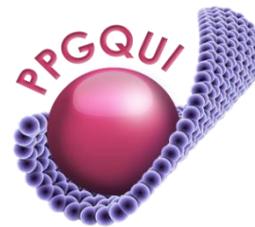




UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS DE ECOVIO®
CONTENDO CILOSTAZOL**

Aluno: Lidiane Rodrigues Antunes

Docente Orientador: Douglas Cardoso Dragunski



TOLEDO, 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



ESTUDO DE LIBERAÇÃO NANOFIBRAS POLIMÉRICAS DE ECOVIO® CONTENDO CILOSTAZOL

Lidiane Rodrigues Antunes

Dissertação de Mestrado 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

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

Antunes, Lidiane Rodrigues

Estudo de Liberação de Nanofibras Poliméricas de Ecovio®
contendo Cilostazol / Lidiane Rodrigues Antunes;
orientador(a), Douglas Cardoso Dragunski, 2020.
73 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste
do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e
Ciências Exatas, Graduação em Farmácia Programa de Pós-
Graduação em Química, 2020.

1. Cilostazol. 2. Liberação. 3. Sistemas Transdérmicos.
I. Dragunski, Douglas Cardoso. II. Título.



TOLEDO, 2020

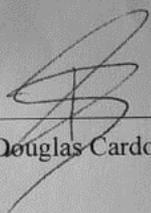
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

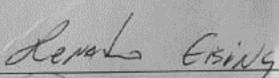


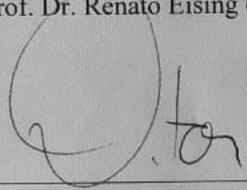
LIDIANE RODRIGUES ANTUNES

Estudo de nanofibras poliméricas de ecovio contendo cilostazol

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Química, área de concentração em Química, APROVADA pela seguinte banca examinadora:


Orientador – Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski (Unioeste)


Prof. Dr. Renato Eising (UTFPR/Unioeste)


Prof. Dr. Vitor Cinque de Almeida (UEM)

Toledo, 06 de março de 2020.



TOLEDO, 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por ter me dado coragem e forças para buscar o mestrado e concluí-lo;

Agradeço à minha família que mesmo distante sempre se faz presente e me incentivam e correr atrás de meus sonhos;

Ao meu esposo Iago, pela paciência e compreensão em meus momentos de ausência quando eu dedicava toda minha energia ao mestrado e por também sempre me incentivar a estudar sempre mais;

Obrigada especialmente ao meu orientador Douglas Dragunski, por me ajudar sempre que precisei nas análises desse trabalho, por sempre estar presente e pela sua sabedoria compartilhada comigo;

Obrigada à todos os colegas da turma de mestrado 2018 que sempre estiveram dispostos a me ajudarem e trocarem seus conhecimentos, agregando à minha dissertação. Especialmente agradeço à minha amiga e companheira dessa jornada Luana Maestrello, que sempre esteve ao meu lado nas aulas e sempre me ajudou em TUDO que precisei, sem medir esforços;

Agradeço à aluna de Iniciação Científica do Prof. Douglas, Gabriela Lauer, que sempre solícita e com extrema boa vontade, ajudou-me nas análises, ensinou-me diversas coisas no laboratório GIPeFea e contribui MUITO para esse trabalho;

Agradeço carinhosamente à empresa Prati Donaduzzi, pelo seu incentivo à educação de seus colaboradores, pois se hoje concluo esse mestrado é graças à esse incentivo que sempre tive em sair durante meu trabalho para assistir às aulas, palestras e semanas acadêmicas sem jamais ser cobrada por isso;

Obrigada à UNIOESTE e ao Programa de Pós Graduação em Química, por me possibilitarem realizar esse projeto.



TOLEDO, 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



ESTUDO DE LIBERAÇÃO DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS DE ECOVIO® CONTENDO CILOSTAZOL

Lidiane Rodrigues Antunes

RESUMO

As doenças arteriais ou vasculares periféricas são patologias que afetam o fluxo arterial normal do paciente, causando obstrução de artérias ou vasos sanguíneos, que podem levar a isquemias. O medicamento Cilostazol é indicado para essa classe de pacientes que sofrem com as doenças arteriais periféricas, e para melhorar a qualidade de vida do paciente. Assim, o estudo de nanofibras contendo Cilostazol por meio da técnica de eletrofição se torna relevante, a fim de se obter uma tecnologia de administração alternativa ao paciente, que tenha efeitos colaterais mais amenos e que seja de utilização mais prática e eficiente. Para isto, foi preparada uma solução polimérica contendo Cilostazol, a qual foi eletrofiada utilizando como solventes de 85% v/v de Clorofórmio e 15% v/v de Dimetilformamida sob agitação magnética por uma hora, sendo que nessa solução foi acrescentado o polímero Ecovio® a 15% m/v. A concentração de Cilostazol foi incorporada na solução polimérica nas concentrações de 5% m/m, 10% m/m, 20% m/m e 30% m/m, em relação a massa do polímero. Posteriormente foi realizado o estudo de liberação do fármaco na solução tampão fosfato com pH de 5,5, bem como as caracterizações dos filmes obtidos: análises de microscopias óptica e eletrônica de varredura (MO e MEV), espectroscopia na região do infravermelho, termogravimetria (TGA), calorimetria diferencial exploratória (DSC) e difração de raios X (DRX). Após a obtenção das curvas de liberação, foram ajustados diferentes modelos cinéticos, sendo que o de Peppas-Sahlin demonstrou os melhores resultados para R^2 e para o critério de Akaike (AIC), ou seja, obteve o melhor ajuste matemático. O modelo de Peppas-Sahlin demonstra uma maior contribuição matemática no entendimento dos fenômenos de difusão e relaxamento quando comparados aos modelos outros modelos de Peppas. O Cilostazol apresentou uma melhor liberação na concentração de 30% (m/m), em que ela ocorreu por mais tempo e em concentração estável. Os resultados demonstraram que este material tem grande potencial para ser utilizado na liberação deste fármaco.

Palavras chave: Ecovio®, eletrofição, liberação transdérmica de fármaco, modelo cinético de liberação, Cilostazol



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



STUDY OF LIBERATION OF POLYMERIC NANOFIBERS OF ECOVIO® CONTAINING CILOSTAZOL

Lidiane Rodrigues Antunes

ABSTRACT

EFFECT OF CILOSTAZOL PERCENTAGE OVER THE PROPERTIES OF ECOVIO® ELECTROSPUN NANOFIBERS

Peripheral arterial or vascular diseases are pathologies that affect the patient's normal arterial flow, causing obstruction of arteries or blood vessels, which can lead to ischemia. The drug Cilostazol is indicated for this class of patients who suffer from peripheral arterial diseases, and to improve the patient's quality of life. Thus, the study of nanofibers containing Cilostazol by means of the electrospinning technique becomes relevant, in order to obtain an alternative administration technology to the patient, which has milder side effects and is more practical and efficient to use. For this, a polymeric solution containing Cilostazol was prepared, which was electrophore using as solvents 85% v / v Chloroform and 15% v / v Dimethylformamide under magnetic stirring for one hour, in which Ecovio polymer was added to this solution. ® at 15% w / v. The concentration of Cilostazol was incorporated in the polymeric solution in the concentrations of 5% w / w, 10% w / w, 20% w / w and 30% w / w, in relation to the mass of the polymer. Drug in the phosphate buffer solution with a pH of 5.5, as well as the characterizations of the films obtained: analysis of optical and scanning electron microscopy (MO and SEM), infrared spectroscopy, thermogravimetry (TGA), exploratory differential calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (XRD). After obtaining the release curves, different kinetic models were adjusted, with the Peppas-Sahlin one showing the best results for R2 and for the Akaike criteria (AIC), that is, it obtained the best mathematical adjustment. The Peppas-Sahlin model demonstrates a greater mathematical contribution to the understanding of diffusion and relaxation phenomena when compared to the others Peppas' models. Cilostazol showed a better release in the concentration of 30% (w / w), in which it occurred for a longer time and in a stable concentration. The results showed that this material has great potential to be used in the release of this drug.

Keywords: Ecovio®, electrospinning, transdermal drug release, kinetic release model, Cilostazol

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	7
1.0 INTRODUÇÃO	13
2.0 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Cilostazol	16
3.2 Doenças Vasculares/Arteriais Periféricas: O que são e como acometem o paciente	17
3.3 Epidemiologia das Doenças Vasculares/Arteriais Periféricas	17
3.4 Sistemas de liberação transdérmicos	18
3.5 Eletrofiação do Polímero Ecovio®	19
3.6 Modelos de cinética de liberação	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Preparo da solução	24
4.2 Caracterização dos filmes	25
4.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	25
4.2.2 Termogravimetria (TGA)	26
4.2.3 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	26
4.2.4 Difração de Raio X (DRX)	26
4.3 Análise de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier	26
4.4 Análises Mecânicas	27
4.5 Liberação “ <i>in vitro</i> ”	27
4.6 Aplicação dos modelos cinéticos de liberação	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1.2 Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier	33
5.1.3 Análises termogravimétricas (TGA)	36
5.1.4 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	39
5.1.5 Difração de Raios-X	46
5.1.6 Análise Mecânica	48
5.1.7 Estudo de liberação	49
5.1.7 Aplicação aos modelos cinéticos	51
6 CONCLUSÃO	64
7 REFERÊNCIAS	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vantagens e Desvantagens dos Sistemas Transdérmicos	18
Tabela 2 - Parâmetros a serem utilizados na eletrofiação	24
Tabela 3 - Quantidades utilizadas nas eletrofiações	25
Tabela 4 - Diâmetro das fibras com Ecovio® variando as concentrações de Cilostazol e mantendo a distância de 15 cm e a tensão aplicada	33
Tabela 5 - Ponto de Fusão, Cristalização e Calor de Fusão da blenda de Ecovio com Cilostazol liberado e não liberado	43
Tabela 6 - Porcentagem de cristalinidade calculada para os três picos referentes às fusões dos monômeros da blenda polimérica de Ecovio® com Cilostazol liberado e não liberado	45
Tabela 7 - Detalhamento do comportamento mecânico das fibras de Cilostazol 0 %, 10%, 20% e 30% incorporadas ao Ecovio 15%	49
Tabela 8 - Parâmetros encontrados na aplicação dos modelos cinéticos	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular do Cilostazol	17
Figura 2 - Esquema da eletrofição	19
Figura 3 - Efeito da concentração do polímero Ecovio® na morfologia das fibras (ampliação 3000x) (A) 5% m.V-1, (B) 10% m.V-1 (C) 15% m.V-1 e (D) ampliação de 20000x na fibra de 10% m.V ⁻¹	20
Figura 4 – Estrutura do Polilactato (PLA)	21
Figura 5 - Estrutura do poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)	21
Figura 6 – Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (MEV): para blenda de Ecovio® puro nas ampliações de 2000x e 20000x (a), com 5% m/m de Cilostazol antes (b) e depois (c) nas ampliações de 2000x e 20000x, para a blenda de Ecovio® com 10% m/m de Cilostazol antes (d) e depois (e) em ampliações de 2000x e 20000x, com 20% m/m de Cilostazol antes (f) e depois (g) nas ampliações de 2000x e 20000x, para a blenda de Ecovio® com 30% m/m de Cilostazol antes (h) e depois (i) em ampliações de 2000x e 20000x, respectivamente.	32
Figura 7 - FTIR de Cilostazol e Ecovio Puro.....	34
Figura 8 - FTIR de Cilostazol 5% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio	34
Figura 9 - FTIR de Cilostazol 10% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio	34
Figura 10 - FTIR de Cilostazol 20% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio	35
Figura 11 - FTIR de Cilostazol 30% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio	35
Figura 12 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA) , da blenda de Ecovio puro 15% (a) e Cilostazol puro (b)	36
Figura 13 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA) , da blenda de Ecovio e Cilostazol 5% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 5% (b).....	36
Figura 14 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA) , da blenda de Ecovio (15% (m/v) e Cilostazol 10% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 10% (b).....	37
Figura 15 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA) , da blenda de Ecovio e Cilostazol 20% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 20% (b)	37
Figura 16 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA) , da blenda de Ecovio e Cilostazol 30% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 30% (b)	38
Figura 17 - Termograma de DSC de Cilostazol puro produzido	39
Figura 18 - Termograma de DSC de Ecovio puro a 15% (m/v)	40

Figura 19 - Termograma de DSC de Cilostazol 5% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%	40
Figura 20 - Termograma de CDE de Cilostazol 10% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%	41
Figura 21 - Análise térmica DSC da blenda Ecovio (15%<i>m/v</i>) sem e com o Cilostazol 20% (m/m) do polímero antes e após a liberação do fármaco.	41
Figura 22 - Termograma de CDE de Cilostazol 30% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%	42
Figura 23 - Difrátograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 5% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60°, com incremento de 0,01°	46
Figura 24 - Difrátograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 10% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60°, com incremento de 0,01°	47
Figura 25 - Difrátograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 20% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60°, com incremento de 0,01°	47
Figura 26 - Difrátograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 30% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60°, com incremento de 0,01°	48
Figura 27 - Gráfico da análise mecânica da membrana referente às concentrações 0%, 10%, 20% e Cilostazol 30% incorporadas ao Ecovio 15%	49
Figura 28 - Curva da liberação de Cilostazol 10%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação.....	51
Figura 29 - Curva da liberação de Cilostazol 20%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação.....	51
Figura 30 - Curva da liberação de Cilostazol 30%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação.....	51
Figura 31 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	52
Figura 32 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	52
Figura 33 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	53
Figura 34 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	53
Figura 35 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	54
Figura 36 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	54
Figura 37 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	54
Figura 38 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	55
Figura 39 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	55
Figura 40 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	56
Figura 41 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	56
Figura 42 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	56
Figura 43 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	57

Figura 44 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	57
Figura 45 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	57
Figura 46 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	58
Figura 47 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	58
Figura 48 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	58
Figura 49 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	59
Figura 50 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	59
Figura 51 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%.....	60
Figura 52 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%.....	60
Figura 53 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%.....	60
Figura 54 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%.....	61
Figura 55 - Gráfico da liberação de Cilostazol 5%, produzido com Ecovio a 15%	70
Figura 56 - Gráfico da liberação de Cilostazol 10%, produzido com Ecovio a 15%	70
Figura 57 - Gráfico da liberação de Cilostazol 20%, produzido com Ecovio a 15%	71
Figura 58 - Gráfico da liberação de Cilostazol 30%, produzido com Ecovio a 15%	71

1.0 INTRODUÇÃO

A via de administração de um fármaco determina o caminho que ele fará no organismo do paciente e isso é de suma importância para a ação do medicamento, pois para cada enfermidade é interessante avaliar a melhor forma de administrá-lo, ou seja, levando em consideração a eficácia e a aceitabilidade do paciente⁽¹⁾.

