

Gláucia Regina Medeiros

**MODELAGEM MATEMÁTICA DA LIBERAÇÃO DE  
COMPOSTOS HIDROFÍLICOS INCORPORADOS POR DUPLA  
EMULSÃO EM MICROPARTÍCULAS DE PLGA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sandra Regina Salvador Ferreira.

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Medeiros, Glaucia Regina

Modelagem matemática da liberação de compostos hidrofílicos incorporados por dupla emulsão em micropartículas de PLGA / Glaucia Regina Medeiros ; orientador, Bruno Augusto Mattar Carciofi ; co-orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira. - Florianópolis, SC, 2013.

99 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

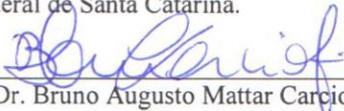
1. Engenharia de Alimentos. 2. Modelagem matemática. 3. Liberação controlada. 4. Micropartículas. 5. PLGA. I. Carciofi, Bruno Augusto Mattar. II. Ferreira, Sandra Regina Salvador. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

**"Modelagem matemática da liberação de compostos hidrofílicos incorporados por dupla emulsão em micropartículas de PLGA."**

Por

**Gláucia Regina Medeiros**

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



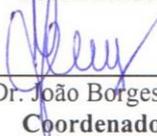
Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi

**Orientador**



Profª Drª Sandra Regina Salvador Ferreira

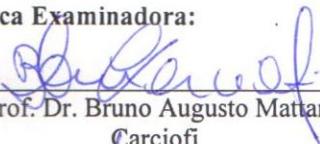
**Coorientadora**



Prof. Dr. João Borges Laurindo

**Coordenador**

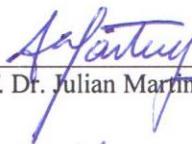
**Banca Examinadora:**



Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi



Profª Drª Angela Machado de Campos



Prof. Dr. Julian Martinez



Prof. Dr. Marco Di Luccio

**Florianópolis, 28 de março de 2013.**



*À minha mãe Elenira.*



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde e força em cada momento.

Aos meus orientadores, professor Bruno e professora Sandra, pela maneira atenciosa que sempre fui ouvida, pela dedicação e orientações sempre bem-vindas.

À minha mãe Elenira, pelo exemplo de mulher guerreira, pelos princípios e amor incondicional. À minha irmã Andressa, pelo apoio e motivação a cada passo. Ao Mauro, pela constante alegria, zelo e carinho com os filhos de sangue e de coração. Aos meus familiares, pela convivência e incentivo.

Ao Eduardo, pelo companheirismo, compreensão e carinho.

Ao Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pelo acolhimento e troca de experiências. Às queridas “meninas do Latesc”, por todo o apoio, pelos conselhos e bons momentos, em especial à Ana, Daniela, Kátia, Natália, Patrícia, Sara, Sibebe e Simone. À Damiana, pela organização do nosso cantinho.

À professora Angela, do Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia da UFSC, pela parceria e confiança. À Talitha, à Mariana e ao André, pela disponibilidade, incentivo e sugestões. Aos demais colegas do laboratório, pela divertida convivência.

Ao professor Edmar da Universidade Estadual de Maringá (UEM), pelas primeiras indicações no caminho da pesquisa. Aos professores do curso de Engenharia de Alimentos da UEM, pelo esforço e dedicação à profissão, sempre um bom exemplo a ser seguido.

Aos meus queridos amigos Karina, Jéssica Motta, Murilo, Flávia e Thaila, pela rara amizade e companheirismo. À Cissa e à Fabiana, pelos bons momentos compartilhados durante a graduação.

Aos demais amigos e colegas de Maringá, da graduação e pós-graduação, com os quais eu dividi uma parte da minha história.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PGEAL) da UFSC, pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho. Aos professores do PGEAL, pelos ensinamentos repassados. À Raquel, pela competência.

Aos professores Julian, Angela e Marco, pelas contribuições e enriquecimento do trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.



As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas. Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus caminhos.

(Clarice Lispector)



## RESUMO

A maioria dos compostos ativos apresenta instabilidade quando submetidos ao processamento industrial ou às condições ambientais. Para promover a sua estabilidade, uma alternativa é o encapsulamento em micropartículas poliméricas. Dentre os polímeros biodegradáveis, o poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) apresenta amplo uso, pois é aprovado para uso em humanos. O uso de modelos matemáticos auxilia na compreensão dos mecanismos de transferência de massa que controlam a liberação. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade descritiva de modelos matemáticos ajustados aos dados da liberação de compostos hidrofílicos a partir de micropartículas de PLGA, produzidas por dupla emulsão com extração/evaporação do solvente, identificando os principais mecanismos que controlam a liberação. O estudo envolveu o desenvolvimento e a caracterização de micropartículas de PLGA com metformina, um composto hidrofílico de baixa massa molar, e um estudo comparativo com dados da literatura provenientes da liberação do dextrano marcado com isotiocianato de fluoresceína (FD40), um composto hidrofílico de alta massa molar. As micropartículas de PLGA com metformina apresentaram formato esférico com estrutura matricial altamente porosa. O modelo matemático de liberação controlada por difusão baseado na lei de Fick foi o mais adequado para descrever os dados da liberação da metformina, segundo os critérios estatísticos: coeficiente de determinação ajustado ( $R_{aj}^2$ ), raiz do erro quadrático médio (RMSE) e critério de informação de Akaike corrigido (AICc), enquanto que o modelo matemático de liberação controlada por erosão, proposto por Batycky, apresentou o melhor ajuste aos dados da liberação do FD40, segundo os mesmos critérios. Considerando a rápida liberação *in vitro* da metformina a partir das micropartículas de PLGA, o mecanismo de erosão nesse sistema foi irrelevante e a liberação foi controlada por difusão. Por outro lado, a liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA foi lenta, uma vez que a estrutura da micropartícula precisou ser desintegrada para permitir a liberação do composto ativo. Neste caso, o mecanismo de controle foi o processo de degradação e erosão da matriz polimérica. Os mecanismos de transporte que controlam a liberação de compostos ativos a partir de uma mesma matriz polimérica definem as aplicações de um sistema de liberação controlada.

**Palavras-chave:** modelagem matemática; liberação controlada; micropartículas; PLGA.



## ABSTRACT

Most of the active compounds present instability when subjected to industrial processing or environmental conditions. In order to ensure their stability, an alternative is the encapsulation in polymeric microparticles. Among the biodegradable polymers, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) has been widely used, as it is approved for use in humans. The use of mathematical models provides insights concerning mass transport mechanisms that control the release. The purpose of this study was to evaluate the descriptive capacity of mathematical models fitted to hydrophilic compound release data from PLGA microparticles produced by double emulsion solvent extraction/evaporation technique, identifying the main mechanisms that control the release. The study involved the development and characterization of metformin-loaded PLGA microparticles, a hydrophilic compound of low molar mass, and a comparative study with literature data from fluorescein isothiocyanate labeled dextran (FD40) release, a hydrophobic compound of high molar mass. Metformin-loaded PLGA microparticles presented a spherical shape with highly porous matrix type structure. According to statistical criteria such as the adjusted coefficient of determination ( $R_{adjusted}^2$ ), the root mean squared error (RMSE), and the corrected Akaike's information criterion (AICc), the mathematical model of diffusion-controlled release based on Fick's law was suitable to describe metformin release data, while the mathematical model of erosion-controlled release, proposed by Batycky, presented the best fit to the FD40 release data. Considering the fast *in vitro* metformin release from PLGA microparticles, the erosion mechanism was negligible, and the main mechanism of control was the transport by diffusion. On the other hand, FD40 release from PLGA microparticles was slow, since the microparticle structure needed to be degraded to allow the active compound release. In this case, the mechanism of control was the degradation and erosion process of polymeric matrix. Transport mechanisms that control the active compound release from the same polymeric matrix define the application of a controlled release system.

**Keywords:** mathematical modeling; controlled release; microparticles; PLGA.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Síntese do PLGA por polimerização de abertura do anel dos dímeros cíclicos. ....	35
Figura 2.2. Ilustração esquemática dos processos de erosão de superfície e erosão de meio em polímeros degradáveis.....	38
Figura 2.3. Estrutura química da molécula de metformina. ....	40
Figura 2.4. Diferença morfológica entre os tipos de micropartículas....	41
Figura 2.5. Esquema ilustrativo do processo de emulsão simples com evaporação do solvente.....	43
Figura 2.6. Esquema ilustrativo do processo de dupla emulsão com evaporação do solvente.....	44
Figura 2.7. Mecanismos de liberação em micropartículas poliméricas. ....	45
Figura 2.8. Perfil trifásico e os mecanismos envolvidos na liberação do 5- fluorouracil a partir de micropartículas de PLGA. ....	47
Figura 3.1. Esquema de preparo das micropartículas de PLGA com metformina pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente. ....	58
Figura 3.2. Esquema ilustrativo do experimento de liberação <i>in vitro</i> de micropartículas de PLGA com metformina contidas em membrana de celulose reconstituída, com agitação magnética de 150 rpm e temperatura de 37°C em tampão fosfato pH 6,8.....	63
Figura 4.1. Distribuição do tamanho das micropartículas de PLGA com metformina.....	71
Figura 4.2. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com metformina antes da liberação <i>in vitro</i> , com diferentes escalas de ampliação. As colunas representam as morfologias externa (a) e interna (b).....	72
Figura 4.3. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com metformina após um dia de liberação <i>in vitro</i> , com diferentes escalas de ampliação. As colunas representam as morfologias externa (a) e interna (b).....	73
Figura 4.4. Evolução temporal da fração cumulativa de metformina liberada a partir das micropartículas de PLGA em tampão fosfato pH 6,8. As barras de erro indicam o desvio padrão da média.....	75
Figura 4.5. Ajuste dos modelos difusivo e da lei da potência aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA... ..	76
Figura 4.6. Ajuste dos modelos de Batycky, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg aos dados experimentais de liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.....	77

Figura 4.7. Resíduos dos ajustes dos modelos difusivo e da lei da potência aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA. ....	79
Figura 4.8. Resíduos dos ajustes dos modelos de Batycky, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg aos dados da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA. ....	80
Figura A.1. Curva analítica da metformina obtida por espectrofotometria de UV a 232 nm. As barras de erro indicam o desvio padrão da média. ....	95
Figura A.2. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com FD40 antes da liberação <i>in vitro</i> . As colunas representam as morfologias interna (a) e externa (b).. ....	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Polímeros biodegradáveis usados para a liberação de compostos. ....	34
Tabela 2.2. Expoente $n$ da lei da potência e o mecanismo de liberação para diferentes geometrias. ....	51
Tabela 3.1. Funções de ajuste e algoritmos de minimização utilizados no ajuste dos modelos matemáticos aos dados de liberação da metformina e do FD40 a partir de micropartículas de PLGA. ....	66
Tabela 4.1. Valores de rendimento, eficiência de encapsulamento (EE), percentual real de encapsulamento (PRE), diâmetro do volume médio ( $D_{4,3}$ ) e distribuição do tamanho (DT) das micropartículas de PLGA com metformina. ....	69
Tabela 4.2. Valores de massa, volume e massa específica real da metformina, do PLGA e das micropartículas de PLGA com metformina. ....	71
Tabela 4.3. Valores de SSE, $R_{aj}^2$ , RMSE, AICc e $\Delta_i$ para os modelos de liberação controlada ajustados aos dados da liberação da metformina e do FD40 a partir de micropartículas de PLGA. ....	78
Tabela 4.4. Valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por difusão aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA. ....	81
Tabela 4.5. Valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por erosão aos dados da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA. ....	82
Tabela A.1. Valores experimentais da liberação <i>in vitro</i> da metformina a partir das micropartículas de PLGA. ....	97
Tabela A.2. Valores experimentais da liberação <i>in vitro</i> da metformina pura. ....	97



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	Critério de informação de Akaike
AICc	Critério de informação de Akaike corrigido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DT	Distribuição do tamanho
EE	Eficiência de encapsulamento
FD40	Dextrano marcado com isotiocianato de fluoresceína com massa molar de $40000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
LAMEB II	Laboratórios Multiusuários de Estudos em Biologia centralizado em Microscopia e Técnicas Histológicas
LATESC	Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica
LCME	Laboratório Central de Microscopia Eletrônica
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
PGA	Poli(ácido glicólico)
pH	Potencial hidrogeniônico
PHBV	Poli(3-hidroxi butirato-co-3-hidroxi valerato)
PLA	Poli(ácido lático)
PLGA	Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)
PRE	Percentual real de encapsulamento
PVA	Álcool polivinílico
RMSE	Raiz do erro quadrático médio
SSE	Soma do quadrado dos erros
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV	Ultravioleta



## LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Unidade
$a_1$	Fase aquosa interna	-
$a_2$	Fase aquosa externa	-
$a_i$	Parâmetro assintótico	-
$a_s$	Parâmetro assintótico	-
$c_0$	Fração mássica inicial do composto	$\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$
$c_1$	Parâmetro de curvatura	-
$c_2$	Parâmetro de curvatura	-
$D$	Coefficiente de difusão	$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
$D_{0,1}$	Diâmetro para o qual 10% do diâmetro total das micropartículas está abaixo desse valor	$\mu\text{m}$
$D_{0,5}$	Diâmetro para o qual 50% do diâmetro total das micropartículas está abaixo desse valor	$\mu\text{m}$
$D_{0,9}$	Diâmetro para o qual 90% do diâmetro total das micropartículas está abaixo desse valor	$\mu\text{m}$
$D_{4,3}$	Diâmetro do volume médio	$\mu\text{m}$
$D_i$	Diâmetro da $i$ -ésima micropartícula	$\mu\text{m}$
$i$	Indicador dos modelos para a comparação do AIC	-
$j$	Fluxo mássico	$\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
$k$	Constante do modelo da lei da potência	$\text{h}^{-1}$
$k_d$	Constante de desorção	$\text{h}^{-1}$
$k_{ero}$	Constante da taxa de erosão	$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$
$l$	Dimensão característica	$\mu\text{m}$
$M_{am}$	Massa da amostra	$\text{mg}$
$M_{inc}$	Massa de metformina incorporada às micropartículas	$\text{mg}$
$M_{mp}$	Massa de micropartículas liofilizadas	$\text{mg}$
$M_{metf}$	Massa de inicial de metformina	$\text{mg}$
$M_{PLGA}$	Massa de inicial de PLGA	$\text{mg}$
$M_t$	Fração mássica de composto liberado no tempo $t$	$\text{mg}$
$M_\infty$	Fração mássica de composto liberado no tempo infinito	$\text{mg}$
$minAIC$	Modelo com o menor valor de AIC	-
$N$	Expoente do modelo de Hopfenberg	-
$n$	Expoente do modelo da lei da potência	-
$n_d$	Número de dados experimentais	-
$n_i$	Número da $i$ -ésima micropartícula	-
$o$	Fase oleosa	-
$P_1$	Pressão inicial da expansão do gás	$\text{atm}$

$P_2$	Pressão final da expansão do gás	atm
$p$	Número de parâmetros	-
$R$	Raio da micropartícula	$\mu\text{m}$
$R^2$	Coefficiente de determinação	-
$R_{aj}^2$	Coefficiente de determinação ajustado	-
$r$	Coordenada radial	-
$T_g$	Temperatura de transição vítrea	$^{\circ}\text{C}$
$T_m$	Temperatura de fusão	$^{\circ}\text{C}$
$t$	Tempo	h
$t_d$	Tempo da fase de indução	h
$V_{am}$	Volume da amostra	$\text{cm}^3$
$V_{cap}$	Volume da cápsula de alumínio	$\text{cm}^3$
$V_{exp}$	Volume da expansão do gás	$\text{cm}^3$
$y_{calc}$	Valores calculados	-
$y_{exp}$	Valores experimentais	-
$\Delta_i$	Diferença do valor de AIC entre dois modelos	-
$\rho$	Concentração mássica	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
$\rho_i$	Concentração mássica inicial	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
$\rho_{real}$	Massa específica real	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
$\rho_s$	Concentração mássica na superfície da micropartícula	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
$\Phi_b$	Fração mássica de composto liberado no <i>burst</i>	$\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>27</b>
1.1 OBJETIVO GERAL.....	28
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO.....	29
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>31</b>
2.1 POLÍMEROS.....	31
<b>2.1.1 Classificações.....</b>	<b>31</b>
<b>2.1.2 Aplicação em sistemas de liberação controlada.....</b>	<b>33</b>
2.2 PLGA.....	35
<b>2.2.1 Características.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.2 Degradação.....</b>	<b>37</b>
2.3 CLORIDRATO DE METFORMINA.....	39
2.4 MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	41
2.5 TÉCNICAS DE MICROENCAPSULAMENTO.....	41
2.6 MECANISMOS DE LIBERAÇÃO.....	44
2.7 PERFIS DE LIBERAÇÃO.....	46
2.8 MODELOS MATEMÁTICOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA... 48	
<b>2.8.1 Modelos para liberação controlada por difusão.....</b>	<b>48</b>
<b>2.8.2 Modelos para liberação controlada por erosão.....</b>	<b>51</b>
2.9 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE.....	54
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>57</b>
3.1 MATERIAIS.....	57
3.2 PREPARO DAS MICROPARTÍCULAS.....	57
<b>3.2.1 Quantificação da metformina por UV.....</b>	<b>59</b>
3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	59
<b>3.3.1 Eficiência de encapsulamento e percentual real de encapsulamento.....</b>	<b>59</b>
<b>3.3.2 Diâmetro médio e distribuição de tamanho.....</b>	<b>60</b>
<b>3.3.3 Morfologia externa e interna.....</b>	<b>61</b>

<b>3.3.4</b>	<b>Volume e massa específica real.....</b>	<b>62</b>
3.4	LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	63
3.5	ESTUDO DE CASO DA LITERATURA .....	64
3.6	ANÁLISES NUMÉRICAS.....	65
3.7	PARÂMETROS ESTATÍSTICOS .....	66
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS DE PLGA COM METFORMINA .....	69
4.2	AVALIAÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS .....	75
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>83</b>
5.1	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	84
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>85</b>
	<b>APÊNDICE A – Curva analítica da metformina .....</b>	<b>95</b>
	<b>APÊNDICE B – Valores experimentais da liberação <i>in vitro</i> da metformina .....</b>	<b>97</b>
	<b>ANEXO A – MEV das micropartículas de PLGA com FD40.....</b>	<b>99</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos ativos, principalmente os de origem natural, como os aromas, os pigmentos, os extratos, as enzimas e as vitaminas, além de alguns fármacos, quando são expostos aos fatores ambientais ou às condições de processamento industrial podem apresentar instabilidade e perderem as suas características nutricionais e funcionais. Uma alternativa para garantir a estabilidade e preservar essas propriedades é o encapsulamento em micropartículas poliméricas, constituindo um sistema polimérico de liberação controlada. Estes sistemas podem ser incorporados nos medicamentos, cujas principais aplicações tiveram início na década de 80 (BECK et al., 1983), nos alimentos industrializados, melhorando, por exemplo, o valor nutricional dos mesmos (NESTERENKO et al., 2012), nos cremes ou pomadas, para a aplicação tópica (DE JALON et al., 2001), entre outros. Assim, sua utilização acaba abrangendo as mais diversas áreas, como a alimentícia, a farmacêutica, a química, a cosmética e a têxtil.

Segundo Edlund e Albertsson (2002), os sistemas tradicionais de liberação de compostos ativos, encontrados principalmente na área farmacêutica, como os comprimidos ou as injeções intravenosas, administram a dose completa em uma única aplicação, resultando em elevadas concentrações plasmáticas que são, muitas vezes, próximas às tóxicas, ocasionando reações adversas, ou ainda, necessitam de uma alta dose para garantir que a quantidade requerida do composto ativo alcance o local de ação. Além disso, os curtos tempos de duração da dose requerem administrações repetitivas, promovendo flutuações na concentração do composto ativo dentro do organismo. Por outro lado, a administração do composto ativo a partir de um sistema polimérico de liberação controlada permite que a concentração plasmática terapêutica e apropriada seja mantida por um período de tempo prolongado. Outro benefício inclui a possibilidade desse sistema ser implantado ou injetado no local da doença, mantendo uma alta concentração local do composto ativo e reduzindo a sua distribuição sistêmica (DOMB, 1995).

O uso de polímeros biodegradáveis em sistemas de liberação controlada é vantajoso, uma vez que estes apresentam completa degradação no organismo, são biocompatíveis e atóxicos. Dentre eles, o poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) é um dos mais empregados na atualidade para a formulação de sistemas poliméricos de liberação controlada. Isto se deve, entre outras características, à sua versatilidade, uma vez que este polímero pode promover a liberação de compostos ativos de natureza simples ou complexa, que apresentem característica

tanto hidrofílica quanto hidrofóbica, além de proporcionar tempos de liberação que variam de poucos dias até meses.

