





# UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Produção de nanofibras a base de Ecovio<sup>®</sup> associadas ao

fármaco aceclofenaco e seu estudo de liberação in vitro

Bruno Marques Carvalho

Toledo - PR, 2019







# UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Produção de nanofibras a base de Ecovio<sup>®</sup> associadas ao

fármaco aceclofenaco e seu estudo de liberação in vitro

Bruno Marques Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/*Campus* Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Douglas Cardoso Dragunski Co-orientador: Josiane Caetano Dragunski

Toledo - PR, 2019





Programa de Pós-Graduação em Química Unioeste - Mestrado



#### Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Carvalho, Bruno Marques Carvalho Produção de nanofibras a base de Ecovio® associadas ao fármaco aceclofenaco e seu estudo de liberação in vitro / Bruno Marques Carvalho Carvalho; orientador(a), Douglas Cardoso Dragunski; coorientador(a), Josiane Caetano Dragunski, 2019. 82 f. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019. 1. Eletrofiação. 2. PLA e PBAT. 3. Liberação de fármaco. 4. Modelo cinético. I. Cardoso Dragunski, Douglas. II. Caetano Dragunski, Josiane. III. Título.







**Bruno Marques Carvalho** 

#### Produção de nanofibras a base de Ecovio® associadas ao fármaco aceclofenaco e seu estudo de liberação in vitro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química - Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química, pela Comissão Examinadora composta pelos membros:

Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski (Presidente-Orientador)

Prof Dr. Maurício Ferreira da Rosa (Unioeste)

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara (UTFPR)

Toledo, 22 de março de 2019.







# AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela minha vida, pela paz, força e determinação para seguir batalhando pelos meus sonhos.

A meus pais e minha irmã, por sempre sonharem meus sonhos comigo!

Ao meu orientador Professor Dr. Douglas Cardoso Dragunski, pela excelente orientação e a minha coorientadora, Josiane Caetano Dragunski pelos ensinamentos e conversas que sempre agregaram, em âmbito profissional e pessoal.

Agradeço também ao meu Thiago Ilipronti, não só pela amizade, mas pelo grande suporte cromatográfico prestado na execução deste trabalho.

Aos meus colegas de mestrado, que sempre estiveram dispostos a ajudar.

Agradeço a indústria Prati-Donaduzzi® pelo apoio, pelos materiais doados e por todo o suporte nas análises para que esse trabalho se concretizasse.

Agraço a UNIOESTE, ao Programa de Pós-Graduação em Química e a Capes por possibilitarem a realização deste projeto.

E por último e não menos importante, minha esposa, parceira e companheira, Andressa Tonet carvalho que sempre me ajudou, apoio, criticou e ajudou para que tudo isso fosse possível de acontecer! Te amo!







# PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS A BASE DE ECOVIO® ASSOCIADAS AO FÁRMACO

# ACECLOFENACO E SEU ESTUDO DE LIBERAÇÃO IN VITRO

Bruno Marques Carvalho

# RESUMO

Palavras chave: PLA, PBAT, eletrofiação, liberação transdérmica de fármaco, modelo cinético de liberação

O aceclofenaco é um medicamento anti-inflamatório não esteroidal, amplamente utilizado para combate a dores e inflamações, principalmente nas articulações. No entanto, a utilização excessiva por ingestão oral desse fármaco, devido ao seu mecanismo de ação, que atua na inibição das enzimas ciclooxigenases (COX1 e COX2), pode provocar fortes dores estomacais, podendo levar, inclusive, a sangramentos. Com objetivo de se evitar o metabolismo de primeira passagem. Novas formas de liberação de fármacos têm sido investigadas, onde sistemas com liberação transdérmica tem aparecido com grande destaque. Para este tipo liberação, várias matrizes poliméricas estão sendo estudadas, principalmente aquelas capazes de produzir estruturas compostas de nano e micro-fibras poliméricas. Uma forma de se obter o referido material é utilizando a eletrofiação. Desta forma, este trabalho teve como objetivo produzir membranas contendo nanofios, pela técnica de eletrofiação, incorporando o fármaco aceclofenaco em sua estrutura. Para isso, investigou-se as condições experimentais para produção de fibras, utilizando os polímeros poli (ácido lático) (PLA) e poli(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno) (PBAT), comercializado pelo nome de Ecovio<sup>®</sup>. A membrana produzida (15% m/v de Ecovio<sup>®</sup> em solução de 85% clorofórmio:dimetilformamida com 15%m/m aceclofenaco:Ecovio®) foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria diferencial exploratória (CDE), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios X (DRX). Além disso, avaliou-se o perfil de liberação do fármaco in vitro, simulando condições de liberação transdérmicas, em que o fármaco foi guantificado por um método analítico, desenvolvido e validado, por cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC) com detecção por UV-Vis. O material produzido liberou em torno de 63% do fármaco em 5 minutos e 100% em, aproximadamente 30 minutos. O perfil de liberação encontrado foi confrontado a diferentes modelos cinéticos de liberação, sendo que o modelo de Weibull foi considerado mais adequado, pelos critérios de R<sup>2</sup>aiustado e critério de Akaike (AIC). apresenta grande potencial para liberação Desta forma, o material desenvolvido transdérmica de fármacos e apto para estudos de liberação transdérmica in vivo.

# PRODUCTION OF ECOVIO®-BASED NANOFIBERS ASSOCIATED WITH

# ACECLOFENACO DRUG AND VITRO RELEASE STUDY

Bruno Marques Carvalho

### ABSTRACT

#### Keywords: PLA, PBAT, electrospinning, transdermal drug release, kinetic release model

Aceclofenac is a non-steroidal anti-inflammatory drug, widely used to combat inflammation, especially in the joints. However, the excessive use by oral ingestion of this drug, due to its mechanism of action, which acts on the inhibition of cyclooxygenase enzymes (COX1 and COX2), can cause severe stomach pain and may even lead to bleeding. In order to avoid the first-pass metabolism and, consequently, the inhibition of these enzymes, new forms of drug release have been investigated, where systems with transdermal release have appeared with great prominence. For this type release, several polymer matrices are being studied, especially those capable of producing composite structures of nano or micro-fibers polymeric. One way of obtaining said material is by using electrospinning, which is a technique of producing nanofibrous structures by applying a high electrical voltage between the metal tip of a syringe containing the polymer solution and a metal shield. wherein the flow of the syringe fluid is controlled by an infusion pump. In this way, this work had as objective to produce membranes containing nanowires, by the technique of electrospinning, incorporating the drug aceclofenaco in its structure. For this, the experimental conditions for fiber production were investigated using poly (lactic acid) (PLA) and poly (butylene adipate) -co- (butylene terephthalate) (PBAT) polymers sold under the name Ecovio<sup>®</sup>. The membrane produced (15% m/v of Ecovio® in 85% chloroform: dimethylformamide with 15% m/m aceclofenac: Ecovio®) was characterized by scanning electron microscopy (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (CDE), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD) the interaction between the drug and the matrix, through the appearance of bands characteristic of aceclofenac in the FTIR spectrum, and also the alteration of the thermal profile of the membrane, compared to another without the drug. In addition, the drug release profile was evaluated in vitro, simulating transdermal delivery conditions, in which the drug was quantified by an analytical method, developed and validated, by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) with detector by UV- Vis. The material produced released about 63% of the drug in 5 minutes and 100% in approximately 30 minutes. The release profile found was compared to different kinetic models of release, and the Weibull model was considered more adequate, by the R<sup>2</sup> adjusted criteria and Akaike criteria (AIC). Thus, the material developed has great potential for transdermal drug release and is suitable for transdermal delivery studies in vivo.

# SUMÁRIO

RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS	10
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE QUADROS	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Sistema de Liberação transdérmica de fármacos	18
2.2 Nanotecnologia	23
2.2.1 A estrutura da pele e a absorção de fármacos	23
2.3 Tecnologia aplicadas à produção de nanofibras	24
2.3.1 Parâmetros que afetam a eletrofiação	26
2.3.1.1 Efeito da Força Eletromotriz (FEM)	27
2.3.1.2 Efeito da vazão da solução polimérica	28
2.3.1.3 Distância entre o coletor e a agulha	28
2.3.1.4 Concentração e viscosidade da solução polimérica	29
2.3.1.5 Condutividade elétrica da solução polimérica	
2.3.1.6 Condições ambientais	30
2.3.1.7 Solvente (s) da solução polimérica	30
2.3.1.8 Materiais poliméricos na fabricação de nanofibras	32
2.3.2 Polímeros biodegradáveis na fabricação de nanofibras	32
2.4 Medicamentos incorporados a nanofibras por eletrofiação	34
2.4.1 Medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais	34
2.5 Produção de nanofibras com fármacos e estudos de liberação	36
2.6 Cinéticas de liberação	40
OBJETIVOS	46
2.7 Objetivo geral	46
2.8 Objetivos específicos	46
3 MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS	47
3.1 Eletrofiação – material utilizado	47
3.1.1 Preparo das soluções	48

3.1.2	Determinação dos parâmetros para eletrofiação	.48
3.2	Caracterização das fibras produzidas	.49
3.2.1	Microscopia óptica	.49
3.2.2	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	.49
3.2.3	Espectroscopia na região do infra-vermelho médio com transformada de Fourier	.50
3.2.4	Difração de Raios-X (DRX)	.50
3.2.5	Calorimetria diferencial exploratória, CDE	.50
3.2.6	Termogravimetria ou análise termogravimétrica	.50
3.3	Estudo de liberação	.51
3.4	Cromatografia líquida de ultra eficiência ( <i>ultra performance liquid chromatography</i> , UPLC)	.51
3.5	Modelos Cinéticos de Liberação	.52
4 R	ESULTADOS E DISCUSSÕES	.54
4.1	Definição dos parâmetros de eletrofiação	.54
4.2	Caracterização das fibras	.54
4.2.1	Morfologia das fibras	.54
4.2.2	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier	.56
4.2.3	Difração de Raios X	.58
4.2.4	Calorimetria diferencial exploratória	.60
4.2.5	Análise termogravimétrica	.64
4.3	Cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC)	.67
4.4	Estudos de liberação	.69
4.4.1	Modelos Cinéticos de liberação	.71
5 C	ONCLUSÃO	.76
REFE	ERÊNCIAS	.77

# LISTA DE ABREVIATURAS

- AIC Critério de informação de Akaike
- AINEs antiinflamatórios não-esteroidais
- ATR Attenuated Total Reflection
- BASF Badische Anilin & Soda Fabrik
- CDE Calorimetria diferencial exploratória
- COX 1 Ciclooxigenase 1
- COX 2 Ciclooxigenase 2
- DIA Drug-in-adhesive
- DMA Dimetilacetamida
- DMF Dimetilformamida
- DRX Difração de raios X
- FDA Food and Drug Administration
- FEM Força eletromotriz
- FTIR Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
- ICH International Conference on Harmonisation
- kV Quilovolts
- MEV Microscopia eletrônica de varredura
- MO Microscopia ótica
- MSE Erro quedrático médio
- PAA: poli(ácido acrílico)
- PAH: poli(hidrocloridrato de alamina)
- PBAT poli(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno)
- PBS polibutilenosuccinato
- PBSC polibutilensuccinato-butilenocarbonato
- PCL policaprolactona
- PEO: poli(oxido de etileno)

- PET Poli (tereftalato de etileno)
- PEVA: poli(acetato de etileno-co-vinílico)
- PLA Ácido polilático
- PVA: poli(álcool vinílico)
- PVDF PVDF
- RGD Arginina / Glicina / ácido aspártico
- SGI Sistemas gastrointestinal
- SSR Soma dos quadrados dos resíduos
- TGA Termogravimetria
- TDDS Transdermal drug delivery system
- TP Solução tampão
- UPLC Ultra performance liquid chromatography
- URA Umidade relativa do ar
- UV/VIS Ultravioleta / Visível
- WSSR Soma ponderada do quadrado dos resíduos

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tipos de TDD'S com matriz do tipo dia (drung-in-adhesive). (a) Matriz com sistem reserva. (b) sistema de matriz sem membrana de controle. (c) sistema de m com membrana de controle <sup>[24]</sup> .	ma de iatriz 20
Figura 2 - Esquema da estrutura da pele <sup>[28]</sup>	23
Figura 3 - Técnicas de produção de nanofibras [37]	25
Figura 4 – Esquema representativo de eletrofiação horizontal [38]	26
Figura 5 - Relação das características do processo e da solução polimérica na morfologia fibras. Fonte: adaptado de Repanas, 2016 <sup>[38]</sup>	de 29
Figura 6 - Variação da morfologia da fibra em função da concentração de etanol na soluçã polimérica. (a) Razão etanol/água: 0,000. (b) razão etanol/água: 0,054. (c) etanol/água: 0,115. (d) razão etanol/água: 0,260. (e) razão etanol/água: 0,4 razão etanol/água 0,702 A largura horizontal de cada Figura é de 20 µm.	o razão 48. (f) <sup>47]</sup> 31
Figura 7 - Estrutura química do PLA.	33
Figura 8 - Estrutura química do PBAT.	34
Figura 9 - Estrutura química do aceclofenaco	35
Figura 10 - Fibras produzidas por eletrofiação de solução polimérica de acetato e celulose m/v com fármacos absorvidos. Solução de 16% m/v de acetato de celulose v/v de acetona:DMA e essa solução contendo (b) Naproxeno, (c) Indometad Ibuprofeno e (e) Sulindaco. Adaptado de Tungprapa, 2007.	16% em 2:1 cina, (d) 38
Figura 11 – (a) Resultados de estudo de liberação dos fármacos. Liberação dos fármacos período de de 0 a 120 min. (b) Resultados de liberação dos fármacos no per de 0 a 1440 min. Legenda: ▲Ibuprofeno; ▼Sulindaco; ■Indometacina; ●Naproxeno.	no ríodo 39
Figura 12 - Microscopia eletrônica de varredura para o (a)Ecovio 15% (m/v) eletrofiado ser fármaco; (b) Ecovio 15% (m/v) eletrofiado com o fármaco a 15% (m/m) ante estudo de liberação e (c) o Ecovio 15% (m/v) eletrofiado com o fármaco a 1 (m/m) após realizado o estudo de liberação.	n o •s do 5% 54
Figura 13 - FTIR de (a) aceclofenaco puro (b) Membrana de Ecovio 15% (m/v); e (c) Membrana de ecovio 15% (m/v) com aceclofenaco 15% (m/m).	orana 57
Figura 14 - Difratograma do Aceclofenaco	59
Figura 15 - Difratograma da (a) membrana produzida por eletrofiação da solução poliméric Ecovio 15% (m/v) em Clorofórmio:DMF na proporção de 85:15 e (b) da mer produzida por eletrofiação da solução polimérica de Ecovio 15% (m/v) em Clorofórmio:DMF na proporção de 85:15, com adição do aceclofenaco 15%	a de nbrana (m/m)60
Figura 16 - Termograma da análise de CDE de (a) Aceclofenaco em pó, (b) Membrana de 15% (m/v) (c) Membrana de Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m).	Ecovio 61
Figura 17 - Termograma da análise de TGA do (a)Aceclofenaco, (b) Ecovio 15% (m/v) e ( Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m)	c) 65
Figura 18 - Infográfico comparativo da degradação térmico da membrana de Ecovio e da membrana de Ecovio com Aceclofenaco.	66
Figura 19 – Espectro UV-Vis obtido da solução padrão de aceclofenaco a 1,56 µg.mL <sup>-1</sup>	67
Figura 20 - Cromatograma da solução padrão de aceclofenaco a 1,56 µg.mL <sup>-1</sup>	68
Figura 21 - Cromatograma da solução amostra após 5 minutos do início do estudo de liber	ação69
Figura 22 - Perfil de dissolução do teste de liberação de Aceclofenaco 15% (m/m) em men eletrofiada de Ecovio 15% (m/v)	ıbrana 70
Figura 23 – Modelos cinéticos de (a)Ordem Zero, (b) Primeira Ordem, (c) Higuchi, (d) Hixs Crowell, (e) Kosmeyer-Peppas e (f) Weibull aplicados aos dados de liberaçã encontrados para fibras de Ecovio 15% m/v com aceclofenaco 15%m/m, ob por eletrofiação.	on- ăo ıtidas 73

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Interpretação dos mecanismos de liberação por difusão de filmes poliméricos	.42
Tabela 2 – Materiais utilizados para preparo das soluções analíticas.	47
Tabela 3 - Parâmetros investigados para obtenção das melhores condições de eletrofiação	.48
Tabela 4 – Temperaturas de fusão, cristalização e calores envolvidos nos eventos térmicos dos termogramas da figura 16	62
Tabela 5 – grau de cristalinidade da amostras de Ecovio 15% (m/v) e Ecovio 15% (m/v) com         aceclofenaco 15% (m/m).	64
Tabela 6 - Temperaturas termogravimétricas de perda de 5%, 50% e 95% da massa inicial da amostra analisada.	66
Tabela 7 - Parâmetros cromatográficos encontrados na análise da solução padrão de         Aceclofenaco.	68
Tabela 8 – Parâmetros encontrados dos diferentes modelos cinéticos aplicados à ao perfil de dissolução do aceclofenaco em nanofibras de Ecovio	74

# LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Medicamentos que utilizam o princípio TDDS's, disponíveis no mercado	20
Quadro 2– Principais reclamações recebidas pelo FDA sobre os TDDS's	21
Quadro 3 - Tipos de polímeros, fármacos e solventes utilizados na eletrofiação para estudo de	
liberação de fármacos	37

## 1 INTRODUÇÃO.

A administração oral é a principal via de introdução de medicamentos em pacientes que sofrem de diferentes enfermidades. Porém, a quantidade inicial de fármaco no local de ação diminui ao longo do tempo devido à disseminação para áreas saudáveis através do sistema circulatório, levando os pacientes a tomarem quantidades maiores de medicamento, podendo resultar em efeitos colaterais graves <sup>[1]</sup>. A condição clínica do paciente é um fator imprescindível a ser analisado quando se deve administrar algum medicamento, pois nem sempre rota oral é possível. Por esses motivos, vias de administração alternativas, o fármaco é entregue na região de interesse, estão sendo cada vez investigados <sup>[2-4]</sup>. Nesse contexto, destaca-se uma técnica de produção de nanofibras a base de polímero(s), a eletrofiação.

