

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
QUÍMICA (UFSC-UEPG)

***ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ACIDO ACETIL  
SALICÍLICO EM MATRIZES POLIMÉRICAS QUITOSANA-  
POLI(ÁCIDO ACRÍLICO) SENSÍVEIS AO pH***

Dissertação submetida a Universidade Federal de Santa Catarina  
para obtenção do grau de mestre em química

***AMAURI DO NASCIMENTO***

Florianópolis - SC

Fevereiro 2000

**ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO  
EM MATRIZES POLIMÉRICAS QUITOSANA-POLI(ÁCIDO ACRÍLICO)  
SENSÍVEIS AO pH**

**AMAURI DO NASCIMENTO**

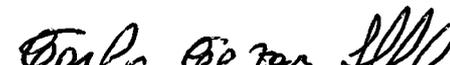
Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma original pelo orientador  
e membros da banca examinadora



Prof. Dr. Mauro C. M. Laranjeira  
Orientador – QMC - UFSC

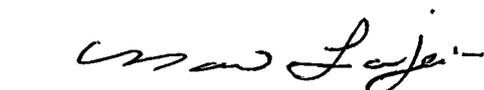


Prof. Dr. Valdir Soldi  
Coordenador Pós Graduação  
QMC – UFSC

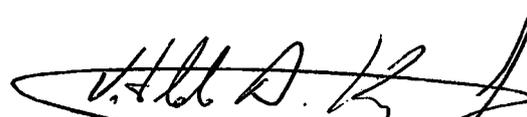


Prof. Dr. Carlos Cesar Stádler  
Coordenador Pós-Graduação  
Dequim - UEPG

**BANCA EXAMINADORA**



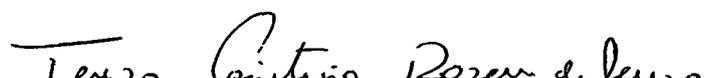
Prof. Dr. Mauro C. M. Laranjeira



Prof. Dr. Viteldo Kozłowski Jr.



Prof. Dr. Valfredo T. de Fávère



Profa. Dr.ª Teresa Cristina R. dos Santos

## DEUS

Agora eu vejo claro a grandiosidade da tua sabedoria.

Ensinaste-me o caminho mas deixaste que eu buscasse meus próprios atalhos, e neles me perdesse.

Incentivaste-me a lutar mas permitiste que eu recuasse ante obstáculos e barreiras que me pareciam intransponíveis, e que deixei de vencer.

Deste-me força e perseverança mas aceitaste que eu fraquejasse quantas vezes, e deixasse de atingir meus objetivos mais importantes.

Alimentaste-me o coração de amor mas permitiste que o ódio muitas vezes se apoderasse dele, e me fizeste indigno de ti.

Mas deste-me, Senhor, a oportunidade e a ventura de ser o que sou:

Nem bom, nem mau;  
Nem pobre, nem rico;  
Nem grande, nem pequeno;

Simplesmente UM HOMEM.

( Oldemar Justus )

---

**Aos meus filhos,**  
**André e Caroline, pelo incentivo, paciência,**  
**carinho e amor a mim dedicados,**  
**enquanto ausente, para realização deste trabalho.**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à **CLÉIA**, esposa querida, mãe dedicada, cujo incentivo constante e doação integral, absorvendo todos os problemas do dia a dia, durante a minha ausência, e ainda encontrando soluções para as dificuldades que surgiram durante todos estes meses, onde sempre encontrei carinho, paciência, e um atalho para tornar tudo mais simples e possível de ser realizado.

## AGRADEÇO...

A meus pais, PAULO E AVANY, pelas horas de amor e dedicação durante toda minha vida, por me proporcionarem educação, muitas vezes com sacrifício, e que tornaram possível a realização de muitos dos meus sonhos, todo carinho.

Aos meus AVÓS, com minhas saudades, e a todos da minha família sou grato pelas orações, palavras sábias, conselhos e carinho com que sempre me acolheram, meu carinho eterno.

A minha irmã Sirlei, pela amizade, carinho e incentivo constante, e o amor com que sempre me acolheu .

Ao Prof. Dr. MAURO C. M. LARANJEIRA, pela orientação segura, incentivo, amizade e carinho, que fizeram com que este trabalho se realizasse com seriedade, profissionalismo e competência, que é a sua marca, o meu reconhecimento.

Ao querido amigo, Prof. WOLFGANG JOÃO MEYER, da UEPG, pelo incentivo, ajuda e demonstração sincera de amizade, meu respeito.

Ao amigo, Prof. Dr. Carlos Cesar Stadler, pelo incentivo, amizade, comprometimento, coragem e determinação na condução deste curso.

Aos amigos Adriane, Affonso, Aldo, Ana Márcia, Dionezine, Éder, Elaine, Fernando Molin, Júlio, Luciane, Lourdes, Marcela, Melatie, Reginaldo, Rosi, Salete, Vanessa, Viviane, pelo convívio, colaboração e amizade.

Aos amigos Atche, Joni e Irene, pela troca de experiências científicas e pronta colaboração na solução de dificuldades no trabalho realizado, e pelos bons momentos em que a amizade, companheirismo e alegria fizeram parte de nosso dia a dia no laboratório, meu abraço sincero.

Ao professor Valfredo, pela demonstração de amizade e despreendimento, pelas valiosas sugestões e colaboração neste trabalho, meu carinho.

A Carla, pelo incentivo constante e colaboração e por estar sempre pronta a colaborar com alegria e verdadeira demonstração de amizade, meu reconhecimento

Aos professores, Bruno, Eduardo Stadler, Hugo, Obdúlio, Paulo Borba, Vitoldo pelo apoio cultural e moral prestados.

Ao Jadir e a Graça, de coração, pelo apoio, colaboração e excelente atendimento, sempre que solicitados.

À direção e colegas professores do CAAR – UEPG, pela colaboração ao suprir minha ausência, para que pudesse realizar e concretizar este trabalho.

Às estagiárias e professores do Laboratório de Materiais, do Departamento de Engenharia Mecânica e USICON da UFSC, pela colaboração com a MEV e fotos da MOE, e pela atenção com que nos receberam e o pronto atendimento, meu reconhecimento.

À UFSC, pela acolhida que nos proporcionou.

À UEPG, CAPS e CNPq, pelo apoio financeiro proporcionado.

A todos que de uma forma ou outra colaboraram para que este trabalho fosse realizado...

## SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS.....	XII
	LISTA DE TABELAS.....	XV
	LISTA DE ABREVIATURAS.....	XVI
	RESUMO.....	XVII
	ABSTRACT.....	XVIII
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1	Ácido Acetil Salicílico .....	3
2.2	Ácido acrílico e poli-(ácido acrílico).....	6
2.3	Química dos biopolímeros: quitina e quitosana.....	8
2.3.1	Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....	10
2.3.2	Aplicações médicas, farmacêuticas e cosméticas da quitina e quitosana.....	12
2.4	Reações de copolimerização de enxerto.....	13
2.5	Trato Gastrointestinal Humano (TGI).....	16
2.5.1	Segmentos do TGI humano que influenciam a liberação de fármacos.....	17
2.5.2	Fatores fisiológicos do TGI que influenciam a liberação intestinal.....	18

3	SISTEMAS DE MICRO/NANOENCAPSULAÇÃO DE FÁRMACOS.....	20
3.1	Micro e nano partículas.....	22
3.2	Métodos de obtenção de micropartículas.....	24
3.3	Aplicações.....	28
4	LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	29
4.1	Sistemas transdérmicos para veiculação de fármacos.....	33
4.2	Sistemas de liberação utilizando ácido acetil salicílico.....	36
5	OBJETIVOS.....	37
5.1	Objetivo geral.....	37
5.2	Objetivos específicos.....	37
6	PARTE EXPERIMENTAL	39
6.1	Materiais e métodos.....	39
6.1.1	Equipamentos.....	39
6.1.2	Reagentes.....	40
6.1.3	Soluções e reativos.....	40
6.2	Métodos.....	41
6.2.1	Preparação da quitosana.....	41
6.2.2	Determinação do grau de desacetilação da quitosana.....	42
6.2.3	Preparação das microesferas.....	44
6.2.4	Copolimerização das microesferas.....	45
6.2.5	Processo de impregnação do AAS nas microesferas.....	46

6.2.6	Teste de impregnação.....	46
6.2.7	Determinação do grau de intumescimento (GI).....	46
6.2.8	Testes de liberação controlada do fármaco ácido acetil salicílico.....	47
6.2.9	Determinação da concentração da AAS pelo método modificado de Trinder.....	48
6.2.10	Curva de calibração.....	49
6.2.11	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	50
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
7.1	Microesferas de quitosana.....	51
7.2	Grau de intumescimento.....	52
7.3	Determinação do grau de reticulação das microesferas com glutaraldeído.....	53
7.4	Estudos de impregnação do fármaco ácido acetil salicílico <i>in vitro</i> .....	54
7.5	Liberação <i>in vitro</i> do ácido acetil salicílico.....	56
8	ESTUDO DA MORFOLOGIA DAS MICROESFERAS.....	67
8.1	Estudo da morfologia das microesferas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	67
8.2	Estudo da morfologia das microesferas através da microscopia estereoscópica.....	73
8.3	Estudo comparativo das morfologias das microesferas de QTS-PAA, QTS-PAA-AAS, QTS-PAA-AAS-Fe <sup>+++</sup> , pela	

	microscopia eletrônica de varredura.....	76
9	CONCLUSÃO.....	80
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Estrutura química do ácido acetil salicílico.....	4
Figura 02	Estrutura química do poli-(ácido acrílico) .....	7
Figura 03	Estrutura química da quitosana.....	9
Figura 04	Gráfico de representação do grau de desacetilação da quitosana.....	10
Figura 05	Reação de reticulação da quitosana pelo glutaraldeído.....	12
Figura 06	Fotomicrografia de corte transversal de microesfera de polianidrido.....	23
Figura 07	Fotomicrografia de microcápsula.....	23
Figura 08	Desenho esquemático para o aparelho Spray- Drying.....	25
Figura 09	Representação esquemática para a obtenção de Micropartículas por coacervação.....	26
Figura 10	Representação da condutância em função do volume da base titulante.....	43
Figura 11	Curva de calibração da concentração do AAS em função da absorvância ( $\lambda_{\text{máx}}$ 540 nm) .....	49
Figura 12	Grau de intumescimento das microesferas de QTS-PAA.....	53
Figura 13	Liberação seqüencial do AAS em microesferas de QTS-PAA.....	57
Figura 14	Liberação simulada, isolada do AAS em pH 1,2.....	59
Figura 15	Liberação simulada, isolada do AAS em pH 6,8.....	60

Figura 16	Liberação simulada, isolada do AAS em pH 9,0.....	60
Figura 17	Liberação simulada, isolada do AAS em pH 1,2; 6,8; e 9,0....	61
Figura 18	Liberação simulada, isolada do AAS em microesfera hidratada em pH 1,2.....	63
Figura 19	Liberação simulada, isolada do AAS em microesfera hidratada em pH 6,8.....	63
Figura 20	Liberação simulada, isolada do AAS em microesfera hidratada em pH 9,0.....	64
Figura 21	Liberação simulada isolada do AAS em microesfera hidratada em pH 1,2; 6,8; 9,0.....	64
Figura 22	MEV de uma microesfera de quitosana.....	67
Figura 23	MEV de uma microesfera seccionada de quitosana.....	68
Figura 24	MEV em A – microesfera de QTS reticulada com Glutaraldeído em B - porosidade da parede da microesfera...	68
Figura 25	MEV de microesfera enxertada com poli-(ácido acrílico).....	69
Figura 26	MEV de uma microesfera enxertada e impregnada.....	70
Figura 27	MEV da morfologia interna de uma microesfera enxertada, seccionada.....	70
Figura 28	MEV de microesferas de QTS-PAA-AAS: A e C inteiras e B e D seccionadas.....	71
Figura 29	MEV de microesferas seccionadas de QTS.....	72
Figura 30	Microscopia ótica estereoscópica de microesferas: A : QTS-PAA-AAS B : QTS-PAA-AAS-Fe <sup>+++</sup> .....	74
Figura 31	Microscopia ótica estereoscópica de microesfera seccio- nada de QTS-PAA-AAS-Fe <sup>+++</sup> .....	75

Figura 32	MOE de microesfera seccionada QTS-PAA-AAS.....	76
Figura 33	MEV de microesferas: A - QTS-PAA-AAS, B - QTS-PAA-AAS-Fe <sup>+++</sup> , C - QTS-PAA.....	77
Figura 34	MEV de microesfera de QTS-PAA-AAS-Fe <sup>+++</sup> , A - microesfera inteira e B - microesfera seccionada.....	78
Figura 35	Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo ao núcleo da microesfera.....	79
Figura 36	Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo à parede da microesfera.....	79

---

---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sistema digestivo humano com seus diversos segmentos e Orgãos anexos.....	16
Tabela 2	Grau de intumescimento das microesferas.....	52
Tabela 3	Leituras das absorvâncias em função do tempo no teste de Impregnação do AAS nas microesferas de QTS-PAA.....	55
Tabela 4	Valores de porcentagem e mg liberados, referentes ao teste de Liberação seqüencial do AAS pelas microesferas de QTS-PAA.....	58
Tabela 5	Valores de porcentagem e mg liberados, referentes à liberação Simulada Isolada do AAS em microesferas de QTS-PAA.....	62
Tabela 6	Valores de porcentagem e mg liberados, referentes à liberação Simulada, isolada do AAS em microesferas hidratadas de QTS-PAA....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido Acetil Salicílico
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de Cálcio
GI	Grau de Intumescimento
GR	Grau de Reticulação
HLA	Ácido Hialurônico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Pressão
IBCA	Isobutil-2-CianoAcrilato
IUPAC	União Internacional da Química Pura e Aplicada
IV	Infra Vermelho
LD <sub>50</sub>	Dose Letal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MgCO <sub>3</sub>	Carbonato de Magnésio
MgO	Óxido de Magnésio
MOE	Microscopia Ótica Estereoscópica
PAA	Poli – (Ácido Acrílico)
RMN	Radiação Magnética Nuclear
QT	Quitina
QTS	Quitosana
QUITECH	Grupo de Quitina e Aplicações Tecnológicas
TGI	Trato Gastrintestinal
UV	Ultra Violeta

## RESUMO

Fármacos conhecidos e já consagrados, como a aspirina, bem como os mais recentes, como proteínas produzidas pela engenharia genética, cujos sistemas convencionais de absorção, são comprometidos pelos efeitos colaterais severos, requerem novos sistemas de liberação, que permitem na maioria dos casos, uma melhoria terapêutica, sem causar danos à saúde do paciente. Pesquisas realizadas pelo grupo QUITECH, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, tem procurado desenvolver sistemas alternativos e que sejam economicamente viáveis, para a microencapsulação de fármacos, hormônios, proteínas, corantes, entre outras, utilizando-se do biopolímero quitosana, obtido através de desacetilação da quitina, a qual é extraída de uma variedade de animais marinhos, principalmente do camarão. Este trabalho objetiva enfocar um novo sistema de liberação, utilizando-se do fármaco ácido acetil salicílico, usando como suporte um complexo polimérico de QTS-PAA [quitosana-poli-(ácido acrílico)], o qual foi preparado e caracterizado a partir da reação de enxerto do poli-(ácido acrílico) sobre a quitosana modificada com o glutaraldeído e cianoborodreto de sódio para formar microesferas. Foram estudados, a impregnação da aspirina nas microesferas, e a liberação do fármaco *in vitro*, em pH 1,2, 6,8 e 9,0, simulando o TGI (Trato Gastrointestinal), procurando minimizar um dos seus efeitos colaterais mais pronunciados, que é a irritação gástrica, evitando a liberação do fármaco em pH ácido. O grau de reticulação e o grau de intumescimento foram analisados. Cinéticas de liberação isolada e seqüencial foram feitas durante até 12 horas, e a concentração do fármaco impregnado e liberado foram determinados utilizando-se espectrofotômetro U.V. visível. A morfologia das microesferas, impregnadas e após liberação foram verificados e comprovados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia ótica estereoscópica (MOE). O desenvolvimento desta pesquisa dimensiona sua importância não somente na área química mas também farmacológica.

## ABSTRACT

As soon it became clear that world-widely distinguished and known drugs such as aspirin as well the more recent, such as proteins produced by genetic engineering, which conventional release and absorption systems are compromised by the severe collateral effects, efforts were directed at finding new release systems that would do the improvement in the therapeutic efficacy with no damage to the wealth of patients. The research carried by QUITTECH, based in the Department of Chemistry, Universidade Federal de Santa Catarina, has prescared the development of alternative low-cost systems, for the microencapsulation of drugs, hormones, proteins, dyes and other organic molecules. We are using the biopolymer chitosan, obtained from desacetylation of chitin, extracted from sea organisms, mainly from the shrimp. Our scope is the use of a polymeric complex of QTS-PAA [Chitosan-poly(acrylic acid)], for controlled delivery of aspirin. The complex was prepared by insertion of PAA on chitosan, modified with glutaradehyde and sodium borohydride, forming microspheres. We studied the weight of aspirin in the microspheres and drug delivery *in vitro* at 1,2, 6,8 and 9,0 pH units, simulating TGI ( Gastrointestinal Tract). The reticulation and swelling were analysed kinetics of delivery ( alone and sequential ) were measured by 12 hours, by U.V. spectrophotometry and morphological analysis of the microspheres through SEM micrographs and stereoscopic microscopy. The results of this work have importance in chemistry and pharmacy development.

## 1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho trata do estudo de novo sistema de liberação de drogas ou fármacos no Trato Gastrointestinal, procurando desenvolver sistemas eficientes e proporcionalmente mais econômicos, pois sabe-se que, para se criar novas moléculas ou fármacos, são necessários milhões de dólares, e um tempo razoavelmente longo de pesquisas, ao passo que, para se melhorar um sistema de liberação dos fármacos, já existentes no mercado, o custo é bem mais reduzido, sendo conseqüentemente uma alternativa mais viável.

Hoje, fármacos mundialmente conhecidos e consagrados, como ácido acetil salicílico, bem como os mais recentes, como proteínas produzidas pela engenharia genética, e outras, cuja liberação e mesmo absorção é complicada, causando efeitos colaterais severos, nos sistemas convencionais, obrigam a estudos de novos sistemas de liberação, permitindo na maioria dos casos uma melhoria na eficácia terapêutica, sem causar danos à saúde do paciente. A Engenharia Genética, Biotecnologia, Bioinorgânica, pesquisam novos sistemas de liberação de fármacos, pois sabidamente é o caminho de desenvolvimento a curto e médio prazo com possibilidades de sucesso neste tema.

Pesquisas realizadas pelo grupo QUITTECH, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, tem procurado desenvolver sistemas alternativos e que sejam economicamente viáveis, para a microencapsulação de fármacos, enzimas e agentes complexantes, utilizando-se do biopolímero quitosana, obtido através de desacetilação da quitina, a qual é extraída de uma variedade de animais marinhos, principalmente do camarão.

Uma série de trabalhos tem demonstrado a importância da utilização da quitosana na microencapsulação de substâncias, devido principalmente às suas características físico-químicas, facilidade de obtenção, seu baixo custo, e ainda devido à sua baixa toxicidade.

A quitosana, por ser um polissacarídeo catiônico, tem sido utilizada como

excipiente em algumas formulações farmacêuticas orais, para melhorar a solubilização de fármacos de baixa solubilidade ou para sustentar a liberação de fármacos pelo lento processo de erosão. Artigos recentes têm mostrado que a quitosana pode ser degradada pela microflora presente no cólon, o que facilitaria sua utilização como microcápsula ou microesfera, pois a liberação de substâncias nesta região pode ser facilitada. Existem várias técnicas (por ex. emulsão por separação de fases, spray drying) para se produzir microesferas de quitosana, sendo que, o método adotado pode influenciar as características morfológicas e a liberação dos fármacos que ela contém.

Portanto este trabalho, objetiva desenvolver um novo sistema de liberação *in vitro* para o fármaco ácido acetil salicílico, mundialmente conhecido por sua ação analgésica, antipirética, antiinflamatória, e recentemente na prevenção de cardiopatologias e doenças vasculares, no tratamento do câncer etc., usando como suporte um complexo polimérico de QTS-PAA {quitosana – poli-(ácido acrílico)}.

A relevância deste trabalho, está no sentido de preparar, e caracterizar um sistema polimérico QTS-PAA para impregnar o ácido acetil salicílico em microesferas e controlar a liberação *in vitro* do fármaco, em pH ideal simulado, no TGI, procurando minimizar um dos seus efeitos colaterais mais pronunciados, que é a irritação gástrica, que muitas vezes leva até uma ulceração com sangramento em muitos pacientes, evitando a liberação do fármaco em pH ácido, produzindo um maior conforto e segurança na administração do medicamento. O desenvolvimento desta pesquisa dimensiona sua importância não somente na área química mas também farmacológica.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Ácido Acetil Salicílico

O Ácido Acetil Salicílico é a droga mais consumida em todo o mundo, em Leviticus (Bíblia), é feita referência às folhas e galhos de salgueiro que nasce nos riachos, como sendo medicinal. Há quase 2400 anos atrás Hipócrates relata o uso de extrato de cascas de salgueiro e cascas de álamo para aliviar a dor e o sintoma de várias doenças e em trabalhos de parto<sup>1</sup>. Índios americanos relatam o uso de chás especiais de cascas de árvore de salgueiro para reduzir a febre. Em 1763, o Reverendo Edward Stone, introduziu os extratos e chás de casca de salgueiro, descrevendo pela primeira vez seus efeitos antipiréticos, e no ano de 1800 foi isolado e identificado o princípio ativo da casca de salgueiro [e flores da planta "Campina Doce" (meadowsweet plant)], como sendo o ácido salicílico, (*Salix*, nome latino da árvore do salgueiro)<sup>2</sup>.

O ácido salicílico, teve sua estrutura química determinada por Charles Gerhart, que reagiu o salicin com cloreto de acetila sintetizando o ácido salicílico, pela primeira vez em laboratório e em 1860 Kolbe conseguiu sintetizar o ácido salicílico, partindo do fenol (síntese de Kolbe)<sup>1</sup>.

"Uma mistura preparada com 50 partes de ácido salicílico e 75 partes de anidrido acético é aquecida por cerca de 2 horas próximo de 50 °C num balão de refluxo. Um líquido claro é obtido do qual, quando resfriado, é extraído uma massa cristalina, que é o ácido acetil salicílico. O excesso de anidrido acético é extraído por pressão e o ácido acetil recristalizado em clorofórmio seco". Estas anotações de Félix Hoffmann Jr, químico que trabalhava nos laboratórios da Bayer, que, em 1897, sintetizou o ácido acetil salicílico a partir do ácido salicílico<sup>1</sup>. O grupo acetil, mascara efetivamente a acidez da droga durante a ingestão, contudo depois que passa para o intestino delgado é convertido novamente em ácido salicílico, onde

ocorre a absorção passando para a corrente sanguínea, onde sua ação alivia a dor. O ácido acetil salicílico provoca irritação estomacal em alguns indivíduos e, avalia-se que aproximadamente 1 mL de sangue é perdido da parede do estômago por grama consumida<sup>2</sup>, devido à ação corrosiva.

Atualmente, o ácido acetil salicílico é a droga comercial farmacêutica mais usada no mundo, e cujas propriedades a tornam indicada para dor (tratamento sintomático), febre (tratamento sintomático), inflamações não reumáticas e reumáticas (artrite reumatóide, artrite juvenil, febre reumática) e profilaxia de distúrbios tromboembólicos<sup>3</sup>.

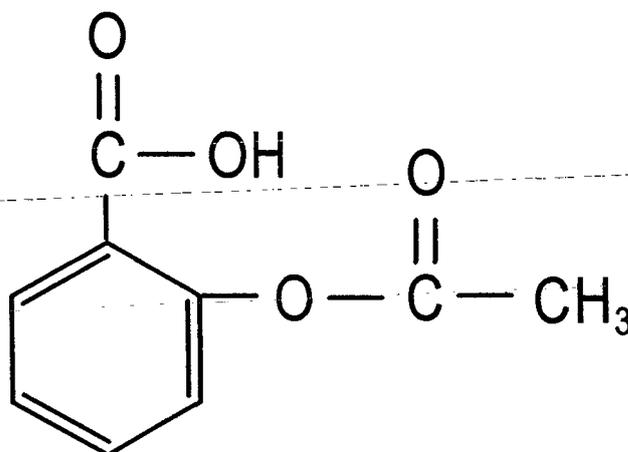


Figura 1. Estrutura química do ácido acetil salicílico

A massa molar do ácido acetil salicílico é de 180,16, sendo sua fórmula molecular  $C_9H_8O_4$  e a composição química possui 60% de carbono, 4,48% de hidrogênio e 35,52% de oxigênio, ponto de fusão em torno de 135 °C, com um pKa em torno de 3,5 e estrutura cristalina. A nomenclatura IUPAC é ácido 2-(acetiloxi) benzóico.

É importante ressaltar que os salicilatos são componentes de várias associações medicamentosas com paracetamol e outros analgésicos e/ou

antitussígenos, com indicação em resfriados, gripes e outras situações que causam dor e febre<sup>3</sup>.