O encapsulamento em micropartículas consiste em um processo desenvolvido para incorporar compostos ativos dentro de uma ou mais estruturas poliméricas, gerando produtos na ordem de grandeza micrométrica. Dentre as técnicas existentes, a dupla emulsão com evaporação do solvente é uma das mais comuns para a incorporação de compostos hidrofílicos em micropartículas de PLGA (PEPPAS, 1995).

Dependendo das características do composto ativo encapsulado, como a sua massa molar e polaridade, e da micropartícula formada, como a sua porosidade, diferentes mecanismos de transferência de massa podem controlar a liberação do composto ativo a partir de micropartículas de PLGA, gerando distintos comportamentos durante a liberação. A análise destes comportamentos pode ser realizada com o uso de modelos matemáticos, que auxiliam a identificação e a compreensão dos principais mecanismos que governam a liberação (SIEPMANN; FAISANT; BENOIT, 2002).

## 1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho consistiu em avaliar a capacidade descritiva de modelos matemáticos aplicados à liberação controlada do cloridrato de metformina e do FD40 (dextrano marcado com isotiocianato de fluoresceína) incorporados em micropartículas de PLGA produzidas pela técnica da dupla emulsão.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho estão listados abaixo:

- a) Preparar micropartículas de PLGA com cloridrato de metformina, como composto hidrofílico modelo, utilizando a técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente;
- b) Caracterizar as micropartículas de PLGA com cloridrato de metformina quanto à eficiência de encapsulamento, percentual real de encapsulamento, diâmetro médio, distribuição de tamanho, morfologias externa e interna, volume e massa específica real;
- c) Realizar a liberação *in vitro* do cloridrato de metformina a partir das micropartículas de PLGA, simulando o pH da região duodenal;

- d) Ajustar modelos matemáticos disponíveis na literatura para descrever os dados obtidos na liberação *in vitro* do cloridrato de metformina a partir das micropartículas de PLGA;
- e) Ajustar modelos matemáticos disponíveis na literatura para descrever os dados da liberação *in vitro* do FD40 a partir das micropartículas de PLGA, obtidos por Mao et al. (2007), caracterizando um estudo de caso;
- f) Identificar os mecanismos que controlam a transferência de massa durante a liberação de compostos hidrofílicos a partir de micropartículas de PLGA.

### 1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO

No Capítulo 2 está apresentada uma revisão da literatura sobre polímeros sintéticos biodegradáveis com aplicação em sistemas de liberação controlada, bem como a descrição da técnica da dupla emulsão para o preparo de micropartículas poliméricas. Ainda nesse capítulo, são descritos os principais mecanismos que controlam a liberação destes sistemas e os modelos matemáticos utilizados neste trabalho.

O Capítulo 3 apresenta os materiais e os métodos utilizados para a realização da parte experimental deste trabalho, a descrição do processo decisório envolvido na seleção dos dados de liberação controlada disponíveis na literatura e os parâmetros estatísticos utilizados para a avaliação dos ajustes dos modelos aos dados experimentais.

No Capítulo 4 são apresentados e discutidos os resultados referentes à caracterização das micropartículas poliméricas, bem como os ajustes dos modelos selecionados aos dados de liberação do cloridrato de metformina e do FD40.

O Capítulo 5 apresenta as conclusões com base na discussão dos resultados obtidos.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 POLÍMEROS

Os polímeros são macromoléculas formadas pela repetição de unidades pequenas e simples, os monômeros, através do processo de polimerização (BILLMEYER, 1971). Polímeros feitos a partir de uma única espécie monomérica são chamados de homopolímeros e aqueles que são feitos por combinações químicas de duas ou mais espécies monoméricas diferentes são chamados de copolímeros (MARK; ATLAS, 1977).

#### 2.1.1 Classificações

As macromoléculas podem ser classificadas de acordo com diferentes critérios, sendo um dos mais comuns a classificação entre materiais de origem natural ou sintética. A celulose, o amido, a seda, a quitina, a borracha natural, os polipeptídeos e os ácidos nucleicos são exemplos de polímeros de ocorrência natural, enquanto que o *nylon*, o baquelite, o silicone e os polietilenos são exemplos de polímeros sintéticos, ou seja, polímeros produzidos de forma artificial (BRAUN et al., 2005).

De acordo com English, Dang e Zhao (1999), as moléculas de um polímero podem estar dispostas de maneira (a) linear, com todos os monômeros unidos continuamente; (b) ramificada, quando alguns dos monômeros são unidos para formar ramos laterais a partir da cadeia polimérica principal, com vários níveis de ramificação; ou (c) com ligação cruzada, quando as cadeias poliméricas principais são interligadas covalentemente em diversos pontos.

Os polímeros também podem ser classificados como (a) termorrígidos, os quais passam por um processo de cura para torná-los rígidos e não amolecem com o aquecimento; (b) termoplásticos, com capacidade de amolecer quando sujeitos a um aumento de temperatura, mas se solidificam quando submetidos ao resfriamento, sendo que este processo pode ser repetido por diversas vezes; ou (c) elastoméricos, os quais, na temperatura ambiente, podem passar por deformações por repetidas vezes, mas quando o agente causador da deformação é removido, ele retorna ao seu tamanho original (MARK; ATLAS, 1977; ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999). Como regra geral, os polímeros lineares ou ramificados são termoplásticos, enquanto que os polímeros

com elevados níveis de ligações cruzadas são termorrígidos (MARK; ATLAS, 1977).

Quanto à composição química dos polímeros, a macromolécula pode ser classificada como (a) orgânica, quando contém apenas carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, halogênios e fósforo na cadeia principal; (b) organometálica ou semi-inorgânica, quando apresenta átomos de metais distribuídos na molécula ou quando não possui carbono na cadeia principal; ou (c) inorgânica, quando não apresenta carbono nas cadeias principal ou lateral (BRAUN et al., 2005; ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999).

Além disso, outra classificação pode ser feita quanto ao arranjo da molécula, considerando que os polímeros no estado sólido podem ser amorfos ou cristalinos. Polímeros cristalinos são caracterizados pela capacidade que seus segmentos de moléculas apresentam em formarem arranjos ordenados tridimensionais, seguindo um padrão de espaçamento entre as moléculas. Por outro lado, os polímeros amorfos não exibem uma ordem estrutural entre as suas cadeias (LEWIS, 1990). Contudo, até mesmo os polímeros cristalinos apresentam algumas regiões amorfas e, por isso, são chamados de polímeros semicristalinos. Neste caso, além da sua temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ), esses polímeros apresentam uma temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) (MARK; ATLAS, 1977). Para polímeros amorfos ou semicristalinos abaixo da  $T_g$ , a mobilidade das regiões amorfas está virtualmente ausente ou se torna muito lenta, fazendo com que o polímero apresente características de um vidro, como dureza, brilho e transparência (BILLMEYER, 1971; MARK; ATLAS, 1977). Se o polímero nesse estado é aquecido, a mobilidade dessas regiões é acelerada e, a partir da  $T_g$ , o movimento se torna mais vigoroso, fazendo com que o polímero passe de um estado vítreo, duro e quebradiço para um estado elastomérico, ou borrachoso, e mais flexível. Se o aquecimento é continuado, no caso dos polímeros semicristalinos, a  $T_m$  é alcançada ocasionando a fusão das regiões cristalinas (MARK; ATLAS, 1977).

Outra classificação está relacionada com a degradação polimérica, que é um processo resultante do conjunto de reações químicas que ocasionam a clivagem das principais ligações da cadeia, produzindo oligômeros e monômeros menores e/ou outros produtos de degradação de baixa massa molecular (EDLUND; ALBERTSSON, 2002). Um polímero é considerado biodegradável se a degradação é causada pela ação de enzimas e/ou decorrente da decomposição química associada aos organismos vivos, como bactérias e fungos (AMASS; AMASS; TIGHE, 1998). Dessa forma, os polímeros podem ser

classificados como biodegradáveis ou não biodegradáveis, dependendo se o polímero é ou não degradado sob condições biológicas, produzindo subprodutos que sejam toxicologicamente seguros (DOMB 1995; BENDIX, 1998). Alguns polímeros são absorvidos e excretados pelo sítio biológico com ausência de degradação. Tais polímeros são denominados bioabsorvíveis, para distingui-los dos biodegradáveis (ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999).

Além do mais, a reação de resposta para um material estranho que permaneça no organismo por um longo período de tempo é uma constante preocupação. Logo, todo o material polimérico, para ser incorporado no corpo humano, precisa ser biocompatível. Para tanto, um polímero deve preencher uma série de requisitos, dentre os quais ser atóxico, não carcinogênico, não mutagênico, não alergênico e livre de contaminantes, como aditivos, solventes ou resíduos da síntese. Para o caso dos polímeros biodegradáveis, seus produtos de degradação também devem ser biocompatíveis e não apresentarem resposta imunológica adversa (EDLUND; ALBERTSSON, 2002). Desta forma, a biocompatibilidade pode ser alcançada com o uso de polímeros cujos monômeros estejam presentes naturalmente no organismo, como é o caso do ácido lático e o ácido glicólico.

### **2.1.2 Aplicação em sistemas de liberação controlada**

Segundo Domb (1995), as características desejáveis de um polímero usado para a liberação de compostos são a mínima reação no local de ação, polímeros com alto grau de pureza e que apresentem um perfil de liberação confiável. Polímeros biodegradáveis devem apresentar degradação *in vivo* com uma taxa bem definida até seus produtos de degradação (DOMB, 1995), que devem ser moléculas de baixa massa molecular, hidrossolúveis, atóxicas, que sejam prontamente eliminadas ou metabolizadas pelo organismo (HELLER, 1980) e, quando possível, metabólitos de ocorrência natural do organismo (HAKKARAINEN; ALBERTSSON; KARLSSON, 1996).

Segundo Gilding e Reed (1979), o polímero poli(ácido glicólico) (PGA) foi utilizado inicialmente como a primeira sutura sintética absorvível em 1962. De acordo com Peppas (1995), no ano de 1971, o poli(ácido lático) (PLA) foi estudado como material biodegradável para promover a liberação de fármacos. Assim, principalmente nas últimas duas décadas, os poliésteres PLA, PGA e seus copolímeros, como o PLGA, têm sido os polímeros mais investigados para a liberação controlada de compostos ativos (LEWIS, 1990).

No entanto, diversos polímeros biodegradáveis estão disponíveis para o uso na liberação de compostos. Como apresentado na Tabela 2.1, esses polímeros são degradados em diferentes períodos de tempo, o qual é determinado pela natureza da ligação química do polímero e sua massa específica, a solubilidade dos produtos de degradação, além do tamanho e formato do sistema de liberação controlada (DOMB, 1995). Dentre os polímeros com potencial aplicação para a liberação de compostos ativos, o colágeno, os polianidridos e poliésteres derivados do ácido láctico e ácido glicólico são de considerável interesse para liberação com tempos relativamente curtos e pronta eliminação *in vivo* (KENLEY et al., 1987).

Tabela 2.1. Polímeros biodegradáveis usados para a liberação de compostos.

Polímero	Ligação polimérica	Principal produto de degradação	Tempo de degradação (meses) <sup>a</sup>
Poli(ácido láctico)	-CO-O-	Ácido láctico	12-24
Poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)	-CO-O-	Ácido láctico e ácido glicólico	2-12
Poli(ácido glicólico)	-CO-O-	Ácido glicólico	2-4
Poli(caprolactona)	-CO-O-	Ácido hidroxipentanoico	18-24
Poli(hidroxibutirato)	-CO-O-	Ácido hidroxibutírico	18-24
Poli(orto éster)	-CO-O-	Álcoois	12-24
Poli(anidrido alcano)	-CO-O-CO-	Diácidos alifáticos	0,2-4
Gelatina, colágeno	-CO-NH-	Aminoácidos	0,2-1
Celulose oxidada	-C-O-CH-O-	Álcoois, dióxido de carbono	0,2-1
Poli(fosfazeno)	-N=P-	Fosfatos, amônia	6-18

Fonte: Domb (1995).

<sup>a</sup> O tempo de eliminação varia dependendo do tamanho, formato, massa específica, local de inserção e massa molar da matriz polimérica.

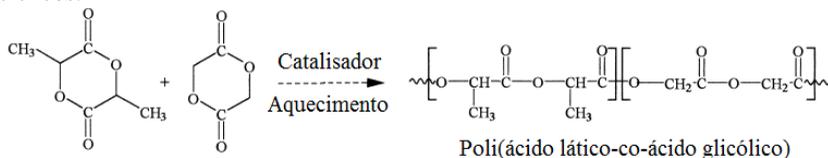
Considerando a classificação de polímeros proposta por English, Dang e Zhao (1999), a maioria dos polímeros utilizados na liberação controlada de compostos ativos é de origem orgânica, e apenas uma classe de polímeros semi-inorgânicos, os polisiloxanos, possui uso extensivo. No entanto, não existe nenhum polímero completamente inorgânico utilizado para esse tipo de aplicação, por não serem biocompatíveis.

## 2.2 PLGA

O poliéster PLGA é um copolímero sintético linear formado pela polimerização dos monômeros do ácido lático e do ácido glicólico, em diferentes proporções, por processo de esterificação (SCHNEIDER, 1955), e pode ser considerado como um dos polímeros mais investigados em termos de pesquisas, dados clínicos e dados toxicológicos disponíveis (LEWIS, 1990). Segundo Cohen, Chen e Apte (1995), os copolímeros do ácido lático e do ácido glicólico podem ser sintetizados por polimerização de abertura de anel dos dímeros cíclicos, como ilustrado na Figura 2.1, ou por condensação direta dos ácidos lático e glicólico.

As principais razões para o amplo uso do PLGA são a sua biodegradabilidade, biocompatibilidade com diversos tecidos fisiológicos (CHOI et al., 2002), além ser aprovado para uso clínico em humanos segundo o *Food and Drug Administration* (FDA), visando à liberação de compostos ativos (COHEN; CHEN; APTE, 1995). Outras razões ainda incluem sua disponibilidade comercial e solubilidade em solventes orgânicos voláteis comuns (LEWIS, 1990; WISCHKE; SCHWENDEMAN, 2008).

Figura 2.1. Síntese do PLGA por polimerização de abertura do anel dos dímeros cíclicos.



Dímero cíclico do ácido lático + Dímero cíclico do ácido glicólico

Fonte: Middleton e Tipton (2000).

### 2.2.1 Características

Por apresentar um carbono assimétrico, o ácido lático é uma molécula opticamente ativa e, portanto, o PLA pode ser encontrado nas formas D-PLA, L-PLA ou na forma racêmica<sup>1</sup> D,L-PLA. O isômero L é facilmente metabolizado pelo organismo, mas o isômero D não possui a mesma característica, sendo raramente usado para liberação de

<sup>1</sup> Forma opticamente inativa.

compostos. Polímeros produzidos dos isômeros opticamente puros são altamente cristalinos e não são facilmente hidrolisáveis, enquanto que o polímero racêmico é menos cristalino, sendo hidrolisado mais rapidamente. Por essas razões, o PLA racêmico é mais frequentemente usado para a liberação de compostos ativos (SMITH; SCHIMPF; THOMPSON, 1990). O PLA, devido à presença do grupo metil, é mais hidrofóbico do que o PGA (LEWIS, 1990), que por sua vez, é mais hidrofílico e facilmente hidrolisável (CHAW et al., 2003).

O PLGA forma estruturas poliméricas com baixa cristalinidade, que apresentam taxas de hidrólise controláveis, principalmente, pela razão molar dos seus monômeros (SMITH; SCHIMPF; THOMPSON, 1990). A proporção escolhida também é importante para a determinação da solubilidade e a absorção de água do polímero final (LEWIS, 1990). Em geral, o aumento na proporção do PGA acelera a taxa de degradação (WISE et al., 1987).

Os polímeros amorfos são caracterizados pela  $T_g$ , que representa o ponto de transição entre o estado vítreo e o borrachoso. O estado borrachoso está acima da  $T_g$  e, por representar uma estrutura com alta mobilidade molecular, está mais suscetível a mudanças físicas e químicas do que o estado vítreo. No estado borrachoso, a difusão do composto da matriz para o meio externo é mais fácil devido à alta mobilidade das cadeias poliméricas. O valor da  $T_g$  depende do tipo de polímero e da massa molar, mas a água e as interações polímero-composto podem reduzir a  $T_g$  do polímero (BLASI et al., 2005). Os PLGAs preparados a partir do L-PLA e PGA são copolímeros cristalinos, enquanto os preparados a partir do D,L-PLA e PGA são amorfos e apresentam  $T_g$  na faixa de 40 a 50°C (GILDING; REED, 1979; BENDIX 1998).

O PLGA pode ser encontrado com os grupamentos terminais ácido carboxílico ou éster. A característica do grupo terminal causa impacto na absorção de água e na taxa de degradação do polímero, sendo que o PLGA com grupamento ácido carboxílico absorve água mais rapidamente do que o PLGA com grupamento éster (TRACY et al., 1999). Assim, o grupo terminal ácido carboxílico deixa o polímero mais hidrofílico e suscetível à hidrólise. Por outro lado, grupos terminais esterificados reduzem a taxa de hidrólise do PLGA (HOUCHIN; TOPP, 2008).

Os polímeros de PLGA disponíveis para comercialização são geralmente caracterizados em termos da viscosidade intrínseca, que está diretamente relacionada à massa molar (JAIN, 2000). As massas molares de PLGA usadas para a liberação controlada são baixas,

geralmente inferiores a  $50000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e muito poucas acima de  $150000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (FREDENBERG et al., 2011). Uma vez que o PLGA é um polímero linear, a mobilidade geral das suas cadeias aumentará com a redução da massa molar e, portanto, um polímero com baixa massa molar permitirá que o composto se difunda mais rapidamente através da matriz polimérica (LIGGINS; BURT, 2001). Neste contexto, vale ressaltar que a massa molar de um polímero é completamente diferente da massa molar de um composto formado por uma molécula orgânica pequena. Polímeros são espécies com massas molares polidispersas e, portanto, o termo massa molar representa uma massa molar média (ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999).

### 2.2.2 Degradação

A taxa de degradação do PLGA está relacionada às suas propriedades como a massa molar inicial, a razão molar dos monômeros na cadeia polimérica, a  $T_g$  e a temperatura de armazenamento do polímero (HOUCHIN; TOPP, 2009). Contudo, o efeito da composição química do composto ativo incorporado na matriz polimérica de PLGA pode ser predominante no padrão da liberação, pois influencia a taxa de absorção de água e de degradação (FRANK; RATH; VENKATRAMAN, 2005), principalmente no caso dos compostos hidrofílicos que apresentem elevada massa molar (LEWIS, 1990).

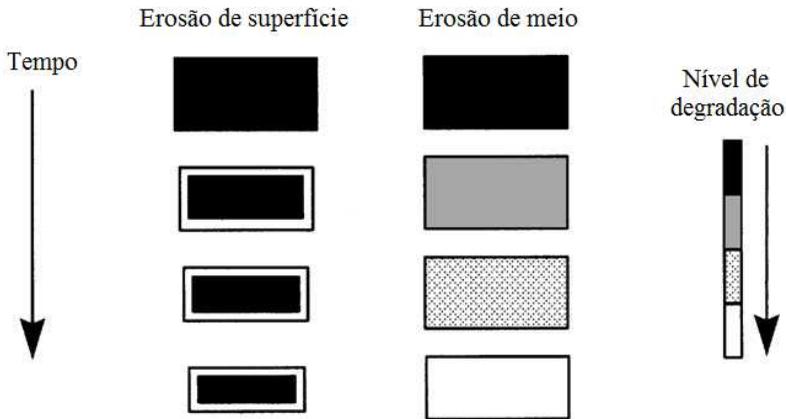
O papel do envolvimento enzimático na degradação do PLGA tem causado controvérsia. De acordo com Lewis (1990), a degradação desse polímero ocorre estritamente por hidrólise, ou seja, pela clivagem das ligações éster, sem nenhum envolvimento enzimático. Da mesma forma, Grijpma, Nijenhuis e Pennings (1990) não encontraram diferenças significativas entre a degradação *in vitro* e a degradação *in vivo* do PLGA, indicando que esta ocorre, predominantemente, através da hidrólise com a subsequente diminuição da massa molar do polímero, que tem início imediatamente após o contato com a água (SHENDEROVA; BURKE; SCHWENDEMAN, 1999).