Eletrofiação é uma técnica de produção de estruturas fibrosas, conhecidas como membranas, que ocorre por meio de soluções poliméricas com aplicação de forças eletrostáticas. As fibras produzidas podem variar de espessura na ordem de micrômetros (10<sup>-6</sup> m) chegando até a nanômetros (10<sup>-9</sup> m) e área superficial maior do que as fibras obtidas a partir das demais técnicas <sup>[5]</sup>.

Diferentes tipos de polímeros biodegradáveis têm sido utilizados para fabricação de nanofibras em diversas áreas e aplicações. Dentre esses polímeros biodegradáveis, o ácido polilático (PLA) é um dos polímeros mais promissores devido às suas propriedades mecânicas e plasticidade térmica. O PLA é um poliéster termoplástico linear, alifático com rigidez e clareza, semelhante ao poliestireno <sup>[6]</sup> e poli (tereftalato de etileno) (PET). No entanto, a baixa resistência à fusão, a fragilidade e baixa estabilidade térmica são fatores que limitam sua aplicação <sup>[7, 8]</sup>

Muitos artigos publicados relataram que a mistura de PLA com outros polímeros é uma das melhores soluções para melhorar suas propriedades, particularmente com polímeros mais flexíveis, como poli(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno) (PBAT) <sup>[9-12]</sup>.

O PBAT é um polímero biodegradável, da classe dos poliésteres alifáticos aromáticos, produzido à base de petróleo, conhecido, principalmente, pela sua

rigidez <sup>[13]</sup>. Sua densidade pode variar de 1,25 a 1,27 g/cm<sup>3</sup> com faixa de fusão de 110 a 120°C <sup>[7]</sup>.

Desta forma, utilizar a técnica de eletrofiação para produção de nanofibras à base de um polímero biodegradável e associá-las a um fármaco, torna-se uma alternativa promissora para o tratamento de doenças e dores crônicas.

Dentre os medicamentos que podem ser utilizados ao combate das enfermidades citadas, destacam-se os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs). Essa classe é a mais comum para tratamento das condições de dor aguda a crônica, onde destaca-se o fármaco aceclofenaco, por ser frequentemente utilizado para o alívio da dor, artrite reumatóide, osteoartrite, entorse e dor muscular, periartrite, anquilosante e espondilite <sup>[14]</sup>. No entanto, a incidência de úlceras gástricas pela ingestão oral excessiva do aceclofenaco tem sido relatada, já que a principal forma de atuação é via inibição de enzinas responsáveis pela reconstituição das paredes gastrointestinais <sup>[15]</sup>.

Para contornar estes efeitos gástricos, a liberação transdérmica de AINE's tem-se tornado uma via de administração promissora. A alta capacidade de adsorção, liberação simultânea, facilidade de operação e relação custo-benefício são características que têm atraído cada vez mais pesquisas de liberação transdérmica de fármacos <sup>[16, 17]</sup>. Neste contexto, a investigação de membranas produzidas por eletrofiação e associadas com medicamentos anti-inflamatórios para liberação transdérmica torna-se uma opção atrativa.

Para avaliar a eficácia e até mesmo prever o perfil de liberação, a investigação da dissolução dos sistemas transdérmicos de liberação de fármacos faz-se necessária nas etapas de desenvolvimento. Esse estudo, quando bem conduzido, permite avaliar o comportamento do fármaco e otimizar sua biodisponibilidade em condições similares às *in vivo*. Desta forma, é possível ajustar a formulação permitindo liberações forma rápida ou prolongada. Além disso, essa etapa permite uma economia de tempo e o custo final no desenvolvimento da formulação.

Os testes de desempenho *in vitro*, devem ser conduzidos de acordo com as legislações vigente <sup>[18]</sup>, a fim de padronizar e garantir que um mesmo racional

técnico seja utilizado, onde os resultados encontrados darão suporte e embasamento técnico para as próximas etapas de estudos *in vivo*. Estes testes foram desenvolvidos para quantificar a velocidade e a extensão da liberação, onde a velocidade de dissolução determinará a taxa com a qual o fármaco será absorvido pelo organismo do paciente. Além disso, é possível associar a liberação do fármaco a modelos matemáticos, facilitando assim o entendimento do mecanismo, auxiliando inclusive no desenvolvimento do medicamento <sup>[19]</sup>.

Mediante ao que foi relatado, este trabalho se propõe a obter uma membrana de nanofios da mistura polimérica PBAT/PLA pela técnica de eletrofiação, incorporando o fármaco aceclofenaco em sua estrutura, bem como realizar a caracterização do material produzido e a avaliação do comportamento da sua liberação *in vitro*.

# 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Sistema de Liberação transdérmica de fármacos

É natural do ser humano intervir nos processos de cicatrização das feridas, sejam elas provocadas intencionalmente ou por acidentes. Desde a antiguidade já se conhecia a importância de proteger as feridas, visto que elas poderiam trazer malefícios a saúde da pessoa lesionada caso não tratada de forma correta <sup>[20]</sup>

Manuscritos egípcios que datam de 3000-2500 a.C. relatam a prática de curativos à base de mel, graxa, fios de linho e diversos tipos de excrementos. Estes materiais fizeram parte dos princípios da farmacopeia egípcia <sup>[21]</sup>.

Durante os períodos de guerra, os incentivos financeiros em pesquisas de aplicação imediata nas tropas eram enormes, tanto é que no século XIX, durante a Guerra da Criméia, foram criados vários tipos de curativos à base de fibras de linho que, quando reutilizados várias vezes tornavam-se cada vez mais macios, porém não eram eficazes no processo de cicatrização por serem pouco absorventes <sup>[20]</sup>.

Até meados de 1945 acreditava-se que ambientes secos proporcionavam melhores condições de cicatrização. Como evidência disso, nessa época surgiram vários agentes tópicos, que promoviam a desidratação das feridas, e as coberturas consistiam basicamente de gaze seca, fixada com espessa camada de fitas adesivas <sup>[20]</sup>.

Mas, em 1979, a Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (FDA) aprovou o primeiro medicamento transdérmico, levando a escopolamina como princípio ativo. Esse medicamento era utilizado como antiespasmódico, principalmente em casos de úlceras do estômago<sup>[22]</sup>.

Desde então, observa-se o aumento no número de pesquisas de membranas e adesivos associados a fármacos. Este aumento se deve as vantagens desta combinação, tais como:

- Possibilidade de redução da dosagem do fármaco para uma vez ao dia ou até mesmo uma vez por semana;
- Possuir características não invasivas

- Evita o metabolismo hepático de primeira passagem (fenômeno de metabolismo que acontece no fígado pelo qual a concentração do fármaco é muito reduzida durante o processo de absorção antes de atingir a corrente sanguínea) não interferindo na sua biodisponibilidade;
- Evita efeitos colaterais gástricos. [23]
- Importante rota alternativa para aqueles pacientes que estão impossibilitados de receberem medicamentos por via oral, como pacientes desmaiados ou com aqueles com sistema digestório comprometido <sup>[23]</sup>.

Além dessas vantagens, o fato de a pele ser uma importante via de administração não invasiva fez com que pesquisadores se aprofundassem ainda mais em sistemas de liberação de fármacos através dela <sup>[23]</sup>.

Nesse contexto, destacam-se os sistemas de liberação transdérmica de fármacos, TDDS's (*transdermal drug delivery system*), os quais permitem a liberação controlada de agentes terapêuticos através da pele intacta à circulação sanguínea, possibilitando o paciente prosseguir com o tratamento por dias e até semanas <sup>[22]</sup>.

A quantidade de produtos à base de adesivos de liberação transdérmica de fármacos tem aumentado consideravelmente, muitos dos quais utilizam da tecnologia de matriz/suporte chamada DIA (*drug-in-adhesive*). Essas matrizes podem ser divididas em três componentes principais: reservatório de fármaco, membrana de controle de liberação e o adesivo. O reservatório é o local onde ficam armazenados os excipientes e o fármaco. Estes, devem atravessar a membrana e o adesivo até atingir a pele. O componente responsável pelo adesivo pode tampar completamente a área de liberação do fármaco (adesivo contínuo) ou uma área em torno de uma superfície de liberação (adesivo periférico)<sup>[24]</sup>. A estrutura dessa matriz é mostrada na Figura 1.





No entanto, vantagens já citadas só poderão ser aproveitadas pelo paciente quando a formulação for bem desenvolvida, havendo sinergismo entre o fármaco, excipientes, intensificadores, revestimento, membrana de controle de velocidade e membrana de suporte permeável <sup>[22]</sup>.

Utilizando os conceitos dessa matriz, várias empresas desenvolveram e patentearam algumas marcas de adesivos de liberação transdérmica com diferentes finalidades, conforme mostrado pela Quadro 1.

Princípio ativo	Produto inovador
Clonidina	CATAPRES TTS®
Estradiol e levonorgestrol	CLIMARA PRO®
Fentanyl	DURAGESIC®
Granisetron	SANCUSO®
Metilfenidato	DAYTRANA®
Nicotina	NICODERM CQ®
Nitroglicerina	NITRO-DUR®
Rivastigmina	EXELON®
Scopolamina	TRANSDERM SCOP®
Testosterona	ANDRODERM®

Quadro 1 - Medicamentos que utilizam o princípio TDDS's, disponíveis no mercado

Fonte: Ruby <sup>[25]</sup>.

Um ponto importante para a eficácia dos tratamentos utilizando a técnica TDDS, é a eficiência e durabilidade da colagem dos adesivos. De início, o efeito terapêutico do fármaco está diretamente ligado ao tempo de permanência do adesivo e o quão efetivo ele está aderido na pele. A redução na área de contato com a pele, provocado pelo descolamento do adesivo, diminui consideravelmente a liberação do fármaco. Ou seja, uma fixação ineficaz proporciona uma dosagem inadequada. Além disso, a baixa adsorção do adesivo na pele faz com que a frequência de substituição aumente, elevando assim o custo para o paciente. A descolagem dos adesivos gera também um risco em potencial para crianças, pois elas podem manipulá-los de maneira indevida, podendo até ingerir o adesivo com fármaco <sup>[24]</sup>.

O órgão regulador de medicamentos dos Estados Unidos, *FDA* tem reportado o aumento do número de reclamações de tratamentos utilizando medicamentos TDDS's do tipo DIA. A Quadro 2 mostra alguns destes comentários recebidos.

Quadro 2- Principais reclamações recebidas pelo FDA sobre os TDDS's.

- > Relatos sobre a falha da utilização em condições normais
- O calor, o frio, a transpiração e o banho evitam que o adesivo fique na superfície da pele por mais de um dia
- Os adesivos caem enquanto a pessoa dorme ou durante o banho. Paciente relata uso de fitas médicas para proteger o adesivo
- O adesivo é muito espesso, dificultando a transpiração da pele, fazendo com o mesmo descole.
- Relatos sobre o uso de adesivos em caso de queda dos esparadrapos
- Não é possível fazer com que os esparadrapos se fixem após o primeiro dia. O paciente relatou
  a tentativa de utilizar várias marcas de fitas adesivas no auxílio da fixação do adesivo à pele,
  mas nenhuma se mostrou satisfatória.
- Um paciente relatou que os adesivos não estavam aderindo na pele. O fabricante aconselhou o paciente a evitar certos tipos de sabonete, utilizar fitas de papel, ao retirar o esparadrapo da embalagem original que protege o adesivo.
- > Relatos sobre o aumento do custo do paciente devido à falha de adesão dos adesivos
- Os adesivos não ficam aderidos a pele pelo tempo necessário para finalizar o tratamento, promovendo mais substituições e, consequentemente, adquirindo mais caixas de adesivos.
- Cliente informa o uso de fitas adesivas extras para manter o adesivo na pele, aumentando o custo real do tratamento
- Perda de eficácia do medicamento
- Não considera que a eficácia destes ativos sejam tal qual anunciadas, pelo fato do fármaco ser degradado devido as propriedades intrínsecas do adesivo.

Além dessas reclamações, as limitações de liberação são motivos de preocupação para os setores de pesquisa da indústria farmacêutica. Mesmo com a utilização de *softwares* capazes de prever a permeabilidade dos fármacos e excipientes na pele, através das suas características físico químicas, a absorção do fármaco envolve um processo altamente complexo, incluindo permeação através da epiderme e derme. Geralmente, grandes quantidades de fármacos e excipientes precisam ser impregnados nos TDDS's para alcançar a atividade termodinâmica e controlar a taxa de liberação do fármaco, o que torna o desenvolvimento da formulação uma etapa crítica e dispendiosa <sup>[23]</sup>.

#### 2.2 Nanotecnologia

#### 2.2.1 A estrutura da pele e a absorção de fármacos

A pele é o maior órgão do corpo humano e desempenha funções muito importantes, como proteção mecânica de eventos externos, além de ser a primeira linha de defesa contra agentes químicos e microbiológicos. Sua estrutura muito fina, de aproximadamente 1,5 mm, pode ser classificada basicamente em três camadas, como mostra a Figura 2<sup>[26, 27]</sup>.



Figura 2 - Esquema da estrutura da pele [28].

A extensa área superficial da pele (cerca de 20 m<sup>2</sup>) faz com que ela se torne uma rota potencialmente interessante para administração de fármacos. Ao se utilizar dessa característica, a probabilidade de eliminar terapias medicamentosas administradas sistematicamente via oral aumenta. Além disso, é possível diminuir a dose total necessária para atingir o local alvo <sup>[29]</sup>.

Materiais equivalentes de pele humana com perfis lipídicos de permeabilidade mais próximos à pele real foram desenvolvidos para estudos de permeação de fármacos *in vitro*. Dependendo das propriedades do fármaco e a maneira como o mesmo é administrado, ele pode permanecer no local ou atravessar a derme, onde, se for hidrofílico, pode ser rapidamente absorvido pela circulação via capilares sanguíneos <sup>[27]</sup>.

De formar geral, moléculas com características hidrofílicas ou hidrofóbicas podem atravessar a pele sem a necessidade de auxiliadores/atravessadores. No entanto, moléculas maiores têm dificuldades em fazer esse percurso, como peptídeos, proteínas e DNA. Por isso, existem pesquisas com objetivo de detalhar esse processo a fim de desenvolver uma técnica ou "facilitador químico" que possibilite uma absorção mais rápida pela pele. Neste contexto, destacam-se os atravessadores / potencializadores químicos <sup>[27]</sup>

Atravessadores químicos, como ácidos graxos, surfactantes, ésteres, álcoois, pirrolidinas, aminas, sulfóxidos, terpenos e fosfolipídios foram estudados como potencializadores de liberação de fármacos através da pele. Eles possuem essa capacidade por serem capazes de perturbar a camada do extrato córneo da pele, extrair e solubilizar a queratina e/ou componentes lipídicos da pele, e até mesmo alterar o coeficiente de partição do fármaco na pele. Infelizmente, atravessadores químicos podem ser irritantes a pele e a quantidade necessária para se atingir a efetividade farmacológica de penetração pode se encontrar acima da exposição máxima diária permitida. Por essa razão os atravessadores químicos, apesar de eficazes em altas concentrações, tem sido pouco utilizados <sup>[30]</sup>

Por outro lado, os atravessadores físicos são caracterizados por utilizar de métodos que podem comprometer a barreira oferecida pela pele de forma temporária, tem sido muito explorado, tais como hidratação, ablação térmica ou a laser, jatos de alta pressão e micro-ondas foram avaliados por Prausnitz e Langer em 2008 <sup>[31]</sup>. Embora algumas dessas tecnologias tenham sido aprovadas pelo FDA, dependendo da frequência de utilização, elas podem causar danos à pele, diminuir suas barreiras químicas e físicas podendo até provocar sensações de formigamento, perda de sensibilidade, irritação e queimação <sup>[27]</sup>.

Como alternativa a estes potencializadores transdérmicos de fármacos, pesquisadores tem investigado mais a área das nanotecnologias, em busca de potenciais soluções. Neste contexto, destacam-se as nanopartículas e nanofibras como veículos transportadores de agentes terapêuticos.

## 2.3 Tecnologia aplicadas à produção de nanofibras

A nanotecnologia é o estudo aplicado ao desenvolvimento de materiais em escala nanométrica. Essa ciência tem tido um rápido crescimento devido ao seu enorme potencial na criação de novos materiais que possuem aplicações variadas. É possível encontrar trabalhos utilizando nanotecnologia com diferentes aplicações como engenharia eletrônica, ciência dos materiais e engenharia de polímeros <sup>[32]</sup>.

nanoparticulas <sup>[33]</sup>, nanopratos <sup>[34]</sup>, nanoesponjas, nanogeis <sup>[35]</sup> e, principalmente, para fabricação de nanofibras <sup>[36]</sup>.

