

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**DESENVOLVIMENTO DE MICROESFERAS DE CARBAMAZEPINA
VISANDO O PROLONGAMENTO DA LIBERAÇÃO DO FÁRMACO.**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Farmácia como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em
Farmácia.**

**Orientadora: Prof^a Dr^a Elenara M. T.
Lemos-Senna**

BETINA GIEHL ZANETTI

**FLORIANÓPOLIS
2001**

**“DESENVOLVIMENTO DE MICROESFERAS DE
CARBAMAZEPINA VISANDO O PROLONGAMENTO DA
LIBERAÇÃO DO FÁRMACO”**

POR

BETINA GIEHL ZANETTI

**Dissertação julgada e aprovada em
sua forma final pela Orientadora e
membros da Banca Examinadora,
composta pelos Professores Doutores:**

Banca Examinadora:



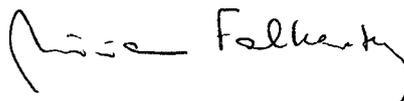
Elenara M. Teixeira Lemos Senna (CIF/CCS/UFSC – Membro Titular)



Valquíria Linck Bassani (FF/UFRGS – Membro Titular)



Valdir Soldi (QMC/CFM/UFSC – Membro Titular)



**Prof.^a Dra. Miriam de Barcellos Falkenberg
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFSC**

Florianópolis, 14 de Setembro de 2001.

para
Ricardo

Agradecimentos

À Profa. Dra. Elenara Lemos Senna pela orientação, dedicação e pelo incentivo ao meu ingresso na carreira acadêmica.

Ao Prof. Dr. Valdir Soldi pelo apoio e atenção prestada, em co-orientação não formalizada.

À Profa. Dra. Valquíria Linck Bassani e à amiga Leticia Koester pelo auxílio prestado na realização dos testes de dissolução.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Farmacêuticas e do programa de Pós-Graduação em Farmácia pela atenção e amizade.

À Istefani pela ajuda fornecida na parte de análise estatística.

À Marli Soldi pelo auxílio prestado nas análises de DSC.

Aos amigos do Laboratório de Polímeros.

Aos colegas de mestrado pelo companheirismo.

Aos meus pais e minha irmã pelo carinho, amor e incentivo que permitiram-me vencer mais uma importante etapa da vida.

Ao Ricardo, por tudo.

À todos que, mesmo não citados, colaboraram para a realização deste trabalho.

“O conhecimento é a substância eterna que, ao ser assimilada, permite ao homem experimentar a sensação do eterno.”

(Sabedoria Logosófica)

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1 Introdução	2
1.2 Objetivo Geral	5
1.3 Objetivos Específicos	5
2. REVISÃO DA LITERATURA	7
2.1 Carbamazepina	8
2.1.1 Características físico-químicas e estruturais.....	8
2.1.2 Emprego terapêutico e mecanismo de ação.....	9
2.1.3 Farmacocinética.....	11
2.1.4 Formas de carbamazepina de liberação prolongada.....	12
2.2 A microencapsulação de fármacos.....	16
2.3 O Acetobutirato de celulose	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 Materiais.....	25
3.1.1 Matérias-primas.....	25
3.1.2 Reagentes e solventes	25
3.1.3 Equipamentos	26
3.2 Metodologia.....	27
3.2.1 Caracterização da carbamazepina	27
3.2.1.1 Ensaio de identificação.....	27
3.2.1.1.1 Espectroscopia de absorção no ultravioleta.....	27
3.2.1.1.2 Identificação colorimétrica	27
3.2.1.2 Acidez	27

3.2.1.3 Alcalinidade	28
3.2.1.4. Determinação do ponto de fusão	28
3.2.1.5 Perda por dessecação.....	28
3.2.1.6 Limite de cloreto	28
3.2.1.7 Avaliação do teor de pureza.....	29
3.2.1.7.1 Espectroscopia no ultravioleta.....	29
3.2.1.7.2 Cromatografia líquida de alta eficiência	29
3.2.2 Estudo preliminar das condições de preparação das microesferas	29
3.2.2.1 Preparação das microesferas.....	29
3.2.2.2. Determinação do teor e da eficiência de encapsulação da carbamazepina nas microesferas pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência.	31
3.2.2.2.1 Condições cromatográficas.....	31
3.2.2.2.2 Preparação da curva de calibração	32
3.2.2.2.3 Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina nas microesferas.....	32
3.2.2.3 Caracterização físico-química das microesferas.....	32
3.2.2.3.1 Avaliação da morfologia	32
3.2.2.3.2 Análise granulométrica	33
3.2.3 Avaliação da influência de parâmetros de formulação sobre as características físico-químicas e sobre a velocidade de liberação da carbamazepina.....	33
3.2.3.1 Preparação das microesferas.....	33
3.2.3.2. Caracterização físico-química.....	35
3.2.3.2.1 Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina nas microesferas.....	35
3.2.3.2.2 Determinação do diâmetro médio e da distribuição granulométrica.....	36

3.2.3.2.3 Avaliação da morfologia	36
3.2.3.2.4 Análise das microesferas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e por espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR).	37
3.2.3.3 Avaliação da velocidade de liberação.....	37
3.2.3.4 Análise estatística.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Caracterização da carbamazepina	40
4.2 Avaliação preliminar das condições de preparação das microesferas.....	40
4.3 Avaliação da influência do peso molecular do acetobutirato de celulose e da adição de polietilenoglicol 1500 na fase interna da emulsão sobre as características físico-químicas das partículas e sobre o perfil de liberação da carbamazepina	50
4.3.1. Preparação das microesferas.....	50
4.3.2. Caracterização físico-química das microesferas.....	53
4.3.2.1. Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina.....	53
4.3.2.2. Determinação do diâmetro médio e da distribuição granulométrica	54
4.3.2.3. Avaliação da morfologia das partículas	57
4.3.2.4. Análise das microesferas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e por espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR).	65
4.3.3. Avaliação da velocidade de liberação da carbamazepina a partir das microesferas.....	72
4.3.4. Análise estatística da influência do peso molecular do acetobutirato de celulose e da adição de PEG 1500 sobre o diâmetro médio das partículas e velocidade de liberação do fármaco.....	82

5. CONCLUSÕES.....	88
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABC	Acetobutirato de celulose
ABC30	Acetobutirato de celulose peso molecular 30000
ABC70	Acetobutirato de celulose peso molecular 70000
ANOVA	Análise de variância
CBZ	Carbamazepina
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CV	Coefficiente de variação
DSC	Diferencial Scanning Calorimetry (calorimetria exploratória diferencial)
EHL	Equilíbrio hidrófilo-lipófilo
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy (espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier)
GL	Graus de liberdade
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MQ	Média dos quadrados
PEG	Poli(etileno)glicol
PEG 1500	Poli(etileno)glicol peso molecular 1500
PEG 4000	Poli(etileno)glicol peso molecular 4000
PF	Ponto de Fusão
r^2	Coefficiente de regressão
SQ	Soma dos quadrados
T_m	Melting point
UV	Ultravioleta
Å	Angstrom
α	Significância do teste de hipótese

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Formulações testadas no estudo preliminar das condições de preparação das microesferas.....	31
TABELA 2	Delineamento fatorial 2x2 empregado para avaliar a velocidade de liberação da carbamazepina e tamanho de partícula.....	34
TABELA 3	Formulações de microesferas de acetobutirato de celulose contendo carbamazepina empregadas na análise fatorial.....	35
TABELA 4	Resultados obtidos na caracterização da carbamazepina.....	40
TABELA 5	Área dos picos obtidos após análise das soluções de carbamazepina por CLAE.....	44
TABELA 6	Valores de eficiência de encapsulação, teor de carbamazepina e diâmetro das partículas obtidos para as formulações testadas.....	46
TABELA 7	Valores de eficiência de encapsulação, teor de carbamazepina e diâmetro médio das partículas	53
TABELA 8	Dados de regressão obtidos após aplicação do modelo de Baker-Lonsdale nos perfis de dissolução da CBZ a partir das microesferas.....	79
TABELA 9	Tratamento das respostas obtidas na análise fatorial do diâmetro médio das partículas.....	83
TABELA 10	Análise da variância realizada no estudo da influência dos fatores de formulação sobre o diâmetro médio das partículas.....	83
TABELA 11	Tratamento das respostas obtidas na análise fatorial da velocidade de liberação da carbamazepina.....	84
TABELA 12	Análise da variância realizada na avaliação da influência dos fatores de formulação sobre a velocidade de liberação da CBZ.....	84

TABELA 13 Média das áreas sob a curva obtida para cada um dos tratamentos
e valores absolutos das diferenças das médias..... 86

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Estrutura química da carbamazepina	8
FIGURA 2	Estrutura química do acetobutirato de celulose.....	23
FIGURA 3	Esquema de preparação das microesferas.....	30
FIGURA 4	Curva de calibração da carbamazepina.....	45
FIGURA 5	Cromatogramas da carbamazepina obtidos por CLAE	45
FIGURA 6	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas a partir de ABC70.....	47
FIGURA 7	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas com misturas de ABC:PEG.....	48
FIGURA 8	Efeito dos tratamentos sobre a distribuição granulométrica das microesferas.....	56
FIGURA 9	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas com ABC30 e ABC70, com e sem adição de PEG 1500.....	59
FIGURA 10	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas com ABC30 e ABC70, sem adição de PEG 1500.....	60
FIGURA 11	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas com ABC30 e ABC70, com adição de PEG 1500.....	61
FIGURA 12	Fotomicrografia obtidas por MEV das microesferas seccionadas transversalmente preparadas com ABC30 e ABC70 sem adição de PEG 1500.....	63
FIGURA 13	Fotomicrografia obtidas por MEV das microesferas seccionadas transversalmente preparadas com ABC30 e ABC70 com adição de PEG 1500.....	64
FIGURA 14	Termogramas de DSC obtidos para as amostras preparadas com	

	ABC30.....	67
FIGURA 15	Termogramas de DSC obtidos para as amostras preparadas com ABC70.....	68
FIGURA 16	Espectros de FTIR para as microesferas preparadas com ABC30	69
FIGURA 17	Espectros de FTIR para as microesferas preparadas com ABC70	71
FIGURA 18	Representação dos sítios de distribuição do fármaco em uma microesfera durante o processo de liberação.....	73
FIGURA 19	Perfis de liberação da carbamazepina a partir das microesferas	76
FIGURA 20	Perfis de liberação da carbamazepina obtidos após a aplicação do modelo de Baker-Lonsdale.....	78
FIGURA 21	Perfis de dissolução da carbamazepina a partir das microesferas de ABC30 com adição de PEG 1500 e da forma comercial (Tegretol CR200).....	80
FIGURA 22	Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas com ABC70 antes e após o ensaio de dissolução.....	81

Resumo

A carbamazepina (CBZ) é um fármaco anticonvulsivante amplamente empregado no tratamento da epilepsia em doses que variam entre 600 e 1200 mg/dia, geralmente divididas em 3 ou 4 administrações. Apesar de completa, a absorção deste fármaco após administração oral é lenta e irregular conduzindo a uma ampla variabilidade nas concentrações séricas. Visando reduzir a incidência de efeitos adversos ocasionados pelas flutuações na concentração plasmática deste fármaco, o desenvolvimento de microesferas de CBZ de liberação prolongada foi realizado. As microesferas foram preparadas pela técnica de emulsificação e evaporação de um solvente volátil, empregando-se o acetobutirato de celulose (ABC) para obtenção da matriz polimérica, a acetona e a vaselina líquida como fases interna e externa da emulsão, respectivamente. O potencial de utilização do polietilenoglicol (PEG) na modulação da liberação da CBZ foi verificado. Um delineamento fatorial do tipo 2x2 foi realizado para avaliar a influência dos parâmetros de formulação, peso molecular do ABC (30000 ou 70000) e a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão (com ou sem) sobre o diâmetro médio das partículas e a velocidade de liberação da carbamazepina. A relação fármaco:polímero foi igual a 1:2 em todas as formulações. A concentração total de polímero na fase interna da emulsão foi mantida em 5 % (p/V), e quando necessário, PEG 1500 foi adicionado, perfazendo uma relação ABC/PEG de 9:1. A eficiência de encapsulação e o teor de CBZ nas microesferas, estimados após análise por CLAE, ficaram ao redor de 60-70% e 20 mg/100 mg, respectivamente. Após medição do diâmetro de Ferret das partículas visualizadas nas fotomicrografias obtidas por MEV, foi demonstrado que o peso molecular do ABC exerce influência significativa sobre o diâmetro médio das microesferas. O aumento da porosidade da matriz polimérica, bem como a presença de dois polimorfos de CBZ foram evidenciados após observação das partículas por MEV. A ausência de PEG 1500 nas microesferas foi evidenciada por DSC e FT-IR, indicando que este polímero é eliminado da fase interna da emulsão durante a etapa de evaporação do solvente, conduzindo assim a formação de poros nas partículas. Finalmente, o ensaio de dissolução da CBZ, realizado conforme preconizado pela USP XXIII, demonstrou a velocidade de liberação significativamente maior a partir das microesferas preparadas com ABC30 e adição de PEG 1500 às formulações. A liberação da CBZ a partir das microesferas preparadas com ABC70 foi lenta, podendo ter sido afetada pelo maior tamanho da partícula e menor permeabilidade da matriz polimérica. A presença de interação entre os dois fatores estudados foi observada. A integridade das partículas foi mantida após dissolução indicando que o fármaco é liberado por um fenômeno de difusão por poros. Entretanto, nas microesferas preparadas na presença de PEG 1500, a adsorção do fármaco na superfície foi maior, contribuindo igualmente nos perfis de liberação do mesmo.

Palavras-Chave: Carbamazepina, microesferas, acetobutirato de celulose, liberação prolongada.

Abstract

Carbamazepine (CBZ) is an anticonvulsant drug widely used in the treatment of epilepsy in doses that vary between 600 and 1200 mg/day, usually divided in 3 or 4 administrations of the drug. Despite of complete, the absorption of this drug after oral administration is slow and irregular leading to a wide variability in its plasma concentration. In order to reduce the incidence of adverse effects caused by the fluctuations of the plasmatic concentration of this drug, the development of microspheres of CBZ of sustained-release had been done. The microspheres were prepared by the emulsion/solvent evaporation method, using the cellulose acetate butirate (CAB) to obtain the polymeric matrix and the acetone and the mineral oil as internal and external phases of the emulsion, respectively. The employment of polyethylene glycol (PEG) in the modulation of CBZ release was verified. A factorial design of 2x2 was carried out to evaluate the influence of the formulation parameters, molecular weight of CAB (30000 or 70000) and the addition of PEG 1500 in the emulsion internal phase (with or without) on the average diameter of the particles and the CBZ release rate. The ratio drug:polymer was 1:2 for all formulations. The total concentration of polymer in the internal phase of the emulsion was maintained in 5 % (p/V), and when it was needed, PEG 1500 was added, making a ratio CAB/PEG of 9:1. The encapsulation efficiency and the CBZ content in the microspheres, estimated after HPLC analysis, was around 60-70 % and 20mg/100mg, respectively. After Ferret diameter measurement of the visualized particles in the photomicrographs obtained by SEM, it was demonstrated that the molecular weight of CAB affects the average diameter of microspheres. The increase of the porosity of the particles as well as the presence of two CBZ polymorphs were observed after looking out the particles by SEM. The absence of PEG 1500 in the microspheres was observed by DSC and FT-IR, demonstrating that this polymer is extracted of the emulsion internal phase during the stage of solvent evaporation, leading to the pores development in the particles. Finally, the CBZ dissolution test, done according to USP XXIII, it had shown a release rate meaningfully higher from the microspheres prepared with CAB30 and with the addition of PEG 1500 to the formulations. CBZ release from the microspheres prepared with CAB70 was slow, it could be affected by the largest size of the particle and by the less permeability of polymeric matrix. It also was observed the interaction presence between the two studied factors. The particles integrity was maintained after dissolution showing that the release occurs by diffusion of the drug through the pores. However, in the microspheres prepared with PEG 1500 addition, the adsorption of the drug was observed on the surface. This fraction of the drug contributes to the CBZ release from microspheres.

Keywords: carbamazepine, microspheres, cellulose acetate butirate, controlled release.

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 Introdução

O tratamento das diferentes patologias envolve a periódica administração do agente terapêutico em uma forma de apresentação obtida por meio de técnicas apropriadas e com o emprego de substâncias auxiliares ou adjuvantes, de maneira a garantir a estabilidade, biodisponibilidade e eficácia terapêutica do produto final. A resposta biológica, após a administração do medicamento, é consequência de uma interação entre o fármaco e os receptores celulares ou sistemas enzimáticos. A magnitude com que ocorre esta resposta está relacionada com a concentração do fármaco que alcança o sítio de ação que depende, por sua vez, da extensão com que ocorre a sua absorção, distribuição e eliminação no organismo (ANSEL *et al.*, 1995). Para uma ampla variedade de substâncias ativas, a formulação em formas farmacêuticas convencionais tem levado a obtenção do efeito terapêutico desejado. Entretanto, muitos outros fármacos apresentam particularidades que comprometem a eficácia do tratamento tais como toxicidade elevada, estreita faixa terapêutica, rápida metabolização ou ainda são empregados em esquemas terapêuticos de longa duração. Em todos estes casos, a elaboração de especialidades farmacêuticas que permita a liberação contínua de substâncias ativas torna-se desejável.

Fármacos de uso contínuo destinados à terapia de doenças crônico-degenerativas são fortes candidatos à obtenção de formas farmacêuticas de ação prolongada, onde a administração por via oral, mais segura e mais cômoda, é empregada. A carbamazepina é um fármaco que se enquadra perfeitamente nesta categoria. Trata-se de um derivado tricíclico do iminoestilbeno de atividade anticonvulsivante, cujo mecanismo de ação parece envolver a limitação da propagação das crises epilêpticas pela redução da potenciação pós tetânica da

transmissão sináptica (Mc EVOY, 2000). Embora na fase inicial do tratamento a carbamazepina apresente um $t_{1/2}$ longo, este é reduzido com o uso crônico, fazendo com que este fármaco deva ser administrado em 3 a 4 doses diárias. Adicionalmente, a absorção da carbamazepina é lenta e irregular, apesar de ser quase completamente absorvida no trato gastrointestinal (REYNOLDS, 1989; KOROLKOVAS, 1998).

A utilidade de qualquer agente farmacoterapêutico é limitada por numerosos fatores, o mais importante dos quais é representado pela tendência de produzir efeitos adversos. O índice terapêutico da carbamazepina é relativamente estreito, e assim sua disponibilidade e eliminação são aspectos de importância considerável para uso seguro e efetivo na prática clínica (JOHNSON e JOHNSON 1997). As flutuações dos níveis séricos da carbamazepina, decorrentes da sua baixa solubilidade no fluido gastrointestinal, conduzem ao aparecimento de um grande número de efeitos colaterais indesejáveis quando várias doses diárias do medicamento são administradas, que são por sua vez responsáveis pela não adesão do paciente ao tratamento.

Neste sentido, a adesão do paciente estaria relacionada não somente à simplificação do regime de administração, mas igualmente à aceitação da própria medicação em termos de um perfil favorável de tolerabilidade. Há, atualmente, quantidade suficiente de evidências de que, nesses aspectos, as preparações de liberação prolongada apresentam vantagens práticas sobre as formulações convencionais, tais como a redução do número de doses diárias do medicamento, a redução das flutuações das concentrações séricas do fármaco e a manutenção da concentração plasmática em níveis terapêuticos.

Microcápsulas e microesferas têm sido desenvolvidas com este objetivo, utilizando-se diferentes polímeros (naturais ou sintéticos) e uma ampla diversidade de metodologias. Enquanto as microcápsulas são formadas pelo revestimento de substâncias sólidas ou líquidas por uma parede polimérica de espessura variável, as microesferas são constituídas por uma rede polimérica matricial na qual a substância ativa encontra-se distribuída no seu estado sólido ou molecular (DEASY, 1984; WATTS *et al.*, 1990). As dimensões das micropartículas variam entre 10 e algumas centenas de micrômetros podendo alcançar, em alguns casos, até 2500 μm .

O desenvolvimento de microesferas pela técnica de emulsificação seguida da evaporação do solvente tem sido frequentemente empregada face à simplicidade dos procedimentos envolvidos e às possibilidades de otimização das características físico-químicas das mesmas. Adicionalmente, a utilização de blendas poliméricas tem-se caracterizado como uma importante estratégia farmacotécnica na modulação e no prolongamento da liberação de fármacos. Neste sentido, o desenvolvimento de microesferas de carbamazepina de liberação prolongada, bem como a verificação do potencial de utilização de formulações constituídas de blendas de acetobutirato de celulose e polietilenoglicol foram o objeto de estudo deste trabalho.

A tecnologia de controle de liberação de fármacos pode ser considerada uma das áreas limites da ciência uma vez que, envolve estratégias possibilitadas unicamente pelo trabalho multidisciplinar entre pesquisadores de diversos setores de atuação, mas que contribui significativamente para a saúde da população. A carbamazepina é um fármaco amplamente empregado pelas Secretarias de Saúde dos Municípios além de constar na Relação Nacional de Medicamentos (RENAME).

Assim sendo, além do ponto de vista científico-tecnológico, a realização deste trabalho foi motivada pela disponibilização de produtos de baixa qualidade pelas Secretarias de Saúde, cuja forma farmacêutica não apresenta adequabilidade ao tratamento desejado, encontrando-se esta proposta, portanto, inserida no âmbito do Programa Plano Sul de Pesquisa e Pós-Graduação do CNPq.

1.2 Objetivo Geral

Desenvolver microesferas de carbamazepina a partir do acetobutirato de celulose e avaliar o potencial de utilização do polietilenoglicol na modulação da velocidade de liberação do fármaco.

1.3 Objetivos Específicos

- a) Preparar e caracterizar microesferas contendo carbamazepina por meio da técnica de emulsificação/evaporação do solvente empregando-se o acetobutirato de celulose para obtenção da matriz polimérica;
- b) Verificar a viabilidade da preparação de microesferas a partir de blendas de acetobutirato de celulose e polietilenoglicol;
- c) Avaliar a influência dos parâmetros de formulação, adição de polietilenoglicol 1500 na fase interna da emulsão e peso molecular do acetobutirato de celulose empregado na formulação, sobre as propriedades físico-químicas das partículas;
- d) Avaliar o estado físico do fármaco nas microesferas por meio de técnicas de calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier, verificando a ocorrência ou não de

interações entre o fármaco e o polímero e relacionando os resultados com os perfis de liberação *in vitro*;

- e) Comparar os resultados obtidos na avaliação das microesferas preparadas em diferentes condições no que se refere ao prolongamento da liberação do fármaco.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Carbamazepina

2.1.1 Características físico-químicas e estruturais

A carbamazepina é um fármaco anticonvulsivante considerado de primeira escolha para o tratamento da epilepsia, tendo sido sintetizado por Schindler, na Geigy, em 1953, como parte de um programa destinado à análogos da clorpromazina (Mc EVOY, 2000; BRODIE and JOHNSON, 1997). Este fármaco, relacionado quimicamente com antidepressivos tricíclicos, é um derivado do iminoestilbeno apresentando um grupamento carbamil na posição 5, essencial para a sua atividade antiepiléptica (Figura 1). Quimicamente é denominada 5H-dibenz [(b,f)] azepina-5-carboxamida e apresenta-se na forma de um pó branco ou esbranquiçado sendo praticamente insolúvel em água, mas solúvel em álcool, acetona e propilenoglicol (ABOUL-ENEIN and AL-BADR, 1980).

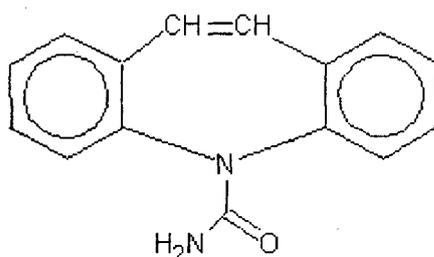


FIGURA 1. Estrutura química da carbamazepina ($C_{15}H_{12}N_2O$, PM = 236,26).

Existem pelo menos quatro formas polimórficas da carbamazepina anidra descritas bem como uma forma hidratada (BEHME and BROOKE, 1991). A caracterização dos polimorfos foi realizada por RUSTICHELLI e colaboradores (2000) empregando-se técnicas analíticas de espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier, termomicroscopia, difração de raios-X e calorimetria exploratória diferencial. Estes autores confirmaram a existência de três

formas anidras: a forma III, disponível comercialmente; forma I, obtida pelo aquecimento da forma III e forma II, cristalizada à partir de uma solução etanólica.

Estudos de estabilidade química realizados pela fotoirradiação de CBZ, na presença de oxigênio, demonstraram a formação do dímero ciclobutil, presente na forma de um precipitado cristalino, além de pequenas quantidades do derivado epóxido-10,11 deste fármaco, após 16 horas de exposição (ROBSON and SHARPLES, 1984). Entretanto, a CBZ manteve-se estável após armazenamento por 8 semanas a temperatura ambiente, em seringas e frascos de vidro ou propileno (LOWE *et al.*, 1989). Comprimidos de carbamazepina podem perder um terço ou mais de sua biodisponibilidade oral quando expostos a umidade excessiva devendo ser, portanto, estocados em recipientes hermeticamente fechados e resistentes a luz, em temperaturas inferiores a 30° C (Mc EVOY, 2000).

2.1.2 Emprego terapêutico e mecanismo de ação

Estudos comparativos entre a carbamazepina e outros fármacos anticonvulsivantes indicaram que ela é eficaz contra crises generalizadas tônico-clônicas e crises parciais apresentando um efeito mais substancial do que a fenitoína, fenobarbital e primidona contra crises parciais. A carbamazepina não é contudo, eficaz contra convulsões febris ou crises de ausência generalizadas (JOHNSON & JOHNSON, 1997). É igualmente empregada para tratar a neuralgia do trigêmeo, patologia caracterizada por ser uma condição extremamente dolorosa resultante de uma descarga paroxística dos neurônios associados com a via sensorial trigeminal, acionada por ligeira estimulação sensorial. Apesar de não haver uma associação óbvia com a epilepsia, essa condição envolve provavelmente

mecanismos neuronais semelhantes. Ocasionalmente, é usada no tratamento da enfermidade maniaco-depressiva (RANG, *et al.*, 1997).