A hidrólise do PLGA gera ácidos que, por sua vez, catalisam a hidrólise. Este fenômeno é conhecido como efeito autocatalítico que ocorre em matrizes de PLGA. Devido ao gradiente de concentração, os ácidos gerados na matriz se difundem para o meio de liberação, onde são neutralizados. Além disso, bases do meio externo difundem para dentro da matriz, neutralizando os ácidos gerados. Contudo, o processo de difusão é relativamente lento e, dependendo do comprimento do caminho de difusão e da mobilidade das espécies envolvidas, a

velocidade com que os ácidos são gerados pode ser maior do que a velocidade com que estes são neutralizados. Conseqüentemente, o pH no interior da matriz pode diminuir significativamente (SIEPMANN et al., 2005). Existem duas importantes conseqüências do efeito autocatalítico, sendo uma delas relacionada à estabilidade do composto ativo incorporado, que pode ser drasticamente afetada e a outra, relacionada à mobilidade das moléculas do composto ativo, que pode aumentar, resultando em um aumento na velocidade de liberação (GOPFERICH, 1996).

Segundo Gopferich (1996), para classificar polímeros degradáveis, uma distinção é feita entre materiais com erosão de superfície (ou heterogênea) e erosão de meio (ou homogênea), como apresentado na Figura 2.2.

Figura 2.2. Ilustração esquemática dos processos de erosão de superfície e erosão de meio em polímeros degradáveis.



Fonte: Burkersroda; Schedl e Gopferich (2002).

Neste sentido, as seguintes definições serão adotadas: o termo degradação faz menção ao processo de clivagem das ligações poliméricas, enquanto que a erosão representa a perda ou a saída do material pertencente à matriz polimérica para o meio externo. Assim, a degradação do polímero faz parte do seu processo de erosão. A degradação é um fenômeno químico controlado pela hidrólise enquanto que a erosão inclui fenômenos físicos, tais como difusão e dissolução dos componentes pertencentes à matriz (TAMADA; LANGER, 1993). A erosão dos polímeros degradáveis é caracterizada pela saída dos subprodutos da degradação, tais como oligômeros e monômeros, que

ocasionam a perda de massa da matriz polimérica. Se a difusão é mais rápida do que a hidrólise, a velocidade de entrada de água na matriz se torna maior do que a velocidade de degradação, fazendo com que este processo ocorra de maneira uniforme em toda a matriz, caracterizando um processo de erosão homogêneo, ou erosão de meio. Neste caso, o tamanho da matriz permanece constante por um longo período de tempo durante a sua aplicação. Entretanto, com o aumento da velocidade de degradação, a erosão se torna um fenômeno superficial, pois a água é consumida principalmente na superfície por hidrólise e o interior da matriz permanece praticamente inalterado, caracterizando um processo de erosão heterogêneo, ou erosão de superfície. Neste caso, a forma geométrica é mantida, mas o tamanho da matriz é reduzido (GOPFERICH 1996; 1997). Os polímeros com degradação rápida, como os polianidridos e os poli(orto ésteres), são considerados polímeros com erosão de superfície. Por outro lado, os polímeros que passam por um período inicial sem alterações e, após o início da erosão, apresentam uma rápida perda de massa em um curto período de tempo, como o L-PLA, D,L-PLA, D,L-PLGA e o poli( $\beta$ -hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), são considerados polímeros com erosão de meio (GOPFERICH, 1997).

Uma vez dentro do organismo, as cadeias poliméricas do PLGA são quebradas por hidrólise até seus ácidos monoméricos, o ácido lático e o ácido glicólico (LEWIS, 1990), os quais entram no ciclo do ácido tricarbóxico, também conhecido por ciclo de Krebs, no qual são metabolizados e eliminados do corpo na forma de dióxido de carbono e água. Apenas o ácido glicólico pode ser excretado inalterado pelos rins (BENDIX, 1998).

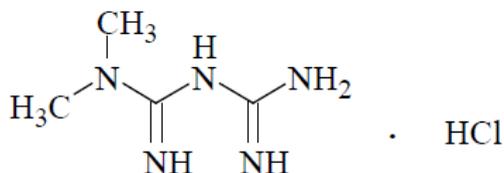
### 2.3 CLORIDRATO DE METFORMINA

O cloridrato de metformina (referido apenas como metformina neste trabalho) é um fármaco de administração oral usado no tratamento do diabetes mellitus independente de insulina (diabetes tipo 2) (BALAN et al., 2001). Considerando que a metformina apresenta pouco efeito na glicose sanguínea no estado normoglicêmico, este composto ativo é referido como agente anti-hiperglicêmico ao invés de hipoglicêmico (SCARPELLO; HOWLETT, 2008). No Brasil, a metformina é um importante fármaco para a política de saúde pública, pois ela ainda não é produzida por laboratórios oficiais do governo (BLOCK et al., 2008).

Quanto às suas propriedades físico-químicas, a metformina é classificada pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010) como um pó

cristalino, branco, facilmente solúvel em água e com massa molar de  $165,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . A sua solubilidade é maior do que  $300 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  em água a  $25^\circ\text{C}$  (BAROT et al., 2010) e, segundo Block et al. (2008), a solubilidade deste composto em soluções tampão nos pHs 4,5, 6,8 e 9,5 é superior a  $100 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** apresenta a estrutura química da molécula da metformina, que pode ser quantificada por técnicas convencionais, como a espectrofometria na região do ultravioleta (UV) (FARAGO et al., 2008) e a cromatografia líquida de alta eficiência (BRASIL, 2010).

Figura 2.3. Estrutura química da molécula de metformina.



Fonte: Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

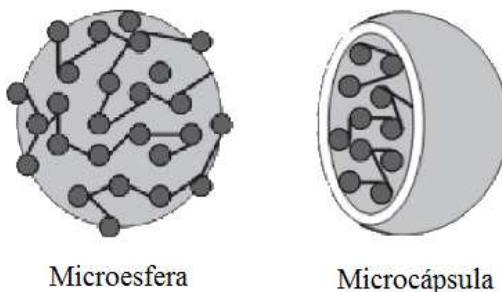
A metformina melhora a tolerância à glicose nos pacientes através da redução da glicose plasmática basal e pós-prandial (CHENG et al., 2004). No fígado, o principal efeito é a redução na saída da glicose hepática, devido à redução na velocidade da gliconeogênese (SCARPELLO; HOWLETT, 2008). A absorção oral deste composto ocorre na parte superior do intestino, ou seja, no duodeno, no jejuno e em menor quantidade no íleo (COLO; FALCHI; ZAMBITO, 2002). Por esta razão, o tratamento à base deste medicamento está geralmente associado com a incidência de efeitos colaterais gastrointestinais, tais como desconforto gástrico, náusea e diarreia (BALAN et al., 2001). Assim, uma alternativa promissora para reduzir esses efeitos colaterais é o encapsulamento da metformina em micropartículas poliméricas de liberação controlada, principalmente de formulações que apresentem uma rápida liberação inicial no estômago e completa no jejuno, onde ocorre a maior absorção do composto (COLO et al., 2002). Além disso, considerando que o valor de pH 6,8 é representativo da região entre o duodeno médio e o íleo (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002), a utilização de condições *in vitro* que simulem as condições fisiológicas naturais do local da liberação do composto ativo é de grande interesse.

## 2.4 MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Micropartículas poliméricas podem ser definidas como partículas sólidas esféricas com uma estrutura matricial interna. A maioria das micropartículas é obtida a partir da emulsificação de uma solução polimérica dispersa em uma fase aquosa, na forma de gotículas. A sua formação está baseada em um processo de separação de fases que ocorre nas gotículas dispersas, gerando esferas poliméricas sólidas precipitadas (DUBERNET, 1995).

Como ilustrado na Figura 2.4, o composto de interesse pode estar distribuído em toda a matriz polimérica, formando uma estrutura matricial também conhecida por microesferas, ou então, o composto ativo pode estar aprisionado em uma parede polimérica, que atua como uma membrana para o controle da difusão, formando uma estrutura nucleada também conhecida como microcápsulas (DOMB, 1995). A morfologia e a distribuição do composto ativo na micropartícula são determinadas principalmente pela técnica de preparo e pelas condições de formulação utilizadas (YANG; CHIA; CHUNG, 2000).

Figura 2.4. Diferença morfológica entre os tipos de micropartículas.



Fonte: Pimentel et al. (2007).

Micropartículas e nanopartículas poliméricas são classificadas com base nas suas dimensões. O diâmetro médio das micropartículas varia de 1 a 250  $\mu\text{m}$ , enquanto que o diâmetro médio das nanopartículas varia de 10 a 1000 nm (MUNDARGI et al., 2008).

## 2.5 TÉCNICAS DE MICROENCAPSULAMENTO

Geralmente, os sistemas de liberação controlada são constituídos de materiais poliméricos. Desta forma, a maioria das técnicas de

fabricação descreve o processamento desse tipo de material. No entanto, outros materiais, como ceras e gorduras, também podem ser utilizados (ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999). Além disso, um sistema polimérico biodegradável pode ser formulado em diferentes formas geométricas como, por exemplo, filmes flexíveis com geometria plana, comprimidos com geometria cilíndrica ou micropartículas com geometria esférica (DOMB, 1995). O microencapsulamento, cujas partículas formadas apresentam tamanho na ordem micrométrica, consiste em um processo de recobrimento de um composto ativo com o objetivo de promover melhorias nas suas propriedades físico-químicas e proteção dos compostos sensíveis aos fatores ambientais (ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999).

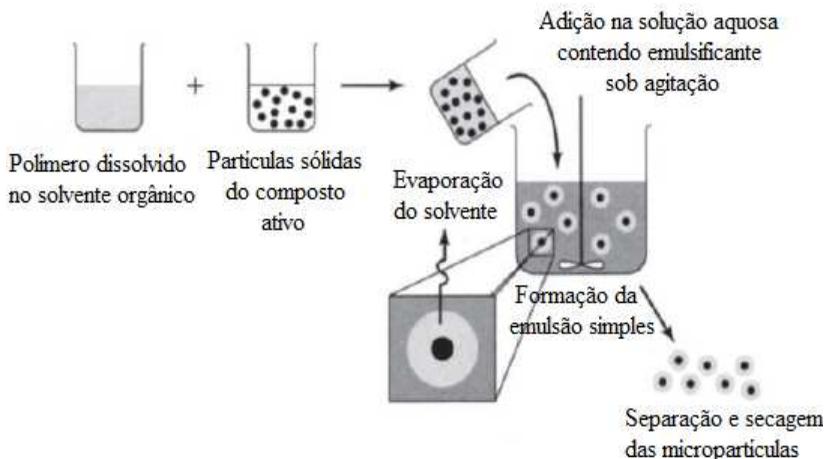
As principais técnicas são a coacervação, por *spray-drying*, envolvendo o uso de fluidos supercríticos e por evaporação do solvente (JAIN, 2000; WISCHKE; SCHWENDEMAN, 2008). Diferentes compostos ativos podem ser incorporados em micropartículas poliméricas por uma variedade de técnicas e a sua escolha depende, dentre outros fatores, da natureza do polímero e do composto a ser incorporado, o uso pretendido e as propriedades desejadas do produto final (ENGLISH; DANG; ZHAO, 1999; JAIN, 2000).

Técnicas envolvendo a evaporação do solvente são comumente usadas para encapsular compostos ativos em micropartículas de PLGA (GEZE et al., 1999), uma vez que não dependem de equipamentos complexos e são rápidas, dependendo basicamente da velocidade com que o solvente é removido (COHEN; CHEN; APTE, 1995). Dentre os solventes orgânicos voláteis utilizados para solubilizar o PLGA, o diclorometano é o mais utilizado, pois seu baixo ponto de ebulição, em torno de 40°C, facilita a etapa de remoção do solvente e permite que o processo seja conduzido em temperaturas amenas (DUBERNET, 1995). No entanto, as desvantagens da técnica são os perigos e a preocupação ambiental associadas ao uso de solventes orgânicos, além do possível resíduo de solvente no produto final (JAIN, 2000).

As duas principais técnicas de evaporação do solvente, a partir de uma emulsão, envolvem a formação de uma emulsão simples, do tipo óleo/água (o/a), ou de uma dupla emulsão, do tipo água/óleo/água (a<sub>1</sub>/o/a<sub>2</sub>), seguida pela eliminação do solvente. A escolha entre os dois métodos depende das características físicas e químicas do composto ativo a ser incorporado (LIMA; JUNIOR, 1999). Na emulsão simples, o composto deve ser hidrofóbico e, portanto, solúvel na fase orgânica. Do contrário, o método da dupla emulsão é mais adequado para compostos hidrofílicos (GEZE et al., 1999). No processo de emulsão simples, como

ilustrado na Figura 2.5, o PLGA é dissolvido em diclorometano e o composto ativo hidrofóbico é adicionado à solução contendo o polímero, produzindo uma solução do composto. Sob condições apropriadas de agitação, esta dispersão composto-polímero-solvente é emulsificada em uma solução aquosa contendo um agente emulsificante, como o álcool polivinílico (PVA), formando a emulsão (o/a) (MATHIOWITZ; KREITZ; PEPPAS, 1999). A finalidade do agente emulsificante é conferir estabilidade à emulsão, evitando a formação de agregados e a coalescência espontânea das gotículas da emulsão (CROTTS; PARK, 1995).

Figura 2.5. Esquema ilustrativo do processo de emulsão simples com evaporação do solvente.



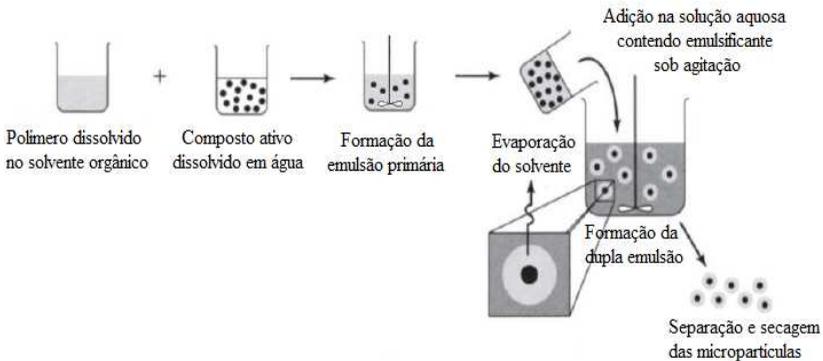
Fonte: Mathiowitz; Kreitz e Peppas (1999).

Para o processo da dupla emulsão, como apresentado na Figura 2.6, um pequeno volume de solução aquosa contendo o composto ativo hidrofílico é adicionado a uma solução orgânica de PLGA dissolvido em diclorometano, sob forte agitação, para formar a primeira emulsão ( $a_1/o$ ). Essa emulsão é adicionada a um grande volume de fase aquosa contendo um agente emulsificante, como o PVA, sob agitação moderada, para formar a segunda emulsão ( $a_1/o/a_2$ ) (JAIN, 2000).

Tanto a emulsão simples quanto a dupla emulsão, após a formação das gotículas, são sujeitas à evaporação e/ou extração para a remoção do solvente (MATHIOWITZ; KREITZ; PEPPAS, 1999). Para a evaporação do solvente, a emulsão pode ser mantida sob pressão

reduzida ou pressão atmosférica e a velocidade de agitação é reduzida, permitindo que o solvente evapore (JAIN, 2000). Para a extração do solvente, a emulsão é transferida para um grande volume de água, com ou sem agente emulsificante, permitindo que o solvente associado às gotículas sofra difusão para o meio aquoso e evapore na interface ar/água (CROTTS; PARK, 1995). Além disso, em contato com a fase aquosa, o PLGA precipita criando as micropartículas embrionárias, que serão solidificadas após a remoção do solvente orgânico (COHEN; CHEN; APTE, 1995). Ao final do processo de eliminação do solvente, as micropartículas sólidas são lavadas e coletadas por filtração ou centrifugação. Posteriormente, são secas sob condições apropriadas, ou então liofilizadas, fornecendo micropartículas na forma de pó (JAIN, 2000).

Figura 2.6. Esquema ilustrativo do processo de dupla emulsão com evaporação do solvente.



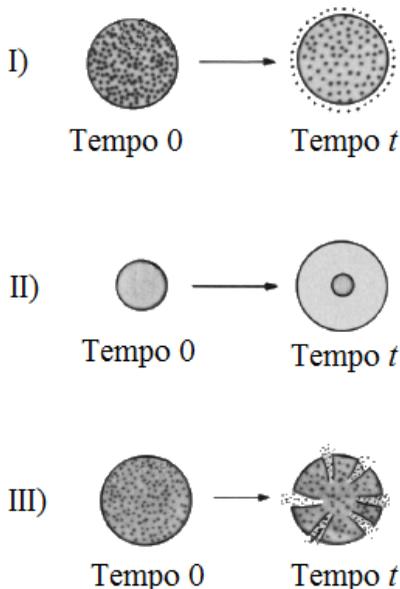
Fonte: Adaptado de Mathiowitz; Kreitz e Peppas (1999).

## 2.6 MECANISMOS DE LIBERAÇÃO

Segundo Sansdrap e Moës (1997), o termo mecanismo de liberação pode ser definido como a forma com que as moléculas do composto ativo são transportadas e/ou liberadas a partir de sistemas de liberação biodegradáveis, como é o caso do PLGA. Os mecanismos podem ser de natureza física ou química, nos quais a difusão está sempre envolvida (LEONG; LANGER, 1987).

Com base nos mecanismos de transferência de massa, os sistemas de liberação podem ser classificados em três principais tipos (ARIFIN; LEE; WANG, 2006), como apresentado na Figura 2.7:

Figura 2.7. Mecanismos de liberação em micropartículas poliméricas.



Fonte: Langer (1990).

- I) Sistemas controlados por difusão: o composto ativo incorporado pode ser liberado por difusão, após a sua dissolução, nos canais da micropartícula preenchidos por água ou através da estrutura polimérica (SANS DRAP; MOES, 1997);
- II) Sistemas controlados por intumescimento: o polímero quando entra em contato com a água intumescce, ou seja, suas regiões mais externas começam a inchar formando uma estrutura semelhante a um gel, permitindo que o composto ativo seja liberado por difusão (LANGER, 1990);
- III) Sistemas controlados por erosão: o composto ativo é liberado após a degradação e erosão da matriz polimérica (SANS DRAP; MOES, 1997).

O transporte através dos canais preenchidos por água é o meio mais comum de liberação, uma vez que o composto incorporado é geralmente uma molécula hidrofílica e, portanto, hidrossolúvel (DOMB, 1995). Por outro lado, o transporte através da fase polimérica (orgânica) pode ocorrer quando o composto é pequeno e hidrofóbico (RAMAN et al., 2005). O mecanismo predominante na liberação destes compostos é a difusão, ou seja, movimentos aleatórios das moléculas governados

pelo gradiente do potencial químico que, muitas vezes, é aproximado pelo gradiente de concentração (CUSSLER, 2009). Além disso, o composto ativo incorporado pode ser liberado devido à degradação e, conseqüentemente, erosão do polímero. O processo de erosão gera poros que facilitam a liberação de compostos maiores, como as macromoléculas, tanto hidrofílicas quanto hidrofóbicas (BATYCKY et al., 1997). A hidrólise das cadeias poliméricas causa redução na massa molar do polímero, aumentando assim, a mobilidade das cadeias. Como consequência, a difusão do composto também aumenta (SIEPMANN; SIEPMANN, 2006). Contudo, quando a erosão da matriz é lenta, a difusão se torna o principal mecanismo de liberação (ARIFIN; LEE; WANG, 2006).

## 2.7 PERFIS DE LIBERAÇÃO

O perfil de liberação é, em muitos casos, utilizado como a base para a avaliação dos mecanismos envolvidos na liberação de compostos ativos (FREDENBERG et al., 2011). O perfil de liberação desejado deve apresentar uma velocidade de liberação constante com o tempo. Entretanto, os perfis de liberação são complexos e podem apresentar mais de uma etapa de liberação (FREIBERG; ZHU, 2004).