Embora a via oral seja a mais comum, nem sempre ela é considerada a melhor, pois pode existir obstáculos que impeçam o fármaco de exercer sua ação, como efeitos colaterais para o paciente que o levam a não adesão ao tratamento; não resistência ao suco gástrico do estômago que pode levar à degradação do medicamento e portanto ele não age; competição pelas enzimas do citocromo também fazendo com que não tenha ação medicamentosa; além da condição do paciente, como os acamados, que possuem dificuldade de ingestão. Dessa forma, vias de administração alternativas devem ser uma opção visando a qualidade de vida do paciente e a melhor eficácia do medicamento⁽¹⁾. Nesse contexto, os sistemas transdérmicos de administração medicamentosa se tornam uma opção promissora.

Os sistemas de liberação transdérmicos são formas farmacêuticas que permitem a passagem do medicamento através de permeação pela pele, atingindo a corrente sanguínea com efeitos a níveis sistêmico⁽²⁾. Assim, destaca-se a nanofibras poliméricas, que são um tipo de sistema de liberação transdérmicos com diâmetros que podem variar de nanômetros a micrômetros. Atualmente existem várias técnicas para a produção de nanofibras poliméricas, mas a que mais se destaca é a eletrofiação, por se tratar de uma técnica simples, não onerosa e capaz de produzir nanofibras de vários tipos de materiais e tamanhos⁽³⁾.

A técnica de eletrofiação se resume na formação de fibras poliméricas produzidas a partir de soluções contendo solventes, um polímero ou blenda polimérica (dois poliméricos realizando efeito sinérgico) e um fármaco dissolvido, quando se deseja inserir uma substância para atribuir uma função farmacológica ao filme. Essa membrana é formada a partir de forças eletrostáticas que ocorrem entre a agulha da seringa que libera a solução e a placa coletora de aço inoxidável, através de uma tensão aplicada e uma bomba infusora⁽⁴⁾.

Existem listados na literatura vários polímeros para a produção das membranas poliméricas, mas destaca-se o Ecovio®, comercializado pela empresa Basf e composto por blenda constituída de dois polímeros biodegradáveis, o poli (butileno adipato co-tereftalato) – PBAT, produzido pela mesma empresa e cujo nome comercial é Ecoflex®; e o poli (ácido láctico) ou polilactato – PLA, um poliéster alifático. O PLA é semelhante a um poliestireno e

poli (tereftalato de etileno), com vantagens como plasticidade térmica e rigidez. Já o PBAT pertence à classe de poliésteres alifáticos aromáticos biodegradáveis e assim como o PLA, possui como vantagem sua rigidez^{(5); (6)}.

O fármaco utilizado nesse trabalho foi o Cilostazol, medicamento indicado para o tratamento de doença vascular periférica e para a redução do sintoma de claudicação intermitente. Também pode ser utilizado para prevenção de acidente vascular cerebral. Por se tratar de um medicamento metabolizado pelas enzimas do citocromo P450, deve-se analisar a interação medicamentosa com outros inibidores das enzimas CYP3A4 e CYP2C19 e sua posologia deve considerar essas interações, sendo de 50 mg ou 100 mg duas vezes ao dia ou 50 mg duas vezes ao dia quando coadministrada com as enzimas da família do citocromo⁽⁷⁾. Dessa forma, torna-se interessante o estudo do Cilostazol em membrana polimérica eletrofiada.

Os testes de avaliação *in vitro* demonstram a eficácia da membrana polimérica de Ecovio® eletrofiada e contendo o fármaco em questão. Isso pode ser realizado por meio de estudos cinéticos utilizando modelos como Ordem Zero, primeira Ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Peppas-Sahlin; de dissolução e análises para avaliação morfológica e térmica das membranas, em que são realizadas análises de microscopias óptica e eletrônica de varredura (MO e MEV), termogravimetria (TGA), calorimetria diferencial exploratória (CDE) e difração de raios X (DRX).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo obter uma membrana eletrofiada polimérica composta de Ecovio® e Cilostazol, caracterizá-la e comprovar sua eficácia medicamentosa *in vitro* usando técnicas de liberação.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a liberação do Cilostazol incorporado em fibras poliméricas, preparados por processo de eletrospinning.

2.2 Objetivos específicos

- Produzir microfibras poliméricas de ECOVIO contendo Cilostazol;
- Caracterizar as microfibras contendo Cilostazol usando as técnicas de análises termogravimétricas (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), Difração de Raios-X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Realizar o estudo de liberação desse material *in vitro* e comprovar sua efetiva liberação em pH fisiológico;
- Aplicar modelos cinéticos, avaliando o mecanismo de liberação do fármaco.

3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cilostazol

O Cilostazol é um medicamento indicado para o tratamento de doença vascular periférica e para a redução do sintoma de claudicação intermitente. Também pode ser utilizado para prevenção de acidente vascular cerebral⁽⁷⁾.

O Cilostazol apresenta-se na forma farmacêutica de pó branco e cristalino, distribuído aos pacientes em forma de comprimidos, parcialmente solúvel em metanol e acetona. Trata-se de um derivado quinolônico inibidor da fosfodiesterase celular III, que somado à supressão da degradação de monofosfato de adenosina cíclica, leva ao aumento da concentração de plaquetas e vasos sanguíneos, promovendo a inibição da agregação plaquetária e vasodilatação. Esse medicamento possui ação aos níveis lipídicos do sangue, reduzindo os triglicérides e aumentando a concentração das lipoproteínas de alta densidade (HDL), melhorando o perfil lipídico de pacientes lipêmicos⁽⁷⁾.

O fármaco Cilostazol não apresenta contraindicações graves, mas deve ser evitado em pacientes com insuficiência cardíaca grave. Para tratamento em pessoa com insuficiência hepática moderada e grave, deve-se ter cautela e acompanhamento médico. Para mulheres lactantes, o uso do Cilostazol deve ser descontinuado, pois é comprovado que seus metabólitos são transferidos para o leite materno. Já durante a gravidez, estudos realizados em camundongos, ratos e hamsters, não demonstrou teratogenicidade e redução na fertilidade, mas apresentou redução no peso dos filhotes. Portanto seu uso durante a gestação deve ser avaliado⁽⁷⁾.

Por se tratar de um medicamento metabolizado pelas enzimas do citocromo P450, deve-se analisar a interação medicamentosa com outros inibidores das enzimas CYP3A4 e CYP2C19, como a Eritromicina e Omeprazol, respectivamente. Dessa forma, sua posologia deve considerar essas interações, sendo de 50 mg ou 100 mg duas vezes ao dia ou 50 mg duas vezes ao dia quando coadministrada com as enzimas da família do citocromo⁽⁷⁾.

Dessa forma, o estudo de nanofibras contendo Cilostazol se torna relevante, a fim de se obter uma tecnologia de administração alternativa ao paciente, que tenha efeitos colaterais mais amenos e que seja de utilização mais prática e eficiente.

A Figura 1 ilustra a estrutura molecular do fármaco Cilostazol.

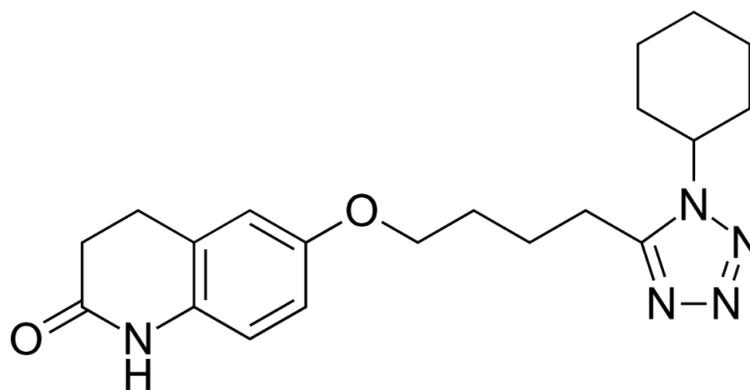


Figura 1 - Estrutura molecular do Cilostazol

3.2 Doenças Vasculares/Arteriais Periféricas: O que são e como acometem o paciente

As doenças arteriais ou vasculares periféricas são patologias que afetam o fluxo arterial normal do paciente, causando obstrução de artérias ou vasos sanguíneos, que podem levar a isquemias. Os principais sintomas são a claudicação intermitente, dor nos membros inferiores mesmo quando estão em repouso, mudanças na cor da pele e, em alguns casos mais graves, podem surgir feridas nas pernas e pés. Para as doenças vasculares, em especial, os principais sintomas são veias dilatadas, edemas e trombozes venosas⁽⁸⁾. O acometimento dessas doenças está inteiramente ligado a alguns fatores de risco como idade e sexo, sendo os pacientes com mais de 50 anos os mais propensos, entre homens e mulheres. Porém, para alguns casos como as doenças vasculares inflamatórias e trombozes venosas, as mulheres são mais atingidas⁽⁹⁾. Alguns fatores de risco podem ser modificados, como sobrepeso, tabagismo e estilo de vida. O tabagismo pode levar à coagulação sanguínea e espessamento do endotélio; as dislipidemias podem ser evitadas ou controladas com o bom estilo de vida saudável e boa alimentação, reduzindo a formação de placas de ateroma nas paredes do vasos; a hipertensão e a *Diabetes Mellitus* aumentam o processo da aterosclerose e má circulação periférica; por fim, a obesidade dificulta a circulação periférica normal dos vasos e artérias⁽¹⁰⁾.

Infelizmente, os estudos de prevalências das doenças arteriais e vasculares periféricas não demonstram a real situação epidemiológica dos pacientes acometidos, pois a maioria deles são assintomáticos e portanto não manifestam que portam a doença, o que agrava a morbidade, com risco de aumento da gravidade de outras patologias, dificultando a qualidade de vida⁽¹¹⁾.

3.3 Epidemiologia das Doenças Vasculares/Arteriais Periféricas

A epidemiologia das doenças vasculares e arteriais periféricas demonstram que 4 a 10% da população é acometida e que após os cinquenta anos, ocorre um aumento de 20% de prevalência, demonstrando que o fator de risco idade é de grande importância epidemiológica⁽¹²⁾. No ano de 2007, as doenças circulatórias foram consideradas as principais causas de morte do mundo, atingindo 18 milhões de pessoas, sendo a aterosclerose a causa mais prevalente. Durante a fase de claudicação intermitente, 15% dos pacientes possuem comprometimento coronariano e cerebrovascular, sendo esse grupo chamado de portadores de doença polivascular, na qual ocorre mais de um tipo de comprometimento circulatório. O último senso levantado em 2017 pela Organização Pan-Americana de Saúde do Brasil (OPAS)⁽¹³⁾ e o mais recente encontrado na literatura, relata que 17,7 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2015, sendo 31% de todas as mortes.

Dessa forma, as doenças arteriais periféricas estão associadas a 30% da morbidade das patologias cardiovasculares⁽¹⁴⁾.

3.4 Sistemas de liberação transdérmicos

Os sistemas de liberação transdérmicos são tipos de formas farmacêuticas que permitem a passagem do medicamento através de permeação pela pele, atingindo a corrente sanguínea com efeitos a níveis sistêmicos, além de ser uma boa alternativa para ativos que possuem degradação enzimática no sistema gastrointestinal⁽²⁾. Esse tipo de liberação possui vantagens e desvantagens para o paciente, sendo elas vistas na Tabela 1:

Tabela 1 - Vantagens e Desvantagens dos Sistemas Transdérmicos

Vantagens	Desvantagens
Redução da posologia	Dificuldade de aderência à pele
Não invasivo	Uso de esparadrapos para fixar
Sem metabolismo de primeira passagem	Perda da eficácia
Sem efeitos gástricos	Compatibilidade físico-químicas dos fármacos
Facilidade de administração	Irritação à pele

Fonte: Ruby, P.K., S.M. Pathak, and D. Aggarwal, 2014⁽¹⁵⁾

Assim, destacam-se a nanofibras poliméricas, que são um tipo de sistema de liberação transdérmicos em níveis nanométricos. Atualmente existem várias técnicas para a produção de nanofibras poliméricas, mas a que mais se destaca é a eletrofiação, por se tratar de uma técnica simples, não onerosa e capaz de produzir nanofibras de vários tipos de materiais e tamanhos⁽¹⁶⁾. As nanofibras geradas possuem alta flexibilidade de uso e manuseio, além de possuírem boa compatibilidade com a composição de diversos tipos de polímeros e incorporação de vários tipos de fármacos, além de serem biodegradáveis e lipossolúveis, o que contribui consideravelmente para serem ótimas alternativas para um sistema de liberação transdérmico⁽¹⁷⁾.

3.5 Eletrofiação do Polímero Ecovio®

A eletrofiação é uma técnica de processamento cada vez mais explorada com o intuito de obter fibras com diâmetros muito pequenos, variando desde alguns micrômetros até nanômetros e o aparato experimental é relativamente simples e as fibras obtidas apresentam alta razão área-volume⁽¹⁸⁾. Trata-se da aplicação de uma tensão entre a agulha da seringa injetora da solução e a placa coletora da fibra eletricamente aterrada. Quando esse campo elétrico forma uma tensão maior que a superficial da solução, forma-se um jato de solução polimérica que é coletado na placa coletora, formando então as nanofibras. Devido ao campo elétrico formado, forma-se uma gota cônica na ponta do capilar, que é chamado de cone de Taylor⁽¹⁹⁾. A Figura 2 mostra um esquema representativo da eletrofiação.