Embora o mecanismo de ação da carbamazepina não esteja completamente elucidado, há indícios de que ela limita o disparo repetitivo mantido de potenciais de ação provavelmente por exercer um efeito no processo de inativação dos canais de sódio. A carbamazepina se liga a estes canais quando eles estão em seu estado inativo, reduzindo a taxa de recuperação. Isto poderia ocasionar um aumento na fração de canais inativos e bloqueio dos potenciais de ação dependentes do sódio, contribuindo na redução da alta frequência gerada sob as condições das descargas epiléticas.

O tratamento com carbamazepina é iniciado com doses baixas que devem ser aumentadas gradativamente. Em crianças isto pode significar uma dose inicial de 100 mg diárias e, em adultos, 100-200 mg, uma ou duas vezes ao dia. Estas doses são normalmente mantidas durante cerca de três dias, as quais podem ser elevadas de até 100 a 200 mg/dia a cada 4-7 dias, até alcançar cerca de 1000 mg diárias (BRODIE and JONHSON, 1997).

Comercialmente a carbamazepina encontra-se disponível na forma de comprimidos de liberação imediata (Tegretol®) ou de liberação controlada (Tegretol CR®), apresentando 200 ou 400 mg do fármaco. Nos Estados Unidos, as formas de cápsulas de liberação prolongada (Carbatrol®), suspensões ou comprimidos mastigáveis são igualmente comercializadas (DEF 98/99; Mc EVOY, 2000).

2.1.3 Farmacocinética

A carbamazepina é absorvida lentamente no trato gastrointestinal. Apesar de que 80-90% do fármaco é absorvido, esta absorção é irregular, com níveis de pico que podem ocorrer até 10 horas após uma única administração. A meia vida plasmática da carbamazepina encontra-se entre 18 e 55 horas, dependendo da população estudada. Entretanto, a carbamazepina induz seu próprio metabolismo pelo processo de auto-indução, de tal forma que após cerca de três dias de terapia ocorre diminuição da sua concentração sérica. A auto-indução continua nas três ou quatro semanas seguintes o que pode acarretar perda da eficácia terapêutica se as doses não forem adequadamente ajustadas (PYNNONEN, 1979; BRODIE and JONHSON, 1997).

A carbamazepina é amplamente distribuída no corpo e apresenta um volume de distribuição variando entre 0,8-1,5 L/Kg, sendo que 75% do fármaco se liga às proteínas plasmáticas (BERTILSSON, 1978; CONTIN *et al.*, 1985; KODAMA *et al.*, 1993). Este fármaco cruza facilmente a barreira hemato-encefálica, atingindo, quando em níveis estáveis, concentrações cerebrais equiparáveis àquelas da fração livre plasmática. Detalhes da transferência transplacentária, distribuição em tecidos fetais, nos recém-nascidos, bem como o aparecimento no leite humano foram estudados por PYNNONEN e colaboradores (1979).

A carbamazepina é metabolizada no fígado, onde são envolvidas várias vias metabólicas. Uma destas vias leva à formação de um metabólito farmacologicamente ativo, denominado carbamazepina-10,11-epóxido que por sua vez transforma-se num metabólito inativo, denominado trans-carbamazepina-diol.

TOMSON (1984), verificou que além dos níveis séricos de pico da CBZ, a ampla variabilidade das flutuações da concentração plasmática está associada ao aparecimento de efeitos adversos. Entre estes destacam-se a sonolência, tontura, visão turva, ataxia, náusea e vômito, retrocedendo espontaneamente dentro de uma semana ou após a redução da dose. Entretanto, reações dermatológicas, gastrintestinais, genitourinárias, hematopoiéticas, hepáticas, metabólicas, alérgicas ou neurológicas também têm sido observadas. Raramente podem ocorrer retenção de líquidos, devido à liberação do hormônio antidiurético (ADH) induzido pelo fármaco, discrasias sangüíneas, reações cardiovasculares, toxicidade renal, hipersensibilidade pulmonar e tromboflebite (USP DI, 1997; KOROLKOVAS, 1998).

2.1.4 Formas de carbamazepina de liberação prolongada

Como a concentração plasmática máxima da carbamazepina ocorre ao redor de 4-8 horas após a administração oral crônica, a divisão em múltiplas doses diárias é necessária para manter os níveis séricos dentro da faixa terapêutica em todo o período de 24 horas. Embora as flutuações dos níveis séricos deste fármaco possam ser reduzidas dessa forma, há desvantagens claras em tal regime, como a diminuição da adesão do paciente à medicação decorrente do aumento do número de doses diárias (JOHNSON & JOHNSON, 1997). As conseqüências da baixa adesão à medicação antiepilética, em termos de aumento da freqüência das crises, dos riscos de estado do mal epilético e até mesmo do número de casos de morte, foram enfatizadas por LEPPIK e SCHIMIDT (1988).

Vários autores têm demonstrado que a redução das flutuações da concentração plasmática da carbamazepina e conseqüentemente o aumento da tolerância do paciente à medicação pode ser obtida pelo uso de preparações de

liberação prolongada. A redução das flutuações dos níveis séricos verificada nestas preparações está freqüentemente, associada a um aumento da adesão do paciente à terapêutica (REMY, 1990; DHALLA *et al.*, 1991).

Adicionalmente, a formulação de liberação controlada é particularmente útil no tratamento de pacientes que necessitam de doses elevadas de CBZ, mas que apresentam efeitos neurotóxicos. O tratamento com doses elevadas é realizado usualmente em três ou quatro administrações diárias, enquanto a formulação de liberação prolongada possibilita a administração em duas ou até mesmo uma única dose, com conseqüente melhora quanto ao padrão de efeitos adversos. (JOHNSON & JOHNSON, 1997).

WILDING e colaboradores (1991) desenvolveram uma formulação de CBZ baseada em um sistema de bomba osmótica (OROS), designada para liberar o fármaco a uma velocidade constante por um período prolongado de tempo. A membrana semi-permeável do OROS permite somente a passagem de água para o interior do sistema e portanto, a dissolução e liberação do fármaco não é influenciada por fatores como pH e força iônica. A carbamazepina foi liberada da forma OROS e absorvida eficientemente quando o sistema encontrava-se localizado no estômago e intestino delgado e pouco absorvida quando ele encontrava-se no cólon.

A redução das flutuações dos níveis séricos da carbamazepina foi verificada por HULSMAN e colaboradores (1989), após a administração das especialidades farmacêuticas Tegretol CR®, Divitabs® e Tegretol OROS®, em 25 pacientes selecionados com base em seus relatos clínicos de eventos adversos. Neste estudo foi demonstrada uma redução média de 15 % na área sob a curva obtida a partir

dos perfis de concentração plasmática versus tempo, sugerindo a redução da biodisponibilidade do fármaco, embora os níveis séricos mínimos tenham sido os mesmos verificados a partir da administração da forma farmacêutica de liberação imediata. Em um estudo comparativo entre duas formulações de carbamazepina, o Carbatrol®, que consiste em uma cápsula contendo uma mistura de pellets de liberação imediata, prolongada e entérica, e o Tegretol XR, baseado na bomba osmótica, demonstrou bioequivalência nos parâmetros farmacocinéticos da carbamazepina e carbamazepina epóxido ao longo de 5 dias após administração (STEVENS *et al.*, 1998).

O desenvolvimento de outras formas farmacêuticas, visando a liberação prolongada da carbamazepina, tem sido realizado por vários pesquisadores. Sistemas de liberação baseados em polímeros intumescíveis foram desenvolvidos por GIUNCHEDI *et al.*, (1991). Estes sistemas constituíam-se de grânulos de carboximetilcelulose sódica e um polímero entérico seguido da compressão dos mesmos na presença de hidroxipropilmetilcelulose. Nestas formulações, a liberação do fármaco foi gradual devido a modulação realizada pelo polímero entérico e pelo polímero intumescível em pH ácido. Com o aumento do pH a velocidade de dissolução da carbamazepina nos grânulos foi alta, mas a liberação prolongada foi garantida pelo caráter de dispersão coloidal proporcionado pela hidroxipropilmetilcelulose.

Uma tentativa de promover a liberação constante da carbamazepina envolveu a utilização de dispersões do fármaco em sistemas matriciais, constituídos de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC). Após avaliação da concentração deste polímero, IKINCI e colaboradores (1999) verificaram que a formulação contendo 10 % de

HPMC apresentou um perfil de liberação controlada comparável com o Tegretol® CR 200. A HPMC foi igualmente empregada para preparação de comprimidos de liberação controlada de carbamazepina por KATZHENDLER e colaboradores (1998). Estes autores demonstraram que o polímero interage com o fármaco, influenciando nas suas propriedades cristalinas, inibindo a sua transformação em dihidrato e induzindo a sua amorfização.

ARNAUD e colaboradores (1996), encapsularam a carbamazepina em microesferas de acetobutirato de celulose pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente empregando o diclorometano e a água como fases interna e externa da emulsão, respectivamente. Neste estudo, a influência da proporção fármaco/polímero na fase interna, a natureza e concentração do tensoativo da fase externa e o volume de fase interna, sobre as propriedades físico-químicas das microesferas, foram avaliados. Estes autores observaram que a diminuição da quantidade de solvente na fase interna conduzia ao aumento considerável das partículas, reduzindo a velocidade de liberação do fármaco.

Dispersões sólidas de CBZ e polietilenoglicol (PEG) 4000 ou 6000 foram preparadas por DOSHI e colaboradores (1997). Estas dispersões foram caracterizadas por técnicas de difração de raio-X, calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia de absorção no infra-vermelho. Um estudo comparativo entre as formulações indicou um aumento significativo na velocidade e extensão da dissolução do fármaco a partir das dispersões, evidenciando o efeito solubilizante dos polietilenoglicóis. Os autores sugeriram que este aumento da velocidade de dissolução foi ocasionado pela formação de uma mistura eutética ou de uma solução sólida.

Outros sistemas que foram desenvolvidos visando o controle da liberação da carbamazepina incluem a preparação de hidrogéis formados pelo copolímero de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) e 4-carboxiestireno (4CS) (SHAH *et al.*, 1991) e a encapsulação em nanocápsulas de polietilcianoacrilato (FRETA *et al.*, 1996). Neste último, a liberação do fármaco ocorreu a partir de um mecanismo de difusão da carbamazepina dissolvida no núcleo interno oleoso através da parede polimérica.

2.2 A microencapsulação de fármacos

A microencapsulação implica numa série de técnicas que tem por objetivo encapsular substâncias sólidas ou líquidas, quer seja por meio da formação de matrizes ou pelo revestimento das mesmas por um polímero. Este princípio tem sido utilizado em uma ampla variedade de aplicações industriais, sendo na área farmacêutica empregado para melhorar a estabilidade, mascarar o sabor, promover liberação prolongada ou vetorizar fármacos em sítios específicos de ação (WATTS *et al.*, 1990).

As micropartículas apresentam um diâmetro médio variando entre 1µm e 1mm ou mais, segundo alguns autores, e são classificadas segundo a sua estrutura em microesferas e microcápsulas. São denominadas microesferas as partículas compactas constituídas por uma rede polimérica na qual a substância ativa encontra-se distribuída no seu estado sólido ou molecular, e microcápsulas, as partículas constituídas por um núcleo interno contendo o fármaco dissolvido recoberto por uma camada de polímero de espessura variável. O mecanismo de liberação do fármaco encapsulado no interior da partícula envolve processos de natureza difusional e/ou a degradação enzimática da rede polimérica previamente formada (BATYCKY *et al.*, 1997; LINHARD, 1988).

A técnica de microencapsulação mais antiga e talvez mais utilizada envolve a separação de fases por coacervação. Esta técnica consiste na deposição do polímero ao redor do material a ser recoberto pela alteração das características físico-químicas do meio tais como temperatura, força iônica ou polaridade. Outra técnica utilizada consiste na polimerização de um monômero previamente disperso na forma de gotículas ou micelas em uma fase contínua na qual a reação é iniciada. Esta técnica é utilizada especialmente para a produção de partículas de tamanho coloidal requeridas para a administração de fármacos pela via parenteral. O tamanho reduzido das partículas pode resultar na baixa capacidade em vetorizar o fármaco e eventualmente limitar o prolongamento da liberação do mesmo (WATTS *et al.*, 1990).

O termo microencapsulação também tem sido aplicado no desenvolvimento de formulações de liberação controlada, produzidas pela técnica de extrusão-esferonização. Esta técnica consiste na passagem forçada de uma massa úmida de pós através de um orifício calibrado conduzindo à formação de um aglomerado na forma de bastonetes. Estes extrudatos, como são denominados são convertidos em grânulos esféricos pelo procedimento de esferonização. Esta técnica bem como a nebulização ou *spray drying* apresentam uma ampla aplicação para a produção de micropartículas em escala industrial visando sobretudo a liberação de fármacos pela via oral (WATTS *et al.*, 1990; BROADHEAD *et al.*, 1992).

Para a preparação de microesferas a técnica de emulsificação seguida de evaporação do solvente tem sido freqüentemente empregada face à simplicidade dos procedimentos envolvidos na obtenção das partículas e às possibilidades de modulação das características físicas e físico-químicas das mesmas, por meio da escolha dos componentes da formulação e das condições de preparação

(BHARDWAJ *et al.*, 1995, KHIDR *et al.*, 1998, SILVA and FERREIRA, 1999). Neste método, o fármaco é dissolvido ou disperso em uma solução de um polímero em um solvente orgânico volátil. A fase orgânica é então emulsificada em uma fase aquosa, contendo um estabilizante da dispersão. O solvente é então removido a partir dos glóbulos da fase interna pela aplicação de calor, vácuo ou ainda, pela sua evaporação em temperatura ambiente, levando a formação de partículas esféricas contendo o fármaco no seu interior. As microesferas formadas são separadas por filtração ou centrifugação, lavadas com um solvente apropriado e colocadas em estufa para completa secagem (DEASY, 1984, WATTS *et al.*, 1990).

A formação das microesferas pode ser influenciada por diversos fatores, destacando-se, entre eles, a natureza dos solventes empregados na preparação. São características desejáveis do solvente da fase interna, a capacidade de dissolução do polímero e, preferencialmente, de dissolução do fármaco. Além dessas, o solvente deve ser imiscível na fase contínua e apresentar baixo ponto de ebulição. Contrariamente, o fármaco e o polímero devem ser insolúveis na fase externa de modo a garantir a formação das partículas e proporcionar uma elevada taxa de encapsulação.

A estrutura final e composição das microesferas é resultante de uma complexa contribuição das características físico-químicas do polímero, fármaco, solventes e agentes emulsificantes. Estes últimos têm como função estabilizar a dispersão dos glóbulos na forma de emulsão, prevenindo a agregação e a coalescência. Entretanto, esta estabilização é requerida somente por um curto período de tempo, uma vez que, após a evaporação de parte do solvente ocorre a formação de glóbulos relativamente compactos pela presença do polímero. Para emulsões em que a fase externa é aquosa, estabilizantes poliméricos como o álcool

polivinílico, a metilcelulose e a gelatina têm sido utilizados, sendo a estabilização resultante de um aumento da viscosidade desta fase. Por outro lado, a obtenção de emulsões em que a fase externa é de natureza oleosa pode ser conseguida pela adição de tensoativos de baixo valor de EHL (equilíbrio hidrófilo-lipófilo), como o monooleato de sorbitano.

O diâmetro médio final das partículas obtidas pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente depende, em grande extensão, da velocidade de agitação, do tipo de equipamento empregado e da concentração de polímero na fase interna da emulsão (WATTS *et al.*, 1990). Do ponto de vista do desenvolvimento galênico, as características programáveis de fluxo e de compressibilidade das microesferas destinadas à fabricação de cápsulas e comprimidos conferem a estas preparações uma alta flexibilidade em relação ao controle da liberação da substância ativa (CHIAO *et al.*, 1994b). Igualmente, a regularidade de superfície torna estas estruturas esféricas particularmente adaptadas às operações de revestimento pelicular (ARICA *et al.*, 1996, NAGAREYA *et al.*, 1998).

A eficiência de encapsulação é estimada como sendo a diferença percentual entre a concentração de fármaco inicialmente adicionado na formulação e a concentração retida no interior das partículas, após determinação quantitativa do mesmo nas microesferas. A eficiência de encapsulação é influenciada pelo coeficiente de partição do fármaco entre a fase interna e externa da emulsão. Fármacos caracterizados por uma baixa hidrossolubilidade podem ser encapsulados com sucesso pela formação de uma emulsão O/A (óleo em água). Entretanto, quando fármacos que apresentam uma elevada hidrossolubilidade são empregados, uma baixa taxa de encapsulação tem sido observada. Neste sentido, a encapsulação de fármacos hidrofílicos tem sido obtida por meio da formação de

emulsões A/O (água/óleo), onde um solvente polar contendo o fármaco e o polímero é emulsificado em uma fase oleosa, como o óleo mineral (SHUKLA, *et al.*, 1989). Uma segunda alternativa para contornar esta limitação da técnica é a formação de uma emulsão múltipla A/O/A (água/óleo/água) (OGAWA *et al.*, 1988). Neste caso, um solvente orgânico contendo o polímero é disperso em uma fase aquosa contendo o fármaco, formando uma emulsão primária, do tipo A/O, que por sua vez, é emulsificada em uma fase aquosa. (WATTS *et al.*, 1990).

Vários polímeros têm sido empregados na preparação de microesferas pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente. Pode-se citar entre eles os homopolímeros do ácido lático e do ácido glicólico, a ϵ -caprolactona, os copolímeros do ácido metacrílico e dos ésteres acrilatos, além de diferentes polissacarídeos, tais como a celulose e seus derivados, os alginatos e as quitosanas (LINHARD, 1988, HOLLINGER and RANADE, 1996, LACASSE *et al.*, 1997, FELT *et al.*, 1998).

Entre os vários parâmetros de formulação que influenciam o perfil de liberação da substância ativa encapsulada no interior das partículas encontram-se a natureza química do polímero empregado bem como o seu peso molecular (BHARDWAJ *et al.*, 1995, ARABI *et al.*, 1996), a relação substância ativa/polímero na fase interna ou dispersa da emulsão (KHAWLA *et al.*, 1996), as características de solubilidade da substância ativa (SILVA and FERREIRA, 1999), o tamanho da partícula e a velocidade de agitação (CHIAO and PRICE, 1994a, KHIRD *et al.*, 1998).

Associações de polímeros também têm sido utilizadas na microencapsulação visando a modulação da liberação do fármaco. YEH e colaboradores (1995), preparam micropartículas com ovalbumina (OVA) a partir de blendas de ácido poli-

lático-co-glicólico (PLG) e polietilenoglicol (PEG) pelo método de extração do solvente a partir de uma emulsão do tipo água/óleo/óleo (água/diclorometano/metanol). Significantes aumentos nos teores de proteína foram alcançados nas partículas de maior diâmetro. A estratégia da formação de emulsão do tipo A/O/O em combinação com a utilização de blendas de PLG/PEG apresentou um importante potencial na melhoria da liberação de fármacos hidrofílicos, proteínas e peptídeos. Esta mesma estratégia foi empregada na preparação de blendas de ácido poli-lático-co-glicólico e polióxido de etileno-co-propileno (YEH *et al.*, 1996).

A preparação de microesferas a partir de blendas de polietilenoglicol com o ácido poli-lático (PLA) ou com poli-DL-lactico-co-glicólico (PLAGA) pelo método de emulsificação/evaporação do solvente em uma emulsão do tipo água em óleo (A/O) permitiu o controle da liberação bem como, a redução da degradação da insulina contida nas partículas (YEH, 2000).

2.3 O Acetobutirato de celulose

A celulose é um polímero de origem vegetal constituído por unidades glicosídicas amplamente empregado na fabricação de formas farmacêuticas sólidas destinadas à administração por via oral, tais como as cápsulas e os comprimidos (WADE and WELLER, 1994). A presença de grupamentos hidroxilas primários e secundários das unidades de glicose da molécula tem possibilitado à indústria química, o desenvolvimento de uma grande variedade de derivados por meio de reações que conduzem a formação de éteres e ésteres destes polímeros. Os derivados obtidos apresentam propriedades físico-químicas adaptáveis à aplicações farmacêuticas diversas, entre elas a utilização na obtenção de formas farmacêuticas de ação prolongada (KUMAR and BANKER, 1993). Especialmente os derivados

etilcelulose e os acetato, acetobutirato, acetopropionato e ftalato de celulose têm sido empregado com sucesso na preparação de microesferas visando a liberação prolongada de fármacos.

Especialmente os ésteres de celulose podem ser preparados pelo tratamento da celulose com ácidos orgânicos ou misturas de anidridos com ácido clorídrico, na presença ou não de catálise, sob condições controladas. Geralmente, a reação é conduzida para permitir a substituição dos três grupamentos hidroxilas. Pelo controle da proporção em peso dos ácidos empregados é possível preparar derivados com diferentes graus de substituição, e portanto diferentes propriedades físico-químicas (KUMAR and BANKER, 1993).

Os ésteres de celulose podem ser classificados em entéricos e não entéricos. Os derivados entéricos são referidos como polímeros que permanecem insolúveis em meio ácido, mas dissolvem-se em solução aquosa levemente ácida à neutra possuindo portanto, um perfil de solubilidade aquosa pH dependente. Formas farmacêuticas sólidas orais são obtidas a partir destes polímeros com a intenção de liberarem a substância ativa no intestino. Entre os ésteres de celulose entéricos destaca-se o acetoftalato de celulose (KUMAR and BANKER, 1993).

Por outro lado, polímeros como acetobutirato de celulose, acetato de celulose e fostato sódico de celulose apresentam um perfil de solubilidade em água pH-independentes (KUMAR and BANKER, 1993). Especialmente, o acetobutirato de celulose (Figura 2) é um polímero insolúvel em água cuja a hidrofobicidade aumenta a medida que aumenta o número de grupamentos butirila. Este polímero tem sido usado em formulações de liberação sustentada de vitamina C e cloridrato de difenidramina preparadas pela técnica de compressão direta além, da utilização

como membranas semipermeáveis em sistemas de bomba osmótica (EASTMAN, 2000). Adicionalmente, YUAN e WU (2001) demonstraram a viabilidade do uso do acetato e do acetobutirato de celulose na formulação de comprimidos de liberação controlada de teofilina e de cloridrato de difenidramina obtidos por compressão direta. Os resultados mostraram que os comprimidos exibem uma velocidade de liberação mais lenta quando o ABC foi empregado na obtenção da matriz, sugerindo a influência do radical butirila do ABC, mais hidrofóbico, nos perfis de liberação dos fármacos.

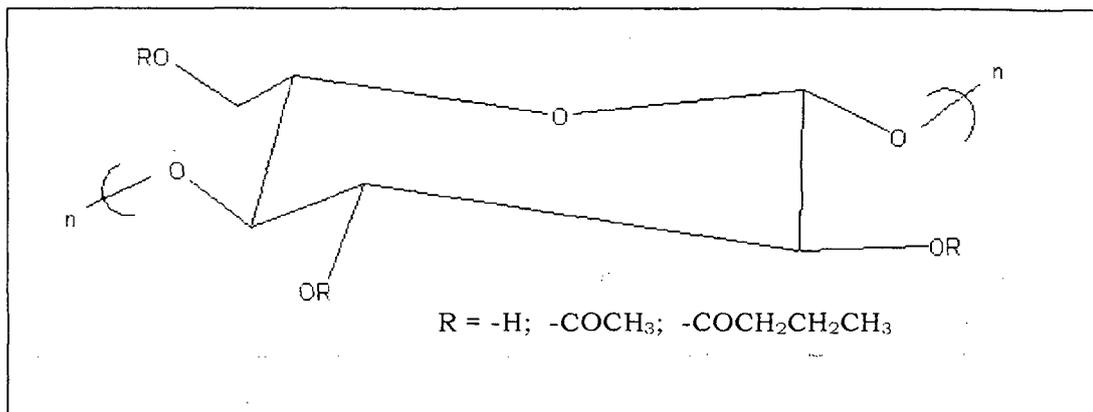


FIGURA 2. Estrutura química do acetobutirato de celulose.

Dispersões de acetobutirato de celulose podem apresentar vários graus de viscosidade, em função do seu peso molecular. A sua aplicação na preparação de microesferas pelo método de emulsificação/evaporação do solvente tem sido intensamente investigada (KUMAR and BANKER, 1993). Entre os fármacos que têm sido encapsulados nestas micropartículas poliméricas incluem-se o ácido meclofenâmico (KHIRD *et al.*, 1998), cloridrato de verapamil (BHARDWAJ *et al.*, 1995), disopiramida (RADWAN *et al.*, 1995), teofilina (SHUKLA and PRINCE *et al.*, 1989), cloridrato de propanolol (CHIAO and PRINCE, 1994a), cloridrato de metoclopramida (KHIRD *et al.*, 1995), zidovudina (AZT) (KHAWLA *et al.*, 1996), carbamazepina (ARNAUD *et al.*, 1996) entre outros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Matérias-primas

- Carbamazepina (Galena Química e Farmacêutica LTDA);
- carbamazepina padrão (Sigma Chemical Company, USA);
- acetobutirato de celulose PM 30000 (38 % de grupamentos butirila e 13,5% de grupamentos acetila) e PM 70000 (37 % de grupamentos butirila e 13,5 % de grupamentos acetila) (Aldrich Chemical Company, Inc, USA);
- monooleato de sorbitano (SPAN 80; Beraca Ind. Com. LTDA);
- vaselina líquida (Importadora Química Delaware LTDA);
- polietilenoglicol 1500 (Synth produtos para Laboratórios);
- polietilenoglicol 4000 (Importadora Química Delaware LTDA).

3.1.2 Reagentes e solventes

Todos os solventes, com exceção daqueles empregados na análise por CLAE, possuíam grau de pureza *pro analysis* (p.a).