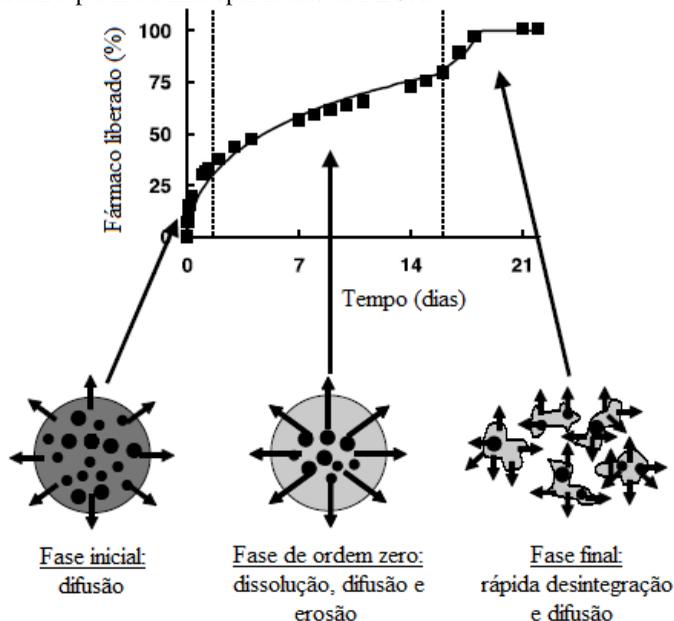
Geralmente, quando a liberação do composto ativo a partir de micropartículas de PLGA é controlada pelo mecanismo de erosão da matriz, a cinética da liberação apresenta um perfil trifásico (SIEPMANN; SIEPMANN, 2006). Na Figura 2.8, que ilustra a liberação do 5-fluorouracil a partir de micropartículas de PLGA, é possível a identificação dessas três fases, sendo:

- Fase I: caracterizada pela dissolução e difusão do composto ativo nos pontos iniciais. Em muitas formulações de liberação controlada, imediatamente após a colocação da matriz polimérica em contato com o meio de liberação, uma grande quantidade do composto ativo incorporado é liberada antes que a velocidade de liberação alcance um perfil estável. Este fenômeno é comumente referido como efeito *burst*. O efeito *burst* acarreta em uma elevada liberação inicial do composto ativo, além da redução do tempo de vida efetivo do sistema (HUANG; BRAZEL, 2001);
- Fase II: aproximada por uma liberação de ordem zero. Esta etapa resulta da superposição de, no mínimo, três fenômenos, sendo a dissolução do composto ativo e sua posterior difusão, além da erosão do polímero, acarretando em uma velocidade de liberação

aproximadamente constante. Considerando que nesta etapa o composto ativo está localizado no interior da micropartícula, o aumento no caminho de difusão é compensado pelo aumento da difusividade do composto que, por sua vez, é ocasionada pela clivagem das ligações poliméricas e pela formação de poros (SIEPMANN; FAISANT; BENOIT, 2002);

- Fase III: caracterizada por uma rápida e completa liberação do composto ativo. A rápida quebra da rede polimérica resulta na desintegração da micropartícula. Conseqüentemente, a área de contato aumenta e o caminho para difusão diminui. Ambos os efeitos resultam em um considerável aumento na velocidade de liberação do composto ativo (SIEPMANN; SIEPMANN, 2006).

Figura 2.8. Perfil trifásico e os mecanismos envolvidos na liberação do 5-fluorouracil a partir de micropartículas de PLGA.



Fonte: Siepmann e Siepmann (2006).

Segundo Siepmann, Faisant e Benoit (2002), a Fase III, muitas vezes chamada de segundo *burst*, ocorre apenas quando o composto ativo ainda está presente no interior da micropartícula no momento em que a estrutura polimérica começa a ser desintegrada. Se o *burst* inicial é mais intenso e/ou a subsequente liberação de ordem zero é mais rápida

e/ou a liberação do composto ativo é completada antes da perda da estrutura da micropartícula, o perfil de liberação resultante pode ser do tipo bifásico, no qual o mecanismo de difusão pode ser predominante, ou ainda monofásico, sendo caracterizado por uma cinética de ordem zero.

## 2.8 MODELOS MATEMÁTICOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

O uso de modelos matemáticos aplicados à liberação controlada, além de auxiliar na compreensão dos mecanismos de transferência de massa, possibilita a redução do número de testes experimentais, uma vez que o perfil de liberação de um composto ativo a partir de matrizes poliméricas pode ser predito usando uma aproximação numérica adequada (ARIFIN; LEE; WANG, 2006). Contudo, deve ser reconhecido que a cinética de liberação desses sistemas pode ser diferente dos sistemas macroscópicos desenvolvidos para a descrição matemática, uma vez que o comportamento observado na liberação de uma micropartícula é, na realidade, a soma da liberação de uma população de micropartículas que podem apresentar ligeiras diferenças entre si (MATHIOWITZ; KREITZ; PEPPAS, 1999).

Existem diversas teorias matemáticas disponíveis na literatura para aplicação no estudo da liberação controlada de compostos, incluindo modelos empíricos e mecanísticos. No primeiro caso, o tratamento matemático é puramente descritivo e seus parâmetros não apresentam significado físico. Por outro lado, o desenvolvimento de modelos mecanísticos é baseado em fenômenos como difusão, intumescimento ou erosão. Estes modelos permitem a determinação de parâmetros específicos do sistema, auxiliando a compreensão dos mecanismos envolvidos na liberação (SIEPMANN; SIEPMANN, 2008).

Quando as micropartículas são submetidas à liberação em um meio apropriado, uma consideração bastante aceitável é utilizada na modelagem matemática desses sistemas. Devido à agitação mecânica do meio de liberação, a velocidade do transporte convectivo é alta quando comparada com a velocidade do transporte por difusão, permitindo que o transporte por convecção seja desprezado ao calcular a taxa de liberação total do composto (SIEPMANN et al., 1998).

### 2.8.1 Modelos para liberação controlada por difusão

A liberação de compostos ativos a partir de micropartículas poliméricas, mais especificamente das microesferas, tem sido descrita

em termos da solução analítica da lei de Fick de difusão proposta por Crank (1975), para sistemas com concentração inicial menor do que a concentração de saturação do composto ativo no sistema (HARLAND et al., 1988), ou em termos das expressões simplificadas da equação de Higuchi, para o caso de sistemas com concentração inicial maior do que a concentração de saturação (HIGUCHI, 1961).

A primeira lei de Fick para soluções diluídas é usada para descrever a difusão unidimensional em estado estacionário, considerando que não há convecção na mesma direção (CUSSLER, 2009). A teoria matemática da difusão para compostos isotrópicos é baseada na hipótese de que a taxa de transferência do composto ativo por unidade de área de seção é proporcional ao gradiente de concentração (CRANK, 1975). A Equação 2.1 apresenta o caso para a difusão radial em coordenadas esféricas (CUSSLER, 2009).

$$j = -D \frac{d\rho}{dr} \quad (2.1)$$

sendo  $j$  o fluxo mássico,  $\rho$  a concentração mássica,  $D$  o coeficiente de difusão e  $r$  a coordenada radial.

Combinando a equação da primeira lei de Fick e a equação da continuidade para o composto ativo que está difundindo, considerando que não há reação de geração ou consumo, a Equação 2.2 pode ser obtida em coordenadas esféricas, considerando  $D$  constante, uma vez que a difusão está ocorrendo em soluções diluídas (CRANK, 1975).

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = D \left( \frac{\partial^2 \rho}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial \rho}{\partial r} \right) \quad (2.2)$$

na qual  $t$  representa o tempo.

A Equação 2.2 pode ser resolvida considerando as seguintes condições inicial e de contorno:

$$(i) \ t = 0; \ 0 < r < R; \ \rho = \rho_i \quad (2.3)$$

$$(ii) \ t > 0; \ r = 0; \ \frac{\partial \rho}{\partial r} = 0 \quad (2.4)$$

$$(iii) \ t > 0; \ r = R; \ \rho = \rho_s \quad (2.5)$$

sendo  $R$  o raio da micropartícula,  $\rho_i$  a concentração mássica inicial e  $\rho_s$  a concentração mássica na superfície da micropartícula, que neste caso é

igual a zero, considerando que a liberação do composto ativo na superfície é instantânea. Estas três condições consideram que (i) o composto ativo está uniformemente distribuído e a sua concentração inicial está abaixo da concentração de saturação do sistema; (ii) a micropartícula apresenta simetria na origem da direção radial e a sua dimensão é constante durante todo o período de liberação e; (iii) a concentração na superfície da micropartícula é mantida constante durante a liberação, uma vez que a resistência à transferência de massa por convecção na superfície é desprezível.

Na Equação 2.6 está apresentada a solução da Equação 2.2, calculada em termos da concentração mássica média integrada na posição, proposta por Crank (1975).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{1}{i^2} \exp\left(\frac{-i^2 \pi^2 D t}{R^2}\right) \quad (2.6)$$

na qual  $M_t$  e  $M_\infty$  denotam, respectivamente, a fração mássica de composto liberado no tempo  $t$  e no tempo infinito. Nesta equação,  $D$  é o parâmetro ajustado e  $R$  é o parâmetro fornecido ao modelo. Além disso, tanto para este quanto para os demais modelos,  $M_t$  representa a variável dependente,  $t$  é a variável independente e  $M_\infty$  é um parâmetro fornecido ao modelo.

A relação exponencial da lei da potência foi inicialmente apresentada por Peppas e colaboradores em 1983 para descrever o perfil de liberação de compostos ativos a partir de matrizes poliméricas, cujo desenvolvimento foi baseado nas soluções analíticas da lei de Fick de difusão (RITGER; PEPPAS, 1987a). A Equação 2.7 apresenta a lei da potência, que pode ser aplicada para sistemas com geometrias planas, cilíndricas ou esféricas.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (2.7)$$

sendo  $k$  uma constante que incorpora as características geométricas do sistema e  $n$  representa o expoente de liberação, que pode ser indicativo do mecanismo de liberação (RITGER; PEPPAS, 1987a). Nesta equação, os parâmetros  $k$  e  $n$  são ajustados pelo modelo.

De acordo com Ritger e Peppas (1987a), a relação entre o expoente  $n$  e o mecanismo de liberação correspondente é dependente da

geometria do sistema, como apresentado na Tabela 2.2. O valor de  $n = 1$  significa que a liberação do composto ativo não é dependente do tempo, independente da geometria do sistema. Esta relação é conhecida por cinética de ordem zero e pode ser obtida na liberação de compostos ativos a partir de sistemas com morfologia de microcápsula ou para sistemas controlados por intumescimento (NARASIMHAN; MALLAPRAGADA; PEPPAS, 1999). Para a geometria plana, como os filmes poliméricos, a fração de composto ativo liberada por difusão é proporcional à raiz quadrada do tempo (LEONG; LANGER, 1987). Para as geometrias cilíndricas e esféricas cuja liberação seja controlada por difusão, o expoente  $n$  possui os valores máximos de 0,45 e 0,43, respectivamente, como observado experimentalmente por Ritger e Peppas (1987a). No entanto, a relação entre o expoente  $n$  e o mecanismo difusivo de liberação é válida apenas para 60% da liberação total do composto ativo. Para todas as geometrias, o transporte anômalo representa uma fase intermediária que corresponde à sobreposição do mecanismo difusivo com a cinética de ordem zero (RITGER; PEPPAS, 1987a).

Tabela 2.2. Expoente  $n$  da lei da potência e o mecanismo de liberação para diferentes geometrias.

Expoente $n$			Mecanismo de liberação
Filme	Cilindro	Esfera	
0,5	0,45	0,43	Difusão
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 1,0$	$0,43 < n < 1,0$	Transporte anômalo
1,0	1,0	1,0	Cinética de ordem zero

Fonte: Ritger e Peppas (1987a).

## 2.8.2 Modelos para liberação controlada por erosão

Os poliésteres formam a classe dos polímeros com erosão de meio comumente estudados. Por isso, a maioria dos modelos matemáticos que considera a erosão é baseada nesses polímeros (SACKETT; NARASIMHAN, 2011). Sistemas de liberação controlados por erosão incluem todas as formulações poliméricas em que a difusão do composto ativo é controlada pela desintegração da matriz polimérica (NARASIMHAN; MALLAPRAGADA; PEPPAS, 1999).

Batycky et al. (1997) propuseram um modelo para a erosão de micropartículas de PLGA, produzidas pela técnica da dupla emulsão,

contendo glicoproteína incorporada como composto ativo hidrofílico. A erosão e, posteriormente, a liberação da glicoproteína, é controlada pela taxa de degradação da matriz. Sabendo que a glicoproteína é uma macromolécula hidrossolúvel, o modelo incorpora uma fase de indução que ocorre quando a porosidade inicial da micropartícula é baixa e, portanto, evita a liberação da glicoproteína por difusão até que os poros estejam disponíveis em grande quantidade (BATYCKY et al., 1997). A fração de glicoproteína liberada é expressa de acordo com a Equação 2.8, válida para micropartículas com geometria esférica contendo compostos hidrofílicos macromoleculares incorporados à sua matriz.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \Phi_b [1 - \exp(-k_d t)] - (1 - \Phi_b) \left[ 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{1}{i^2} \exp\left(\frac{-i^2 \pi^2 D(t - t_d)}{R^2}\right) \right] \quad (2.8)$$

sendo  $\Phi_b$  a fração mássica de composto ativo liberado no *burst* inicial,  $k_d$  a constante de desorção do composto ativo e  $t_d$  o tempo da fase de indução. Nesta equação,  $D$ ,  $k_d$  e  $t_d$  são os parâmetros ajustados, enquanto que  $\Phi_b$  e  $R$  são os parâmetros fornecidos ao modelo.

A partir da Equação 2.8, é possível perceber que o último termo da equação é ligeiramente diferente da solução analítica da lei de Fick, devido à introdução do parâmetro  $t_d$ . Antes deste tempo, o composto ativo não estará disponível para difusão, fazendo com que o último termo da equação seja desprezível. Após o  $t_d$ , que marca o início da degradação da matriz e a formação de poros maiores, o composto ativo será liberado por difusão através dos poros da micropartícula.

Em 1976, Hopfenberg derivou expressões para a liberação de compostos ativos a partir de matrizes poliméricas controladas pelo mecanismo de erosão (HOPFENBERG, 1976). Seu desenvolvimento é baseado na consideração de que a taxa de erosão é proporcional à área do sistema que muda continuamente com o tempo (NARASIMHAN; MALLAPRAGADA; PEPPAS, 1999). Este modelo tem sido mais aplicado para matrizes poliméricas com erosão de superfície, pois considera que a taxa de liberação é controlada pelos processos de dissolução na superfície (ARIFIN; LEE; WANG, 2006). A equação geral do modelo de Hopfenberg, apresentada na Equação 2.9, é válida para a liberação unidimensional em diferentes geometrias, como placas, cilindros ou esferas, com difusividade constante e concentração inicial

do composto ativo abaixo da concentração de saturação do meio de liberação (HOPFENBERG, 1976).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_{ero}t}{c_0l}\right)^N \quad (2.9)$$

na qual  $k_{ero}$  representa a constante da taxa de erosão,  $c_0$  é a fração mássica inicial uniforme do composto ativo na matriz polimérica,  $l$  denota a dimensão característica do sistema, ou seja, a meia espessura de um filme, o raio inicial de um cilindro ou o raio inicial de uma esfera e o expoente  $N$  é determinado pela geometria do sistema e apresenta valores iguais a 1 para filmes, 2 para cilindros e 3 para esferas (HOPFENBERG, 1976; RITGER; PEPPAS, 1987b). Nesta equação,  $k_{ero}$  é o parâmetro ajustado e os parâmetros  $c_0$ ,  $l$  e  $N$  são fornecidos ao modelo.

Geralmente, o perfil de liberação de micropartículas poliméricas com erosão apresenta um padrão trifásico (SIEPMANN et al., 2002), como apresentado na Figura 2.8 da Seção 2.7 deste capítulo, o qual se assemelha a uma sigmoide. Por esta razão, os modelos sigmoidais logístico simples e de Gompertz podem ser aplicados neste caso.

A principal característica do modelo logístico é a simetria em torno do ponto de inflexão e seu cálculo pode ser obtido através da Equação 2.10 (BERGER, 1981).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{a_s}{1 + \left(\frac{a_s}{a_i} - 1\right) \exp(-c_1t)} \quad (2.10)$$

sendo  $a_s$  e  $a_i$  os parâmetros com a tendência da assíntota superior e inferior, respectivamente, e  $c_1$  o parâmetro que controla o formato da curva, sendo todos estes ajustados pelo modelo.

O modelo proposto por Gompertz foi primeiramente usado para calcular as taxas de mortalidade humana em 1825 (GOMPERTZ, 1825). Embora a curva de Gompertz seja similar à curva do modelo logístico simples, ela não é simétrica em torno do ponto de inflexão (WINSOR, 1932) e pode ser expressa de acordo com a Equação 2.11.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = a_s \exp[-c_2 \exp(-c_1t)] \quad (2.11)$$

sendo  $c_2$  o parâmetro que controla o formato da curva, ajustado pelo modelo.

## 2.9 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE

Segundo a revisão bibliográfica apresentada neste trabalho, a produção de micropartículas poliméricas contendo um composto ativo incorporado à sua matriz é um tema que tem despertado interesse industrial, principalmente nas áreas alimentícia, farmacêutica, cosmética, entre outras.

Considerando que a maioria dos compostos ativos apresenta sensibilidade térmica ou, em alguns casos, seu uso direto pode acarretar em efeitos colaterais, o encapsulamento destes em micropartículas poliméricas de PLGA pode conferir estabilidade e proteção ao composto ativo de interesse, garantindo que este permaneça no produto final após o processamento industrial, por exemplo, ou ainda reduzindo possíveis efeitos adversos. No entanto, a principal limitação atual do uso das micropartículas de PLGA em escala industrial está relacionada ao elevado custo do polímero.

Além do mais, a quantificação de compostos naturais requer o uso de técnicas sofisticadas, uma vez que estes componentes são complexos e podem apresentar mais de um marcador químico, por exemplo. Neste sentido, a utilização da metformina como composto hidrofílico modelo se fez necessária, por ser uma molécula relativamente simples e de fácil quantificação. Entretanto, o potencial farmacêutico das micropartículas de PLGA com metformina também pode ser destacado, considerando que este tipo de sistema de liberação controlada possibilita a redução dos efeitos colaterais associados à administração oral da metformina para o tratamento do diabetes tipo 2.

O presente trabalho buscou, a partir do uso de modelos matemáticos de liberação controlada, identificar e compreender os mecanismos de transferência de massa que controlam a liberação de compostos ativos hidrofílicos incorporados em micropartículas de PLGA. Para isso, a técnica da dupla emulsão ( $a_1/o/a_2$ ) com extração/evaporação do solvente foi aplicada para a produção de micropartículas de PLGA com metformina, as quais foram caracterizadas e a sua liberação *in vitro* foi avaliada em pH e condições de agitação e temperatura semelhantes ao da região duodenal. Além disso, um estudo comparativo foi realizado com dados da literatura provenientes da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA produzidas de forma semelhante pela técnica da dupla emulsão. Os

perfis resultantes da liberação *in vitro* da metformina e do FD40 foram comparados aos modelos matemáticos de liberação controlada por difusão ou por erosão, com base na identificação do mecanismo predominante.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

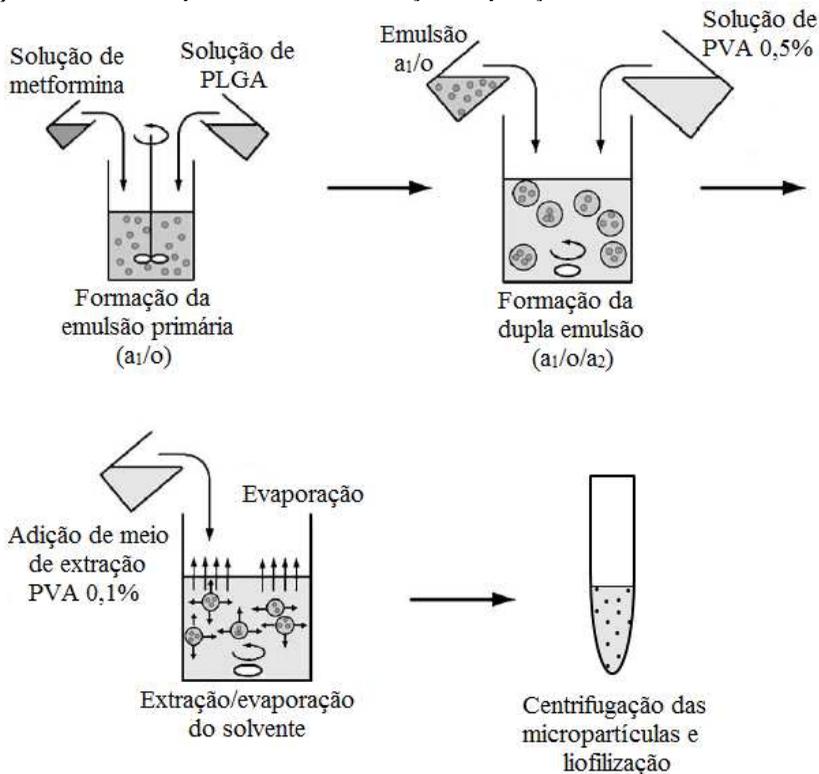
Os materiais utilizados neste trabalho foram: PLGA 50:50 com grupamento terminal ácido carboxílico (Resomer RG 503H, Boehringer Ingelheim, Alemanha), gentilmente cedido pela Evonik Degussa Brasil, cloridrato de metformina (Lote NR 407118, Aarti Drugs Ltd, Índia) e PVA (Mowiol 40-88, Sigma-Aldrich, Alemanha). Estes materiais foram utilizados como recebidos, não sendo submetidos a nenhum tipo de tratamento prévio. O PLGA foi mantido sob refrigeração, a metformina em dessecador e o PVA foi armazenado em local apropriado, garantindo que estes materiais não apresentassem alterações por interferência da luz, calor ou umidade. Os demais reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico.