Devido à ação anticoagulante, o ácido acetil salicílico tem contra indicação relativa em pacientes com história de sangramento gastrointestinal, distúrbios da hemostasia e ou portadores de úlceras<sup>3</sup>. A dose recomendada é de 325 mg/dia, com aumento até 1g/dia (1.000mg/dia) em pacientes com prolapso de válvula cardíaca, ataques isquêmicos e no tromboembolismo cerebral recorrente, na prevenção da trombose coronária pós-transplante usa-se 1 g, fracionada até 3 vezes/dia, associada com dipiridamol. Contudo, há estudos clínicos comprovando eficácia até mesmo com 100 mg/dia ou 325 mg cada 48 horas.<sup>3</sup>

É apresentada em numerosas e diversas dosagens nas suas formulações simples, de liberação prolongada e nas associações. Há divergência entre as apresentações utilizadas no mercado brasileiro (500 mg) e no mercado americano (325 mg). Como é habitual, existe grande tolerância a doses maiores (por exemplo: a diferença entre dose necessária para se obter o efeito analgésico/antipirético e o efeito antipirético)<sup>3</sup>. O ácido acetil salicílico é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal sendo parcialmente hidrolizado para o salicilato na primeira passagem pelo fígado e amplamente distribuído pela maioria dos tecidos. Efeitos tóxicos relevantes somente ocorrem se a dosagem for maior que 400 mg/mL de sangue. É metabolizado para o salicilato (99%), e o tempo de meia-vida na eliminação é de 15 minutos. Os alimentos retardam a absorção mas não prejudicam a quantidade total absorvida. Liga-se 80 à 90% às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina<sup>3</sup>. A duração do efeito de comprimidos simples é de 4 a 5 horas. Os salicilatos e seus metabólitos são eliminados principalmente por biotransformação hepática e excreção renal<sup>4</sup>.

Quanto ao mecanismo de ação, interfere na síntese da prostaglandina (o hormônio responsável pela dor e inflamação) por inibir a enzima ciclooxigenase tromboxano em nível central e periférico. Os efeitos antipiréticos resultam da inibição da síntese da prostaglandina no hipotálamo, aumenta a vasodilatação e o suor. A inibição da ciclooxigenase também resulta numa diminuição da agregação

plaquetária no sangue, prevenindo a formação do agente tromboxano A<sub>2</sub>; a inibição é irreversível nas plaquetas expostas a esse medicamento, prolongando o tempo de sangramento<sup>1</sup>.

Pode prolongar hemorragias, pois inibe a coagulação plaquetária, não deve ser ministrada a pacientes com hemofilia, e ainda agravar os casos de úlcera gástrica ou péptica. Se consumida com álcool regularmente, pode vir a provocar ulcerações. É importante destacar que hoje o maior uso é no combate de cardiopatologias e doenças cardiovasculares. Além disso, a aspirina é utilizada no tratamento de câncer, mal de Alzheimer e outras doenças<sup>1</sup>.

Seu maior efeito colateral, é a agressão ao trato gastrintestinal. Scruton adicionou CaCO<sub>3</sub>, tamponando o ácido acetil salicílico. Isto também foi feito com MgO e MgCO<sub>3</sub>, e a tamponação mostrou-se eficaz na diminuição da agressão gastrintestinal<sup>1</sup>. Outra idéia foi a encapsulação do ácido acetil salicílico com uma fina membrana da etil celulose, impedindo que o mesmo fosse dissolvido no estômago, mas somente no intestino<sup>1</sup>.

## 2.2 Ácido acrílico e poli-(ácido acrílico)

O ácido acrílico é um ácido moderadamente forte, irritante e tóxico para pele e olhos, e sua polimerização em meio aquoso, via radical livre, leva à formação de poli-(ácido acrílico). Com uma constante de dissociação de  $5,5 \times 10^{-5}$ , apresenta uma densidade de 1,045 g/mL e ponto de ebulição de 141°C<sup>6,7</sup>. O processo industrial com maior resultado na obtenção sintética do ácido acrílico é através da oxidação ao ar da acroleína. O termo acrilato, é referente a uma classe de polímeros derivados do ácido acrílico (CH<sub>2</sub> = CHCO<sub>2</sub>) e metacrílico (CH<sub>2</sub> = CHCO<sub>2</sub>H). Tem como derivados mais comuns os ésteres acrílicos, anidridos acrílicos e acroleína<sup>5</sup>.

A polimerização deste monômero se dá em meio aquoso, por mecanismo

de radical livre utilizando-se como iniciador redox o [Ce(IV)], na forma de nitrato de cério amoniacal, solúvel em água, e de um agente de transferência (como por ex. ácido mercaptossuccínico), e essa reação é realizada em temperatura entre 50 °C e 100 °C<sup>8</sup>.

O poli(ácido acrílico) é solúvel em solventes polares, como metanol, etanol, etileno-glicol, dioxano, dimetilformamida (DMF), água e também bases diluídas. É insolúvel em solventes apolares, como hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos, ésteres e cetonas e devido a sua solubilidade em água, tem muitas aplicações como; gomas têxteis, agente de suspensão para pigmentos inorgânicos, adesivos e espessantes, sendo preferido por apresentar a melhor estabilidade hidrolítica, suscetível de polimerização, por existência de um radical simples e por ser barato e de fácil aproveitamento.

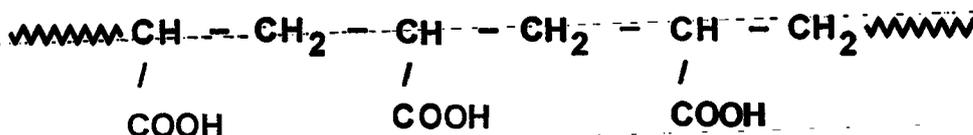


Figura 2. Estrutura química do poli-(ácido acrílico)

O arranjo tático dos resíduos monoméricos, nos polímeros hidrofílicos, pode influenciar a solução ou as propriedades de intumescimento<sup>9</sup>. O poli (ácido acrílico) é muito sensível ao pH, mas a sua forma espiral "estendida" pode suportar até 25% de ionização<sup>10</sup>. Por essa razão, a sua titulação ácido-base permite determinar o pKa ou pKb aparente<sup>11-12</sup>, como função do grau de ionização ou de protonação. Conclui-se que o tamanho do poli-(ácido acrílico), diminui com a redução dos monômeros nos polímeros e desaparece quando a fração molar é ao redor de 10%<sup>12</sup>, e o peso molecular do poli-(ácido acrílico) é de aproximadamente

20.000 daltons, e sua finalidade é a de introduzir nova funcionalidade ao polímero e uma das vantagens de seu uso é a sua biocompatibilidade<sup>13</sup>.

### 2.3 Química dos biopolímeros quitina e quitosana

Segundo polissacarídeo mais comum na natureza, a quitina, é produzida por uma variedade de animais marinhos, insetos e fungos. São produzidos bilhões de toneladas anualmente, principalmente por animais marinhos, representando grande parte dos componentes da estrutura orgânica desses invertebrados<sup>17</sup>. Está presente na casca e carapaça de artrópodes, juntamente com proteínas, lipídios e carbonato de cálcio. As cascas de crustáceos com 15 a 20% de quitina, 25 a 40% de proteínas, lipídios e carbonato de cálcio.

É um biopolímero de alta massa molecular constituído em sua maioria de unidades  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glicose. Pode ser considerada como um derivado da celulose, na qual os grupos hidroxila referentes ao carbono-2, tem sido substituídos por resíduos acetamido e por essa razão assemelha-se a celulose em muitas de suas aplicações<sup>17</sup>. Devido a sua natureza ela é menos atacada pelos reagentes químicos que a celulose, sendo portanto mais estável quimicamente. Com os dados sobre a viscosidade em ácido nítrico (Hackman e Goldberg)<sup>17</sup>, concluiu-se que a massa molar da celulose e quitina obtida a partir de cascas de siri (*Scyllia serrata*), foram semelhantes e, em torno de  $1.036 \times 10^6$  Daltons<sup>17</sup>.

A quitina é um pó cristalino ou amorfo, insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e álcalis. Dissolve-se em ácidos minerais concentrados com simultânea degradação do polímero. Pode ser dispersa em uma solução concentrada e quente de tiocianato de lítio e assim ocorre sua reprecipitação em álcool, acetona ou água<sup>19-20-21</sup>. A grande estabilidade observada da quitina, e da celulose, possibilita que as mesmas, atuem como constituintes estruturais em

plantas e animais, devido a disposição equatorial estável de todos os substituintes e as semelhanças nos anéis de  $\beta$ -(1,4) piranose. A configuração  $\beta$  das ligações glicosídicas também permitem uma estrutura de cadeia aproximadamente linear com fortes ligações de hidrogênio<sup>19</sup>.

É um polímero biocompatível, biodegradável e quase atóxico com LD<sub>50</sub> 16g/Kg. O processo de biodegradação ocorre por hidrólise enzimática através de um mecanismo de despolimerização, semelhante ao das paredes celulares das bactérias e dos fungos. Essa molécula de estrutura química similar à da celulose, degradada por lisozima, presente no corpo humano, e por quitinase. A quitina pode ser caracterizado pela técnica de espectroscopia de Infravermelho.

Quando o grau de N-acetilação é inferior a 50% a quitina apresenta-se solúvel em soluções ácidas diluídas e é chamada de quitosana, a qual é obtida por uma reação de hidrólise básica da quitina, resultando num biopolímero constituído de unidades de  $\beta$ -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-Glicose, apresentando em sua cadeia uma faixa de aproximadamente 70 a 90% de grau de desacetilação. A presença de grupos amino confere à quitosana solubilidade em uma faixa de pH até 6,1 em determinados solventes, como ácidos orgânicos diluídos (ácido acético, ácido fórmico), e ácidos inorgânicos, originando soluções viscosas e também propriedades como polieletrólito e agente quelante, e grandes possibilidades na formação de filmes, fibras e membranas<sup>19,24,25</sup>.

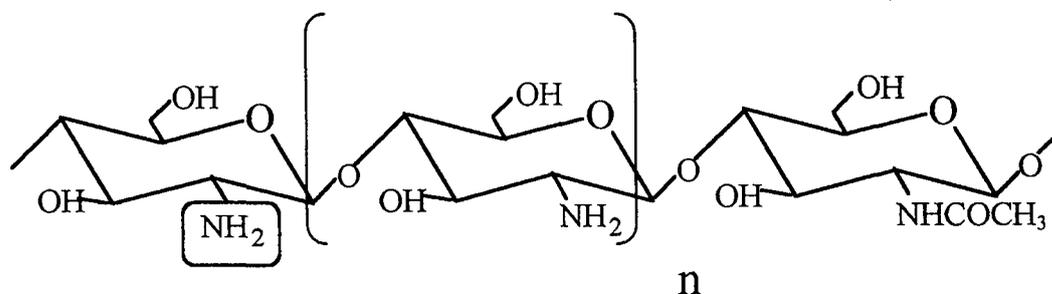


Figura 3. Estrutura química da quitosana.

### 2.3.1 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

A determinação do grau de desacetilação tem sido realizadas através da espectroscopia IV<sup>45</sup>, espectroscopia UV<sup>46</sup>, e titulação condutométrica<sup>26</sup>. Recentemente as técnicas de RMN e cromatografia gasosa tem sido empregadas. A técnica de espectroscopia IV, comprova a remoção do grupamento acetila da estrutura da quitosana, através do desaparecimento da banda da carbonila da amida. Um novo método para determinação do grau de N-acetilação da quitosana foi proposto por Aiba<sup>46</sup>, baseado na espectroscopia ultravioleta, utilizando as absorvâncias em 220 nm, (referentes aos grupos acetamidas), é considerado um bom método analítico. Outro método pode ser empregado utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), com um suporte de permeação a gel e um detector U. V.

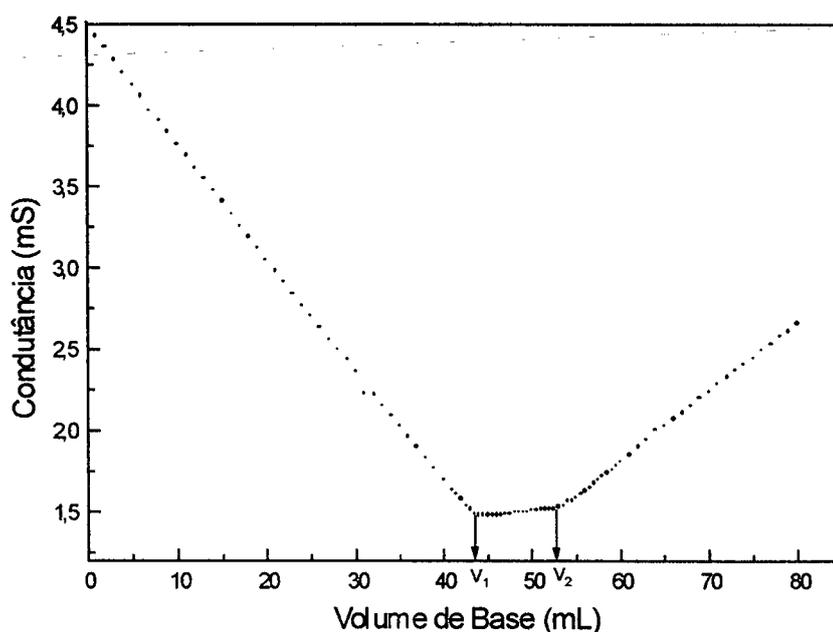


Figura 4. Gráfico de representação do grau de desacetilação da quitosana

Foi constatado que as áreas dos picos de absorção U. V. nos cromatogramas foram proporcionais as concentrações de grupos acetamidas, e portanto, há uma relação linear com o grau de N-acetilação das amostras simples de quitosana. Atualmente um dos métodos mais utilizados para determinação da porcentagem de desacetilação da quitosana é a titulação condutométrica<sup>74</sup>. O método envolve a titulação da quitosana em presença de um excesso de ácido forte, com NaOH 0,1 mol/L. A neutralização da função  $\text{NH}_3^+$  e do excesso de ácido, é definido pelos dois pontos de inflexão observados na Figura 4.

Aplicando-se a equação 1,

$$\% \text{NH}_2 = \frac{M(V_2 - V_1)161}{W} 100 \quad (1)$$

Pode-se determinar o conteúdo de grupos acetilas presentes na quitosana; onde  $V_1$  representa o volume do primeiro ponto de equivalência;  $V_2$  representa o volume do segundo ponto de equivalência;  $W$  representa a massa original do polímero e  $M_{\text{NaOH}}$  a concentração em mol/L de base.

As moléculas de quitosana contém os grupos funcionais, OH e  $\text{NH}_2$  e  $\text{NHCOCH}_3$ , sendo o grupo  $\text{NH}_2$  mais ativo que o grupo hidroxila. As moléculas de quitosana são solúveis em meio ácido diluído, necessitando por isso ser insolubilizada por reticulação. O agente reticulante utilizado neste trabalho foi o glutaraldeído, que apresenta a fórmula molecular  $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$  e uma massa molecular de 100,11. Sua  $\text{LD}_{50}$  é de 25% em ratos.

O glutaraldeído é utilizado para inibir a solubilização da quitosana, através da formação da base de schiff, com seus grupos aldeídos e os grupos amino livres da glucosamina do polímero, produzindo uma cadeia polimérica reticulada mostrada na figura 5.

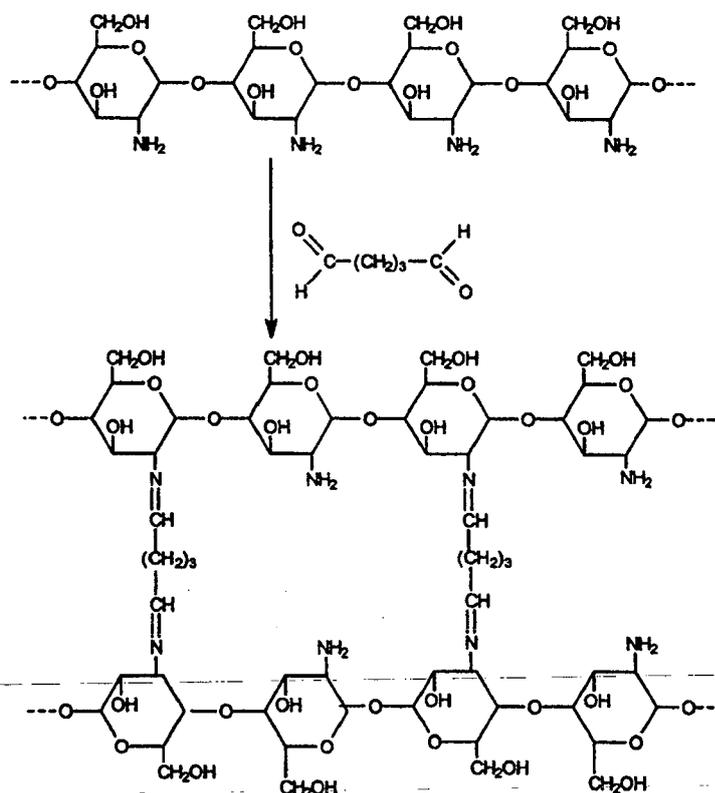


Figura 5. Reação de reticulação da quitosana pelo glutaraldeído

### 2.3.2 Aplicações médicas, farmacêuticas e cosméticas da quitina e quitosana

A quitosana vem sendo aplicada em membranas para hemodiálise, cicatrizante de feridas e queimaduras, na forma de películas de quitosana e soluções de quitina, e através de ação bacteriostática de soluções de quitosana em ácido acético, para o tratamento de feridas provocadas por fungos ou

bactérias<sup>22,23</sup>; Amplamente utilizada como agente antiolesterol, como fator anticoagulante do sangue e ainda em materiais dentários, recentemente como biomembrana artificial para encapsulação de fármacos e de enzimas.

A primeira aplicação da quitosana em cosméticos foi divulgada pela “Fine Cosméticos Co. of Japan”, em 1986<sup>19</sup>. A quitina e quitosana podem entrar na composição de cremes, xampus e dentifrícios. O produto obtido pela oxidação da quitina com hipoclorito, tem propriedades cosméticas similar ao polissacarídeo natural, ácido hialurônico (HLA), e portanto, tem sido usado como seu substituto.

## 2.4 Reações de copolimerização de enxerto

A indústria química vem utilizando produtos denominados de polímeros hidrossolúveis, em vários campos, como têxteis, tintas e corantes, alimentos, medicina, biotecnologia e tecnologia de separação. Polímeros de cadeias com mais de um tipo de unidade monomérica, chamados de “copolímeros”, geralmente apresentam propriedades superiores aos seus homopolímeros (cadeias com apenas um tipo de unidade monomérica). A capacidade dessa cadeia polimérica de se ordenar com uma distribuição completamente aleatória (copolímero estatístico) ou com uma alternância rigorosa das unidades (copolímero alternado) ou ainda quando se alternam seqüências de unidades químicas iguais (copolímeros em bloco) é que irá, sem dúvida, caracterizar e influenciar nas suas propriedades<sup>27,28,29</sup>.

Através de reações de copolimerização obtém-se moléculas com propriedades diferentes e muitas vezes superiores quando comparados com os materiais de partida. Literaturas mais recentes mostram que estudos de reações de copolimerização de enxerto com polímeros naturais, uma classe especial de copolímeros chamados de copolímero enxertado, vem despertando grande interesse científico tecnológico. Vários monômeros como metacrilato de metila<sup>30,31</sup>,

acrilato de butila<sup>31</sup>, ácido acrílico<sup>30,32</sup>, acetato de vinila<sup>30,33,34</sup>, acrilonitrila<sup>35,36,37</sup>, acrilamida<sup>18,36,38</sup>, foram copolimerizados por enxertia sobre a celulose usando vários sistemas iniciadores. A síntese de copolímeros enxertados envolve a formação de sítios ativos na cadeia principal do polímero por qualquer método iniciador. Os copolímeros enxertados podem ser sintetizados por iniciação catiônica, aniônica ou radical livre.

A copolimerização, via radical livre, com nitrato de cério (IV) amoniacal como iniciador redox, apresenta inúmeras vantagens sobre outros. Dados da literatura comprovam que o iniciador cério (IV), é bastante efetivo para esse tipo de reação, pois as reações podem ser conduzidas à temperatura ambiente e com pouca formação de homopolímero, relativa facilidade de aplicação e também pela eficiência da enxertia<sup>39</sup>. Foi comprovado que quando a celulose é oxidada por sais de cério (nitrato ou sulfato de cério (IV) amoniacal), radicais livres capazes de iniciar a polimerização vinílica são formados na celulose. A reação de enxerto é usualmente mais favorecida do que a formação do homopolímero.

Outros trabalhos envolvendo monômeros vinílicos, como acrilonitrila<sup>42</sup>, acrilamida<sup>43,44</sup>, ácido acrílico<sup>44</sup>, usando Ce (IV), como iniciador redox foram publicados em reações de enxerto em que íons céricos formam um efetivo par redox com vários agentes redutores como álcoois primários<sup>40,42</sup>, aldeídos<sup>40,45</sup>, ácidos<sup>40</sup> e aminas<sup>40,42</sup>, para a polimerização de monômeros vinílicos. Trabalhos recentes, realizados no Departamento de Química da UFSC, mostraram também a eficiência em se utilizar o íon cério (IV) como iniciador redox para reações de copolimerização de enxerto. Moecke<sup>39</sup> e Baggio<sup>45</sup> realizaram estudos sobre quitina e quitosana através de reações de copolimerizações de enxerto com o monômero vinílico acrilonitrila (AN). Para essas reações foi investigado o efeito da concentração do iniciador cério (IV), da temperatura, tempo de reação e concentração do monômero, no meio reacional. Os resultados obtidos por Moecke<sup>39</sup> e Baggio<sup>45</sup>, estão de acordo com o mecanismo radicalar proposto por Saha e Chaudhuri<sup>42</sup> para a enxertia sobre a celulose.

Recentemente trabalhos de enxertia de acrilamida e ácido acrílico sobre

quitina, foram desenvolvidos por Kurita e colaboradores<sup>44</sup>, e de acrilamida sobre quitosana, desenvolvido por Kim e colaboradores<sup>43</sup>. O método descrito por Kim baseia-se no processo de extração do homopolímero, utilizando uma mistura de água e acetona. Já o método descrito por Kurita<sup>44</sup>, apresenta como principais diferenças o tempo de extração muito reduzido e um enorme excesso de íon cério (IV) utilizado para iniciar a reação de copolimerização.

Certas reações de enxerto, estudadas cuidadosamente, permitem calcular, em função de determinados parâmetros de reação, como tempo e temperatura, a concentração dos compostos empregados ( iniciador, monômero, etc. )<sup>15-16</sup>, e o grau de enxerto (%G), o qual pode ser determinado pela equação 2:

$$\%G = \frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100 \quad (2)$$

onde %G é o grau de enxerto (%),  $P_1$  é a massa do polímero não enxertado (mg) e  $P_2$  é a massa do polímero enxertado (mg).

## 2.5 Trato gastro-intestinal humano (TGI)

**Tabela 1. Sistema digestivo humano com seus diversos segmentos e órgãos anexos**

Tubo Digestivo	Alto	boca faringe esôfago	
	Médio	Estômago	
		Intestino delgado	duodeno jejuno íleo
	baixo	Intestino grosso	ceco cólon ascendente cólon transverso cólon descendente curva sigmóide reto
		anus	
Órgãos Anexos		glândulas salivares dentes língua pâncreas fígado vesícula biliar	

### 2.5.1 Segmentos do TGI humano que influenciam a liberação de fármacos

Estômago é um órgão de paredes musculosas (musculatura lisa), em forma de bolsa, cuja mucosa é dotada de numerosas células de atividade secretora. O ácido clorídrico e a pepsina (enzima proteolítica), são integrantes do suco gástrico e decorrem da ação glandular de células diferenciadas. A pepsina surge a partir do pepsinogênio (precursor), quando este está em meio ácido (ácido clorídrico). Outras células produzem a mucina gástrica (glicoproteína gelatinosa), que reveste a mucosa do estômago, impedindo que o próprio suco gástrico possa agir sobre ela. Outras células ainda produzem um hormônio, a gastrina, que lançada no sangue, estimula a produção do suco gástrico, desencadeando a ação digestiva do estômago<sup>84</sup>.

No intestino delgado, a primeira porção é o duodeno, é relativamente curto, medindo uns 15 cm de comprimento, com uma trajetória em forma de C. A presença de determinadas substâncias em seu interior, ainda ácidas, estimulam algumas células da parede duodenal a secretarem, três diferentes hormônios: a enterogastrona, a secretina e a colicistocinina<sup>84</sup>.

O primeiro desses hormônios, lançado no sangue, deve atuar no estômago, sobre células secretoras do suco gástrico, desativando-as, a fim de que, estando aquele órgão com sua ação terminada, pare de produzir o ácido clorídrico e a pepsina. A secretina lançada no sangue, vai estimular o pâncreas a produzir o suco pancreático e lançá-lo sobre quimo, ainda no interior do duodeno. A colecistocinina, igualmente lançada no sangue, vai estimular as contrações da vesícula biliar, induzindo-a a ejetar a bile também sobre o quimo, no duodeno.

A bile e o suco pancreático são altamente alcalinos (básicos) e, assim, neutralizam a acidez do quimo. Isso é muito importante, já que as enzimas intestinais, que deverão dar continuidade ao processo digestivo, só atuam, todas elas, em pH alcalino. A bile tem alto poder de emulsão das gorduras, isto é, ela desmembra as porções mais volumosas de lipídios em gotículas extremamente

numerosas, facilitando a ação das lipases pancreáticas e intestinais, que deverão atuar na hidrólise de gorduras<sup>84</sup>. É produzida no fígado e apenas acumulada na vesícula biliar, para eliminação no momento oportuno.

O suco pancreático é a secreção mais rica em enzimas de todo o tubo digestivo (tripsina, quimotripsina, polipeptidases, carboxipeptidases, lipaseses pancreáticas, nucleases, etc.). Sob a ação desse conjunto de enzimas digestivas, o conteúdo gástrico passa para o jejuno-íleo, que compreende a grande porção do intestino delgado, com mais de 5 metros de comprimento, que se dispõe em numerosas dobras, chamadas alças intestinais. O trânsito intestinal no jejuno é rápido, razão pela qual ele se mostra quase sempre vazio, justificando seu nome.

No trajeto pelo intestino delgado, o conteúdo gástrico torna-se líquido, pois recebe uma grande quantidade de água, juntamente com as secreções glandulares, onde ocorre intensa absorção das substâncias ao longo da mucosa intestinal. Essa absorção ocorre com muita intensidade no intestino delgado, pois no intestino grosso praticamente não ocorre mais absorção<sup>84</sup>.