- Acetona (Synth);
- acetonitrila para CLAE (Tedia);
- ácido nítrico (Biotec);
- ácido sulfúrico concentrado (Merck);
- álcool butílico (Merck);
- álcool etílico (Biotec);
- anidrido acético (Biotec);
- éter etílico (Biotec);
- lauril sulfato de sódio (Vetec);
- n-hexano (Merck);

- piridina (Reagen);
- solução de fenofaleína SI (FARMACOPÉIA, 1988);
- solução de hidróxido de potássio alcoólico 0,5 M;
- solução de hidróxido de sódio 0,1 M e 0,01 M;
- solução saturada de cloreto de potássio;
- solução de vermelho de metila 0,05% (p/V) (FARMACOPÉIA, 1988);
- soluções de ácido clorídrico 0,5 M e 0,01 M;

3.1.3 Equipamentos

- Agitador magnético Fisatom, modelo 702 AC;
- aparelho de dissolução PharmaTest, modelo PTWS3, acoplado a espectrofotometro HP 8452A, programa Dissolution Testing Software, Hewlett Packard, revision 03.01, 1989-1993, Windows 3.11;
- aparelho de ponto fusão Microquímica, MQAPF-301;
- balança analítica Ohaus Corporation AS200S;
- calorímetro de varredura diferencial Shimadzu DSC-50;
- cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu, equipado com duas bombas LC-10AD VP, detector UV/VIS SPD-10AV VP, workstation Class-VP;
- espectrofotômetro UV/VIS Perkin Elmer, modelo lambda 10;
- espectrofotômetro Perkin Elmer Mod. 16 PC FT-IR;
- forno a vácuo Napco;
- microscópio eletrônico de varredura Philips XL 30;
- microscópio eletrônico de varredura JOEL JSM-5800.

3.2 Metodologia

3.2.1 Caracterização da carbamazepina

3.2.1.1 Ensaios de identificação (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

3.2.1.1.1 Espectroscopia de absorção no ultravioleta.

Uma solução etanólica de carbamazepina 0,002 % (p/V) foi analisada em espectrofotômetro na faixa de comprimento de onda entre 230 e 350 nm. O espectro de absorção obtido foi comparado com aquele da carbamazepina retirado da literatura.

3.2.1.1.2 Identificação colorimétrica

A cerca de 0,1 g de carbamazepina foram adicionados 2 mL de ácido nítrico e levados a um banho-maria por 3 minutos até o aparecimento de cor.

3.2.1.2 Acidez (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

Cerca de 1 g de carbamazepina, exatamente pesado, foi colocado em 20 mL de água. A mistura foi mantida sob agitação durante 15 minutos e filtrada. A uma alíquota de 10 mL do filtrado foi adicionado 0,05 mL de uma solução de fenofaleína SI. A mistura foi titulada com uma solução de hidróxido de sódio 0,01 M, até o aparecimento de uma coloração rósea, persistente por 30 segundos sob agitação manual.

3.2.1.3 Alcalinidade (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

A uma alíquota de 10 mL do filtrado, obtido segundo descrito em 3.2.1.2, foram adicionados 0,15 mL de uma solução de vermelho de metila SI. A mistura foi titulada com uma solução de ácido clorídrico 0,01 M até o aparecimento de uma coloração vermelha, persistente por 30 segundos sob agitação manual.

3.2.1.4. Determinação do ponto de fusão (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

Uma pequena quantidade de carbamazepina foi colocada em aparelho de ponto de fusão Microquímica. A amostra foi aquecida gradualmente a uma velocidade de 5° C/min até completa fusão.

3.2.1.5 Perda por dessecação (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

Em pesa-filtros (\varnothing 52 mm X 48 mm), previamente tarados, foram colocados cerca de 0,5 g de carbamazepina exatamente pesados. As amostras foram colocadas em estufa a 105° C por duas horas. O resultado foi expresso em percentagem ponderal (%), relativo a média das três determinações.

3.2.1.6 Limite de cloreto (FARMACOPÉIA, 1988)

Cerca de 1 g de carbamazepina foi fervido com 20 mL de água por 10 minutos. A solução foi resfriada e filtrada. A turbidez de uma alíquota de 10 mL do filtrado foi comparada com aquela produzida por 10 mL de uma solução de ácido clorídrico 2×10^{-4} N.

3.2.1.7 Avaliação do teor de pureza

3.2.1.7.1 Espectroscopia no ultravioleta (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988)

Cerca de 0,1 g de carbamazepina, exatamente pesado, foi dissolvido em 100,0 mL de etanol. A solução foi diluída no mesmo solvente até a obtenção de concentração de 10 µg/mL e a absorvância posteriormente lida a 285 nm. O teor de carbamazepina foi determinado com o auxílio de uma solução da carbamazepina padrão na mesma concentração.

3.2.1.7.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

O teor de pureza da carbamazepina foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em sistema de fase reversa, nas seguintes condições: coluna, LC-18 (Supelcosil); fase móvel, água:acetonitrila (55:45, V/V), volume de injeção, 20 µl; fluxo, 1,5 ml/min; detecção no ultravioleta, 283 nm. O padrão de carbamazepina Sigma foi diluído em acetonitrila a uma concentração de 50 µg/mL e uma solução de carbamazepina no mesmo solvente e com a mesma concentração foi preparada. O teor de pureza foi calculado pela comparação das áreas dos picos da carbamazepina padrão e da amostra registrados no cromatograma.

3.2.2 Estudo preliminar das condições de preparação das microesferas

3.2.2.1 Preparação das microesferas

As microesferas foram preparadas segundo a técnica de emulsificação-evaporação do solvente descrita na literatura (WATTS *et al.*, 1990). A técnica consistiu em emulsificar, sob forma de finas gotículas, 20 mL de uma solução de

acetobutirato de celulose (ABC) e carbamazepina (CBZ) em acetona (fase dispersa ou interna) em 100 mL de vaselina líquida contendo 1% (p/V) de monooleato de sorbitano (Span 80) como estabilizante (fase dispersante ou externa). A vaselina líquida foi previamente saturada com a acetona e quando necessário, polietilenoglicol 1500 ou 4000 foi adicionado à fase interna antes do procedimento de emulsificação. A emulsão formada foi mantida sob agitação de 650 rpm, durante 24 horas em temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente da fase interna. As partículas formadas foram filtradas, lavadas três vezes com cerca de 50 mL de n-hexano e secas em estufa à vácuo durante 4 horas a temperatura ambiente. O esquema de preparação das microesferas é demonstrado na Figura 3.

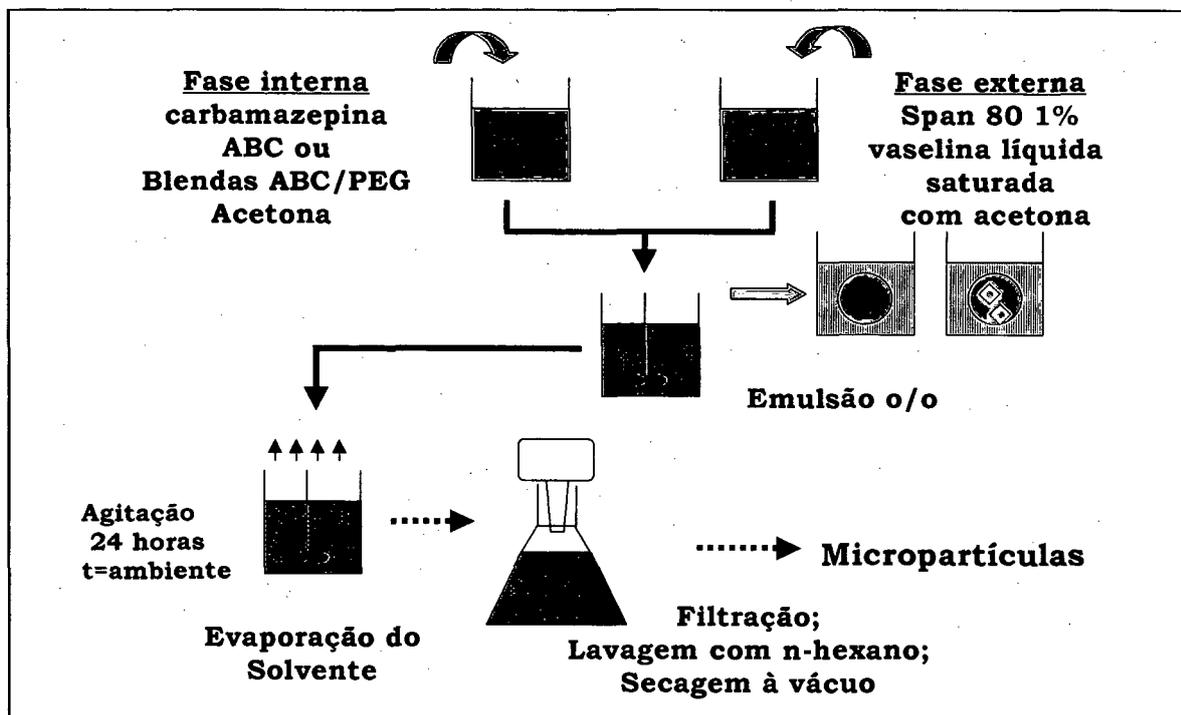


FIGURA 3. Esquema de preparação das microesferas.

Neste estudo preliminar a concentração total de polímero (ABC ou mistura de ABC e PEG) na fase interna e a relação fármaco:polímero foram mantidos em 2,5 % (p/V) e 1:2, respectivamente. Cinco formulações foram testadas tendo-se como variável a adição de PEG 1500 ou 4000 (Tabela 1).

TABELA 1. Formulações testadas no estudo preliminar das condições de preparação das microesferas.

Formulação	1	2	3	4	5
Fase interna					
Carbamazepina (mg)	250	250	250	250	250
Acetobutirato de celulose (mg)	500	450	450	375	250
PEG 1500 (mg)		50			
PEG 4000 (mg)			50	125	250
Acetona (mL) qsp	20	20	20	20	20
Fase externa					
SPAN 80 (g)	1	1	1	1	1
Vaselina líquida (mL)	100	100	100	100	100
Relação ABC:PEG	1:0	9:1	9:1	3:1	1:1

3.2.2.2. Determinação do teor e da eficiência de encapsulação da carbamazepina nas microesferas pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência.

3.2.2.2.1 Condições cromatográficas

A determinação da concentração da carbamazepina nas soluções obtidas após dissolução das microesferas foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu SLCA VP, equipado com duas bombas LC-10AD VP, detector UV/VIS SPD-10AV VP e workstation Class-VP. A análise foi realizada em sistema de fase reversa empregando-se as seguintes condições: coluna, Supelcosil LC-18 (Supelco, 25 cm x 46 mm, 5 µm); fase móvel, água: acetonitrila (55:45, V/V), volume de injeção, 20 µL; fluxo, 1,5 mL/min e detecção no ultravioleta, 283 nm.

3.2.2.2.2 Preparação da curva de calibração

Cerca de 50 mg de carbamazepina, exatamente pesados, foram dissolvidos em acetonitrila e o volume completado para 100 mL em balão volumétrico. Esta solução foi diluída para obter soluções de carbamazepina em acetonitrila nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/mL. As soluções finais foram então filtradas em membrana HV 0,45 µm (Millipore®) e analisadas por CLAE segundo condições descritas em 3.2.2.2.1. As soluções foram injetadas em triplicata e a média das áreas referentes a cada concentração foram plotadas em gráfico de concentração versus área. A equação da reta e o coeficiente de correlação foram calculados pela análise da regressão linear.

3.2.2.2.3 Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina nas microesferas.

Cerca de 30 mg de microesferas, exatamente pesadas, foram colocadas em 25 mL de acetonitrila e mantidas sob agitação magnética. Durante a agitação, as microesferas de ABC dissolveram-se na acetonitrila assegurando com isto que toda a carbamazepina presente nos 30 mg de microesferas foi transferida para a solução. Passadas duas horas, a mistura foi filtrada e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL e posteriormente analisada por CLAE.

3.2.2.3 Caracterização físico-química das microesferas

3.2.2.3.1 Avaliação da morfologia

A avaliação da morfologia das partículas, bem como das propriedades de superfície foi realizada pela observação das fotomicrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura Philips XL 30 do Laboratório de Materiais do Departamento

de Engenharia Mecânica – Centro Tecnológico da UFSC. As amostras foram preparadas da seguinte forma: fixaram-se as microesferas com fita dupla-face a suportes de alumínio. Estes suportes foram recobertos com uma camada de ouro de 350 Å de espessura em um aparelho à vácuo Polaron E 5000. As fotomicrografias foram obtidas com papel térmico Sony UPP-110HD em aumentos de 20 e 180 vezes.

3.2.2.3.2 Análise granulométrica

A análise granulométrica das preparações foi realizada por meio de medição, pelo diâmetro de Ferret das partículas visualizadas nas fotomicrografias ampliadas obtidas por microscopia eletrônica.

3.2.3 Avaliação da influência de parâmetros de formulação sobre as características físico-químicas e sobre a velocidade de liberação da carbamazepina

3.2.3.1 Preparação das microesferas

As microesferas de acetobutirato de celulose contendo carbamazepina foram preparadas segundo procedimento de emulsificação/evaporação do solvente descrito no item 3.2.2.1. Brevemente, 100 mL de uma solução acetônica de ABC30 ou ABC70 e carbamazepina foram emulsificados em 500 mL de vaselina líquida contendo monoleato de sorbitano 2 % (p/V) como estabilizante. A vaselina líquida foi previamente saturada com a acetona e quando necessário, uma solução de polietilenoglicol 1500 foi adicionada à fase interna da emulsão. A emulsão foi mantida sob agitação de 650 rpm, durante 24 horas e em temperatura de 25° C

aproximadamente. As partículas foram filtradas, lavadas três vezes com 50 mL de n-hexano e secas em estufa à vácuo por 4 horas em temperatura ambiente.

O plano de experimentação fatorial do tipo 2^2 foi utilizado para avaliar a influência de fatores de formulação sobre o diâmetro médio das partículas e sobre a velocidade de liberação do fármaco a partir das microesferas. Os dois fatores selecionados foram o peso molecular do ABC (fator A) e adição ou não de PEG 1500 na fase interna da emulsão (fator B). Estes fatores foram avaliados em dois níveis, superior (+) e inferior (-). Assim, para o fator A, o nível superior (+) estabelecido foi 70000 e o nível inferior (-) foi 30000; para o fator B o nível superior (+) foi com adição de PEG 1500 e o inferior (-) foi sem adição de PEG 1500. O plano de experimentação realizado encontra-se demonstrado na Tabela 2. Os experimentos foram realizados em triplicata e as formulações testadas podem ser visualizadas na Tabela 3.

TABELA 2. Delineamento fatorial 2^2 empregado para avaliar a velocidade de liberação da CBZ e tamanho de partícula.

Experimento	Fator A (peso molecular do ABC)	Fator B (adição de PEG 1500)
1	-	-
2	+	-
3	-	+
4	+	+

A concentração total de polímero (ABC ou mistura ABC e PEG) na fase interna da emulsão e a relação fármaco:polímero foram mantidas em 5% (p/V) e 1:2, respectivamente, para todas as formulações testadas.

TABELA 3. Formulações de microesferas de acetobutirato de celulose contendo carbamazepina empregadas na análise fatorial.

Formulação		Experimento (Fator A; Fator B)			
		1 (-/-)	2 (+/-)	3 (-/+)	4 (+/+)
Fase interna	Carbamazepina (g)	2,5	2,5	2,5	2,5
	ABC30 (g)	5,0		4,5	
	ABC70 (g)		5,0		4,5
	Solução PEG 1500 5% (mL)			10	10
	Acetona qsp (mL)	100	100	100	100
Fase externa	SPAN 80 (g)	10	10	10	10
	Vaselina líquida qsp	500	500	500	500
Peso molecular do polímero		30000	70000	30000	70000
PEG 1500		sem adição	sem adição	com adição	com adição

3.2.3.2. Caracterização físico-química.

3.2.3.2.1 Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina nas microesferas

A eficiência de encapsulação e o teor de fármaco foram estimados após a determinação da concentração de CBZ nas soluções obtidas pela completa dissolução das partículas em acetonitrila, empregando-se a metodologia de CLAE descrita em 3.2.2.2. As amostras foram injetadas em triplicata e a concentração das soluções foram determinadas comparando-se as áreas dos picos com a área do pico obtido a partir de uma solução padrão de carbamazepina em concentração de 50 µg/mL, analisada nas mesmas condições.

A eficiência de encapsulação da carbamazepina (%) foi calculada relacionando-se a quantidade de fármaco inicialmente adicionado à formulação e a quantidade obtida nas microesferas após a análise por CLAE. O teor de

carbamazepina foi estimado como sendo o peso percentual (%; p/p) de fármaco encontrado nas partículas.

3.2.3.2.2 Determinação do diâmetro médio e da distribuição granulométrica

O diâmetro das partículas de todas as formulações realizadas foi determinado através da medição com paquímetro, pelo diâmetro de Ferret, das partículas visualizadas nas fotomicrografias ampliadas, obtidas por microscopia eletrônica de varredura.

3.2.3.2.3 Avaliação da morfologia

A morfologia interna e da superfície das micropartículas foi investigada através de fotomicrografias de microscopia eletrônica de varredura realizada num equipamento JOEL JSM-5800 no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS.

As amostras foram preparadas da seguinte maneira: foram coladas em estabes, recobertas com ouro e posteriormente analisadas. Para a visualização da estrutura interna, foi realizada uma criofratura onde as amostras foram congeladas e então seccionadas transversalmente antes do procedimento de preparo da amostra.

3.2.3.2.4 Análise das microesferas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e por espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR).

O estado físico da carbamazepina nas microesferas bem como as possíveis interações entre fármaco e polímero foram avaliados por calorimetria exploratória diferencial empregando-se um equipamento DSC-50. Cerca de 6 mg de microesferas, exatamente pesadas foram aquecidas em cápsulas de alumínio em uma velocidade de 10° C/min até 300° C, sob atmosfera de nitrogênio. A escala de temperatura do equipamento foi calibrada com Índio que possui temperatura de ponto de fusão conhecida em 156° C.

A análise de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier foi realizada num espectrofotômetro Perkin Elmer Mod. 16PC FTIR. A região de coleta de dados foi 4000 - 400 cm⁻¹. Os espectros foram obtidos no modo de transmissão em pastilhas de KBr.

3.2.3.3 Avaliação da velocidade de liberação

Microesferas em uma quantidade correspondendo a 200 mg de carbamazepina foram exatamente pesadas e transferidas para o interior de cápsulas de gelatina dura nº 00 incolor e submetidas ao ensaio de dissolução num equipamento de dissolução Pharmatest pelo método da pá (USP XXIII). As cápsulas foram colocadas em cubas contendo 900 mL de uma solução de lauril sulfato de sódio 1 % (p/V) e foram mantidas sob agitação de 75 rpm e temperatura de 37° C. Aliquotas de 3 mL do meio de liberação foram retiradas no tempo zero e a cada 30 minutos com auxílio de uma bomba peristáltica e analisadas espectrofotometricamente à 284 nm. As curvas de liberação foram registradas em

programa Dissolution Testing Software, Hewlett Packard, Windows 3.11 e expressas em % de fármaco liberado x tempo (minutos).

As áreas sob as curvas correspondendo a 12 horas de ensaio de dissolução foram calculadas empregando-se o método da regra linear trapezoidal.

3.2.3.4 Análise estatística

A influência dos parâmetros de formulação, peso molecular do polímero e adição de polietilenoglicol (PEG), sobre os valores de área sob a curva e diâmetro médio das partículas foram avaliados empregando-se a análise de variância (ANOVA).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da carbamazepina

Os resultados obtidos na caracterização da carbamazepina podem ser visualizados na Tabela 4. Como pode ser observado, a carbamazepina apresentou as especificações preconizadas pelas Farmacopéias Britânica, 1988 e Brasileira 4ª edição tendo sido posteriormente empregada na preparação das microesferas.

TABELA 4. Resultados obtidos na caracterização da carbamazepina.

Ensaio	Especificações	Resultados
Identificação ¹		
a)Espectroscopia no UV	Exibe máximas de absorção a 238 e 285 nm	De acordo
b)Colorimetria	Desenvolve coloração vermelho-alaranjado	De acordo
Acidez ¹	No máximo 0,5 mL de NaOH 0,01 M	0,2 mL
Alcalinidade ¹	No máximo 1 mL de HCl 0,01 M	0,5 mL
Ponto de fusão ¹	189-193° C	191-192,7° C
Perda por dessecação ¹	No máximo 0,5 % (p/p)	0,26 ± 0,08 %
Limite de cloreto ²	Turbidez menor que a obtida com uma solução de HCl 2x10 ⁻⁴ N	De acordo
Teor de pureza ¹		
a)Espectroscopia no UV	98 - 102 %	99,14 ± 0,61 %
b) CLAE	98 - 102 %	99,46 ± 0,26 %

¹ BRITISH PHARMACOPOEIA, 1988

² FARMACOPÉIA, 1988

4.2 Avaliação preliminar das condições de preparação das microesferas

A carbamazepina tem sido considerada um fármaco anticonvulsivante de primeira escolha na profilaxia das crises epilépticas. Uma vez que o seu pico plasmático ocorre ao redor de 4-8 horas após administração oral, a manutenção da

concentração deste fármaco dentro da faixa terapêutica em todo o período de 24 h requer a administração de doses múltiplas do medicamento (JOHNSON & JOHNSON, 1997). Entretanto, devido a sua baixa solubilidade ao longo do trato gastrointestinal, a absorção da carbamazepina é lenta e errática, conduzindo a uma ampla variabilidade de flutuações séricas quando formas farmacêuticas de liberação imediata são empregadas (REYNOLDS, 1989; KOROLKOVAS, 1998). TOMSON (1984) demonstrou que, além da obtenção de níveis séricos elevados de CBZ, o aparecimento de efeitos colaterais indesejáveis está relacionado com a magnitude das flutuações plasmáticas deste fármaco. Neste sentido, a adesão do paciente ao tratamento dependeria não somente da simplificação do regime de administração mas também da aceitação da própria medicação em termos de tolerabilidade. O desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada atende estes objetivos uma vez que o fármaco seria liberado gradualmente a partir da forma farmacêutica, diminuindo a variabilidade de absorção provocada pela presença de grandes quantidades do mesmo no fluido gastrointestinal.

Assim sendo, a estratégia empregada no presente trabalho consistiu em encapsular a carbamazepina em microesferas poliméricas preparadas a partir do acetobutirato de celulose e verificar o potencial de utilização do polietilenoglicol na modulação da sua liberação. O emprego de blendas poliméricas tem sido recentemente testado na busca da melhoria das propriedades biofarmacêuticas de fármacos contidos em sistemas de liberação preparados a partir de polímeros comercialmente disponíveis. Nas microesferas, a adição de um segundo polímero surte modificações estruturais e físico-químicas da matriz polimérica que conduzem à alterações nas características de tamanho, eficiência de encapsulação e velocidade de liberação (YEH *et al.*, 1995; YEH *et al.*, 1996; KHIRD *et al.*, 1998).

Os polietilenoglicóis são largamente utilizados em formulações farmacêuticas destinadas às vias parenteral, tópica, oftálmica, oral e retal. São substâncias hidrofílicas, estáveis e o número que os acompanha indica o seu peso molecular médio, determinando por sua vez o estado físico em que se apresentam – sólido, líquido ou semi-sólido. Estes polímeros têm sido empregados como plastificantes de formas farmacêuticas sólidas, como co-solventes nas soluções ou ainda na preparação de dispersões sólidas. Membranas preparadas a partir de ésteres de celulose, tais como o acetobutirato de celulose, podem tornar-se menos rígidas e compactas com a adição de polietilenoglicóis (WADE and WELLER, 1994). Esta característica aliada à possibilidade de obtenção de matrizes mais porosas justificam a adição deste polímero nas formulações de microesferas, na busca da modulação da velocidade de liberação da carbamazepina. Entretanto, estudos preliminares necessitaram ser conduzidos com o objetivo de verificar a viabilidade de preparação de microesferas, no que diz respeito ao peso molecular e à concentração de PEG adicionado nas formulações.

A preparação das microesferas foi realizada pela técnica de emulsificação de um solvente orgânico volátil contendo o polímero e o fármaco, em um solvente não volátil, seguido da evaporação do primeiro. Segundo WATTS (1990), para a preparação de microesferas a partir de ésteres de celulose, a acetona tem sido amplamente empregada como fase interna, sendo esta emulsificada em vaselina líquida previamente saturada com o mesmo solvente. A saturação do solvente da fase externa impede a rápida difusão da acetona, evitando precipitações do polímero, além de favorecer a encapsulação do fármaco (KITAJEMA *et al.*, 1973).

A emulsão formada pode ser classificada como sendo óleo em óleo (O/O) e é estabilizada pela adição de um tensoativo de baixo valor de EHL, como o

monooleato de sorbitano (SPAN 80, EHL = 4,3). Estas condições foram adotadas neste estudo, porém a utilização de tais preparações para uma aplicação farmacêutica requer a prévia avaliação da eficiência de encapsulação do fármaco uma vez que esta é fortemente influenciada pelas características dos solventes contidos na formulação. De modo geral, elevados níveis de encapsulação são observados quando o coeficiente de partição do fármaco encontra-se em favor da fase interna da emulsão (WATTS, 1990). Este fato reforça a necessidade da realização de estudos preliminares.

Na técnica de emulsificação-*evaporação* do solvente, o diâmetro médio final das partículas depende, em grande extensão, da velocidade de agitação e do tipo de equipamento empregado. Outras variáveis geralmente estudadas incluem o tipo e a concentração do emulgente, a proporção de volume da fase dispersa em relação à fase contínua, a concentração do polímero e a relação fármaco:polímero na fase interna da emulsão (WATTS, 1990; BAHL, 2000). Todas estas variáveis foram mantidas constantes para permitir a avaliação do efeito da adição do polietilenoglicol na eficiência de encapsulação da CBZ e na morfologia das microesferas. A velocidade de agitação foi de 650 rpm para todas as formulações testadas.