#### 3.2 PREPARO DAS MICROPARTÍCULAS

Os procedimentos de preparo e caracterização das micropartículas foram realizados no Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

As micropartículas de PLGA com metformina foram preparadas por extração/evaporação do solvente usando a técnica da dupla emulsão ( $a_1/o/a_2$ ), descrita por Lamprecht et al. (2004), como apresentado na Figura 3.1. Inicialmente, 150 mg de metformina foram solubilizados em 500  $\mu$ L de água destilada, a fase aquosa interna ( $a_1$ ) e adicionados em uma fase orgânica (o), constituída de 500 mg de PLGA dissolvidos em 5 mL de diclorometano. A emulsão primária ( $a_1/o$ ) foi homogeneizada usando um Ultra-Turrax (T 25 Basic, IKA-Werke, Alemanha) a 17500 rpm por 2 minutos. Esta emulsão foi novamente emulsificada com 75 mL de uma solução aquosa de agente emulsificante PVA 0,5%, a fase aquosa externa ( $a_2$ ), com agitação magnética a 900 rpm (ARE, VELP Scientifica, Itália) durante 5 minutos para a formação da dupla emulsão ( $a_1/o/a_2$ ). Para a extração do diclorometano associado às gotículas da emulsão, foram adicionados 100 mL de solução aquosa de PVA 0,1% no béquer contendo a dupla emulsão, o qual foi mantido em banho-maria a 40°C com agitação magnética a 300 rpm (Agitador magnético DI-06 com banho termostatizado, Dist, Brasil) para a evaporação do solvente por aproximadamente 1 hora, ou até que o solvente fosse completamente removido.

Figura 3.1. Esquema de preparo das micropartículas de PLGA com metformina pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente.



Fonte: Adaptado de Siepmann e Siepmann (2006).

As micropartículas solidificadas foram separadas por centrifugação (4K 15, Sigma, Alemanha) a 4500 rpm durante 5 minutos, as quais foram lavadas com água destilada e centrifugadas, sendo este procedimento repetido por três vezes para remover o PVA das micropartículas e a metformina não incorporada. Após a centrifugação, as micropartículas foram transferidas para frascos de vidro, contendo um pequeno volume de água, para serem congeladas e liofilizadas (LD 1500, Terroni, Brasil) por 24 horas para a obtenção dos pós. Os frascos contendo as micropartículas liofilizadas foram mantidos em dessecador. O procedimento de preparo foi repetido oito vezes para a obtenção de massa de micropartículas suficiente para a realização das análises. Estas oito formulações foram misturadas homogeneamente para garantir a uniformidade das amostras.

Como apresentado na Equação 3.1, o rendimento do preparo das micropartículas foi calculado pela razão entre a massa de micropartículas liofilizadas no final do processo ( $M_{mp}$ ) e a soma das massas iniciais de metformina ( $M_{metf}$ ) e PLGA ( $M_{PLGA}$ ), todas expressas em mg. O resultado foi expresso em porcentagem na forma de média  $\pm$  desvio padrão das oito formulações.

$$Rendimento = \frac{M_{mp}}{M_{metf} + M_{PLGA}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.2.1 Quantificação da metformina por UV

A partir de uma solução mãe de metformina na concentração de  $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , obtida através da pesagem de 10 mg de metformina e solubilização em 100 mL de água destilada em balão volumétrico, foram preparadas diluições nas concentrações de 2,5, 4, 5, 6, 8 e  $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , utilizando água destilada como solvente, semelhante às condições de análise apresentadas por Farago et al. (2008). As diluições foram preparadas em triplicata e analisadas em espectrofotômetro de absorção no UV (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 232 nm.

A curva analítica de absorbância por concentração de metformina foi obtida pelas médias das absorbâncias referentes a cada concentração utilizada. Por análise de regressão linear, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi igual a 0,999. A curva analítica e a equação da reta estão apresentadas no Apêndice A deste trabalho.

## 3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

### 3.3.1 Eficiência de encapsulamento e percentual real de encapsulamento

A metodologia para a determinação da eficiência de encapsulamento (EE) e do percentual real de encapsulamento (PRE) das micropartículas de PLGA com metformina foi baseada nos estudos de Priamo et al. (2010) e Santos (2012).

Cerca de 20 mg de micropartículas foram pesadas em triplicata e dissolvidas em 1 mL de diclorometano. A mistura foi deixada em banho ultrassom (USC 700, Unique, Brasil) por 30 minutos ou até que as micropartículas estivessem completamente dissolvidas. Foram adicionados 5 mL de água destilada para a extração da metformina, com

posterior agitação em vórtex durante 5 minutos e centrifugação (4K 15, Sigma, Alemanha) a 2500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi analisado por espectrofotômetro de UV (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 232 nm. Água destilada foi utilizada como branco. A equação da reta da curva analítica da metformina, obtida na Seção 3.2.1 deste capítulo, foi utilizada para o cálculo da massa de metformina contida no volume de amostra analisado.

A EE é definida como a razão entre a massa de metformina incorporada às micropartículas ( $M_{inc}$ ) e a massa inicial de metformina utilizada na formulação, expressas em mg. O percentual da EE foi calculado pela Equação 3.2 e o resultado expresso como média  $\pm$  desvio padrão da triplicata.

$$EE = \frac{M_{inc}}{M_{metf}} \times 100 \quad (3.2)$$

O PRE ou a carga de metformina representa a fração mássica de metformina, em mg, incorporada em 100 mg de micropartículas, como apresentado pela Equação 3.3. O PRE foi expresso como média  $\pm$  desvio padrão da triplicata.

$$PRE = \frac{M_{inc}}{M_{mp}} \times 100 \quad (3.3)$$

### 3.3.2 Diâmetro médio e distribuição de tamanho

O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das micropartículas foram avaliados pela técnica da difração de raio *laser* (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Reino Unido), com luz monocromática vermelha a partir de um *laser* de hélio-neon com o comprimento de onda igual a 633 nm. Nesta técnica, o ângulo de difração do feixe incidente é inversamente proporcional ao tamanho das partículas a serem medidas. Assim, esta se torna uma medida indireta que depende das propriedades óticas do material a ser estudado (ZENG, 2011). Para a realização das análises, as amostras foram dispersas em água destilada com o auxílio de ultrassom. A faixa de medição do equipamento variou de 0,02 – 2000  $\mu\text{m}$ .

Os resultados foram expressos em diâmetro do volume médio ( $D_{4,3}$ ), que corresponde ao diâmetro médio de uma esfera com mesmo volume das micropartículas analisadas (QUARCIONI, 2008), e

distribuição de tamanho (DT), que representa a distribuição do tamanho das micropartículas relativa ao diâmetro mediano (MIRHOSSEINI; AMID, 2012), como apresentado pelas Equações 3.4 e 3.5, respectivamente. Segundo Mogi et al. (2000), valores de DT iguais ou menores do que uma unidade indicam uma baixa dispersão do diâmetro das micropartículas.

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i D_i^4}{\sum n_i D_i^3} \quad (3.4)$$

$$DT = \frac{D_{0,9} - D_{0,1}}{D_{0,5}} \quad (3.5)$$

sendo que o parâmetro  $n_i$  representa o número de micropartículas com diâmetro  $D_i$ , e os parâmetros  $D_{0,1}$ ,  $D_{0,5}$  e  $D_{0,9}$  representam os diâmetros das micropartículas para os quais 10%, 50% e 90% do total das micropartículas apresentam diâmetros inferiores aos valores indicados.

### 3.3.3 Morfologia externa e interna

A morfologia externa das micropartículas, antes e após a exposição ao meio de liberação, foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (JSM-6390LV, Jeol, Japão) no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC. As amostras foram fixadas em um suporte metálico por meio de uma fita adesiva de carbono dupla face e recobertas com uma fina camada de ouro, sob vácuo. A visualização foi realizada em aumentos de 50 a 4000 vezes, com uma tensão de 10 kV.

Para a visualização da morfologia interna das micropartículas antes e após a liberação, foram obtidas seções transversais utilizando técnica da criosecção, semelhante ao procedimento apresentado por Wong, Wang e Wang (2001). A técnica foi realizada em um dos Laboratórios Multiusuários de Estudos em Biologia centralizado em Microscopia e Técnicas Histológicas (LAMEB II) da UFSC. Para a obtenção das seções transversais, as micropartículas foram incluídas em meio para congelamento (Jung Tissue Freezing Medium, Leica Microsystems, Alemanha) e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas. Cortes com 5  $\mu\text{m}$  de espessura do bloco congelado foram realizados em um criostato equipado com micrótomo (CM1850 UV, Leica Microsystems, Alemanha), sendo posteriormente fixados na fita adesiva do suporte

metálico, que estava à temperatura ambiente, causando o derretimento do meio usado para congelamento e a adesão das micropartículas seccionadas à superfície.

### 3.3.4 Volume e massa específica real

A massa específica real da micropartícula, do PLGA e da metformina, separadamente, foi determinada por picnômetro de gás hélio (AccuPyc II 1340, Micromeritics, Estados Unidos) no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) da UFSC. O gás hélio é preferencialmente empregado por apresentar um comportamento ideal em pressões relativamente baixas e temperatura constante. Quando a pressão do gás dentro da câmara do picnômetro é reduzida de uma pressão inicial ( $P_1$ ) até a pressão final ( $P_2$ ), após a inserção da cápsula contendo a amostra, o gás dentro do sistema passa por uma expansão volumétrica (KENG, 1970). A massa das amostras ( $M_{am}$ ) foi determinada em balança analítica com precisão de 0,0001 g (AY220, Shimadzu, Japão). As amostras estavam contidas em cápsulas de alumínio com volume de 10 cm<sup>3</sup>. A Equação 3.6 apresenta o cálculo do volume da amostra (VIANA et al., 2002).

$$V_{am} = V_{cap} - \frac{V_{exp}}{P_1/P_2 - 1} \quad (3.6)$$

na qual, os parâmetros  $V_{am}$ ,  $V_{cap}$  e  $V_{exp}$  denotam, respectivamente, o volume da amostra, da cápsula e da expansão, em cm<sup>3</sup>.

Uma vez que a massa da amostra contida na cápsula é fornecida ao equipamento, a massa específica real da amostra ( $\rho_{real}$ ) é calculada a partir da divisão da massa pelo volume, em g·cm<sup>-3</sup>, como apresentada pela Equação 3.7.

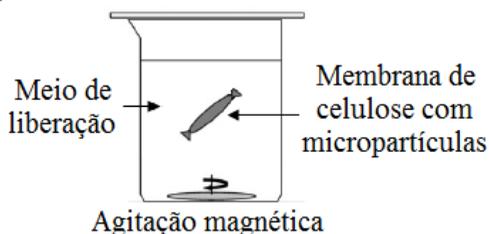
$$\rho_{real} = \frac{M_{am}}{V_{am}} \quad (3.7)$$

Os resultados para o volume e para a massa específica real foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão de dez medições, definidas pelo equipamento.

### 3.4 LIBERAÇÃO *IN VITRO*

A liberação *in vitro* da metformina a partir das micropartículas de PLGA foi realizada com o auxílio de uma membrana de celulose reconstituída, para garantir que as micropartículas ficassem submersas no meio de liberação. Foram pesados 200 mg de micropartículas e transferidos para o interior da membrana. Este sistema foi submerso em 50 mL de tampão fosfato no pH 6,8, o meio de liberação, contido em frascos de vidro, os quais foram mantidos em banho-maria a 37°C com agitação magnética a 150 rpm (Agitador magnético DI-06 com banho termostaticado, Dist, Brasil), semelhante ao procedimento descrito por Klose et al. (2010). Uma representação esquemática do experimento de liberação *in vitro* está ilustrada na Figura 3.2. O procedimento foi realizado em triplicata mantendo a condição de equilíbrio na qual a solubilidade do composto ativo não foi fator limitante para a liberação, ou seja, mantendo a concentração do composto ativo abaixo de 10% da sua concentração de saturação no meio de liberação (condição *sink*). Neste trabalho, a concentração de metformina estava abaixo de 1% da concentração de saturação.

Figura 3.2. Esquema ilustrativo do experimento de liberação *in vitro* de micropartículas de PLGA com metformina contidas em membrana de celulose reconstituída, com agitação magnética de 150 rpm e temperatura de 37°C em tampão fosfato pH 6,8.



Fonte: Adaptado de Wischke e Schwendeman (2008).

Nos intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas de 1 mL do meio de liberação foram coletadas, sendo imediatamente repostas pelo mesmo volume de meio de liberação puro. As amostras foram analisadas por espectrofotômetro de UV (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 232 nm. A concentração de metformina na alíquota foi obtida pela equação da curva analítica, descrita na Seção 3.2.1 deste capítulo. Os resultados foram expressos como a média, da triplicata, da fração

cumulativa de metformina liberada, em  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ , *versus* tempo, em horas.

Separadamente, este procedimento experimental foi realizado apenas com a metformina pura contida na membrana de celulose reconstituída a fim de garantir que esta não representou uma barreira à liberação da metformina incorporada nas micropartículas de PLGA. Para isto, foram pesados 5 mg de metformina e transferidos para o interior da membrana de celulose. O sistema foi submerso em 100 mL de tampão fosfato pH 6,8, contido em frasco de vidro, e mantido em banho-maria sob as mesmas condições do experimento de liberação *in vitro*. Nos tempos de 15, 30, 60 e 120 minutos, uma alíquota de 1 mL do meio de liberação foi retirada, sendo imediatamente reposta pelo mesmo volume de meio puro. As amostras foram analisadas por espectrofotômetro de UV (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 232 nm e a concentração de metformina foi obtida utilizando a equação da curva analítica. O resultado foi expresso pela fração cumulativa de metformina liberada, em  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ , *versus* tempo, em horas.

### 3.5 ESTUDO DE CASO DA LITERATURA

Para complementar o estudo dos modelos matemáticos de liberação controlada, buscou-se na literatura dados da cinética de liberação de compostos hidrofílicos a partir de micropartículas de PLGA, adotando os seguintes critérios:

- (i) Utilização de polímero PLGA 50:50 com grupamento terminal ácido carboxílico, especificamente o RG 503H;
- (ii) Composto ativo com caráter hidrofílico;
- (iii) Micropartículas formadas pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente.

Com base nesses critérios de seleção, foram encontrados os seguintes trabalhos:

(a) Micropartículas de PLGA 503H com zolpidem puro, um agente hipnótico de caráter hidrofílico utilizado no tratamento da insônia, ou formando um complexo com a hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, formadas pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente. A liberação dos compostos ativos foi completa em 24 horas (TRAPANI et al., 2003);

(b) Micropartículas de PLGA 503H com clodronato, um bifosfonato de caráter hidrofílico com aplicação no tratamento de doenças ósseas, preparadas pela técnica da dupla emulsão com

extração/evaporação do solvente. A liberação completa do composto ativo ocorreu em 48 horas (PERUGINI et al., 2001);

(c) Micropartículas de PLGA 503H com FD40, um polissacarídeo usado como composto hidrofílico modelo, produzidas pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente. Aproximadamente 80% do composto ativo foi liberado no período de 75 dias (MAO et al., 2007).

Dos três trabalhos mencionados, apenas o trabalho de Mao et al. (2007) apresentou um período de liberação maior do que dois dias, além de um perfil trifásico, tornado interessante a aplicação dos modelos matemáticos de liberação controlada por erosão a estes dados. Desta forma, os valores do  $D_{4,3}$  e do PRE do FD40, respectivamente, iguais a  $33,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$  e  $0,88 \pm 0,04\%$ , obtidos por Mao et al. (2007), foram utilizados como parâmetros para a implementação dos modelos.

### 3.6 ANÁLISES NUMÉRICAS

O método de regressão não linear foi utilizado para estimar os valores dos parâmetros que minimizam a soma dos quadrados dos erros (SSE), ou seja, as distâncias verticais entre os valores experimentais ( $y_{exp}$ ) e os valores ajustados pelo modelo ( $y_{calc}$ ), como apresentado na Equação 3.8. O ajuste dos modelos matemáticos aos dados da liberação da metformina e do FD40 foi realizado aplicando o método de regressão não linear através de rotinas computacionais implementadas no *software* Matlab (R2011b versão 7.13.0.564, Mathworks, Estados Unidos).

$$SSE = \sum (y_{exp} - y_{calc})^2 \quad (3.8)$$

Os modelos selecionados para cada conjunto de dados, a função de ajuste e o algoritmo utilizado para resolver o problema de regressão não linear estão apresentados na Tabela 3.1. Os modelos matemáticos baseados na lei de Fick e na lei da potência, que descrevem o mecanismo de difusão, foram ajustados aos dados da liberação da metformina, enquanto que os modelos de Batycky, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg, que descrevem o mecanismo de erosão, foram ajustados aos dados da liberação do FD40. A estimativa inicial para cada parâmetro foi selecionada a partir da observação das curvas experimentais ou por tentativa.

Os modelos da lei da potência, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg foram ajustados pela função *fit*, e os modelos difusivo e de

Batycky, por apresentarem um somatório na equação, foram ajustados pela função *fminsearch*.

Tabela 3.1. Funções de ajuste e algoritmos de minimização utilizados no ajuste dos modelos matemáticos aos dados de liberação da metformina e do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.

Dados experimentais	Modelos	Função	Algoritmo
Metformina	Difusivo	<i>Fminsearch</i>	Simplex de Nelder-Mead
	Lei da potência	<i>Fit</i>	Região de confiança
FD40	Batycky	<i>Fminsearch</i>	Simplex de Nelder-Mead
	Gompertz	<i>Fit</i>	Região de confiança
	Logístico	<i>Fit</i>	Região de confiança
	Hopfenberg	<i>Fit</i>	Região de confiança

### 3.7 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS

Os parâmetros estatísticos adotados para avaliar a capacidade dos modelos em representar os dados experimentais foram o coeficiente de determinação ajustado ( $R_{aj}^2$ ), a raiz do erro quadrático médio (RMSE) e o critério de informação de Akaike corrigido (AICc).

O  $R_{aj}^2$  pode ser utilizado para comparar o ajuste de modelos com diferentes números de parâmetros, uma vez que o  $R^2$  tende a aumentar com o aumento do número de parâmetros, independente do seu significado (COSTA; LOBO, 2001). A Equação 3.9 apresenta o cálculo do  $R_{aj}^2$  e, tão melhor será o ajuste quanto mais próximo da unidade estiver seu valor.

$$R_{aj}^2 = 1 - (1 - R^2) \frac{(n_d - 1)}{(n_d - p)} \quad (3.9)$$

na qual  $n_d$  e  $p$  denotam, respectivamente, o número de dados experimentais e de parâmetros do modelo.

O RMSE avalia a diferença entre os valores ajustados pelo modelo e os valores observados (DRAPER; SMITH, 1966), conforme a Equação 3.10. Quanto menor o valor do RMSE, melhor será o ajuste do modelo aos dados experimentais.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (y_{exp} - y_{calc})^2}{n_d}} \quad (3.10)$$

O Critério de Informação de Akaike (AIC) é utilizado para selecionar modelos que apresentem diferentes números de parâmetros, com base nos quesitos de exatidão do ajuste e simplicidade do modelo. Para o caso de dois modelos que apresentem valores semelhantes de SSE, o AIC penalizará o modelo com maior número de parâmetros (AKAIKE, 1973), como mostra a Equação 3.11. O valor numérico do AIC para um único modelo não é significativo ou descritivo, pois este critério está fundamentado na classificação de modelos (CHATTERJEE; HADI, 2006).

$$AIC = n_d \left[ \ln \left( \frac{SSE}{n_d} \right) \right] + 2p \quad (3.11)$$

Para conjunto de dados menores, ou seja, quando a razão  $n_d/p$  for menor do que 40, o valor do AIC corrigido (AICc) se torna mais adequado. A Equação 3.12 apresenta o cálculo do AICc, proposta por Hurvich e Tsai (1989).

$$AICc = AIC + \frac{2(p+2)(p+3)}{n_d - p - 3} \quad (3.12)$$

Sabendo que o AIC está em uma escala relativa, um procedimento comum é calcular a diferença entre o modelo com o menor valor de AIC dentre todos os modelos testados ( $minAIC$ ) e o valor de AIC para o modelo  $i$  ( $AIC_i$ ), de acordo com a Equação 3.13 (BURNHAM; ANDERSON, 1998). Este cálculo facilita a identificação do melhor modelo e a classificação dos restantes.

$$\Delta_i = AIC_i - minAIC \quad (3.13)$$

Modelos com  $\Delta_i \leq 2$  podem ser tratados como igualmente adequados. No entanto, isso não significa que esses modelos são os melhores, apenas na escala relativa do AIC eles representam de maneira mais satisfatória o conjunto de dados estudados. Maiores valores de  $\Delta_i$  indicam uma diferença entre os ajustes fornecidos pelos modelos. Neste

caso, o modelo com o menor valor de AIC deve ser adotado (BURNHAM; ANDERSON, 1998).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a caracterização das micropartículas de PLGA com metformina e para a avaliação do ajuste dos modelos matemáticos aos dados de liberação *in vitro* da metformina e do FD40 são apresentados a seguir.