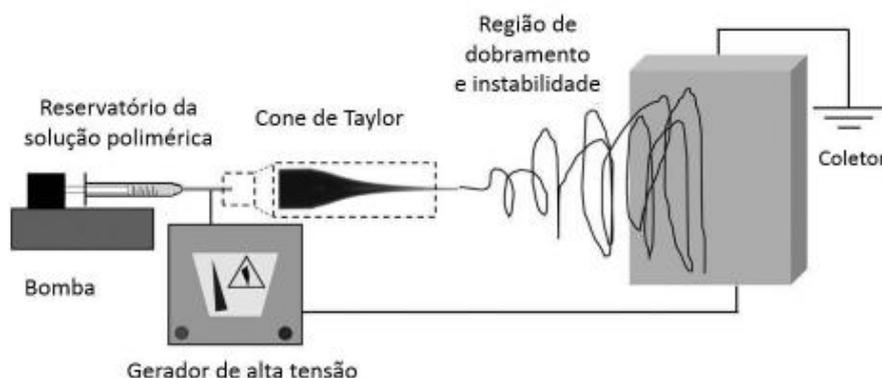


Figura 2 - Esquema da eletrofiação
(Adaptado. Repanas, A., S. Andriopoulou, and B. Glasmacher, 2016)⁽²⁰⁾

Geralmente, fibras são obtidas a partir de blendas poliméricas, e suas propriedades tais como flexibilidade, porosidade, resistência mecânica, funcionalidade específica, bem como sua resposta a estímulos externos dependem do par polímero-solvente⁽²¹⁾. Blendas

poliméricas são definidas como misturas físicas entre dois ou mais homopolímeros ou copolímeros⁽²²⁾, visando o sinergismo entre cada constituinte envolvido, a fim de obter um material com melhores propriedades que os constituintes puros⁽²³⁾. Além do par polímero-solvente, outros parâmetros experimentais afetam as propriedades finais da fibra, cujos principais são: concentração da solução polimérica, condutividade da solução, fluxo de injeção da mesma, voltagem aplicada, distância entre a ponta da agulha e o coletor e tipo de agulha^{(24); (25); (26)}.

A tensão aplicada na eletrospinação pode influenciar diretamente no estiramento da fibra e conseqüente evaporação do solvente, sendo que caso a voltagem seja além do ideal para a produção das fibras de interesse, ocorre uma instabilidade no cone de Taylor, levando a um aumento da velocidade de eletrospinação, provocando a formação de *beads*, que são acúmulos de solução num único ponto, como pode ser observado na Figura 3 (A). Da mesma forma, o fluxo de injeção da solução polimérica e a distância entre a agulha e o coletor podem influenciar diretamente na formação de *beads* e por isso deve-se determinar seu valor ideal⁽²⁷⁾. Assim sendo, se o fluxo está muito acima do ideal, as fibras podem ser muito largas e o solvente não evapora o suficiente, formando poros. Enquanto que um fluxo abaixo, leva a fibras estruturalmente desuniformes em relação ao seu diâmetro⁽²⁸⁾.

Estudos da influência da concentração polimérica de fibras levam à um aumento considerável do diâmetro das fibras. O aumento da concentração tem efeito sob a viscosidade da solução, gerando fibras mais estáveis frente ao processo de estiramento⁽²⁹⁾.

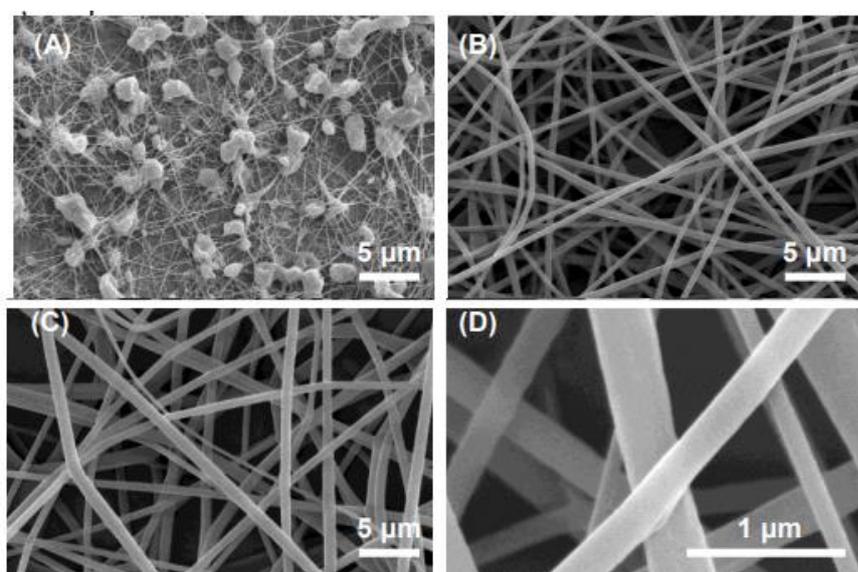


Figura 3 - Efeito da concentração do polímero Ecovio® na morfologia das fibras (ampliação 3000x)
(A) 5% m.V-1, (B) 10% m.V-1 (C) 15% m.V-1 e (D) ampliação de 20000x na fibra de 10% m.V⁻¹
(Rodrigo Schneider, Daniel S. Correa, 2017)⁽²⁹⁾

A otimização e o controle desses parâmetros podem resultar em fibras com propriedades muito interessantes e com uma ampla gama de aplicação. O polímero de nome comercial Ecovio®, produzido pela empresa BASF, é uma blenda constituída de dois polímeros biodegradáveis, o poli (butileno adipato co-tereftalato) – PBAT, produzido pela mesma empresa e cujo nome comercial é Ecoflex®; e o poli (ácido láctico) ou polilactato – PLA, um poliéster alifático. O PLA é semelhante a um poliestireno e poli (tereftalato de etileno), com vantagens como plasticidade térmica e rigidez. Já o PBAT pertence à classe de poliésteres alifáticos aromáticos biodegradáveis e assim como o PLA, possui como vantagem sua rigidez. O Ecovio® possui uma resistência mecânica considerável, além de elevado módulo de elasticidade. Esse copolímero é utilizado em variadas aplicações, tais como: sacolas plásticas, embalagens de revistas, tubetes para reflorestamentos, entre outras⁽⁵⁾. Nas figuras 4 e 5 pode-se observar a estrutura química do PLA e PBAT, respectivamente.

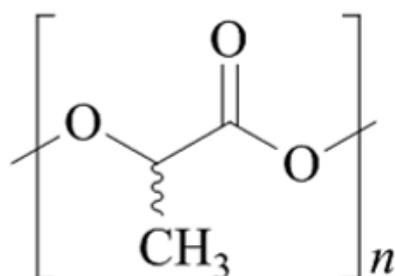


Figura 4 – Estrutura do Polilactato (PLA)

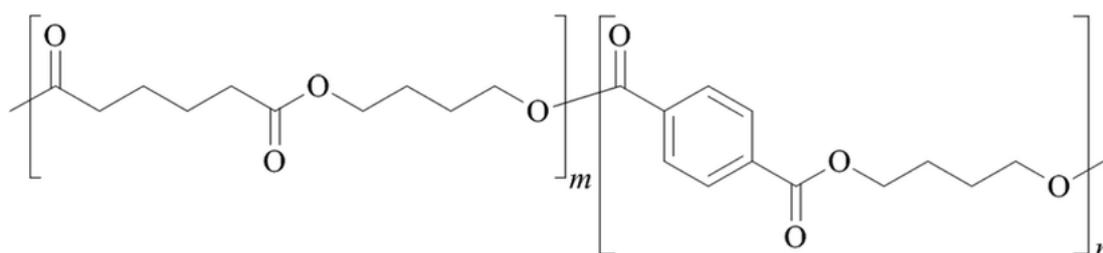


Figura 5 - Estrutura do poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT)

3.6 Modelos de cinética de liberação

A liberação do fármaco a partir da matriz formada pelas nanofibras poliméricas ocorre pelo inchaço da fibra no meio de dissolução utilizado, que passa do estado seco para o molhado e sofre alterações em sua micro estrutura. Essa capacidade de liberação pode

sofrer influência de vários fatores, como a solubilidade no meio de dissolução e a transferência do fármaco para a matriz posteriormente⁽³⁰⁾.

O processo de dissolução é caracterizado pela liberação do fármaco em sua forma farmacêutica no meio de dissolução, onde ele se tornará disponível para ser absorvido pelo paciente. O pH do meio deve ser ideal para promover essa liberação e ser compatível com a via de administração do fármaco, ou seja, no caso das nanofibras poliméricas que são de uso transdérmico, o pH deve ser o fisiológico⁽³¹⁾. O estudo do perfil de dissolução tem como objetivo avaliar o quão rápido o medicamento solubiliza no meio e isso determinará a velocidade com que ele é absorvido. Dessa forma, a escolha da matriz polimérica onde o fármaco está contido é de extrema importância, pois os polímeros que são biodegradáveis sofrem uma dissolução por difusão e decomposição da matriz, que influenciará diretamente na velocidade de liberação do fármaco⁽³¹⁾.

Assim, alguns modelos são amplamente utilizados para analisar a liberação das substâncias ativas incorporadas em matrizes poliméricas através de meios de dissolução, sendo eles:

Modelo de Ordem Zero: trata-se de um modelo utilizado para uma liberação mais lenta de fármacos cuja forma farmacêutica é de difícil desagregação.

$$m_0 - m_t = k_0 t \quad \text{Equação 01}$$

Em que m_t é a concentração do fármaco liberado no tempo t , m_0 é a concentração inicial do fármaco na solução e k_0 é a constante de liberação do modelo cinético de ordem zero⁽³²⁾.

Modelo de Primeira Ordem: aplicado à sistemas de fármacos hidrofílicos contidos em estruturas porosas.

$$\log(100 - m_t) = \log 100 - \frac{k_1}{2,303} t \quad \text{Equação 02}$$

Em que m_t é a concentração do fármaco liberado no tempo t e k_1 é a constante de liberação dos modelo cinético de primeira ordem⁽³²⁾.

Modelo de Higuchi: onde a liberação do fármaco ocorre por difusão, em que esta é dependente da raiz quadrada do tempo. Esse modelo apresenta limitações no uso de fármacos com liberação controlada, pois os o intumescimento da matriz interfere na difusão.

$$m_t = K_H (t^{1/2}) \quad \text{Equação 03}$$

Em que m_t é a concentração do fármaco liberado no tempo t e K_H é a constante de liberação do modelo cinético de Higuchi⁽³²⁾.

Modelo de Korsmeyer-Peppas: modelo em que a velocidade de liberação é diretamente proporcional ao tempo. Nessa fórmula matemática deve-se levar em consideração não somente a difusão do fármaco no meio de dissolução, mas também o relaxamento da matriz.

$$\frac{m_t}{m_\infty} = k_{KP} t^n \quad \text{Equação 04}$$

Em que $\frac{m_t}{m_\infty}$ representa a fração do fármaco liberado em função do tempo t , k é constante e n é o expoente de liberação⁽³²⁾.

Modelo de Hixson-Crowell: geralmente é aplicado à modelos cuja liberação do fármaco é proporcional à área superficial do sistema.

$$(100 - m_t)^{1/3} = 100^{1/3} - K_{HC} t \quad \text{Equação 05}$$

Em que m_t é a concentração do fármaco liberado no tempo t e K_{HC} é a constante de liberação do modelo cinético de Hixson-Crowell⁽³²⁾.

Modelo de Peppas-Sahlin: Esse modelo é um complemento ao modelo de Peppas *et al.*⁽³²⁾, em que há uma maior contribuição matemática no entendimento dos fenômenos de difusão e relaxamento.

$$\frac{m_t}{m_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad \text{Equação 06}$$

Em que $\frac{m_t}{m_\infty}$ representa a fração do fármaco liberado em função do tempo t , k_1 e k_2 são as constantes que refletem as contribuições relativas do mecanismo de difusão e do mecanismo de relaxamento, m é o expoente de difusão da preparação farmacêutica que apresente uma liberação modificada⁽³²⁾.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Preparo da solução

Para a realização desse trabalho, foram utilizadas blendas poliméricas constituídas de poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT) e poli (ácido láctico) (PLA), comercializado pela Basf sob o nome comercial de Ecovio®. A solução polimérica foi preparada utilizando uma mistura de solventes de 85% v/v de Clorofórmio e 15% v/v de Dimetilformamida, ambos de pureza P.A. e do fabricante Neon sob agitação magnética por 24 horas, sendo que nessa solução foi acrescentado o polímero Ecovio® a 15% m/v. A concentração de Cilostazol foi incorporada na solução polimérica nas concentrações de 5% m/m, 10% m/m, 20% m/m e 30% m/m, em relação a massa do polímero. Foi escolhido aquela em que apresentou melhor formação das fibras e menores quantidades de *beads*. Ao final, a solução do polímero com o Cilostazol incorporada foi então colocada em uma seringa de vidro de volume de 10 mL, com agulha do tipo Hamilton de diâmetro de 1,5 mm e foi eletrofiada a uma distância do coletor de 12 centímetros, a um fluxo de 1 mL/ hora e sob tensão de 14 kV. Esses parâmetros foram definidos em estudos prévios realizados em nosso grupo de pesquisa. Assim, os parâmetros utilizados no sistema de eletrofição estão apresentados na Tabela 2 e foram seguidos rigorosamente em todos os resultados que serão apresentados nesse trabalho.

Tabela 2 - Parâmetros a serem utilizados na eletrofição

Parâmetro	Condição
Ecovio®	15% m/v
Cilostazol	5%, 10%, 20% e 30% m/v
Dimetilformamida e Clorofórmio	15% v/v 85% v/v
Agulha	Hamilton, diâmetro 1,5 mm
Seringa	Vidro, 10 mL
Seringa-Coletor	12 cm de distância
Fluxo	1 mL/ hora
Tensão	14 kV

As soluções eletrofiadas e preparadas conforme as concentrações acima citadas, foram executadas utilizando as quantidades demonstradas na tabela 3.