Intestino grosso compreende o ceco, os cólon ascendente, transverso e descendente, seguindo-se o reto e o ânus, tem por função quase que exclusivamente a absorção de água, do bolo fecal, que passa para seu interior. Tem cerca de um metro de comprimento e o bolo fecal começa a assumir um aspecto pastoso, escuro, rico em material não assimilável, com grande número de bactérias, e uma vez perdendo toda água assume consistência sólida e chega ao reto, onde se acumula até o instante de sua eliminação<sup>84</sup>.

### **2.5.2 Fatores fisiológicos do TGI que influenciam a liberação intestinal.**

Os fatores fisiológicos que influenciam a liberação intestinal são, o tempo de trânsito, flora microbiana, peptidases, placas de peyer e a área da luz intestinal.

O tempo de trânsito no estômago é de 30 minutos a 4 horas e trinta

minutos, e de 3 horas a 4 horas e trinta minutos no intestino delgado, sendo portanto relativamente curto, no intestino grosso de 4 até 16 horas, e por consequência, favorece uma maior absorção no cólon<sup>68</sup>. O pH do cólon é relativamente constante (entre 7,5 a 8,0), enquanto o pH do intestino delgado sofre maiores variações (entre 6,3 a 7,5), e por consequência terá menor influência na absorção de formulações colônicas<sup>68</sup>. A flora microbiana no cólon humano contém cerca de 400 espécies diferentes de microorganismos, sendo esta flora de  $10^9$  a  $10^{13}$ g do conteúdo<sup>67</sup> do TGI, o que favorece a uma intensa atividade microbiana, levando a liberação de exotoxinas, endotoxinas, enzimas que produzem liberação de fármacos ou da conversão de pré-fármacos em medicamentos<sup>68</sup>. Quanto às peptidases a atividade peptídica é maior no intestino delgado e decresce muito no cólon, que determina uma grande importância tanto para a absorção peptídica bem como para a estabilidade do peptídeo<sup>68</sup>. Placas de Peyer, constituem-se de um agregado de células linfóides, formado por grupos de 5 a 900 folículos fluídos. As placas estão localizadas na região ileocecal, no intestino delgado e também no intestino grosso<sup>68</sup>.

A área da luz intestinal devido à ausência de macrovilosidades e também de microvilosidades, o cólon se apresenta na forma um tubo de aproximadamente 150 cm de comprimento e 7 cm de diâmetro, e sua superfície de absorção mede 0,25 a 0,3 m<sup>2</sup>, o que, em comparação com o tamanho total do TGI (120 a 200 m<sup>2</sup>), é muito pequena, o que o torna desfavorável à absorção<sup>68</sup>.

### 3 SISTEMAS DE MICRO/NANOENCAPSULAÇÃO DE FÁRMACOS

A ciência e a tecnologia de micro/nanoencapsulação constitui um dos exemplos de como a aplicação de uma técnica em determinado campo pode ser estendida para outros, incluindo o das ciências farmacêuticas. Em cerca de 20 anos, a micro/nanoencapsulação de substâncias, tornou-se uma tecnologia de compartimentalização de substâncias, bastante estudada. Esses sistemas possibilitam o isolamento e a manutenção de substâncias ativas no interior da micro/nanoestrutura, com dimensões variando de alguns nanômetros, até alguns milímetros de diâmetro, conforme a metodologia utilizada, funcionando como verdadeiros reservatórios do agente ativo<sup>50</sup>.

A microencapsulação foi inicialmente utilizada pela National Cash Register Company, na produção do papel cópia sem carbono – “No Carbon Required”. Neste processo, duas tinturas separadas por um filme argiloso, quando juntas, reagem, originando cor, sendo a mistura das tinturas causada pelo rompimento do filme com um instrumento no ato de escrever<sup>52</sup>. O sucesso do processo de microencapsulação levou muitos cientistas, de áreas diversas, a aplicar a tecnologia da micro/nanoencapsulação. Atualmente passam pelas áreas gráfica, de indústria farmacêutica, de agricultura, de indústria de alimentos, de produtos domésticos, entre outras.

Na área farmacêutica, a microencapsulação assume, na atualidade, uma das alternativas viáveis para o desenvolvimento de novas formulações, uma vez que possibilita, de maneira racional e efetiva, aumentar a eficiência terapêutica de substâncias já utilizadas correntemente no tratamento de grande variedade de doenças<sup>50</sup>. Inicialmente, micropartículas foram produzidas com tamanhos variados de 5  $\mu\text{m}$  a 2 mm. Entretanto, desde 1980, uma segunda geração de sistemas microparticulados de dimensões menores vem sendo desenvolvidos. Esses sistemas incluem nanopartículas (10 – 1000 nm de diâmetro) e micropartículas (1 – 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro).

Outros sistemas capazes de encapsular substâncias ativas são os lipossomas, microemulsões e uma variedade de ciclodextrinas. Uma terceira geração de sistemas nanoparticulados tem sido produzidos para direcionar sistemas coloidais para sítios específicos de ação farmacológica, proporcionando alta concentração de fármaco no órgão ou tecido pretendido. A aplicação de sistemas micro/nanoencapsulados na área farmacêutica está sendo amplamente estudada, e tem sido utilizada para a obtenção de formas sólidas de óleos, no mascaramento do sabor e odor desagradáveis de substâncias ativas, na proteção de fármacos contra a umidade, calor e oxidação, alteração da solubilidade, na diminuição da volatilização de fármacos líquidos, na prevenção de incompatibilidades entre substâncias ativas contidas na mesma formulação, para tornar materiais tóxicos manipuláveis de maneira segura, para aumentar a característica de fluxo de materiais sólidos em processos de compressão, e para produzir liberação controlada e vetorização de fármacos, entre outras<sup>50</sup>.

Um dos métodos de imobilização de enzimas e células livres consiste na sua introdução em microesferas semipermeáveis. Em 1978 Lim e Sun introduziram o par alginato/polisina para encapsulação das ilhotas de Langerhans. Sendo que, as cápsulas simplex são conhecidas por serem formadas por combinação entre um poliânion e um policátion e por apresentarem estabilidade, devidas às interações eletrostáticas<sup>50</sup>. A partir deste princípio, Dautzenberg<sup>52</sup> e outros usaram a combinação do sulfato de celulose com poli(dimetildialilamônio), para formar microesferas. Do mesmo modo, Dupuy<sup>53</sup>, e outros fizeram uso da acrilamida e do metilnobilis(acrilamida) com agarose com mesma finalidade, sendo que nas ditas microesferas estes pesquisadores encapsularam fosfatase ácida<sup>50</sup>.

A microencapsulação é uma variante da imobilização, na qual a substância microencapsulada é dispersa em pequenas esferas de membranas poliméricas semipermeáveis, com poros de tamanho variado, dependendo do material utilizado, pode ser geralmente polímeros naturais ou sintéticos. Existem duas razões básicas envolvidas na utilização deste processo; a necessidade de proteção do material encapsulado contra agentes externos ou a proteção do

encapsulado, tendo como exemplo a proteção do encapsulado contra produtos químicos, temperatura, calor ou outros agentes. Também podemos citar situações em que a microesfera será administrada ao organismo humano, sem que as paredes dos órgãos apresentem conseqüências danosas, devido à presença do encapsulado, como no caso de irritação gástrica originado pela ingestão de medicamentos<sup>57,58</sup>.

A microencapsulação pode ser usada em diferentes funções e tem sido empregada em muitos campos da tecnologia, freqüentemente associada com aplicações nas quais o encapsulado (proteínas, gases, líquidos ou materiais sólidos), pode ser modificado na sua forma, volume, aparência, cor, densidade, reatividade, durabilidade e fotossensibilidade, sendo liberado em condições controladas<sup>50</sup>.

### 3.1 Micro e nano partículas

O termo micro/nanopartículas é genérico, sendo usado, de acordo com o tamanho da partícula a que se está referindo. Partículas com tamanho menor que 1  $\mu\text{m}$  são consideradas nanopartículas, enquanto que as partículas maiores são denominadas micropartículas. Existe certa controvérsia com relação ao tamanho limite para as micropartículas, uma vez que alguns autores consideram partículas maiores que 1  $\mu\text{m}$  como micropartículas. O termo micro/nanopartículas é amplo e refere-se a dois tipos de estruturas diferentes micro/nanoesferas e micro/nanocápsulas<sup>50</sup>.

Denominam-se esferas aqueles sistemas em que o fármaco encontra-se homogeneamente disperso no interior da matriz polimérica ou cerosa. Dessa forma obtém-se um sistema monolítico, onde não é possível identificar um núcleo diferenciado (Figura 6).

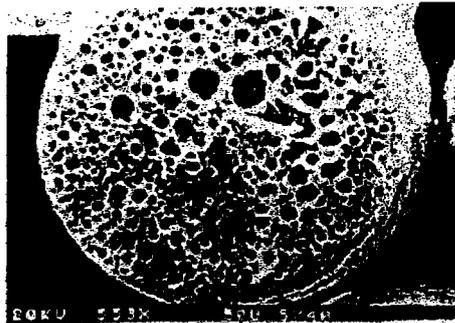


Figura 6. Fotomicrografia de corte transversal de microesfera de polianidrido

Micro/nanocápsulas, ao contrário, constituem sistemas reservatórios, onde é possível identificar-se um núcleo diferenciado, que pode ser sólido ou líquido. Nesse caso, a substância ativa encontra-se envolvida por uma membrana, geralmente polimérica isolando o núcleo do meio externo<sup>50</sup> (Figura 7 ).

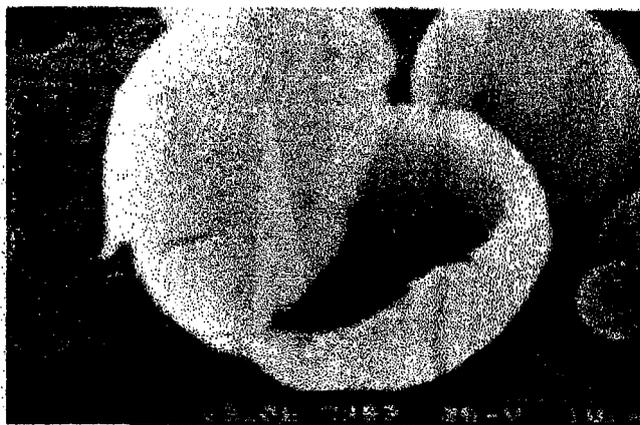


Figura 7. Fotomicrografia de microcápsula

### 3.2 Métodos de obtenção de micropartículas

Sistemas micro/nanoparticulados são geralmente constituídos por matrizes poliméricas, no entanto, podem também ser obtidos, utilizando-se proteínas, ceras e lipídios. Um dos métodos mais simples para obtenção de micropartículas é a dissolução de um fármaco juntamente com um polímero em determinado solvente, seguido pela adição, sob agitação constante, de um não solvente à mistura. O não solvente causa a precipitação ou coacervação do polímero no meio, originando micro ou nanopartículas capazes de reter, no interior da matriz polimérica, parte do fármaco dissolvido no meio.

Fármacos, quando encapsulados no interior de matrizes poliméricas, não estão prontamente disponíveis para o sistema biológico como quando em solução. Assim o polímero tem que dissolver ou desintegrar para que o fármaco possa ser liberado, ou então o fármaco tem que dissolver e/ou difundir do interior da matriz. De qualquer modo, a liberação do fármaco para o meio fisiológico é estendida a um tempo muito maior comparado ao fármaco na sua forma livre, sendo esta característica um dos principais fatores para a pesquisa e desenvolvimento de sistemas microparticulados<sup>50</sup>. Esses métodos podem ser divididos em:

Métodos mecânicos, que são os mais úteis comercialmente, uma vez que esses métodos são mais facilmente adaptáveis a produção em larga escala. Alguns exemplos como o “revestimento em leito fluidizado, “cujo sistema, partículas contendo fármacos são mantidas em suspensão através de um fluxo de ar contínuo. As partículas são revestidas por atomização do material revestidor no leito de partículas suspensas. O tempo de exposição das partículas ao material revestidor irá determinar a espessura do revestimento. Este sistema é capaz de encapsular fármacos sólidos ou líquidos adsorvidos em partículas sólidas. As partículas produzidas podem variar de 35 a 5000  $\mu\text{m}$ . A “centrifugação multiorifício” Este método utiliza força centrífuga para lançar o núcleo através de uma membrana de material revestidor. Normalmente, as microcápsulas são

coletadas num sistema de contra-corrente de ar quente para secagem e endurecimento.

O “revestimento em turbinas”, este processo consiste em revestir núcleos sólidos através da atomização do material de revestimento. O solvente utilizado para solubilizar o material deve ser facilmente removido por corrente de ar quente, gerando partículas com cerca de 600  $\mu\text{m}$ .

No método de “Spray Drying”, o fármaco, em solução ou em dispersão, é otimizado, juntamente com o material revestidor solubilizado ou fundido, em uma câmara de evaporação, causando a rápida solidificação da superfície das gotículas atomizadas originando as partículas<sup>50</sup> observado na figura 7.

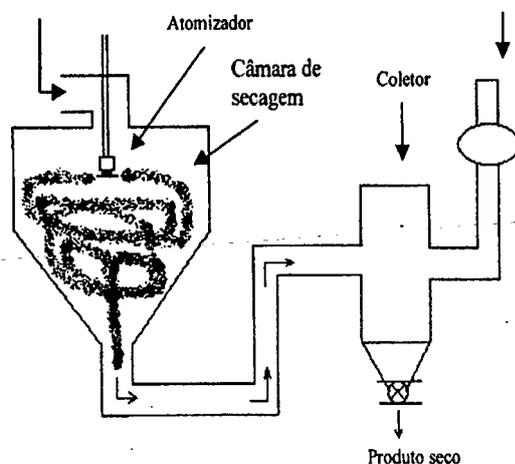


Figura 8. Desenho esquemático para o aparelho Spray drying

Os métodos físico-químicos, de maneira geral, consistem em transformar substâncias inicialmente solúveis, tais como polímeros e ceras, em materiais insolúveis no mesmo meio<sup>51</sup>.

Processos de coacervação ( separação de fases ), podem ser divididos

em simples e complexa. Enquanto a coacervação simples envolve a formação do coacervado por mudança de pH, temperatura, força iônica, etc, a coacervação complexa resulta da complexação entre dois polieletrólitos de carga oposta. A formação do coacervado pode se dar , tanto em meio homogêneo, originando partículas monolíticas, como em meio heterogêneo, onde o coacervado se deposita na superfície da fase dispersa como fase interna de uma emulsão ou cristais de um fármaco, originando sistemas tipo reservatório<sup>50</sup> (Figura 8).

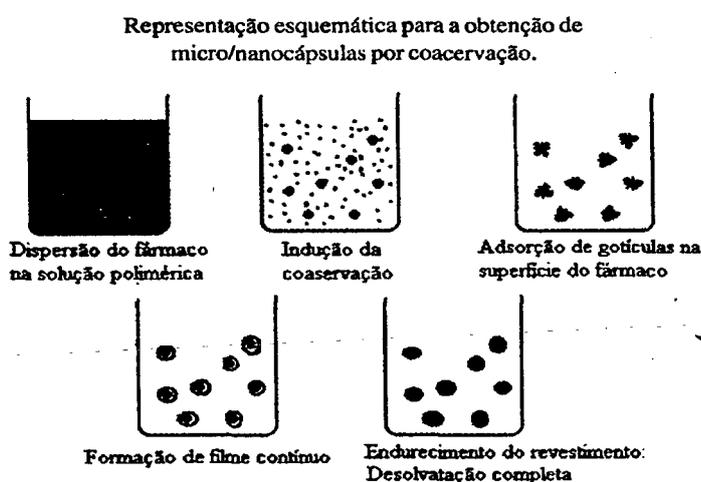


Figura 9. Representação esquemática para a obtenção de micropartículas por coacervação

Evaporação do solvente, neste método, fármaco e polímeros são dissolvidos num solvente orgânico volátil e emulsificados em meio aquoso, contendo tensoativo. Após a emulsificação, o solvente orgânico é eliminado por agitação, aquecimento ou vácuo.

Quanto aos métodos químicos ,fundamentam-se no desenvolvimento de

reações químicas, geralmente de polimerização. Em princípio, qualquer método de polimerização ou copolimerização pode ser adaptado para a formação de micro e nanocápsulas<sup>50</sup>.

Polimerização ou copolimerização podem ocorrer: no meio externo, no qual o fármaco é disperso como um sólido ou líquido, sendo que os polímeros formados difundem-se para a interface, onde se fixam, ou na interface, *in situ*. Tanto espontaneamente ou pelo contato entre monômero difundido de um lado e o catalizador de outro. Na interface, *in situ*, pela condensação química de dois monômeros, quimicamente diferentes, em fases opostas, reagindo na interface.

Nestes métodos, tem-se geralmente a formação de dispositivos tipo reservatório, sendo o tamanho da partícula diretamente dependente do diâmetro da fase interna e do controle da reação (inicialização, propagação e término da cadeia polimérica). A fase interna pode ser a gotícula de uma emulsão ou microemulsão. A utilização do método em que se tem a polimerização/policondensação, no meio externo, é especialmente interessante, quando se trata de métodos químicos, uma vez que permite uma maior variação dos núcleos, podendo ser utilizado cristais de fármacos ou partículas contendo fármacos, além das já citadas fases internas de emulsões/microemulsões. Agregados supramoleculares, como lipossomas, são outra alternativa de núcleo, sendo especialmente interessante por possibilitarem a encapsulação de fármacos hidro e lipossolúveis.

Reações que envolvem a polimerização e policondensação ou copolimerização, utilizando lipossoma como núcleo, foram desenvolvidas, utilizando iso-butil-2-cianoacrilato (IBCA), para a polimerização e uréia e formaldeído para a policondensação. Uréia e formaldeído são substâncias de baixo custo e que originam copolímeros. Juntos no meio reativo, através de mudança de pH, originam cadeias poliméricas que com o crescimento destas, tornam-se insolúveis em meio aquoso. Esta propriedade permite utilizar o polímero formado *in situ* como material de revestimento para obtenção de micro/nanocápsulas.

Isobutil-2-cianoacrilato tem sido extensivamente estudado para a obtenção de nanopartículas, a fim de serem utilizados como transportadores coloidais de fármacos. A reação de polimerização do isobutil-2-cianoacrilato é rápida. O mecanismo de polimerização é um processo aniônico induzido por bases presentes no meio reativo. Devido à alta reatividade dos alquilcianoacrilatos, hidroxilas resultantes da dissociação da água, assim como fármacos básicos, são capazes de desencadear a reação.

### 3.3 Aplicações

As micro/nanopartículas estão sendo usadas e testadas com os mais diferentes objetivos, mascaramento de sabor de alcalóides e sulfas, na proteção de fármacos lábeis como vitaminas, ácido acetil salicílico, enzimas, hormônios etc.

No isolamento de tecidos, bem como encapsulação de hemácias, óleos, flavors, vitamina A, e conversão de líquidos em sólidos

Na liberação sustentada e controlada de antibacterianos, antineoplásicos, analgésicos, imunossuppressores e ainda na vetorização de fármacos com baixo índice terapêutico e mais recentemente em biotecnologia; diagnósticos, terapia gênica, biosíntese

De maneira geral as aplicações de sistemas de microencapsulados são possíveis graças a propriedade destes sistemas em isolar o agente ativo do meio externo, e até certo ponto possibilitarem o controle da liberação destes agentes no momento pretendido<sup>50</sup>.

#### 4 LIBERAÇÃO CONTROLADA

Os fármacos são geralmente administrados, via oral, ocular, nasal, retal ou parenteral. Os intervalos de administração podem ser um fator inconveniente, e alguns fármacos, quando administrados, por via oral, são parcialmente desativados ou neutralizados no estômago, intestino ou fígado, antes de alcançarem a corrente sanguínea, levando a uma conseqüente baixa biodisponibilidade, que conduz à administração de altas doses do fármaco para garantir a sua eficácia, aumentando os riscos de efeitos colaterais. A via parenteral, além de representar altos custos, apresenta, também, problemas relacionados com esterilização<sup>65</sup>.

Os sistemas de liberação adotados para os polímeros, tendem a liberar fármacos e/ou outras substâncias, a uma velocidade e período de tempo predeterminados, sendo que, em geral, as velocidades de liberação são determinadas pelo modelo de sistema e quase independem das condições do meio, tais como o pH. Esses sistemas podem também liberar os fármacos durante um longo período, de dias até anos. Apesar das macromoléculas conjugadas às vesículas ou aos fármacos poderem prolongar a liberação, um ótimo controle é permitido se a substância é encapsulada em um material polimérico.

Os novos sistemas de liberação diferem das velhas preparações de liberação sustentada ou de liberação lenta, as quais incluem complexos (de sal ou de resinas trocadoras de íons), suspensões, emulsões, revestimentos de diluição lenta (que se dissolvem somente no intestino) e os comprimidos. Os sistemas de liberação controlada possuem algumas vantagens sobre as formas tradicionais. Por exemplo, após a ingestão, ou ainda a aplicação injetável de uma forma farmacêutica padrão, o nível plasmático do fármaco, sobe até atingir um pico e depois decresce, o que pode causar variações sensíveis na resposta terapêutica, e/ou produzir efeitos tóxicos relevantes, ou ainda ser ineficiente. Porém, as preparações de liberação sustentada diminuem os picos e conseqüentemente as

quedas, mantendo o nível plasmático do fármaco mais prolongado e sua eficiência terapêutica mais pronunciada, a partir da sua simples administração<sup>69</sup>.

Existem outras vantagens da liberação controlada como a liberação localizada da droga, em compartimentos corporal definido, diminuindo deste modo, o nível sistêmico do fármaco; Proteção dos medicamentos que poderiam ser destruídos pelo organismo, o que é particularmente importante para as moléculas biologicamente ativas, como por exemplo as proteínas. Pequena necessidade de se prevenir contra possíveis flutuações dos níveis do fármaco no organismo. Maior aceitação do fármaco pelo paciente.

De forma geral os materiais poliméricos liberam farmoquímicos pelos seguintes mecanismos difusão, reação química, ativação de solventes. Existem dois tipos de mecanismos de controle da difusão: reservatórios e matrizes, e um dos primeiros usos clínicos do sistema polimérico, de liberação controlada, é do reservatório para melhorar o tratamento de glaucoma. A reação química é efetuada por degradação polimérica ou clivagem do farmoquímico no polímero. A ativação de solventes envolve o entumescimento do polímero ou efeito osmótico. O uso dos polímeros para liberar esteróides foi bastante estudado, sendo examinados quatro tipos de sistemas:

Implantes de reservatório subdermal, compostos de polímeros não degradáveis, que liberam fármacos por mais de cinco anos (como no caso do Norplant). Esses sistemas se baseiam no estudo de difusão seminal, através de silicone de borracha;

Implantes subdermal ou de microesferas injetáveis, compostos de materiais desagradáveis, como copolímeros de ácido glicólico-ácido láctico, poliprolactonas ou colesterol;

Liberação esteróidica intrauterina, como reservatório copolimérico de acetato de vinil-etileno;

Anéis vaginais que são os sistemas de reservatório de silicone, usado, geralmente, para cada ciclo menstrual, durante três a seis meses.

As bombas constituem outro sistema de liberação de fármacos, além das microesferas, as quais são semelhantes a minúsculas seringas, as quais em contato com o organismo, liberam as drogas nela contida.

As bombas se classificam em dois tipos: a de uso externo, onde o processo de esgotamento da bomba, neste sistema, se faz através de pressão orientada, é uma seringa em miniatura, que libera o fármaco nela contido, pelo cano, à velocidade constante, sendo ajustada pela alteração da concentração do referido fármaco.

No sistema implantável, desenvolvido utilizando-se um propulsor de fluorocarbono, como força motriz. Neste sistema, a bomba controla uma espécie de fole dobrável, que divide o seu interior em duas câmaras, em uma contém o propulsor e a outra a solução do fármaco. Com a temperatura corporal, o vapor da pressão exercida pelo propulsor, força a solução contendo o fármaco através do filtro, regulando o fluxo a uma velocidade constante.

As bombas são usadas no tratamento de câncer, em que um catéter é estendido a partir da bomba, sendo inserido no vaso sangüíneo, a fim de alimentar o órgão doente, como por exemplo, o fígado ou o cérebro debilitados, aumentando, dessa maneira, a sua velocidade de liberação e realizando uma economia de força para o resto do corpo.

Nos dois casos (bomba de uso externo e implantável), a força motriz é uma diferença de pressão que resulta no volume de escoamento do fármaco, através de um orifício. Algumas bombas são recarregáveis. As bombas são mais abundantes e baratas que o sistema polimérico, apesar de as mesmas requererem uma cirurgia para sua implantação, oferecem a vantagem de um controle preciso do fármaco e podem liberá-lo diretamente no sangue.

Outros sistemas de liberação controlada estão sendo pesquisados, incluindo a liberação localizada de disfosfonatos (quelantes de cálcio) para prevenir a calcificação valvular do coração e dopamina ou bromocriptina para tratamento da doença de Parkinson<sup>69</sup>.

As vesículas são microesferas ou transportadores coloidais compostas de substâncias como proteínas, lipídios (lipossomos), carboidratos ou polímeros sintéticos. As vesículas possuem algumas das vantagens do fármaco macromolecular conjugado, como por exemplo, a farmacocinética e a biodistribuição alteradas, além de colaborarem para que o fármaco apresente-se altamente carregado. Dentre as várias espécies de vesículas, as mais estudadas são os lipossomos, constituídos por várias composições e estruturas lipídicas, sendo atóxicos, degradáveis, não imunogênicos, entretanto apresenta uma pequena estabilidade tanto na estocagem, quanto durante o uso. A estabilidade lipossomal aumenta conforme a elevação do conteúdo do colesterol, bem como dos lipossomos polimerizados sintéticos, mas a biodegradabilidade, por sua vez, pode ser diminuída<sup>69</sup>.