Existem várias técnicas de produção de nanofibras, mas dependendo da aplicação a qual se deseja, a escolha da técnica é crucial para obtenção de bons resultados. A Figura 3 mostra, resumidamente, as principais técnicas de produção de nanofibras e suas principais características.



Figura 3 - Técnicas de produção de nanofibras [37].

Pela Figura 3, nota-se que a eletrofiação aparenta ser a mais promissora dentre as técnicas, graças ao seu baixo custo e relativa facilidade operacional.

A eletrofiação é uma técnica de produção de estruturas fibrosas, conhecidas como membranas, que ocorre por meio de soluções poliméricas com aplicação de forças eletrostáticas. As fibras produzidas podem variar de espessura na ordem de micrômetros (10<sup>-6</sup> m) chegando até a nanômetros (10<sup>-9</sup> m) e área superficial maior do que as fibras obtidas a partir das demais técnicas. O polo positivo de uma fonte de alta tensão, na ordem de quilovolts (kV), é conectada a ponta de uma seringa contendo a solução polimérica, enquanto o polo negativo é conectado a um anteparo metálico, que também está conectado ao fio terra. Uma bomba de infusão é acionada para controlar a vazão de saída da solução pela ponta da seringa e, se as

forças eletrostáticas forem capazes de superar as forças de tensão do fluído polimérico, a solução é lançada até o anteparo, na forma de fios <sup>[5]</sup>.

A Figura 4 mostra, resumidamente, o processo de produção de nanofibras pela técnica de eletrofiação.



Figura 4 – Esquema representativo de eletrofiação horizontal <sup>[38]</sup>.

Com a possibilidade de desenvolvimento de diversos materiais com características variadas, a eletrofiação tem sido muito utilizada principalmente pela capacidade de produzir fibras extremamente finas muito difíceis de serem produzidas por outras técnicas <sup>[37]</sup>, .

Comparada com outras técnicas, a eletrofiação apresenta maior flexibilidade na seleção dos materiais de partida e escolha dos fármacos para estudo de liberação. Essas são características atraentes do uso de administração transdérmica de fármacos, especialmente para materiais de curativos e quimioterapia local pós operatória <sup>[39]</sup>.

# 2.3.1 Parâmetros que afetam a eletrofiação

Existem alguns fatores que influenciam diretamente no processo de eletrofiação, os quais podem ser classificados como parâmetros de eletrofiação, solução e ambientais. As variáveis envolvendo o processo de eletrofiação em si, são o campo elétrico gerado, a distância da agulha ao coletor, a vazão da solução polimérica e o diâmetro da agulha. Dentre as variáveis ambientais, destacam-se a umidade relativa do ar (URA) e a temperatura. As consideradas variáveis de solução são: os tipos de solventes utilizados, a concentração polimérica da solução, a viscosidade e a condutividade elétrica. Todas as variáveis citadas influenciam diretamente na produção de fibras, seja no aspecto visual, como fibras lisas ou rugosas, com ou sem *beads*, que são estruturas em formato de bolhas na fibra, como até mesmo na questão de liberação de um determinado fármaco. <sup>[40]</sup> Logo, para que sejam produzidas fibras com características reprodutíveis, é de suma importância não só conhecer, mas também controlar as variáveis envolvidas no processo como um todo <sup>[41]</sup>.

### 2.3.1.1 Efeito da Força Eletromotriz (FEM).

No processo de eletrofiação, enquanto a bomba infusora ejeta a solução polimérica com uma vazão conhecida, o campo elétrico gerado entre a agulha da seringa e o prato coletor metálico, exerce grande influência na formação do chamado cone de *Taylor*, no instante em que a solução polimérica é lançada da agulha para o aparato coletor. Quanto mais estável e uniforme for o cone de Taylor, maior a tendência de produção de nanofibras. Porém, cada solução polimérica apresenta uma tensão crítica, a qual deve ser investigada <sup>[42]</sup>

Em 2018, Someswararao e colaboradores<sup>[43]</sup>, investigaram a influência dos parâmetros de eletrofiação na morfologia das fibras produzidas à base de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>). Dentre as modificações avaliadas, os autores verificaram que à medida que aumentavam a tensão da fonte geradora, de 8 kV para 11 kV, o diâmetro médio das fibras produzidas diminuía de 293 nm para 175 nm, em média. Os autores acreditam o aumento da tensão elétrica possibilita um maior estiramento da fibra, facilitando inclusive na evaporação do solvente.

Porém, quando o valor ótimo de tensão é extrapolado, provoca-se uma instabilidade maior no cone de T*aylor* e aumenta-se a velocidade com que a solução polimérica percorre a distância da agulha até o aparato coletor, aumentando o número de *beads* na fibra, isso acontece pois o tempo de voo da fibra diminui e, consequentemente, o tempo que o solvente leva para evaporar, já que uma das principais causas da formação dos *beads*, e justamente a ineficácia do processo de evaporação do solvente da solução polimérica <sup>[42]</sup>.

#### 2.3.1.2 Efeito da vazão da solução polimérica

A otimização da vazão com que a solução polimérica é ejetada da seringa é essencial para produção de fibras isentas de *beads*. Além disso, a vazão influência diretamente na morfologia das fibras. Valores acima do valor do ideal, podem ocasionar o aumento médio do diâmetro das fibras, bem como o aumento da ocorrência de *beads*, já que mais solução polimérica e, consequentemente, mais solvente, são ejetados da seringa, sem que haja aumento do tempo de voo/secagem [42]

Someswararao e colaboradores<sup>[43]</sup> investigaram a relação entre a vazão da solução de dióxido de titânio e o diâmetro médio das fibras formadas. Eles verificaram que vazões de 0,6, 0,8, 1,0 e 1,2 mL/h formaram nanofibras com dimensões médias de diâmetro de 111, 155, 189 e 247 nm, respectivamente. Desta forma, os autores concluíram que a otimização da vazão da solução ejetada pelo sistema é um parâmetro crucial para obtenção de fibras finas, sendo que essa relação é diretamente proporcional: ao diminuir a vazão da solução, a tendência é que se obtenha fibras com diâmetros menores.

#### 2.3.1.3 Distância entre o coletor e a agulha

A distância entre o aparato coletor e a seringa influenciam diretamente na morfologia das fibras produzidas. Análoga ao campo elétrico, a viscosidade e a vazão da solução polimérica, essa distância deve ser otimizada para cada sistema eletrofiador e solução polimérica. A distância está intimamente ligada ao tempo de voo da solução polimérica, entre a agulha e o aparato coletor. Logo, quanto maior essa distância, maior o tempo de secagem do solvente. No entanto, essa distância não pode ser tão longa a ponto de o campo elétrico não conseguir superar as tensões superficiais da solução e conduzi-la ao aparato coletor. Por outro lado, quanto menor essa distância, menor o tempo de evaporação do solvente, aumentando a probabilidade de surgimento de *beads* nas fibras. Por isso a importância da otimização e cuidados para manutenção deste parâmetro durante o processo de eletrofiação <sup>[44]</sup>.

# 2.3.1.4 Concentração e viscosidade da solução polimérica

A concentração e viscosidade são duas variáveis que podem ser facilmente correlacionadas no processo de eletrofiação. Baixas concentrações poliméricas na solução, sob campo elétrico gerado, facilita a quebra das cadeias poliméricas em fragmentos menores, antes desta alcançar o aparato coletor, aumento o número de *beads*. Já, o aumento da concentração do polímero na solução, que acarretará no aumento da viscosidade da solução, aumentará o entrelaçamento das cadeias poliméricas, os quais podem superar a tensão superficial, resultando em fibras lisas, homogêneas e sem *beads*. Porém, o aumento da concentração para valores superiores ao valor ideal, poderá dificultar a passagem da solução pela agulha, além de dificultar mais a evaporação do solvente. Em alguns casos pode ocorrer a secagem do polímero na ponta da agulha, fazendo com que a vazão da solução não seja mais uniforme e, em alguns casos extremos, podendo até obstruir a agulha, impedindo a passagem da solução <sup>[45]</sup>.

Repanas e colaboradores<sup>[38]</sup> mostraram a influência da vazão e da concentração polimérica na morfologia das fibras geradas. A Figura 5 mostra a correção do resultado e estes dois fatores apresentados.



Concentração Solução polimérica

**Figura 5** - Relação das características do processo e da solução polimérica na morfologia de fibras. Fonte: adaptado de Repanas, 2016<sup>[38]</sup>.

#### 2.3.1.5 Condutividade elétrica da solução polimérica

O cone de *Taylor* é diretamente influenciado pela condutividade elétrica da solução. Em solução cuja condutividade elétrica é considerada baixa, a gota de solução gerada na ponta da agulha não terá carga suficiente para formar e manter estável o cone de *Taylor*, logo, não haverá eletrofiação. Valores ideais, ou próximos deste, possibilitarão um maior acúmulo de cargas na gota e, consequentemente, a formação e maior estabilização do cone de *Taylor*, podendo inclusive acarretar na produção de fibras de menores diâmetros. Valores superiores ao ideal, também impedirão a formação do cone e não haverá eletrofiação <sup>[42, 44]</sup>.

#### 2.3.1.6 Condições ambientais

Sabe-se que fatores ambientais como umidade e temperatura são importantíssimos de monitorar e, se possível, até controlar no momento da eletrofiação. Eles influenciam diretamente na morfologia das nanofibras produzidas. A URA influencia diretamente no diâmetro das fibras e nos poros produzidos. Casper e colaboradores<sup>[46]</sup> analisaram o impacto da variação de umidade na morfologia de nanofibras de poliestireno. Para isso, variou-se a umidade relativa do ar entre 35% e 72% e verificando o aumento da incidência e do diâmetro dos poros, à medida que a URA aumentava.

A temperatura ambiental afeta diretamente a taxa de evaporação do solvente e a viscosidade da solução. Temperaturas mais baixas levam a uma maior viscosidade e, portanto, fibras mais grossas <sup>[38]</sup>.

Por isso, para que o processo de eletrofiação seja mais robusto e reprodutível, é muito importante não só monitorar, mas também controlar a umidade relativa do ar e a temperatura.

#### 2.3.1.7 Solvente (s) da solução polimérica

A escolha dos solventes para produção da solução polimérica deve ser feita com muito critério. Fatores como condutividade elétrica, ponto de ebulição e volatilidade são variáveis que devem ser levadas em consideração. Além desses fatores, a solubilidade do polímero e de qualquer outra substância que se deseja eletrofiar no solvente escolhido deve ser investigado. Geralmente, prefere-se aqueles solventes cujo ponto de ebulição não é elevado, para facilitar na sua evaporação durante a eletrofiação e evitando assim a formação de *beads*. No entanto, solventes muito voláteis não são desejáveis, visto que sua rápida secagem pode ocasionar obstrução parcial ou total da seringa.

Fong e colaboradores <sup>[47]</sup>, avaliaram a morfologia das fibras de poli (óxido de etileno) ao variarem a proporção de etanol na solução polimérica. Eles comprovaram que, à medida que se aumentava a quantidade de etanol na solução polimérica, a incidência de *beads* diminuía. Isso se deve ao fato do etanol poder fazer ligações intermoleculares com a água, auxiliando na evaporação dos solventes durante a eletrofiação. Os resultados encontrados são apresentados na Figura 6.



**Figura 6** - Variação da morfologia da fibra em função da concentração de etanol na solução polimérica. (a) Razão etanol/água: 0,000. (b) razão etanol/água: 0,054. (c) razão etanol/água: 0,115. (d) razão etanol/água: 0,260. (e) razão etanol/água: 0,448. (f) razão etanol/água 0,702.. A largura horizontal de cada Figura é de 20 µm.<sup>[47]</sup>

#### 2.3.1.8 Materiais poliméricos na fabricação de nanofibras

Vários materiais, incluindo polímeros naturais, sintéticos, e até mesmo mistura de dois ou mais polímeros, têm sido utilizados na obtenção de estruturas nanofibrosas. Ao longo dos anos, mais de 200 polímeros com diferentes solventes, foram utilizados com sucesso na produção de nanofibras pela técnica de eletrofiação [48].

#### 2.3.2 Polímeros biodegradáveis na fabricação de nanofibras

As últimas duas décadas viram o desenvolvimento de uma gama de polímeros biodegradáveis sintéticos de nova geração e polímeros naturais análogos desenvolvidos especificamente para aplicações biomédicas. A força motriz é, em parte, devido ao surgimento de novas tecnologias biomédicas, incluindo: engenharia de tecidos, medicina regenerativa, terapia genética, administração controlada de drogas e bionanotecnologia, todas as quais requerem materiais de plataforma biodegradáveis para serem construídas <sup>[49]</sup>.

Diferentes tipos de polímeros biodegradáveis têm sido utilizados para fabricação de nanofibras em diversas áreas e aplicações. Dentre eles, os polímeros naturais apresentam, geralmente, uma melhor biocompatibilidade e baixa imunogenicidade, em comparação com polímeros sintéticos quando utilizados em aplicações biomédicas. Um dos principais motivos da utilização de polímeros naturais na eletrofiação é sua alta capacidade de fazer ligações intermoleculares, uma vez que carregam sequências de proteínas específicas, tais como RGD (arginina / glicina / ácido aspártico). Nos últimos anos, a eletrofiação de proteínas, principalmente a partir do colágeno, gelatina, elastina e seda foram estudadas por alguns autores <sup>[50, 51]</sup>, mostrando as possibilidades que se tem ao utilizar estes polímeros.

Polímeros naturais como colágeno, quitosana, gelatina, caseína, acetato de celulose, entre outros, foram utilizados na fabricação de estruturas nanofibrosas com potencial clínico. Entretanto, a desnaturação natural de proteínas tem sido reportada em trabalhos nos últimos anos <sup>[52]</sup> os quais mostraram que as

propriedades do colágeno foram perdidas quando eletrofiado a partir de soluções de álcoois fluorados.

Devido a versatilidade dos materiais poliméricos, eles estão rapidamente substituindo outras classes de materiais, como metais, ligas e cerâmicas, para uso com biomateriais. Neste cenário, os polímeros sintéticos, obtidos a partir de recursos renováveis, tem mostrado grande potencial para substituir e solucionar problemas ambientais associados aos polímeros à base de petróleo. Estes polímeros biodegradáveis são estruturas constituídas principalmente por poliésteres alifáticos, produzidos por síntese microbiológica e química, entre eles o poli (ácido lático) <sup>[27]</sup>, policaprolactona (PCL), polibutilenosuccinato (PBS) e polibutilensuccinato-butilenocarbonato (PBSC) estão disponíveis no mercado <sup>[53]</sup>.

Dentre esses polímeros biodegradáveis, o PLA é um dos polímeros mais promissores devido às suas elevadas propriedades mecânicas, plasticidade térmica e transparência óptica. O PLA (Figura 7) é um poliéster termoplástico linear, alifático com rigidez e clareza, semelhantes ao poliestireno <sup>[6]</sup> e poli (tereftalato de etileno). No entanto, a baixa resistência à fusão, a fragilidade e baixa estabilidade térmica são fatores que limitam sua aplicação [<sup>[7, 8]</sup>]



Figura 7 - Estrutura química do PLA.

Vários artigos publicados relaram que a mistura de PLA com outros polímeros é uma das melhores soluções para melhorar suas propriedades, particularmente com polímeros mais flexíveis, como poli(adipato de butileno)-co-(tereftalato de butileno) (PBAT) <sup>[9] [12] [10] [11] 12</sup>.

O PBAT é um polímero biodegradável, da classe dos poliésteres alifáticos aromáticos biodegradável, produzido à base de petróleo, conhecido, principalmente, pela sua rigidez <sup>[13]</sup>.

Comercialmente é produzido pela BASF (Badische Anilin & Soda Fabrik) com o nome de Ecoflex® e possui propriedades de polietileno convencional, mas é completamente biodegradável sob condições compostáveis. A Figura 8 exibe a estrutura química do PBAT.



Figura 8 - Estrutura química do PBAT.

A mistura destes dois polímeros é produzida pela BASF, comercializada com o nome de Ecovio®, que se caracteriza por ser um polímero com características de alta resistência mecânica e à umidade.

2.4 Medicamentos incorporados a nanofibras por eletrofiação

### 2.4.1 Medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais

Medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's) são medicamentos muito utilizados no tratamento de dores e inflamações, como é o caso da osteoartrite. Essa doença degenerativa progressiva afeta, predominantemente, articulações de pessoas acima do peso. Os sintomas dessa enfermidade incluem rigidez matinal de curta duração, dor e inflamação nas articulações e deformidade óssea <sup>[15]</sup>. Essa classe de medicamentes atua inibindo as enzimas COX1 e COX 2 que estão envolvidas na conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas <sup>[54]</sup>.

Desde a introdução do ácido acetilsalicílico, em meados do século XIX, os AINE's se tornaram os principais medicamentos utilizados no tratamento dessas doenças, devido suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. O elevado número de pacientes afetados por essas doenças tem intensificado a o uso de AINE's, tanto prescrito quanto de venda livre. Embora a eficácia de novos fármacos esteja estabelecida, o seu uso generalizado provocou preocupações com a segurança, particularmente com o sistemas gastrointestinal (SGI)<sup>[15]</sup>.

Um AINE que tem sido estudado é o aceclofenaco, com nome químico de -[2-[2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil]acetil]ácido oxalacético, representado pela Figura 9



Figura 9 - Estrutura química do aceclofenaco.

O mecanismo de ação do aceclofenaco se baseia na inibição dos mediadores de atividades inflamatórias. Quando administrado via oral, ele é absorvido completamente, levando cerca de 1,5 a 2,0 horas para atingir concentração máxima no sangue, e sua excreção ocorre preferencialmente pelo sistema urinário <sup>[55]</sup>.