Tabela 3 - Quantidades utilizadas nas eletrofições

Volume da solução eletrofiada (mL)	Cilostazol (%) em relação ao Ecovio®	Massa de Cilostazol (g)	Ecovio® (%)	Massa de Ecovio® (g)
8	5	0,0373	15	0,7428
8	10	0,0759	15	0,7528
8	20	0,1505	15	0,7515
10	30	0,4543	15	1,5042

A solução polimérica a ser eletrofiada é então acondicionada na seringa de vidro tipo Hamilton de 10 mL, a qual é presa a uma bomba de infusão. Nessa bomba é necessário que sejam ajustados os valores de fluxo desejado, quantidade a ser eletrofiada e diâmetro do êmbolo da seringa, que interfere na velocidade de eletrofição. O diâmetro é medido com auxílio de paquímetro e o valor é ajustado em milímetros. Na placa coletora, a qual é feita de aço inoxidável, deve-se colocar um papel tipo manteiga para receber a solução polimérica eletrofiada, o qual cola-se com fita branca. A escolha do papel deve-se à facilidade de remoção da fibra posteriormente. Conecta-se um fio de cobre positivo à agulha da seringa e outro negativo na placa coletora, e enfim a bateria é ligada a uma tensão de 14 kV. A umidade relativa do ar deve estar abaixo de 40% e deve ser monitorada, para isso é necessário que a sala esteja refrigerada.

4.2 Caracterização dos filmes

Para avaliação morfológica e térmica das membranas, foram realizadas análises microscopia eletrônica de varredura (MEV), termogravimetria (TGA), calorimetria diferencial exploratória (DSC), difração de Raio-X (DRX) e espectroscopia na região do infravermelho utilizando transformada de Fourier (FTIR). Posteriormente foi feita a avaliação da liberação do fármaco, por meio do estudo do perfil de dissolução do fármaco Cilostazol incorporado nas concentrações citadas, em que o meio de dissolução utilizado foi tampão fosfato de potássio pH 5,5, simulando o pH fisiológico da pele, o qual seria o local de aplicação da membrana.

4.2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise morfológica das fibras foi realizada por MEV utilizando o equipamento do modelo VEGA3 TESCAN, na qual foram acondicionadas as amostras em uma fita adesiva dupla face de carbono, e fixadas em um suporte. Posteriormente, foram metalizadas com

ouro até a espessura de aproximadamente 5 nm, utilizando para isso um metalizador Denton. As amostras foram analisadas com ampliação de 1000, 3000 e 10000 vezes.

4.2.2 Termogravimetria (TGA)

A estabilidade térmica das blendas poliméricas foi determinada por meio de análises termogravimétricas no equipamento Perkin-Elmer STA 6000 Thermal Analyzer, em que utilizou-se 6 mg do filme, que foi colocado no recipiente do equipamento sob taxa de aquecimento de 10°C por minuto, variando a temperatura de 30 a 900°C, usando uma atmosfera de Nitrogênio com vazão de 50 mL min⁻¹. Utilizou-se cadinho de porcelana.

4.2.3 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Com o intuito de avaliar as possíveis alterações nas interações do polímero com o fármaco, foi realizada a análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) utilizando o calorímetro Mettler-Toledo. Foram utilizados 6 mg de amostra, aquecimento à temperatura de 30 até 200 °C, em uma taxa de 10°C por minuto, vazão de nitrogênio de 50 mL/min e o resfriamento de 200 até 30°C, taxa -10°C/minuto. Foi utilizada um cadinho de alumínio fechado.

4.2.4 Difração de Raios-X (DRX)

Para verificar a estrutura cristalina e determinar o grau de cristalinidade das amostras foi realizado o teste de difração de raios-X utilizando o difratômetro Difratorômetro Bruker®, com difração em ângulo de 2 θ , variando de 5 a 60°, com resolução de 0,01°, usando radiação CuK α de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, com monocromador de grafite.

4.3 Análise de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

As membranas poliméricas foram analisadas por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizando-se o módulo de Refletância Total Atenuada (ATR). As análises foram realizadas em temperatura ambiente, na região de 600 a 4000 cm⁻¹, com resolução de 1 cm⁻¹ em um Espectrômetro Perkin-Elmer FTIR.

4.4 Análises Mecânicas

As análises mecânicas foram realizadas no Laboratório de Alimentos da UTFPR. As propriedades mecânicas foram determinadas utilizando um texturômetro (Stable Micro Systems, TA.HDplus) com célula de carga de 5 kg. Amostras retangulares dos filmes poliméricos foram cortadas, com 40 mm de comprimento e 10 mm de largura. A espessura de cada filme foi medida usando um micrômetro de alta precisão (limite de detecção = 0,001mm) por mais de 4 vezes realizadas em diferentes locais da amostra e valor médio foi calculado. Para execução dos ensaios, a distância inicial entre as garras foi 200,0 mm e uma velocidade de 1,2 mm/min; as amostras foram submetidas ao peso “Strain” de 20,0 mm e uma área de “Stress” de 0,38 mm², por uma rampa de aquisição de 10 PPS e durante 150 segundos.

4.5 Liberação “*in vitro*”

Para o estudo de liberação do fármaco por meio do filme polimérico, foi colocado 100 mL de solução tampão fosfato de potássio pH 5,5 dentro de um Erlenmeyer de 250 mL. Em seguida, pesou-se cerca de 0,15 g de fibra em formato retangular e colocou-se no fundo do Erlenmeyer, contendo o tampão e então a vidraria foi acoplada no agitador tipo *Shaker* com temperatura de 35°C. Primeiramente, foi coletado alíquotas em 5, 20, 40 e 60 minutos. Em seguida aumentou-se o tempo de coleta para cada 1 hora e isso foi repetido por 36 horas. Essa alíquota retirada foi avaliada por técnica de UV, utilizando um aparelho espectrofotômetro *Shimadzu UV-Visible 1800*, com comprimento de onda de 200 a 400nm, sendo que em 256 nm tinha-se o pico do fármaco Cilostazol. Em seguida, essa mesma alíquota era devolvida ao Erlenmeyer em agitação e aquecimento, para que não houvesse diferença no volume de tampão e conseqüentemente na concentração de fármaco dissolvido. Essa análise foi realizada em triplicata e para todas as concentrações de Cilostazol testadas.

Posteriormente, após aproximadamente 250 dias desde o primeiro estudo de liberação foi realizado e usando as mesmas membranas que foram usadas anteriormente, fez-se novamente a liberação, para verificar se as mesmas ainda possuíam Cilostazol sendo liberado. O processo de liberação foi executado exatamente da mesma maneira como descrito no procedimento experimental, utilizando a mesma solução tampão fosfato de potássio pH 5,5, porém as coletas foram realizadas apenas uma vez ao dia. Inicialmente realizou-se a coleta zero dia, seguida da coleta em 24 horas, 96 horas, 168 horas e 192 horas

4.6 Aplicação dos modelos cinéticos de liberação

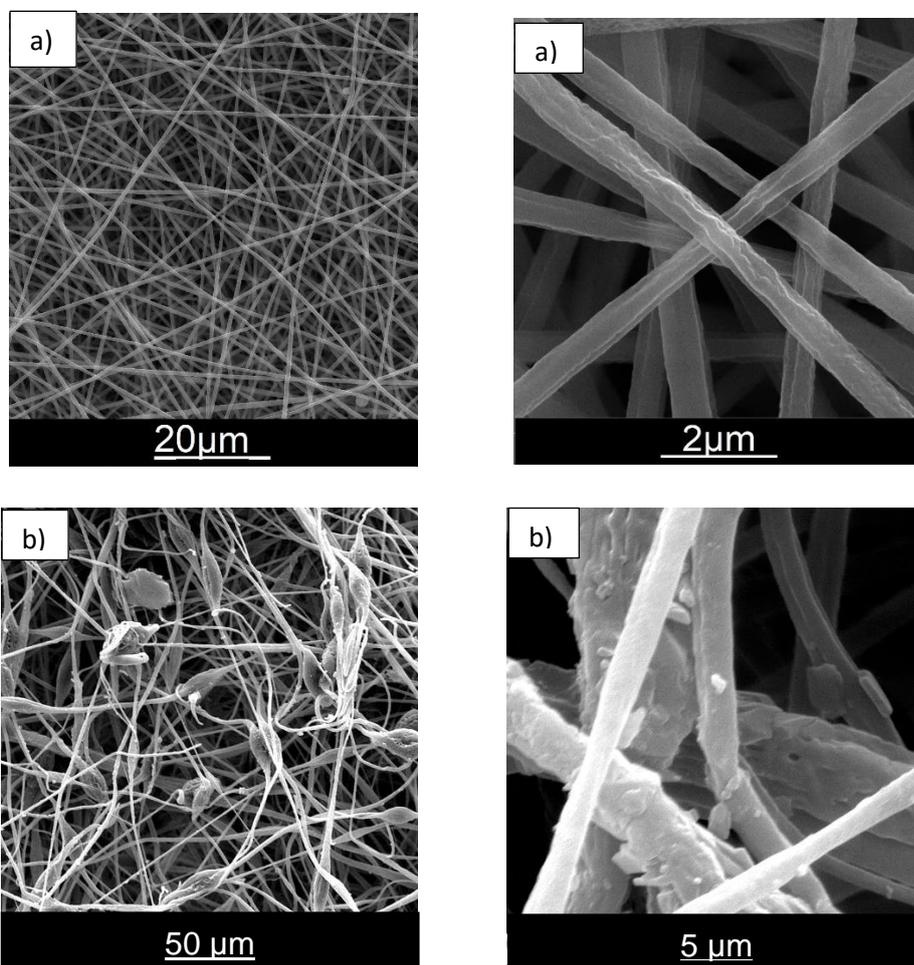
A aplicação dos resultados da liberação do fármaco nos modelos cinéticos de liberação tem por finalidade mostrar a relação dos parâmetros de liberação com a biodisponibilidade do fármaco incorporado nas nanofibras. Dessa forma, a liberação do Cilostazol por meio das nanofibras de Ecovio® foram avaliados utilizando os modelos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell e Peppas-Sahlin, utilizando o *software* DDSolver. Posteriormente, esses modelos e os seus respectivos resultados foram avaliados através da análise do R^2 ajustado e critério de AIC para escolha do melhor modelo que se aplica à liberação do Cilostazol.

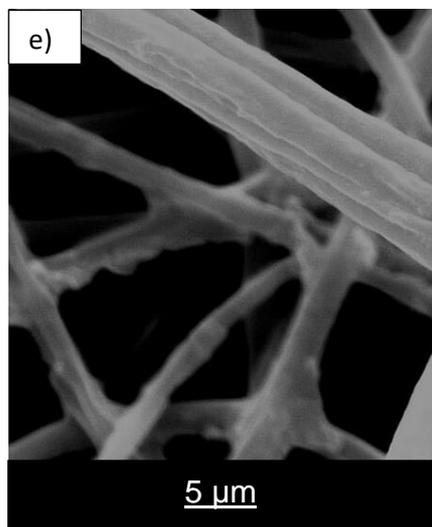
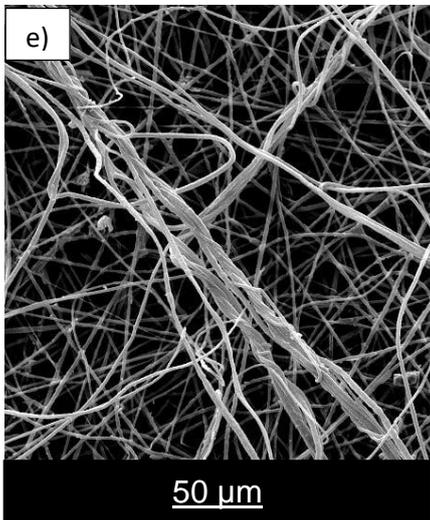
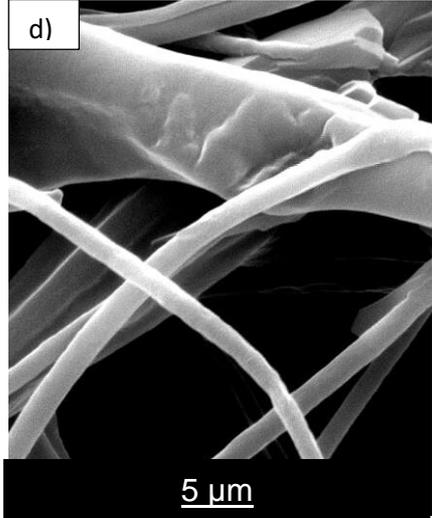
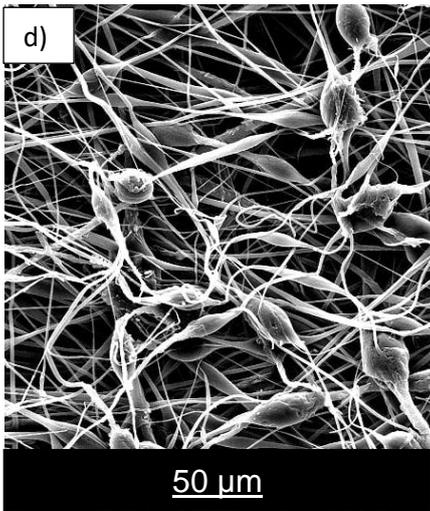
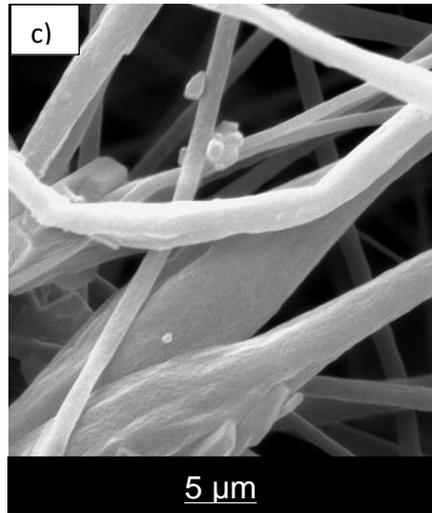
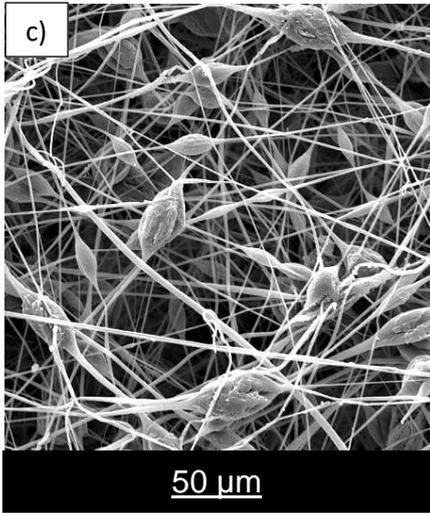
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As fibras utilizadas nesse trabalho foram eletrofiadas seguindo rigorosamente os parâmetros de eletrofiação estabelecidos no item *4.1 Preparo da solução* desse trabalho. Foram realizadas eletrofiações nas concentrações de 5%, 10%, 20% e 30% (m/m) de Cilostazol em relação a 15% (m/v) de Ecovio®.