Os sistemas de liberação controlada foram somente capazes de emitir, lentamente, fármacos de baixa massa molecular, as moléculas maiores, como as proteínas, foram, dessa forma, excluídas, porque os polipeptídeos são vistos como muito grandes para difundir através da maioria dos materiais poliméricos, mesmo após o entumescimento. As moléculas grandes podem difundir por meio de grandes poros membranares, como filtros, miliporos ou alguns géis, como poliacrilamida. Entretanto, nesses casos, a difusão é geralmente muito rápida e os tecidos danificados não são facilmente observados.

A descoberta de que pequenas moléculas, poderiam ser liberadas por sistemas poliméricos, por um período de tempo prolongado, estimula alguns pesquisadores a trabalharem na hipótese de que as moléculas maiores com proteínas, de polissacarídeos poderiam também ser liberadas por este sistema. São exemplos de polímeros que atuam nesse processo: o acetato de vinil-etileno (não degradável) e o copolímero ácido glicólico-ácido láctico.

Alguns géis como poli(hidroxietilmetacrilato) ou álcool polivinílico (PVA) também atuam na liberação de proteínas, por um período mais curto do que os polímeros acima<sup>70</sup>. O mecanismo de liberação geralmente envolve um movimento de polímeros através dos poros da matriz polimérica. Se o polímero desgastar,

isso pode afetar a estrutura dos poros e acelerar a liberação. Os fatores que influenciam a velocidade de liberação incluem o tamanho, a carga, a solubilidade e a massa molecular da partícula protéica, a dimensão e a forma da matriz polimérica<sup>72,73</sup>. O primeiro sistema de liberação de peptídeo, a ser aprovado por Food and Drug Administration (FDA), é o copolímero ácido glicólico-ácido láctico e acetato de leuprolídeo, introduzidos no tratamento de câncer<sup>71,72</sup>.

#### 4.1. Sistemas transdérmicos para veiculação de fármacos

Os transdérmicos são sistemas que, aplicados sobre a pele, liberam o fármaco que, após atravessar as diversas camadas da pele, alcança a corrente sanguínea numa velocidade constante, durante um período de tempo mais ou menos longo<sup>65</sup>. O desenvolvimento destes sistemas busca a administração de fármacos, a uma taxa controlada, através da pele intacta para ação sistêmica. Tais sistemas devem possuir características físico-químicas que permitam a liberação do fármaco e facilitem a sua permeação através da pele.

As pomadas e os cremes foram as primeiras formas farmacêuticas para a administração transdérmica de fármacos, porém estas não permitem controle e reprodutibilidade da dose administrada. Os emplastros, conhecidos desde a era anterior a nossa e, hoje em dia, em franco desuso, representam, provavelmente, a origem dos modernos sistemas transdérmicos. Constituíam formas farmacêuticas de consistência firme, formando massas plásticas, flexíveis e, eventualmente, adesivas, sendo aplicadas sobre a pele, com a finalidade de proteção ou veiculação de substâncias ativas.

Os sistemas transdérmicos foram desenvolvidos para controlar a taxa e a duração da liberação do fármaco na pele. Os primeiros medicamentos transdérmicos foram introduzidos no mercado, no início da década de 80, pelas firmas Alza Corporation e Ciba-Geigy. Continham escopolamina, que era liberada

ao longo de três dias<sup>65</sup>. A pele humana não é uma simples membrana. Constitui-se de uma membrana dinâmica, composta de muitas estruturas e componentes e apresenta constantes mudanças. Sua principal função é impedir a perda transepidermal de água e de eletrólitos do organismo, tornando-se, portanto, uma barreira impermeável, principalmente para fármacos hidrofílicos.

A pele está dividida em três camadas, epiderme, constituída por um filme de material emulsificado, uma camada de células epidérmicas mortas ou estrato córneo e uma camada de células epidérmicas vivas ou estrato germinativo. A derme, é formada por uma matriz de tecido conectivo composto de proteínas fibrosas, como colágeno e elastina, embebida em uma substância amorfa. A irrigação sangüínea da pele encontra-se na derme e tecidos subjacentes. Um plexo arterial reside no tecido subctâneo, e dele partem ramificações para vários apêndices e para a derme. A partir deste plexo, pequenos capilares seguem para a interface derme/epiderme e permitem a troca de nutrientes entre estas camadas.

O transporte de fármacos, através da pele, é complexo, uma vez que vários fatores influenciam em sua permeação, principalmente a estrutura da pele e suas propriedades, a molécula penetrante e sua relação físico-química com a pele e com o sistema e a combinação da pele, penetrante e sistema como um todo.

Os possíveis mecanismos de permeação do fármaco na pele são a penetração transcelular; a penetração intercelular e a penetração transapendicular (adjacente a glândulas e folículos). Acredita-se que a penetração intercelular seja o principal mecanismo de permeação de fármacos.

Os sistemas transdérmicos geralmente são aplicados em área de maior fluxo sangüíneo e espessura da pele constante, como, por exemplo, atrás da orelha e na parte superior do braço ou tórax. Um pré-requisito exigido para a absorção transdérmica de fármacos é a penetração do agente ativo através da epiderme. A passagem pelo estrato córneo, que é a principal barreira, é um fenômeno mais físico-químico do que biológico. As glândulas sudoríparas e sebáceas e os folículos capilares podem ser essenciais para uma rápida ação,

mas influem relativamente pouco ou quase nada sobre o estado de equilíbrio de permeação através da pele.

O estrato córneo é composto por aproximadamente 40% de proteínas (principalmente queratina) e 40% de água, com lipídeos, principalmente triglicerídeos, ácidos graxos livres, colesterol e fosfolipídeos. O conteúdo lipídico está concentrado na fase extracelular e forma um revestimento nas células. Uma vez que a principal rota de penetração é através dos canais intercelulares, o lipídeo é considerado um fator limitante na primeira etapa do processo de absorção<sup>65</sup>. Os sistemas transdérmicos geralmente apresentam uma membrana externa, um reservatório de fármaco, uma membrana porosa, uma camada adesiva e uma película destacável<sup>65</sup>.

A membrana externa é uma camada impermeável, cuja função principal é proteger o sistema contra a perda do fármaco. Pode ser constituída por fibras celulósicas, poliéster, filmes de polietileno, papel e folha metálica ou uma combinação destes materiais. O reservatório do fármaco pode ser estruturado como um sistema reservatório contendo o fármaco suspenso ou como um sistema matricial. A camada adesiva, responsável pela fixação do sistema na pele, é geralmente constituída de silicone, borrachas naturais ou sintéticas e poliacrilatos. Os adesivos de silicone são os mais utilizados, por serem quimicamente estáveis, biologicamente inertes, transparentes e mantêm a propriedade adesiva na presença de umidade e possuem alta permeabilidade. Na camada adesiva é possível adicionar uma quantidade de fármaco para atuar como dose inicial.

A película destacável protege o sistema durante a estocagem e também contra aplicações acidentais durante o manuseio. Pode ser constituída por silicone, fluorossilicones e filmes. A taxa de difusão do fármaco depende da concentração deste no veículo, da sua solubilidade, do coeficiente de partição O/A entre estrato córneo e veículo e do peso molecular do fármaco. Substâncias que apresentem simultaneamente solubilidade aquosa e lipídica são bons candidatos à difusão através do estrato córneo, epiderme e derme. Um dos

fatores limitantes para a veiculação do fármaco é a sua potência, pois, uma vez que é difícil obter-se níveis plasmáticos altos, os fármacos devem proporcionar efeito terapêutico significativo em concentrações plasmáticas menores<sup>65</sup>.

#### 4.2 Sistemas de liberação utilizando ácido acetil salicílico

Estudos de cinética de liberação em microcápsulas revestidas com Rosin Hard Paraffin Combination (RHPC), segundo Pathak e Dorle-1990<sup>89</sup>, impregnadas com AAS tem sido desenvolvidos. Rosin e seus derivados são largamente empregados como vernizes em pintura, em produtos alimentícios, comestíveis e dentários, e ainda como revestimento para liberação controlada de drogas e como agentes aggrantes para formulação de tabletes anidros<sup>89</sup>.

As combinações de cera de Rosin foram preparadas e avaliadas como material de revestimento entérico, mostrando excelentes propriedades de formulação de películas com qualidades ácido resistentes. Os materiais de revestimento entérico são largamente utilizados na proteção de fármacos ácido sensíveis, bem como para prevenir a sobrecarga gástrica, náuseas, delimitando a liberação da droga e seu retardamento<sup>89</sup>.

Observou-se que a liberação da droga *in vitro* de materiais de revestimento com pH em torno de 5,0, pode ser um critério ótimo de avaliação desses materiais de revestimento entérico. A liberação do fármaco foi menor que 10% e 20% em pH 1,2 e 3,0 respectivamente e que essa liberação era mais rápida em pH alcalino com T<sub>50</sub> de 25 minutos em pH 7,2 e 8,0 respectivamente, onde mais de 90% da droga foi liberada. A liberação da droga em pH 5,0 foi de mais de 50% em 3 horas e com T<sub>50</sub> de 163 minutos. Pode-se observar que a resistência ácida do filme de RHPC é diminuída gradualmente enquanto o pH do meio de dissolução aumenta<sup>89</sup>.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo principal, desenvolver o sistema polimérico quitosana-poli-(ácido acrílico), aplicados ao processo de imobilização do fármaco ácido acetil salicílico, através de impregnação em microesferas, para a liberação controlada *in vitro* do fármaco, como um material alternativo, promissor e viável economicamente, e ainda minimizando os efeitos colaterais mais pronunciados, como a irritação gástrica.

### 5.2 Objetivos específicos

Preparar e purificar a quitosana, pelo método de Broussignac, em atmosfera de nitrogênio;

Caracterizar a quitosana, através de desacetilação por titulação condutométrica (%NH<sub>2</sub>),

Determinar as melhores condições experimentais para a obtenção das microesferas, como pH, temperatura, tamanho das partículas, tempo, velocidade de agitação e meios de coagulação;

Preparar as microesferas de quitosana pelo método da coacervação simples, usando como meio coagulante, solução de hidróxido de sódio.

Microencapsular o fármaco ácido acetil salicílico, por impregnação das microesferas, em solução AAS-água-álcool, por 24 horas, e após secagem determinar a quantidade de fármaco impregnada nas microesferas por espectrofotometria;

Determinar o teor de impregnação e permeação dos solutos nas membranas das microesferas;

Comprovar, por testes analíticos, e microscopia eletrônica de varredura (MEV) o encapsulamento do AAS, e identificar através da morfologia do sistema polimérico que constitui a microesfera, antes e após liberação, e as suas medidas pela técnica da MEV.

Avaliar o grau de liberação (in vitro) do ácido acetil salicílico, nos diferentes pH, 1,2; 6,8; 9,0 , similares aos do trato gastrointestinal em função do tempo.

## 6 PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1 Materiais e métodos

#### 6.1.1 Equipamentos

As pesagens foram realizadas em uma balança analítica marca Shangping Eletrônica Balance, modelo FAI 6045.

As determinações espectrofotométricas foram realizadas em um Espectrofotômetro Digital, modelo 724 CV visível com microcomputador.

As medidas de pH foram feitas com um pHmetro Corning, modelo 350.

Para centrifugação das amostras impregnadas com reativo de cor, foi utilizada a centrífuga Sigma Laborzentrifugen GmbH 3360 Osterode, modelo 2-15 rotor 11192, com 4500 rpm e 4147 x gauss.

As micropartículas foram obtidas com uma Bomba Peristáltica Ismatec.

Na determinação do grau de desacetilação da Quitosana, a base titulante foi adicionada utilizando-se um Titulador automático Schott Geräte, modelo T 80/20.

Nos testes de liberação controlada das amostras impregnadas foi utilizado um Banho Termostatizado, SHAKER BATH, modelo 3540, Lab-Line Instruments, USA.

A morfologia da superfície externa e interna das microesferas e a análise elementar foram examinadas utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura marca Philips, modelo XL 30, e um Microscópio Estereoscópico modelo SV8 (da USICON), do laboratório de Materiais do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC.

### 6.1.2 Reagentes

As amostras de quitina e quitosana utilizadas para este trabalho, foram obtidos pelo grupo QUITTECH, grupo de Quitinas e Aplicações Tecnológicas da UFSC, conforme tecnologia descrita em anexo.

Reagentes como, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, ácido acético, ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido acrílico, cloreto de potássio, ácido salicílico, cloreto de mercúrio, nitrato de ferro III, Tampão ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$ ), tris-(hidroximetil)-amino metano foram adquiridos junto à MERCK CHEM, VETEC Química Fina Ltda., e todos apresentavam pureza analítica.

O ácido acetil salicílico (aspirina), utilizado para este trabalho, foi adquirido junto a Importadora Química Delaware, lote nº 270898, com alto grau de pureza.

### 6.1.3 Soluções e reativos

Na preparação e padronização do NaOH 0,1 mol/L com o biftalato de potássio, uma das soluções utilizadas uma massa de aproximadamente 2g de KHF (biftalato de potássio) foi colocada em estufa a 100 °C, durante 2 horas, eliminando todos os traços de umidade. Em seguida três amostras de cerca de 0,630g de KHF, foram dissolvidas com 50 mL de água destilada e adicionadas à mistura 4 gotas solução alcóolica de fenolftaleína, e tituladas essas amostras com a solução de NaOH 0,100 mol/L previamente preparada, obtendo se a molaridade corrigida da solução de NaOH na concentração de 0,086 mol/L. A seguir preparou-se uma solução de quitosana onde foi dissolvido 4g de quitosana em 100 mL de ácido acético 5% (v/v), mantendo a mistura em agitação constante até dissolver completamente a QTS, no que resultou em uma solução viscosa de 4% (p/v) de quitosana. Como meio reacional foram preparadas várias soluções

tampão, com a finalidade de reproduzirem os pH do TGI, além de servirem como veículo para os testes de liberação controlada da aspirina.

Solução tampão de Clark-Lubs ( pH 1,2 ), preparada utilizando-se 50 mL de solução de cloreto de potássio (KCl) 0,2 mol/L e 64,5 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 0,2 mol/L. Solução tampão de MacIlvaine ( pH 8 ), preparada com 19,45 mL de solução de fosfato monoácido de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 0,2 mol/L e 0,55 mL de solução de ácido cítrico [ $\text{HOOC}(\text{OH})\text{C}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ ] 0,1 mol/L. Solução tampão pH 6,8, preparada com 15,45 mL de solução de fosfato monoácido de sódio 0,2 mol/L com 4,55 mL de ácido cítrico 0,1 mol/L. Solução tampão tris-(hidroximetil)amino metano ( pH 9,77 ), Solução tampão de ácido bórico e cloreto de potássio em hidróxido de sódio (  $\text{H}_3\text{BO}_3\cdot\text{KCl} - \text{NaOH}$  ), pH 9,0, preparada com 50 mL de solução ácido bórico e cloreto de potássio 0,1 mol/L e 21,40 mL de hidróxido de sódio 0,1 mol/L, e após a adição do NaOH, diluiu-se com água até 100 mL.

## 6.2 Métodos

### 6.2.1 Preparação da quitosana

Na preparação da quitosana, amostras de quitina, foram submetidas à desacetilação pelo método de Broussignac. Nessa reação, o meio foi composto por uma solução 50% m/v de KOH (hidróxido de potássio), em um sistema solvente etanol/etilenoglicol (v/v) em atmosfera de nitrogênio para diminuir o grau de despolimerização.

Uma massa de 526g de hidróxido de potássio (KOH), foi transferida para um recipiente adequado, contendo 240 mL de etanol (EtOH), e 240 mL de etilenoglicol, e a mistura foi aquecida até a ebulição. Em seguida foi acrescentada 80g de

quitina, e novamente quando a mistura atingiu o ponto de ebulição, foi refluxado com nitrogênio ( $N_2$ ) por 1 hora. A mistura resfriada foi filtrada e lavada com água em abundância até pH 7,0.

A purificação das amostras foi realizada dissolvendo-se o polímero em solução de ácido acético 3% v/v, e o gel formado foi filtrado à vácuo e precipitado em solução de NaOH 1 mol/L ( preparado com 40g de hidróxido de sódio em 1 L de água destilada ). Após a precipitação a quitosana foi lavada com água até pH > 5, seca em estufa a 50°C, e pulverizada em moinho Analysenmülhem A 10.

### 6.2.2 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

Para se determinar o grau de desacetilação da quitosana preparada, foi utilizado o método das titulações condutométricas conforme metodologia descrita no capítulo 2.3.1. Duas amostras contendo 200 mg de quitosana, foram transferidas para frascos de titulação, os quais continham 450 mL de solução de NaCl 0,1 mmol/L, e deixadas sob agitação, durante 12 horas para assegurar a dissolução completa, sendo adicionado nesta solução 5 mL de solução de HCl 1,0 mol/L,. A titulação foi realizada em seguida, sob atmosfera de nitrogênio, com solução padrão de NaOH 0,0860 mol/L, utilizando na técnica um titulador automático modelo Scott gerate-T80/20 e um condutivímetro Micronal B 330. Um volume de titulante de 0,5 mL, foi adicionado a cada 20 segundos, para se obter um valor estável de condutância.

Em função do volume de titulante, os pontos de equivalência foram determinados, para calcular o números de equivalentes de grupos amino. A diferença entre os dois pontos de equivalência corresponde ao volume de base requerido para neutralizar os grupos amino. O número de equivalentes de grupos ácido foi calculado utilizando-se a equação 1.

$$\%NH_2 = \frac{M(V_2 - V_1)161}{W}100 \quad (1)$$

onde % NH<sub>2</sub> é o grau de desacetilação da quitosana (%), M é a massa molar da base, V<sub>1</sub> e V<sub>2</sub> são os volumes da base (mL) e W é a massa de quitosana pulverizada (g). O grau de desacetilação determinado foi de 85,74% (5,33 mmol de grupos amino/g de quitosana), através da média de três titulações condutométrica.

A partir dos resultados obtidos da titulação condutométrica construiu-se um gráfico volume da base (mL) versus condutância (mS), conforme a figura 10.

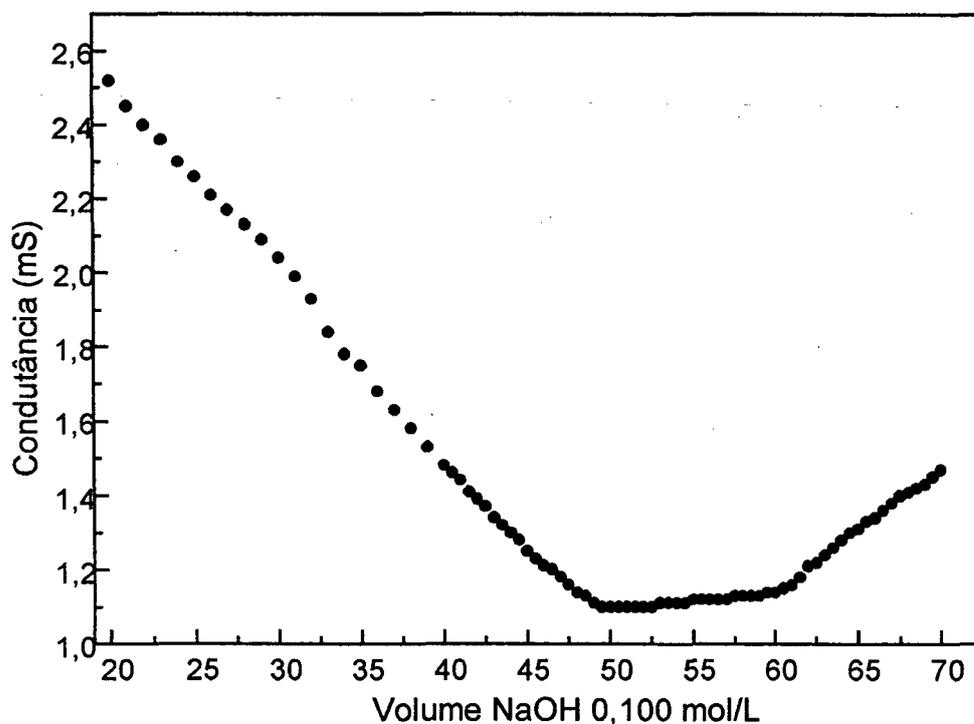


Figura 10. Representação da condutância em função do volume da base titulante.

### 6.2.3 Preparação das microesferas

A quitosana foi dissolvida em ácido acético 5% (v/v) para produzir uma solução viscosa com aproximadamente 4% (m/v). Em seguida, foi adicionada gota a gota com uma bomba peristáltica (Ismatec), num banho de precipitação contendo solução de NaOH 2 mol/L (método da inversão de fases), onde foram obtidas as microesferas gelificadas, permanecendo em solução, sob agitação, por mais meia hora. A quitosana foi colocada em contato com uma solução de glutaraldeído 2,5 % (m/v), sendo utilizada a relação de 1,5 mL de solução de glutaraldeído por grama de microesferas gelificadas e a mistura foi mantida durante 24 horas à temperatura ambiente. O material foi lavado com água destilada para retirar o excesso do agente reticulante. A finalidade da reticulação da quitosana é aumentar a resistência mecânica e torná-la insolúvel em soluções ácidas. O conteúdo de grupos amino livres ( $\text{NH}_2$ ) foi determinado após a reticulação por titulação ácido-base. Uma amostra de 300 mg de quitosana reticulada e pulverizada foi colocada em contato com 100,0 mL de solução padrão de HCl 0,100 mol/L e a mistura permaneceu em contato durante 24 horas para protonação dos grupos amino livres. Três alíquotas de 25,0 mL do sobrenadante foram tomadas e tituladas com NaOH 0,100 mol/L.

As microesferas reticuladas foram lavadas com água até pH neutro, transferidas para outro recipiente contendo cianoborohidreto de sódio (0,6 g/ g de microesfera hidratada), o qual é empregado para reduzir os grupos imino da base de Schiff e tornar as microesferas resistentes em meio ácido. A mistura reacional foi deixada em contato durante 48 horas.

#### 6.2.4 Copolimerização das microesferas

A copolimerização de enxerto do monômero ácido acrílico foi realizada através da iniciação de transferência de elétrons, com uso do íon cérico como agente redox. Depois de reduzida, uma massa de 23,46 g de microesferas de quitosana reticuladas e reduzidas foi transferida para um balão de capacidade de 100 mL, com 50 mL de água, sendo adicionados 49,6 mL de ácido acrílico, em atmosfera de nitrogênio, durante aproximadamente meia hora, sob temperatura de 25°C. A seguir foram adicionados 20 mL de sulfato cérico 0,100 mol/L, dissolvido previamente em ácido nítrico 0,500 mol/L, e mantida a mistura por aproximadamente sete horas.

Após esse tempo, as microesferas foram retiradas do balão, lavadas e pesadas para determinação do grau de enxertia, e o resultado é expresso, pela equação 2:

$$\%GE = \frac{m_2 - m_1}{m_1} 100 \quad (2)$$

onde %GE é o grau de enxertia das microesferas de quitosana,  $m_1$  é a massa de microesfera não enxertada (g) e  $m_2$  é a massa de microesfera após o enxerto (g).

No teste realizado as massas obtidas para microesferas não enxertadas foram de 0,0888g ( $m_1$ ), e após a enxertia massa de 0,1384 g ( $m_2$ ). A percentagem de enxerto encontrado foi de 49,6%, calculada através da equação 2.

### **6.2.5 Processo de impregnação do ácido acetil salicílico nas microesferas**

As microesferas de quitosana-PAA, foram impregnadas em uma solução de ácido acetil salicílico-água-etanol 2:1 (v/v), previamente preparada, sob agitação por um período de 24 horas, para permitir um maior tempo de contato e uma maior penetração do fármaco.

### **6.2.6 Teste de impregnação**

A impregnação das microesferas foi realizada utilizando-se da solução AAS-água-álcool 2:1 (v/v), e deixadas em contato, sob agitação moderada durante 24 horas. Após as 24 horas, as microesferas foram retiradas, lavadas rapidamente com água, para retirada do excesso de AAS, aderido à superfície das microesferas. Foram determinadas as massas das microesferas hidratadas, e a seguir foram deixadas secar à temperatura ambiente, sendo observado que as mesmas perdem cerca de 85 a 95% de sua massa devido à desidratação.

### **6.2.7 Determinação do grau de intumescimento (GI)**

A determinação do grau de intumescimento foi realizada em soluções tampão de pH 1,2; 6,8 e 9,0. Tomou-se uma massa de microesferas secas, que foram transferidas para recipientes com as soluções tampão, em temperatura constante de 36 °C, sendo a cada intervalo de 5 minutos, retiradas das soluções, secas em papel absorvente, para retirada do excesso de água, e novamente pesadas.

O grau de intumescimento (%GI) foi calculado pela equação 3.

$$\%GI = \frac{W_t - W_0}{W_0} 100 \quad (3)$$

onde  $W_0$  é a massa da amostra seca (g) e  $W_t$  é a massa da amostra hidratada (g).

### **6.2.8 Testes de liberação controlada do fármaco ácido acetil salicílico**

A liberação foi estudada através do grau de intumescimento da membrana da microcápsula, como função do pH, e da incorporação da técnica de reticulação na membrana polimérica. A liberação controlada do ácido acetil salicílico microencapsulado, consiste na copolimerização de enxerto de ácido acrílico na superfície da membrana. A membrana da microcápsula, com a superfície enxertada com ácido polimérico, funciona de forma sensível ao pH, fechando os poros da membrana na faixa de pH 1 – 5 e aumentando a permeabilidade na faixa de pH 6,5 – 9,0.

Os estudos de liberação controlada foram realizados, utilizando-se das microesferas secas, e ainda foi realizado um teste com microesferas impregnadas e hidratadas. Uma certa massa de microesferas foi transferida para um sistema contendo 50 mL do tampão correspondente, ou seja pH 1,2, 6,8 e 9,0 respectivamente, mantida a temperatura constante em torno de 36 °C, mergulhados em banho termostizado, com agitação horizontal e velocidade de 150 rpm.