Contudo, assim como os demais AINE's a administração oral excessiva do aceclofenaco pode causar úlceras gastrointestinais e sangramento intestinal, podendo levar a quadros anêmicos. Uma alternativa que tem sido estudada é a produção de nano emulsões de aceclofenaco com liberação transdérmica. Dessa forma, o fármaco evita o metabolismo de primeira passagem e mantem seu nível no plasma sanguíneo por período maior, proporcionando um tratamento mais preciso e efetivo nas regiões inflamadas <sup>[56]</sup>.

Considerando que os AINE's são, atualmente, a classe de medicamentos mais utilizados no mundo, eles se tornam candidatos em potencial para o desenvolvimento de membranas de liberação controlada. O potencial terapêutico desses fármacos contempla atividades anti-inflamatórias, analgésicas e antitérmicas.

Por estes motivos, o desenvolvimento de membranas por eletrofiação associadas com medicamentos anti-inflamatórios com liberação transdérmica tornase uma opção atrativa.

2.5 Produção de nanofibras com fármacos e estudos de liberação

Entre várias aplicações em potencial, a liberação transdérmica de fármacos é uma possibilidade promissora. A alta capacidade de adsorção, liberação simultânea, facilidade de operação e relação custo-benefício são características atraentes para este objetivo <sup>[16, 17]</sup>. Além disso, a crescente demanda por entrega direcionada de agentes terapêuticos com características lipofílicas tem sido um fator crucial nos estudos de novas formulações. Essa natureza específica do agente terapêutico faz com que os estudos de dissolução sejam cada vez mais investigados e avaliados para que a biodisponibilidade seja otimizada, reduzindo o tempo e o custo final no desenvolvimento da formulação.

Os testes de desempenho *in vitro* para produtos sólidos, tal como o ensaio de dissolução, tem sido utilizado como ferramenta de controle de qualidade, em alterações de processo e, principalmente para desenvolvimento de novas formulações.

A dissolução é definida como processo pelo qual uma quantidade conhecida de fármaco entra em solução por unidade de tempo sob condições padronizadas <sup>[57]</sup>. Os testes de dissolução foram desenvolvidos para quantificar a velocidade e a extensão da liberação, especialmente de cápsulas e comprimidos de liberação imediata ou controlada <sup>[58]</sup>. A velocidade com que ocorre a dissolução determinará a velocidade com que o fármaco é absorvido.

Por isso, a escolha da matriz no processo de eletrofiação exerce uma importante função na liberação do fármaco. O mecanismo de liberação depende do tipo de polímero selecionado, pois no caso de polímeros não degradáveis a liberação do ativo ocorre por difusão, já polímeros biodegradáveis a liberação pode ocorrer tanto por decomposição da matriz quanto por difusão. A taxa com a qual o fármaco é permeado também pode ser controlado pela escolha do material polimérico de partida.
O tipo de polímero, o solvente e a compatibilidade dos fármacos são variáveis de processo importantes que devem ser levadas em consideração para manter uma liberação estável e reprodutível. Como regra geral, os polímeros lipofílicos devem ser usados com fármacos lipofílicos, e os polímeros hidrofílicos devem ser usados com fármacos hidrofílicos para se obter um perfil de liberação adequado <sup>[59]</sup>

A Quadro 3 expõe vários polímeros eletrofiados e aplicados na liberação de fármaco.

Polímero Solvente		Fármaco	Referência
PCL	PCL 7:3 diclorometano / metanol Heparina		[60]
PEO/PCL (blenda)	Clorofórmio	Lisozima	[61]
PVA	Água deionizada	Diclofenaco, Indometacina	[62]
Poliuretano	DMF	Itraconazol	[63]
PEVA	Clorofórmio	Tetraciclina	[6]

Quadro 3 - Tipos de polímeros, fármacos e solventes utilizados na eletrofiação para estudo de liberação de fármacos

PCL: poli(ε-caprolactona); PEO: poly(oxido de etileno); PVA: poli(álcool vinílico); PEVA: poli(acetato de etileno-co-vinílico); PAA: poli(ácido acrílico); PAH: poli(hidrocloridrato de alamina)<sup>[59]</sup>

A partir dos primeiros estudos sobre aplicação de membranas a base de poli (ácido lático) e poli (etileno-acetato de co-vinil), produzidas por eletrofiação para liberação prolongada de cloridrato de tetraciclina feitos por Kenawat e colaboradores, em que as nanofibras eletrofiadas foram utilizadas com sucesso para atingir diferentes perfis de liberação: imediata, suaves, pulsáteis, atrasadas e bifásicas <sup>[64, 65]</sup>.

Para se chegar a este resultado, a formulação teve de ser submetida a uma série de ensaios de liberação/dissolução. Por isso, testes *in vitro* são frequentemente usados para verificar se a qualidade e desempenho dos produtos são mantidos ao longo do tempo <sup>[66]</sup>.

Tungprapa *e colaboradores*, eletrofiaram uma solução polimérica de acetato de celulose 16% m/v, utilizando uma mistura de acetona e dimetilacetamida, e aplicaram quatro AINE's diferentes: naproxeno, indometacina, ibuprofeno e

sulindaco. O estudo demonstrou que a eficiência da absorção dos fármacos foi de 84-93% <sup>[67]</sup>.

A Figura 10 mostra o formato das fibras produzidas por Tungprapa e seus colaboradores.



**Figura 10** - Fibras produzidas por eletrofiação de solução polimérica de acetato e celulose 16% m/v com fármacos absorvidos. Solução de 16% m/v de acetato de celulose em 2:1 v/v de acetona:DMA e essa solução contendo (b) Naproxeno, (c) Indometacina, (d) Ibuprofeno e (e) Sulindaco. Adaptado de Tungprapa, 2007.

Nesse mesmo estudo foi investigado o perfil de liberação dos fármacos contidos nas fibras produzidas. Para isso, membranas cortadas em discos circulares com diâmetro padrão de 2,8 cm, foram imersas em 40 mL de solução tampão de acetato com pH de 5,5. A solução tampão teve sua temperatura controlada em torno de 37°C e foi submetida a constante agitação. Em períodos regulares, de 0 a 24 horas (1440 min) foram coletadas alíquotas de 0,5 mL do meio de dissolução para avaliação espectrofotométrica UV/VIS nos comprimentos de onda de máxima absorção de cada fármaco. As absorbâncias obtidas foram então inseridas na

equação da curva de calibração de cada fármaco para então determinar a concentração. A Figura 11 mostra os resultados de liberação ao longo de 24h.



Figura 11 – (a) Resultados de estudo de liberação dos fármacos. Liberação dos fármacos no período de 0 a 120 min. (b) Resultados de liberação dos fármacos no período de 0 a 1440 min. Legenda: ▲ Ibuprofeno; ▼ Sulindaco; ■Indometacina; ● Naproxeno.

As membranas produzidas pela solução polimérica (símbolos cheios), apresentaram melhores resultados em comparação com aquelas que foram eletrofiadas a partir do polímero fundido (símbolos vazios).

A capacidade de liberação do fármaco de se desprender de uma matriz polimérica depende de vários fatores, como a solubilidade do fármaco na matriz, a solubilidade do fármaco no meio de dissolução, a capacidade de inchaço e a solubilidade da matriz no meio teste, a difusão do fármaco a partir da matriz polimérica, etc. Dos citados, o inchaço e a solubilidade da matriz polimérica no meio teste e a solubilidade do fármaco na matriz são os principais fatores a serem considerados neste tipo de estudo <sup>[67]</sup>.

O autor justifica que esse comportamento, de liberação lenta, se deve ao fato que os fármacos que foram quantificados eram aqueles que estavam adsorvidos na face externa da membrana. Enquanto, aqueles que durante o processo de eletrofiação, permaneceram na região interna da fibra, foram liberados com uma taxa muito menor, devido à baixa capacidade da fibra de se dissolver no meio e difusão do próprio fármaco.

Em 2018, Moydeen e colaboradores <sup>[68]</sup>, produziram, caracterizaram e avaliaram a dissolução de nanofibras de PVA/Dextrano com o antibiótico

ciprofloxacino. Os pesquisadores produziram nanofibras lisas, homogêneas e isentas de *beads*, com diâmetro médio de 500 nm. Os estudos de liberação mostraram que o perfil de dissolução está intimamente ligado à composição da solução polimérica utilizada. A medida que se aumentava a quantidade de polímero na solução, o fármaco demorava mais para ser liberado. Em alguns casos, após 45 horas de estudos, a liberação não passava de 30% da quantidade declarada. Por isso, deve-se investigar com cuidado a composição da solução polimérica não somente para produzir nanofibras lisas, homogêneas e sem *beads*, mas deve-se levar em consideração também, o perfil de liberação associado a cada formulação.

Apesar dos inúmeros estudos de dissolução para entender melhor os mecanismos e formas de liberação de fármacos, ainda sente-se a necessidade de aprofundar os estudos de liberação transdérmica de fármacos, principalmente os da classe do aceclofenaco, AINE's <sup>[69]</sup>. De acordo com o FDA, os AINE's pertencem a classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, e esses fármacos possuem alta taxa de absorção (>90%) e baixas taxas de dissolução. Para este grupo, a absorção e a biodisponibilidade são limitadas pela taxa de dissolução <sup>[70]</sup>, e esta baixa taxa de dissolução é a principal limitação no desenvolvimento de novos fármacos para via de administração oral.

#### 2.6 Cinéticas de liberação

Os ensaios de dissolução *in vitro* constituem importante meio de caracterização da qualidade, possibilitando o controle da qualidade farmacêutica e estabelecimento de correlações com os dados *in vivo*. Conhecer e controlar as variáveis que influenciam a liberação do fármaco, bem como validar as metodologias analíticas envolvidas, enfatizam a importância destes ensaios, tornando-os mais confiáveis e robustos <sup>[19]</sup>.

Não só a explicação dos dados obtidos pelos ensaios de dissolução, mas a previsão da permeação percutânea tem atraído a atenção de pesquisadores em cosméticos e da indústria farmacêutica, uma vez que o desenvolvimento de modelos matemáticos de transporte epidérmico e dérmico tornou-se essencial para o

entendimento e otimização da liberação percutânea de fármacos e para avaliação de sua toxicidade <sup>[71] [72]</sup>.

Modelos matemáticos que ajudam no entendimento do transporte epidérmico e dérmico são essenciais para a otimização e desenvolvimento de produtos para liberação percutânea de drogas locais e sistêmicas e para avaliação da exposição dérmica a substâncias químicas. Esses modelos geralmente auxiliam no entendimento e fornecem informações sobre a taxa de penetração da droga através da pele e, portanto, sobre a concentração dérmica ou sistêmica das drogas. Eles também são úteis na análise de dados experimentais, reduzindo o número de experimentos e traduzindo os experimentos in vitro para um ambiente in vivo <sup>[71]</sup>.

Em 2018, Moydeen e colaboradores <sup>[68]</sup> avaliaram diferentes modelos matemáticos afim de encontrar aquele que melhor se adequasse a liberação do fármaco utilizando como matriz polimérica o Poli (álcool vinílico) (PVA). Foram avaliados diferentes modelos cinéticos comumente usados para o estudo de liberação fármaco, os quais estão descritos a seguir:

• Ordem zero:

$$M_0 - M_t = k_0 t \tag{1}$$

Este modelo é utilizado para determinar o perfil de liberação do fármaco de vários tipos de portadores, onde o fármaco é liberado a uma taxa constante <sup>[73]</sup>.

• Primeira ordem:

$$\log (100 - M_t) = \log 100 - \frac{k_1}{2,303}t$$
<sup>(2)</sup>

Modelo que escreve a liberação de sistemas contendo fármacos hidrofílicos dispersos em estruturas porosas, onde a liberação ocorre à uma taxa correspondente à quantidade remanescente no interior do veículo <sup>[73]</sup>.

• Modelo cinético de Higuchi:

$$M_t = k_{HC} \left( t^{1/2} \right) \tag{3}$$

41

Trata-se do modelo cinético mais utilizado para liberação controlada de fármaco <sup>[73]</sup>, onde a liberação do ativo ocorre por difusão dentro do sistema de entrega. Neste caso, a quantidade cumulativa de fármaco é proporcional ao t<sup>1/2</sup>.

• Modelo cinético de Hixson-Crowell:

$$(100 - M_t)^{1/3} = 100^{1/3} - k_H t \tag{4}$$

É tipicamente utilizado para veículos de entrega cuja a taxa de liberação do medicamento é proporcional à área superficial do sistema <sup>[73] [74]</sup>.

Nas equações de (1) a (4),  $M_t$  é a concentração do fármaco liberado no tempo *t*,  $M_0$  é a concentração inicial do fármaco na solução e  $k_0$ ,  $k_1$ ,  $K_H$ ,  $K_{HC}$  são as constantes de liberação dos modelos cinético de ordem zero, primeira ordem, Hixson-Crowell e Higuchi, respectivamente.

• Modelo Korsmeyer-Peppas:

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = k_{KP} t^n \tag{5}$$

Onde  ${}^{M_t}/{}_{M_{\infty}}$  denota a fração do fármaco liberado no tempo *t*, *k* é a constante

e *n* é o expoente de liberação <sup>[68] [75]</sup>. Este modelo é amplamente utilizado quando se deseja obter mais informações sobre o tipo de mecanismo de difusão que rege o sistema <sup>[73]</sup>,onde o valor de *n* caracteriza o mecanismo de liberação do fármaco conforme descrito na Tabela 1 <sup>[76]</sup>.

 Tabela 1 – Interpretação dos mecanismos de liberação por difusão de filmes poliméricos

Expoente de liberação (n)	Mecanismo de transporte do fármaco	Taxa em função do tempo		
n < 0,5	Difusão de Fickian	t <sup>-0,5</sup>		
0,45 < n = 0,89	Transporte não Fickiano	t <sup>n-1</sup>		
n = 0,89	Caso II de transporte	Liberação de ordem zero		
n > 0,89	Super Caso II de transporte	t <sup>n-1</sup>		

• Modelo Weibull:

$$M = M_0 \left[ 1 - e^{-\frac{(t-T)^{\beta}}{\alpha}} \right]$$
(6)

Nesta equação, M é a quantidade de fármaco dissolvida em função do tempo t, M<sub>0</sub> é a quantidade total de fármaco no início da liberação. T é o tempo de atraso do início da dissolução. Na maioria dos casos, este valor é igual a zero.  $\alpha$  (alfa) denota um parâmetro de escala que descreve a dependência do tempo, enquanto  $\beta$  (beta) descreve a forma da progressão da curva de dissolução. Para  $\beta$  = 1, a forma da curva corresponde exatamente à forma de um perfil exponencial, com a constante k = 1/ $\alpha$ , conforme equação 6.

$$M = M_0 \left[ 1 - e^{-k(t-T)} \right]$$
(7)

Se  $\beta$  é maior que 1, o formato da curva fica semelhante a uma sigmoide, com um ponto de inflexão, enquanto que, quando  $\beta$  é menor que 1, a curva mostrará um aumento mais acentuado em comparação quando  $\beta$  = 1.

De acordo com a literatura, o Modelo de Weibull é o mais comumente utilizada para comparação de perfis de liberação de fármacos onde utiliza-se matriz de entrega de fármaco, como filmes poliméricos <sup>[77] [75]</sup>.

O transporte de fármacos no interior de sistemas farmacêuticos e suas liberações envolvem, às vezes, múltiplas etapas provocadas por diferentes fenômenos físicos ou químicos, dificultando, ou mesmo impossibilitando, a obtenção de um modelo matemático que o descreva da maneira correta. Os modelos apresentados acima, descrevem melhor a liberação de fármaco de sistemas farmacêuticos quando resulta de um fenômeno simples.

Os modelos de liberação e os fenômenos de melhor descrição de liberação de fármacos são, em geral, o modelo Higuchi, o modelo de ordem zero, o modelo de Weibull e o modelo de Korsmeyer-Peppas. Os modelos Higuchi e de ordem zero representam dois casos limite nos fenômenos de transporte e liberação de fármacos, e o modelo Korsmeyer-Peppas pode ser um parâmetro de decisão entre esses dois modelos. Embora o modelo de Higuchi tenha uma grande aplicação em sistemas de matriz polimérica, o modelo de ordem zero torna-se ideal para descrever formas de dosagem revestidas ou formas de dosagem controladas por membrana.

Diante dos modelos cinéticos apresentados, deve-se avaliar qual deles melhor descreve o comportamento de liberação observado. De acordo com Costa e colaboradores<sup>[78]</sup>, uma das maneiras mais eficazes de se avaliar a correlação entre o modelos matemáticos de liberação e os dados experimentais, é por meio do coeficiente de determinação, R<sup>2</sup>, para avaliar o ajuste do modelo. No entanto, geralmente, este valor tende a aumentar com a adição de mais parâmetros ao modelo, independentemente da significância da variável adicionada. Para o mesmo número de parâmetros, no entanto, o coeficiente de determinação pode ser usado para determinar o melhor modelo. Ao compararmos modelos com diferentes números de parâmetros, o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup> <sub>ajustado</sub>) é o mais significativo.

$$R^{2}_{ajustado} = 1 - \frac{(n-1)}{(n-p)} (1 - R^{2})$$
(8)

Onde *n* é o número de pontos de dados de dissolução (M/t) e *p* é o número de parâmetros no modelo. Enquanto R<sup>2</sup> sempre aumenta ou pelo menos permanece constante ao adicionar novos parâmetros ao modelo,  $R^2_{ajustado}$  pode realmente diminuir, dando assim uma indicação se o novo parâmetro melhora o modelo ou pode levar a um ajuste excessivo. Em outras palavras, o melhor ajuste é aquele que apresenta o maior  $R^2_{ajustado}$ <sup>[78]</sup>.