Nestes estudos preliminares, misturas de ABC70 e PEG 4000 em diferentes proporções (9:1; 3:1; 1:1) foram testadas, mantendo-se em todos os casos a mesma concentração total de polímero na fase interna da emulsão. Da mesma maneira, a adição de PEG 1500 foi testada mas em uma única concentração (9:1). A sua característica semi-sólida impediria a obtenção de partículas compactas, se adicionado em maiores proporções na mistura.

A eficiência de encapsulação, expressa pela percentagem de fármaco encontrado nas partículas em relação a quantidade total adicionada nas formulações, foi estimada após determinação do teor de CBZ nas microesferas por CLAE. Para a elaboração da curva de calibração foram utilizadas soluções de carbamazepina em acetonitrila em concentrações de 10 até 100 µg/mL. A Tabela 5 demonstra as áreas dos picos obtidos para a carbamazepina nas diferentes concentrações. A equação da reta obtida pela regressão linear e o coeficiente de regressão podem ser visualizados na Figura 4. O teor de carbamazepina nas microesferas foi determinado após completa dissolução das mesmas com acetonitrila. As soluções obtidas foram analisadas por CLAE, empregando-se uma solução de carbamazepina de concentração conhecida como padrão externo. Os cromatogramas obtidos após a injeção de uma solução de carbamazepina padrão (50 µg/mL) e após a injeção de uma amostra podem ser visualizados na Figura 5. O tempo de retenção da CBZ nas condições empregadas foi de 3,6 minutos.

TABELA 5. Áreas dos picos obtidas após análise das soluções de CBZ padrão por CLAE, nas condições descritas em 3.2.2.2.1.

Concentração (µg/mL)	Área ± s (n = 3)	CV (%)
10	410521,0 ± 3163,3	0,77
20	761103,3 ± 18428,8	2,42
30	1206536,3 ± 12087,6	1,00
40	1645458,0 ± 4778,8	0,19
50	2039727,7 ± 10864,8	0,53
60	2463182,0 ± 12975,8	0,53
70	2863313,7 ± 12367,8	0,43
80	3312183,3 ± 11818,4	0,41
90	3721177,0 ± 13998,8	0,38
100	4076136,3 ± 17616,2	0,43

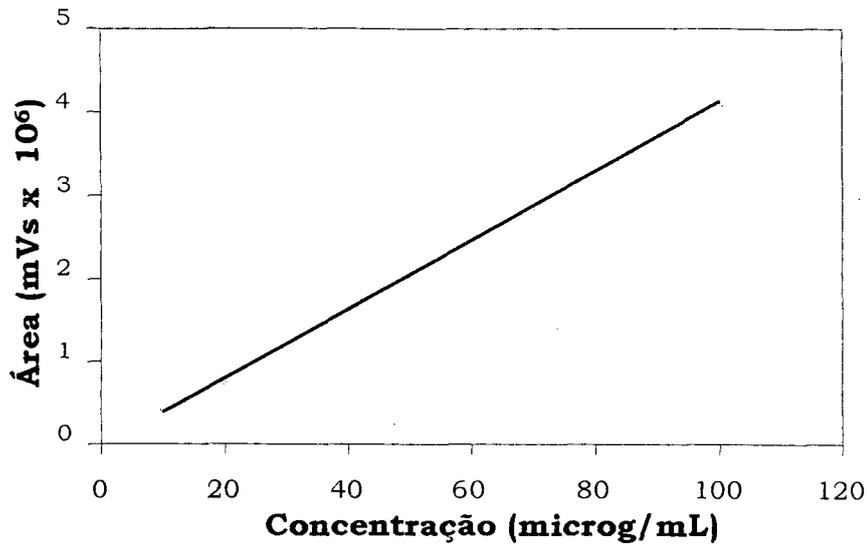


FIGURA 4. Curva de calibração da carbamazepina. Equação da reta: $y=41400x-27276$; coeficiente de correlação: $R^2 = 0,9996$.

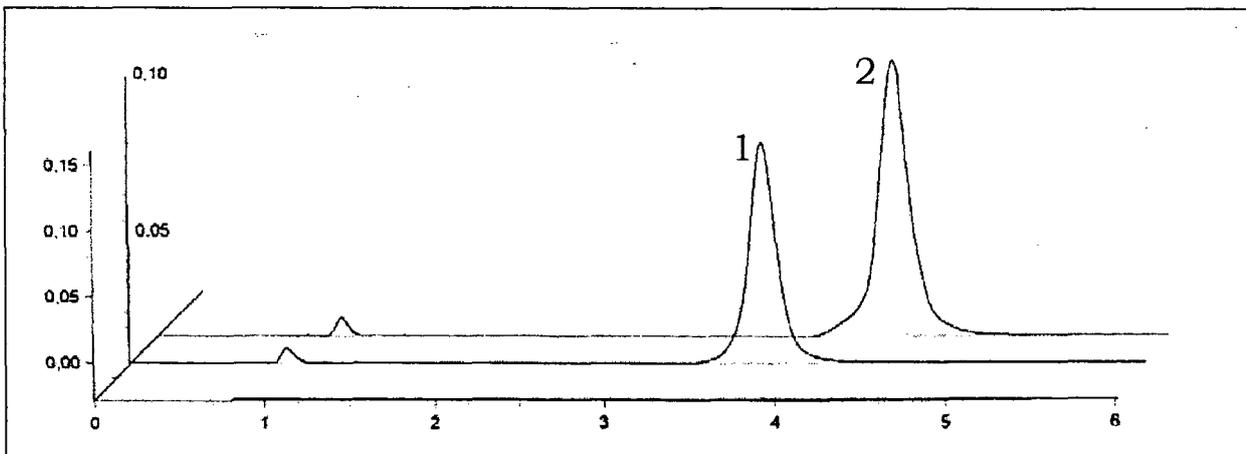


FIGURA 5. Cromatogramas obtidos após a injeção de: (1) solução de carbamazepina padrão e (2) solução amostra de carbamazepina.

Os teores e valores de eficiência de encapsulação da carbamazepina nas formulações testadas encontram-se demonstradas na Tabela 6.

TABELA 6. Valores de eficiência de encapsulação, teor de CBZ e diâmetro médio das partículas obtidos para as formulações testadas.

Formulação	ABC:PEG	Teor de CBZ (mg/100mg) ^c	Eficiência de encapsulação (%)	Diâmetro de partícula (µm)
1	1:0	21,02 ± 0,07	63,13 ± 0,18	611,48 ± 112,19
2	9:1 ^a	23,86 ± 0,56	71,67 ± 1,64	679,99 ± 114,50
3	9:1 ^b	14,20 ± 0,04	42,95 ± 0,10	nd
4	3:1 ^b	9,48 ± 0,10	28,46 ± 0,31	593,01 ± 113,47
5	1:1 ^b	10,13 ± 0,31	30,46 ± 0,93	572,51 ± 102,43

^a PEG 1500; ^b PEG 4000; ^c mg de carbamazepina em 100 mg de microesfera; nd = não determinado

Em comparação com a formulação contendo unicamente ABC70, a adição de PEG 4000 na fase interna da emulsão provocou a redução drástica do conteúdo de fármaco nas partículas. Esta redução atingiu valores superiores a 50 % quando misturas de ABC70 e PEG 4000 em proporções de 3:1 e 1:1 foram empregadas. Por outro lado, os resultados obtidos indicam que o peso molecular do PEG afeta a eficiência de encapsulação e o teor de carbamazepina nas microesferas. A adição de PEG 1500, perfazendo 10% da massa total de polímero na formulação, não pareceu alterar o teor de CBZ, enquanto a adição de PEG 4000 na mesma proporção conduziu à redução de aproximadamente 30 % na encapsulação deste fármaco. A mudança na proporção e no peso molecular do PEG nas formulações testadas não pareceu afetar o diâmetro médio das partículas que manteve-se em torno de 600 µm.

Com o objetivo de verificar o efeito da adição do polietilenoglicol sobre a morfologia, a visualização das partículas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada. As fotomicrografias obtidas por MEV podem ser observadas nas Figuras 6 e 7.

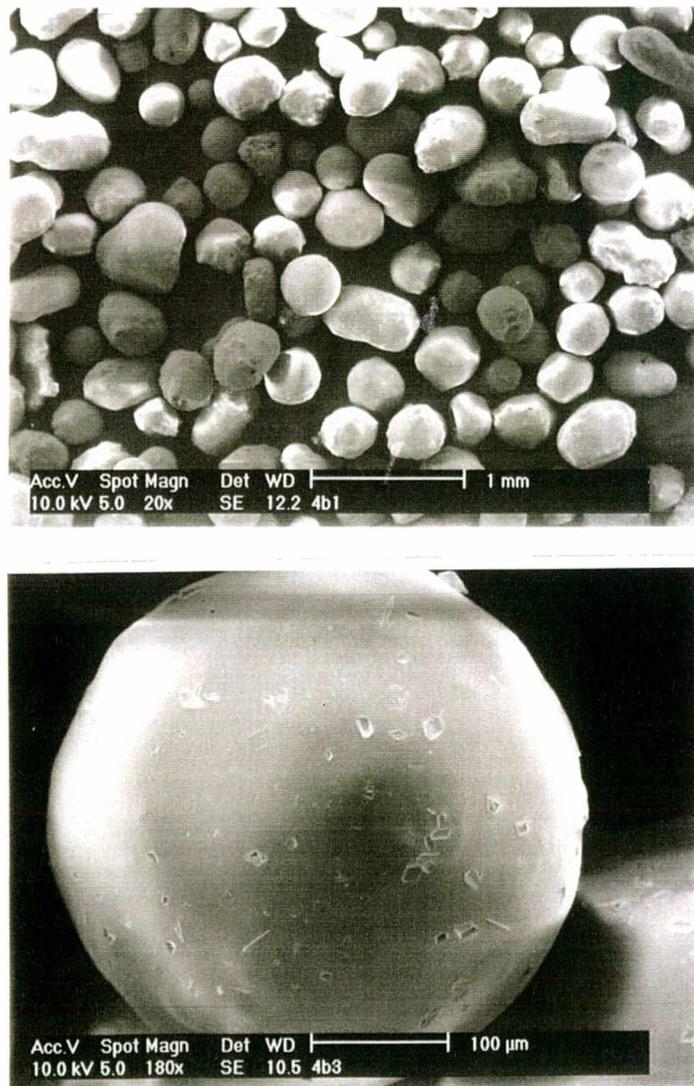


FIGURA 6. Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas a partir de ABC70 em aumentos de 20 e 180 vezes.

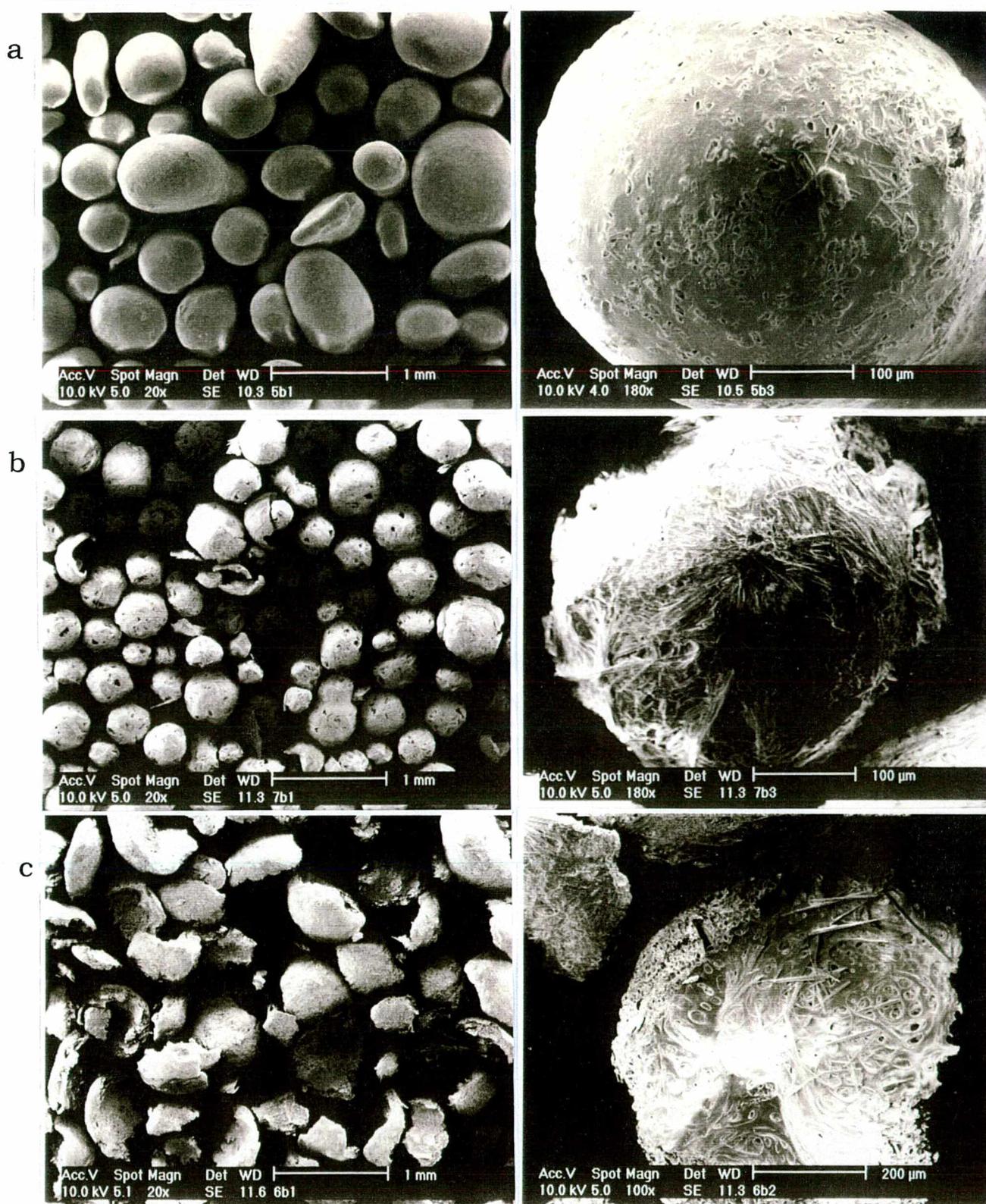


FIGURA 7. Fotomicrografias obtidas por MEV das microsferas preparadas com misturas de acetobutirato de celulose e polietilenoglicol em aumentos de 20 e 180 vezes. (a) ABC70:PEG 1500 9:1; (b) ABC70:PEG 4000 3:1 e (c) ABC70:PEG 4000 1:1.

Partículas esféricas de superfície lisa e compacta podem ser observadas nas fotomicrografias obtidas a partir das microesferas preparadas unicamente com ABC70 (Figura 6). Em contrapartida, a obtenção de partículas mais rugosas e porosas é visualizada quando misturas de ABC70:PEG 1500 (9:1) e ABC70:PEG 4000 (3:1) foram empregadas na preparação (Figuras 7a e 7b, respectivamente). Entretanto, não somente a presença de grandes poros mas igualmente a perda da forma esférica foram observados nas microesferas preparadas com a mistura de ABC70:PEG 4000 (1:1)(Figura 7c).

Estes resultados parecem estar relacionados com a não permanência do polietilenoglicol na estrutura final das partículas. De fato, a completa solubilização do polímero na fase externa da emulsão foi verificada em um ensaio onde somente o PEG foi adicionado à formulação, indicando que a extração do mesmo ocorre durante a etapa de evaporação do solvente. A extração do PEG seria responsável pela formação de canais na estrutura matricial das micropartículas. Resultados semelhantes foram obtidos por YEH e colaboradores (1995), em estudos de encapsulação de uma proteína em microesferas de poli-ácido láctico-co-glicólico (PLAGA). Segundo estes autores, o desenvolvimento de porosidade e conseqüentemente o perfil de liberação do fármaco pode ser controlado pelo ajuste da quantidade e/ou do peso molecular do PEG incorporado nas formulações.

Diante dos resultados obtidos, a utilização da associação ABC/PEG 1500 na proporção 9:1 pareceu ser mais apropriada para a subsequente avaliação da influência deste parâmetro de formulação sobre a velocidade de liberação da carbamazepina. Um ensaio preliminar de dissolução realizado com as partículas preparadas apenas com ABC70 e com aquelas obtidas com o emprego da mistura ABC70/PEG 1500 (9:1) evidenciou a diferença nos perfis de liberação do fármaco.

Neste ensaio foi verificado que as partículas obtidas com a adição de PEG 1500 à formulação, mais porosas, conduziram à liberação de cerca de 30% a mais de CBZ no mesmo período de tempo, quando comparado com àquelas obtidas unicamente com ABC70. Estes resultados fornecem bons indicativos do potencial que a adição de PEG 1500 (9:1) apresenta em modular a velocidade de liberação da carbamazepina sem comprometer a eficiência de encapsulação e a forma esférica da partícula.

4.3 Avaliação da influência do peso molecular do acetobutirato de celulose e da adição de polietilenoglicol 1500 na fase interna da emulsão sobre as características físico-químicas das partículas e sobre o perfil de liberação da carbamazepina

4.3.1. Preparação das microesferas

O acetobutirato de celulose é um éster de celulose disponível comercialmente que tem sido empregado pela sua excelente propriedade de formação de filmes hidrofóbicos aplicáveis à microencapsulação de fármacos. Sua permeabilidade pode ser modificada alterando-se vários fatores tais como o peso molecular do polímero, o grau de substituição da cadeia celulósica e a cristalinidade (BHARDWAJ, *et al.*, 1995). Para a obtenção de microesferas, a alteração do peso molecular do polímero poderia ocasionar mudanças nas características físico-químicas e estruturais das mesmas, conduzindo sobretudo à alterações no perfil de liberação do fármaco.

Conforme observado nas fotomicrografias visualizadas no estudo preliminar, o emprego do ABC de peso molecular 70000 origina partículas de estrutura muito compactas podendo implicar em uma retenção acentuada do fármaco. O aumento da porosidade pela adição de PEG 1500 às formulações, verificado nos estudos

preliminares, pareceu conduzir ao aumento na velocidade de liberação. Entretanto, no intuito de avaliar estatisticamente o efeito que estes dois parâmetros de formulação exercem sobre as características físico-químicas das microesferas e sobre a velocidade de liberação da CBZ, um delineamento estatístico fatorial do tipo 2x2 foi realizado, totalizando 4 tratamentos. Desta maneira, o peso molecular do acetobutirato de celulose foi designado como sendo fator A e a adição de PEG 1500 na proporção de 9:1 (ABC:PEG) na fase interna da emulsão foi designado como sendo o fator B. Os níveis inferiores e superiores foram 30000 (-) e 70000 (+) para o fator A e *sem adição de PEG* (-) e *com adição de PEG* (+) para o fator B, respectivamente. As microesferas foram preparadas nas condições descritas em 3.2.3.1.

Visando a obtenção de quantidade suficiente de microesferas para a realização de todos os ensaios, a proporção dos componentes das formulações foi aumentada 5 vezes em relação às formulações do estudo preliminar, tendo sido necessário adaptar as condições de preparação. A concentração de polímero na fase interna e concentração monooleato sorbitano passaram a ser 5% (p/V) e 2% (p/V), respectivamente. O aumento da concentração de estabilizante visou a melhoria da estabilidade da emulsão, por meio da redução da tensão interfacial, evitando a formação de precipitados observada ao longo da preparação das microesferas.

Apesar de estudos demonstrarem que o aumento da concentração de tensoativo conduz à redução dos valores de eficiência de encapsulação do fármaco por meio de solubilização no interior de micelas (ABU-IZZA *et al.*, 1996), este fenômeno não foi observado neste caso, mantendo-se o teor de carbamazepina nas partículas na ordem de 20,9 mg de CBZ em 100 mg de microesferas, após

verificação prévia da possível influência do aumento da concentração de monooleato de sorbitano nas formulações.

O processo de remoção do solvente volátil envolve a difusão do mesmo a partir da fase interna para a externa e posteriormente evaporação na interface líquido-ar. A velocidade de eliminação do solvente não é constante durante o procedimento de evaporação. A medida que é eliminado, as gotículas da emulsão tornam-se mais viscosas com o aumento da concentração de polímero, levando à formação do estado gel e à concomitante redução da velocidade de extração do solvente (WEN-I LI *et al.*, 1995; BAHL *et al.*, 2000). A velocidade com que ocorre a eliminação deste solvente afeta significativamente a formação das partículas bem como as suas características de superfície tais como a rugosidade e a porosidade (RADWAN *et al.*, 1995).

No nosso caso, o aumento da proporção dos componentes dificultou a eliminação da acetona. Neste sentido, a manutenção da temperatura em $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ao longo da etapa de evaporação e a utilização de recipientes que proporcionem uma maior interface líquido-ar demonstraram ser de crucial importância, pois além das alterações climáticas serem responsáveis por uma ampla variação na velocidade de evaporação do solvente, um volume cinco vezes maior de acetona necessitava ser completamente eliminado. Resíduos de solvente volátil nas partículas provocam a agregação das mesmas no momento em que a agitação é cessada ou mesmo durante a etapa de recuperação por filtração. Adicionalmente, a utilização de recipientes que impedem a evaporação adequada do solvente conduzem ao insucesso da preparação (MOLDENHAUER *et al.*, 1991). Estas evidências demonstram que a transposição da preparação de microesferas para uma maior

escala, com o emprego da técnica de emulsificação/evaporação do solvente, é complexa e necessitaria de um estudo aprofundado de todas as etapas de produção.

4.3.2. Caracterização físico-química das microesferas

4.3.2.1. Determinação da eficiência de encapsulação e do teor de carbamazepina.

A eficiência de encapsulação e o teor de carbamazepina nas formulações estudadas foi determinada conforme descrito em 3.2.3.2.1 e pode ser visualizada na Tabela 7.

TABELA 7. Valores de eficiência de encapsulação, teor de carbamazepina e diâmetro médio das partículas.

Formulação (tratamento)	Eficiência de encapsulação (%)	Teor de carbamazepina (mg/ 100mg)	Diâmetro médio das partículas (m ± σ)
1	70,39	23,22	373,4 ± 87,6
	72,12	23,94	424,3 ± 78,2
	73,65	24,58	378,6 ± 75,6
2	65,01	21,78	1086,6 ± 66,1
	61,21	20,37	1469,0 ± 147
	56,21	18,70	733,3 ± 158
3	69,72	23,24	498,0 ± 191
	65,89	22,02	527,1 ± 117
	74,63	24,86	503,1 ± 125
4	64,05	21,37	1301,0 ± 162
	60,01	19,96	1190,0 ± 203
	62,50	20,86	1206,3 ± 253

A eficiência de encapsulação das formulações manteve-se em torno de 65% e pode ser considerada satisfatória. Vários fatores podem interferir na eficiência de encapsulação do fármaco tais como, a relação fármaco:polímero, a natureza dos

solventes da fase interna e externa e o tipo e concentração de tensoativo empregado como estabilizante. Neste caso, é provável que a carbamazepina não encapsulada tenha sido eliminada após solubilização parcial na fase externa, sendo desprezada na filtração.

4.3.2.2. Determinação do diâmetro médio e da distribuição granulométrica

Diversas técnicas de análise podem ser empregadas na determinação do diâmetro médio e da distribuição granulométrica de microesferas, destacando-se, entre elas, a tamisação, a medição em contadores eletrônicos do tipo Coulter e a microscopia ótica ou eletrônica. Dada a grande diferença entre os fundamentos de cada uma destas técnicas, o critério de seleção daquela mais apropriada deve residir nos parâmetros de intervalo de tamanho de partícula na qual é aplicável e na quantidade de amostra disponível para análise (VILA-JATO, 1997). Tendo em vista a obtenção de partículas de centenas de micrômetros e a pequena quantidade produzida por lote, o diâmetro médio e a distribuição granulométrica foram determinados após medição das partículas visualizadas nas fotomicrografias obtidas por MEV, empregando-se para a medida, o diâmetro de Ferret.

Os diâmetros médios das partículas obtidos para cada um dos lotes de microesferas estão demonstrados na Tabela 7. O efeito de cada um dos tratamentos sobre a distribuição granulométrica das mesmas, expressa como frequência percentual (%), pode ser observado na Figura 8. Segundo os resultados obtidos, os valores de diâmetro médio variaram a partir de 300 μm a 1400 μm , em função das condições de preparação empregadas. A obtenção de partículas de centenas de micrômetros, a partir de diferentes ésteres de celulose, tem sido relatada por diversos autores, quando a acetona e a vaselina líquida são empregadas como fase

interna e externa, respectivamente (CHIAO and PRICE, 1994; BHARDWAJ *et al.*, 1995; SILVA and FERREIRA, 1999). A obtenção de partículas a partir de ésteres de celulose com tamanhos nesta ordem de grandeza parece estar relacionada, em parte, com a natureza química dos solventes. A elevada viscosidade da vaselina líquida provavelmente produz resistência à fragmentação da acetona em finas gotículas, conduzindo a formação de emulsões grosseiras e, conseqüentemente, de partículas de maior tamanho. De fato, microesferas de acetobutirato de celulose de tamanho médio de apenas algumas dezenas de micrômetros foram obtidas quando os solventes das fases interna e externa foram o diclorometano e a água, respectivamente (ARNAUD *et al.*, 1996).

Entretanto, vários outros fatores afetam o tamanho final das partículas. A influência da concentração de polímero na fase interna foi evidenciada quando o diâmetro médio das microesferas obtidas a partir do ABC70 no ensaio preliminar (Tabela 6) é comparado com aquele verificado na formulação 4 (Tabela 7). Neste caso o aumento da concentração de ABC70 na fase interna de 2,5% (p/V) para 5,0 % (p/V) conduziu a um aumento em torno de 2 vezes no tamanho da partícula. Por outro lado, o emprego de ABC30, na mesma concentração, conduziu à obtenção de partículas de menor tamanho, como está claramente demonstrado na Figura 8. O efeito da concentração e do peso molecular, sobre o tamanho das microesferas, está relacionado com a viscosidade das soluções poliméricas utilizadas como fase interna da emulsão (ARABI *et al.*, 1996; YUAN and WU, 2001). Para os ésteres de celulose, quanto maior a magnitude destes dois parâmetros, maior será a viscosidade da solução empregada como fase interna, mais difícil será a sua divisão em gotículas e portanto, maiores serão as partículas.