Os testes em pH 1,2, foram mantidos durante duas horas, com leituras de concentração feitas de 20 em 20 minutos. Para os testes em pH 6,8, o tempo de permanência foi de 6 horas e leituras feitas de hora em hora, e para os testes em pH 9,0, o tempo foi de 4 horas e as leituras de concentração também de hora em hora. Foram feitos ainda testes sequenciais de 12 horas, onde uma massa de microesferas impregnadas, foi transferida para um sistema com 50 mL de solução tampão de pH 1,2 durante 2 horas. A seguir foram retiradas, lavadas rapidamente com solução tampão pH 6,8 e transferidas para outro sistema contendo 50 mL de solução tampão pH 6,8, por mais 6 horas nas condições acima. O mesmo procedimento ocorreu para a solução tampão pH9, permanecendo as microesferas neste pH por mais 4 horas, totalizando 12 horas. A cada um dos testes foi retirado 1 mL da amostra, adicionando mais 5 mL do reativo de cor (Reagente de Trinder-modificado) e lido a absorvância em  $\lambda_{\text{max}}$  de 540 nm.

#### **6.2.9 Determinação da concentração do AAS pelo método modificado de Trinder**

A concentração do ácido acetil salicílico nas microesferas impregnadas foi realizado utilizando-se o método de Trinder-modificado<sup>73</sup>, devido à pouca solubilidade do fármaco em água, as determinações foram feitas a partir da dissolução do mesmo em solução água-alcool 2:1 (v/v), sendo o mesmo processo utilizado para construção da curva de calibração

### 6.2.10 Curva de calibração

A curva de calibração, tanto para determinar as concentrações de AAS impregnadas nas microesferas, bem como para a massa de fármaco liberada nos testes de pH, foi construída segundo o método adaptado de Trinder<sup>73</sup>, onde foi utilizado uma solução solvente de água-álcool 2:1 (v/v), e as leituras em espectrofotômetro U.V. visível, em  $\lambda_{\max}$  540 nm. A absorvância foi plotada *versus* concentração, obtendo-se a curva de calibração mostrada na Figura 11.

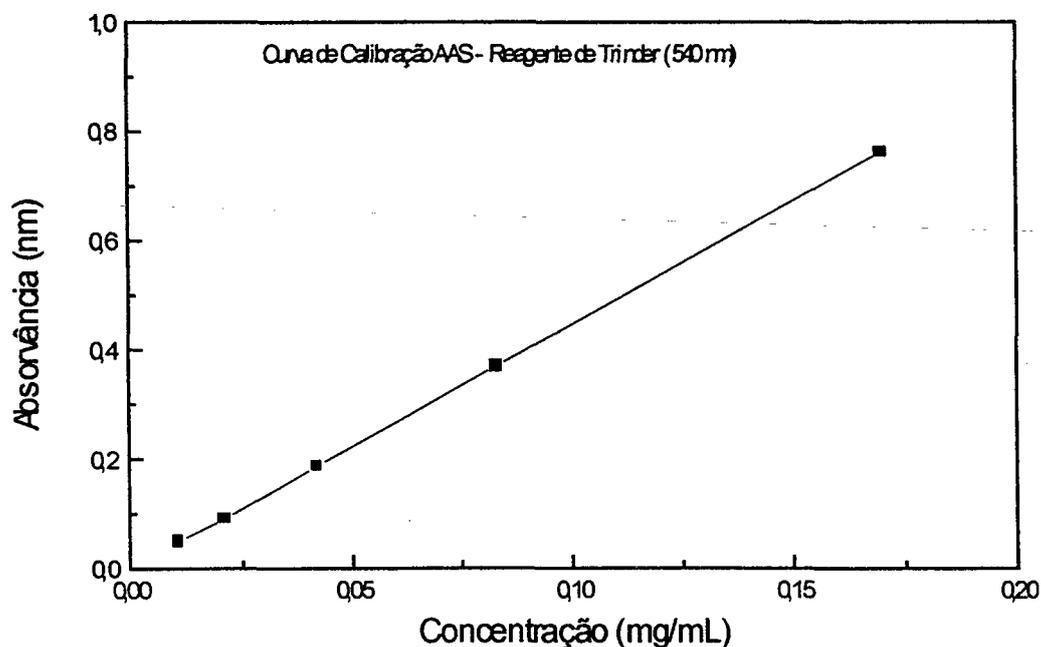


Figura 11. Curva de calibração da concentração do AAS em função da absorvância ( $\lambda_{\max}$ . 540 nm)

### **6.2.11 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

A morfologia interna e externa das microesferas de quitosana, quitosana reticuladas, enxertadas e também impregnadas com o ácido acetil salicílico, foram examinadas por micrografias realizadas na microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras secas, foram fixadas em estabes e, em seguida, recobertas com fina camada de ouro, sendo a seguir micrografadas e analisadas com microsonda de raio-X.

## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ácido acetil salicílico, um fármaco mundialmente conhecido por suas propriedades analgésica, antiinflamatória e antipirética e largamente utilizado para tratamento sintomático da dor, sendo sua administração exclusiva por via oral, o que determina sua passagem através do TGI, por diferentes pH, onde sabidamente causa um de seus efeitos colaterais mais pronunciados, que é a irritação gástrica.

O sistema de liberação estudado neste trabalho, QTS-PAA-AAS [quitosana-poli-(ácido acrílico)-AAS], se mostrou bastante sensível às mudanças de pH, apresentando uma porcentagem bastante significativa em relação à impregnação do fármaco e, razoável porcentagem de liberação nos testes *in vitro* nos diferentes pH a que foi submetido. Ainda por ser uma substância atóxica e biodegradável, reúne condições e características necessárias para administração oral do fármaco, e consequente liberação controlada deste, mostrando boa resistência ao ataque ácido.

### 7.1 Microesferas de quitosana

As microesferas foram preparadas pelo método de separação de fases (coacervação simples), resultantes da interação entre a solução do polímero (QTS), e o meio de coagulação o hidróxido de sódio (NaOH 2 mol/L), o qual induz a separação de fases, precipitando a membrana polimérica, onde é criado uma fase coacervada rica em quitosana.

Vários ensaios foram realizados, com diferentes massas de quitosana, para se prepararem soluções de 2%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5% e 5% (p/v), onde foi observado que a solução com melhores resultados na formação de microesferas,

foi a de 4%, sendo adotado esta concentração para o lote de quitosana testado neste trabalho.

Por ser um biopolímero hidrofílico, apresentando grupos amino na sua cadeia polimérica, é solúvel em soluções ácidas diluídas, formando com a água um hidrogel. As microesferas que se formam, são estruturas monolíticas, esféricas, apresentando um tamanho médio em torno de 1,07  $\mu$ m, o que foi determinado por microscopia eletrônica de varredura, através da média das medidas dos eixos vertical e horizontal de expressivo número de microesferas.

## 7.2 Grau de intumescimento

Fatores como a hidrofobicidade/hidrofilicidade da quitosana, e ainda a sensibilidade às variações de pH do poli(ácido acrílico), influenciam no grau de intumescimento.

A tabela 2 lista os valores para o grau de intumescimento verificado na figura 12 para as microesferas de QTS-PAA.

Tabela 2. Grau de intumescimento das microesferas

pH	Microesfera (%)
1,2	58,61 $\pm$ 0,07
6,8	61,07 $\pm$ 0,02
9,0	50,98 $\pm$ 0,02

No processo de intumescimento das microesferas em pH ácido, ocorre a protonação dos grupos amino no gel, e o relaxamento na estrutura da quitosana.

Os grupamentos amino são protonados e leva a uma dissociação das ligações de hidrogênio, que induzem ao intumescimento do gel.

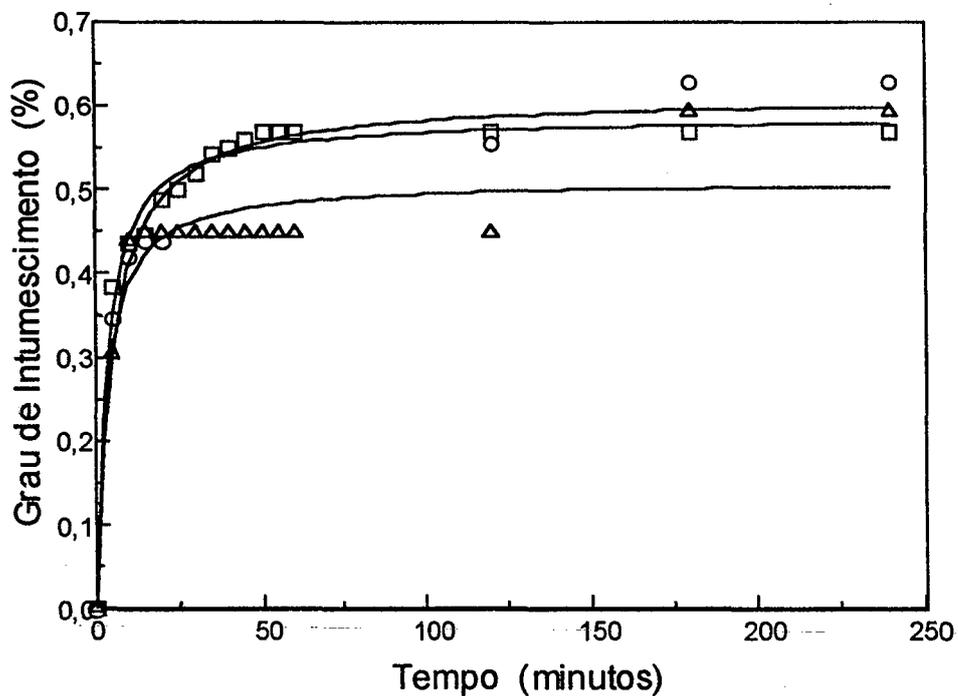


Figura 12. Grau de intumescimento das microesferas de QTS/PAA

### 7.3 Determinação do grau de reticulação das microesferas com Glutaraldeído

O conteúdo de grupos amino livres determinado após a reticulação foi de 34,72% (2,16 mmols de grupos amino/g de quitosana).

#### 7.4 Estudos de impregnação do fármaco ácido acetil salicílico *in vitro*

Para a realização deste teste uma massa de 7,8865 g de microesferas de QTS–PAA hidratadas, foram transferidas para um bequer, e colocadas em contato com uma solução contendo 0,750 g de ácido acetil salicílico em solução água–álcool 2 : 1 (v/v), sob agitação constante durante 24 horas. Passadas as 24 horas, as microesferas foram retiradas, lavadas rapidamente com água destilada e secas ao ar livre. Pesadas novamente depois de secas, obteve-se uma massa de 1,0632g, verificando-se um grau de desidratação, de 86,52 %.

Destas microesferas impregnadas e secas, foi tomada uma alíquota de 0,1718 g, a qual foi triturada em cápsula de porcelana e diluída a seguir com 10 mL de solução água–etanolol 2:1 (v/v), e em seguida tomadas alíquotas de 1 mL dessa solução, transferidas para um tubo de ensaio, acrescentando-se 5 mL do reativo de Trinder<sup>73</sup> (adaptado), agitando vigorosamente a mistura. A amostra foi centrifugada (centrífuga Sigma 2-15), a 2000 rpm durante 5 minutos. Transferido o sobrenadante (límpido), para um tubo de espectrofotômetro onde foi lida a absorvância, em um espectrofotômetro Digital - Modelo 724 - visível (540 nm), em intervalos regulares de tempo e determinadas sua concentração, em razão das absorvâncias lidas, que estão listadas na tabela 3.

Tabela 3. Leituras das absorvâncias em função do tempo no teste de impregnação do AAS nas microesferas de QTS-PAA

Tempo de leitura	Absorvância $\lambda_{\max}$ 540 nm
Após 2 horas	0,298
Após 4 horas	0,317
Após 6 horas	0,458
Após 8 horas	0,612
Após 10 horas	0,612

Utilizando a equação da reta e os valores de regressão linear dados , foram calculadas as massas de AAS impregnadas nas microesferas de QTS-PAA.

$$Y = A + B * X \quad (4)$$

Tomando por base a leitura de absorvância, quando a mistura após 8 horas manteve-se estável, foi obtida uma impregnação de 705,42 mg de ácido acetil salicílico nas 1,0632 g de microesferas secas, representando uma impregnação em torno de 94,06 %.

## 7.5 Liberação *in vitro* do ácido acetil salicílico

Os estudos de liberação controlada foram realizados *in vitro*, na tentativa de se reproduzir os pH do TGI, utilizando-se de soluções tampão, previamente preparadas nos pH 1,2, 6,8 e 9,0, respectivamente. No teste seqüencial, inicialmente uma massa de 0,1521 g de microesferas de QTS-PAA impregnadas com AAS, foram transferidas para um erlenmeyer contendo 50 mL de solução tampão pH 1,2, colocadas em banho termostaticado, à uma temperatura constante de 36°C, sob agitação de 100 rpm, de onde foram retiradas alíquotas de 1 mL, a intervalos de 20 minutos, as quais foram transferidas para tubos de centrifuga, a seguir adicionados mais 5 mL do reagente de Trinder, agitando-se vigorosamente a mistura, e a seguir centrifugado a 2000 rpm, transferindo-se o sobrenadante para uma cubeta de espectrofotômetro, onde foram lidas as absorvâncias em função do tempo em comprimento de onda de 540 nm.

Após duas horas, as microesferas foram então retiradas do erlenmeyer, lavadas rapidamente com solução tampão pH 6,8, e transferidas para outro erlenmeyer contendo 50 mL de solução tampão pH 6,8, onde foi repetida a operação acima, agora em intervalos de 1 hora, e lidas as absorvâncias, por um período de 6 horas. Novamente as microesferas foram retiradas deste pH, lavadas rapidamente com solução tampão pH 9,0, repetindo-se o processo anterior, de hora em hora, durante mais 4 horas. A figura 14 mostra a liberação seqüencial do AAS em pH 1,2, 6,8 e 9,0, os valores estão listados na tabela 4.

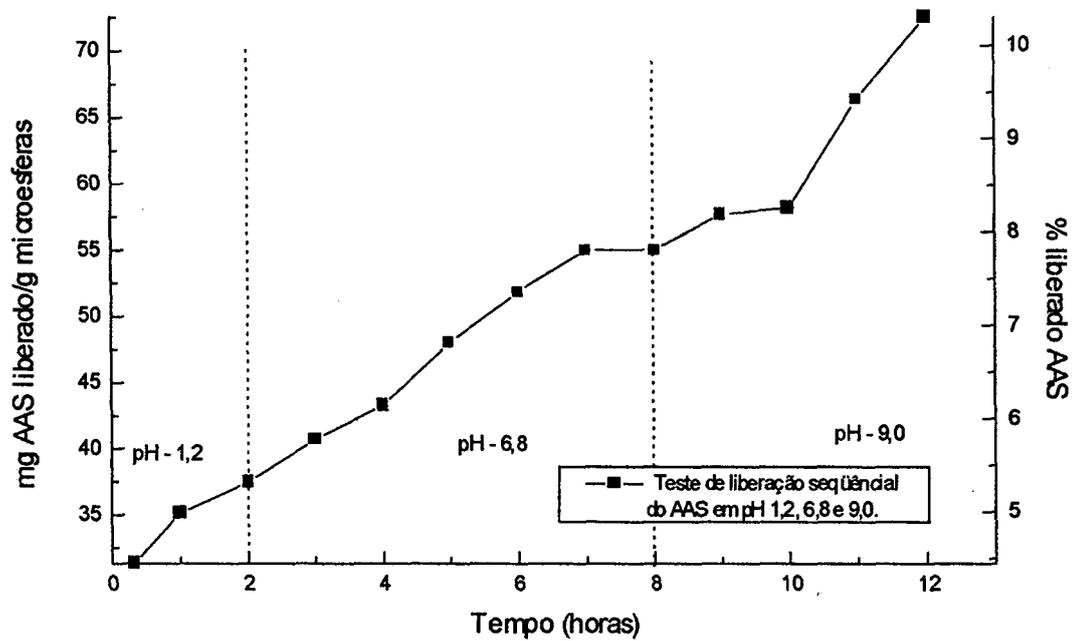


Figura 13. Liberação sequencial do AAS em microesferas de QTS-PAA.

Tabela 4. Valores de porcentagem e mg liberados, referentes ao teste de liberação seqüencial do AAS pelas microesferas de QTS-PAA

Tempo (horas)	pH 1,2		pH 6,8		PH 9,0	
	%	massa/mg	%	massa/mg	%	massa/mg
0,33	4,44	31,3	-	-	-	-
0,66	4,52	31,9	-	-	-	-
1	4,98	35,11	-	-	-	-
1,33	5,31	37,46	-	-	-	-
1,66	5,31	37,46	-	-	-	-
2	5,31	37,46	-	-	-	-
3	-	-	5,76	40,68	-	-
4	-	-	6,14	43,3	-	-
5	-	-	6,8	48	-	-
6	-	-	7,34	51,8	-	-
7	-	-	7,8	55	-	-
8	-	-	7,8	55	-	-
9	-	-	-	-	8,17	57,7
10	-	-	-	-	8,34	58,2
11	-	-	-	-	9,42	66,4
12	-	-	-	-	10,3	72,6

Uma segunda bateria de testes realizados com as microesferas de QTS-PAA impregnadas com AAS, foi realizada de forma isolada, ou seja, foram tomadas 3 massas de microesferas e transferidas para os pH 1,2; 6,8 e 9,0 respectivamente e realizado o teste de liberação, sendo que no pH 1,2 a amostra permaneceu por 2 horas, e foram retiradas alíquotas de 1 mL, para determinação da concentração, a cada 20 minutos. Para os testes em pH 6,8, o tempo real de permanência foi de 6 horas, com as leituras de concentração sendo feitas a cada

hora. Quanto aos testes de liberação em pH 9,0, o tempo real foi de 4 horas, e as leituras de concentração, também feitas de hora em hora. As figuras, 15, 16, 17 e 18, representam as curvas do processo de liberação do AAS, nos pH 1,2; 6,8 e 9,0, sendo os valores listados na tabela 5.

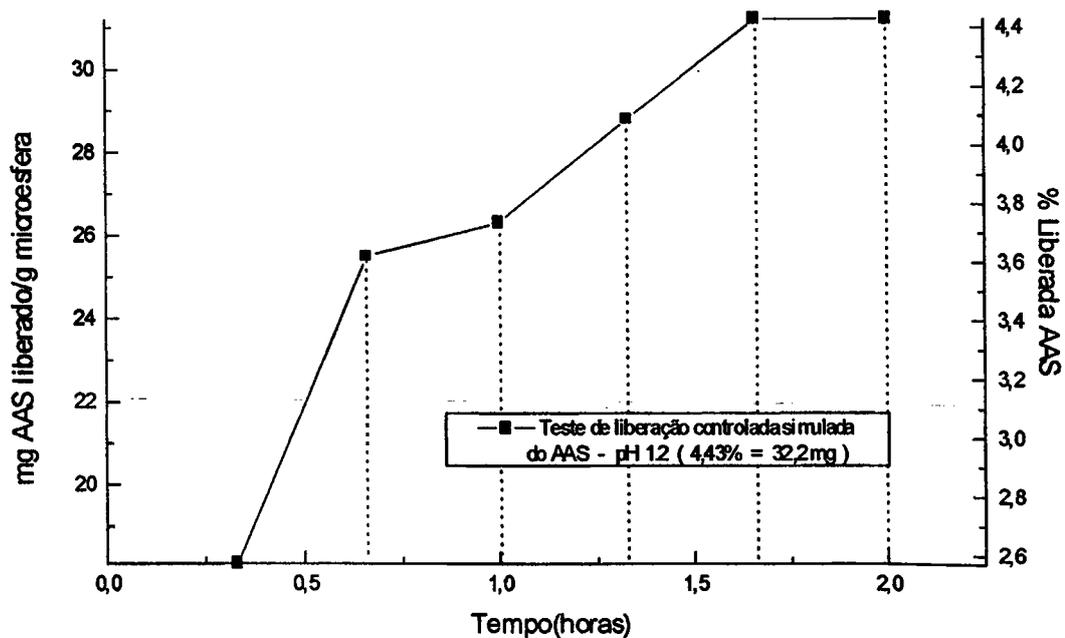


Figura 14 – Liberação simulada, isolada do AAS em pH 1,2

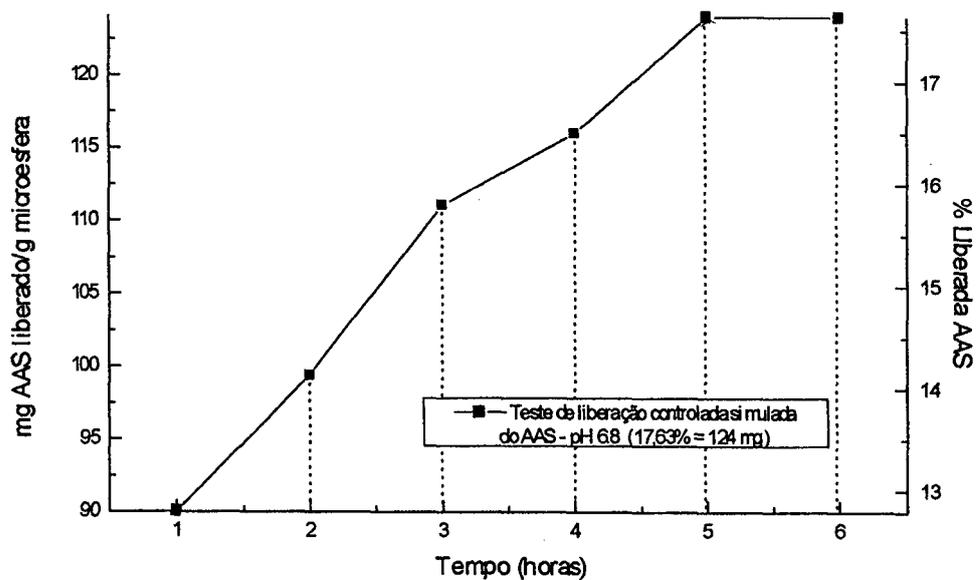


Figura 15. Liberação simulada isolada do AAS em pH 6,8

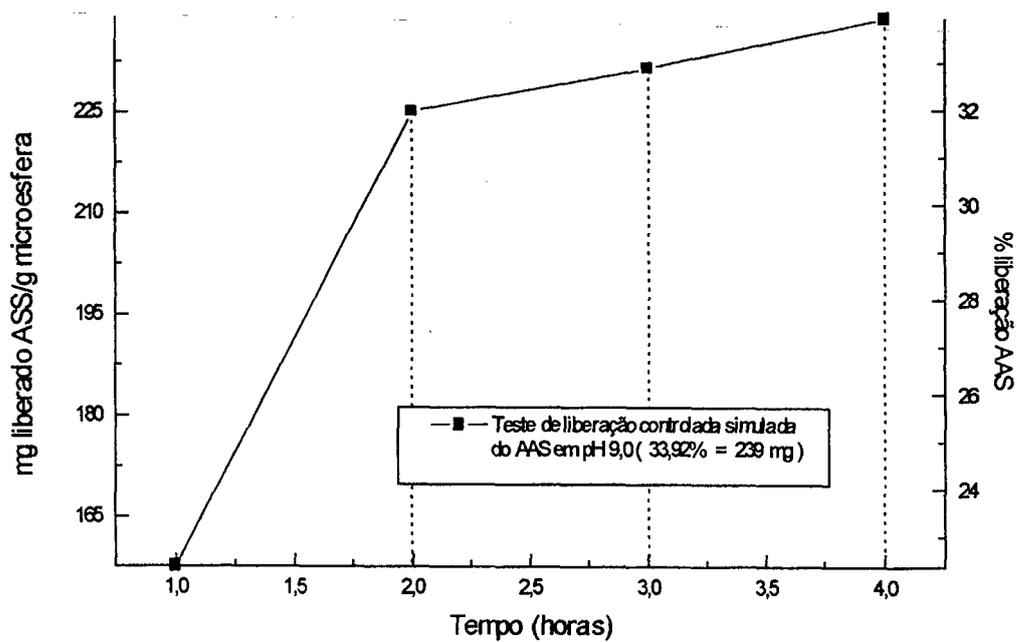


Figura 16. Liberação simulada isolada do AAS em pH 9,0

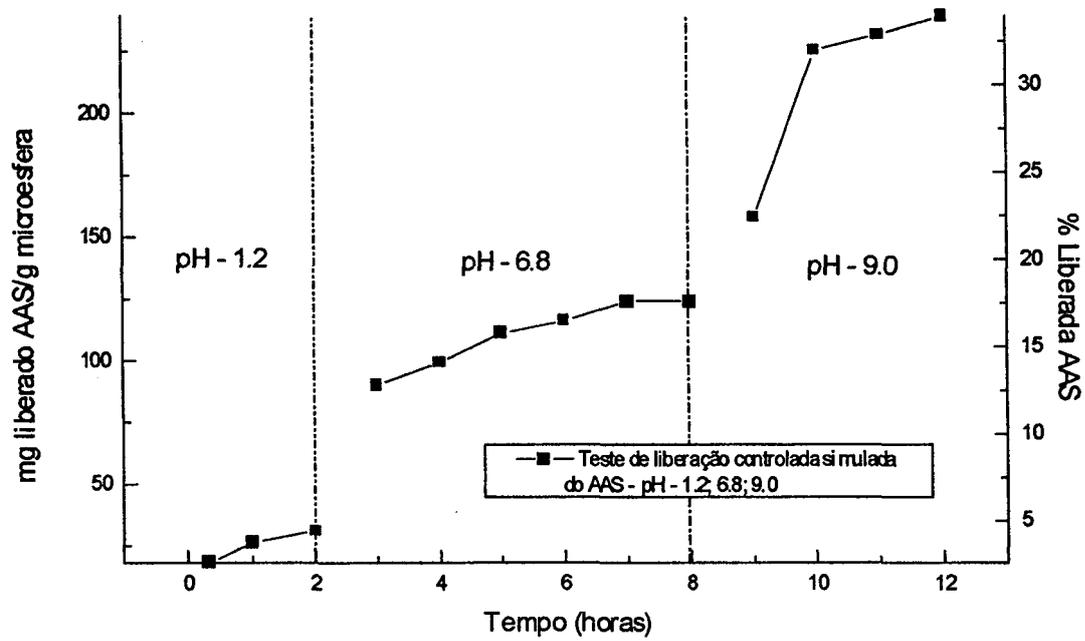


Figura 17. Liberação simulada isolada do AAS em pH 1,2; 6,8 e 9,0

**Tabela 5. Valores de porcentagem e mg liberados, referentes à liberação simulada isolada do AAS em microesferas de QTS-PAA**

Tempo (horas)	pH 1,2		pH 6,8		pH 9,0	
	%	massa/mg	%	massa/mg	%	massa/mg
0,33	2,56	18,1	-	-	-	-
0,66	3,61	25,5	-	-	-	-
1	3,73	26,3	-	-	-	-
1,33	4,07	28,8	-	-	-	-
1,66	4,43	31,2	-	-	-	-
2	4,43	31,2	-	-	-	-
3	-	-	12,8	90	-	-
4	-	-	14,1	99,4	-	-
5	-	-	15,75	111,1	-	-
6	-	-	16,4	116	-	-
7	-	-	17,6	124	-	-
8	-	-	17,63	124	-	-
9	-	-	-	-	22,4	157,7
10	-	-	-	-	31,3	225,18
11	-	-	-	-	32,9	231,6
12	-	-	-	-	33,9	239

Na seqüência, foi realizado um terceiro teste de liberação controlada do AAS. Porém desta vez utilizando-se de microesferas "hidratadas" também de forma isolada, no sentido de se observar o comportamento dessa amostra frente às condições fisiológicas do TGI simulado. As figuras, 19, 20, 21 e 22, mostram as curvas obtidas, mostrando um resultado expressivo neste tipo de material testado, sendo os valores listados na tabela 6.