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS DE PLGA COM METFORMINA

As micropartículas de PLGA com metformina produzidas por extração/evaporação do solvente usando a técnica da dupla emulsão foram caracterizadas quanto ao rendimento, à eficiência de encapsulamento (EE), ao percentual real de encapsulamento (PRE), ao diâmetro do volume médio ( $D_{4,3}$ ) e à distribuição do tamanho (DT), como apresentado na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Valores de rendimento, eficiência de encapsulamento (EE), percentual real de encapsulamento (PRE), diâmetro do volume médio ( $D_{4,3}$ ) e distribuição do tamanho (DT) das micropartículas de PLGA com metformina.

Rendimento (%) <sup>a</sup>	EE (%) <sup>b</sup>	PRE (%) <sup>b</sup>	$D_{4,3}$ ( $\mu\text{m}$ ) <sup>c</sup>	DT <sup>c</sup>
71 ± 2	1,4 ± 0,1	0,33 ± 0,02	243,495	1,015

<sup>a</sup> Média ± desvio padrão de oito medições;

<sup>b</sup> Média ± desvio padrão de três medições.

<sup>c</sup> Medição única. Algarismos significativos fornecidos pelo equipamento.

Os valores de rendimento do preparo de micropartículas podem variar dependendo da técnica e dos materiais utilizados na formulação. Neste trabalho, o valor de rendimento foi próximo aos valores encontrados por Mao et al. (2007) e por Perugini et al. (2001), respectivamente, iguais a 70 e 76% para micropartículas de PLGA com composto hidrofílico produzidas pela técnica da dupla emulsão.

Assim com o rendimento, a EE pode variar dependendo do composto ativo encapsulado, do polímero e das condições de liberação utilizadas. Entretanto, o valor obtido neste trabalho pode ser considerado baixo em relação a outros valores encontrados na literatura, que variam de 46% (WENK et al., 2009) até 97% (OSTER et al., 2005) para compostos hidrofílicos incorporados em micropartículas de PLGA por dupla emulsão. Uma possível explicação para a baixa EE obtida está na tendência natural que o composto hidrofílico possui em sair das

gotículas da emulsão primária ( $a_1/o$ ) por difusão até a fase aquosa externa ( $a_2$ ), por apresentar maior afinidade por esta, durante a etapa de remoção do solvente (TAKEUCHI; YAMAMOTO; KAWASHIMA, 2001). Para Yeo e Park (2004), a perda de composto ativo ocorre enquanto a fase polimérica permanece em um estado de transição entre a forma líquida e a sólida. Se a solubilidade do composto ativo na fase aquosa externa é maior do que na fase polimérica, o composto facilmente será transportado por difusão durante este estado. Por outro lado, quando um composto hidrofóbico é incorporado em micropartículas de PLGA pela técnica da emulsão simples ( $o/a$ ), por exemplo, uma maior EE pode ser obtida considerando que este composto possui maior afinidade pela fase orgânica, fazendo com que não haja perdas para a fase aquosa externa (HOMBREIRO-PEREZ et al., 2003).

Perez et al. (2001) observaram que um baixo valor de EE pode ocasionar um baixo valor para o PRE do composto ativo de caráter hidrofílico na micropartícula, resultado também observado neste trabalho. Klose et al. (2010) obtiveram valores para o PRE entre 4 e 6% em micropartículas de PLGA com ibuprofeno, lidocaína ou cloridrato de propranolol, produzidas pelo método da dupla emulsão. Entretanto, valores mais baixos de PRE foram encontrados por Gómez et al. (2008), no valor de 0,076%, e por Kasturi et al. (2006), no valor de 0,026%, ambos para plasmídeos de DNA incorporados em micropartículas de PLGA. Uma vantagem relacionada ao baixo PRE foi observada por Klose, Delplace e Siepmann (2011), cujo valor abaixo de 3% garantiu que a carbamazepina estivesse molecularmente dispersa na micropartícula de PLGA, sem a formação de agregados ou a deposição de cristais na superfície da matriz polimérica.

Considerando que a rota de administração determina o tamanho das micropartículas e levando em conta a viabilidade do uso das micropartículas de PLGA com metformina para o tratamento do diabetes tipo 2, o diâmetro obtido ( $D_{4,3}$ , Tabela 4.1), associado à baixa dispersão do tamanho (Figura 4.1) e ao valor de DT próximo a um indica a adequação destas micropartículas para a administração pela via oral.

Como apresentado na Tabela 4.2, os valores obtidos para a massa específica real das micropartículas, da metformina e do PLGA foram próximos. Entretanto, o menor volume de amostra contido na cápsula de alumínio obtido para as micropartículas em relação aos demais volumes observados para o PLGA e para a metformina (Tabela 4.2), indica a possível ocorrência de um fenômeno superficial de repulsão nas

micropartículas. Este fenômeno possivelmente impediu a compactação das micropartículas dentro da cápsula de alumínio, além de impedir a imersão das mesmas no meio de liberação, justificando a necessidade do uso da membrana de celulose no experimento de liberação *in vitro*. A massa específica real do PLGA 503H, o mesmo polímero usado neste trabalho, obtida por Blasi et al. (2005) foi de  $1,5804 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , cerca de 9% maior do que a encontrada no presente trabalho. Por outro lado, Almería et al. (2010) obtiveram valores aproximadamente 8% menores para a massa específica real de micropartículas de PLGA com rodamina, que variaram desde 1,370 até  $1,373 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ .

Figura 4.1. Distribuição do tamanho das micropartículas de PLGA com metformina.

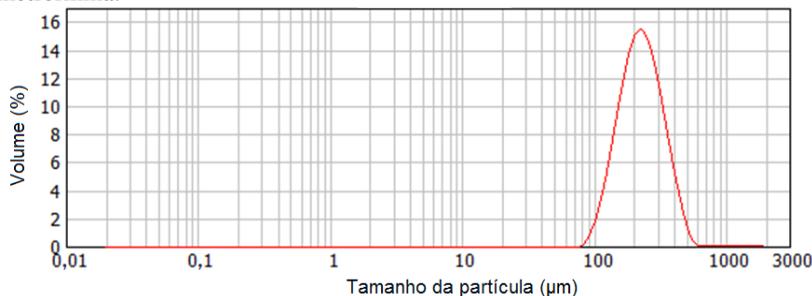


Tabela 4.2. Valores de massa, volume e massa específica real da metformina, do PLGA e das micropartículas de PLGA com metformina.

	Massa (g)	Volume ( $\text{cm}^3$ ) <sup>a</sup>	Massa específica ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) <sup>a</sup>
Metformina	5,3062	$3,760 \pm 0,003$	$1,411 \pm 0,001$
PLGA	1,5002	$1,037 \pm 0,002$	$1,447 \pm 0,003$
Micropartícula	1,1555	$0,777 \pm 0,004$	$1,497 \pm 0,008$

<sup>a</sup> Média  $\pm$  desvio padrão de dez medições.

As micropartículas de PLGA com metformina apresentaram formato esférico, com superfície e estrutura interna porosa, além da ausência de núcleos ociosos antes da liberação *in vitro*, como pode ser observado na Figura 4.2. A ausência dos núcleos ociosos no interior da micropartícula pode estar relacionada à presença do agente emulsificante PVA, que evitou a coalescência das gotículas da emulsão, conferindo a morfologia de microesferas, característica da técnica de preparo utilizada. Além disso, a ausência de cristais de metformina

depositados na superfície da micropartícula indica a distribuição homogênea do composto ativo. À medida que a metformina é liberada para o meio externo, ocorre um aumento no número de poros e de canais interligados, permitindo a liberação do composto ativo remanescente na micropartícula (YANG; CHUNG; NG, 2001), como apresentado na Figura 4.3.

Figura 4.2. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com metformina antes da liberação *in vitro*, com diferentes escalas de ampliação. As colunas representam as morfologias externa (a) e interna (b).

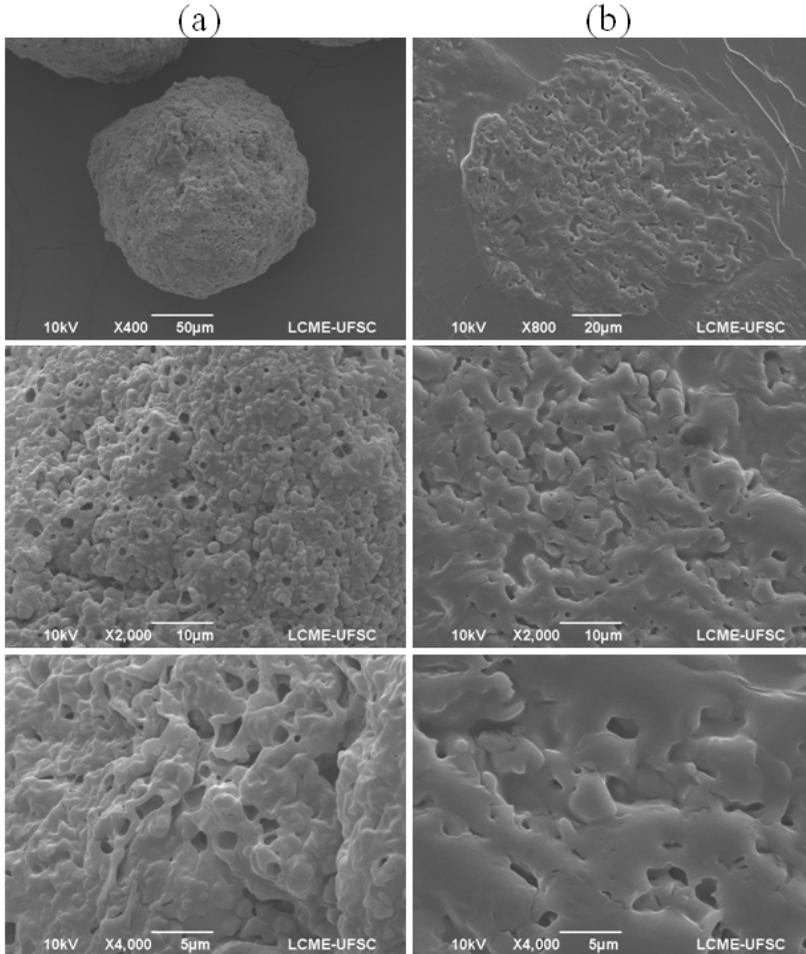
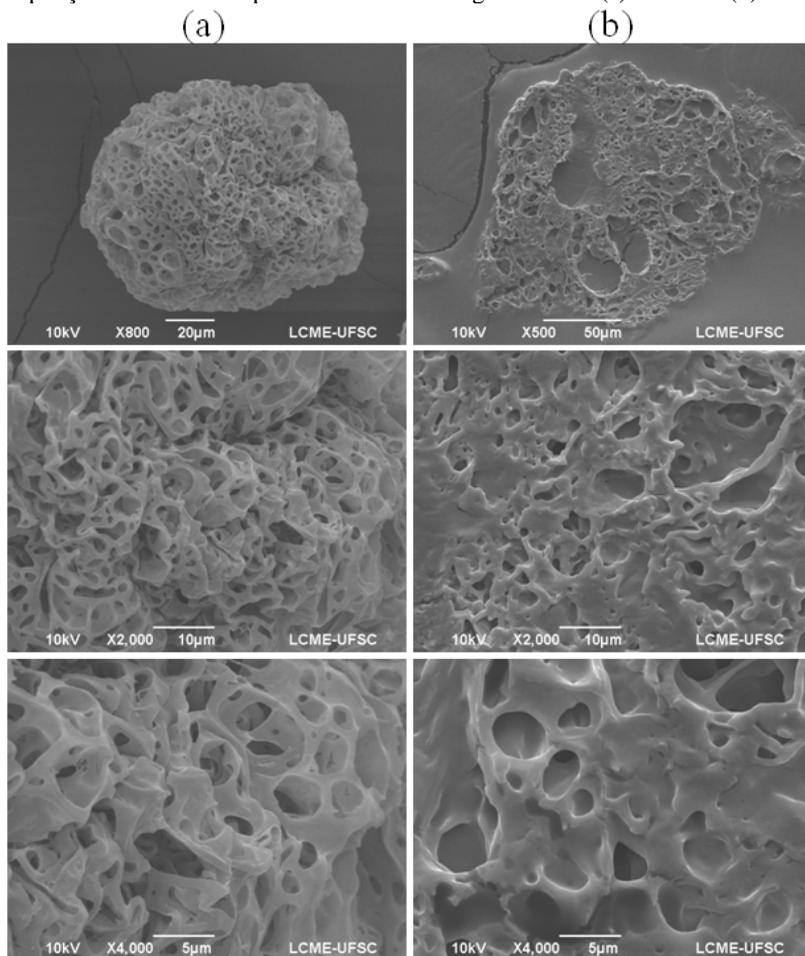


Figura 4.3. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com metformina após um dia de liberação *in vitro*, com diferentes escalas de ampliação. As colunas representam as morfologias externa (a) e interna (b).

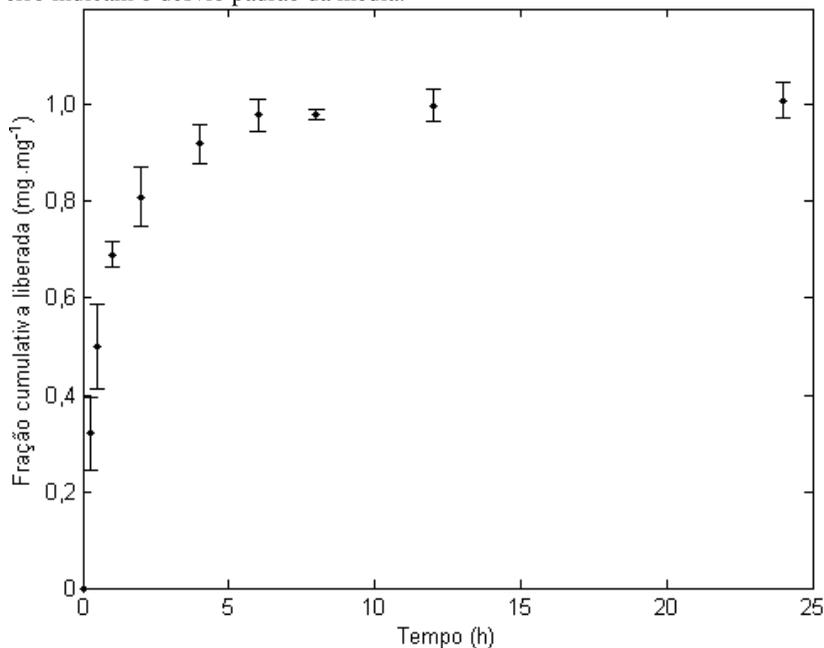


A porosidade de micropartículas produzidas pela técnica da dupla emulsão pode ser controlada pelo volume da fase aquosa interna da emulsão primária ( $a_1/o$ ) e pela sua estabilidade (CROTTS; PARK, 1995). A presença de um composto hidrofílico na emulsão primária gera um gradiente de concentração e um influxo de água proveniente da fase aquosa externa ( $a_2$ ), produzindo canais que conectam a região interna da micropartícula com a superfície (ALLISON, 2008). Como

consequência, o volume da fase aquosa interna se torna maior e gera uma resistência à quebra mecânica das gotículas da emulsão durante a etapa de agitação, tornando-as maiores (CROTTS; PARK, 1995). Durante a evaporação do solvente, o PLGA começa a precipitar e encapsular o composto ativo, bem como as gotículas da emulsão primária (KLOSE et al., 2006). Na etapa final, as micropartículas são liofilizadas para a remoção da água e essas gotículas de emulsão maiores se tornarão os poros da matriz (YANG; CHIA; CHUNG, 2000).

A evolução temporal da fração cumulativa de metformina liberada a partir das micropartículas de PLGA em tampão fosfato pH 6,8 está apresentado na Figura 4.4. A metformina difundiu rapidamente para o meio de liberação, sendo que em torno de 32% do PRE da metformina foi liberado nos primeiros 15 minutos e atingiu 100% da liberação em aproximadamente 10 horas. Esta característica pode ser vantajosa para o uso de formulações que apresentem uma rápida liberação no estômago e completa no duodeno. A liberação inicial da metformina, denominada de efeito *burst*, pode ser atribuída à dissolução do composto ativo fracamente associado à superfície (YEO; PARK, 2004), ou então, pode ser causada pela sua rápida liberação através dos poros que conectam o interior da micropartícula com a superfície (VAN DE WEERT et al., 2000). Segundo Ye, Kim e Park (2010), a ocorrência do *burst* está relacionada à remoção do solvente para formar as micropartículas sólidas. Enquanto o solvente é removido da fase polimérica, as moléculas da metformina podem difundir das gotículas da emulsão para a fase aquosa externa, se acumulando na superfície das micropartículas à medida que estas endurecem, resultando na sua elevada liberação inicial. Além disso, a membrana de celulose utilizada para submergir as micropartículas não constituiu uma barreira à liberação da metformina, como demonstrado pela completa liberação desta a partir das micropartículas de PLGA. Os valores experimentais da liberação da metformina a partir das micropartículas de PLGA e da metformina pura contida na membrana de celulose, para cada tempo avaliado, estão apresentados no Apêndice B deste trabalho.

Figura 4.4. Evolução temporal da fração cumulativa de metformina liberada a partir das micropartículas de PLGA em tampão fosfato pH 6,8. As barras de erro indicam o desvio padrão da média.

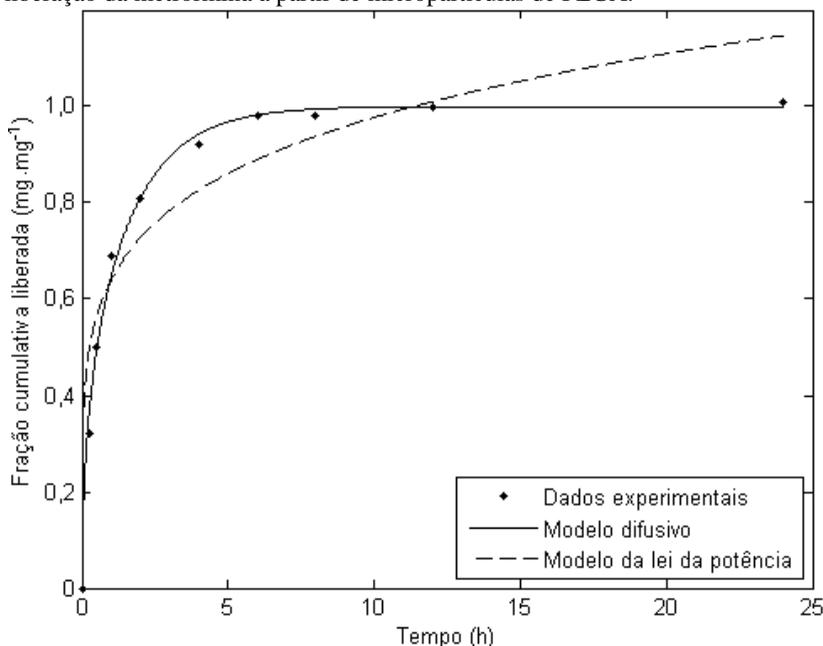


## 4.2 AVALIAÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS

Como apresentado na Figura 4.5, a liberação da metformina a partir das micropartículas de PLGA caracterizou um perfil bifásico, com a ocorrência do *burst* na fase inicial, seguido por uma segunda fase com uma liberação mais lenta até o esgotamento do composto ativo. Considerando que, neste caso, a fase inicial foi mais intensa e, como consequência, ocorreu o esgotamento do composto ativo durante a segunda fase, a terceira fase do perfil de liberação da metformina não foi observada. Segundo Yushu e Venkatraman (2006), as micropartículas porosas apresentam elevada liberação inicial do composto ativo, além da rápida liberação deste por difusão através dos poros da micropartícula, considerando que a presença destes facilita a entrada do meio de liberação no sistema, promovendo a dissolução do composto ativo hidrofílico (HOMBREIRO-PEREZ et al., 2003). Neste contexto, os modelos matemáticos de liberação controlada por difusão baseados na lei de Fick e na lei da potência foram ajustados aos dados da liberação

da metformina. Além disso, devido à sua possível liberação por difusão, o mecanismo de erosão da matriz pode ser considerado irrelevante, pois este é geralmente observado após o período de liberação de três dias (KLOSE et al., 2006). Siepmann et al. (2002) consideraram a degradação do polímero irrelevante até o período de liberação de dois dias e os processos de transferência de massa predominantes na liberação do 5-fluorouracil a partir de micropartículas de PLGA foram a dissolução e a difusão do composto ativo. Entretanto, mesmo com a liberação completa em menos de um dia e considerando os baixos valores de EE e PRE, as micropartículas de PLGA com metformina apresentaram um princípio de erosão, evidenciados pela quantidade e tamanho dos poros gerados (Figura 4.3), cujo processo não foi descrito pelos modelos matemáticos utilizados neste trabalho.