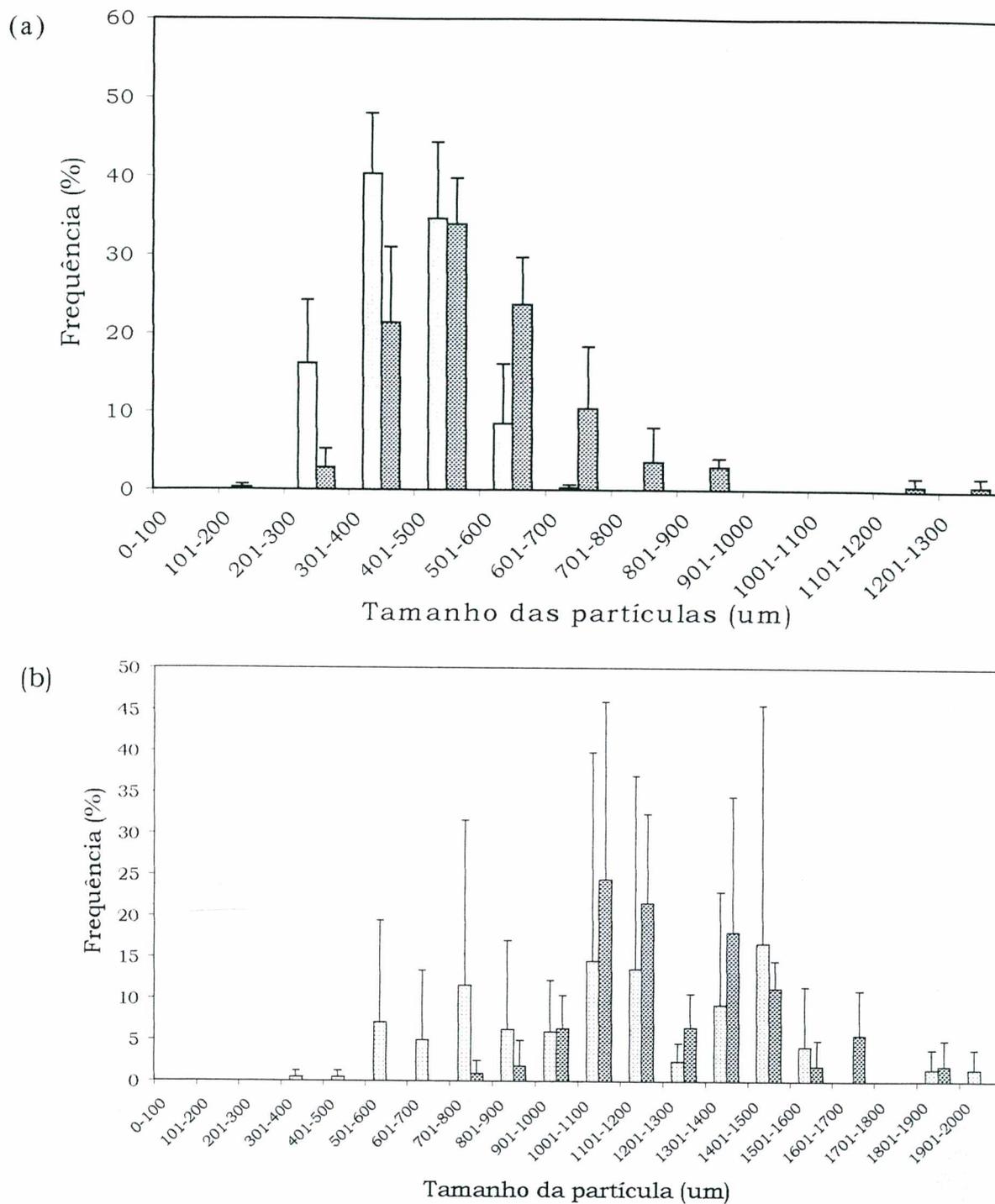


FIGURA 8. Efeito dos tratamentos sobre a distribuição granulométrica das microesferas. (a) Microesferas preparadas a partir ABC30 e (b) microesferas preparadas a partir de ABC70. □ – sem a adição de PEG
 ■ – com a adição de PEG

Finalmente, o grau de divisão do fármaco disperso na fase interna influencia substancialmente na distribuição granulométrica das microesferas resultantes. SHUKLA e PRICE (1989) demonstraram que a utilização de teofilina micronizada na preparação de microesferas de acetobutirato de celulose conduz à obtenção de partículas de menor diâmetro do que aquelas produzidas a partir de grandes ou médios cristais de fármaco. No nosso caso, é possível que este fator esteja contribuindo no diâmetro final das microesferas, uma vez que a carbamazepina encontra-se parcialmente suspensa na fase interna da emulsão e foi empregada sem sofrer qualquer tipo de tratamento prévio.

4.3.2.3. Avaliação da morfologia das partículas

A morfologia das microesferas pode ser visualizada nas fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) demonstradas na Figura 9. A obtenção de partículas perfeitamente esféricas foi verificada quando o ABC70 foi empregado (Figura 9b e 9d), contrastando com a perda da esfericidade demonstrada nas partículas preparadas com o ABC30 (Figura 9a e 9c). Adicionalmente, a utilização de ABC70 conduziu à obtenção de partículas de superfície lisa e compacta quando comparada com a superfície mais rugosa das microesferas obtidas com ABC30 (Figura 10). Segundo RADWAN e colaboradores (1995), quando a técnica de emulsão/evaporação do solvente é aplicada, a rugosidade das microesferas aumenta quanto maior for a velocidade com que ocorre a eliminação do solvente da fase interna da emulsão durante o processo de microencapsulação. Desta maneira, a maior rugosidade verificada nas partículas de ABC30 pode estar associada com a mais rápida difusão da acetona para a vaselina líquida proporcionada pela menor viscosidade da fase interna. Contrariamente, o emprego

de ABC70 conduziu à formação do estado gel, dificultando a eliminação do solvente (LI *et al.*, 1995).

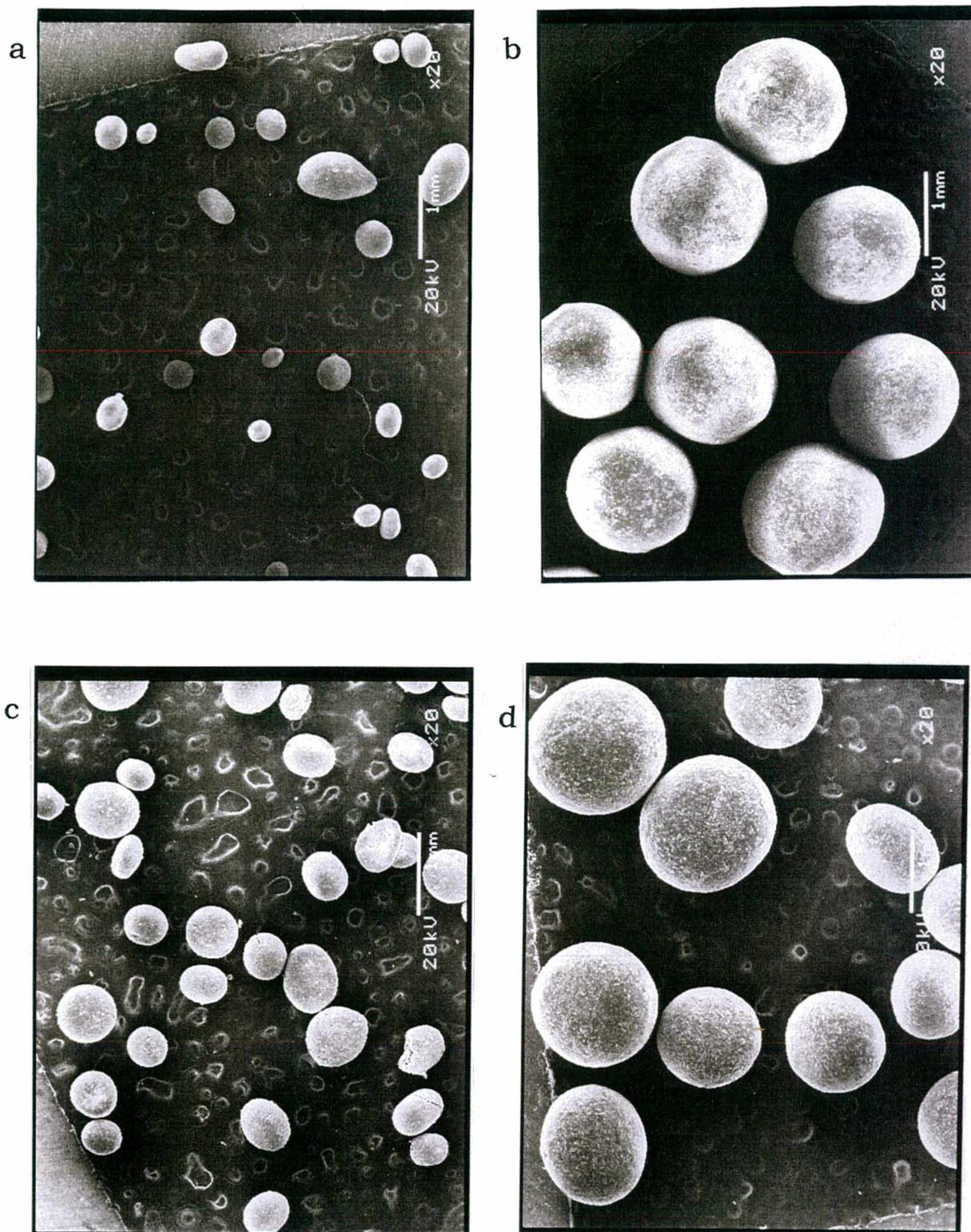


FIGURA 9. Fotomicrografias obtidas por MEV das microsferas preparadas a partir de: (a) ABC30 sem a adição de PEG 1500, (b) ABC70 sem a adição de PEG 1500, (c) ABC30 com a adição de PEG 1500 e (d) ABC70 com a adição de PEG 1500.

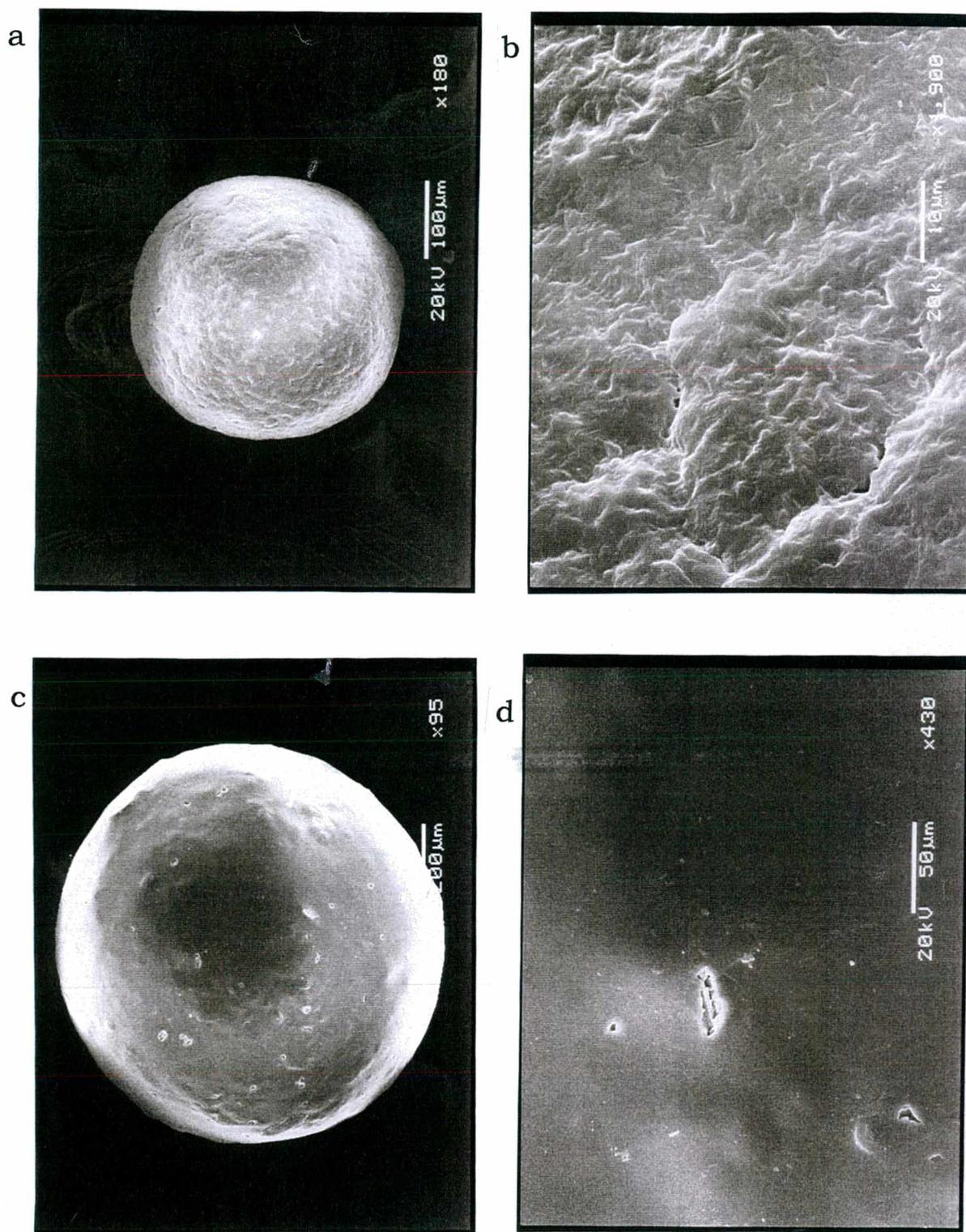


FIGURA 10. Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas preparadas a partir de acetobutirato de celulose sem a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão. (a) e (b) Microesferas de ABC30 em aumentos de 180 e 1900 vezes, respectivamente. (c) e (d) Microesferas de ABC70 em aumentos de 95 e 430 vezes, respectivamente.

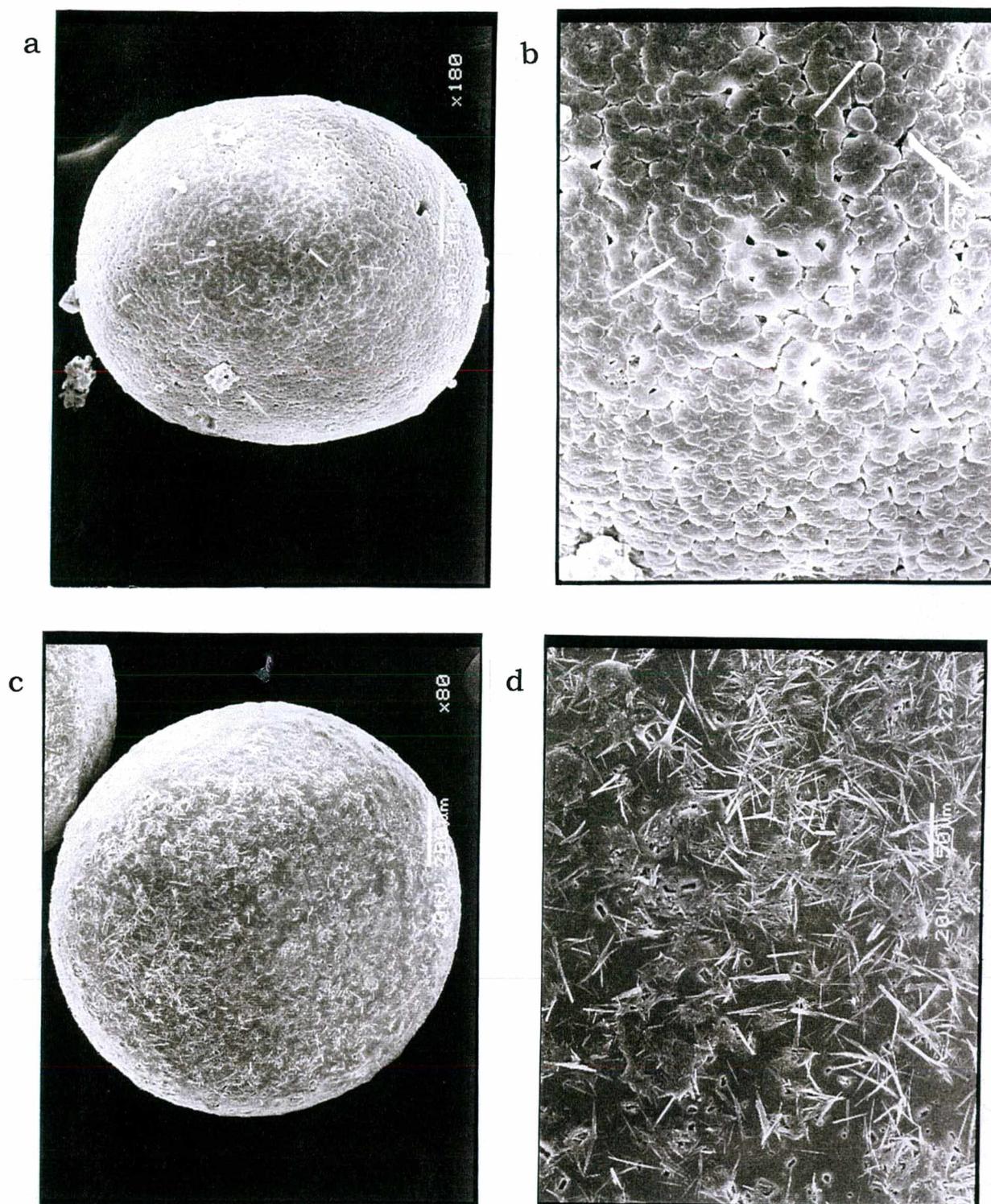


FIGURA 11. Fotomicrografias obtidas por MEV das microsferas preparadas a partir de acetobutirato de celulose com a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão. (a) e (b) Microsferas de ABC30 em aumentos de 180 e 650 vezes, respectivamente. (c) e (d) Microsferas de ABC70 em aumentos de 80 e 270 vezes, respectivamente.

Na Figura 11 encontram-se demonstradas as fotomicrografias das microesferas preparadas com a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão. A adição deste polímero conduziu à formação de partículas apresentando uma superfície mais porosa, quando comparado com a superfície das microesferas contendo unicamente ABC (Figura 10). Além disso, uma estrutura aparentemente esponjosa e pouco compacta pode ser visualizada nas microesferas obtidas a partir do ABC30. Finalmente, a presença de cristais de carbamazepina em forma de agulha na superfície das partículas pode ser nitidamente observada na Figura 11. Este último resultado sugere que o PEG 1500 afeta o modo de associação da carbamazepina nas microesferas, conduzindo a uma maior adsorção do fármaco na superfície da mesmas.

A estrutura interna matricial característica das microesferas, pode ser visualizada nas fotomicrografias obtidas após congelamento e secção transversal das mesmas (Figuras 12 e 13). Nas fotomicrografias ampliadas é possível observar a presença do fármaco cristalizado no interior das partículas em duas formas: as estruturas de formato arredondado ou quadriculado, sendo provavelmente o polimorfo III (CBZ comercial), e as estruturas que apresentam-se como cristais em forma de agulha (RUSTICHELLI *et al.*, 2000).

A presença destas duas formas polimórficas está provavelmente relacionada com a solubilização parcial da carbamazepina na acetona, empregada como solvente da fase interna. Geralmente, a fração do fármaco não solubilizada no solvente orgânico da fase interna se encontrará disperso na matriz polimérica na sua forma polimórfica inicial (FORD and TIMMINS, 1989). Por outro lado, a presença de cristais na forma de agulhas indica a cristalização da carbamazepina

previamente solubilizada na acetona na sua forma polimórfica I, durante o processo de microencapsulação.

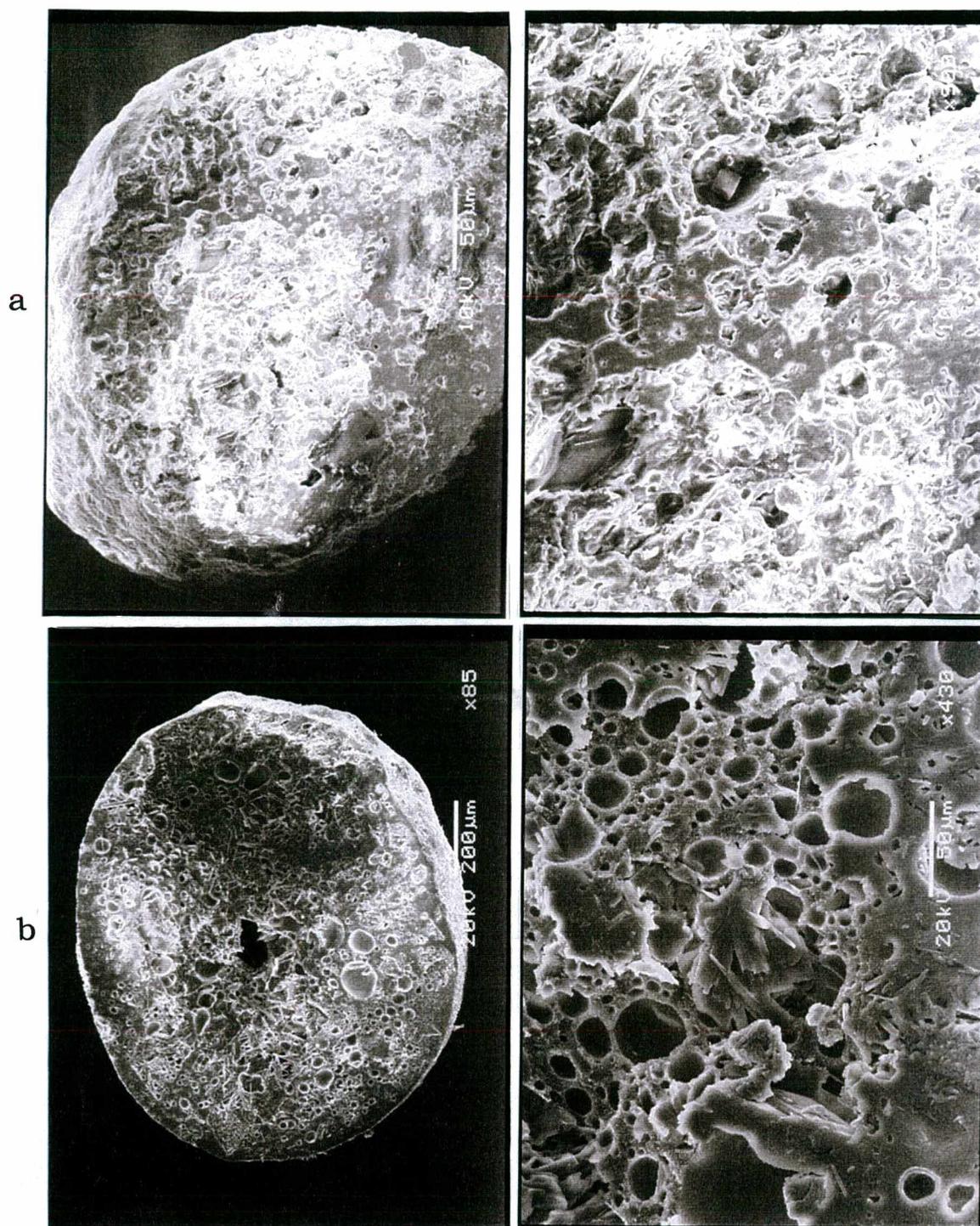


FIGURA 12. Fotomicrografias obtidas por MEV das microesferas seccionadas transversalmente preparadas a partir de: (a) ABC30 sem adição de PEG 1500 em aumentos de 370 e 900 vezes, (b) ABC70 sem adição de PEG 1500 em aumentos de 85 e 430 vezes.