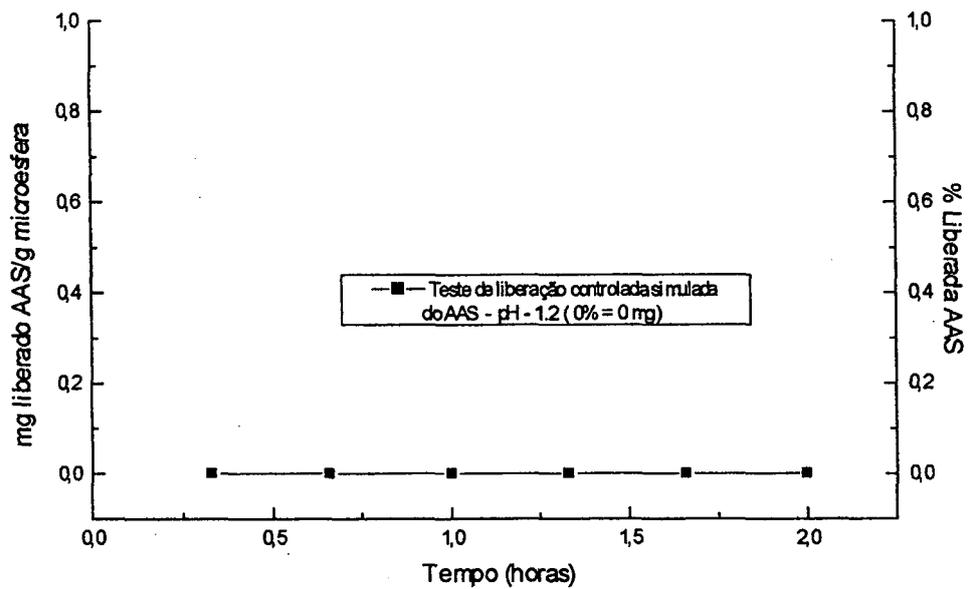


Figura 18. Liberação simulada isolada do AAS em microesfera hidratada em pH1,2

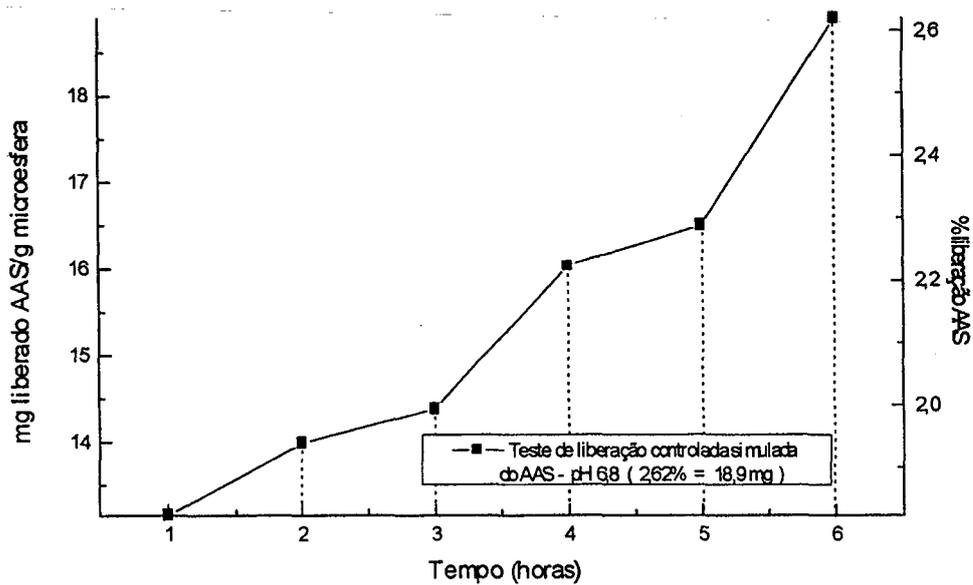


Figura 19. Liberação simulada isolada do AAS em microesfera hidratada em pH6,8

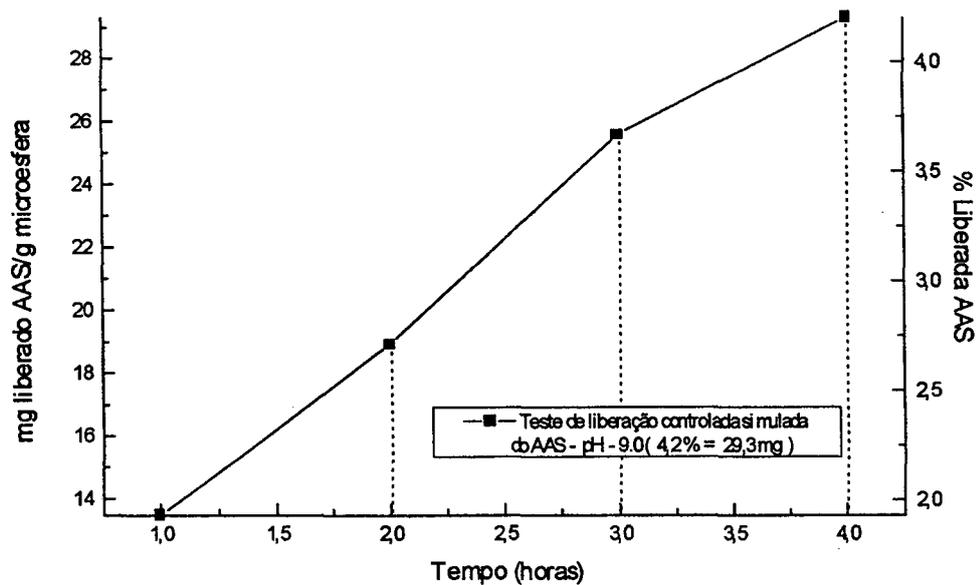


Figura 20. Liberação simulada isolada do AAS microesfera hidratada em pH 9,0

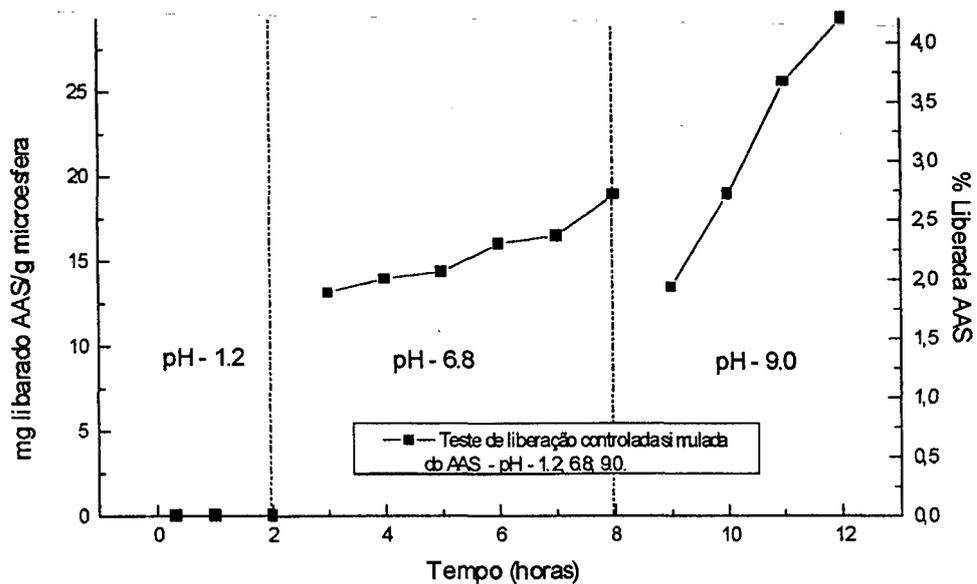


Figura 21. Liberação simulada isolada do AAS em microesfera hidratada em pH 1,2; 6,8 e 9,0

Tabela 6. Valores de porcentagem e mg liberados, referentes à liberação simulada, isolada do AAS em microesferas hidratadas de QTS-PAA

Tempo (horas)	pH 1,2		pH 6,8		pH 9,0	
	%	massa/mg	%	massa/mg	%	massa/mg
0,33	0	0	-	-	-	-
0,66	0	0	-	-	-	-
1	0	0	-	-	-	-
1,33	0	0	-	-	-	-
1,66	0	0	-	-	-	-
2	0	0	-	-	-	-
3	-	-	1,87	13,15	-	-
4	-	-	1,98	13,98	-	-
5	-	-	2,04	14,38	-	-
6	-	-	2,28	16,03	-	-
7	-	-	2,33	16,5	-	-
8	-	-	2,67	18,9	-	-
9	-	-	-	-	1,91	13,48
10	-	-	-	-	2,68	18,93
11	-	-	-	-	3,62	25,6
12	-	-	-	-	4,2	29,3

Os testes de liberação isolada, nos dois casos, não refletem a realidade do meio fisiológico do TGI, porém é determinante para representar a influência das condições de modificações químicas adotadas para a obtenção das microesferas utilizadas nos testes. Além do mais, deve-se levar em conta ainda as propriedades da droga, como a carga, hidroflicidade, hidrofobicidade e tamanho. O intumescimento facilita a liberação da droga, mas deve-se levar em conta o pH em que essa liberação é feita. De modo geral observou-se que, neste sistema

utilizado, nos dois primeiros testes, utilizando-se das microesferas secas, o intumescimento que ocorre em pH 1,2 (ácido), permitiu que ocorresse uma certa % de liberação, quando se previa uma liberação zero ou próxima de zero, como ocorreu no teste com as microesferas hidratadas, possivelmente por já estarem saturadas de água com os sítios de ligação dos radicais aminos ( $\text{NH}_3^+$ ) estarem protonados, fechando os poros e impedindo a saída do fármaco.

O intumescimento inicial da matriz polimérica, facilita a permeação do fármaco, principalmente no meio em que ele é mais solúvel (meio ácido). Como perspectiva a utilização da quitosana, como veículo para a liberação controlada, ainda associada com poli(ácido acrílico), sabidamente sensível às variações de pH, pode possibilitar uma resistência à degradações possíveis, nas condições fisiológicas do TGI, liberando controladamente a droga durante o trânsito, e permitindo que o nível sérico permaneça constante, diminuindo conseqüentemente a frequência de ingestão da droga.

## 8. ESTUDO DA MORFOLOGIA DAS MICROESFERAS

### 8.1 Estudo da morfologia das microesferas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise morfológica interna e externa, das microesferas de quitosana, quitosana reticulada, quitosana enxertada e quitosana enxertada e impregnada com AAS, foi feita por microscopia eletrônica de varredura (MEV), em microesferas inteiras e seccionadas, as quais foram colocadas em estabes, recobertas por fina camada de ouro, e as morfologias,

Nas figuras 22 e 23 são observadas uma microesfera de quitosana, inteira e uma seccionada, apresentando-se bastante homogêneas e compacta quanto à estrutura interna e externa, acontecendo a formação de microesferas, com boa esfericidade.

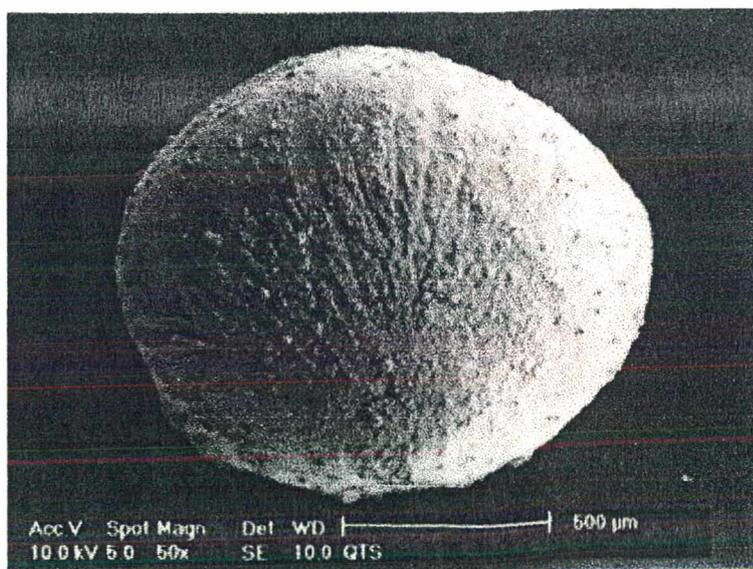


Figura 22. MEV de uma microesfera de quitosana

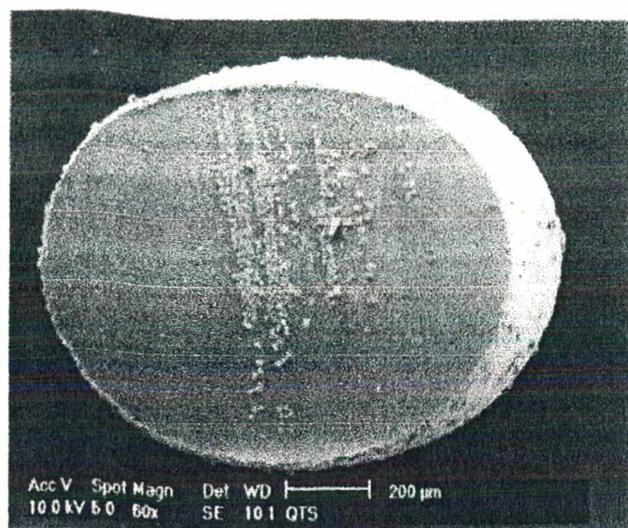
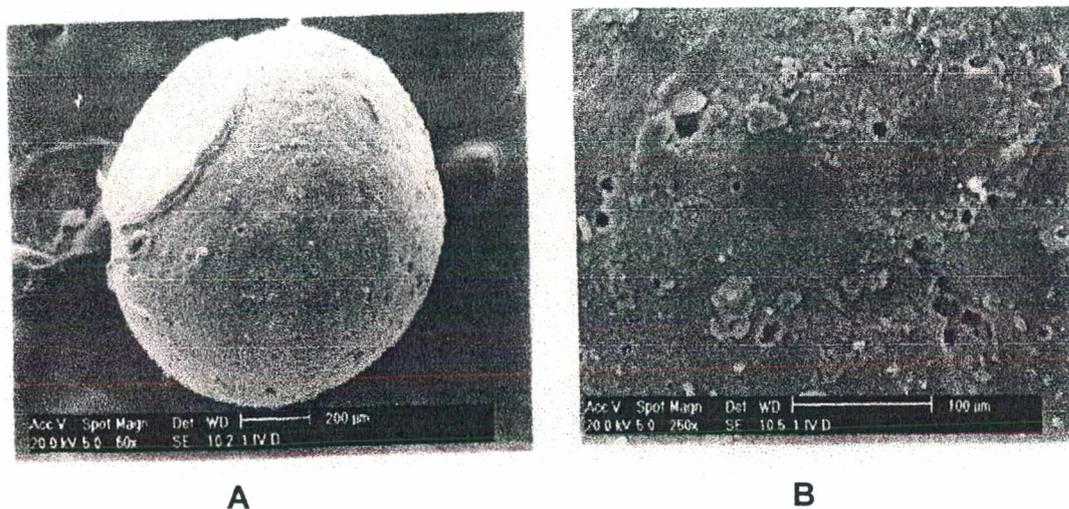


Figura 23. MEV de uma microesfera seccionada de quitosana

Observa-se na figura 24, em A, uma microesfera de QTS reticulada com glutaraldeído, e em B, a parede externa dessa microesfera reticulada, mostrando uma boa esfericidade, é bastante homogênea, e onde se destaca a porosidade da parede da microesfera



A

B

Figura 24. MEV em A - microesfera de QTS reticulada com glutaraldeído, em B - porosidade da parede da microesfera

A figura 25 mostra a micrografia da microesfera enxertada com poli-(ácido acrílico), mostrando uma forma razoavelmente esférica e relativamente uniforme.

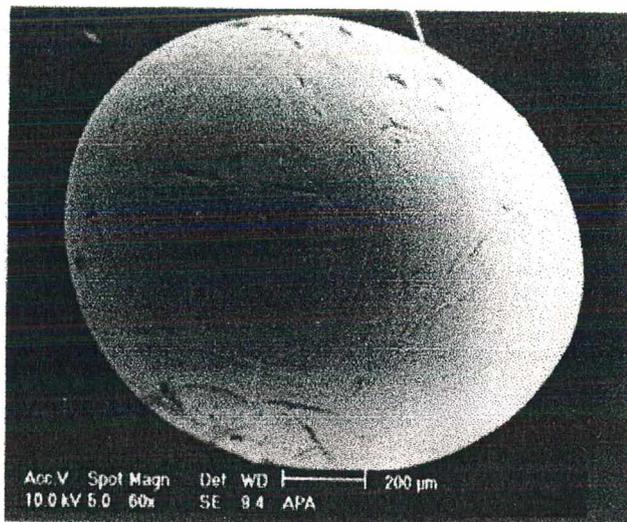


Figura 25. MEV de microesfera enxertada com poli-(ácido acrílico)

Na figura 26, aparece uma microesfera de quitosana, que sofreu todos os tratamentos químicos, ou seja, reticulação com glutaraldeído, redução com cianoborohidreto de sódio, e a seguir a reação de copolimerização ou enxerto com o poli-(ácido acrílico) e finalmente foi impregnada com a solução de AAS. Observa-se uma estrutura bastante homogênea e uniforme, quando comparada com a microesfera da figura 25. Percebe-se a aderência à superfície externa da microesfera do material impregnado, com a microesfera tomando uma forma esférica bastante definida e mais brilhante, com a formação de ondulações características na grande maioria das microesferas formadas. Pode-se observar ainda a presença de poros na superfície da estrutura.

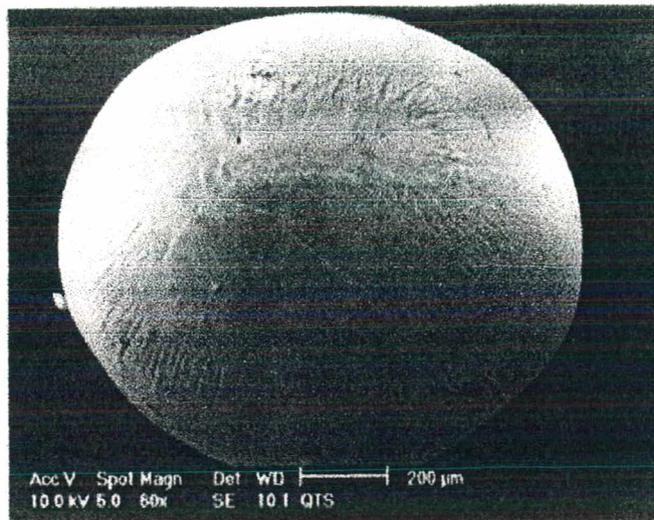


Figura 26. MEV de uma microesfera enxertada e impregnada

A figura 27 mostra a estrutura interna de uma microesfera seccionada de quitosana enxertada e impregnada com a aspirina, onde se pode observar claramente a reticulação, e a possível evidência do material impregnado, aderido entre os espaços intersticiais da microesfera.

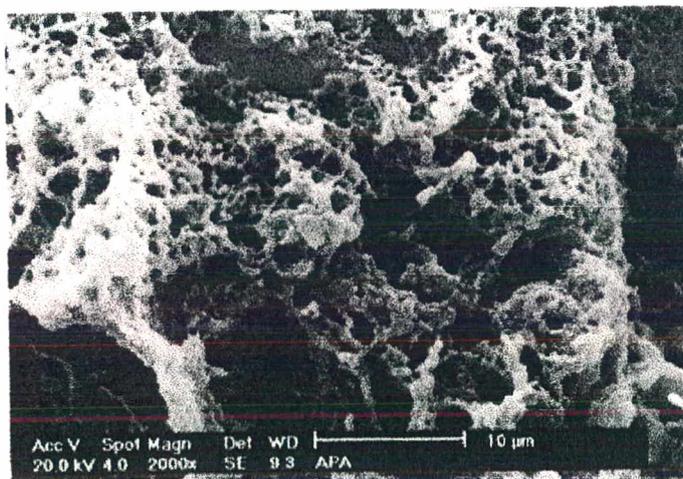


Figura 27. MEV da morfologia interna de uma microesfera enxertada seccionada,

A figura 28 mostra uma seqüência de fotomicrografias de microesferas inteiras e seccionadas de QTS-PAA impregnada com AAS. As estruturas A e B representam uma microesfera inteira e seccionada de QTS-PAA-AAS, e as estruturas C e D uma microesfera inteira e seccionada de QTS-PAA-AAS após 12 horas de liberação seqüencial em pH 1,2; 6,8 e 9,0. Observa-se uma modificação da superfície externa, com processo de erosão acentuado, porém nota-se a resistência da microesfera aos diferentes pH a que foi submetida. Por outro lado, claramente se observa que as partículas aderidas na superfície interna da microesfera diminuem consideravelmente em razão da liberação nesses diferentes pH, indicando uma tendência de que os tratamentos químicos da quitosana podem torná-la resistente às variações bruscas de pH do TGI.

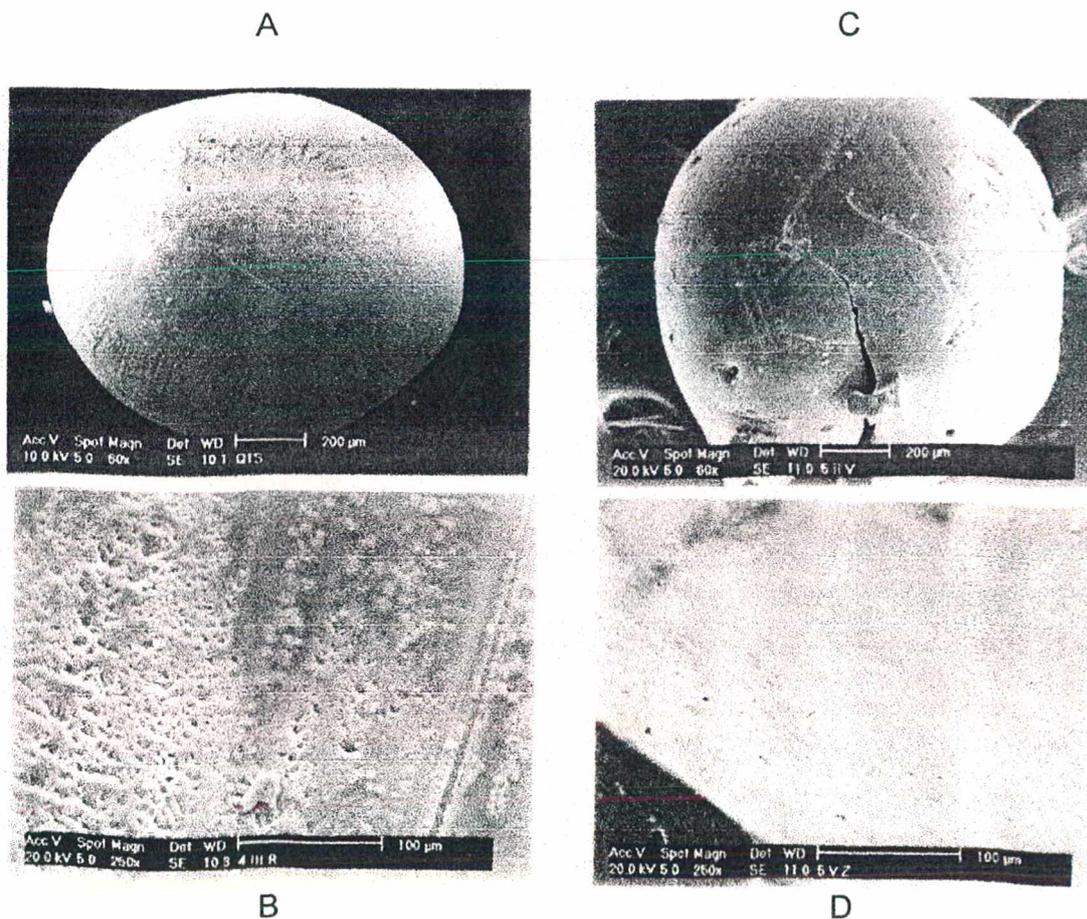


Figura 28. MEV de microesferas de QTS-PAA-AAS, A e C inteiras e B e D seccionadas

Ao comparar a morfologia interna das microesferas na figura 29, em A - microesfera de QTS-PAA impregnada com AAS, em B - microesfera de QTS-PAA imprgnada com aspirina após liberação de 12 horas em pH 1,2; 6,8 e 9,0 e em C - microesfera de QTS reticulada, reduzida e enxertada, observa-se em A, a aderência de partículas que são atribuídas ao ácido acetil salicílico, que no processo de impregnação, penetra e fica também adsorvido na parede da microesfera, em B é observada a ausência dessas partículas devido ao processo de liberação a que foi submetida essa estrutura durante as doze horas nos diversos pH. Em C é observada uma microesfera sem impregnação mostrando uma morfologia homogênea e compacta, porém diferente das outras pois não foi impregnada com o AAS.