Além do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) ou do coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{ajustado}$ ), o coeficiente de correlação (R), a soma dos quadrados de resíduos (SSR), o erro quadrático médio (MSE), o Critério de Informação de Akaike (AIC) e a probabilidade *F*-ratio também são usadas para testar a aplicabilidade dos modelos de liberação.

O critério de informação de Akaike (AIC) é a medida do quão o ajuste matemático foi ajustado para se parecer com os dados experimentais. Ao comparar vários modelos de um conjunto de dados, o modelo associado ao menor valor AIC é considerado como sendo o melhor ajuste desse conjunto de modelos <sup>[78]</sup>.

$$AIC = n \times ln (WSSR) + 2 \times p \tag{9}$$

Onde *n* é o número de pontos da dissolução (M/t), *p* é o número de parâmetros do modelo, WSSR é a soma ponderada do quadrado dos resíduos, calculado pela equação:

WSSR = 
$$\sum_{i=1}^{n} [w_i (y_i - \hat{y}_i)^2]$$
 (10)

Onde  $w_i$  é o fator de ponderação opcional e  $y_i$  denota o valor previsto de  $y_i$ . O critério de AIC tornou-se uma ferramenta padrão de comparação no ajuste de modelos, e seu cálculo está disponível em muitos programas estatísticos <sup>[78]</sup>

Antes que a regressão não linear estivesse prontamente disponível, a melhor maneira de analisar dados não lineares era transformá-la para criar um gráfico linear e depois analisar esses dados transformados com regressão linear. O problema com esse método é que a transformação pode distorcer o erro experimental. Como analisar os resultados da dissolução com regressão linear é uma prática muito comum <sup>[68]</sup>, essa prática deve ser executada com muito cuidado, avaliando a sua real necessidade. Alguns programas de computador desenvolvidos recentemente permitem a análise de perfis de liberação de dissolução, de maneira rápida e relativamente<sup>[79]</sup>.

# **OBJETIVOS**

## 2.7 Objetivo geral

Avaliar a liberação *in vitro* do fármaco aceclofenaco em membranas de Ecovio<sup>®</sup> produzidas por eletrofiação.

## 2.8 Objetivos específicos

Avaliar as melhores proporções da relação m/m de aceclofenaco:Ecovio<sup>®,</sup> a fim de se obter uma solução ideal para produção de membranas por eletrofiação;

Determinar os parâmetros mais adequados para produção de nanofibras de Ecovio<sup>®</sup> com aceclofenaco por eletrofiação.

Caracterizar as fibras produzidas por técnicas ópticas, térmicas, espectroscópicas e microbiológicas.

Desenvolver e validar um método cromatográfico, capaz de separar e quantificar o fármaco dos demais constituintes da matriz.

Investigar a liberação *in vitro* do fármaco aceclofenaco nas nanofibras de Ecovio<sup>®</sup> produzidas por eletrofiação, associando-a a um modelo cinético de liberação.

# **3 MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS**

O polímero Ecovio® foi utilizado em diferentes condições experimentais no processo de eletrofiação para a produção de membranas que posteriormente foram utilizadas como suporte para liberação do fármaco aceclofenaco.

As membranas foram produzidas com e sem incorporação do fármaco à solução polimérica, reproduzindo os parâmetros mais adequados de eletrofiação encontrados nos ensaios preliminares.

As condições mais adequadas foram escolhidas considerando o diâmetro das fibras e a quantidade de *beads* formados.

Com intuito de avaliar as principais características morfológicas e térmicas das membranas, foram realizadas análises de microscopias óptica e eletrônica de varredura (MO e MEV), termogravimetria (TGA), calorimetria diferencial exploratória (CDE), difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

Para avaliar o potencial de liberação *in vitro* do fármaco, foram realizados ensaios de dissolução, em que o fármaco liberado foi quantificado por um método analítico de cromatografia líquida de ultra eficiência, desenvolvido e validado de acordo conforme guia Q2 (R1) da conferência internacional de harmonização (International Conference on Harmonisation, ICH)<sup>[80]</sup>.

# 3.1 Eletrofiação – material utilizado

Os materiais utilizados para preparação das soluções eletrofiadas estão listadas na Tabela 2.

Substância	Procedência	Pureza (%)
N,N-Dimetilformamida (DMF)	Scharlau	> 99,9
Clorofórmio	Sigma Aldrich	99,99
Aceclofenaco	Aarti Drugs Limited	99,97
Ecovio®	BASF	-

Tabela 2 – Materiais utilizados para preparo das soluções analíticas.

#### 3.1.1 Preparo das soluções

O diluente utilizado para solubilização do polímero e do fármaco foi clorofórmio: DMF na proporção 85:15 (% v/v).

Com o objetivo de avaliar as concentrações ótimas do fármaco que não interferem no processo de eletrofiação, foram preparadas soluções deste nas concentrações de 5%, 10%, 15%, 20% e 30% (m/m). As soluções foram mantidas sob agitação em um agitador magnético por um período de 24 horas <sup>[81]</sup>. Ressalta-se que a concentração polimérica permaneceu constante (15% m/v) durante a investigação da concentração ótima de trabalho do fármaco.

Além destas soluções, preparou-se também a solução 0% (m/m), sem adição de fármaco, sendo utilizada como o "branco" nas análises de caracterização.

Para produção da solução polimérica solubilizou-se 750 mg de Ecovio<sup>®</sup> em 5 mL de diluente e essa solução foi mantida sob agitação magnética por 24 horas em vials de 20 mL <sup>[81]</sup>.

A produção das soluções poliméricas contendo o fármaco foram realizadas da mesma forma, exceto que após a adição do polímero ao diluente, adicionou-se também o fármaco.

#### 3.1.2 Determinação dos parâmetros para eletrofiação

Com objetivo de produzir fibras livre de *beads* e com menor diâmetro possível, parâmetros como a distância entre o coletor e a agulha, a tensão aplicada foram modificadas, conforme Tabela 3.

Parâmetro	Variação
Distância da agulha ao coletor (cm)	14, 15 e 16
Tensão aplicada (kV)	14, 16, 17 e 18
Vazão da solução (mL.h <sup>-1</sup> )	0,8 e 1,0

Tabela 3 - Parâmetros investigados para obtenção das melhores condições de eletrofiação.

Os experimentos de eletrofiação foram realizados à temperatura ambiente e a URA vaiando entre 30% e 62%. A solução a ser eletrofiada foi transferida para 48 uma seringa de vidro de 10 mL com uma ponta capilar de diâmetro interno de, aproximadamente, 0,6 mm. Esta, por sua vez foi acoplada a uma bomba de infusão, na qual a vazão da solução polimérica pode ser controlada. Um fio de cobre ligado ao polo positivo da bateria foi conectado na agulha da seringa. O polo negativo e o fio terra foram conectados na placa coletora, feita de aço inoxidável.

## 3.2 Caracterização das fibras produzidas

A fim de garantir que o fármaco faz parte da estrutura fibrosa produzida, realizou-se a caracterização das fibras produzidas por diferentes técnicas: termogravimetria, calorimetria diferencial exploratória, espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios X, microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura.

#### 3.2.1 Microscopia óptica

Durante o processo de eletrofiação fixou-se no prato coletor, em pontos estratégicos, algumas lâminas de vidro, para que fosse possível avaliar amostras da fibra produzida e então realizar a visualização das mesmas por microscópio óptico. Essa coleta foi realizada de 30 em 30 minutos após o início da eletrofiação e as fibras foram avaliadas afim de verificar a qualidade do material produzido e, se necessário, realizar algum ajuste ou até interrupção do processo de eletrofiação.

As análises foram realizadas com microscópio de luz polarizada Eclipse E2000 da Nikon, com módulo de imagem Motic Live. A aquisição de imagens foi realizada pelo software Motic Images Plus 2.0.

#### 3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das nanofibras foram investigadas por MEV utilizando um equipamento QUANTA 250. Para isso, uma pequena secção da membrana foi recoberta com uma fina camada de ouro, em um equipamento da BAL-TEC – SCD 050, antes da observação no MEV. As amostras foram observadas sobre ampliação de 1000, 3000 e 10000 vezes (5 μm) em relação ao seu tamanho original. Por meio

dessas imagens, foi possível determinar o tamanho médio das fibras obtidas utilizando o software de processamento de imagem Quatikov Image Analyzer.

# 3.2.3 Espectroscopia na região do infra-vermelho médio com transformada de Fourier

O equipamento utilizado para efetuar as caracterizações foi da Perkin Elmer, modelo Spectrum, com *Universal* ATR (*Attenuated Total Reflection*) Sampling Acessory, com resolução de 2 cm<sup>-1</sup>, 10 varreduras para cada espectro na região entre 4000 e 650 cm<sup>-1</sup>.

## 3.2.4 Difração de Raios-X (DRX)

Para investigar o grau de cristalinidade, as amostras foram submetidas Difratômetro Miniflex 600 de Rikagu Corporation, com as condições: 20: 2-50°; passo (°): 0.020; tempo/passo: 40s; fendas DS 1/16°, velocidade de varredura: 2,5°/minuto, máscara 15mm, AS 6.4mm, tubo de Cu Kα1, detector D/Tex Ultra e porta-amostra zero background (Si). Os Softwares utilizados foram *Miniflex Guidance* para sequenciar as amostras e software *PDXL2* para avaliação dos resultados, ambos licenciados por Rigaku.

#### 3.2.5 Calorimetria diferencial exploratória, CDE

Utilizou-se o calorímetro TGA/CDE 1 da Mettler-Toledo, utilizando recipientes de alumínio sem tampa e analisando com uma taxa de variação de tempereratura de aquecimento e resfriamento de 10°C.min<sup>-1</sup> entre 30 e 300°C sob fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub>. Software *STAR e* licenciado por Mettler-Toledo.

#### 3.2.6 Termogravimetria ou análise termogravimétrica

Para determinação das características térmicas dos materiais produzidos neste trabalho, pesou-se cerca de 3,75 mg da nanofibra e acomodou-a em um recipiente de alumínio adequado. Colocou-se esse recipiente no equipamento e

iniciou o aquecimento, partindo de 30 °C até 500 °C a uma taxa de 10 °C.min<sup>-1</sup>, com vazão de gás nitrogênio a 50,0 mL.min<sup>-1</sup>.

#### 3.3 Estudo de liberação

Para realização dos testes de dissolução, pesou-se cerca de 25 mg de fibra de formato retangular, as quais foram acondicionadas no fundo da cuba do dissolutor da marca Sotax. Em seguida, posicionou-se as telas de liberação transdérmica (aparato 5) acima da fibra e então preencheu a cuba com 900 mL de solução de cloreto de sódio a 0,9% (m/v). Ajustou-se a temperatura do banho para 32 °C e conectou-se as pás de agitação (aparato 2) as hastes do dissolutor. A agitação foi regulada para 50 rotações por minuto. As coletas foram feitas nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 45, 50, 55 e 60 minutos e *spin.* 

Nos tempos indicados, coletou-se uma alíquota de 1 mL do meio para balão volumétrico de 5 mL, no qual o volume foi aferido com solução de NaCl 0,9% (m/v). Deste balão, o conteúdo foi filtrado utilizando filtros Durapore® (fluoreto de polivinilideno (PVDF), da Merck Millipore, de diâmetro 0,22 µm e retirou-se uma alíquota de, aproximadamente 1,5 mL para vials de 2,0 mL.

# 3.4 Cromatografia líquida de ultra eficiência (*ultra performance liquid chromatography*, UPLC)

Neste trabalho, um método simples e eficiente de UPLC com detecção por UV, com sensibilidade adequada para os níveis de concentração trabalhado e curto tempo de eluição foi desenvolvido e validado para quantificação de aceclofenaco em estudos de liberação nanofibras de Ecovio<sup>®</sup>

O desenvolvimento do método analítico para avaliação do perfil de dissolução de aceclofenaco foi realizado por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC). O cromatógrafo utilizado foi da marca Waters acquity H-class equipado com injetor (modelo SDI), bomba quaternária (QSM), forno (CMP) e detector (UPL). O software utilizado para análise de dados foi o Empower<sup>®</sup> 3. A separação cromatográfica foi realizada com coluna C18 (octadecilsilano) Waters Acquity BEH 50 mm × 2,1 mm x 1,7µm. A fase móvel do sistema é composta por

solução tampão (TP) de acetato de amônio 15mM e pH de 4,2 e acetonitrila, com gradiente de concentração que iniciou com 75% de TP 15 mM e 25 % de acetonitrila, em 0,5 minuto se mantém na mesma concentração, a partir desse ponto até 1,75 minutos altera-se a concentração de TP 15 mM para 30 % e de acetonitrila para 70 %, em 2,10 minutos retorna-se a condição inicial de 75 % de TP 15 mM e 25 % de acetonitrila, no qual se manteve até 3,00 minutos com o intuito de estabilizar o sistema.

O Fluxo utilizado durante a análise foi de 0,45 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna de 40 °C e volume de injeção de 5,0 µL. Para quantificação, verificou-se que o comprimento de onda de 276 nm é o mais adequado.

A validação da metodologia analítica para a quantificação do composto contidos na fibra de Ecovio<sup>®</sup> será realizada contemplando os parâmetros de especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez do método, conforme guia Q2 (R1) da conferência internacional de harmonização (International Conference on Harmonisation, ICH)<sup>[80]</sup>

## 3.5 Modelos Cinéticos de Liberação

O estudo cinético do perfil de liberação é um parâmetro significativo para fins proporcionais e para a relação dos parâmetros de liberação com fatores significativos, como a biodisponibilidade. Além disso, um parâmetro cinético pode ser utilizado para avaliar o efeito de fatores de formulação no perfil de liberação do fármaco <sup>[82]</sup>. O mecanismo de liberação do aceclofenaco nas nanofibras de Ecovio foi avaliado pela análise do perfil de liberação utilizando os modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Kosmeyer-Peppas e Weibull, com auxílio do software DDSolveer<sup>[79]</sup>. Estes modelos são a cinética de liberação mais comum em sistemas de liberação de fármacos em matrizes poliméricas de nanofios com liberação controlado e rápida.

Para avaliação da correção entre os modelos cinéticos e experimental, comparou-se os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{ajustado}$ ), o coeficiente de correlação (R), e o Critério de Informação de Akaike (AIC)<sup>[68]</sup>.

# 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

# 4.1 Definição dos parâmetros de eletrofiação

Utilizando o processo de eletrofiação foi possível obter fibras poliméricas de Ecovio com e sem o aceclofenaco incorporado em sua estrutura, na concentração de 15% (m/v) do polímero e 15% (m/m) do fármaco. Para as demais concentrações, não foram encontrados parâmetros ótimos que permitissem a produção das fibras. As variáveis de processo ficaram definidas da seguinte forma: distância entre a agulha e o prato coletor de 16 cm; tensão de 17,0 kV; vazão de 0,8 mL.min<sup>-1</sup>; 4 horas de eletrofiação.

# 4.2 Caracterização das fibras

# 4.2.1 Morfologia das fibras

Com intuito de comparar as fibras, a análise de MEV foi executada com três amostras: fibra eletrofiada sem o fármaco; fibra eletrofiada com o fármaco; fibra eletrofiada com o fármaco após o estudo de liberação. As imagens obtidas são apresentadas na Figura 12.



**Figura 12** - Microscopia eletrônica de varredura para o (a)Ecovio 15% (m/v) eletrofiado sem o fármaco; (b) Ecovio 15% (m/v) eletrofiado com o fármaco a 15% (m/m) antes do estudo de liberação e (c) o Ecovio 15% (m/v) eletrofiado com o fármaco a 15% (m/m) após realizado o estudo de liberação.

As fibras apresentaram diâmetro médio de 645,69 nm com desvio padrão de ± 0,71 nm, comprovando a premissa de produção de estruturas fibrosas em escala nanométrica.

Verificando a morfologia dos fios produzidos, nota-se uma diferença significativa na superfície dos mesmos. Na Figura 12(a), onde tem-se a fibra sem a

presença de fármaco, a superfície externa do fio não ficou tão homogênea em comparação com a Figura 12(b). A ausência do fármaco pode interferir em características físico-químicas da solução, como constante dielétrica e viscosidade, a ponto de interferir significativamente, por exemplo, na formação e estabilidade do Cone de Taylor, o que pode provocar a heterogeneidade dos fios produzidos.

Além disso, ressalta-se que as condições ambientais no dia da realização do experimento de eletrofiação se alteraram muito. A primeira solução a ser eletrofiada, foi a solução com ausência de fármaco. No início, as condições de umidade relativa do ar era de, aproximadamente 80%, com temperatura de 18,1°C. No início da eletrofiação da solução contendo o fármaco, a umidade relativa do ar era de cerca de 50%, enquanto a temperatura local era de 22°C. Por se tratar de uma técnica que é intimamente influenciada pelas condições ambientais, a variação de, aproximadamente 30% da umidade relativa do ar pode ter influenciado na morfologia das fibras geradas, inclusive na presença dos *beads* observados.

Durante o processo de solubilização do polímero em clorofórmio em ambiente úmido (acima de 55% umidade relativa do ar), as moléculas voláteis do solvente evaporam, levando a um efeito de resfriamento, fazendo com a umidade do ar se condense na superfície da fibra, formando gotas de água. Essas gotículas se estabilizam e aparecem na superfície da fibra devido à hidrofobicidade do polímero e imiscibilidade do clorofórmio em água, a qual ao evaporar, deixa a fibra com um aspecto mais poroso. <sup>[83, 84]</sup>.