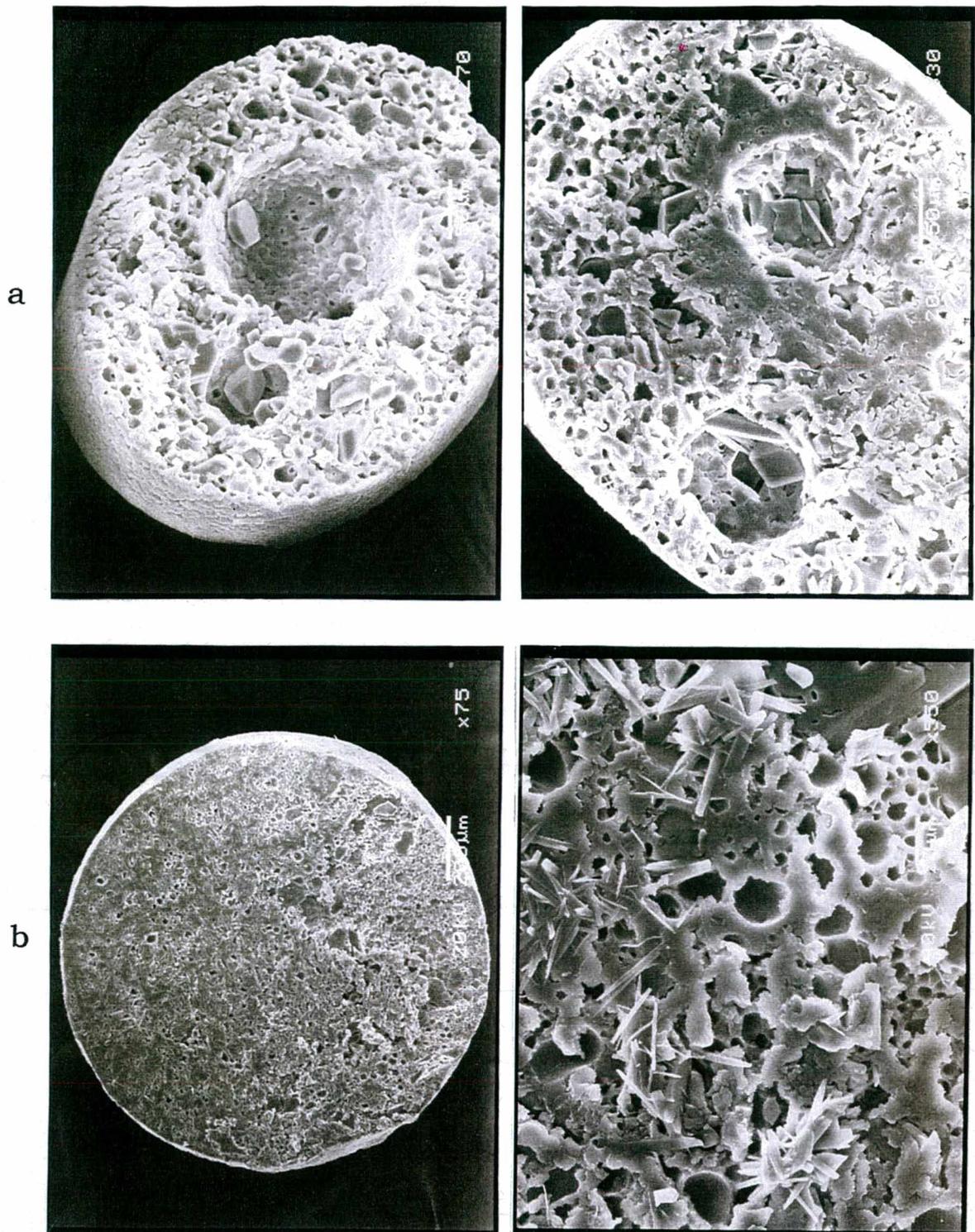


FIGURA 13. Fotomicrografias obtidas por MEV das microsferas seccionadas transversalmente preparadas a partir de: (a) ABC30 com adição de PEG 1500 em aumentos de 270 e 330 vezes, (b) ABC70 com adição de PEG 1500 em aumentos de 75 e 550 vezes.

Na Figura 13a pode ser observada a presença de grandes poros induzida pela adição de PEG 1500. Este polímero, quando adicionado à formulação, conduz à formação de domínios específicos na mistura, migrando para a fase externa durante a etapa de evaporação do solvente. A associação entre o ABC30 e o PEG 1500 originou microesferas extremamente porosas, favorecendo provavelmente ao aumento da velocidade de liberação do fármaco.

4.3.2.4. Análise das microesferas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e por espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Polimorfos de um composto são fases sólidas cristalinas que tem um diferente entrelaçamento dos cristais internos (BEHME e BROOKE, 1990). Devido à diferença na estrutura cristalina, os polimorfos têm propriedades químicas e físicas diferentes, podendo ser interconvertidos por um processo mediado por solvente ou pela transformação de fases induzido pelo calor ou stress mecânico (RUSTICHELLI *et al.*, 2000).

A carbamazepina existe em três diferentes formas polimórficas anidras - forma III, disponível comercialmente; forma I obtida pelo aquecimento da forma III; e a forma II além da forma dihidrato, obtida pela hidratação do fármaco em soluções aquosas (RUSTICHELLI *et al.*, 2000). Observações por microscopia óptica e eletrônica de varredura, realizadas em temperatura ambiente, revelaram que a carbamazepina na forma III é constituída de aglomerados de cristais prismáticos. Com o aquecimento na velocidade de 10°C/min, estes cristais permanecem inalterados até 170°C. Acima desta temperatura, a endoterma visualizada a 173°C é

atribuída à fusão do fármaco. Este evento é seguido por um pico exotérmico a 178°C devido a sua cristalização na forma I como estruturas em agulhas. Finalmente, um terceiro pico é observado a 191°C devido à fusão da forma I. A forma II da carbamazepina, obtida a partir da sua recristalização em diversos solventes orgânicos apresenta-se igualmente na forma de cristais em agulha. Estas formas polimórficas exibem diferenças na velocidade de dissolução e, conseqüentemente, na biodisponibilidade (ZERROUK *et al.*, 2001).

A calorimetria exploratória diferencial e a espectroscopia de infravermelho são técnicas usualmente empregadas no estudo de polimorfismo de fármacos. Geralmente uma única técnica não é suficiente para informar sobre a existência ou não de polimorfismo, razão pela qual a utilização de várias técnicas muitas vezes é essencial. Neste trabalho, a presença de polimorfos da carbamazepina nas microesferas foi analisada inicialmente por DSC, utilizando-se posteriormente a absorção no infra-vermelho (FTIR) para confirmar o comportamento observado.

A análise por DSC das microesferas permite caracterizar o estado físico do polímero e do fármaco antes e após a preparação das microesferas, identificar a presença de polimorfos e verificar a possível interação entre os componentes. As curvas DSC das formulações desenvolvidas são mostradas nas Figuras 14 e 15. A presença de um pico unicamente a 190°C, observado no termograma da CBZ, pode ser relacionada à velocidade empregada no aquecimento da amostra (Figura 14A) (LOWES *et al.*, 1987). A endoterma visualizada a 80° C neste mesmo termograma deve corresponder a uma pequena fração de CBZ na forma dihidrato geralmente presente no produto comercial. Quando a carbamazepina é adicionada à formulação, esta pode sofrer uma modificação no seu polimorfismo ou mesmo interagir com os demais componentes presentes. O deslocamento do ponto de fusão

do ABC30 de 155° C (Figura 14B) para aproximadamente 130° C (Figura 14C) pode ser observado.

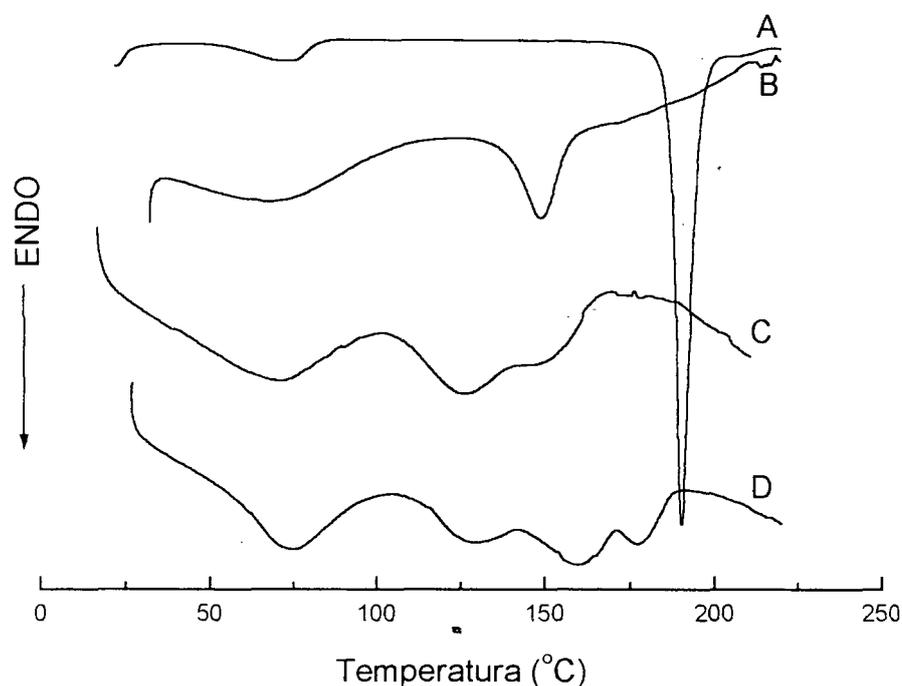


FIGURA 14. Termogramas de DSC obtidos para as amostras preparadas com ABC30. (A) carbamazepina pura; (B) microesferas brancas de ABC30; (C) microesferas de ABC30 contendo CBZ e (D) microesferas de ABC30 com adição de PEG 1500 e contendo CBZ.

No termograma das microesferas de ABC30 preparadas com adição de PEG 1500 e contendo CBZ (Figura 14D), a endoterma situada em torno de 177° C indica a fusão da CBZ presente na forma de cristais de agulha. A ausência de endoterma na faixa de 44° C, característica da fusão do PEG 1500 indica que este componente não está presente na partícula, tendo migrado para a fase externa durante a etapa de eliminação do solvente.

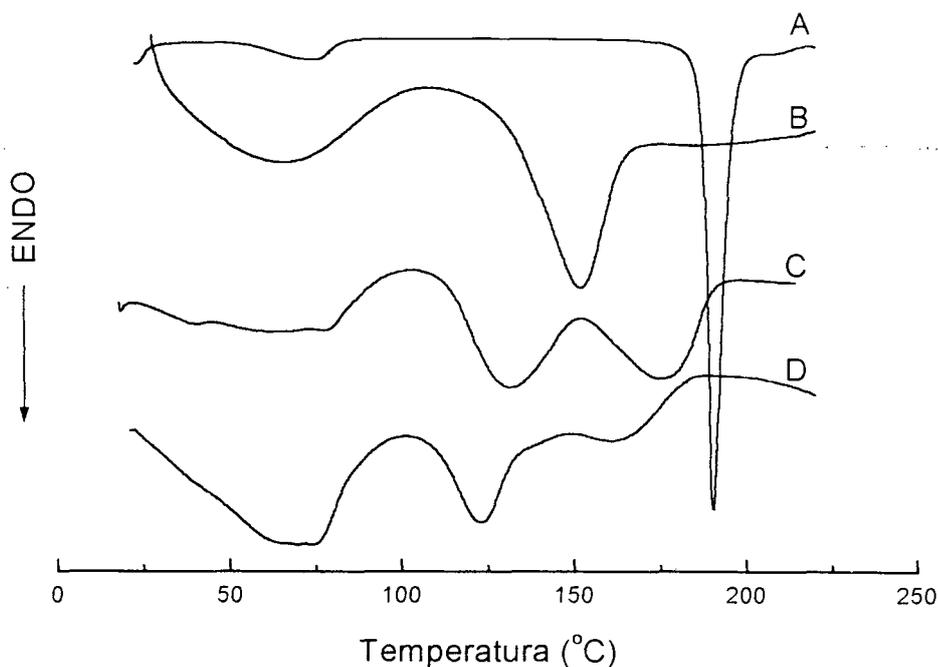


FIGURA 15. Termogramas de DSC de : (A) CBZ; (B) microesferas brancas de ABC70; (C) microesferas contendo ABC70 e CBZ; (D) microesferas de ABC70 com adição de PEG 1500 contendo CBZ.

O ABC70 possui ponto de fusão em 195° C (EASTMAN, 2000). Conforme demonstrado na Figura 15B, com a formação de microesferas seu ponto de fusão diminuiu para 150° C. Com a adição do fármaco a fusão passou para 130° C sugerindo a presença de interação entre os dois componentes. Nas microesferas de ABC70 contendo CBZ observa-se novamente uma endoterma em 177° C referente à fusão da CBZ presente como cristais na forma de agulha. Na Figura 15D o pico endotérmico correspondente a fusão da CBZ (aprox. 165°C) é pouco significativo, indicando que o fármaco foi encoberto pela matriz polimérica fundida dificultando a detecção por DSC (WATTS, 1990). Neste mesmo termograma, novamente não foi

observado o ponto de fusão do PEG 1500, indicando a ausência deste nas microesferas de ABC70.

Estes eventos observados por DSC são melhor elucidados após análise das amostras por espectroscopia de absorção no infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os espectros das amostras obtidos através desta técnica podem ser visualizados nas Figuras 16 e 17.

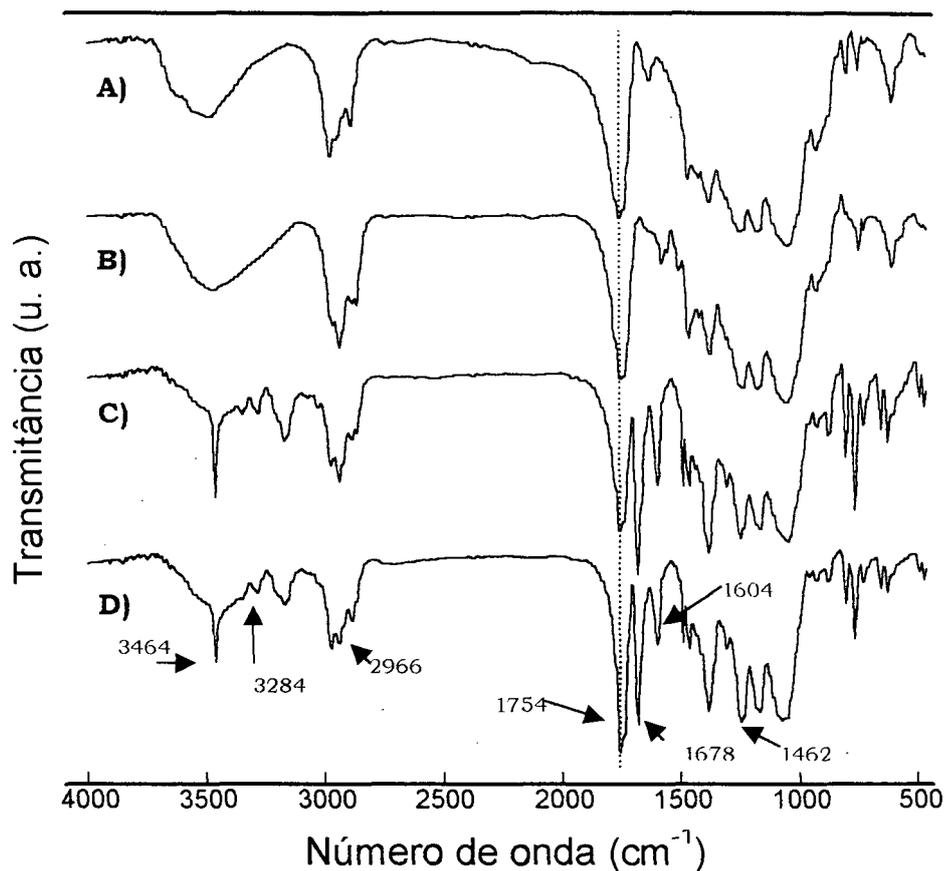


FIGURA 16. Espectros de infra-vermelho com transformada de Fourier de: (A) ABC30 puro; (B) Microesferas brancas de ABC30; (C) Microesferas de ABC30 contendo CBZ e (D) Microesferas de ABC30 com adição de PEG 1500 contendo CBZ.

Nos espectros mostrados na Figura 16 é possível identificar as bandas características dos componentes da formulação. Por exemplo, a banda em 1754cm^{-1} caracteriza a presença do grupo C=O do acetobutirato de celulose. Conforme observado esta banda não é afetada pela presença de componentes como CBZ e PEG, sugerindo a ausência de interações entre os componentes.

A carbamazepina pode ser identificada por várias bandas. A banda localizada em 3464 cm^{-1} representa o grupamento N-H da CBZ (polimorfo III). A presença desta banda indica a existência de CBZ dispersa na matriz polimérica confirmando o comportamento observado pela visualização das fotomicrografias por MEV. A banda situada em 3284 cm^{-1} caracteriza a presença de grupamentos N-H da carbamazepina ligados, provavelmente devido a formação de ligações de hidrogênio entre o grupo NH_2 deste fármaco e o grupo C=O do ABC. A formação de ligações de hidrogênio deve modificar a característica conformacional do sistema CBZ:PEG, favorecendo a formação de cristais de CBZ na matriz polimérica, conforme observado por MEV. Outras bandas características de CBZ estão relacionadas com os grupos C=O em 1678 cm^{-1} , C=C do anel aromático em 1604 cm^{-1} e C-H em 2966 e 1462 cm^{-1} .

O PEG tem bandas bem estabelecidas na região de 1450 cm^{-1} , 1110 cm^{-1} e 960 cm^{-1} . Na Figura 16D estas bandas não são observadas, sugerindo que o PEG 1500 não está presente na matriz das microesferas. Este resultado está em concordância com aqueles observados por MEV (formação de poros devido a solubilização do PEG) e DSC (ausências da T_m do PEG). Além desse aspecto, a presença de todos os picos característicos da CBZ no espectro de FTIR da formulação, indica que não existe complexação entre este fármaco e o PEG, conforme descrito na literatura (DOSHI *et al.*, 1997).

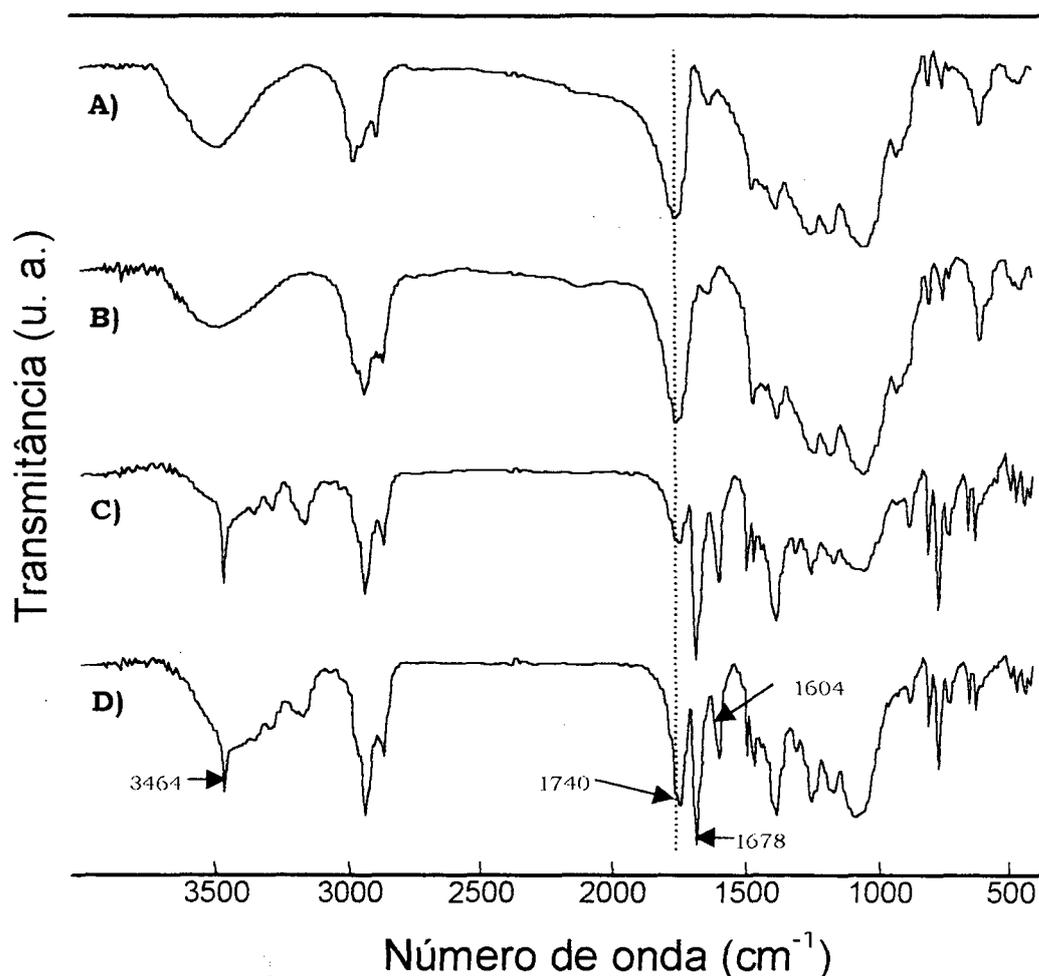


FIGURA 17. Espectros de infravermelho com transformada de Fourier de: (A) ABC70 puro; (B) Microesferas brancas de ABC70; (C) Microesferas de ABC70 contendo CBZ e (D) Microesferas de ABC70 com adição de PEG 1500 contendo CBZ.

A Figura 17 mostra os espectros de FTIR das amostras preparadas com ABC70. Com a adição de componentes, a banda correspondente ao grupo C=O do ABC70 em 1740 cm⁻¹, sofre um pequeno deslocamento de 16 cm⁻¹, sugerindo interação entre o grupo carbonila do ABC70 e o grupo NH₂ da CBZ. Adicionalmente, na amostra de microesferas de ABC70 contendo CBZ (Figura 17C) a intensidade desta banda está reduzida sugerindo a interação acima mencionada, que deve ocorrer através de ligações de hidrogênio. Esta interação parece ser mais acentuada

com o ABC de maior peso molecular justificando o maior deslocamento no ponto de fusão para o ABC70 em comparação com o ABC30, observado nos termogramas de DSC.

As bandas características da carbamazepina observadas nos espectros da Figura 16 encontram-se também presentes nas microesferas de ABC70. Novamente não é possível perceber a existência de bandas características do PEG 1500 confirmando a sua ausência também nestas microesferas.

4.3.3. Avaliação da velocidade de liberação da carbamazepina a partir das microesferas.

A determinação da velocidade de dissolução de fármacos apresenta várias aplicações. Os resultados obtidos podem ser empregados com o objetivo de: controlar a qualidade do produto manufaturado assegurando a constância do perfil de liberação, elucidar a estrutura do sistema bem como os mecanismos envolvidos na liberação, ou ainda prever a conduta deste sistema *in vivo*.

A liberação de um fármaco a partir de uma microesfera consiste na combinação de várias etapas de transferência do mesmo entre os diferentes sítios da partícula, conforme demonstrado na Figura 18. O fármaco se desloca através da microesfera por meio de um fenômeno de difusão pelos poros ou por entre as cadeias poliméricas alcançando a superfície até atravessar a camada interfacial em direção à fase contínua. Se disperso na matriz polimérica na forma de cristais, necessita ser previamente dissolvido, sendo a capacidade de hidratação da partícula importante nestas situações. Conseqüentemente, a velocidade determinada experimentalmente é o resultado do conjunto destes processos, embora apenas um seja considerado

limitante, dominando a cinética de liberação. O mecanismo de liberação do fármaco torna-se mais complexo quando a degradação da microesferas ocorre concomitantemente com o fenômeno de difusão (WASHINGTON, 1996).

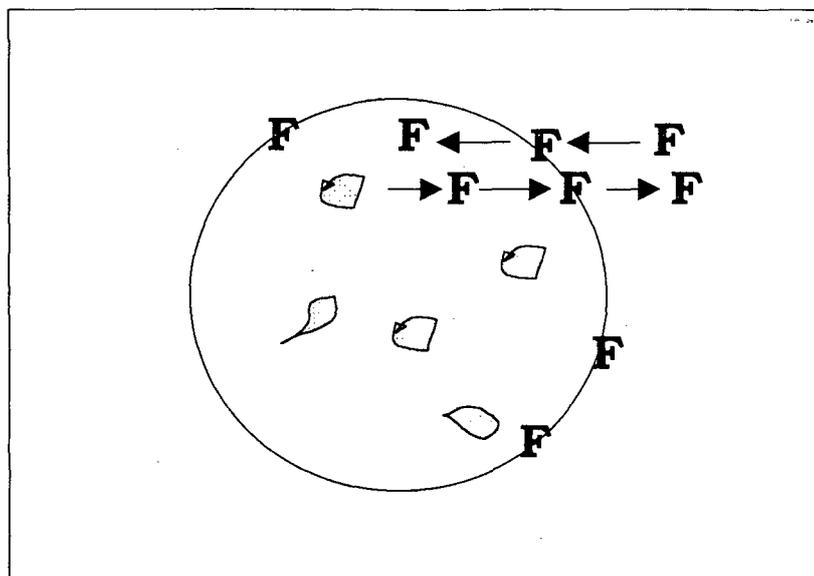


FIGURA 18. Representação dos sítios de distribuição do fármaco em uma microesfera durante o processo de liberação (WASHINGTON, 1996).

Algumas destas etapas de transferência podem ser descritas em sentido contrário, se a concentração do fármaco no meio de liberação é suficientemente alta. Nestas condições, o equilíbrio natural do fenômeno de difusão será atingido e, para evitá-lo, o emprego de condições *sink* torna-se desejável, simplificando a interpretação dos dados experimentais. Para a obtenção de condições perfeitamente *sink* preconiza-se que a concentração máxima de fármaco dissolvida na fase contínua não exceda 10% da sua concentração à saturação. (CLIVE WASHINGTON, 1996).

Para fármacos pouco ou muito pouco solúveis, a concentração no meio de dissolução pode facilmente aproximar-se da concentração à saturação. Nestes

casos, recorre-se muitas vezes ao emprego de substâncias auxiliares que, quando adicionadas à fase contínua, conduzem à obtenção de condições *sink*. Entre estas substâncias encontram-se os tensoativos que promovem a liberação do fármaco, seja por aumentar a sua solubilidade, seja por permitir a maior penetração do solvente na micropartícula. Além disso, a inclusão de tensoativos no meio de dissolução produz uma tensão interfacial mais representativa dos fluidos biológicos (WATTS *et al.*, 1990).

O teste de dissolução das formulações desenvolvidas foi realizado conforme descrito em 3.2.3.3. O meio de dissolução preconizado pela USP XXIII para a carbamazepina é uma solução de lauril sulfato de sódio 1 % (p/V). Esta substância apresenta propriedades solubilizantes, aumentando a concentração máxima do fármaco em solução (JUNG *et al.*, 1997). A solubilidade da carbamazepina neste meio foi determinada experimentalmente, tendo sido verificado que a quantidade de fármaco total presente nas microesferas correspondia aproximadamente a 7 % de sua concentração à saturação, não limitando assim o processo de dissolução.

Os resultados obtidos no teste de dissolução, expressos em percentagem de fármaco liberado *versus* tempo (minutos), são demonstrados na Figura 19. Nestes resultados observa-se que o emprego de ABC30 conduz à liberação mais rápida da carbamazepina, quando comparado com as microesferas preparadas a partir do ABC70. A diferença na velocidade de liberação proporcionada pela utilização de acetobutirato de celulose de diferentes pesos moleculares pode ser nitidamente visualizada nos lotes em que o PEG 1500 foi adicionado à formulação. Neste caso, enquanto as microesferas de ABC30 conduziram à liberação de 80-100 % do fármaco encapsulado após 12 horas de ensaio, as microesferas de ABC70 conduziram à liberação de apenas 13 % de CBZ no mesmo período. Este resultado

pode estar associado com a obtenção de partículas de menor tamanho proporcionada pela utilização do ABC30, como discutido anteriormente (Tabela 7, formulação 1 e 3), ou ainda, com a diferença de permeabilidade decorrente do menor peso molecular do polímero. Geralmente, quanto maior o diâmetro médio da partícula, maior será o caminho que o fármaco deverá percorrer até atingir a fase contínua e menor será, portanto, a velocidade com que isto ocorre.