5.1 Caracterização das fibras

A análise morfológica das fibras foi realizada utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), as comparações da morfologias, foram realizadas variando a concentração do fármaco, antes e após sua liberação. Os resultados podem ser observados abaixo na Figura 6.





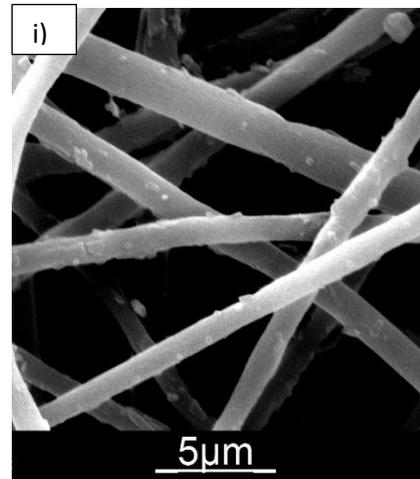
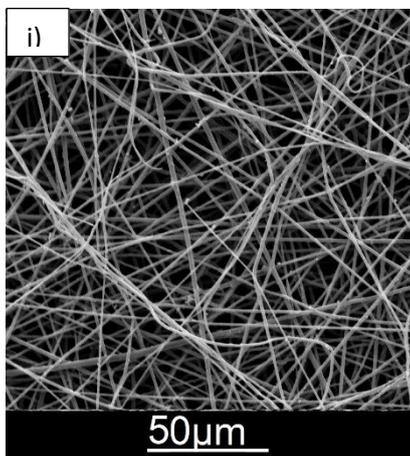
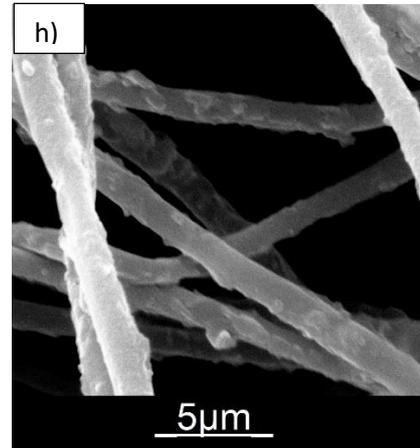
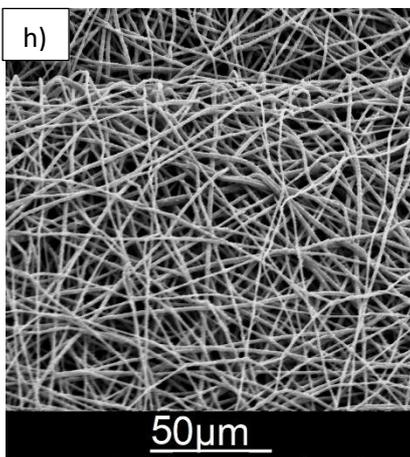
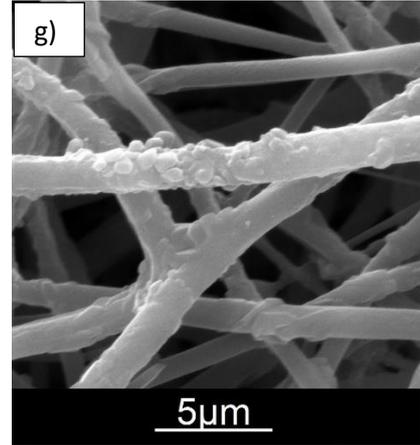
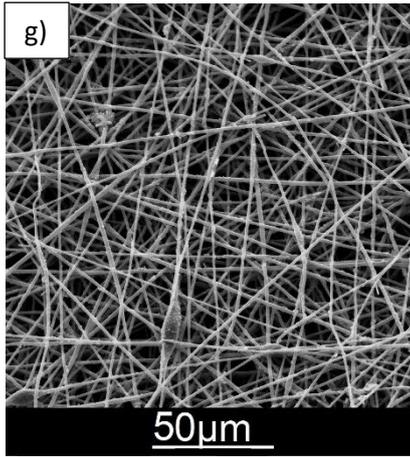
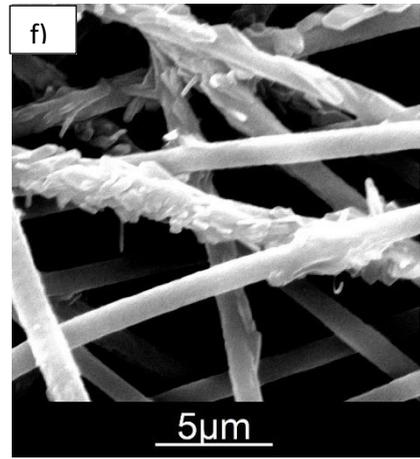
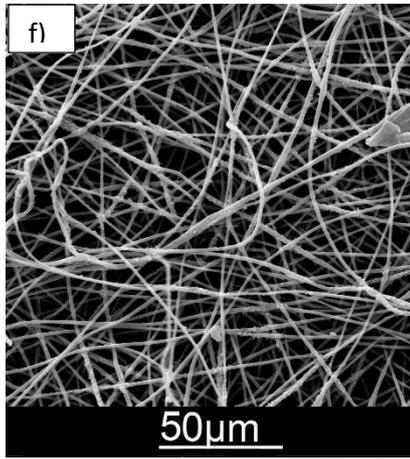


Figura 6 – Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (MEV): para blenda de Ecovio® puro nas ampliações de 2000x e 20000x (a), com 5% m/m de Cilostazol antes (b) e depois (c) nas ampliações de 2000x e 20000x, para a blenda de Ecovio® com 10% m/m de Cilostazol antes (d) e depois (e) em ampliações de 2000x e 20000x, com 20% m/m de Cilostazol antes (f) e depois (g) nas ampliações de 2000x e 20000x, para a blenda de Ecovio® com 30% m/m de Cilostazol antes (h) e depois (i) em ampliações de 2000x e 20000x, respectivamente.

Ao observar as micrografias da Figura 6, nota-se que aumentando a quantidade de Cilostazol, aumenta-se a homogeneidade das fibras. Além disso, calculando o diâmetro médio das mesmas, constatou-se um aumento à medida que adiciona-se mais fármaco no filme.

É possível observar também que quanto menor a concentração do medicamento na fibra, menos homogênea ela fica e maior dispersão das fibras ocorre no momento da eletrofiação, como pode ser visto na comparação das figuras 6-b) e c) (Cilostazol 5%) e 6-h) e i) (Cilostazol 30%), onde na concentração de 30% existe maior organização e homogeneidade das fibras, tanto em sua forma liberada quanto na forma não liberada.

As imagens de antes e depois em cada Figura demonstram como ocorre mudanças morfológicas na estrutura fibrosa com a liberação do fármaco, em que se observa maior dispersão e espaçamento das fibras após a liberação do fármaco, explicitando assim que a incorporação do fármaco às fibras influencia na conformação de fibra. Isso pode ser visto em todas as figuras, porém mais claramente nas figuras 6- f); g), h), i), concentrações de 20% e 30%, respectivamente.

As figuras que contêm o fármaco, antes da liberação, observa-se a presença de cristais e irregularidades, que podem ser vistas ainda após a liberação. Porém, o Cilostazol incorporado ao Ecovio em maiores concentrações, nota-se menos cristais, indicando que quanto maior a concentração do fármaco, maior o encapsulamento do mesmo à fibra.

Na tabela 4 são apresentados os valores dos diâmetros das fibras obtidas através das diferentes concentrações do Cilostazol usadas. Ocorre uma pequena variação de diâmetro nas fibras.

Tabela 4 - Diâmetro das fibras com Ecovio® variando as concentrações de Cilostazol e mantendo a distância de 15 cm e a tensão aplicada

Concentração de Cilostazol (m/m)	Diâmetro(μm)
0%	1,17 \pm 1,22
5%	0,82 \pm 0,96
10%	1,07 \pm 1,60
20%	0,99 \pm 1,33
30%	1,15 \pm 2,27

As condições de eletrofiação podem afetar a formação da fibra e alterar a sua morfologia, como pode ser observado na Figura 6- b), c) (Cilostazol 5%), em que houve a formação de *beads*. Além disso, os cristais presentes na superfície da fibra também podem interferir no processo, uma vez que estão relacionados às propriedades dos solventes e portanto com a interação polímero-fármaco. Com 20% de fármaco, observa-se que não ocorreu o encapsulamento completo do fármaco pela fibra, podendo ser justificado pela maior solubilidade do fármaco em um dos solventes utilizados, o clorofórmio e a baixa solubilidade no segundo solvente, a dimetilformamida. Como o clorofórmio é mais volátil, este tende a evaporar primeiramente ao aplicar a tensão, quando isso ocorreu ele carregou o fármaco acondicionando-o na superfície da fibra. No entanto, com o aumento da quantidade de fármaco (30%), uma parte deste, provavelmente permaneceu no interior das fibras. A temperatura e umidade do ambiente no momento da eletrofiação podem interferir, promovendo uma alteração na evaporação do solvente. A presença de água adsorvida na superfície da fibra poderá gerar poros, alterando as características morfológicas do material. O ideal para a eletrofiação destes polímeros, é trabalhar em temperaturas próximas à 25°C e a umidade do ar em torno de 40%⁽³³⁾.

5.1.2 Análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier

A análise de espectroscopia na região do infravermelho é capaz de investigar a complexação ou interações químicas que ocorreram na nanofibras entre as matrizes poliméricas que ela compõem, bem como, possíveis alterações nos grupamentos químicos

Os resultados dessa análise para as concentrações de Cilostazol 5%, 10%, 20% e 30% são representadas nas figuras 7 a 11.

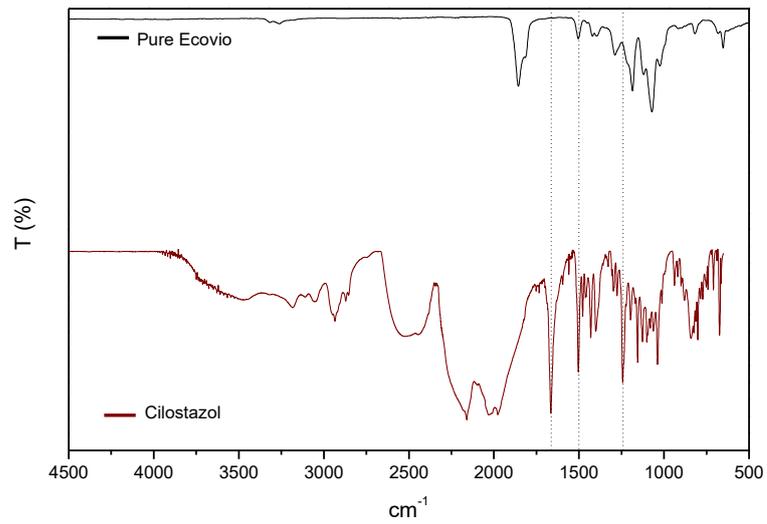


Figura 7 - FTIR de Cilostazol e Ecovio Puro

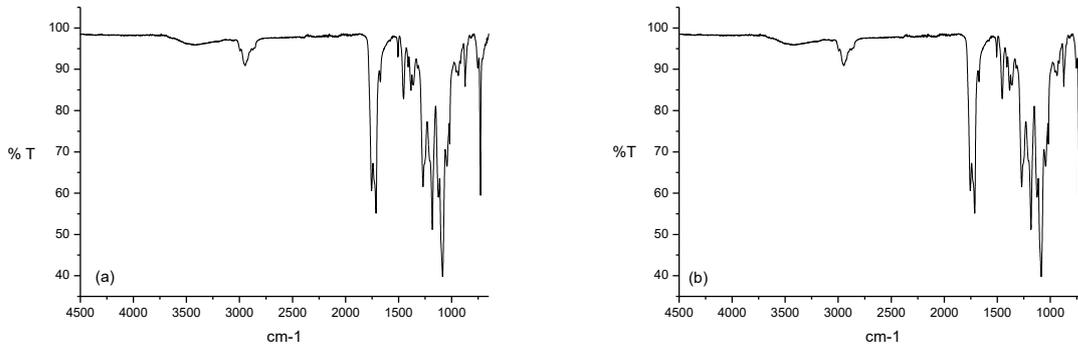


Figura 8 - FTIR de Cilostazol 5% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio