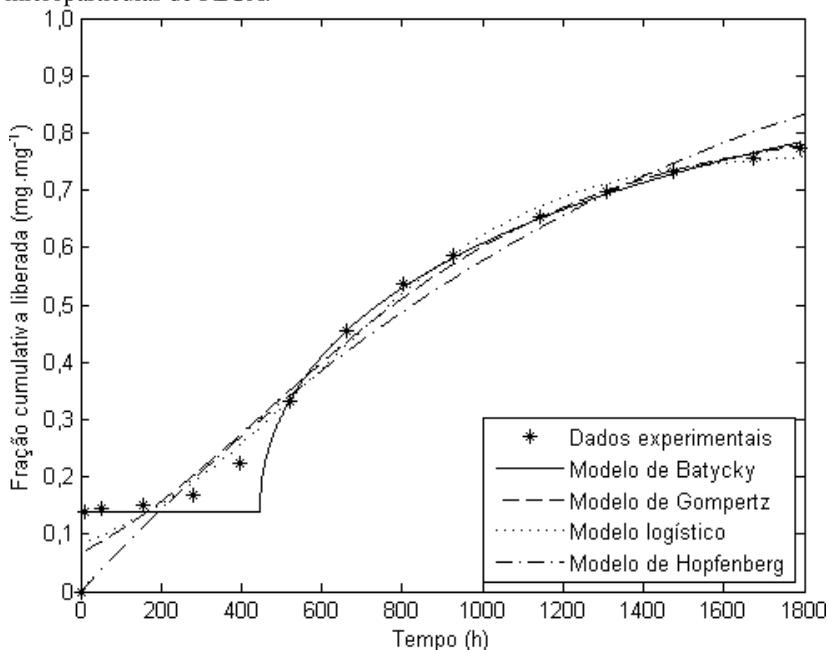
Figura 4.5. Ajuste dos modelos difusivo e da lei da potência aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA.



Diferentemente do perfil observado para a liberação da metformina, a Figura 4.6 apresenta um perfil trifásico decorrente da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA, caracterizado pelo *burst* na fase inicial, seguido por uma segunda fase de liberação

mais rápida até o possível início da terceira fase, na qual a taxa de liberação começa a diminuir. Neste caso, a liberação do FD40 não foi completa durante o período de tempo avaliado por Mao et al. (2007), dificultando a correta identificação do início da terceira fase. Segundo Fredenberg et al. (2011), o perfil trifásico é comumente observado para a liberação de compostos ativos a partir de micropartículas de PLGA, principalmente quando o mecanismo de controle é o processo de degradação e erosão da matriz polimérica. Neste sentido, os modelos de liberação controlada por erosão propostos por Batycky e por Hopfenberg, além dos modelos sigmoidais logístico e de Gompertz foram ajustados aos dados da liberação do FD40.

Figura 4.6. Ajuste dos modelos de Batycky, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg aos dados experimentais de liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.



Embora as duas micropartículas sejam constituídas de PLGA 50:50 com grupamento terminal ácido carboxílico, produzidas pela técnica da dupla emulsão contendo um composto hidrofílico incorporado na sua matriz, possivelmente o motivo que gerou a diferença observada nos dois perfis de liberação resultantes (Figuras 4.5

e 4.6) foi a massa molar do composto ativo utilizado. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010), a metformina possui massa molar de  $165,62 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , enquanto que a massa molar do FD40 corresponde a  $40000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  (MAO et al., 2007), cerca de 240 vezes maior do que a da metformina. Sabendo que os compostos hidrofílicos de baixa massa molar são facilmente transportados pelos poros da micropartícula preenchidos pelo meio de liberação, este pode ter sido um dos fatores que ocasionou a rápida liberação da metformina comparativamente à liberação do FD40. Além disso, para as micropartículas de PLGA com metformina foi observada uma grande quantidade de poros internos e na superfície (Figura 4.2), aumentando o processo de liberação do composto ativo. Por outro lado, as micropartículas de PLGA com FD40 não apresentaram a mesma estrutura porosa, como pode ser observado nas imagens obtidas por MEV (Anexo A). Assim, a liberação desta macromolécula possivelmente dependeu do processo de erosão da matriz polimérica para a formação de poros maiores, permitindo a sua saída.

Na Tabela 4.3 estão apresentados os valores da função objetivo (SSE) e dos critérios estatísticos  $R_{aj}^2$ , RMSE, AICc e  $\Delta_i$  para os modelos matemáticos de liberação controlada ajustados aos dados experimentais da liberação da metformina e do FD40. Os modelos foram classificados em ordem crescente dos valores de  $\Delta_i$  para cada conjunto de dados.

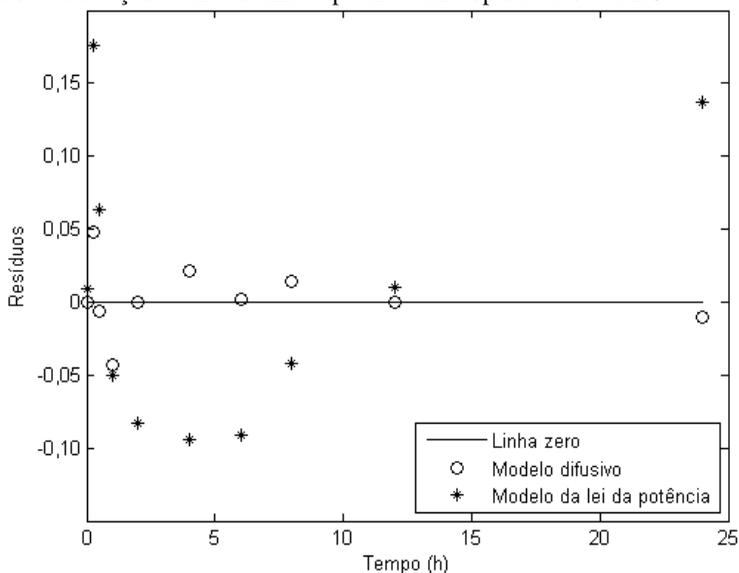
Tabela 4.3. Valores de SSE,  $R_{aj}^2$ , RMSE, AICc e  $\Delta_i$  para os modelos de liberação controlada ajustados aos dados da liberação da metformina e do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.

Modelos	SSE	$R_{aj}^2$	RMSE	AICc	$\Delta_i$
<i>Dados da liberação da metformina</i>					
Difusivo	0,005	0,995	0,022	-70,009	0,000
Lei da potência	0,082	0,914	0,102	-35,988	34,021
<i>Dados da liberação do FD40</i>					
Batycky	0,009	0,990	0,024	-99,294	0,000
Logístico	0,016	0,982	0,036	-90,458	8,836
Gompertz	0,018	0,979	0,039	-88,132	11,162
Hopfenberg	0,044	0,957	0,056	-80,258	16,036

Na liberação da metformina, o melhor ajuste foi observado para o modelo difusivo, o qual apresentou os menores valores para o SSE e AICc, além de valores de  $R_{aj}^2$  e RMSE próximos a um e a zero,

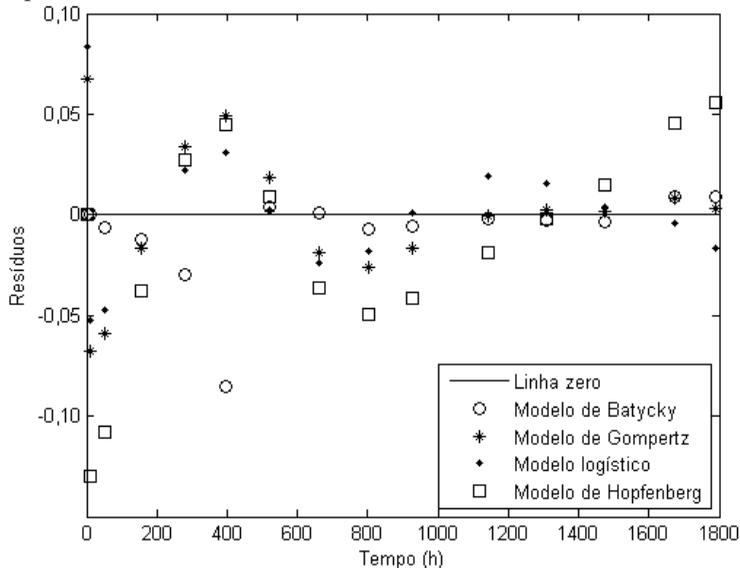
respectivamente, indicando a proximidade da curva gerada aos dados experimentais. Ainda para este modelo, foram observados os menores resíduos, como apresentado na Figura 4.7. O valor do  $\Delta_i$  para o modelo da lei da potência foi superior a dois, demonstrando que os modelos difusivo e da lei da potência descrevem de maneira diferente os dados experimentais da metformina.

Figura 4.7. Resíduos dos ajustes dos modelos difusivo e da lei da potência aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA.



A análise dos dados da liberação do FD40, obtidos por Mao et al. (2007), segundo os mesmos critérios, mostrou que o modelo de Batycky apresenta o melhor ajuste, além dos menores resíduos, de acordo com a Figura 4.8, com exceção de dois pontos próximos ao tempo de 400 horas. Como pode ser observado na Figura 4.6 e na Equação 2.8 (modelo de Batycky), estes pontos marcam o término da fase de indução e o início da liberação do FD40 por difusão através dos macroporos gerados na micropartícula de PLGA e, nesta transição, a curva gerada pelo ajuste permaneceu distante dos pontos experimentais. Além do mais, os modelos matemáticos avaliados para estes dados obtiveram entre si uma diferença no valor de AICc ( $\Delta_i$ ) superior a dois (Tabela 4.3), indicando que os quatro modelos descrevem de maneira diferente os mesmos dados experimentais.

Figura 4.8. Resíduos dos ajustes dos modelos de Batycky, de Gompertz, logístico e de Hopfenberg aos dados da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.



Os valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por difusão estão apresentados na Tabela 4.4. O modelo difusivo, além de apresentar o melhor ajuste, possui apenas um parâmetro ajustado, tornando a sua utilização mais vantajosa quando comparada ao modelo da lei da potência, que apresenta dois parâmetros ajustados. O bom ajuste deste modelo aos dados da liberação da metformina resultou em um valor de  $D$  que representa o sistema metformina/PLGA. Contudo, este valor não possui o mesmo significado fenomenológico que o  $D$  apresentado pela Equação 2.1 (primeira lei de Fick), pois o parâmetro obtido pelo ajuste da Equação 2.6 é, na realidade, um coeficiente de difusão efetivo da metformina no PLGA (CARCIOFI et al., 2002). Na literatura foram encontrados valores de  $D$  na mesma ordem de grandeza para compostos ativos hidrofílicos incorporados em matrizes de PLGA, como é o caso do corante azul de metileno, com valores entre  $3,7 \times 10^{-9}$  e  $1,0 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  (VEZZÙ; BETTO; ELVASSORE, 2008), e da ovoalbumina, entre  $9,3 \times 10^{-11}$  e  $7,0 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  (STABENFELDT; WILLITS, 2002). Entretanto, a ordem de grandeza desses valores pode ser diferente dependendo do composto ativo incorporado, como é o caso do  $D$  para o 5-fluorouracil

no PLGA igual a  $6,7 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , encontrado por Siepmann et al. (2002), e o  $D$  para o ibuprofeno no PLGA, com valores variando entre  $4,7$  e  $5,0 \times 10^{-12} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , obtidos por Klose et al. (2010).

Tabela 4.4. Valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por difusão aos dados da liberação da metformina a partir de micropartículas de PLGA.

Parâmetros	Modelos	
	Difusivo	Lei da potência
$D \text{ (cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}\text{)}$	$2,4 \times 10^{-9}$	-
$k \text{ (h}^{-1}\text{)}$	-	0,64
$n$	-	0,18

O ajuste do modelo da lei da potência aos dados de liberação da metformina indicou o mecanismo de transferência de massa que controlou a liberação. Para a geometria esférica, valores do expoente  $n$  inferiores a 0,43 indicam que a liberação é controlada por difusão. Por outro lado, Farago et al. (2008), ao ajustarem o modelo da lei da potência aos dados de liberação da metformina a partir de micropartículas de PHBV, obtiveram um valor de  $n$  igual a 0,82 e, neste caso, a liberação foi caracterizada pela superposição dos mecanismos de difusão e da cinética de ordem zero.

Os valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por erosão estão apresentados na Tabela 4.5. O parâmetro  $t_d$  do modelo de Batycky representa o tempo de indução necessário para que a micropartícula comece a degradar e gerar poros maiores, facilitando a liberação de compostos macromoleculares, como é o caso do FD40. O valor obtido para o  $t_d$  foi de 444 horas e, após este tempo, pode ser observado um aumento na taxa de liberação do composto ativo por difusão, demonstrado pelo bom ajuste do modelo aos dados experimentais após este tempo, como apresentado na Figura 4.6. Além disso, foi obtido um  $D$  efetivo do FD40 no PLGA, cuja ordem de grandeza pode indicar que a liberação do composto ativo por difusão ocorreu de forma lenta, também evidenciada pela sua incompleta liberação no período de 75 dias. Lao, Venkatraman e Peppas (2009), ao ajustarem o modelo de Batycky aos dados da liberação da metoclopramida, um composto hidrofílico com massa molar de  $336,3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , incorporado em filmes de PLGA sem porosidade, obtiveram um valor de  $D$  variando entre  $2,03 \times 10^{-12}$  e  $1,73 \times 10^{-11} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ .

Tabela 4.5. Valores dos parâmetros ajustados para os modelos de liberação controlada por erosão aos dados da liberação do FD40 a partir de micropartículas de PLGA.

Parâmetros	Modelos			
	Batycky	Logístico	Gompertz	Hopfenberg
$D$ ( $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )	$5,3 \times 10^{-14}$	-	-	-
$t_d$ (h)	444	-	-	-
$k_d$ ( $\text{h}^{-1}$ )	1,6	-	-	-
$k_{ero}$ ( $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ )	-	-	-	$1,0 \times 10^{-12}$
$a_s$	-	0,77	0,83	-
$a_i$	-	0,08	-	-
$c_1$	-	0,004	0,002	-
$c_2$	-	-	2,5	-

O modelo de Hopfenberg não apresentou um bom ajuste aos dados da liberação do FD40 (Figura 4.6), embora este modelo apresente apenas um parâmetro ajustado, enquanto que os demais avaliados para este conjunto de dados apresentam três parâmetros ajustados. Considerando que este modelo é usado, principalmente, para descrever a liberação de compostos ativos a partir de matrizes poliméricas cujo mecanismo de controle seja o processo de erosão da superfície, a falta de ajuste neste caso demonstra que o mecanismo de controle da liberação foi a erosão de meio, característica de matrizes de PLGA.

As assíntotas inferiores das curvas geradas pelos modelos logístico e de Gompertz não se aproximaram dos primeiros pontos da liberação do FD40. No entanto, o modelo logístico forneceu o melhor ajuste em relação ao modelo de Gompertz.

Vale ressaltar ainda que não foram impostas restrições para nenhum parâmetro de ajuste dos modelos matemáticos avaliados neste trabalho a fim de se obter o ajuste que fornecesse o menor valor para a função objetivo (SSE).

## 5 CONCLUSÕES

As micropartículas de PLGA com metformina, produzidas pela técnica da dupla emulsão com extração/evaporação do solvente, possuem formato esférico e morfologia de microesfera, característicos da técnica escolhida.

A característica hidrofílica da metformina, somada à estrutura porosa das micropartículas de PLGA, facilita o seu processo de difusão do interior das gotículas da emulsão primária para o meio externo, e pode resultar em baixos valores para a EE, para o PRE e uma elevada liberação inicial (efeito *burst*). Ainda, a ausência de cristais de metformina depositados na superfície da micropartícula indica a distribuição homogênea deste composto ativo. De acordo com o diâmetro, a distribuição de tamanho e o perfil da liberação *in vitro*, as micropartículas de PLGA com metformina podem ser administradas pela via oral para o tratamento do diabetes tipo 2.

Considerando que a metformina é um composto hidrofílico de baixa massa molar, a sua rápida e completa liberação pode ocorrer pelo transporte por difusão através dos poros da micropartícula de PLGA preenchidos pelo meio de liberação. Como observado nas imagens de MEV, as micropartículas de PLGA com metformina possivelmente apresentaram erosão no período final da liberação, mesmo com esta ocorrendo em menos de 24 horas. No entanto, o perfil bifásico observado durante a liberação da metformina é bem descrito pelo modelo difusivo, ajustado por um coeficiente de difusão efetivo e, para este caso, o mecanismo de erosão foi considerado irrelevante.

A liberação prolongada e incompleta do FD40, uma macromolécula hidrofílica, por difusão através dos poros da micropartícula de PLGA possivelmente ocorre após o processo de desintegração da matriz polimérica, necessária para gerar poros maiores, considerando que a micropartícula apresenta poucos poros. Esta hipótese é suportada pelo bom ajuste do modelo de Batycky aos dados experimentais. Neste caso, o principal mecanismo de controle da liberação é o processo de erosão de meio da micropartícula de PLGA.

Os perfis de liberação de diferentes compostos ativos com a mesma polaridade, a partir de uma determinada matriz polimérica, podem apresentar comportamentos distintos que são consequentes, principalmente, da diferença do tamanho das moléculas incorporadas associada à porosidade da partícula formada. Desta forma, os mecanismos de transferência de massa que controlam a liberação do

composto ativo definem as aplicações específicas do sistema de liberação controlada.

### 5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Estudar formas de aumentar a EE e o PRE das micropartículas de PLGA;
- b) Realizar a liberação *in vitro* em meios de liberação que simulem o pH de outras regiões do trato gastrointestinal ou as condições fisiológicas;
- c) Avaliar a carga superficial das micropartículas de PLGA;
- d) Estudar a estabilidade e a degradação das micropartículas de PLGA;
- e) Utilizar um coeficiente de difusão efetivo variável e parâmetros que incorporem a porosidade da partícula para o ajuste do modelo de Batycky aos dados experimentais.

## REFERÊNCIAS

- AKAIKE, H. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. In: PETROV, P. N. e CSAKI, F. (Ed.). **Second International Symposium on Inference Theory**. Budapest: Akademiai Kiadó, 1973. p.267-281.
- ALLISON, S. D. Effect of structural relaxation on the preparation and drug release behavior of poly(lactic-co-glycolic)acid microparticle drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 6, p. 2022-2035, 2008.
- ALMERÍA, B. et al. Controlling the morphology of electrospray-generated PLGA microparticles for drug delivery. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 343, n. 1, p. 125-133, 2010.
- AMASS, W.; AMASS, A.; TIGHE, B. A review of biodegradable polymers: uses, current developments in the synthesis and characterization of biodegradable polyesters, blends of biodegradable polymers and recent advances in biodegradation studies. **Polymer International**, v. 47, n. 2, p. 89-144, 1998.
- ARIFIN, D. Y.; LEE, L. Y.; WANG, C. H. Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 58, n. 12-13, p. 1274-1325, 2006.
- BALAN, G. et al. In vitro-In vivo Correlation (IVIVC) models for metformin after administration of modified-release (MR) oral dosage forms to healthy human volunteers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 8, p. 1176-1185, 2001.
- BAROT, B. S. et al. Development of directly compressible metformin hydrochloride by the spray-drying technique. **Acta Pharm**, v. 60, n. 2, p. 165-175, 2010.
- BATYCKY, R. P. et al. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 12, p. 1464-1477, 1997.
- BECK, L. R. et al. Poly(DL-lactide-co-glycolide)/norethisterone microcapsules: an injectable biodegradable contraceptive. **Biology of Reproduction**, v. 28, n. 1, p. 186-195, 1983.
- BENDIX, D. Chemical synthesis of polylactide and its copolymers for medical applications. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, n. 1-3, p. 129-135, 1998.
- BERGER, R. D. Comparison of the Gompertz and logistic equations to describe plant-disease progress. **Phytopathology**, v. 71, n. 7, p. 716-719, 1981.
- BILLMEYER, F. W. **Textbook of polymer science**. 2nd. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1971.

BLASI, P. et al. Plasticizing effect of water on poly(lactide-co-glycolide). **Journal of Controlled Release**, v. 108, n. 1, p. 1-9, 2005.

BLOCK, L. C. et al. Pharmaceutical equivalence of metformin tablets with various binders. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 1, p. 29-35, 2008.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, volume 2 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, 2010.