Outro mecanismo proposto por Huang e Thomas<sup>[83]</sup> é a separação de fase induzida por vapor. Esse processo acontece quando um solvente com alta temperatura de ebulição e miscível em água, como o DMF, é eletrofiado em um ambiente com alta umidade relativa do ar. Pelo fato do solvente ser miscível com o vapor d'água, as moléculas de água penetram nos jatos das fibras, levando à separação das fases e a uma estrutura mais porosa.

A presença de gotas em fibras foi observada no processo de eletrofiação de Ecovio/DMF e Ecovio/clorofórmio, onde a baixa constante dielétrica do clorofórmio (4,8) foi apontada como possível causa pelo surgimento dos *beads*<sup>[85]</sup>. Além disso, o alongamento do jato é diretamente influenciado pela densidade de cargas na solução polimérica e, consequentemente, pela condutividade elétrica da mesma.

Logo, sob uma mesma tensão elétrica e distância entre a ponta agulha e o aparato coletor, a solução que apresenta maior condutividade elétrica, poderá gerar maior alongamento por toda a extensão do jato e também fibras eletrofiadas com menor diâmetro<sup>[5]</sup>.

Apesar de o DMF apresentar maior constante dielétrica que o clorofórmio, 38,3 e 4,8 respectivamente, seu ponto de ebulição é maior em relação ao clorofórmio (153 °C e 61,6 °C), e sua baixa volatilidade de um componente da solução polimérica não favorece o processo de evaporação rápida do solvente durante a eletrofiação e podem produzir fibras mais úmidas e com presença de *beads* <sup>[86]</sup>.

4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

A espectroscopia na região do infravermelho é uma ferramenta importantíssima na investigação de nanofibras, pois a ocorrência de complexação e/ou interação entre duas matrizes poliméricas, assim como serve de ferramenta para avaliar a incorporação de outros compostos nessas misturas.

Os espectros de infravermelho da matéria prima aceclofenaco, da membrana de Ecovio® de a membrana produzida pela solução de aceclofenaco / Ecovio15% (m/m) são apresentadas na Figura 13





Figura 13 - FTIR de (a) aceclofenaco puro (b) Membrana de Ecovio 15% (m/v); e (c) Membrana de ecovio 15% (m/v) com aceclofenaco 15% (m/m).

No espectro do aceclofenaco (Figura 13-a), a banda em 3319 cm<sup>-1</sup> pode ser atribuída ao estiramento simétrico da ligação NH da amina secundária, a banda em 3282 cm<sup>-1</sup> é característica do estiramento da ligação OH do ácido carboxílico, em 2936 cm<sup>-1</sup> tem-se uma banda devido ao estiramento simétrico de CH de carbono sp<sup>2</sup> do anel aromático. A banda em 1717 cm<sup>-1</sup> surge devido ao estiramento simétrico do grupo éster COO, presente na molécula. Ésteres de forma geral, apresentam esta banda em 1750 a 1735 cm<sup>-1</sup>, porém, quando esta função encontra-se conjugada com ligações C=C do anel aromático, é muito comum encontrar esta banda em frequências mais baixas<sup>[87]</sup>, conforme observado. Além disso, a banda que representa a deformação angular do plano da amina secundária aparece em 1506 cm<sup>-1</sup>. As bandas na região de 749 a 668 cm<sup>-1</sup> são características estiramentos simétricos da ligação C-Cl<sup>87]</sup>. A figura 13(b) mostra o espectro obtida pela análise da membrana de Ecovio, onde destacam-se as seguintes bandas: em 1713 cm<sup>-1</sup> e 1756 cm<sup>-1</sup> devido ao estiramento simétrico da ligação C=O da carbonila do PLA (alifática) e do PBAT (aromática), respectivamente. O PLA contém o grupo metila (CH<sub>3</sub>) ao qual podem ser atribuídas as bandas em 1453, 1384 e 1363 cm<sup>-1</sup> referentes à deformação angular CH. Além disso, bandas de estiramento CH do metileno (CH<sub>2</sub>) estão indicadas em 2993, 2948 e 2875 cm<sup>-1</sup>. Não foi possível observar bandas correspondentes aos estiramentos C-H aromático do PBAT, que estariam representadas por bandas na região de 3000 cm<sup>-1</sup>. Na região abaixo de 1124 cm<sup>-1</sup> podem ser destacados bandas fortes correspondentes ao estiramento das ligações C-O adjacentes ao grupo éster <sup>[87, 88]</sup>.

.Pelo espectro da Figura 13 (c), observa-se que há diferenças em relação a membrana da Figura 13 (b); principalmente na intensidade relativa referente as bandas na região de 1750 e 1735 cm<sup>-1</sup>, relacionadas ao estiramento simétrico da ligação C=O do éster do PLA e PBAT. Acredita-se que essa diferença se deve a interação do fármaco com a blenda, já que o aceclofenaco possui um grupo carboxílico capaz de interagir por meio da ligação de hidrogênio com o polímero.

Ainda, nota-se o surgimento de bandas em 3319 cm<sup>-1</sup> e 1506 cm<sup>-1</sup> que são bandas atribuídas ao estiramento simétrico e deformação angular do plano, respectivamente, da ligação NH da amina secundária. Dessa forma, verifica-se que a baixa quantidade de fármaco (112,5 mg) adicionada à solução polimérica foi capaz de interferir de forma sútil, porém significativa no espectro de infravermelho. No entanto, para maiores conclusões a respeito do tipo de interação existente entre o IFA e a blenda polimérica, análises adicionais devem ser realizadas para comprovação que o fármaco não sofreu alterações estruturais ou até mesmo decomposição durante o processo de eletrofiação.

#### 4.2.3 Difração de Raios X

Foram investigados os padrões de raios X dos componentes separadamente assim como da membrana produzida pela solução polimérica com e seu o fármaco,

a fim de investigar as morfologias e a determinar as tendências cristalinas produzida. O difratograma do aceclofenaco é mostrado na Figura 14.



Figura 14 - Difratograma do Aceclofenaco.

O difratograma apresentado (Figura 14) exibe os picos característicos de difração de 20 de 17,16°; 18,13°; 19,07°; 21,91°; 24,15°; 25,61°; 26,03° e 31,78°, indicando a natureza cristalina do aceclofenaco <sup>[89]</sup>. No entanto, houve algumas diferenças nas intensidades relativas de cada pico nos nanocristais. Essas diferenças podem ser explicadas pela orientação preferencial, na qual a distribuição da orientação do cristal é não aleatória e os cristais tendem a crescer em maior ou menor grau para uma orientação específica <sup>[90]</sup>. Esse resultado pode ser atribuído a uma diferença não de polimorfos, mas de hábito cristalino. Comparando com a literatura, nota-se certa diferença na intensidade dos picos, que pode ser facilmente justificado pela abundância dos planos expostos a fonte de raios X, que podem ser diferentes. Quanto maior o a quantidade de faces expostas à fonte, maior a intensidade dos picos <sup>[89] [91]</sup>.

A Figura 15a, que reporta o difratograma da fibra produzida pelo Ecovio 15% (m/v) em clorofórmio:DMF na proporção 85:15, apresenta picos 17,7°, 20,5°, 23,2° e 24,8°. A literatura reporta que os difratogramas do PLA quase não apresentam picos característicos quando analisado por difração de raios x. Para o PBAT, são relatados picos em 17,6°, 20,5°, 22,9° e 25,6°, indicando a presença de uma

estrutura cristalina. A mistura polimérica PLA/PBAT apresentam picos característicos da fase cristalina do PBAT e um halo amorfo, relacionado ao PLA. <sup>[11, 92]</sup>.

Comparando os resultados obtidos com a literatura, verifica-se que o difratograma encontrado apresentam grande similaridade com os resultados encontrados por López<sup>[92]</sup> e Arruda <sup>[11]</sup>

As Figuras 15 a e b apresentam os difratogramas obtidos para análise de raios X de Ecovio 15% (m/v) e Ecovio 15% (m/v) com Aceclofenaco 15% (m/m), respectivamente.



**Figura 15** - Difratograma da (a) membrana produzida por eletrofiação da solução polimérica de Ecovio 15% (m/v) em Clorofórmio:DMF na proporção de 85:15 e (b) da membrana produzida por eletrofiação da solução polimérica de Ecovio 15% (m/v) em Clorofórmio:DMF na proporção de 85:15, com adição do aceclofenaco 15% (m/m).

Para a fibra de Ecovio com aceclofenaco, a literatura relata picos de 20 aproximadamente em 17,1°, 20,6°, 23,5° e 25,3°. Esses picos podem ser atribuídos a fase cristalina do PBAT na mistura de polímeros PBAT/PLA. O PLA pode apresentar picos de 20 próximos a 16,8° <sup>[93-95]</sup>. Devido à ligeira diferença no formato dos picos entre os difratogramas apresentados, acredita-se que o fármaco tenha interagido com o polímero a ponto de ter interferido na cristalinidade do mesmo, corroborando os resultados encontrados na análise de FTIR.

4.2.4 Calorimetria diferencial exploratória

O PBAT é um poliéster semicristalino, com temperatura de fusão (T<sub>f</sub>) de 119°C, enquanto o PLA é um polímero com faixa de fusão entorno de 150°C<sup>[49]</sup>. O comportamento térmico da fibra produzida foi investigado e os resultados encontrados foram confrontados com os dados disponíveis na literatura. As Figuras de 16 apresenta os termogramas obtidos.





A porcentagem de cristalinidade é um aspecto importante para se avaliar quando se trabalha com polímeros, inclusive os biodegradáveis. O PLA caracterizase por ser um polímero semicristalino, onde esta característica predomina, principalmente, no seu interior, apresentando uma estrutura mais organizada e, consequentemente, degradação mais lenta em comparação com polímeros amorfos. Diferentes aditivos na solução a ser eletrofiada, bem como as próprias condições de eletrofiação, podem afetar o grau de cristalinidade do polímero de diversas maneiras, por isso não existe uma regra geral em que se pode prever possíveis comportamentos, e cada caso deve ser investigado.

A Tabela 4 mostra os calores de fusão e cristalização das amostras utilizadas.

Tabela 4 – Temperaturas de fusão, cristalização e calores envolvidos nos eventos térmicos dostermogramas da figura 16.

	Evento 1		Evento 2		Evento 3		Evento 4	
Identificação	T <sub>fusão</sub> (°C)	Calor (J/g)	T <sub>fusão</sub> (°C)	Calor (J/g)	T <sub>fusão</sub> (°C)	Calor (J/g)	T <sub>cristalização</sub> (°C)	Calor (J/g)
Aceclofenaco	154,17	-	-	-	-	-	-	-
Ecovio 15% (m/v)	55,61	1,76	128,86	1,87	154,25	8,68	88,23	-10,92
Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m)	57,33	4,45	108,21	0,56	151,10	14,66	-	-

A literatura reporta que o valor do ponto de fusão do aceclofenaco puro é de 153,43°C, podendo variar de 151,23°C a 154,24°C, essa variação existe em função da forma polimórfica investigada. Pelo termograma da Figura 16 (a), destaca-se um único evento térmico, nomeado como evento 1 ( $T_f = 154,17°C$ ), indicando que a temperatura de fusão do composto utilizado está em acordo com a literatura investigada. <sup>[14]</sup>

Na Figura 16 (b), os eventos térmicos, destacados pelos números 1 e 2 referem-se às fusões dos monômeros que constituem o polímero PBAT. O evento 1  $(T_f = 55,61^{\circ}C)$  evidencia a fusão do monômero polibutileno adipato, e o evento 2  $(T_f = 128,86^{\circ}C)$  evidencia a fusão do monômero do polibutileno tereftalato. O evento 3  $(154,25^{\circ}C)$  é originado da fusão do PLA. A literatura reporta que, no primeiro aquecimento, essa fusão acontece entre  $151,1^{\circ}C$  <sup>[96]</sup>. Os valores da Tabela 7 estão muito próximos com os resultados obtidos por Costa e Oliveira, onde foi realizada a investigação das propriedades térmicas e mecânicas do sistema PLA/PBAT <sup>[97]</sup>.

Sabe-se que misturas poliméricas raramente formam sistemas homogêneos, monofásicos e miscíveis. Porém, existem sistemas que são compatíveis ou incompatíveis. A forma mais utilizada de se determinar a compatibilidade entre misturas poliméricas, é investigando as temperaturas de fusão, cristalização e transição vítrea de cada componente individualmente e da mistura. Sistemas com temperaturas diferentes dos valores dos componentes individuais é uma indicação de que houve compatibilidade entre os seus constituintes. Misturas não compatíveis apresentam essas temperaturas, cujos valores são semelhantes aos valores individuais <sup>[98] [99]</sup>.

Nota-se que a adição do fármaco proporcionou uma alteração não só nas temperaturas de fusão e cristalização, mas também os calores envolvidos nos eventos térmicos. Como o Aceclofenaco e o PLA possuem temperaturas de fusão muito próximas, acredita-se que estes eventos se sobrepuseram, alterando o formato do evento térmico, ficando mais alargado em relação ao mesmo evento da membrana sem o fármaco. Além disso, a fusão do monômero polibutileno adipato não é tão acentuada como antes. No entanto, a principal alteração foi no evento 4, que retrata a cristalização à frio da amostra. O fato desse evento, em específico ter sido significativamente alterado em relação à blenda de Ecovio®, Figura 16(b), indica que houve interação/compatibilidade entre fármaco e polímero a nível molecular.

Propriedades importantes da blenda, como cristalinidade, morfologia e disposição das fibras, são intimamente influenciadas pelo processo de eletrofiação, onde a rápida solidificação do material ocorre pela a rápida evaporação do solvente. Uma das características mais afetadas é a cristalinidade do material, pois as cadeias moleculares não têm tempo suficiente para formar uma estrutura regular e cristalina [84].

Uma avaliação mais criteriosa sobre o efeito da inserção do fármaco na blenda polimérica e sua interferência nas propriedades térmicas pode ser feita por meio da obtenção e comparação da porcentagem de cristalinidade das amostras, por meio da equação 10<sup>[100, 101]</sup>.

$$Xc = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0} x \ 100$$
 Equação 10

Sendo  $\Delta H_m$  a entalpia de fusão da amostra e  $\Delta H_m^0$  a entalpia de fusão teórica da amostra 100% cristalina. Para o PLA  $\Delta H_m^0$  = 93,7 J g<sup>-1[101]</sup> e para o PBAT  $\Delta H_m^0$  = 114 J g<sup>-1 [81]</sup>. A Tabela 5 mostra os valores de porcentagem de cristalinidade obtidos.

Amostra	Cristalinidade 2X <sub>c</sub> (%)	Cristalinidade 3X <sub>c</sub> (%)	
Ecovio 15% (m/v)	2,00	9,26	
Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m)	0,49	12,86	

**Tabela 5 –** grau de cristalinidade da amostras de Ecovio 15% (m/v) e Ecovio 15% (m/v) com aceclofenaco 15% (m/m).

Nota-se que a inserção do fármaco não só alterou as propriedades térmicas, por meio de uma maior interação deste com a parte polibutileno adipato do PBAT, como também alterou a cristalinidade da amostra. O fato da rápida evaporação dos solventes durante o processo de eletrofiação atrelado com a inserção do Aceclofenaco na solução polimérica, influenciou na reorganização das cadeias poliméricas ao ponto de não formar estruturas cristalinas definidas, no entanto, ao observar o pico referente ao PLA (evento 3), ocorreu um aumento da cristalinidade. Estes fatos são corroborados pelos difratogramas das Figuras 15 (a) e (b), onde nota-se a clara diminuição de características no material analisado.

#### 4.2.5 Análise termogravimétrica

As curvas termogravimétricas do aceclofenaco puro, do PBAT, da membrana de Ecovio 15% (m/v) e da membrana de Ecovio 15% (m/v) + 15% Aceclofenaco (m/m) são apresentadas na Figura 17. A Tabela 8 mostra as temperaturas relacionadas com as perdas de 5, 50 e 95% da massa da amostra investigada.



**Figura 17 -** Termograma da análise de TGA do (a)Aceclofenaco, (b) Ecovio 15% (m/v) e (c) Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m).

A literatura reporta que a incorporação de substâncias a um polímero pode alterar o perfil de degradação térmico. Zhou e colaboradores <sup>[102]</sup> avaliaram a interferência da inserção de nanotubos de carbono no PLA. Os pesquisadores verificaram que à medida que aumentavam a quantidade de nanotubos de carbono no polímero, a temperatura de fusão do composto e a cristalização diminuíam. Eles justificam esse comportamento pelo fato de os nanotubos proibirem certos movimentos da estrutura polimérica inicial, além da provável fraca adesão entre os compostos, pelo fato de os nanotubos de carbono terem caráter hidrofílico, o PLA hidrofóbico <sup>[102]</sup>.

Comparando as temperaturas de decomposição entre os materiais puros e as soluções poliméricas com e sem aceclofenaco, obtêm-se informações sobre as alterações moleculares que afetaram a estabilidade térmica das membranas. Notase pelas figuras 17 (b) e (c) que a temperatura de degradação do PLA teve uma diminuição de 330,0°C para 324,67°C, enquanto a degradação do PBAT teve uma ligeira queda, passando de 418,67 °C para 416,00°C. Acredita-se a diminuição mais acentuada do PLA se deve a maior interação dos seus grupos carbonila com a parte carboxílica do aceclofenaco. Apesar de haver evidências que fizesse pensar na interação polímero fármaco, ainda não se pode afirmar muito sobre o perfil de degradação térmica das membranas.

