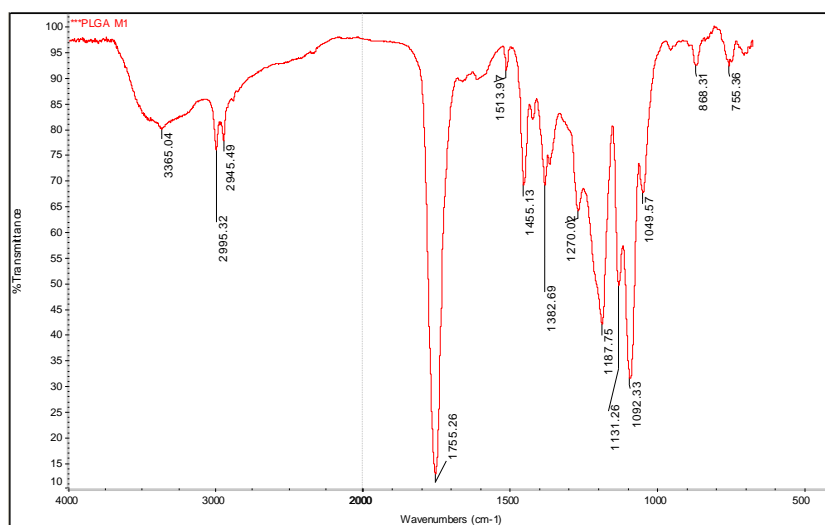


Figura A.XXVI.2 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M1.

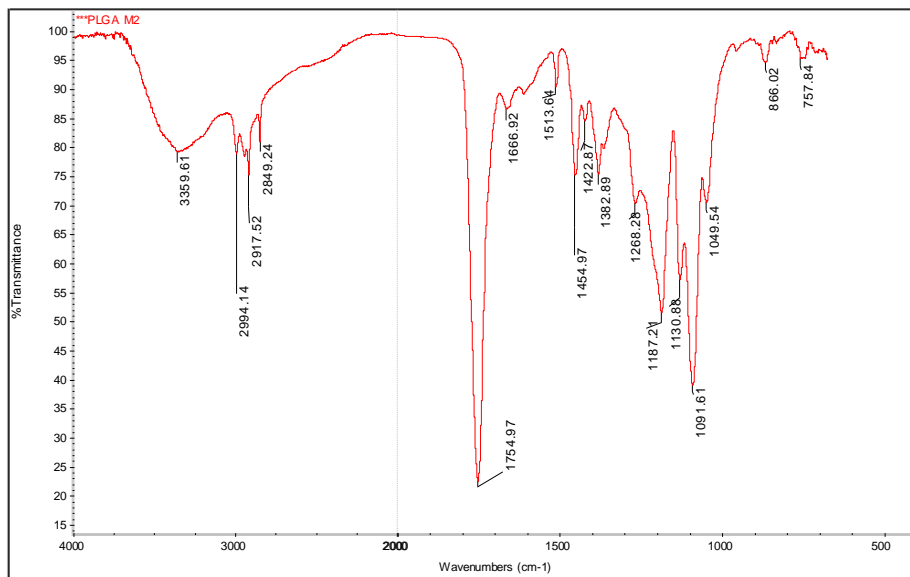


Figura A.XXVI.3 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M2.

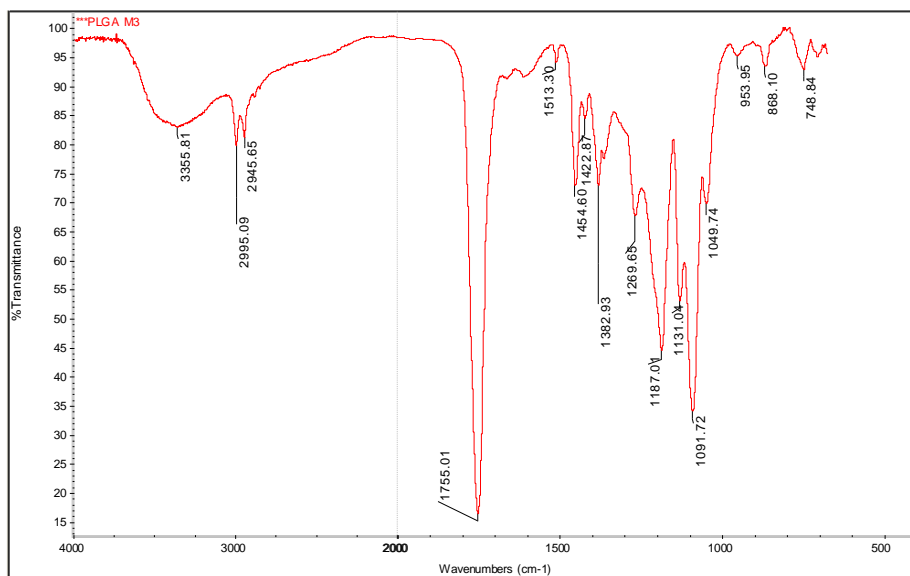


Figura A.XXVI.4 - Espectro FTIR da manta de nanofibras de PLGA 82/18, com atenolol, após o período do estudo de liberação, amostra M3.