BRAUN, D. et al. **Polymer synthesis: theory and practice**. 4th. Berlin: Springer, 2005.

BURKERSRODA, F. V.; SCHEDL, L.; GÖPFERICH, A. Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. **Biomaterials**, v. 23, n. 21, p. 4221-4231, 2002.

BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. **Model selection and inference: a practical information theoretic approach**. New York: Springer-Verlag, 1998.

CARCIOFI, B. A. M. et al. Determination of thermal diffusivity of mortadella using actual cooking process data. **Journal of Food Engineering**, v. 55, p. 89-94, 2002.

CHATTERJEE, S.; HADI, A. S. **Regression analysis by example**. 4th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2006.

CHAW, C. S. et al. Design of physostigmine-loaded polymeric microparticles for pretreatment against exposure to organophosphate agents. **Biomaterials**, v. 24, n. 7, p. 1271-1277, 2003.

CHENG, X. X. et al. **Methods for treating diabetes via administration of controlled release metformin**. United States. Patent 6790459B1, 2004.

CHOI, H. S. et al. Preparation and characterization of fentanyl-loaded PLGA microspheres: in vitro release profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, n. 1-2, p. 195-203, 2002.

COHEN, S.; CHEN, L. M.; APTE, R. N. Controlled-release of peptides and proteins from biodegradable polyester microspheres - an approach for treating infectious-diseases and malignancies. **Reactive Polymers**, v. 25, n. 2-3, p. 177-187, 1995.

COLO, G. D.; FALCHI, S.; ZAMBITO, Y. In vitro evaluation of a system for pH-controlled peroral delivery of metformin. **Journal of Controlled Release**, v. 80, p. 119-128, 2002.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 123-133, 2001.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. 2nd. Oxford: Clarendon Press, 1975.

CROTTS, G.; PARK, T. G. Preparation of porous and nonporous biodegradable polymeric hollow microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 35, n. 2-3, p. 91-105, 1995.

CUSSLER, E. L. **Diffusion: mass transfer in fluid systems**. 3rd. New York: Cambridge University Press, 2009.

DE JALON, E. G. et al. PLGA microparticles: possible vehicles for topical drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, n. 1-2, p. 181-184, 2001.

DOMB, A. J. Polymeric carriers for regional drug therapy. **Molecular Medicine Today**, v. 1, n. 3, p. 134-139, 1995.

DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1966.

DUBERNET, C. Thermoanalysis of microspheres. **Thermochimica Acta**, v. 248, p. 259-269, 1995.

EDLUND, U.; ALBERTSSON, A. C. Degradable polymer microspheres for controlled drug delivery. **Degradable Aliphatic Polyesters**, v. 157, p. 67-112, 2002.

ENGLISH, J. P.; DANG, W.; ZHAO, Z. Fabrication of controlled-delivery devices. In: MATHIOWITZ, E. (Ed.). **Encyclopedia of controlled drug delivery**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999.

FARAGO, P. V. et al. Physicochemical characterization of a hydrophilic model drug-loaded PHBV microparticles obtained by the double emulsion/solvent evaporation technique. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1298-1305, 2008.

FREDENBERG, S. et al. The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems: a review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 415, n. 1-2, p. 34-52, 2011.

FREIBERG, S.; ZHU, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 282, n. 1-2, p. 1-18, 2004.

GEZE, A. et al. Development of 5-iodo-2'-deoxyuridine milling process to reduce initial burst release from PLGA microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 178, n. 2, p. 257-268, 1999.

GILDING, D. K.; REED, A. M. Biodegradable polymers for use in surgery - polyglycolic-poly(lactic acid) homopolymers and copolymers .1. **Polymer**, v. 20, n. 12, p. 1459-1464, 1979.

GÓMEZ, J. M. M. et al. Surface coating of PLGA microparticles with protamine enhances their immunological performance through facilitated phagocytosis. **Journal of Controlled Release**, v. 130, n. 2, p. 161-167, 2008.

GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 123, p. 513-585, 1825.

GOPFERICH. Mechanisms of polymer degradation and erosion. **Biomaterials**, v. 17, n. 2, p. 103-114, 1996.

GOPFERICH. Polymer bulk erosion. **Macromolecules**, v. 30, p. 2598-2604, 1997.

GRIJPMAN, D. W.; NIJENHUIS, A. J.; PENNING, A. J. Synthesis and hydrolytic degradation behaviour of high-molecular-weight l-lactide and glycolide copolymers. **Polymer**, v. 31, n. 11, p. 2201-2206, 1990.

HAKKARAINEN, M.; ALBERTSSON, A. C.; KARLSSON, S. Weight losses and molecular weight changes correlated with the evolution of hydroxyacids in simulated in vivo degradation of homo- and copolymers of PLA and PGA. **Polymer Degradation and Stability**, v. 52, n. 3, p. 283-291, 1996.

HARLAND, R. S. et al. A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 7, p. 207-215, 1988.

HELLER, J. Controlled release of biologically active compounds from bioerodible polymers. **Biomaterials**, v. 1, p. 51-57, 1980.

HIGUCHI, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 10, p. 874-875, 1961.

HOMBREIRO-PEREZ, M. et al. Non-degradable microparticles containing a hydrophilic and/or a lipophilic drug: preparation, characterization and drug release modeling. **Journal of Controlled Release**, v. 88, n. 3, p. 413-28, 2003.

HOPFENBERG, H. B. Controlled release from erodible slabs, cylinders, and spheres. In: PAUL, D. R. e HARRIS, F. W. (Ed.). **Controlled Release Polymeric Formulations**. Washington: American Chemical Society, 1976. p.26-31. (ACS Symposium Series).

HOUCHIN, M. L.; TOPP, E. M. Chemical degradation of peptides and proteins in PLGA: a review of reactions and mechanisms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 7, p. 2395-2404, 2008.

HOUCHIN, M. L.; TOPP, E. M. Physical properties of PLGA films during polymer degradation. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 114, n. 5, p. 2848-2854, 2009.

HUANG, X.; BRAZEL, C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2-3, p. 121-136, 2001.

HURVICH, C. M.; TSAI, C. L. Regression and time-series model selection in small samples. **Biometrika**, v. 76, n. 2, p. 297-307, 1989.

JAIN, R. A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. **Biomaterials**, v. 21, n. 23, p. 2475-2490, 2000.

KASTURI, S. P. et al. Prophylactic anti-tumor effects in a B cell lymphoma model with DNA vaccines delivered on polyethylenimine (PEI) functionalized PLGA microparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 3, p. 261-270, 2006.

KENG, E. Y. H. Air and helium pycnometer. **Powder Technology**, v. 3, p. 179-180, 1970.

KENLEY, R. A. et al. Poly(lactide-co-glycolide) decomposition kinetics in vivo and in vitro. **Macromolecules**, v. 20, n. 10, p. 2398-2403, 1987.

KLOSE, D.; DELPLACE, C.; SIEPMANN, J. Unintended potential impact of perfect sink conditions on PLGA degradation in microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1-2, p. 75-82, 2011.

KLOSE, D. et al. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 314, n. 2, p. 198-206, 2006.

KLOSE, D. et al. Drug release from PLGA-based microparticles: effects of the "microparticle:bulk fluid" ratio. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, n. 1-2, p. 123-131, 2010.

LAMPRECHT, A. et al. pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin. **Journal of Controlled Release**, v. 98, n. 1, p. 1-9, 2004.

LANGER, R. New methods of drug delivery. **Science**, v. 249, p. 1527-1533, 1990.

LAO, L. L.; VENKATRAMAN, S. S.; PEPPAS, N. A. A novel model and experimental analysis of hydrophilic and hydrophobic agent release from biodegradable polymers. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 90, p. 1054-1065, 2009.

LEONG, K. W.; LANGER, R. Polymeric controlled drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 1, n. 3, p. 199-233, 1987.

LEWIS, D. H. Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers. In: CHASIN, M. e LANGER, R. (Ed.). **Biodegradable polymers as drug delivery systems: drugs and the pharmaceutical sciences**. New York: Marcel Dekker, Inc, v.45, 1990. cap. 1, p.1-41.

LIGGINS, R. T.; BURT, H. M. Paclitaxel loaded poly(L-lactic acid) microspheres: properties of microspheres made with low molecular weight polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 222, n. 1, p. 19-33, 2001.

LIMA, K. M.; JUNIOR, J. M. R. Poly-DL-lactide-co-glycolide microspheres as a controlled release antigen delivery system. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 2, p. 171-180, 1999.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 375-399, 2002.

MAO, S. et al. Effect of WOW process parameters on morphology and burst release of FITC-dextran loaded PLGA microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 334, n. 1-2, p. 137-148, 2007.

MARK, H. F.; ATLAS, S. Introduction to polymer science. In: KAUFMAN, H. S. e FALCETTA, J. J. (Ed.). **Introduction to polymer science and technology**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1977.

MATHIOWITZ, E.; KREITZ, M. R.; PEPPAS, L. B. Microencapsulation. In: MATHIOWITZ, E. (Ed.). **Encyclopedia of controlled drug delivery**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999.

MIDDLETON, J. C.; TIPTON, A. J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. **Biomaterials**, v. 21, n. 23, p. 2335-2346, 2000.

MIRHOSSEINI, H.; AMID, B. T. Influence of chemical extraction conditions on the physicochemical and functional properties of polysaccharide gum from durian (*Durio zibethinus*) seed. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6465-80, 2012.

MOGI, T. et al. Sustained release of 17 beta-estradiol from poly (lactide-co-glycolide) microspheres in vitro and in vivo. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 17, n. 3, p. 153-165, 2000.

MUNDARGI, R. C. et al. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. **Journal of Controlled Release**, v. 125, n. 3, p. 193-209, 2008.

NARASIMHAN, B.; MALLAPRAGADA, S. K.; PEPPAS, N. A. Release kinetics: data interpretation. In: MATHIOWITZ, E. (Ed.). **Encyclopedia of controlled drug delivery**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999.

NESTERENKO, A. et al. Influence of soy protein's structural modifications on their microencapsulation properties:  $\alpha$ -Tocopherol microparticle preparation. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 387-396, 2012.

OSTER, C. G. et al. Cationic microparticles consisting of poly(lactide-co-glycolide) and polyethylenimine as carriers systems for parental DNA vaccination. **Journal of Controlled Release**, v. 104, n. 2, p. 359-377, 2005.

PEPPAS, L. B. Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in controlled drug-delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 116, n. 1, p. 1-9, 1995.

PEREZ, C. et al. Poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) nanoparticles as new carriers for the delivery of plasmid DNA. **Journal of Controlled Release**, v. 75, n. 1-2, p. 211-224, 2001.

PERUGINI, P. et al. Long-term release of clodronate from biodegradable microspheres. **AAPS PharmSciTech**, v. 2, n. 3, p. 1-9, 2001.

PIMENTEL, L. F. et al. Nanotecnologia farmacêutica aplicada ao tratamento da malária. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 503-514, 2007.

PRIAMO, W. L. et al. Precipitation and encapsulation of  $\beta$ -carotene in PHBV using carbon dioxide as anti-solvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 1, p. 103-109, 2010.

QUARCIONI, V. A. **Influência da cal hidratada nas idades iniciais da hidratação do cimento portland: estudo em pasta**. 2008. (Tese de doutorado). Departamento de Engenharia de Construção Civil, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.

RAMAN, C. et al. Modeling small-molecule release from PLG microspheres: effects of polymer degradation and nonuniform drug distribution. **Journal of Controlled Release**, v. 103, n. 1, p. 149-158, 2005.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of Controlled Release**, v. 5, n. 1, p. 23-36, 1987a.

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, n. 1, p. 37-42, 1987b.

SACKETT, C. K.; NARASIMHAN, B. Mathematical modeling of polymer erosion: consequences for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 418, n. 1, p. 104-114, 2011.

SANSDRAP, P.; MOES, A. J. In vitro evaluation of the hydrolytic degradation of dispersed and aggregated poly(DL-lactide-co-glycolide) microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 43, n. 1, p. 47-58, 1997.

SANTOS, T. C. D. **Microesferas contendo extrato padronizado de Cecropia glaziovii Sneth para o tratamento da hipertensão arterial**. 2012. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SCARPELLO, J. H. B.; HOWLETT, H. C. S. Metformin therapy and clinical uses. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 5, n. 3, p. 157-167, 2008.

SCHNEIDER, A. K. **Polymers of high melting lactide**. United States. Patent 2703316, 1955.

SHENDEROVA, A.; BURKE, T. G.; SCHWENDEMAN, S. P. The acidic microclimate in poly(lactide-co-glycolide) microspheres stabilizes camptothecins. **Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 2, p. 241-248, 1999.

SIEPMANN, J. et al. Calculation of the dimensions of drug-polymer devices based on diffusion parameters. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, n. 7, p. 827-832, 1998.

SIEPMANN, J. et al. How autocatalysis accelerates drug release from PLGA-based microparticles: a quantitative treatment. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 4, p. 2312-2319, 2005.

SIEPMANN, J.; FAISANT, N.; BENOIT, J. P. A new mathematical model quantifying drug release from bioerodible microparticles using Monte Carlo simulations. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 12, p. 1885-1893, 2002.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Microparticles used as drug delivery systems. **Smart Colloidal Materials**, v. 133, p. 15-21, 2006.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 328-343, 2008.

SMITH, K. L.; SCHIMPF, M. E.; THOMPSON, K. E. Bioerodible polymers for delivery of macromolecules. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 4, n. 3, p. 343-357, 1990.

STABENFELDT, S. E.; WILLITS, R. K. Guidance channel development: controlled release of NGF from PLGA scaffolds. **Proceedings of the Second Joint EMBS/BMES Conference**, v. 1, p. 484-485, 2002.

TAKEUCHI, H.; YAMAMOTO, H.; KAWASHIMA, Y. Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, n. 1, p. 39-54, 2001.

TAMADA, J. A.; LANGER, R. Erosion kinetics of hydrolytically degradable polymers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 2, p. 552-556, 1993.

TRACY, M. A. et al. Factors affecting the degradation rate of poly(lactide-co-glycolide) microspheres in vivo and in vitro. **Biomaterials**, v. 20, n. 11, p. 1057-1062, 1999.

TRAPANI, G. et al. Encapsulation and release of the hypnotic agent zolpidem from biodegradable polymer microparticles containing hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 268, n. 1-2, p. 47-57, 2003.

VAN DE WEERT, M. et al. Lysozyme distribution and conformation in a biodegradable polymer matrix as determined by FTIR techniques. **Journal of Controlled Release**, v. 68, n. 1, p. 31-40, 2000.

VEZZÙ, K.; BETTO, V.; ELVASSORE, N. High-pressure gas-assisted absorption of protein within biopolymeric micro-patterned membrane. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, p. 241-248, 2008.

VIANA, M. et al. About pycnometric density measurements. **Talanta**, v. 57, p. 583-593, 2002.

WENK, E. et al. Microporous silk fibroin scaffolds embedding PLGA microparticles for controlled growth factor delivery in tissue engineering. **Biomaterials**, v. 30, n. 13, p. 2571-2581, 2009.

WINSOR, C. P. The Gompertz curve as a growth curve. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 18, n. 1, p. 1-8, 1932.

WISCHKE, C.; SCHWENDEMAN, S. P. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 298-327, 2008.

WISE, D. L. et al. Opportunities and challenges in the design of implantable biodegradable polymeric systems for the delivery of antimicrobial agents and vaccines. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 1, n. 1, p. 19-40, 1987.

WONG, H. M.; WANG, J. J.; WANG, C. H. In vitro sustained release of human immunoglobulin G from biodegradable microspheres. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, n. 3, p. 933-948, 2001.

YANG, Y. Y.; CHIA, H. H.; CHUNG, T. S. Effect of preparation temperature on the characteristics and release profiles of PLGA microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. **Journal of Controlled Release**, v. 69, n. 1, p. 81-96, 2000.

YANG, Y. Y.; CHUNG, T. S.; NG, N. P. Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. **Biomaterials**, v. 22, n. 3, p. 231-241, 2001.

YE, M. L.; KIM, S.; PARK, K. Issues in long-term protein delivery using biodegradable microparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 146, n. 2, p. 241-260, 2010.

YEO, Y.; PARK, K. N. Control of encapsulation efficiency and initial burst in polymeric microparticle systems. **Archives of Pharmacal Research**, v. 27, n. 1, p. 1-12, 2004.

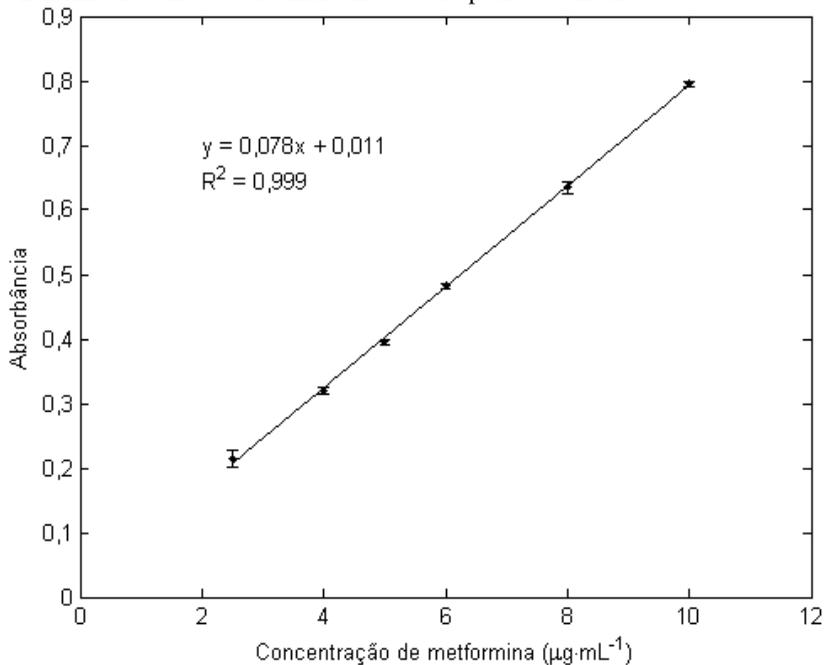
YUSHU, H.; VENKATRAMAN, S. The effect of process variables on the morphology and release characteristics of protein-loaded PLGA particles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, n. 5, p. 3053-3061, 2006.

ZENG, X.-M. Particulate analysis: particle size. In: STOREY, R. A. e YMÉN, I. (Ed.). **Solid state characterization of pharmaceuticals**. United Kingdom: Blackwell Publishing, 2011. p.397.

## APÊNDICE A – Curva analítica da metformina

A curva analítica construída em termos da absorbância média *versus* concentração de metformina ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) está apresentada na Figura A.1. O valor do  $R^2$  igual a 0,999 indica linearidade entre a absorbância e a faixa de concentração de metformina avaliada.

Figura A.1. Curva analítica da metformina obtida por espectrofotometria de UV a 232 nm. As barras de erro indicam o desvio padrão da média.





## APÊNDICE B – Valores experimentais da liberação *in vitro* da metformina

Os valores obtidos experimentalmente durante a liberação *in vitro* da metformina a partir das micropartículas de PLGA em tampão fosfato no pH 6,8 estão apresentados na Tabela A.1. Os valores referentes à liberação da metformina pura contida na membrana de celulose estão apresentados na Tabela A.2.

Tabela A.1. Valores experimentais da liberação *in vitro* da metformina a partir das micropartículas de PLGA.

Tempo (h)	Liberação 1 (mg·mg <sup>-1</sup> )	Liberação 2 (mg·mg <sup>-1</sup> )	Liberação 3 (mg·mg <sup>-1</sup> )	Média (mg·mg <sup>-1</sup> )	Desvio padrão
0,25	0,41	0,29	0,27	0,32	0,08
0,50	0,55	0,55	0,40	0,50	0,09
1,00	0,67	0,72	0,68	0,69	0,03
2,00	0,78	0,89	0,77	0,81	0,06
4,00	0,88	0,96	0,91	0,92	0,04
6,00	0,94	0,98	1,01	0,98	0,03
8,00	0,99	0,98	0,97	0,98	0,01
12,00	0,97	1,01	1,03	1,00	0,03
24,00	0,97	1,02	1,04	1,01	0,04

Tabela A.2. Valores experimentais da liberação *in vitro* da metformina pura.

Tempo (h)	Liberação (mg·mg <sup>-1</sup> )
0,25	0,92
0,50	0,92
1,00	0,97
2,00	1,04



## ANEXO A – MEV das micropartículas de PLGA com FD40

As morfologias interna e externa das micropartículas de PLGA com FD40 preparadas pela técnica da dupla emulsão com evaporação do solvente, obtidas por Mao et al. (2007), estão apresentadas na Figura A.2.

Figura A.2. Imagens obtidas por MEV de micropartículas de PLGA com FD40 antes da liberação *in vitro*. As colunas representam as morfologias interna (a) e externa (b).