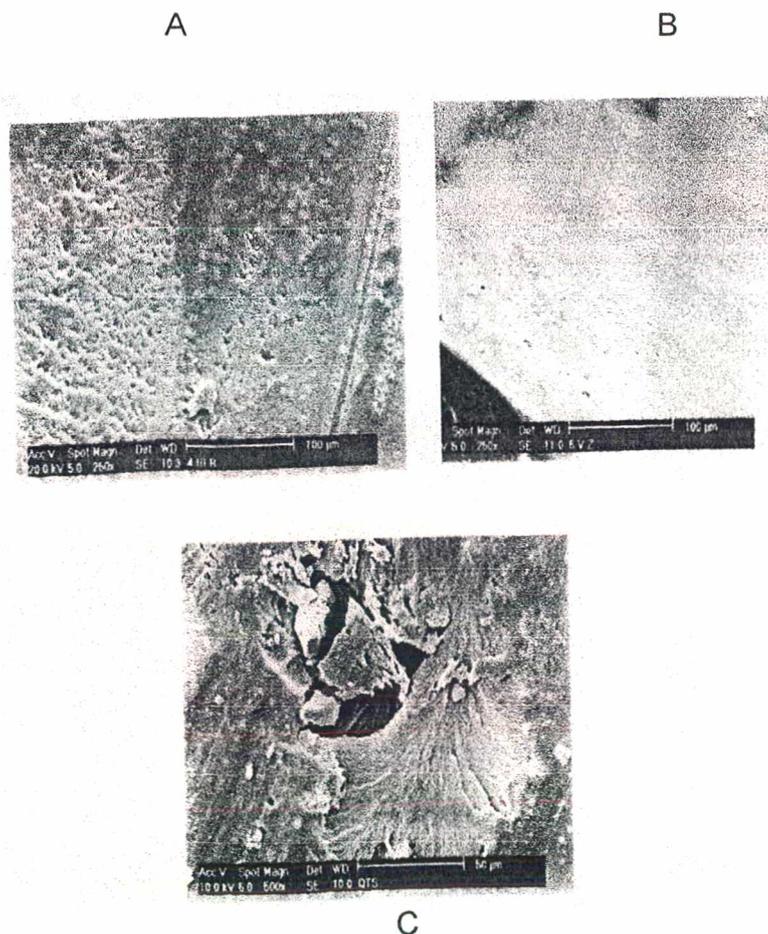


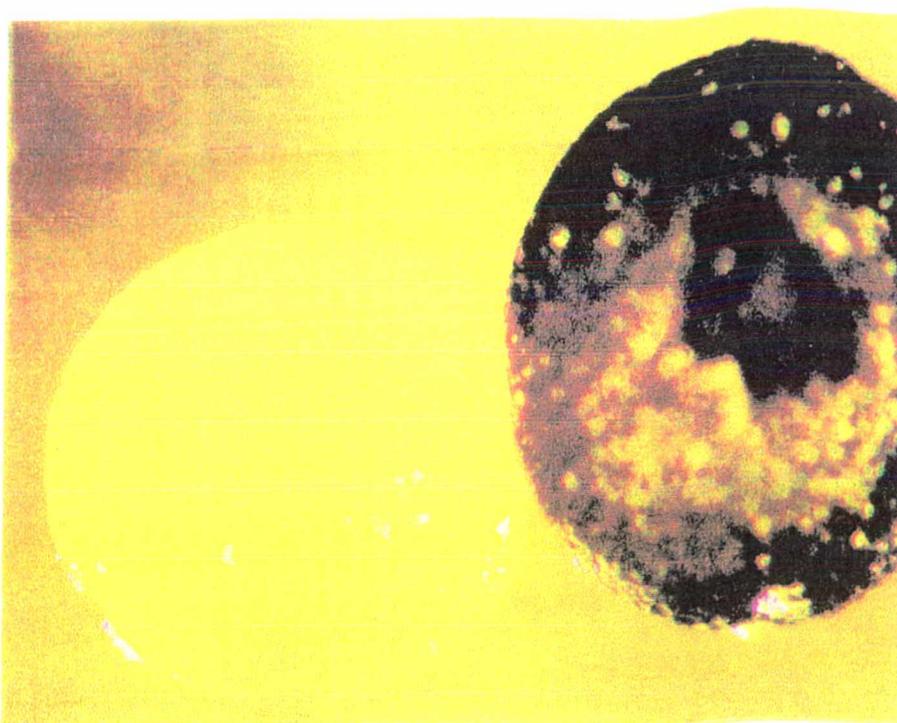
Figura 29. MEV de microesferas seccionadas de QTS:

## 8.2 Estudo da morfologia das microesferas através da microscopia estereoscópica

Nas microesferas de QTS-PAA-AAS, foi obtida uma alta porcentagem de impregnação. As micrografias em MEV, mostraram microesferas impregnadas e não impregnadas com morfologias bem definidas, na grande maioria com uma boa esfericidade, apresentando morfologia interna bastante reticulada, e mostrando traços de material impregnado, como pode ser visto na figura 27.

Para que fosse comprovada a realidade da permeação e conseqüentemente bem sucedida impregnação, foi realizado uma novo teste, onde foi utilizado uma solução contendo, além da água-etanol 2:1 (v/v), para a solubilização do AAS, foi acrescentado a esta uma solução estequiométrica de nitrato de ferro III, e o complexo formado, o salicilato de ferro III, de cor azul intensa, foi deixado em contato com as microesferas durante 24 horas.

Depois das 24 horas, as microesferas impregnadas com esta solução de salicilato de Ferro III, foram lavadas e secas ao ar livre. Em seguida as microesferas, já apresentavam naturalmente uma cor azulada intensa, foram observadas em microscopia estereoscópica, tanto inteiras como seccionadas, onde se pode observar que evidentemente, todo interior da microesfera apresentava-se homogênea, e com uma cor azul bastante intensa, evidenciando que realmente o complexo utilizado para a impregnação, permeou para dentro da microesfera, ficando aprisionado no interior desta.



A

B

Figura 30. Microscopia ótica estereoscópica, de microsferas

A: QTS-PAA-AAS

B: QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup>

Na figura 30, observada em microscópio estereoscópico,(USICON), fica evidente a impregnação total da microsfera, inclusive fazendo a comparação da morfologia das microsferas impregnadas apenas com a aspirina e com o complexo AAS-Fe.

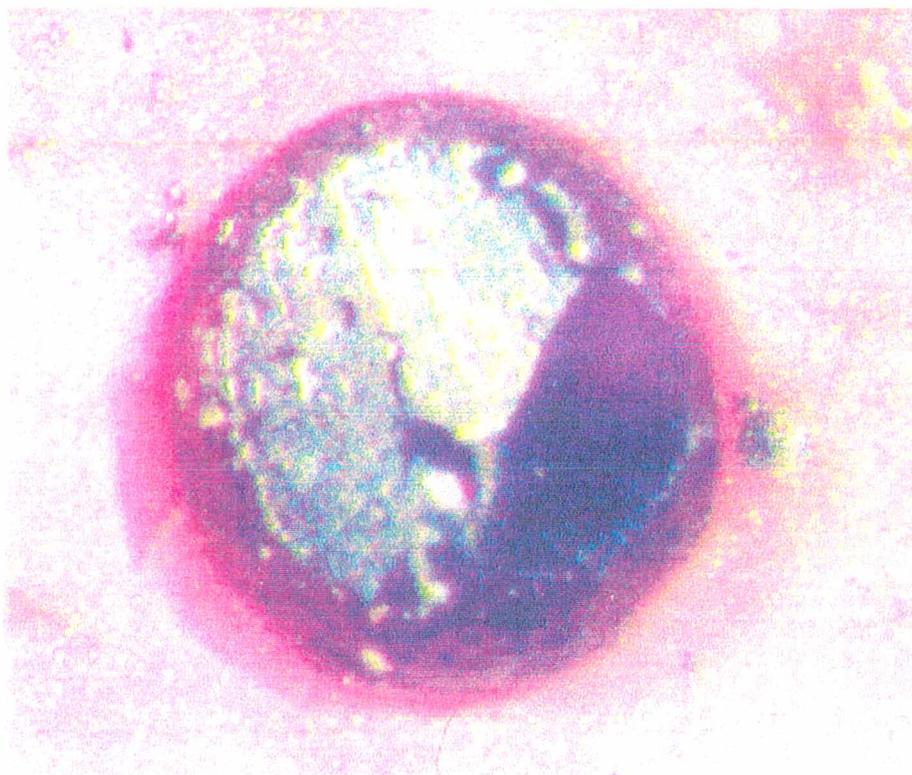


Figura 31. Microscopia óptica estereoscópica de microesfera seccionada de QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup>

A figura 31 mostra uma microesfera seccionada, impregnada com complexo AAS-Fe<sup>+++</sup>, revelando uma morfologia interna homogênea e a completa permeação do soluto. Observa-se que a estrutura apresenta uma série de pontos mais claros, evidenciando que efetivamente a impregnação não é total, uma vez que nos testes de impregnação realizados, o valor atingiu um total de 94% aproximadamente.

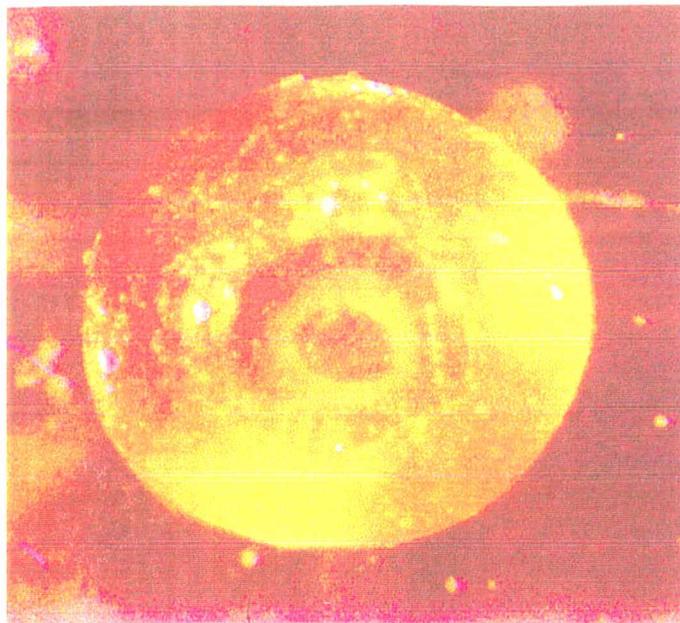


Figura 32. MOE de microesfera seccionada de QTS-PAA-AAS

A figura 32 mostra uma microesfera de QTS-PAA impregnada com AAS, e a completa permeação do fármaco, mostrando uma morfologia interna homogênea e com distribuição uniforme do fármaco

### 8.3 Estudo comparativo das morfologias das microesferas de QTS-PAA, QTS-PAA-AAS, QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup>, pela microscopia eletrônica de varredura

Na figura 33 observa-se a morfologia externa de três microesferas de quitosana, em A uma microesfera de QTS reticulada e reduzida, em B uma microesfera de QTS-PAA- AAS-Fe<sup>+++</sup>, e em C uma microesfera de QTS-PAA-AAS. Ocorre diferença em relação à parede externa, com B apresentando rugosidade

intensa, possivelmente devido a presença do ferro impregnado com o AAS, formando um complexo de coordenação.

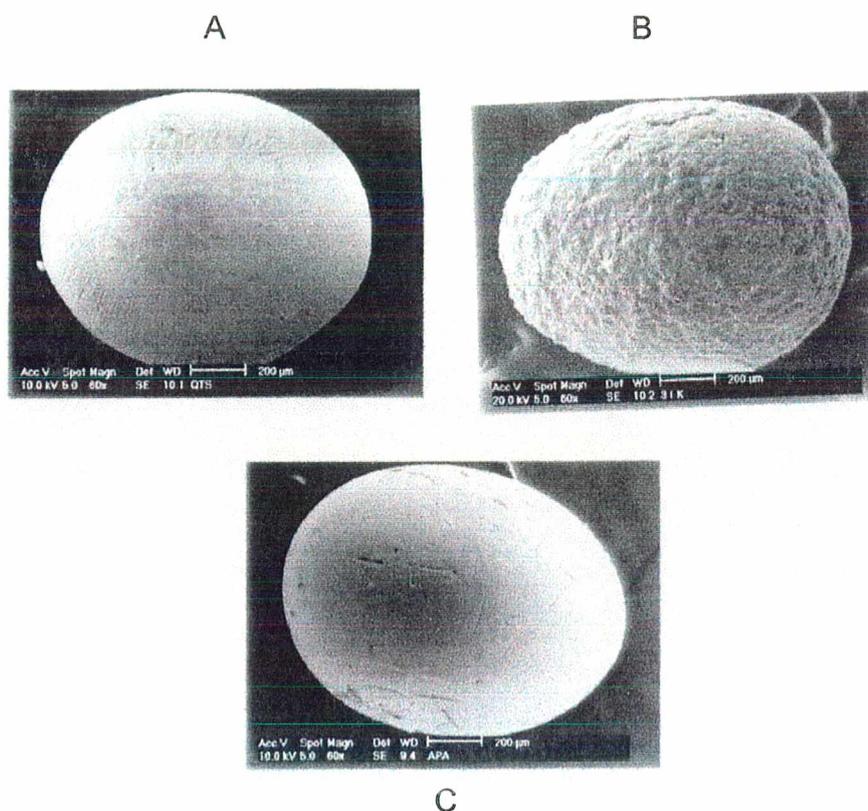


Figura 33. MEV de microsferas: A - QTS-PAA-AAS B - QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup>  
C - QTS-PAA

A figura 34 mostra uma microesfera de QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup> em A e a mesma microesfera seccionada em B. onde foi feita a análise por microsonda de energia dispersiva (EDX), para verificarmos a presença do ferro, no núcleo e próximo à parede da microesfera, para que se pudesse comprovar, qualitativamente, a permeação do fármaco nas microsferas.

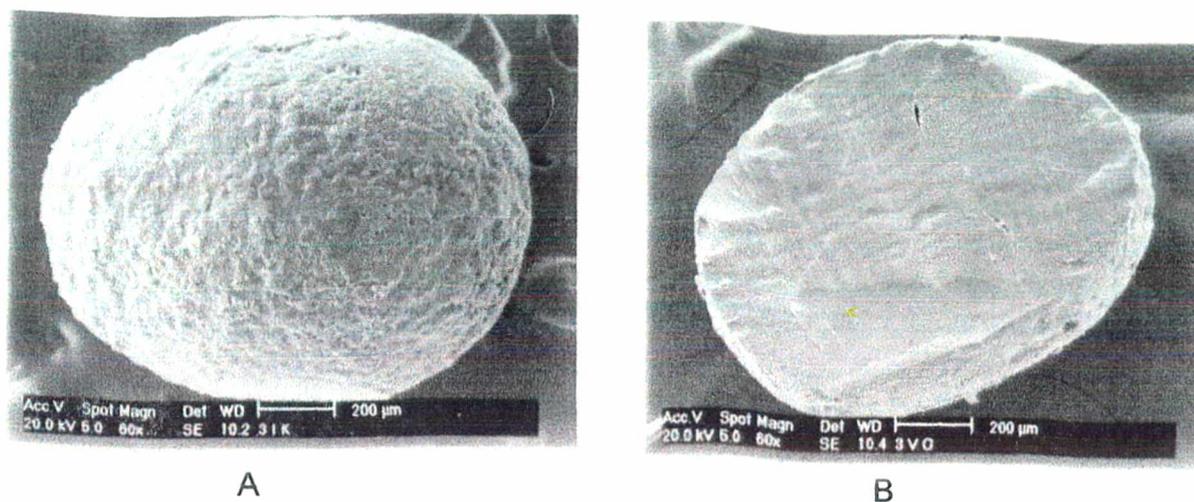


Figura 34. MEV de microesfera de QTS-PAA -AAS-Fe<sup>+++</sup>, A - microesfera inteira  
B - microesfera seccionada

Na análise por microsonda de energia dispersiva (EDX), da microesfera de QTS-PAA-AAS-Fe (figura 34), mostrada nas figuras 35 e 36, foi verificada a presença significativa do ferro, no núcleo e próximo à parede, comprovando a permeação completa do fármaco nas microesferas.

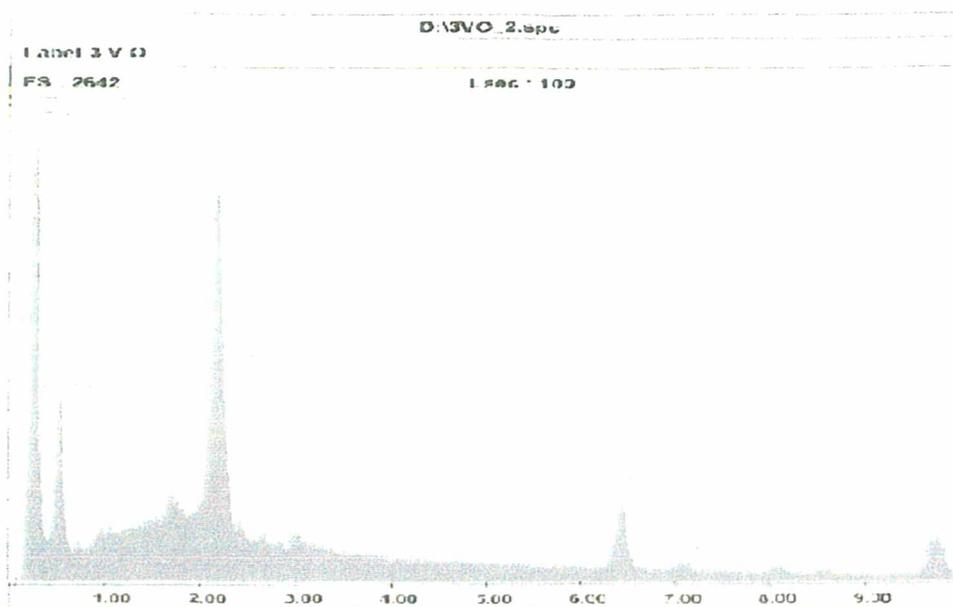


Figura 35. Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo ao núcleo da microesfera

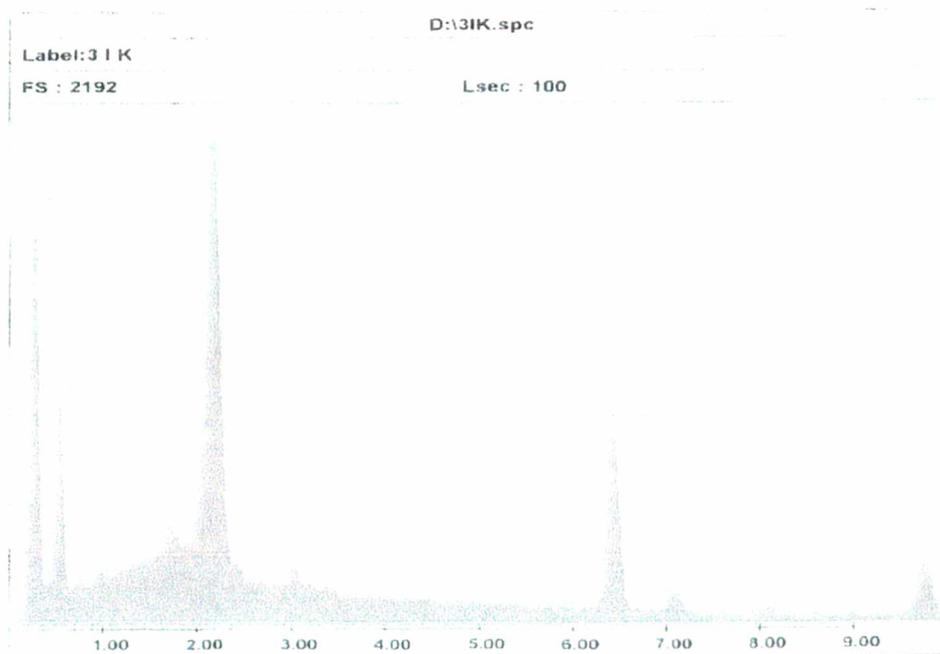


Figura 36. Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo à parede da microesfera

intensa, possivelmente devido a presença do ferro impregnado com o AAS, formando um complexo de coordenação.

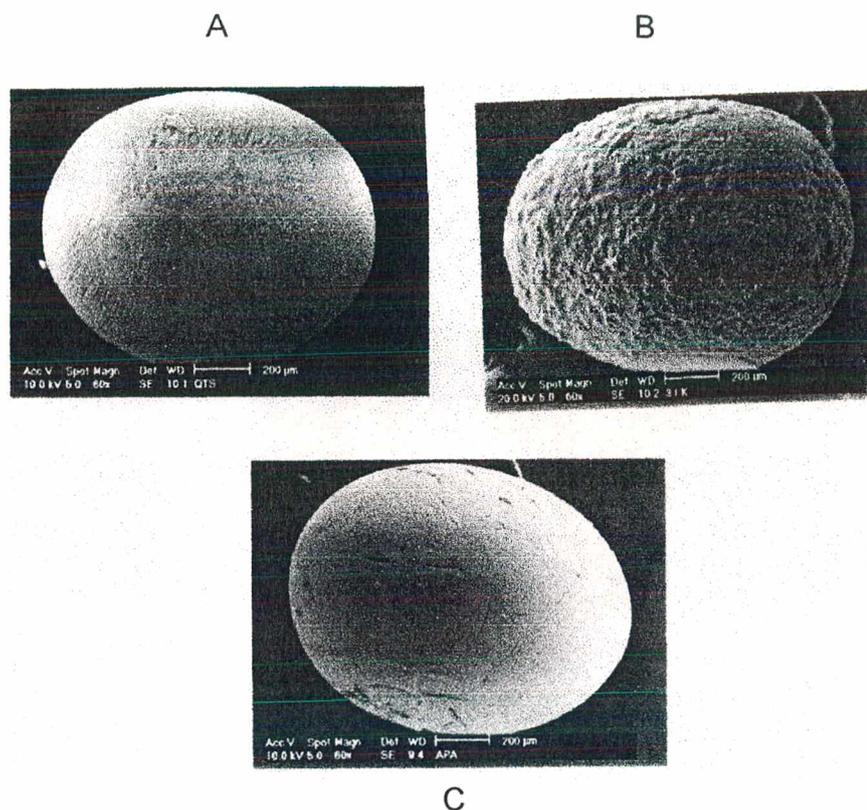


Figura 33. MEV de microesferas: A - QTS-PAA-AAS B - QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup>  
C - QTS-PAA

A figura 34 mostra uma microesfera de QTS-PAA-AAS-Fe<sup>+++</sup> em A e a mesma microesfera seccionada em B. onde foi feita a análise por microsonda de energia dispersiva (EDX), para verificarmos a presença do ferro, no núcleo e próximo à parede da microesfera, para que se pudesse comprovar, qualitativamente, a permeação do fármaco nas microesferas.

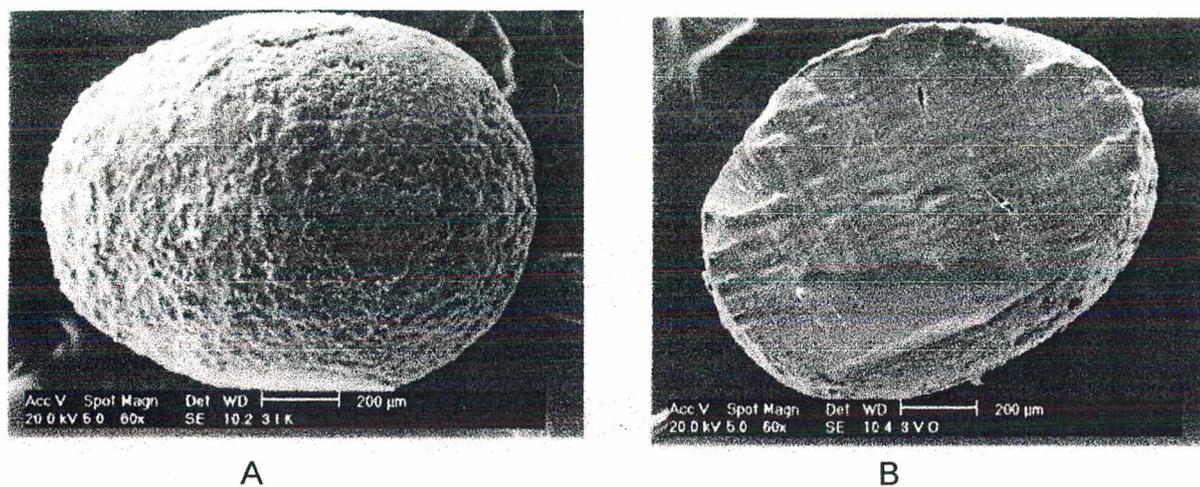


Figura 34. MEV de microesfera de QTS-PAA -AAS-Fe<sup>+++</sup>, A - microesfera inteira  
B - microesfera seccionada

Na análise por microsonda de energia dispersiva (EDX), da microesfera de QTS-PAA-AAS-Fe (figura 34), mostrada nas figuras 35 e 36, foi verificada a presença significativa do ferro, no núcleo e próximo à parede, comprovando a permeação completa do fármaco nas microesferas.