De acordo com Zhou e colaboradores<sup>[102]</sup>, uma temperatura pode ser considerada como início da degradação de um composto, aquela à qual houve perda de 5% da massa inicial do composto ( $T_{5\%}$ ), e o término da degradação a temperatura quando houve perda de 95% da massa inicial da análise. Com este conceito, investigou-se essas temperaturas  $T_{5\%}$ ,  $T_{50\%}$  e  $T_{95\%}$  para o aceclofenaco puro e para as misturas. Os dados encontrados são apresentados na Tabela 6

Tabela 6 - Temperaturas termogravimétricas de perda de 5%, 50% e 95% da massa inicial daamostra analisada.

Identificação	Temperaturas termogravimétricas de perda de massa (°C)			
Identificação	5%	50%	95%	
Aceclofenaco	191,12	245,29	265,88	
Ecovio 15% (m/v)	317,33	408,00	495,67	
Ecovio 15% (m/v) + Aceclofenaco 15% (m/m)	276,67	381,00	419,67	

O infográfico da Figura 18 apresenta o comparativo do comportamento térmico da membrana de Ecovio 15% (v/v) e da membrana de Ecovio 15% (v/v) com Aceclofenaco 15% (m/m).



Figura 18 - Infográfico comparativo da degradação térmico da membrana de Ecovio e da membrana de Ecovio com Aceclofenaco.

Com este conceito mais as informações dispostas na Tabela 9 e na Figura 18, é possível traçar um perfil termogravimétrico das membranas produzidas.

Ao analisar as informações sobre as membranas na Tabela 9, verifica-se que as quedas de 40,66°C e 76°C para as  $T_{5\%}$  e  $T_{95\%}$ , respectivamente. Correlacionando estas informações com os dados de temperaturas de degradação, pode-se afirmar que, apesar da pequena quantidade de fármaco introduzida na formulação da membrana, cerca de 112,5 mg, ele foi capaz de, não só interferir na temperatura de degradação do PLA, como alterar todo o perfil termogravimétrico da membrana. Além de haver a interação da função carboxílica do aceclofenaco com a carbonila do PLA, acredita-se também que o anel aromático do fármaco pode interagir de forma significativa com o anel aromático do PBAT. Apesar de não poder afirmar sobre a rigidez das membranas produzidas, acredita-se que a inserção do aceclofenaco na cadeia polimérica fez com que esta ficasse menos rígida, diminuindo a interação intermolecular entre as cadeias poliméricas a ponto de ter seu perfil de degradação térmico reduzido. Essa conclusão fica mais notável ao analisarmos o infográfico da Figura 18 <sup>[102, 103]</sup>.

# 4.3 Cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC)

A Figura 19 mostra o espectro de UV-Vis do padrão de Aceclofenaco, obtido após na execução do método cromatográfico proposto.



**Figura 19** – Espectro UV-Vis obtido da solução padrão de aceclofenaco a 1,56 µg.mL<sup>-1</sup>.

Pela Figura 19, nota-se que o aceclofenaco exibe de comprimentos de onda de absorção da radiação UV-Vis: 276,2; 342,7 e 367,7 nm. Para execução deste trabalho, adotou-se o comprimento de onda de 276,2 nm para quantificação desta substância, por ser o mais intenso. É possível encontrar na literatura pequenas variações em torno deste valor. Park e colaboradores <sup>[104]</sup> desenvolveram método de quantificação de nanocristais de aceclofenaco, por cromatografia líquida de alta eficiência, no qual o comprimento de onda utilizado para detecção deste composto foi de 278 nm. Já Deshmukh e colaboradores<sup>[105]</sup> quantificaram aceclofenaco em microesferas de PVA. Apesar de pequenas variações, nota-se que o valor adotado está em acordo com a literatura, além de apresentar intensidade suficiente para quantificar com segurança concentrações mínimas, conforme mostra a Figura 20, que traz o cromatograma obtido na análise do padrão de Aceclofenaco na concentração de 0,80 µg.mL<sup>-1</sup>





Pelo método proposto, nota-se que o tempo de retenção do aceclofenaco é de 2,151 min. A Tabela 7 mostra a avaliação dos parâmetros cromatográficos obtidos com o método proposto.

Parâmetro	Resultado	Especificação/Recomendação
Tempo de retenção (min)	2,151	-
Fator de retenção	6,169	1 < k < 10
Fator de cauda	1,51	< 2,0
Sinal ruído	195	> 10
Pratos teóricos	24003	> 4500
Resolução	-	> 2,0

Tabela 7 -	Parâmetros	cromatográficos	encontrados na	análise da so	ução	padrão de	Aceclofenaco
------------	------------	-----------------	----------------	---------------	------	-----------	--------------

Pela Tabela 10, nota-se que todos os resultados obtidos estão em acordo com o recomendado pelo Q2 (R1) do ICH<sup>[80]</sup>.

A Figura 21 mostra o cromatograma obtido após 5 minutos de liberação do aceclofenaco, onde sua concentração é a menor possível.



Figura 21 - Cromatograma da solução amostra após 5 minutos do início do estudo de liberação.

Uma das grandes dificuldades enfrentadas por alguns autores neste tipo de trabalho, é a sensibilidade do método de quantificação. Em alguns casos, nota-se que o método proposto para quantificação do fármaco, está acima da concentração da substância no meio de dissolução. No método proposto, apesar da baixa concentração de aceclofenaco na solução teste, após estudo de liberação, (0,49 µg.mL<sup>-1</sup>), nota-se que o método proposto possui sensibilidade adequada para efetuar essa quantificação, já que o valor de sinal ruído foi maior que 10 <sup>[106]</sup>.

Além disso, mesmo nas soluções de maior tempo de liberação (60 min), no qual espera-se maior concentração do fármaco, não houve extrapolação de escala no detector, comprovando assim que o método proposto está adequado para quantificação de aceclofenaco 15% (m/m) em nanofibras de Ecovio<sup>®</sup> 15% (m/v) em clorofórmio:DMF 85:15 <sup>[106]</sup>.

#### 4.4 Estudos de liberação

Os sistemas de administração transdérmica de fármacos são preparados para administrar fármacos através da pele a uma taxa predeterminada, escapando ao efeito de primeira passagem pelo fígado. <sup>[107]</sup>. Um dos aspectos mais difíceis do sistema de entrega transdérmica é ultrapassar a barreira da pele. No entanto, para se chegar a este nível de estudos laboratoriais, é imprescindível que estudos de

dissolução sejam realizados com condições que simulem as condições que o medicamento encontrará na pele de um ser humano saudável. Por isso, os ensaios de dissolução foram propostos utilizando uma solução salina de NaCl 0,9%, com temperatura mantida a 32°C, utilizando o aparato 5, conforme recomendado pelo capítulo 724 da farmacopeia americana <sup>[18]</sup>.

Estudos de liberação do aceclofenaco na forma de micro <sup>[108]</sup> e nanocristais <sup>[89]</sup>, técnicas de dispersão sólida <sup>[109]</sup> foram avaliadas considerando administração oral, mas ainda não há relatos desse estudo simulando condições transdérmicas em membranas biodegradáveis produzidas por eletrofiação.

O perfil de liberação do aceclofenaco incorporado a membrana eletrofiada de Ecovio é mostrada na Figura 22.



Figura 22 - Perfil de dissolução do teste de liberação de Aceclofenaco 15% (m/m) em membrana eletrofiada de Ecovio 15% (m/v)

A curva de liberação mostra que em 5 minutos, aproximadamente 63% do fármaco disponível na fibra já estava liberado, e que em 30 minutos, 101,23% do fármaco está disponível. De acordo com Manadas e colaboradores<sup>[19]</sup>, para que o medicamento seja considerado de liberação rápida, mais de 80% do fármaco deve estar disponível em até 15 minutos após iniciado o estudo de dissolução, além disso, formas farmacêuticas de liberação imediata são aquelas que o veículo de transmissão pouco interfere no perfil liberação do fármaco.

Embora haja divergência na literatura e em alguns documentos regulatórios, a FDA estabelece que, de acordo com as características biofarmacêtuicas do fármaco, estas formas deverão liberar 85% do fármaco de 15 a 60 minutos. Correlacionando o gráfico da Figura 22 com os resultados de caracterização, conclui-se que o perfil obtido muito se deve ao fato de o suporte do fármaco (fibras de Ecovio) se encontrar em escala nanométrica, conforme mostrado no item *4.1.1 Morfologia das fibras.* 

Considerando que o aceclofenaco é um dos fármacos mais populares e consumidos no mundo hoje, sua liberação rápida é de fundamental importância para tratamento *in loco* de forma rápida seja concluído com êxito, proporcionando alívio e facilitando a cura para o paciente.

Park e colaboradores<sup>[104]</sup>, sintetizaram nanocristais de aceclofenaco e avaliaram a sua liberação *in* vitro e verificaram que, após 4 horas de estudo, os resultados de liberação não atingiram 60% e que, somente após 24 horas de avaliação desse estudos, a liberação aproximaram-se de 100%. Percebe-se que, o fato de Park apresentar e avaliar a liberação do fármaco em escala nanométrica, não foi suficiente para garantir que a liberação acontecesse de forma rápida. Portanto, a liberação se deve muito ao polímero utilizado e a maneira como este se comporta no meio de dissolução utilizado.

Comparando os resultados obtidos no presente estudo com a literatura disponível, e levando em consideração que o fármaco é utilizado para combate a dores crônicas, acredita-se que a liberação transdérmica do fármaco é uma alternativa em potencial que deve ser investigada com mais afinco, uma vez que o tratamento pode ser realizado *in loco*, ou seja, no local da dor, acelerando o processo de alívio do paciente.

## 4.4.1 Modelos Cinéticos de liberação

Neste estudo, o mecanismo de liberação do aceclofenaco nas nanofibras de Ecovio foi examinado com base nos modelos cinéticos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Kosmeyer-Peppas e Weibull. Os gráficos da Figura 23 mostram os resultados dos modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação encontrado.


Figura 23 – Modelos cinéticos de (a)Ordem Zero, (b) Primeira Ordem, (c) Higuchi, (d) Hixson-Crowell, (e) Kosmeyer-Peppas e (f) Weibull aplicados aos dados de liberação encontrados para fibras de Ecovio 15% m/v com aceclofenaco 15%m/m, obtidas por eletrofiação.

A tabela 8 mostra os principais resultados obtidos após aplicados os modelos cinéticos ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Hixson-Crowell, Kosmeyer-Peppas e Weibull.

	,				
Modelo cinético	Equação	Parâmetro do modelo	R	R <sup>2</sup> ajustado	AIC
Ordem zero	$M_0 - M_t = k_0 t$	$K_0 = 4,29 \ \%min^{-1}$	0,94	-4,94	52,65
Primeira Ordem	$\log (100 - M_t) = \log 100 - \frac{k_1}{2,303}t$	K <sub>1</sub> = 0,19 %min <sup>-1</sup>	0,97	0,86	30,36
Higuchi	$M_t = k_{HC} \left( t^{1/2} \right)$	$K_{HC} = 20,91 \ \% min^{-1/2}$	0,97	-0,12	41,55
Hixson- Crowell	$(100 - M_t)^{1/3} = 100^{1/3} - k_H t$	$K_{\rm H} = 0,045 \ \% {\rm min}^{-1}$	0,98	0,64	36,03
Kosmeyer- Peppas	$\frac{M_t}{M_{\infty}} = k_{KP} t^n$	n = 0,26	0,98	0,95	23,26
		$K_{KP} = 43,71 \text{ min}^{-1}$			
Weibull	$M = M_0 \left[ 1 - e^{-\frac{(t-T)^{\beta}}{\alpha}} \right]$	α = 3,35	0,99	0,97	21,58
		$\beta = 0,64$			

 Tabela 8 – Parâmetros encontrados dos diferentes modelos cinéticos aplicados à ao perfil de dissolução do aceclofenaco em nanofibras de Ecovio

Onde M<sub>t</sub> é a concentração do fármaco liberado no tempo *t*,  $M_0$  é a concentração inicial do fármaco na solução  $k_0$ ,  $k_1$ ,  $K_{HC}$ ,  $K_{KP}$ são as constantes de liberação dos modelos cinético de ordem zero, primeira ordem, Hixson, Higuchi e Kosmeyer-Peppas, respectivamente.  $\alpha$  e  $\beta$  são parâmetros que denotam a dependência do tempo e descreve a progressão da curva de dissolução, respectivamente. R, R<sub>ajustado</sub> e AIC são os coeficientes de determinação, determinação ajustado e coeficiente de Akaike, respectivamente.

A partir dos gráficos do estudo cinético e dos valores apresentados na tabela 10, pode considerar que os melhores ajustes foram o de Kosmeyer-Peppas, por apresentarem o coeficiente de determinação ajustado (R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub>) maior que 0,95 e Weibull os menores valores de AIC.

Avaliando com mais afinco os resultados obtidos pelo modelo de Kosmeyer-Peppas, verifica-se que o valor de *n* obtido, 0,26 é menor que o 0,45, o que caracteriza o modelo de difusão de Fick, caso I, difusional <sup>[76]</sup>.

Para o modelo de Weibull, avalia-se o parâmetro β para obter mais informações sobre o comportamento de dissolução envolvido no processo. De

acordo com a Tabela 10,  $\beta$  foi igual a 0,64, indicando que a liberação de fármaco é realizada por matrizes poliméricas, ocorrendo de acordo com a Lei de Fick,  $\beta < 0,75$ . Quando valores de  $\beta$  entre 0,75 e 1 (0,75 <  $\beta < 1$ ) são encontrados, o mecanismo de dissolução envolvido é o de transporte caso II, na qual a contribuição de outro mecanismo deve ser considerada. Valores de b > 1 são indicativos de um mecanismo complexo de liberação <sup>[110]</sup>.

Nota-se que, para os dois modelos cinéticos supracitados, apesar de apresentarem variáveis diferentes, as conclusões convergem para um mesmo resultado: que a difusão do aceclofenaco em matriz polimérica de nanofios de Ecovio é caracterizada pela difusão de Fick.

Mas o modelo de Weibull, por apresentar menor valor de AIC, em comparação ao valor obtido pelo modelo Kosmeyer-Peppas, indica que o ajuste necessário foi mais eficiente, indicando uma maior verossimilhança dos dados obtidos experimentalmente com o modelo aplicado.

## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível encontrar parâmetros que permitissem a produção de nanofibras, por eletrofiação, com aspectos visuais em acordo com a literatura.

Utilizando as técnicas espectroscópicas e termogravimétricas foi possível caracterizar o material obtido e estabelecer comparativos a ponto de confirmar a interação fármaco-polímero.

Após desenvolvimento do método cromatográfico por UPLC, foi possível quantificar o fármaco liberado no meio de dissolução, em que verificou-se o perfil de liberação do material obtido frente a condição de liberação transdérmicas *in vitro*.

Este perfil foi confrontado a diferentes modelos cinéticos de liberação, sendo que o modelo de Weibull foi considerado mais adequado, pelos critérios de R<sup>2</sup><sub>ajustado</sub> e critério de Akaike (AIC). Deste modelo cinético também foi possível verificar que a liberação do fármaco segue a 1<sup>ª</sup> lei de Fick. Desta forma, o material obtido apresenta grande potencial para liberação transdérmica de fármacos e apto para estudos de liberação transdérmica *in vivo*.

## REFERÊNCIAS

- Basar, A., et al., Novel poly (ε-caprolactone)/gelatin wound dressings prepared by emulsion electrospinning with controlled release capacity of Ketoprofen anti-inflammatory drug. Materials Science & Eengineering. C, Materials for Biological Applications, 2017. 81: p. 459-468.
- Hu, J., et al., *Electrospinning of poly (glycerol sebacate)-based nanofibers for* nerve tissue engineering. Materials Science and Engineering: C, 2017. 70: p. 1089-1094.
- 3. Ramakrishna, S., *An introduction to electrospinning and nanofibers*. 2005: World Scientific.
- 4. Torres-Giner, S., et al., *Controlled delivery of gentamicin antibiotic from bioactive electrospun polylactide-based ultrathin fibers.* Advanced Engineering Materials, 2012. **14**(4): p. B112-B122.
- 5. Bhardwaj, N. and S.C. Kundu, *Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique.* Biotechnology Advances, 2010. **28**(3): p. 325-347.
- 6. Kenawy, E.-R., et al., *Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly (ethylene-co-vinylacetate), poly (lactic acid), and a blend.* Journal of controlled release, 2002. **81**(1): p. 57-64.
- 7. Adrar, S., et al., *Synergistic effects in epoxy functionalized graphene and modified organo-montmorillonite PLA/PBAT blends.* Applied Clay Science, 2018. **157**: p. 65-75.
- 8. Georgiopoulos, P., E. Kontou, and M. Niaounakis, *Thermomechanical* properties and rheological behavior of biodegradable composites. Polymer Composites, 2014. **35**(6): p. 1140-1149.
- 9. Al-Itry, R., K. Lamnawar, and A. Maazouz, *Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy.* Polymer Degradation and Stability, 2012. **97**(10): p. 1898-1914.
- 10. Al-Itry, R., K. Lamnawar, and A. Maazouz, *Rheological, morphological, and interfacial properties of compatibilized PLA/PBAT blends.* Rheologica Acta, 2014. **53**(7): p. 501-517.
- 11. Arruda, L.C., et al., *Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends.* Polymer Testing, 2015. **43**: p. 27-37.