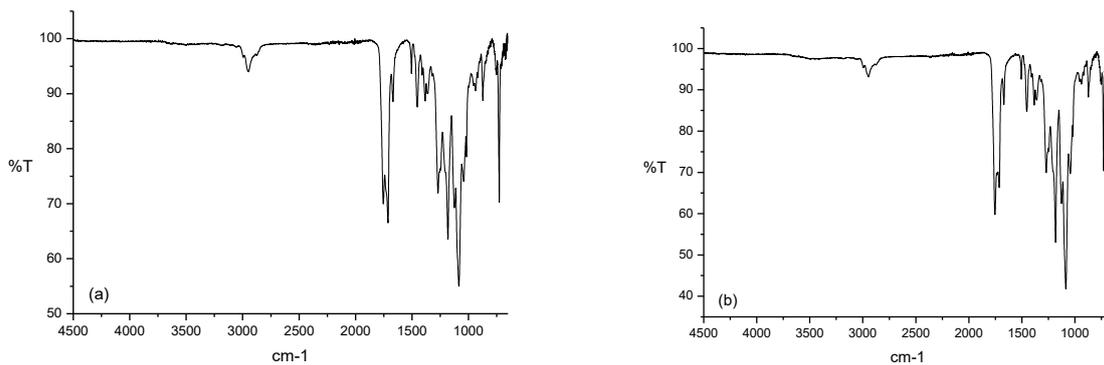


Figura 9 - FTIR de Cilostazol 10% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio

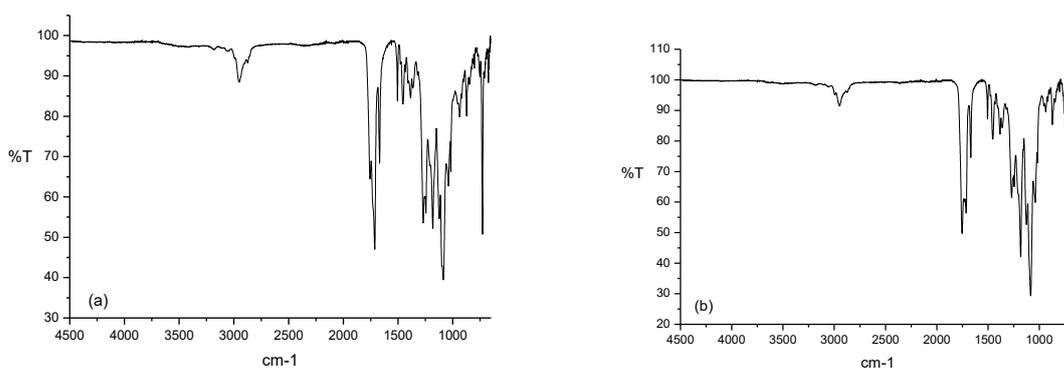


Figura 10 - FTIR de Cilostazol 20% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio

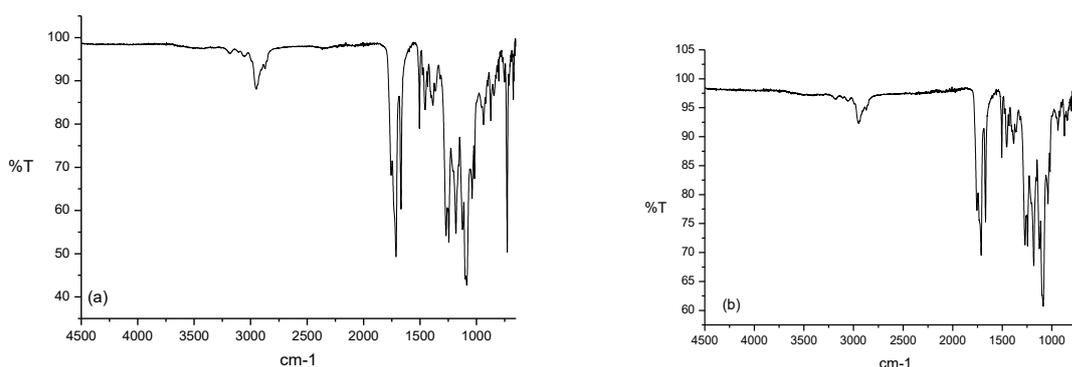


Figura 11 - FTIR de Cilostazol 30% liberado (a) e não liberado (b) na membrana de Ecovio

A partir da interpretação dos espectros acima, podemos observar os estiramentos característicos das estruturas moleculares do fármaco Cilostazol, do PBAT e PLA.

O Cilostazol possui em sua estrutura molecular uma amida secundária, a qual está presente em todas as figuras através da banda em torno de 3000 cm⁻¹, a qual é característica do estiramento simétrico da ligação NH de aminas secundárias. Além desse grupo, também observa-se uma banda em torno de 1460 cm⁻¹ característica de amidas secundárias, grupo também visto no fármaco⁽³⁴⁾.

As bandas presentes entre 1600 a 1200 cm⁻¹ são referentes ao fármaco Cilostazol e confirmam a presença do filme de Ecovio. Já o estiramento em 1670 cm⁻¹ corresponde à ligação C=O e em 1500 cm⁻¹ refere-se à ligação C-C do anel aromático⁽³⁵⁾.

Os estiramentos simétricos das ligações característicos dos polímeros PBAT e PLA também são vistos em todas as figuras, uma vez que eles compõem o Ecovio e esse está em todas as concentrações de fármaco, liberado e não liberado. As bandas de 1700 a 1750 cm⁻¹ são provenientes dos estiramentos da ligação C=O da carbonila do PLA (alifática) e do PBAT (aromática). A metila (CH₃) presente no PLA está representada pela banda em

1450 cm^{-1} , devido à deformação angular do grupo CH_2 , enquanto as bandas em torno de 2900 cm^{-1} referem-se ao estiramento C-H⁽³⁶⁾.

5.1.3 Análises termogravimétricas (TGA)

A partir das análises de TGA pode-se determinar a estabilidade térmica da blenda polimérica, com o intuito de definir a temperatura de decomposição da mesma na ausência e presença do fármaco, bem como, antes e após sua liberação. As figuras 12 a 16 demonstram a curva termogravimétrica e registro da derivada de decomposição para o fármaco liberado e não liberado; e o Ecovio e Cilostazol puro.

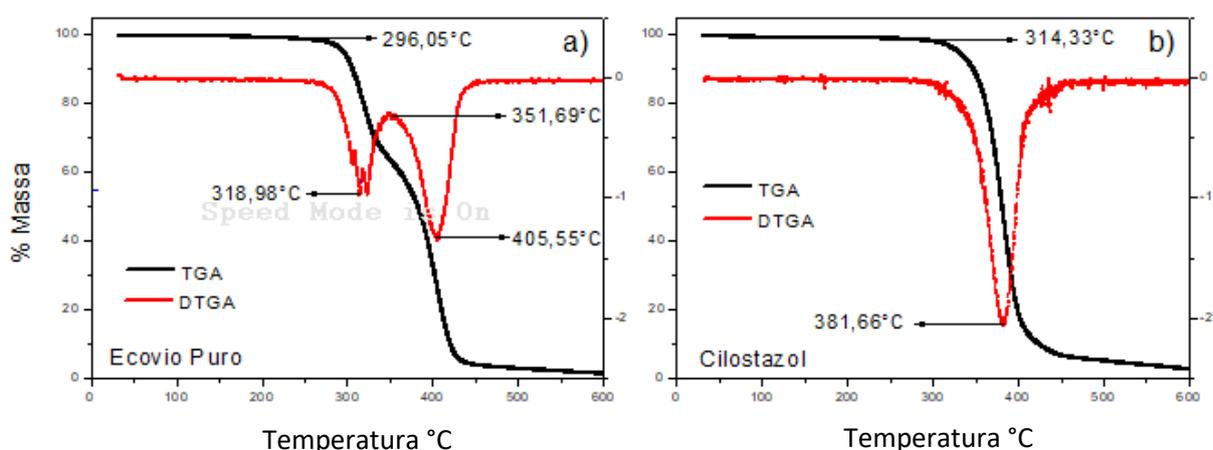


Figura 12 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA), da blenda de Ecovio puro 15% (a) e Cilostazol puro (b)

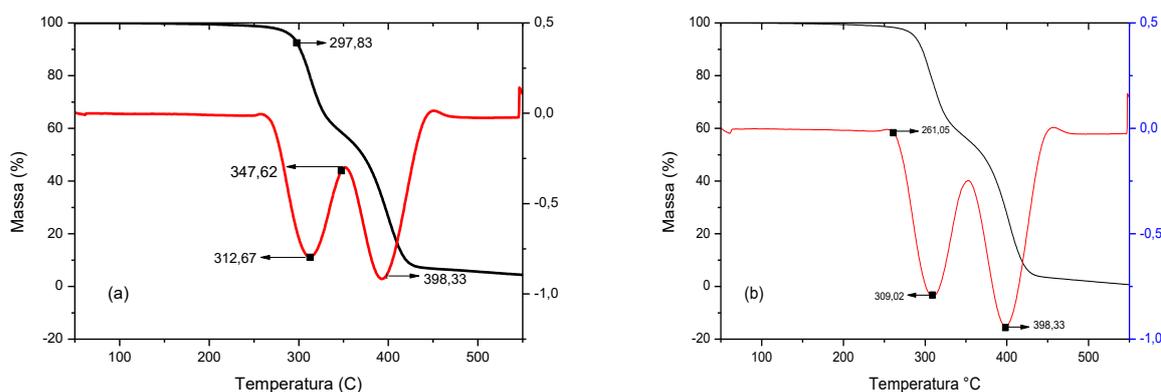


Figura 13 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA), da blenda de Ecovio e Cilostazol 5% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 5% (b)

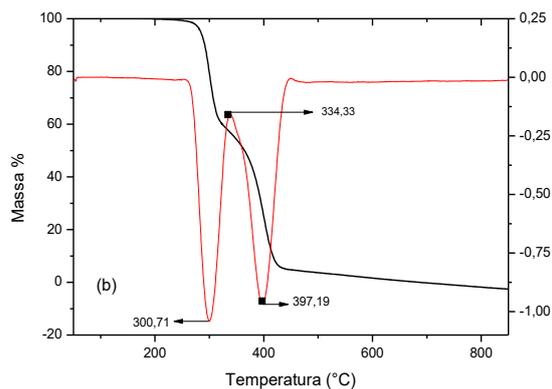
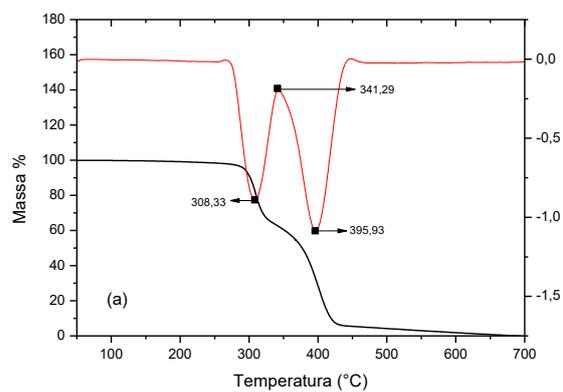


Figura 14 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA), da blenda de Ecovio (15% (m/v) e Cilostazol 10% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 10% (b)

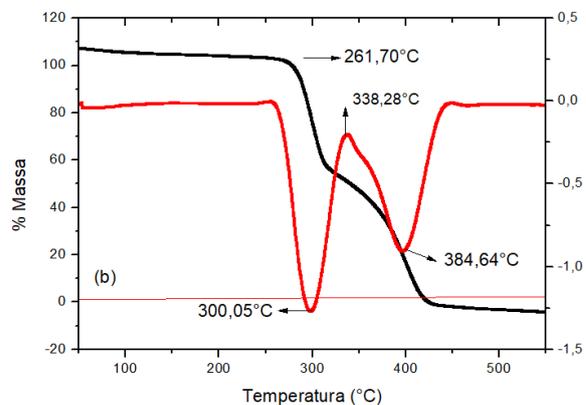
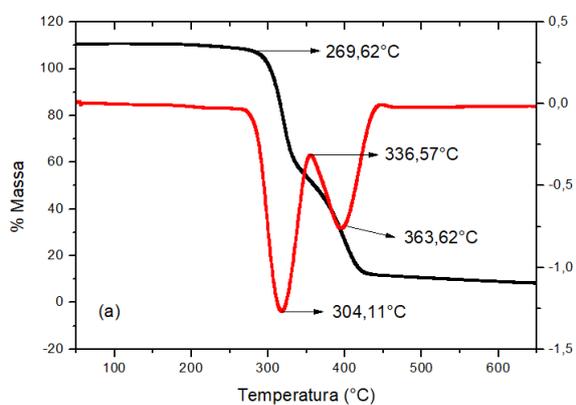


Figura 15 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA), da blenda de Ecovio e Cilostazol 20% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 20% (b)

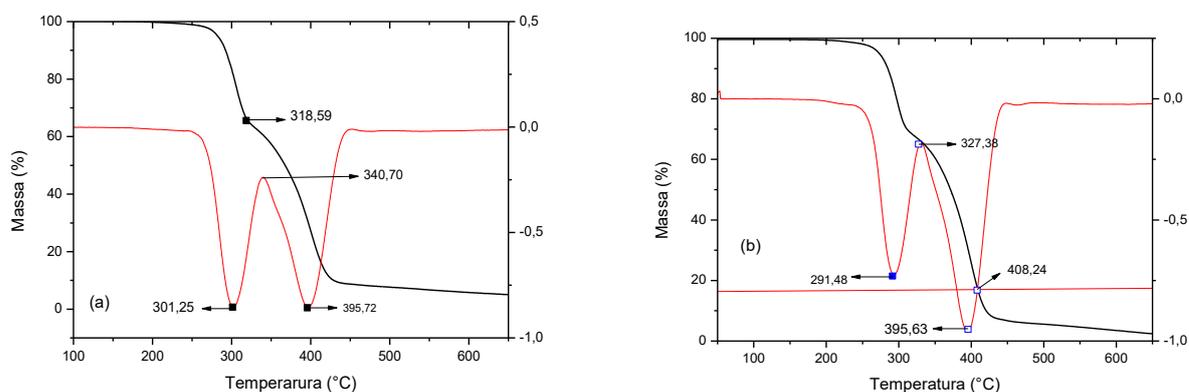


Figura 16 - Curva termogravimétrica (TGA) e registro da derivada da curva de decomposição (DTGA), da blenda de Ecovio e Cilostazol 30% Liberado (a) e da blenda de Ecovio e Cilostazol 30% (b)

A Figura 15 apresenta dois picos bem definidos, caracterizados pelos eventos térmicos da blenda polimérica de Ecovio®, composta por PLA e PBAT, sendo que a degradação do polímero PLA corresponde ao primeiro evento térmico (300°C a 313°C) e o PBAT o segundo (363°C a 434°C)⁽³⁷⁾. Dessa mesma forma pode-se observar os mesmos picos nas demais concentrações de 5%, 10% e 30%.