Por outro lado, quando os perfis obtidos a partir das microesferas preparadas a partir do polímero com mesmo peso molecular são comparados, verifica-se que a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão conduz ao aumento da velocidade de liberação da CBZ. Apesar de apresentar um diâmetro médio de partícula levemente superior, as microesferas preparadas a partir da mistura ABC30/PEG 1500 (formulação 3, Tabela 7) proporcionaram uma velocidade de liberação significativamente maior que àquelas preparadas unicamente a partir do ABC30. Este resultado está associado, provavelmente, com o aumento da porosidade e formação de canais internos na microesfera proporcionados pela adição de PEG 1500, conforme observado nas fotomicrografias obtidas por MEV (KHIRD *et al.*, 1998).

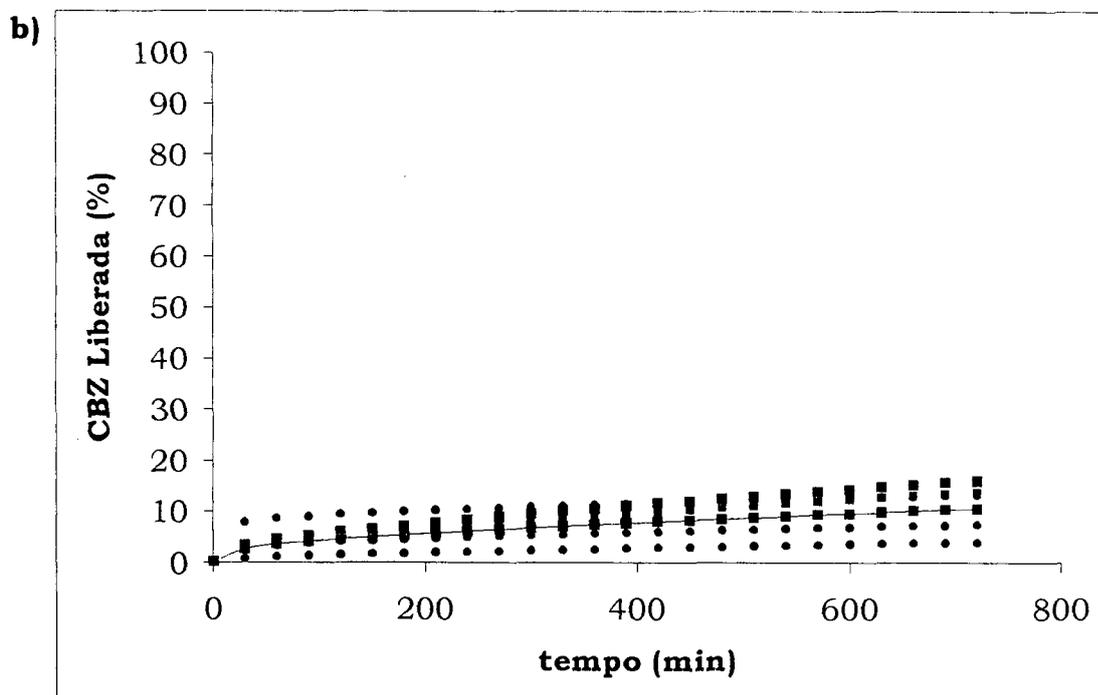
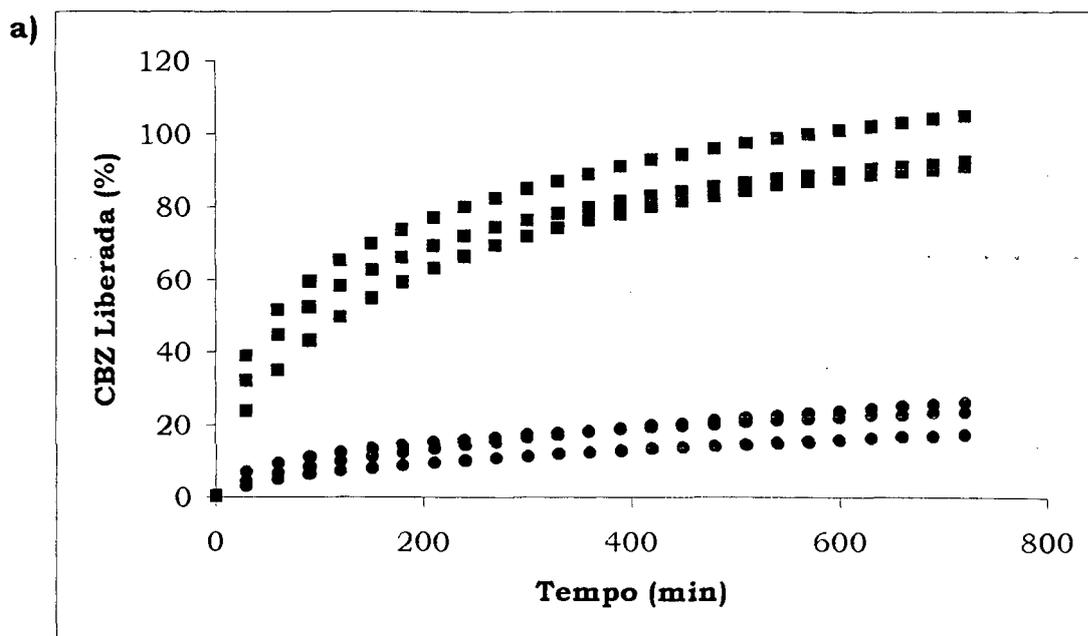


FIGURA 19. Perfis de liberação da carbamazepina a partir de microesferas preparadas com: a) ABC30 e b) ABC70. (■) Com a adição de PEG 1500 e (●) sem PEG 1500 na fase interna.

Vários modelos matemáticos podem ser empregados na tentativa de melhor caracterizar o perfil de liberação do fármaco a partir de um sistema de liberação. O modelo mais simples assume que o fármaco é liberado a partir de uma matriz homogênea com um coeficiente de difusão constante. Neste caso, a velocidade de liberação inicial é inversamente dependente do tamanho da partícula e proporcional a raiz quadrada do tempo. Esta relação, primeiramente proposta por Higuchi (1963), pode ser aplicada para várias formas farmacêuticas. Entretanto, as micropartículas passam a ser consideradas sistemas heterogêneos quando: (i) a cristalinidade da matriz varia em diferentes sítios da partícula, (ii) a presença de cristais de fármacos é visualizada, ou quando (iii) a difusão do fármaco é tão lenta que a degradação da microesfera torna-se fator limitante para liberação. Neste caso, o modelo de Banker-Lonsdale é melhor aplicado na modelagem do perfil de liberação (WASHINGTON, 1996; COSTA and LOBO, 2001).

O modelo de Banker-Lonsdale é descrito como sendo:

$$3/2[1-(1-F)^{2/3}] - F = Kt$$

onde:

F = é a fração de fármaco liberado no tempo t;

K = é a constante de Baker-Lonsdale = $(3DC_s/r^2 C_o)$ onde:

D = é o coeficiente de difusão;

C_s = solubilidade do fármaco na matriz esférica;

r = raio da microesfera;

C_o = concentração inicial do fármaco na matriz esférica.

A Figura 20 e a Tabela 8 demonstram respectivamente os gráficos e os dados de regressão estimados após a aplicação do modelo de Baker-Lonsdale nos perfis de dissolução da carbamazepina a partir das microesferas.

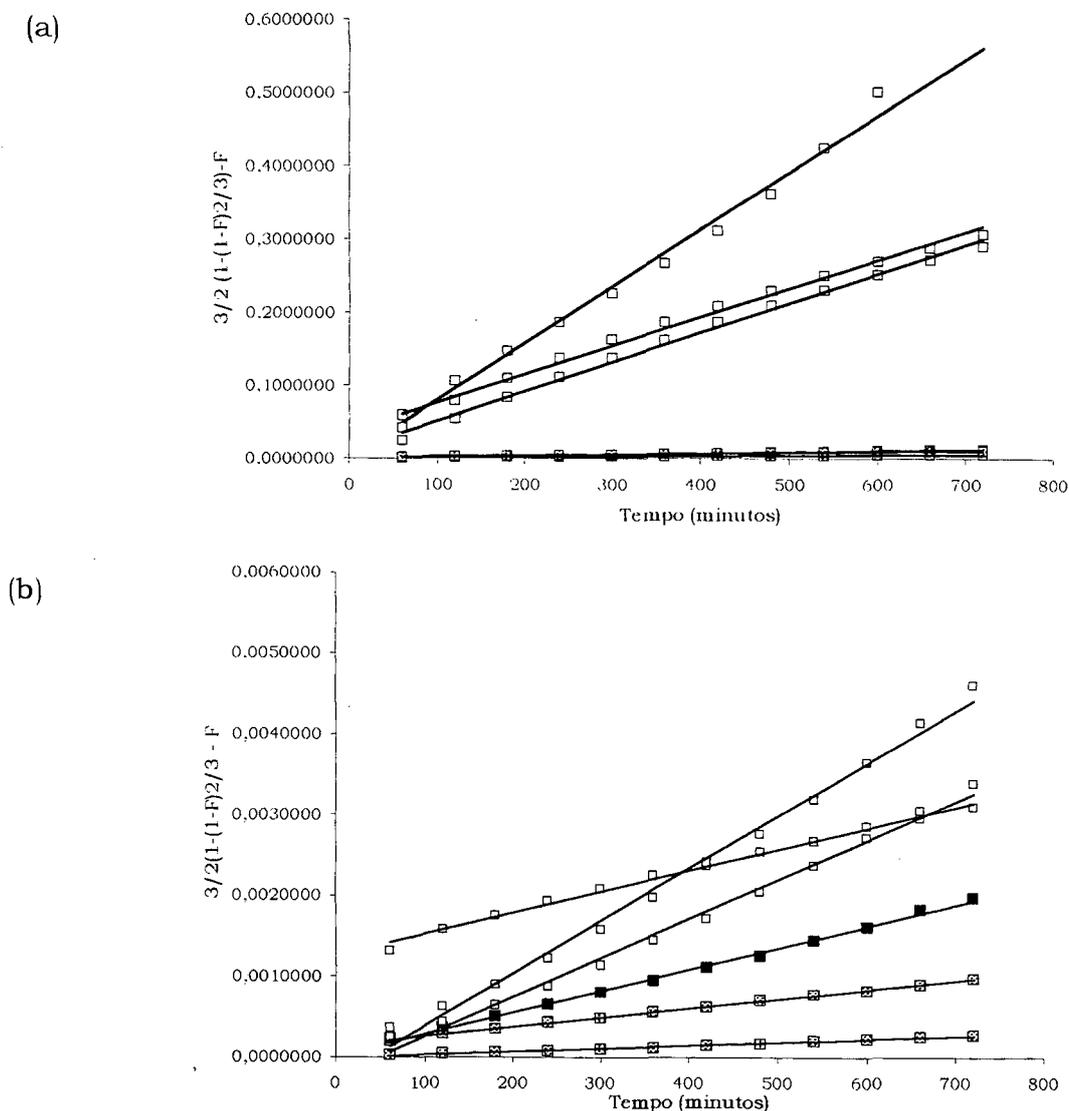


FIGURA 20. Perfis de liberação da CBZ obtidos após aplicação do modelo de Baker-Lonsdale. (a) Microesferas de ABC30 e (b) ABC70. (■) sem a adição de PEG 1500 e (□) com a adição de PEG 1500.

TABELA 8. Dados de regressão obtidos após aplicação do modelo de Baker-Lonsdale nos perfis de dissolução da CBZ a partir das microesferas

Formulação (n = 3)	Coefficiente de correlação (R ²)	Inclinação da reta	Intercepto
1	0,9998	0,0005	6x10 ⁻⁸
	0,9987	0,0011	0,0006
	0,9943	0,0008	0,0012
2	0,9988	7x10 ⁻⁵	0,0001
	0,9932	0,0002	0,0013
	0,9920	2x10 ⁻⁵	1x10 ⁻⁵
3	0,9948	0,0241	0,0108
	0,9885	0,0437	0,0144
	0,9897	0,0234	0,0369
4	0,9973	0,0002	2x10 ⁻⁵
	0,9925	0,0004	0,0003
	0,9925	0,0003	0,0002

O coeficiente de correlação > 0,99 obtido após a linearização dos perfis de dissolução das formulações 1 e 2, nas quais o PEG não foi adicionado à fase interna da emulsão, indicam que a liberação da carbamazepina segue este modelo. Neste caso, a liberação do fármaco ocorreu principalmente por meio de um fenômeno de difusão pelos poros ou por entre as cadeias poliméricas. A integridade das partículas após ensaio de dissolução foi mantida (Figura 22), confirmando este resultado. Para as microesferas obtidas com ABC30 e com a adição de PEG 1500 (formulação 3), um leve desvio da linearidade foi observado. Além disso, altos valores de intercepto foram encontrados refletindo a rápida liberação inicial, característica da presença de fármaco na superfície das partículas (Figura 11 a e b), (CHIAO and PRICE, 1994). Este resultado não poderia ser aplicado para a formulação 4, visto que apesar das microesferas preparadas a partir de ABC70 com a adição de PEG 1500 apresentarem uma grande quantidade

de cristais na superfície (Figura 11 c e d), os valores de intercepto foram muito pequenos. Entretanto, o baixo percentual de fármaco liberado após 12 horas pode ter dificultado a elucidação do mecanismo de liberação da carbamazepina.

O conjunto dos resultados indica que perfis de dissolução mais adequados para uma administração oral da CBZ são obtidos quando o ABC30 e a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão foram testados. As microesferas preparadas nestas condições demonstram um perfil de dissolução mais próximo daquele obtido a partir da forma farmacêutica de liberação prolongada comercialmente disponível (Figura 21). As baixas velocidades verificadas nas outras formulações impediria a liberação completa do fármaco antes do esvaziamento do conteúdo do trato gastrointestinal.

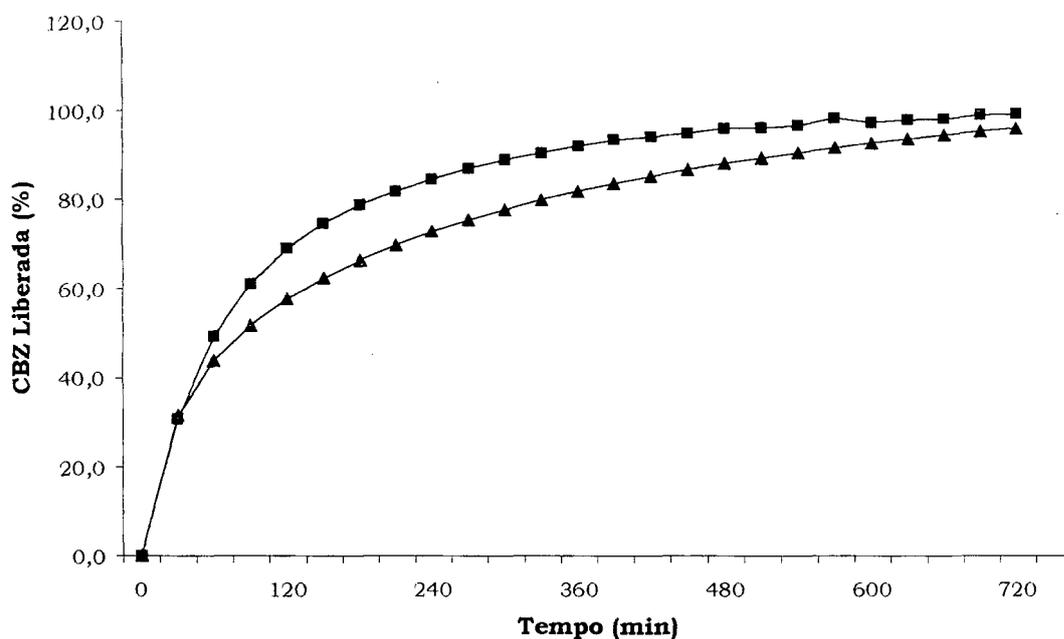


Figura 21. Perfis de dissolução da CBZ a partir das:(▲) microesferas de ABC30 obtidas com a adição de PEG 1500 e (■) forma farmacêutica de liberação prolongada comercialmente disponível (Tegretol® CR 200).

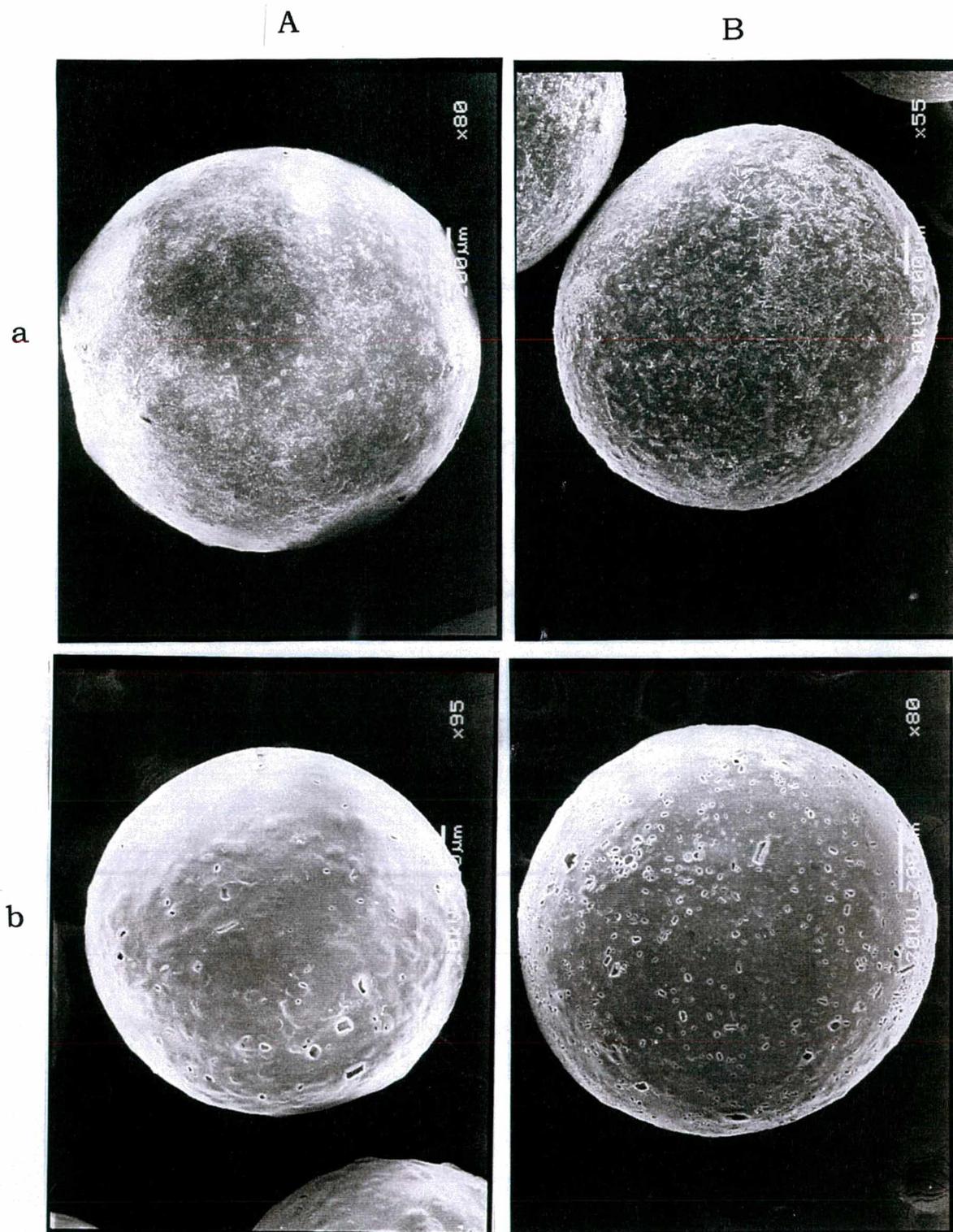


FIGURA 22. Fotomicrografias obtidas por MEV a partir das microsferas de ABC70 (A) sem a adição e (B) com a adição de PEG 1500 (a) antes e (b) após o ensaio de dissolução.

4.3.4. Análise estatística da influência do peso molecular do acetobutirato de celulose e da adição de PEG 1500 sobre o diâmetro médio das partículas e velocidade de liberação do fármaco.

A aplicação de planos de experimentação é freqüentemente utilizada para a otimização de formulações farmacêuticas, possibilitando avaliar a influência de diversos fatores e suas interações sobre uma determinada resposta realizando um número mínimo de experimentos. Neste estudo, um delineamento fatorial do tipo 2² foi realizado com o objetivo inicial de avaliar a influência de dois parâmetros de formulação - peso molecular do ABC e adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão - sobre a velocidade de liberação do fármaco, expressa em valores de área sob a curva. Ambas, permeabilidade da partícula, dependente do peso molecular do polímero, e presença de poros, proporcionada pela adição de PEG 1500, afetariam a velocidade de liberação da CBZ.

Entretanto, conforme verificado em 4.3.2.2, a utilização de ABC de maior peso molecular conduziu igualmente a aumento no diâmetro médio das microesferas, decorrente do aumento da viscosidade da solução empregada como fase interna. Tendo em vista, que o tamanho das microesferas influencia diretamente a velocidade com que o fármaco é liberado (ARABI *et al.*, 1996), a avaliação da influência dos fatores estudados sobre o diâmetro da partícula foi igualmente realizada. O tratamento das respostas obtidas nesta análise podem ser visualizadas nas Tabelas 9 e 10.

TABELA 9. Tratamento das respostas obtidas na análise fatorial do diâmetro médio das partículas (μm).

	Fator A				Total	
	Inferior (-)		Superior (+)			
Fator B	Inferior (-)	373,40		1086,60		4465,20
		424,30	1176,30	1469,00	3288,90	
		378,60		733,30		
	Superior (+)	498,00		1301,04		5226,38
		527,06	1528,13	1190,93	3698,25	
		503,07		1206,28		
Total	2704,43		6987,15		9691,58	

Fator A = peso molecular do polímero - 30000 (-); 70000 (+);
 Fator B = adição de PEG - sem adição (-); com adição (+)

TABELA 10. Análise de variância realizada no estudo da influência dos fatores de formulação sobre o diâmetro médio das partículas (μm).

Causas de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Média dos Quadrados	Teste F
A	1528474,21	1	1528474,21	43,68 *
B	48282,91	1	48282,91	1,38
A x B	275,72	1	275,72	0,008
Tratamento	1577032,84	3	525677,61	
Resíduo	279932,15	8	34991,52	
Total	1856964,99	11		

A = Peso molecular do ABC (30000 ou 70000); B = adição de PEG 1500 (não ou sim); A x B = interação entre os fatores; GL = graus de liberdade; $F_{\text{tabelado}}(3;8; \alpha = 0,05) = 4,07$; * Significativo $\alpha = 0,05$.

Como pode ser observado, o valor de F é significativo unicamente para o fator A, quando comparado com o valor de $F_{3,8}$ tabelado de 4,07, para um nível de significância de 5 %. Neste caso, portanto, a mudança do peso molecular do polímero de 30000 para 70000 influenciou no diâmetro médio das microesferas, conforme indicado em 4.3.2.2. Entretanto, esta característica não foi significativamente afetada pela adição de PEG 1500 às formulações. A interação entre os dois fatores não foi observada.

O tratamento das respostas obtidas no delineamento fatorial e a análise da variância realizada no estudo da influência do peso molecular do ABC e da adição de PEG 1500, sobre a velocidade de liberação da CBZ são demonstradas nas Tabelas 11 e 12, respectivamente.

TABELA 11. Tratamento das respostas obtidas na análise fatorial da velocidade de liberação da carbamazepina.

		Fator A		Total
		Inferior (-)	Superior (+)	
Fator B	Inferior (-)	8349	4026	46684,5
		12261 32962,5	7858,5 13722	
	12352,5	1837,5		
	49992	5113,5		
Superior (+)	59694 162774	7321,5 18709,5	181483,5	
	53088	6274,5		
	Total	195736,5	32431,5	228168

Fator A = peso molecular do polímero - 30000 (-); 70000 (+);

Fator B = adição de PEG - sem adição (-); com adição (+)

TABELA 12. Análise de variância realizada na avaliação da influência dos fatores de formulação sobre a velocidade de liberação da CBZ.

Causas de Variação	Soma dos Quadrados	GL	Média dos Quadrados	Teste F
A	2222376918,73	1	2222376918,73	220,63 *
B	1514230866,73	1	1514230866,73	150,33 *
A x B	1298419248,04	1	1298419248,04	128,91 *
Tratamento	5035027033,5	3	1678342344,5	
Resíduo	80580936,25	8	10072617,03	
Total	5115607969,75	11		

A = Peso molecular do ABC (30000 ou 70000); B = Adição de PEG 1500 (não ou sim); A x B = interação entre os fatores; GL = graus de liberdade; $F_{\text{tabelado}}(3;8; \alpha = 0,05) = 4,07$; * Significativo $\alpha = 0,05$.

Como pode ser observado, os valores de F foram significativos para ambos os fatores A e B, quando comparados com o valor de $F_{3,8}$ tabelado de 4,07, para um nível de significância de 5 %. Desta maneira, ambos parâmetros de formulação

estudados afetaram significativamente a velocidade com que a CBZ é liberada a partir das microesferas.