- 12. Evstatiev, M., et al., *MFC-structured biodegradable poly (I-lactide)/poly (butylene adipate-co-terephatalate) blends with improved mechanical and barrier properties.* Journal of materials science, 2013. **48**(18): p. 6312-6330.
- 13. Siegenthaler, K., et al., *Ecoflex® and Ecovio®: biodegradable, performanceenabling plastics*, in *Synthetic biodegradable polymers*. 2011, Springer. p. 91-136.
- 14. Raza, K., et al., Aceclofenac polymorphs: Preparation, characterization and intestinal permeation studies. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2017. **39**: p. 69-74.
- 15. Legrand, E., *Aceclofenac in the management of inflammatory pain.* Expert opinion on pharmacotherapy, 2004. **5**(6): p. 1347-1357.
- Chakraborty, S., et al., *Electrohydrodynamics: a facile technique to fabricate drug delivery systems.* Advanced drug delivery reviews, 2009. 61(12): p. 1043-1054.
- Wang, Y., et al., *Electrospinning of polymer nanofibers with ordered patterns and architectures.* Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2010. **10**(3): p. 1699-706.
- 18. Convention, U.S.P., *Chapter 724, United States Pharmacopeia Dispensing Information: USP DI.* Vol. 1. 2017: United States Pharmacopeia.
- 19. Manadas, R., M.E. Pina, and F. Veiga, A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2002. **38**(4): p. 375-399.
- 20. Mandelbaum, S.H., É.P. Di Santis, and M.H.S.A. Mandelbaum, *Cicatrização:* conceitos atuais e recursos auxiliares-Parte I Cicatrization: current concepts and auxiliary resources-Part I. An Bras Dermatol, 2003. **78**(4): p. 393-410.
- 21. Zimmerman, L.M. and I. Veith, *Great ideas in the history of surgery*. 1993: Norman Publishing.
- 22. Banerjee, S., et al., *Aspect of Adhesives in Transdermal Drug Delivery Systems.* International Journal of Adhesion and Adhesives, 2014. **50**: p. 70-84.
- 23. Ruby, P.K., S.M. Pathak, and D. Aggarwal, *Critical attributes of transdermal drug delivery system (TDDS)--a generic product development review.* Drug Dev Ind Pharm, 2014. **40**(11): p. 1421-8.
- Wokovich, A.M., et al., *Transdermal drug delivery system (TDDS) adhesion as a critical safety, efficacy and quality attribute.* Eur J Pharm Biopharm, 2006.
   64(1): p. 1-8.

- 25. Ruby, P., S.M. Pathak, and D. Aggarwal, *Critical attributes of transdermal drug delivery system (TDDS)–a generic product development review.* Drug development and industrial pharmacy, 2014. **40**(11): p. 1421-1428.
- 26. Bouwstra, J.A., et al., *Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations.* Progress in lipid research, 2003. **42**(1): p. 1-36.
- 27. Goyal, R., et al., *Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery.* Journal of Controlled Release, 2016. **240**: p. 77-92.
- 28. Kamoun, E.A., E.S. Kenawy, and X. Chen, *A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings.* Journal of Advanced Research, 2017. **8**(3): p. 217-233.
- 29. Alvarez-Román, R., et al., *Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles.* Journal of Controlled Release, 2004. **99**(1): p. 53-62.
- Bhandari, K.H., et al., Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société canadienne des sciences pharmaceutiques. Archives of pharmacal research., 2007. 10(3): p. 278-287.
- 31. Prausnitz, M.R. and R. Langer, *Transdermal drug delivery*. Nat Biotechnol, 2008. **26**(11): p. 1261-8.
- 32. Subbiah, T., et al., *Electrospinning of nanofibers.* Journal of Applied Polymer Science, 2005. **96**(2): p. 557-569.
- Babitha, S. and P.S. Korrapati, *Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles using a probiotic from coal fly ash effluent.* Materials Research Bulletin, 2013.
   48(11): p. 4738-4742.
- 34. Homan, K.A., et al., Silver nanoplate contrast agents for in vivo molecular photoacoustic imaging. ACS nano, 2012. **6**(1): p. 641-650.
- 35. Miyahara, T., et al., *Exploitation of a novel polysaccharide nanogel crosslinking membrane for guided bone regeneration (GBR).* Journal of tissue engineering and regenerative medicine, 2012. **6**(8): p. 666-672.
- 36. Shoba, E., et al., *Design and development of papain–urea loaded PVA nanofibers for wound debridement.* RSC Advances, 2014. **4**(104): p. 60209-60215.
- 37. Babitha, S., et al., *Electrospun Protein Nanofibers in Healthcare: A review*. International Journal of Pharmaceutics, 2017. **523**(1): p. 52-90.
- 38. Repanas, A., S. Andriopoulou, and B. Glasmacher, *The significance of electrospinning as a method to create fibrous scaffolds for biomedical engineering and drug delivery applications.* Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2016. **31**: p. 137-146.

- 39. Hu, X., et al., *Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications.* Journal of Controlled Release, 2014. **185**: p. 12-21.
- Lasprilla-Botero, J., M. Álvarez-Láinez, and J.M. Lagaron, The influence of electrospinning parameters and solvent selection on the morphology and diameter of polyimide nanofibers. Materials Today Communications, 2018. 14: p. 1-9.
- 41. Thompson, C., et al., *Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model.* Polymer, 2007. **48**(23): p. 6913-6922.
- 42. Jabur, A.R., L.K. Abbas, and S.M.M. Aldain, *The effects of operating parameters on the morphology of electrospun polyvinyl alcohol nanofibres.* Journal of Kerbala University, 2015: p. 35-46.
- 43. Someswararao, M.V., et al., *Electrospinning process parameters dependent investigation of TiO2 nanofibers.* Results in Physics, 2018. **11**: p. 223-231.
- 44. Jalili, R., S.A.A. HOSSEINI, and M. Morshed, *The effects of operating parameters on the morphology of electrospun polyacrilonitrile nanofibres.* 2005.
- Neto, C.d.T., et al., *Permeability studies in chitosan membranes. Effects of crosslinking and poly (ethylene oxide) addition.* Carbohydrate research, 2005.
   340(17): p. 2630-2636.
- 46. Casper, C.L., et al., Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. Macromolecules, 2004. **37**(2): p. 573-578.
- 47. Fong, H., I. Chun, and D. Reneker, *Beaded nanofibers formed during electrospinning.* Polymer, 1999. **40**(16): p. 4585-4592.
- 48. Huang, Z.-M., et al., A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. Composites science and technology, 2003. **63**(15): p. 2223-2253.
- 49. Nair, L.S. and C.T. Laurencin, *Biodegradable polymers as biomaterials.* Progress in polymer science, 2007. **32**(8-9): p. 762-798.
- 50. Li, D. and Y. Xia, *Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?* Advanced materials, 2004. **16**(14): p. 1151-1170.
- 51. Bhardwaj, N. and S.C. Kundu, *Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique.* Biotechnol Adv, 2010. **28**(3): p. 325-47.
- 52. Zeugolis, D.I., et al., *Electro-spinning of pure collagen nano-fibres–just an expensive way to make gelatin?* Biomaterials, 2008. **29**(15): p. 2293-2305.

- 53. Georgiopoulos, P. and E. Kontou, *The effect of wood-fiber type on the thermomechanical performance of a biodegradable polymer matrix.* Journal of Applied Polymer Science, 2015. **132**(27).
- 54. Guzmán, A., et al., Synthesis of potential anti-inflammatory compounds, selective inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2). Revista de la Sociedad Química de México, 2004. **48**(4): p. 230-234.
- 55. Dooley, M., C.M. Spencer, and C.J. Dunn, *Aceclofenac.* Drugs, 2001. **61**(9): p. 1351-1378.
- 56. Shakeel, F., et al., *Nanoemulsions as vehicles for transdermal delivery of aceclofenac.* AAPS PharmSciTech, 2007. **8**(4): p. 191-199.
- 57. Frost, S.M.A., *Introduction to the validation of a dissolution apparatus.* Dissolution technologies, 2004. **11**(1): p. 19-21.
- 58. Azarmi, S., W. Roa, and R. Löbenberg, *Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms.* International Journal of Pharmaceutics, 2007. **328**(1): p. 12-21.
- 59. Pillay, V., et al., A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. Journal of Nanomaterials, 2013. **2013**.
- 60. Luong-Van, E., et al., *Controlled release of heparin from poly (ε-caprolactone) electrospun fibers.* Biomaterials, 2006. **27**(9): p. 2042-2050.
- Kim, T.G., D.S. Lee, and T.G. Park, Controlled protein release from electrospun biodegradable fiber mesh composed of poly (ε-caprolactone) and poly (ethylene oxide). International Journal of Pharmaceutics, 2007. 338(1): p. 276-283.
- 62. Taepaiboon, P., U. Rungsardthong, and P. Supaphol, *Drug-loaded electrospun mats of poly (vinyl alcohol) fibres and their release characteristics of four model drugs.* Nanotechnology, 2006. **17**(9): p. 2317.
- 63. Verreck, G., et al., *Incorporation of drugs in an amorphous state into electrospun nanofibers composed of a water-insoluble, nonbiodegradable polymer.* Journal of Controlled Release, 2003. **92**(3): p. 349-360.
- 64. Zhang, Y., et al., *Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2005. **16**(10): p. 933-946.
- 65. Prabaharan, M., R. Jayakumar, and S. Nair, *Electrospun nanofibrous* scaffolds-current status and prospects in drug delivery, in *Biomedical* applications of polymeric nanofibers. 2011, Springer. p. 241-262.

- 66. Siewert, M., et al., *FIP/AAPS guidelines to dissolution/in vitro release testing of novel/special dosage forms.* Aaps Pharmscitech, 2003. **4**(1): p. 43-52.
- 67. Tungprapa, S., I. Jangchud, and P. Supaphol, *Release characteristics of four* model drugs from drug-loaded electrospun cellulose acetate fiber mats. Polymer, 2007. **48**(17): p. 5030-5041.
- 68. Moydeen, A.M., et al., *Fabrication of electrospun poly (vinyl alcohol)/Dextran* nanofibers via emulsion process as drug delivery system: Kinetics and in vitro release study. International journal of biological macromolecules, 2018.
- 69. Shokri, J., K. Adibkia, and Y. Javadzadeh, *Liquisolid technology: What it can do for NSAIDs delivery?* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015. **136**: p. 185-191.
- 70. Kawabata, Y., et al., *Formulation design for poorly water-soluble drugs based* on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. International journal of pharmaceutics, 2011. **420**(1): p. 1-10.
- 71. Anissimov, Y.G., et al., *Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport processes.* Advanced Drug Delivery Reviews, 2013. **65**(2): p. 169-190.
- 72. Selzer, D., et al., *A strategy for in-silico prediction of skin absorption in man.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2015. **95**: p. 68-76.
- 73. Gouda, R., H. Baishya, and Z. Qing, *Application of mathematical models in drug release kinetics of Carbidopa and Levodopa ER tablets.* Journal of Developing Drugs, 2017. **6**(02).
- 74. Budiasih, S., et al., *Optimization of polymer concentration for designing of oral matrix controlled release dosage form.* UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences, 2014. **2**: p. 54.
- 75. Dash, S., et al., *Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems.* Acta Poloniae Pharmaceutica, 2010. **67**(3): p. 217-23.
- 76. Siepmann, J., A. Streubel, and N. Peppas, *Understanding and predicting drug delivery from hydrophilic matrix tablets using the "sequential layer" model.* Pharmaceutical research, 2002. **19**(3): p. 306-314.
- Langenbucher, F., Letters to the Editor: Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1972.
   24(12): p. 979-981.
- 78. Costa, P. and J.M.S. Lobo, *Modeling and comparison of dissolution profiles.* European journal of pharmaceutical sciences, 2001. **13**(2): p. 123-133.

- 79. Zhang, Y., et al., *DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles.* The AAPS journal, 2010. **12**(3): p. 263-271.
- 80. Guideline, I.H.T. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (*R1*). in International Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland. 2005.
- 81. Goes, A.M., et al., Viabilidade celular de nanofibras de polímeros biodegradáveis e seus nanocompósitos com argila montmorilonita. Polímeros, 2012. **22**: p. 34-41.
- 82. Jafari-Aghdam, N., et al., *Methylprednisolone acetate–Eudragit® RS100 electrospuns: Preparation and physicochemical characterization.* Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 2016. **44**(2): p. 497-503.
- 83. Huang, C. and N.L. Thomas, *Fabricating porous poly (lactic acid) fibres via electrospinning.* European Polymer Journal, 2018. **99**: p. 464-476.
- 84. Scariotto, M.C., Estudos dos parâmetros para eletrofiação de Ecovio®/PCL contendo carvão modificado na adsorção de tetraciclina. 2018.
- 85. Casasola, R., et al., *Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter.* Polymer, 2014. **55**(18): p. 4728-4737.
- Ahmed, F.E., B.S. Lalia, and R. Hashaikeh, A review on electrospinning for membrane fabrication: challenges and applications. Desalination, 2015. 356: p. 15-30.
- 87. de Almeida Barbosa, L.C., *Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos.* 2007: Ed. UFV.
- Oliveira, J.E., et al., Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: a comparative study. Advances in Materials Science and Engineering, 2013.
   2013.
- 89. Pattnaik, S., et al., *Fabrication of aceclofenac nanocrystals for improved dissolution: process optimization and physicochemical characterization.* Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **29**: p. 199-209.
- 90. Cho, E., et al., *Enhanced dissolution of megestrol acetate microcrystals* prepared by antisolvent precipitation process using hydrophilic additives. International journal of pharmaceutics, 2010. **396**(1-2): p. 91-98.
- 91. Nokhodchi, A., N. Bolourtchian, and R. Dinarvand, *Crystal modification of phenytoin using different solvents and crystallization conditions.* International journal of pharmaceutics, 2003. **250**(1): p. 85-97.

- López-Rodríguez, N., et al., Crystallization, morphology, and mechanical behavior of polylactide/poly (ε-caprolactone) blends. Polymer Engineering & Science, 2006. 46(9): p. 1299-1308.
- Carrasco, F., et al., Processing of poly (lactic acid): Characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties. Polymer Degradation and stability, 2010. 95(2): p. 116-125.
- 94. Chivrac, F., et al., Aromatic copolyester-based nano-biocomposites: elaboration, structural characterization and properties. Journal of Polymers and the Environment, 2006. **14**(4): p. 393-401.
- 95. Lee, K., et al., *Characterization of nano-structured poly (ε-caprolactone)* nonwoven mats via electrospinning. Polymer, 2003. **44**(4): p. 1287-1294.
- 96. Jiang, L., M.P. Wolcott, and J. Zhang, *Study of biodegradable polylactide/poly* (*butylene adipate-co-terephthalate*) *blends.* Biomacromolecules, 2006. **7**(1): p. 199-207.
- 97. Costa, M., S. Oliveira, and E. Araújo, *Propriedades mecânicas e térmicas de sistemas de PLA e PBAT/PLA.* Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 2014. **9**(2): p. 112-117.
- 98. Brito, A.C., *Cinética de cristalização isotérmica e não isotérmica a frio do pet e das blendas PET/PHB em diferentes concentrações.* Dissertação de mestrado, 2010.
- 99. Nogales, A., et al., *Induction time for cold crystallization in semi-rigid polymers: PEN and PEEK.* Polymer, 2001. **42**(13): p. 5711-5715.
- Goes, A.M., et al., Viabilidade celular de nanofibras de polímeros biodegradáveis e seus nanocompósitos com argila montmorilonita. Polímeros, 2012. 22(1): p. 34-40.
- 101. Pereira, R.B. and A.R. Morales, *Estudo do comportamento térmico e mecânico do PLA modificado com aditivo nucleante e modificador de impacto.* Polímeros, 2014.
- 102. Zhou, Y., et al., *Preparation and characterization of polylactic acid (PLA) carbon nanotube nanocomposites.* Polymer Testing, 2018. **68**: p. 34-38.
- 103. Weng, Y.-X., et al., *Biodegradation behavior of poly (butylene adipate-co-terephthalate)(PBAT), poly (lactic acid)(PLA), and their blend under soil conditions.* Polymer Testing, 2013. **32**(5): p. 918-926.
- 104. Park, J.-J., et al., *Development and evaluation of decorated aceclofenac nanocrystals.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2016. **143**: p. 206-212.

- 105. Deshmukh, R.K. and J.B. Naik, *Aceclofenac microspheres: Quality by design approach.* Materials science & engineering. C, Materials for biological applications, 2014. **36**: p. 320-328.
- 106. BRASIL, A.N.d.V.S., *Guia de Validação de Métodos Analíticos e Bioanalítcos.* . Diário Oficial da Uniao, 2017.
- 107. Jana, S., et al., *Carbopol gel containing chitosan-egg albumin nanoparticles for transdermal aceclofenac delivery.* Colloids and surfaces B: Biointerfaces, 2014. **114**: p. 36-44.
- Palanichamy, S., H. Priyanka, and C.U.M. Reddy, *Design and evaluation of aceclofenac microcrystals*. Journal of Pharmacy Research, 2013. 7(4): p. 310-312.
- 109. Maulvi, F.A., et al., *Improvement of dissolution rate of aceclofenac by solid dispersion technique*. Powder technology, 2011. **207**(1-3): p. 47-54.
- 110. Fathi, M. and J. Varshosaz, *Novel hesperetin loaded nanocarriers for food fortification: Production and characterization.* Journal of Functional Foods, 2013. **5**(3): p. 1382-1391.