Percebe-se por meio do gráfico de concentração de Cilostazol de 20% que após a incorporação e liberação do fármaco houveram mudanças no início do processo de degradação, tornando-o menos estável ($\approx 19^\circ\text{C}$, de $288,66^\circ\text{C}$ para $269,2^\circ\text{C}$) e na temperatura de degradação máxima do PLA, havendo uma diminuição de aproximadamente 13°C ($313,28^\circ\text{C}$ para $300,05^\circ\text{C}$). Considera-se uma diminuição na estabilidade térmica do polímero PLA devido a diminuição das temperaturas após a inserção do fármaco. O mesmo aconteceu durante a degradação do polímero PBAT, onde nota-se uma diminuição de aproximadamente 50°C ($434,24^\circ\text{C}$ para $384,64^\circ\text{C}$) na temperatura de degradação máxima, reforçando novamente que ocorreu uma interação entre o fármaco e o polímero, causando a diminuição na estabilidade térmica da blenda.

Da mesma forma é possível observar que ocorre redução na temperatura de degradação do PLA de aproximadamente 4°C (de $313,28^\circ\text{C}$ para $309,02^\circ\text{C}$) para a concentração de Cilostazol de 5%, levando a redução da estabilidade térmica após incorporação do Cilostazol. O mesmo aconteceu durante a degradação do polímero PBAT, onde nota-se uma diminuição de aproximadamente 35°C ($434,24^\circ\text{C}$ para $398,33^\circ\text{C}$) na temperatura de degradação máxima.

Também no gráfico de 10% de Cilostazol ocorre redução na temperatura de degradação do PLA de aproximadamente 13°C (de $313,28^\circ\text{C}$ para $300,71^\circ\text{C}$), levando a

redução da estabilidade térmica após incorporação do Cilostazol. O mesmo aconteceu durante a degradação do polímero PBAT, onde nota-se uma diminuição de aproximadamente 37°C (434,24°C para 397,19°C) na temperatura de degradação máxima.

Corroborando com as demais concentrações, para o Cilostazol a 30% observa-se que ocorre redução na temperatura de degradação do PLA de aproximadamente 13°C (de 313,28°C para 300,71 °C), levando a redução da estabilidade térmica após incorporação do Cilostazol. O mesmo aconteceu durante a degradação do polímero PBAT, onde nota-se uma diminuição de aproximadamente 37°C (434,24°C para 397,19°C) na temperatura de degradação máxima⁽³⁴⁾.

Assim, conclui-se que em todas as concentrações de Cilostazol testadas houveram reduções nas temperaturas de degradação dos polímeros PLA e PBAT, demonstrando por meio das análises termogravimétricas, que há interação do medicamento com o polímero e o mesmo sofre degradações e perde estabilidade. Nota-se ainda que a maior variação da temperatura de degradação ocorreu para a degradação do PBAT, indicando uma possível maior interação com este polímero.

5.1.4 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As análises térmicas por calorimetria diferencial exploratória comprovam as alterações na estrutura da blenda polimérica após a incorporação do fármaco Cilostazol, antes de sua liberação e após, corroborando com os resultados das análises termogravimétricas. Isso pode ser observado nas Figuras 17 a 22.

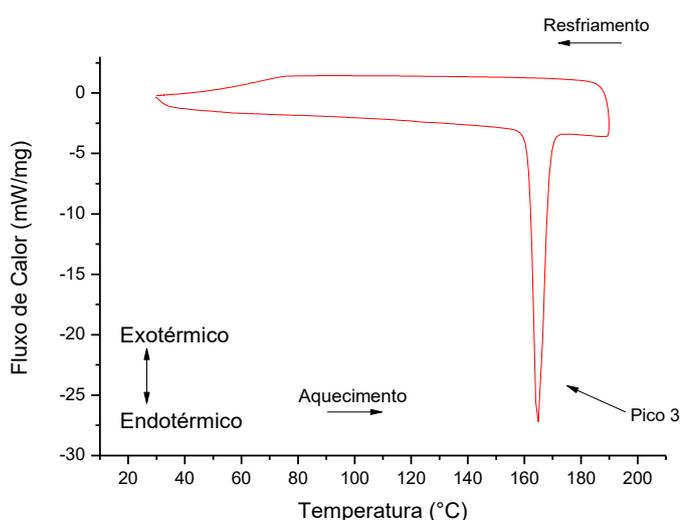


Figura 17 - Termograma de DSC de Cilostazol puro produzido

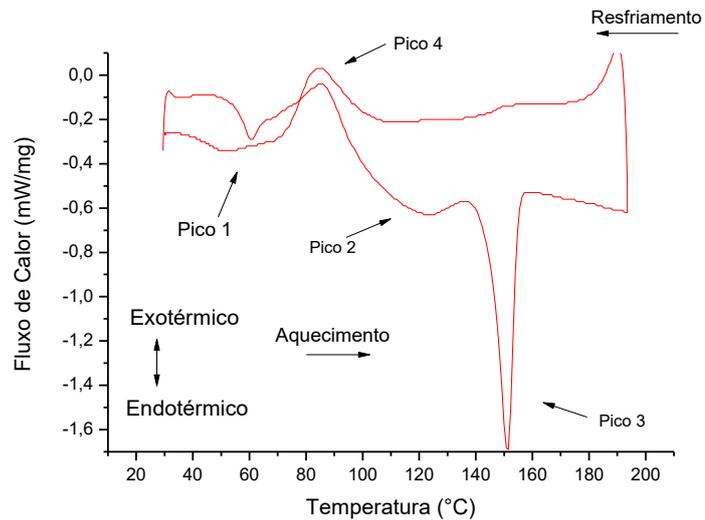


Figura 18 - Termograma de DSC de Ecovio puro a 15% (m/v)

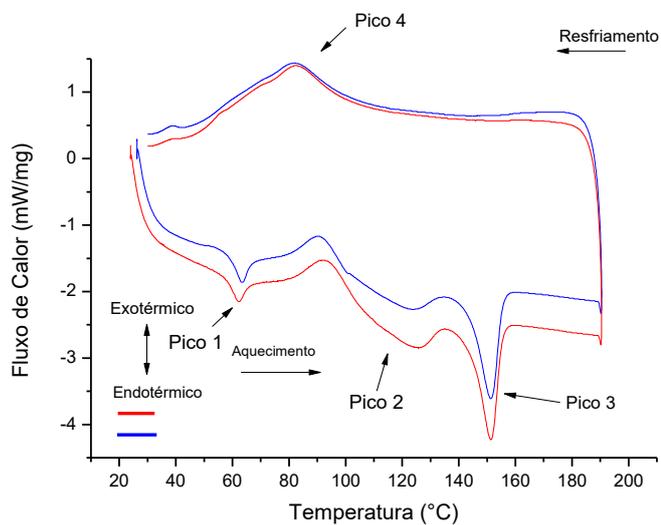


Figura 19 - Termograma de DSC de Cilostazol 5% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%

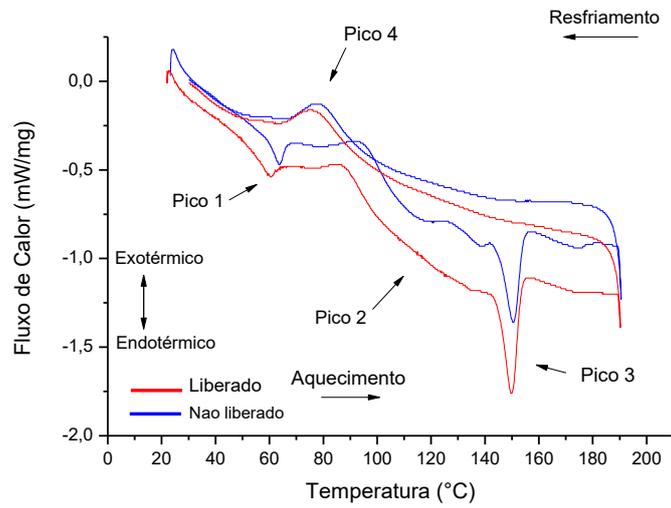


Figura 20 - Termograma de CDE de Cilostazol 10% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%

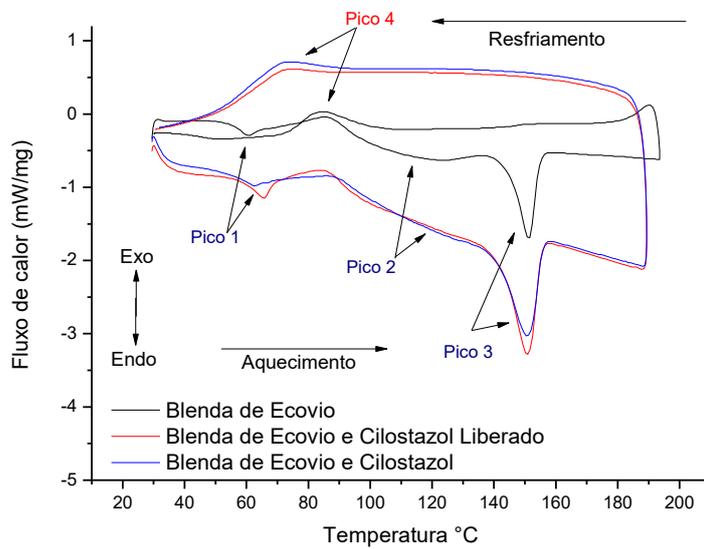


Figura 21 - Análise térmica DSC da blenda Ecovio (15% m/v) sem e com o Cilostazol 20% (m/m) do polímero antes e após a liberação do fármaco.

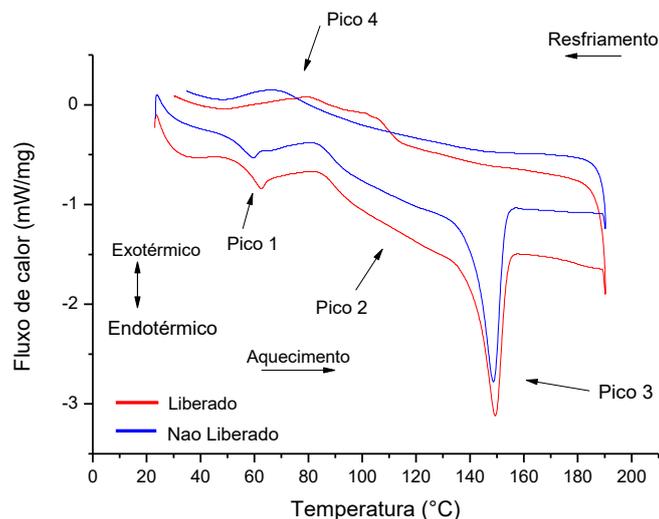


Figura 22 - Termograma de CDE de Cilostazol 30% Liberado e não liberado produzido com Ecovio a 15%

As figuras 17 a 22 demonstram mais um comportamento térmico das fibras produzidas de Cilostazol e Ecovio®, sendo esse composto pelos polímeros PLA e PBAT. O PBAT é um éster constituído por uma parte alifática e outro aromática, cujos pontos de fusão correspondem aos picos 1 (~60°C) e 2 (~110°C), respectivamente. O polímero PLA, possui temperatura de fusão em aproximadamente 150°C (pico 3) e pode-se observar que em todas as figuras tem-se um evento exotérmico a 80°C logo após o pico 1, resultante da recristalização do PLA⁽¹⁰⁾. Por fim, o pico 4 com aproximadamente 70°C refere-se à cristalização dos polímeros.

Observa-se, em todas as Figuras (17 até 22) de DSC, os mesmos comportamentos exotérmicos e endotérmicos para todos os picos, alterando apenas as temperaturas de fusão em relação à concentração de Cilostazol na membrana polimérica. Dessa forma, conclui-se que a inserção do fármaco às blendas poliméricas provoca variações nas temperaturas tanto de fusão, quanto de cristalização de todos os polímeros testados, bem como o calor envolvido no fenômeno físico⁽³⁸⁾, como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 - Ponto de Fusão, Cristalização e Calor de Fusão da blenda de Ecovio com Cilostazol liberado e não liberado

Amostra	Pico 1		Pico 2		Pico 3		Pico 4	
	T _{Fusão} (°C)	Calor (J/g)	T _{Fusão} (°C)	Calor (J/g)	T _{Fusão} (°C)	Calor (J/g)	T _{Cristalização} (°C)	Calor (J/g)
Ecovio Puro	60,00	0,90	123,20	9,74	151	8,88	84,00	-2,79
5%								
Ecovio e Cilostazol Liberado	63,44	1,35	123,64	1,4	151,27	9,46	81,95	-0,33
Ecovio e Cilostazol não liberado	62,28	1,28	125,95	1,87	151,28	10,33	82,19	-3,53
10%								
Ecovio e Cilostazol Liberado	63,80	0,90	100,80	2,4	150,4	6,2	77,80	-4,89
Ecovio e Cilostazol não liberado	60,70	1,22	118,00	1,3	149,9	7,3	75,00	-3,96
20%								
Ecovio e Cilostazol Liberado	65,00	3,80	84,00	7,75	150	22,72	74,00	-2,56
Ecovio e Cilostazol não liberado	62,00	2,40	109,40	0,51	148,9	13,83	67,81	-4,40
30%								
Ecovio e Cilostazol Liberado	62,64	2,16	105,93	0,04	149,43	20,55	79,47	-2,20
Ecovio e Cilostazol não liberado	59,52	1,00	106,15	0,17	148,63	24,42	66,60	-2,16

Utilizando a análise da cristalinidade da fibra, pode-se observar que aumentando a quantidade de fármaco até 20%, tem-se um aumento do calor de fusão e uma diminuição da temperatura de cristalização, constatando-se que o fármaco está interagindo com o polímero, principalmente o PBAT, pois esta recristalização é inerente a este polímero,

corroborando com os dados de TGA. No pico 2, observa-se que o aumento da quantidade de fármaco aumenta a temperatura de fusão. Para o PLA não houve alteração significativa na temperatura de fusão, porém entre 20 e 30% de fármaco, nota-se um aumento do calor de fusão, indicando uma interação, mas de menor intensidade quando comparado com o PBAT⁽⁶⁾.