Contrariamente ao caso anterior, a presença de interação entre os dois fatores foi observada, uma vez que o valor de F para a interação AxB também foi significativo para um $\alpha = 0,05$. O nível desta interação pode ser determinado através do teste de TUKEY que compara os níveis de B dentro de A e os níveis de A dentro de B. Para este teste utiliza-se do valor da diferença mínima significativa (d.m.s.), calculado pela seguinte fórmula:

$$d.m.s. = q \times \sqrt{\frac{QMR}{n}}$$

onde: QMR é o quadrado médio do resíduo da análise de variância;

n é o número de repetições de cada um dos tratamentos;

q é o valor dado na tabela ao nível de significância estabelecido.

De acordo com este teste, duas médias são estatisticamente diferentes toda vez que o valor absoluto da diferença entre elas for igual ou maior que a d.m.s. Neste caso, o valor de diferença mínima significativa (d.m.s.) após aplicação do teste de Tukey foi igual a 8300,58, para um valor de "q" igual a 4,53. As diferenças entre as médias de área sob a curva para cada um dos tratamentos podem ser visualizadas na Tabela 13.

TABELA 13. Médias das áreas sob a curva obtida para cada um dos tratamentos e valores absolutos das diferenças das médias.

		Fator A		Diferença entre as médias
		A (-)	A (+)	A (-) - A (+)
Fator B	B (-)	10987,5	4574	6413,5
	B (+)	54258	6236,5	48021,5 *
Diferença	B (-) - B (+)	43270,5 *	1662,5	

Fator A = Peso molecular do ABC, 30000 (-) ou 70000 (+); Fator B = adição de PEG, não (-) ou sim (+).

De acordo com os resultados demonstrados na Tabela 13, pode-se concluir que para as microesferas preparadas a partir do ABC30, a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão conduziu ao aumento da velocidade de liberação de CBZ. Este aumento parece estar associado unicamente com a adição de PEG 1500, uma vez que este parâmetro não exerceu influência sobre o diâmetro médio da microesfera. Ao contrário, o leve aumento observado no tamanho da partícula conduziria à redução da velocidade de liberação. Para microesferas preparadas a partir de ABC70, a influência da adição do PEG 1500 sob a velocidade de liberação não foi observada.

Por outro lado, o teste de Tukey revela que o fator peso molecular do polímero teve influência significativa sobre a velocidade de liberação do fármaco nas formulações contendo PEG 1500. Assim sendo, para as microesferas preparadas sem a adição de PEG, a alteração do polímero ABC30 para ABC70, não afetou significativamente os valores de área sob curva obtidos a partir dos perfis de dissolução, demonstrando uma liberação lenta nos dois casos. A diferença entre as médias das áreas sob as curvas observada pode ser explicada pela diferença nos diâmetros médios verificados entre as microesferas preparadas a partir destes polímeros. Contrariamente, para as partículas preparadas na presença de PEG

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

significativamente a velocidade de liberação da CBZ, apesar do diâmetro das partículas obtidas serem consideravelmente diferentes.

- ◆ A adição de polietilenoglicol nas formulações de microesferas de ABC70 não conduziu a mudanças significativas na velocidade de liberação da CBZ.
- ◆ A alteração do peso molecular do ABC de 70000 para 30000 e a adição de PEG 1500 às formulações conduziu ao aumento significativo na velocidade de liberação do fármaco, caracterizando a presença de interação entre os dois fatores estudados.
- ◆ O aumento da velocidade de liberação da CBZ a partir das microesferas de ABC30 preparadas na presença de PEG 1500 foi associado a maior porosidade da partícula sem excluir a contribuição da fração de fármaco adsorvido na superfície nos perfis de dissolução.
- ◆ Perfis de dissolução mais próximos ao encontrado pela forma farmacêutica comercialmente disponível foi verificado nas microesferas de ABC30 preparadas na presença de PEG 1500.

- ◆ O emprego de ABC70 conduziu ao aumento significativo do diâmetro médio das partículas quando comparado com àquelas obtidas a partir do emprego de ABC30.
- ◆ As microesferas preparadas com ABC30 apresentaram superfície mais rugosa quando comparadas àquelas preparadas com ABC70.
- ◆ As microesferas preparadas na presença de polietilenoglicol 1500 apresentam-se mais porosas que as microesferas preparadas na ausência do mesmo.
- ◆ Em todas as formulações estudadas, a eficiência de encapsulação e o teor de carbamazepina ficaram em torno de 60-70% e 20mg/ 100mg, respectivamente.
- ◆ A carbamazepina foi encontrada nas microesferas na forma de cristais prismáticos ou agulhas, conforme foi observado pela técnica de MEV e indicado por DSC e FTIR.
- ◆ A presença de cristais de carbamazepina em forma de agulha na superfície das partículas foi observada nas microesferas preparadas com adição de PEG 1500, evidenciando que este polímero afeta o modo de associação do fármaco.
- ◆ A ausência do PEG 1500 na estrutura final das microesferas foi evidenciada nas análises obtidas pelo emprego das técnicas de MEV, DSC e FTIR.
- ◆ No delineamento estatístico do tipo fatorial 2x2 a alteração do peso molecular do ABC nas microesferas preparadas na ausência de PEG 1500, não afetou

- ◆ A preparação de microesferas de acetobutirato de celulose pela técnica de emulsificação/evaporação do solvente, empregando-se a acetona e a vaselina líquida como solventes das fases interna e externa, respectivamente, mostrou-se viável.
- ◆ A obtenção de microesferas a partir da associação de acetobutirato de celulose e polietilenoglicol, sem a redução do teor de fármaco na partícula foi conseguida com a adição de 10 % de polietilenoglicol 1500 em relação a massa total de polímero das formulações.
- ◆ Partículas preparadas unicamente com ABC70 demonstraram-se esféricas e de superfície lisa e compacta, enquanto o emprego de blendas de ABC70:PEG 1500 (1:1) e ABC70:PEG 4000 (3:1) deu origem a microesferas mais rugosas e porosas.
- ◆ O emprego de blendas de ABC70 e PEG 4000 na proporção de 1:1 conduziu à perda da forma esférica da partícula.
- ◆ O diâmetro médio das partículas aumentou cerca de 2 vezes com o aumento da concentração do ABC70 na fase interna da emulsão de 2,5 para 5% (p/V).
- ◆ Estudos preliminares indicaram o potencial da associação ABC70:PEG1500 (9:1) em modular a velocidade de liberação da carbamazepina sem comprometer a eficiência de encapsulação e a forma esférica da partícula.

5. CONCLUSÕES

1500, a utilização de ABC30 proporcionou uma liberação mais rápida da CBZ quando comparada com a liberação obtida a partir das microesferas de ABC70.

Concluindo, o conjunto dos resultados obtidos nesta análise estatística demonstra que a adição de PEG 1500 na fase interna da emulsão apresenta o potencial de modular a liberação da carbamazepina unicamente a partir das microesferas de ABC30, caracterizando a interação entre os dois fatores estudados. Estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos após visualização das partículas por MEV, no qual indicam que o aumento da velocidade ocorre por meio do aumento da porosidade da matriz polimérica. Entretanto, não deve ser excluída a contribuição da fração de CBZ adsorvida às partículas sobre os perfis de dissolução.

- extration/evaporation method. **Journal of Controlled Release**, v. 17, p. 187-198, 1995.
- LEPPIK, I. E., SCHMIDT. Consensus statement on compliance in epilepsy. **Epilepsy Res**, v. 1, p. 179-182, 1988.
- LINHARD, R. Biodegradable polymers for controlled release of drugs In: ROSOFF, M. **Controlled release of Drugs: Polymers and aggregate systems**. New York: VCH Publisher Inc. 1988. p.53-85.
- LOONEN, A J. M., TOLL P. J. M. M., NIJDAM, J. R. A comparison of carbamazepine divitabs with carbamazepine normal formulation in psychiatric and oligophrenic patients. Preliminary pharmacokinetic results. **Pharm Weekbl**, v. 11, p. 23-26, 1989.
- LOWE, D. R.; FULLER, S. H.; PESKO, L. J.; GARNETT, W. R.; KARNES, H. T. Stability of carbamazepine suspensions after repackaging into four types of single-dose containers. **Am. J. Hosp. Pharm**, v.46, n.5, p. 982-984, 1989.
- LOWES, M. M. J., CAIRA, M. R., LÖTTER, A P. and Van Der WATTS, J. G. Physicochemical properties and X-ray structural studies of the trigonal polymorph of carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, n. 9, p. 744-752, 1987.
- Mc EVOY, G. (Ed). Information AHFS Drug. American Society of Health System Pharmacists. Bethesda, 2000.
- MOLDENHAUER, M. G. and NAIRN, J. G. The effect of rate of evaporation on the coat structure of ethylcellulose microcapsules. **Journal of Controlled Release**, v. 17, p. 49-60, 1991.
- NAGAREYVA, N., UCHIDA, T., MATSUYAMA, K Preparation and characterization of enteric microspheres containing bovine insuline by a w/o/w emulsion solvent evaporation method. **Chem. Pharm. Bull.** v. 46, n. 10, p. 1613-7, 1998.
- NARASIMHAN, B. and PEPPAS, N. A Molecular analysis of drug delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 3, p. 297-304, 1997.
- OGAWA, Y., YAMAMOTO, M., OKADA, H., YASHIKI, T., SHIMAMOTO, T. A new technique to efficiently entrapment leuprolide acetate into microcapsules of polyactic acid or copoly (lactic/glycolic) acid. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 36, p. 1095, 1988.
- PRISTA, L. N., ALVES, A C., MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica. 5ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996, v.2, 662p.
- PYNNONEN, S. Pharmacokinetics of carbamazepine in man: a review. **Ther Drug Monit**, v. 1, p. 409-431, 1979.
- RADWAN, M. A, PRICE, J. C. e TACKETT, R. L. *In vitro* release of disopyramide from cellulose acetate butyrate microspheres. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, n. 21, v.12, p. 1453-1462, 1995.

- JOHNSON, F. N., BRODIE, M. J. Pharmacokinetics of carbamazepine: implications form clinical use. **Rev Contemp Pharmacother**, v. 1, p. 85-98, 1990.
- JOHNSON, S. & JOHNSON, F. N. Revisões em Farmacoterapia Contemporânea. Carbamazepina: Uma Reavaliação. 1ª edição. São Paulo: Novartis, 1997, 150p.
- JUNG, H., MILÁN, R. C., GIRARD, M. E., LEÓN, F., MONTOYA, M. A Bioequivalence study of carbamazepine tablets: in vitro/in vivo correlation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 152, p. 37-44, 1997.
- KATZHENDLER, I., AZOURY, R. and FRIEDMAN, M. Cristalline properties of carbamazepine in sustained release hydrophilic matrix tablets based on hydroxypropyl methylcellulose. **Journal of Controlled Release**, v. 54, p. 69-85, 1998.
- KHAWLA, A A, CONTRERAS, L. G. and LU, D. R. Preparation and Evaluation of Sustained Release AZT-loaded Microspheres: Optimization of the Release Characteristics Using Response Surface Methodology. **Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 85, n. 2, p. 144-149, 1996.
- KHIDR, S. H., NIAZY, E. M., and EL-SAYED, Y. M. Preparation and in-vitro evaluation of sustained-release metoclopramide hydrochloride microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 12, n. 6, p. 651-660, 1995.
- KHIDR, S. H., NIAZY, E. M., e EL-SAYED, Y. M. Development and in-vitro evaluation of sustained-release meclufenamic acid microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 15, n. 2, p. 153-162, 1998.
- KITAJEMA, M., KONDO, N. MORISHITA, M. and ABEL, J. **U.S. Patent**, v.3, p.714, 1973.
- KOBAYASHI, Y., ITO, S., ITAI, S. e YAMOTO, K. Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 193, p. 137-146, 2000.
- KODAMA, Y., TSUTSUMI, K., KURANARI, M. In vivo binding characteristics of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide to serum proteins in paediatric patientes with epilepsy. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 44, p. 291-293, 1993.
- KOROLKOVAS, A Dicionário Terapêutico Guanabara. Ed. 1998/1999. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, 1.14.
- KUMAR, V. and BANKER, G. S. Chemically-modified cellulosic polymers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 1 e 2, p. 1-31, 1993.
- LACASSE, F.-X., HILFGEN, P., PERODIN, J., ESCHER, E., PHILLIPS, N. and McMULLER, J. N. Improved activity of new angiotensin receptor antagonist by an injetable spray-dried polymer microsphere preparation. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 7, p. 887-891, 1997.
- LI, W.I., ANDERSON, K. W. and DELUCCA, P. P. Kinetic and thermodynamic modeling of the formation of polumeric microspheres using solvent

- DOSHI, D. H., RAVIS, W. R., BETAGERI, G. V. Carbamazepine and polyethylene glycol solid dispersions: Preparation, in vitro dissolution and characterization. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 12, p. 1167-1176, 1997.
- EASTMAN Cellulose Esters for Pharmaceutical Drug Delivery. Disponível em: <http://www.eastman.com>. Acesso em dezembro de 2000.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1988.
- FELT, O, BURI, P. and GURNY R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24; n. 11, p. 979-993, 1998.
- FORD, J. L., TIMMINS, P. Pharmaceutical thermal analysis. Techniques and applications. England: Ellis Horwood Limited, 1989.
- FRESTA, M., CAVALLARO, G., GIAMMONA, G., WEHRH, E., PUGLISI, G. Preparation and characterization of poliethyl-2-cyanoacrylate nanocapsules containing antiepileptic drugs. **Biomaterials**, v. 17, p. 751-758, 1996.
- GIUNCHEDI, P., CONTE, U., LA MANNA, A Carbamazepine modified release dosage form. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 17, n.13, p. 1753-1764, 1991.
- GIUNCHEDI, P., MAGGI, L., MANNA, A L. and CONTE, U. Modification of the dissolution behaviour of a water-insoluble drug, naftazone, for zero-order release matrix preparation. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 46, p. 476-480, 1994.
- GOHEL, M.C. and AMIN, A F. Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design. **Journal of Controlled Release**, v. 51, p. 115-122, 1998.
- HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 12, p. 1145-1149, 1963.
- HOLLINGER, M. A., RANADE, M. A. Role of polymers in drug delivery systems. In: **Drug delivery systems**. Boca Raton: CRC Press, 1996. p 53-94.
- HULSMAN, J., RENTMEESTER, PARYS, J. V., KLOSTERKOV-JENSEN, P. Intraindividual comparison between conventional Tegretol USP and two controlled release formulations release formulations: Tegretol CR Divitabs and Tegretol OROS. **Epilepsia**, v. 30, p. 63-69, 1989.
- IKINCI, G., ÇAPAN, S., SENEL, T., DALKARA and HINCAL A A Formulation and in vitro/in vivo investigation of carbamazepine controlled-release matrix tablets. **Pharmazie**, v. 54, n. 2, p. 139-141, 1999.
- JANI, G. K., GOHEL, M. C. Effects of selected formulation parameters on the entrapment of diclofenac sodium in ethyl cellulose microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 43, p. 245-250, 1997.

- BRITISH PHARMACOPOEIA. London: London Press, 1988.
- BROADHEAD, J., ROUAN, S. K. E., RHODES, C. T. The spray-drying of Pharmaceuticals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.
- BRODIE, M. J., FORREST, G. RAPEPORT, W. G. Carbamazepine-10,11-epoxide concentrations in epileptics on carbamazepine alone and in combination with other anticonvulsants, **Br J Clin Pharmacol**, v. 16, p. 730-747, 1983.
- BRODIE, M. J. and JOHNSON, F.N. A carbamazepina no tratamento das crises epilépticas: eficácia, farmacocinética e perfil de efeitos adversos. In: Revisões em farmacoterapia contemporânea. Carbamazepina: Uma reavaliação. 1ª ed. São Paulo: Novartis, 1997, 150p.
- CELEBI, N., ERDEN, N., TÜRKILMAZ, A The preparation and evaluation of salbutamol sulphate containing poly (acid-co-glycolic acid) microspheres with factorial design-based studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 136, p.89-100, 1996.
- CHIAO, C. S. L. and PRICE, J. C. Formulation, preparation and dissolution characteristics of propranolol hydrochloride microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v.11, n. 2, p. 153-159, 1994.
- CHIAO, C. S. and PRICE, J. Effect of compression pressure on physical properties and dissolution characteristics of disintegrating tablets of propranolol microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 11, n. 2, p. 161-170, 1994b.
- CONTIN, M., RIVA, R., ALBANI, F. Alpha-acid glycoprotein concentrations and serum protein binding of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in children with epilepsy. **Eur J Clin Pharmacol**, v.29, p. 211-214, 1985.
- COSTA, P. and LOBO, J. M. Avaliação das características de libertação de fármacos a partir de formas sólidas. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v. 50, n.1, p 42-49, 2000.
- COSTA, P., LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 123-133, 2001.
- CRISON, J. R., WEINER, N. D. and AMIDON, G. Dissolution medio for *in vitro* testing of water-insoluble drugs: effect of surfactant purity and electrolyte on *in vitro* dissolution of carbamazepine in aqueous solutions of sodium lauryl sulfate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 3, p. 384-388, março 1997.
- DHALLA, Z., BRUNI, J., SUTTON, J. A comparison of the efficacy and tolerability of controlled-release carbamazepine with conventional carbamazepine. **Can J Neurol Sci**, v. 18, p. 66-68, 1991.
- DEASY, P. B. Drug and The Pharmaceutical Sciences: Microencapsulation and Related Drug Process. New York: Marcel Dekker, 1984, 361p.
- DEF 98/99. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas. 27. Ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1999, 1093 p.

- ABOUL-ENEIN, H. Y., and AL-BADR, A. A. Carbamazepine. **Analytical Profiles of Drug Substances**, v.9, p. 87-106, 1980.
- ABU-IZZA, K., GARCIA-CONTRERAS, L. and LU, R. Preparation and evaluation of zidovudine-loaded sustained-release microspheres. 2. Optimization of multiple response variables. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 6, p. 572-576, junho 1996.
- ANSEL, H. C., POPOVICH, N. G., ALLEN, L. V. Dosage Form Design: Biopharmaceutical Considerations. In: **Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Systems**. Philadelphia: Williams & Wilkins, 1995. p. 55-98.
- ANTAL, I., ZELKÓ, R., RÖCZEY, N., PLACHY, J., RÁCZ, I. Dissolution and diffuse reflectance characteristics of coated theophylline particles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.155, p. 83-89, 1997.
- ARABI, H., HASHEMI, A and FOOLADI, M. Microencapsulation of allopurinol by solvent evaporation and controlled release investigation of drugs. **Journal of Microencapsulation**, v. 13, n. 5, p. 527-535, 1996.
- ARICA, B., ARICA, M. Y., KAS, H. S., HINCAL., A. A., HASIR, C. V. In vitro studies of enteric coated diclofenac sodium-carboxymethylcellulose microspheres. **Journal of Microencapsulation**, v. 13, n.6, p. 689-99, 1996.
- ARNAUD, P., BOUÉ, C. and CHAUMEIL, C. Cellulose acetate butyrate microparticles for controlled release of carbamazepine. **Journal of Microencapsulation**, v. 13, n. 4, p. 407-417, 1996.
- BAHL, Y. and SAH, H. Dynamic changes in size distribution of emulsion droplets during ethyl acetate-based microencapsulation process. **AAPS PharmSciTech**, v. 1, n.1 artigo 5, 2000. Disponível em: <http://www.pharmascitech.com>. Acesso em: 26 março de 2001.
- BATYCKY, R. P., HANES, J., LANGER, R. and EDWARDS, D. A. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 2, p. 1464-1477, 1997.
- BERTILSSON, L. Clinical pharmacokinetics of carbamazepine. **Clin Pharmacokinet**, v. 3, p. 128-143, 1978.
- BERTILSSON, L. and TOMSON, T. Clinical pharmacokinetics and pharmacological effects of carbamazepine and carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide. An update. **Clin Pharmacokinet**, v. 11, p. 177-198, 1986.
- BHARDWAJ, S. B., SHUKLA, A J. and COLLINS, C.C. Effect of varying drug loading on particle size distribution and drug release kinetics of verapamil hydrochloride microspheres prepared with cellulose esters. **Journal of Microencapsulation**, v. 12, n 1, p.71-81, 1995.
- BHEME, R., BROOKE, D. Heat of fusion measurement of a low melting polymorph of carbamazepine that undergoes multiple-phase changes during differential scanning calorimetry analysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 10, p. 986-990, 1991.

- RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. Drogas antiepiléptica e relaxantes musculares de ação central. In: Farmacologia.3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, p. 479,480.
- RAPEPRT, W. G., MACINNES, G. T., THOMPSON, G. G., FORREST, G., PARK, B. K., BRODIE, M. J. Hepatic enzyme induction and leucocyte delta-aminolaevulinic acid synthase activity: studies with carbamazepine. **Br J Clin Pharmacol**, v. 16, p. 133-137, 1983.
- REMY, C. Étude ouverte comparative de la carbamazepine et de la carbamazepine à libération prolongée dans l'épilepsie de l'adulte. **Press Med**, v. 19, p. 511-513, 1990.
- REYNOLDS, J. E. F. (Ed) Martindale. The extra Pharmacopoeia 29 ed. London: The Pharmaceutical Press, 1989, p.12-21.
- ROBSON, J. K.; SHARPLES, D. Photoirradiation products of cyproheptadine and carbamazepine. **J. Pharm. Pharmacol**, v. 36, p. 843-844, 1984.
- RUIZ, N. e GHALY, E. Mechanisms of drug release from matrices prepared with aqueous dispersion of ethylcellulose. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 1, p. 113-117, 1997.
- RUSTICHELLI, C., GAMBERINI, G., FERIOLI, V., GAMBERINI, M. C., FICARRA, R., TOMMASINI, S. Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, p. 41-54, 2000.
- RYLANCE, J. R. Y., MORELAND, T. A, BUTCHER, F. M. Carbamazepine dose frequency requirements in children. **Arch Dis Child**, v. 54, p. 458-458, 1979.
- SHAN, S. S.. KULKARNI, M. G., MASHELKAR, R. A pH dependent zero order release from glassy hydrogels penetration s. diffusion control. **Journal of Controlled Release**, v. 15, p. 121-132, 1991.
- SHUKLA, A J. and PRICE, J. C. Effect of Drug (Core) Particle Size on the Dissolution of Theophylline from Microspheres Made from Low Molecular Weight Cellulose Acetate Propionate. **Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 5, p. 418-421, 1989.
- SILVA, J. P. S. and FERREIRA, J. P. M. Effect of drug properties on the release from CAP microspheres prepared by a solvent evaporation method. **Journal of Microencapsulation**, v.16, n. 1, p. 95-103, 1999.
- STEVES, R. E., LIMSAKUN, T., EVANS, G. and MASON, D. Controlled, multidose, pharmacokinetic evaluation of two extended-release carbamazepine formulations (Caratrol and Tegretol-XR). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, n. 12, p. 1531-1534, 1998.
- THE UNITED States Pharmacopoeia. USP XXIII. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Easton: Mack, 1994.
- TOMSON, T. and BERTILSSON, L. Potent therapeutic effect of carbamazepine-10,11 - epoxide in trigeminal neuralgia. **Arch Neurol**, v. 41, p. 598-601, 1984.

- TOMSON, T., BERTILSSON, L. Kinetics, metabolism and effects of carbamazepine-10,11-epoxide in man. In: Pisani, E., Perucca, E., Avanzini, G., Richens, A, eds. *New antiepileptic drugs*. Amsterdam: Elsevier, p. 177-181, 1991.
- TOMSON, T., BERTILSSON, L., ANDERSSON, D. E. H. Carbamazepine uptake. *Lancet*, 1989.
- USP DI. 17 ed. Rockville, 1997. v. 1. p. 166-173, 277-288, 714-720, 1585-1595.
- USP23/NF18. United States Pharmacopoeia & National Formulary. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 1994.
- VILA JATO, J. L. (Ed). *Sólidos pulverulentos*. In: *Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. V. I, Madrid: Editorial Síntesis S.A, 1997, p. 75-142.
- WADE, A and WELLER, P. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 2^a ed. London: The Pharmaceutical Press, 1994, p. 355-361.
- WASHINGTON, C. Drug release from microparticulate systems. In: BENITA, S. (Ed). *Microencapsulation methods and industrial applications*. New York: Marcel Dekker, INC. 1996, p. 155-181.
- WATTS, P. J., DAVIES, M. C. and MELIA, C. D. Microencapsulation using emulsification/solvent evaporation: an overview of techniques and applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 7, n. 3, p. 235-259, 1990.
- WILDING, J. R., DAVIS, S. S., HARDY, J. G., ROBERTSON, C. S., JOHN, V. A, POWELL, M. L., LEAL, M., LLOYD, P. and WALKER, S. M. Relationship between systemic drug absorption and gastrointestinal transit after the simultaneous oral administration of carbamazepine as a controlled-release system and as a suspension of N-labelled drug to healthy volunteers. **Br. J. Pharmac.**, v. 32, p. 573-579, 1991.
- YEH, M-K. The stability of insulin in biodegradable microparticles based on blends of lactide polymers and polyethylene glycol. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 6, p. 743-756, 2000.
- YEH, M. K., JENKINS, P. G., DAVIS, S.S, COOMBES, A G. A Improving the delivery capacity of microparticle systems using blends of poly (DL-lactide co-glycolide) and poly (ethylene glycol). **Journal of controlled release**, v. 37, p. 1-9, 1995.
- YEH, M. K., STANLEY, S. D. and COOMBES, A G. A . Improving protein delivery from microparticles using blends of poly(DL lactide co-glycolide) and Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) Copolymers. **Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 11, p. 1693-1698, 1996.
- YUAN, J., HONG-WEI WU, S. Comprimidos de liberação controlada via compressão direta. Um estudo de viabilidade usando acetato de celulose e aceto butirato de celulose. **Pharmaceutical Technology Brasil**, v. 5, n.1, p. 34-42, janeiro 2001.
- ZERROUK, N., TOSCANI, S., GINES-DORADO, J-M., CHEMTOB, C., CLEÓLIN, R.,

and DUGUÉ, J. Interactions between carbamazepine and polyethylene glycol (PEG) 6000: characterisations of the physical, solid dispersed and eutetic mixtures. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, p. 395-404, 2001.