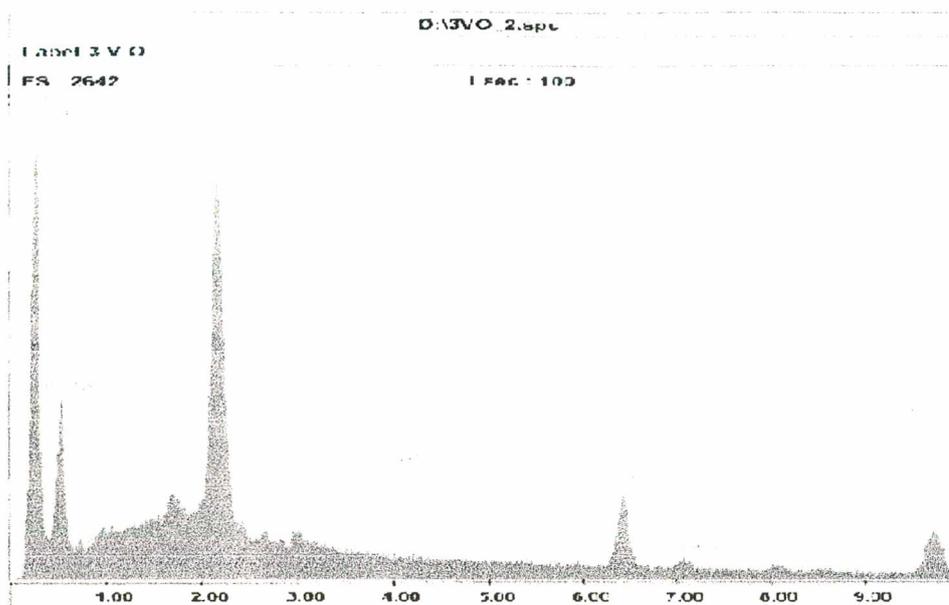


Figura 35. Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo ao núcleo da microesfera

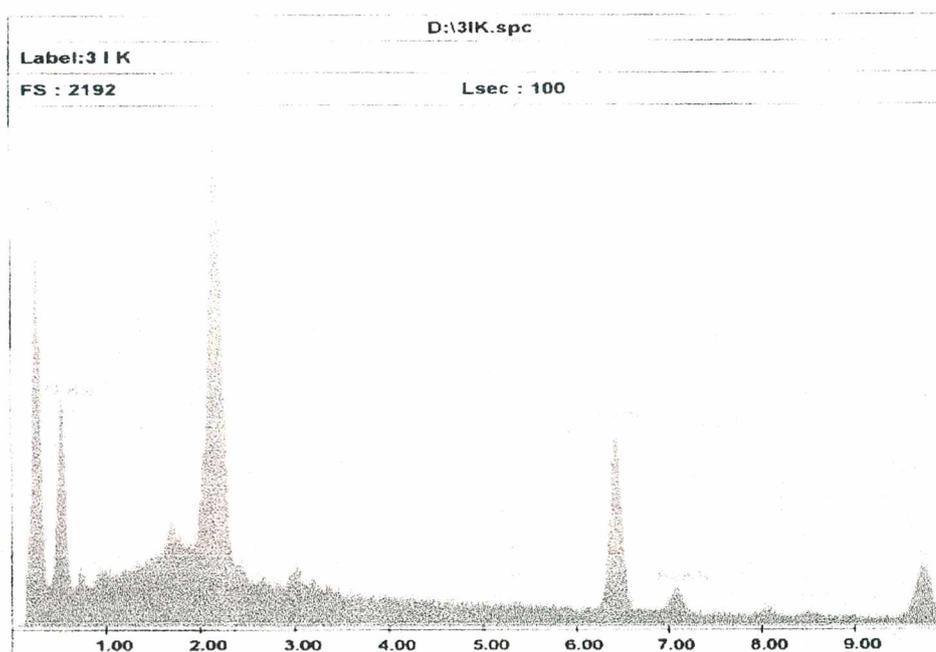


Figura 36. Análise por microsonda de energia dispersiva de raio-X, mostrando a presença significativa do ferro próximo à parede da microesfera

## 9 CONCLUSÃO

No desenvolvimento do sistema polimérico QTS-PAA (quitosana-poli(ácido acrílico), para impregnação do fármaco ácido acetil salicílico, através das microesferas, uma série de modificações químicas foram aplicadas no polissacarídeo quitosana, visando obter um sistema suporte alternativo, promissor e viável economicamente.

Com relação aos dados obtidos e os objetivos propostos, pode-se concluir que:

- A quitosana, obtida da quitina, utilizada neste trabalho, com um grau de desacetilação de 85%, mostrou ótimas qualidades para a preparação de microesferas, e quando enxertada, tornou-se apropriada para impregnação e liberação controlada de fármacos.
- Na preparação das microesferas de quitosana, foi utilizado o método de coacervação simples, o qual envolve a formação do coacervado por mudança de pH, temperatura, força iônica. Foi utilizado como meio coagulante uma solução de hidróxido de sódio 1 mol/L, obtendo-se microesferas com boa esfericidade e homogêneas, que foi comprovado por MEV.
- Para obter microesferas de QTS-PAA, mais resistentes ao meio ácido, foram aplicados uma série de tratamentos químicos para obtenção dessas microesferas, tais como a reticulação, redução dos grupos iminos da base de schiff, e a copolimerização de enxerto.
- A impregnação do fármaco AAS, foi realizado com uma solução AAS-água-etanol 2:1 (v/v), devido à pouca solubilidade do AAS em água, obtendo-se um alto grau de impregnação, acima de 94%.

- A permeação do soluto, nas microesferas de QTS-PAA, foi comprovada por testes analíticos e por MEV e MOE. Foi feito ainda um teste, utilizando uma solução do complexo salicilato de ferro, impregnando as microesferas e depois analisados e comprovados por microscopia ótica estereoscópica.
- O perfil de liberação do AAS nos testes realizados frente às variações de pH simulando o TGI, mostrou-se plenamente adequado, pois a ingestão do AAS é feita exclusivamente por via oral e como consequência o fármaco percorre todos esses diferentes pH.
- A pequena liberação do AAS verificada nos testes em pH 1,2, é bastante significativa, já que o estômago apresenta esse pH, e é onde ocorre absorção do fármaco.
- Observa-se uma maior liberação do AAS em pH 6,8 e pH 9,0, similares aos pH do intestino delgado e intestino grosso, respectivamente, devido ao aumento do pH, acúmulo de água, a constante de dissolução do fármaco em contato com os sucos digestivos e ainda a constante de absorção. A absorção se dá neste pH do intestino com maior intensidade, porém os resultados de liberação em pH 9,0 foram surpreendentes.
- Foram comprovados por MEV e por MOE o encapsulamento do AAS, e a morfologia característica de cada uma das fases de preparação das microesferas, e ainda antes e depois da liberação.
- O sistema de liberação controlada QTS-PAA, obtido, resistiu à erosão e à dissolução, mesmo em pH ácido, ou seja abaixo de 4, resistindo também ao aumento de pH até próximo ao pH 10, durante 12 horas, que foi comprovado por MEV.

Com esses resultados, o sistema polimérico QTS-PAA, mostrou-se com boas perspectivas, quer no aprisionamento de fármacos, quer na liberação controlada, e não só na área médico-farmacêutica, mas também nas áreas biológica, química e outras.

**10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

01. **ALSTAEDLEAR, R.** Aspirin, the medicine of the century. (ed), **Germany Bayer AG**, 1984.
02. **VERG, E., GOTTFRIED, P., SCUTHEIS.** **The Bayer Story**, 1863-1988, Leverkusen, Bayer AG, 1988.
03. **ZANINI & OGA.** **Guia de Medicamentos.** São Paulo, p. 8-9, 1995.
04. **RAINSFORD, K. D.** Aspirin and the salicylate. **Michael Joseph**, London, 1978.
05. **OTHEMER, K.** Encyclopédia of Chemical Technology. **J. Wiley**, New York, 1978, v. 1, 3º ed., p. 312-354.
06. **LENGA, R. E.** The Sigma-Aldrich library of chemical safety data. **Milwaukee, Sigma-Aldrich**, c, 1996.
07. **THE MERCK INDEX.** An encyclopédia of chemicals drugs and biologicals. New York, Merck, 1996.
08. **CHANDA, M., ROY, S. K.** **Plastics technology handbook.** New York. **M. Dekker**, c, 1987.
09. **TINLAND, B., MAZET, J., RINAUDO, M.** Receptation in semidulit solutions of wormlike polymers. **Macromol Chem Rápíd Commum**, v. 9, p. 69, 1988.

10. ARMSTRONG, R. W., STRAUSS, U. P. Polyelectrolytes. In: Encyclopédia of polymers science and technology. New York. **J. Wiley.** v. 10, p. 78, 1969.
11. SHAO, W., YIN, X., STEVENSON, W. T. K. Microcapsules through polymer complexation, I: Complex coacervation of polymers containing a high charge density. **J. Appl. Pol. Sci.**, v. 42, p. 1399, 1991.
12. \_\_\_\_\_, Microcapsules through polymer complexation, II: By Complex coacervation of polymers containing a low charge density. **J. Appl. Pol. Sci.**, v. 43, p. 205, 1991.
13. POMMERSHEIM, R., SCHREZENMEIR, J., VOGT, W. Immobilization of enzymes by multilayer microcapsules. **J. Macromol. Chem. Phys.**, v. 195, p. 1557-1567, 1994.
14. MOHANTY, N., PRADHAN, B., MAHANTAM, M. C. Kinetics of vinyl polymerization, I: Ceric ion induced polymerization of acrylonitrile in the presence of butane-1,4-diol. **J. Macromol, Sci. Chem.**, v. A 16, p. 1413, 1981.
15. KHETARPAL, R. C., GILL, K. D., MEHTA, I. K. , MISRA, B. N. Grafting onto gelatin II. Graft copolymerization of ethyl acrylate and methyl methacrylate onto gelatin in the presence of  $Ce^{++}$  as redox initiator. **J. Macromol, Sci-Chem**, v. 18, n. 3, p. 445-454, 1982.
16. OGIWARA, Y., KUBOTA, H. Effects of carbonyl and Aldehyd groups in the graft copolymerization of the methyl metacrylate on cellulose with a ceric salt. **J. Pol, Sci.**, v. A1, n. 5, p. 2791-2805, 1967.

17. HACKMAN, R., GOLDBERG, M. Light-Scattering and Infrared-Spectrofotometric Studies of Chitin and Chitin Derivatives. **Carbohydr. Res.**, v. 39, p. 35-45, 1974.
18. EGBOH, S. H. O., AKONWU, L. N. Graft Polymerization of Acrylamida onto Cellulose Acetate Initiated by Ceric Ion. **Acta Polymerica**. v. 42, n. 6, p. 279-281, 1991.
19. MATHUR, N. K., NARANG, K. C. Chitin and Chitosan, Versatile Polisaccharydes from Marines Animals. **J. Chem. Ed.**, v. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.
20. AUSTIN, P. R. Chitin and Solvents Solubility Parameters. Chitin/Chitosan related Enzymes. **Academ. Press**, p. 227-237, 1984.
21. TERBJEVICH, M., CARRARO, C., COSANI, A. Solution Studies of the Chitin-Lithium Chloride-N,N-Dimethylacetamide System. **Carbohydr.**, v. 180, p. 73-86, 1988.
22. ALLAN, G. G., ALTMAN, L. C., BENSIGER, R. E., GHOSH, D. K., HIRABAYASHI, Y., NEOGI, A. N., NEOGI, S. Biomedical Applications of Chitin and Chitosan. Chitin/Chitosan and Related Enzymes. **Academ Press Inc**, 1984, p. 119-133.
23. HORTON, D., JUST, E. K. Preparation From Chitin of (1-4)2-Amino-2-Deoxy- $\beta$ -D-Glucopyranuronam and its 2-sulfo Amino Analog Having Blood-Anticoagulant Properties. **Abstr. Papers Amer. Chem. Soc. Meet.**, v. 163, p. 173-179, 1972.

24. HIRANO, S., TSUNEYASU, KONDO, Y. Heterogeneous Distribution of Amino Groups in Partially N-Acetylated Derivatives of Chitosan. **Agric. Chem.**, v. 45, n. 6, p. 1335-1339, 1991.
25. CARLOGH, M., HUDSON, S., SPADGENSKE, D. Diffusion Coefficients of Direct Dyes in Chitosan. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 42, p. 3035-3038, 1991.
26. DOMARD, A. pH and c. d. Measurements on a Fully Deacetylated Chitosan: Application to  $\text{Cu}^{++}$ -mPolymer Interactions. **Int. J. Biol. Macromol**, v. 9, p. 98-104, 1987.
27. BURROWS, H. D., FORMOSINHO, S. J., MIGUEL, M. G. M. A interação entre o íon urânio e polímeros solúveis em água. **Química Nova**, v. 14, n. 4, p. 257-261, 1991.
28. MANO, E, B. Introdução a Polímeros, Ed. Blucher, São Paulo, 1985.
29. MILLER, M. L. Block and Graft Polymers. **Can. J. Chem.**, v. 36, p. 303-314, 1958.
30. MISRA, B. N., SOOB, B. S. Grafting onto Wool. IX. Graft Copolymerization of Vinyl Monomers by of Vanadium Oxyacetylacetonato as Inicializador. **J. Macromol Sci-Chem. A** 14, n. 8, p. 1255-1268, 1980.
31. GRACZYK, T., HORNOF, V. graft Copolymerization Reaction Conditions on the Consumption of Ceric Ion. **J. Polym. Sci: Part A: Polym Chem**, v. 26, p. 2019-2029, 1988.
32. MC DOWALL, D. J., GUPTA, B. S., STANNETT, V. T. Grafting of Vinyl Monomers to Cellulose by Ceric Ion Initiated. **Prog. Polym. Sci.**, v. 10, p. 1-50, 1984.

33. MONSERRAT, S., FLAQUÉ, C. Vinylic Graft Copolymers of Cellulose, II. Thermal Degradation of Cellulose and its Vinylic Copolymers and Blends by Differential Scanning Calorimetry. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 42, p. 3205-3213, 1991.
34. MONSERRAT, S., FLAQUÉ, C. Vinylic Graft Copolymers of Cellulose, I. Effects of Monomer Concentrations and Crystallinity Index of Cellulosic Substrat on Grafting Vinyl Acetat ontocotton. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 42, p. 3051-3057, 1991.
35. HEBEISH, A., EL-RAFIE, M. Graft Copolymerization of Vinyl Monomers With Modified Cotton, II. Grafting of Acrylonitrile and Methacrylate on Acrylated Cotton. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 15, p. 11-24, 1971.
36. KANTOUCH, A., HEBEIXH, A., EL-RAFIE, M. Graft Copolymerization of Vinyl Monomers on Modified Cottons Carboximethylated Cotton. **Eur. Polym. J.**, v. 8, p. 1568-1575, 1970.
37. NOROBU, N., HIDEKY, Y., KOSAY, K. Permeability through Cellulose Membranes Grafted With Vinyl in Membranes Swollen in Solutions. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 40, p. 2007-2014, 1990.
38. NISHIOKA, N., ONO, M., KOSAI, K. Permeability Through Cellulose Membranes Grafted With Vinyl Momomers in a Homogenous System, CII. Acrylamid Grafted Cellulose Membranes. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 41. P. 2857-2868, 1990.
39. MOECKE, E. H. S. **Dissertação de Mestrado – Florianópolis, S. C. 1990.**

40. LEZA, M. L., CASINOS, I., GUZMAN, G. M. Graft Copolymerization of 4-Vinyl Pyridine onto Partially Carboxymethylated Cellulose. The Degree of substitution Effect. **J. Macromol. Sci-Chem**, A v.27, n.4, p. 413-421, 1990.
41. LEZA, M. L., CASINOS, I., GUZMAN, G. M. Graft Copolymerization of 4-Vinyl Pyridine onto Modified Cellulosic Fibers. The Ceric Ion Concentration Effect. **J. Macromol. Sci-Chem**, A v.27, n.4, p. 413-421, 1990.
42. SAHA, S.K., CHAUDHURI, A. K. Effect of Amines on the Ceric Ion-Initiated Polymerization of Acrylonitrile by Ceric Ion-Triethylamine Catalyst System. **J.Polym. Sci: Part A-1** v.9, p. 1505-1516, 1971.
43. KIM, K. H., KIM, K. S., SHIN, J. S. Graft Copolymerization of Chitosan and Acrylamide by using Ceric Ammonium Nitrate Initiator. **Polymer (Korea)**, v. 11, n. 2. p. 133-138, 1987.
44. KURIT, K., KAWATA, M., KOYAMA, Y. Graft Copolymerization of Vinyl Monomers onto Chitin With Cerium (IV) Ion. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 42, p. 2885-2891, 1991.
45. SANNAN, T., KURITA, K., OGURA, K., IWAKURA, Y. Studies on Chitin 7. I.R. Spectroscopic determination of Degree of Desacetylation. **Polymer**, v.19, n.4, p. 458-459, 1978.
46. AIBA, S. Studies of Chitosan: 1. Determination of the degree of N-Acetylation of Chitosan by Ultraviolet Spectrophotometry and Gel permeation Chromatography. **Int. J. Biol. Macromol.** V. 8, p. 173-176, 1986.

47. NAKATSUKA, S., ANDRADY, L. A. Permeability of vitamin B-12 in chitosan membranes: effect of crosslinking and blending with poly(vinyl alcohol on permeability. **J. Appl. Pol. Sci.**, v. 44, p. 17-28, 1992.
48. SPERLING, L. H. **Interpenetration polymer networks in comprehensive polymer science.**, v. 6, Allen, S. G. & Bevington, J. C. (Eds). UK: Pergamon Press, 1989.
49. \_\_\_\_\_, KLEMPNER, D., UTRACKL, L. **Interpenetration polymer networks**, UK: Pergamon Press, 1994.
50. FILHO, N. <sup>a</sup>, OLIVEIRA, A. G. Sistemas de micro/nano encapsulação de fármacos. **Pharmacia Brasileira**, v. 9, n. 1/5, p. 18-21, maio-junho 1999.
51. LIM, F., SUN, A. Encapsulation of living tissue or active biological material for implantation. **Science**, v. 210, p. 980, 1980.
52. DAUTZENBERGM, H., LOTH, F., FECHNER, B., et al. Preparation and performance of simplex capsules. **K. Macromol. Chem., Suppl.** 9, p. 203, 1985.
53. DUPUY, B., CADIC, C. H., ROUAIS, F. et al. Production of biocompatible microcapsules by seeded polymerization around agarose microspheres. **Makromol. Chem.**, v. 192, p.1821, 1991.
54. SPARKS, R. **Microencapsulation in encyclopedia of chemical technology.** 3.ed. New York: Kirk Othmer, v. 15, 1990.
55. FINCH, C. A. Microencapsulation. In: **Ullmann's encyclopedia of industrial chemical.** Weinheim: VCH verlagsgesellschaft, v. a16, p. 575-588, 1990.

56. KOST, J., LANGER, R. Responsive polymeric delivery systems. **Advanced drug delivery Reviews**, 6, 1991.
57. RODRÍGUEZ, M., VILA-JATO, J. L., TORRES, D. Design of a new multiparticulate system for potential site-specific and controlled drug delivery to the colonic region. **Journal of Controlled Release**. 55 p. 67-77, 1998.
58. KONTUREK, S. J. Mechanisms of gastroprotection. **Scand J. Gastroenterol.** 1990, 25 (suppl 174), 15-28.
59. PATHAK, Y. V., DORLE, A. K. Release kinetic study of RHPC coated aspirin microcápsules. **J. Microencapsulation**, 1990, v. 7, n. 2, p. 185-190.
60. MUZZARELLI, R. A. A. Immobilization of enzymes on chitin and chitosan. **Enzy. Microb. Technol.** V. 2, p. 177-184, 1980.
61. KRISTL, J., SMID-KORBAR, J. STRUC, O. *et al.* Hidrocolloides and gels of chitosan as drugs carriers. **Int. J. Pharm.**, v. 99, p. 13-19, 1993.
62. TOZAKI, H., KOMOIKE, J., TADA, C., *et al.* Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from de rate colon. **J. Pharm. Sci.**, v. 86, n. 9, p. 1016-1021, 1997.
63. LI, Y. P., MACHIDA, Y., SANNAN, T., NAGAI, T. Preparation of chitosan microspheres containing fluorouracil using the "dry-in-oil" method and is release characteristics. **S. T. P. Pharma Sciences**, v. 1, p. 363-368, 1991.
64. GENTA, I., PAVANETTO, F., CONTI, B. *et al.* Improvement of dexamethasone dissolution rate from spray-dried chitosan microspheres. **S.T.P. Pharma Sciences**, v. 5, p. 202-207, 1995.

65. LUCINDA, R. M., EVANGELISTA, R. C. Sistemas transdérmicos para veiculação de fármacos. **Pharmacia Brasileira**. V. 10, n. 1/6. p. 54-57, 1999.
66. TRONCON, L. E. A. Gastroparesias: revisão de aspectos relacionados ao conceito, à etiopatogenia e ao manejo clínico. **Ver. Ass. Med. Brasil**, 1997, 43(3), p. 228-236.
67. MOOSE, W. E. C., CATO, E. P., HOLDEMAN, L. V. Some current concepts in intestinal bacteriology. **Amer. J. Clin. Nutr.**, v. 312, p. S33-S42, 1978.
68. RITSCHER, W. A. Targeting in the gastro-intestinal tract: new approaches. **Meth. Find. Expt. Clin. Pharmacol.**, v. 13, p. 313-336, 1991.
69. LANGER, R. New methods of drug delivery. In: **Review Science ( American Association for the Advancement of Science)**. v. 249, p. 1473-1624, 1990.
70. \_\_\_\_\_, FOLKMAN, J. Polymers for the sustained release for proteins and other macromoleccules. **Nature**. v. 263, p. 797, 1976.
71. BAWA, R., SIEGEL, R., MARASCA, B. *et al.* Explanation for the controled release of macromoléculas from polymers. **J. Controled Release**, v. 1, p. 259, 1985.
72. SALTZMAN, W. M., LANGER, R. Transport rates of proteins in porous materials with know microgeometry. **Biophys.**, v. J55, p. 163, 1989.

73. TRINDER, P. Rapid determination of salicylate in biological fluids. **Biochen J. London**, 57(2), p. 301-303, 1954.
74. RAYMOND, L., MORAN, F. G., MARCHESSAULT, R. H. Degree of deacetylation of chitosan using conductometric titration and solid-state NMR. **Carbohydrate Research**, v. 246, 1993, p. 331-336.
75. SUGIMOTO, K., YOSHIDA, M., YATA, T., HIGAKI, K., KIMURA, T. Evaluation of Poly(vinyl alcohol)-Gel Spheres Containing Chitosan as Dosage Form to Control Gastrointestinal Transit Time of Drugs. **Biol. Pharm. Bull.** 21(11), p. 1202-1206, 1998.
76. YAO, K., PENG, T., FENG, H. B., HE, Y. Y. Swelling Kinetics and Release Characteristic of Crosslinked Chitosan: Polyether Polymer Network (Semi-IPN) Hydrogels. **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**. v. 32, p. 1213-1223, 1994.
77. MIGUEZ, M. J. B., RODRIGUES, B. C., SANCHEZ, M. N. M., LARANJEIRA, M. C. M. Preparation and scanning electronic microscopy study of chitosan/polyvinil (alcohol)-encapsulated crude urease extract. **J. Microencapsulation**, 1997, v. 14, n. 5, p. 639-646.
78. RODRIGUES, C. A., LARANJEIRA, M. C. M., FÁVERE, V., STADLER, E. Interaction of Cu(II) on N-(2-pyridylmethyl) and N-(4-pyridylmethyl) chitosan. **Polymer**. V. 39, n. 21, p. 5121-5626, 1998.
79. CORTESI, R., ESPOSITO, E., OSTI, M., SQUARZONI, G., MENEGATTI, E., DAVIS, S. D., NASTRUZZI, C. Dextran cross-linked gelatin microspheres as a drug delivery system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 47, 1999, p. 153-160.

80. GARCIA, J. T., FARINA, J. B., MUNGUÍA, O., LLABRÉS, M. Comparative degradation study of biodegradable microspheres of poly(DL-lactide-co-glycolide) with poly(ethyleneglycol) derivatives. **J. Microencapsulation**, 1999, v. 16, n. 1, p. 83-94.
81. SHAH, A. C., BRITTEN, N. J., OLANOFF, L. S., BADALAMENTI, J. N. Gel-Matrix systems exhibiting bimodal controlled release for oral drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 9, 1989, p. 169-175.
82. SOANE, R. J., FRIER, M., PERKINS, <sup>a</sup> C., JONES, N. S., DAVIS, S. S., ILLUM, L. Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 178, 1999, p. 55-65.
83. YOSHINO, T., MACHIDA, Y., ONISHI, H., NAGAI, T. Characteristics of drug loading, drug release and degradation of chitosan microspheres prepared using the dry-in-oil method. **S. T. P. Pharma Sciences**. 1996, v. 6(2), p. 122-128.
84. SOARES, J. L. Estrutura e funções dos seres a nível do organismo. **Biologia**. Editora Scipione, v. único, p. 123-129, 1997.
85. JOSUÉ, A. Tese de Doutorado (a ser defendida), UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, 2000.
86. FURLAN, L. Copolímeros Graftizados de Quitina e Quitosana com Monômeros Acrílicos. Estudos de Adsorção de Ca<sup>++</sup>, e Aplicações na Tecnologia do papel. **Dissertação de Mestrado**. UFSC. Santa Catarina, 1993.

87. KAS, H. S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticles systems. **Journal of Microencapsulation**, v. 14, n. 6, p. 689-711, 1997.
88. BRONSTED, H., KOPECEK, J. pH-Sensitive Hydrogels: Characteristics and Potential in Drug Delivery. In: HARLAND, R. S. **Polyelectrolyte gels: Properties, Preparation and Applications**. 1992, p. 285-303.3
89. PATHAK, Y. V., DORLE, A. K. Release Kinetic study of RHPC coated aspirin microcapsules. **Journal of Microencapsulation**, v. 7, n. 2, 185-190, 1990.