Assim, as variações que indicam uma interação entre o fármaco e a blenda polimérica, podem ser comprovados com a porcentagem de cristalinidade, determinada a partir dos calores de fusão envolvidos e a equação abaixo.

$$X_c = \frac{\Delta H_m - \Delta H_{cc}}{\Delta H_m^o} \times 100 \quad \text{Equação 07}$$

Sendo ΔH_m a entalpia de fusão da amostra, ΔH_{cc} a entalpia de cristalização a frio da amostra e ΔH_m^o a entalpia de fusão teórica da amostra 100% cristalina, no caso do PBAT $\Delta H_m^o = 114 \text{ J g}^{-1}$ e PLA $\Delta H_m^o = 93,7 \text{ J g}^{-1}$.

A Tabela 6, demonstra a porcentagem de cristalinidade calculada para os três picos referentes às fusões dos monômeros da blenda polimérica de Ecovio® com Cilostazol liberado e não liberado, sendo que os picos 1 e 2 referem-se aos monômeros alifático e aromático do PBAT, respectivamente. Já o pico 3 refere-se à fusão do polímero PLA. Observa-se que ocorre um aumento da cristalinidade e após a liberação, uma redução⁽⁶⁾.

Tabela 6 - Porcentagem de cristalinidade calculada para os três picos referentes às fusões dos monômeros da blenda polimérica de Ecovio® com Cilostazol liberado e não liberado

Amostra	Cristalinidade 1X_c (%)	Cristalinidade 2X_c (%)	Cristalinidade 3X_c (%)
Fibra de Ecovio®	3,24	10,9	10,24
5%			
Fibra de Ecovio® com Cilostazol Liberado	1,47	1,52	8,59
Fibra de Ecovio® com Cilostazol	4,21	4,74	12,16
10%			
Fibra de Ecovio® com Cilostazol Liberado	5,36	6,38	9,74
Fibra de Ecovio® com Cilostazol	4,32	4,59	9,85
20%			
Fibra de Ecovio® com Cilostazol Liberado	5,58	9,04	22,17
Fibra de Ecovio® com Cilostazol	5,99	4,30	15,99
30%			
Fibra de Ecovio® com Cilostazol Liberado	3,82	1,96	19,96
Fibra de Ecovio® com Cilostazol	2,77	2,04	23,32

5.1.5 Difração de Raios-X

A blenda polimérica de Ecovio® composta por PLA e PBAT, possui características como cristalinidade, morfologia e homogeneidade das fibras, e todas essas estão ligada ao modo como a solução polimérica é eletrofiada, uma vez que a solidificação da membrana se dá pela evaporação dos solventes que compõem a solução. Dentre essas propriedades, a cristalinidade pode ser a mais afetada, uma vez que as cadeias moleculares não possuem tempo hábil para formar uma estrutura cristalina e homogênea. Dessa forma, faz-se necessário avaliar o grau de cristalinidade da membrana após ser eletrofiada.

A eletrofiação pode afetar a cristalinidade dependendo da composição do polímero, que nesse caso é feito de PLA e PBAT. O PLA é um polímero semicristalino, em que sua cristalinidade predomina em seu interior, com estruturas mais uniformes e degradação lenta. Uma cristalinidade elevada gera uma baixa intensidade de transição vítrea, devido a uma pequena porção amorfa que possa existir⁽³⁸⁾.

Nas Figuras 23 a 26, nota-se um aumento da cristalinidade em dois picos, o primeiro referente a cadeia alifática do PBAT, o terceiro referente ao PLA. O segundo pico, referente a cadeia aromática do PBAT, não houve mudança significativa. Dessa forma, conclui-se uma interação do fármaco com a cadeia alifática do polímero Ecovio®.

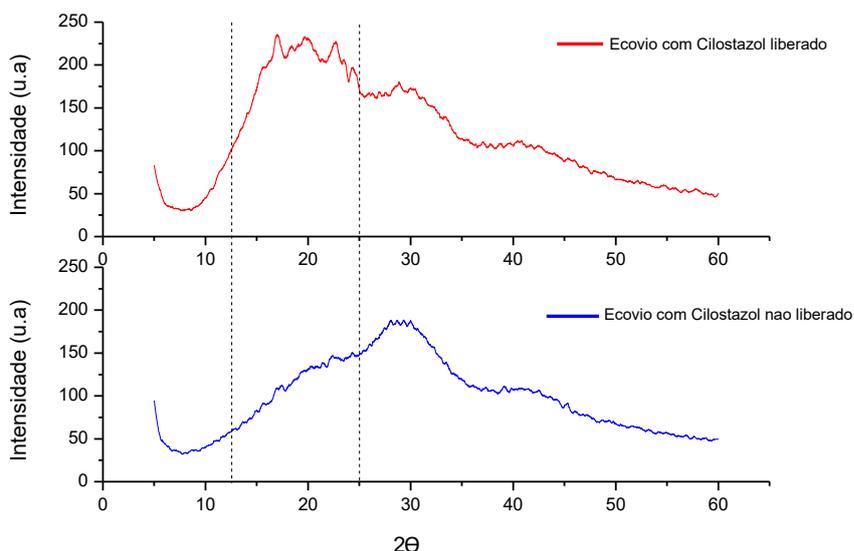


Figura 23 - Difratograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 5% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60°, com incremento de 0,01°

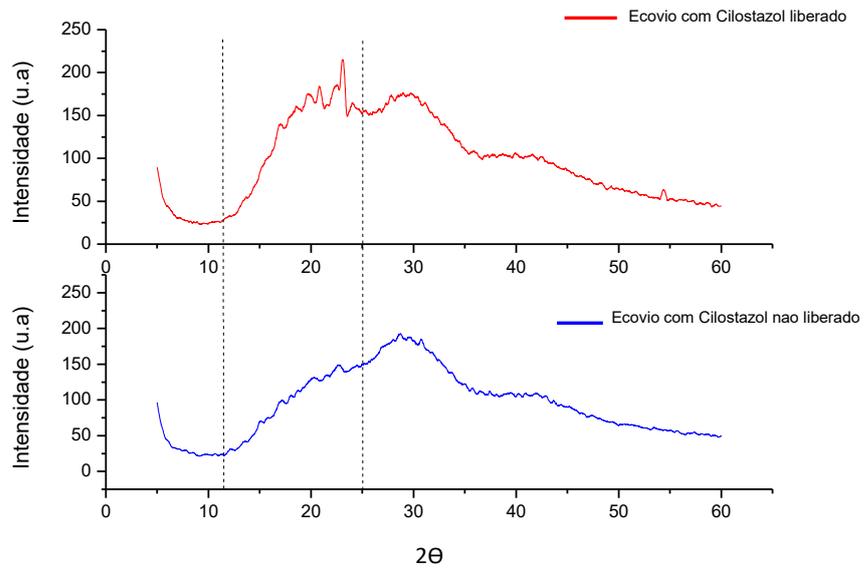


Figura 24 - Difratoograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 10% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60° , com incremento de $0,01^\circ$

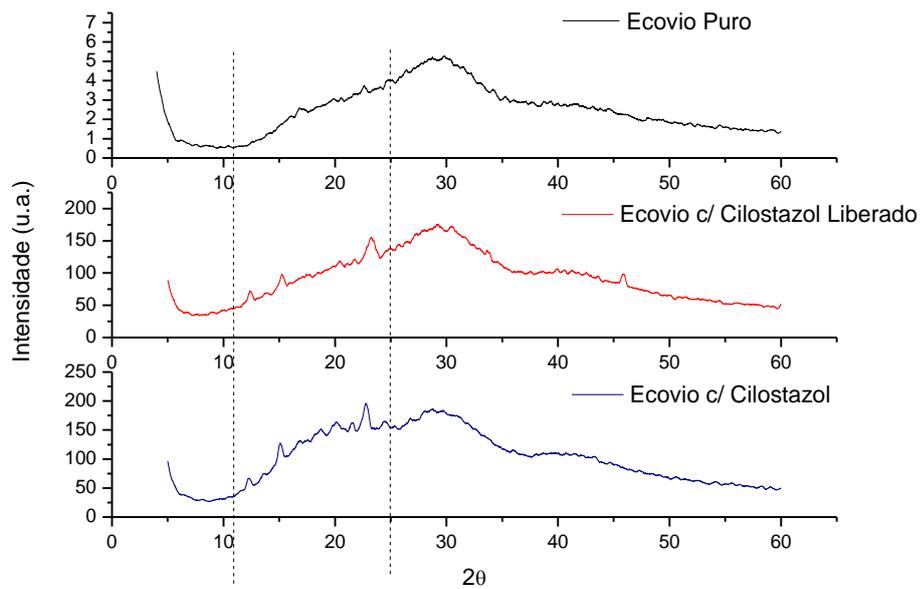


Figura 25 - Difratoograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 20% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60° , com incremento de $0,01^\circ$

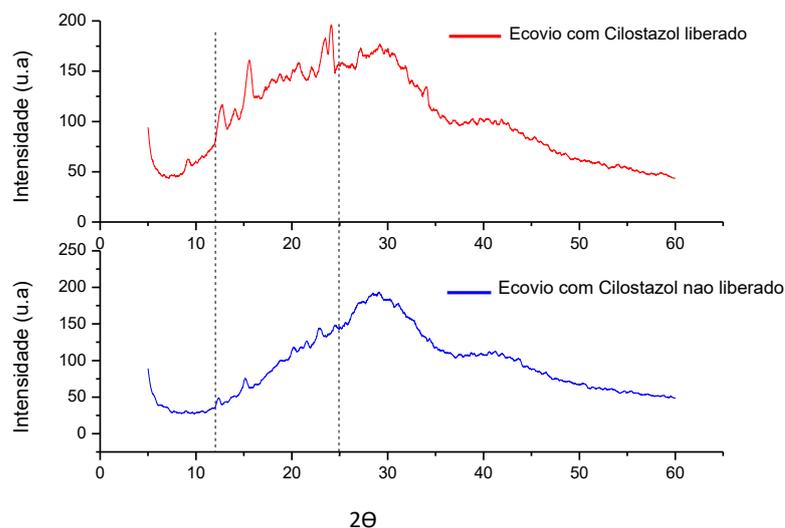


Figura 26 - Difratoograma de raio-X das fibras de Ecovio® com o Cilostazol 30% e após a liberação, obtidos na faixa de valores de 2θ entre 5° e 60° , com incremento de $0,01^\circ$

As análises dos Difratoogramas de raio-X confirmam a forma cristalina do Cilostazol devido à posição dos picos, demonstrando um padrão de difração característicos e intenso de 2θ a $12,7^\circ$, $14,0^\circ$, $15,5^\circ$, $20,4^\circ$, $23,4^\circ$ e $24,0^\circ$ ⁽³⁷⁾. Esse aumento de intensidades dos picos ocorre na mesma região em que o fármaco tem maior concentração de picos intensos e definidos. Porém, pode-se observar em todas as figuras que ocorre perda na intensidade dos picos após a incorporação do Cilostazol no polímero, demonstrando que o mesmo perde sua cristalinidade, aumentando sua solubilidade e biodisponibilidade. Porém, trata-se um comportamento esperado e desejado, relacionado às energias livres envolvidas no processo de dissolução, uma vez que o medicamento possui baixa solubilidade em meio aquoso e sólidos amorfos requerem menos energia⁽³⁷⁾.

Comparando as imagens das membranas, conclui-se que o Cilostazol apresenta menor intensidade de picos após sua liberação no meio de dissolução cujo pH é 5,5, logo a quantidade de fármaco presente nas fibras que interage com o polímero é menor. Além disso, alguns picos tornam-se mais evidentes após a liberação na concentração de 30%, devido à maior concentração de medicamento na fibra, corroborando para os resultados das análises de DSC dessa mesma concentração.

5.1.6 Análise Mecânica

Em relação ao comportamento mecânico, pode-se relatar que o filme obtido possui um comportamento viscoelástico. Deve-se ressaltar que os valores de Módulo elástico e tensão máxima são mais baixos quando as concentrações do fármaco são mais baixas e portanto esses resultados aumentam com o aumento das concentrações (Tabela 7). Ao aumentar a quantidade de fármaco, este promove um aumento nas propriedades mecânicas, indicando que o Cilostazol está interagindo com as cadeias poliméricas, corroborando novamente com as outras análises, como pode ser visto na figura 27.

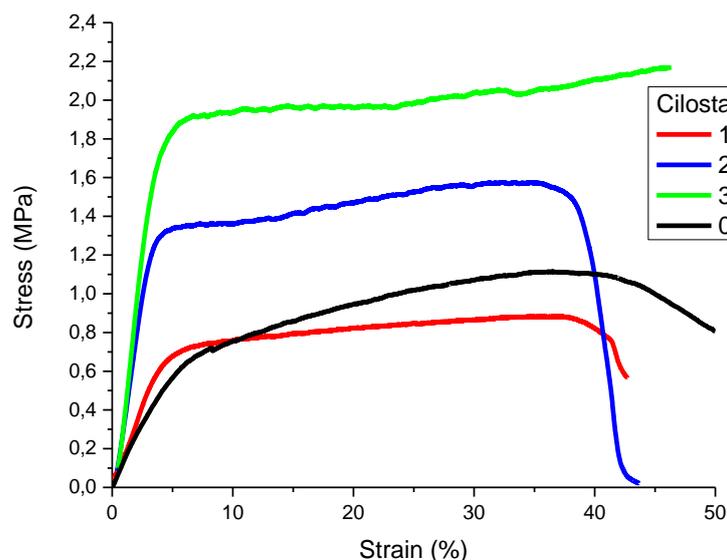


Figura 27 - Gráfico da análise mecânica da membrana referente às concentrações 0%, 10%, 20% e Cilostazol 30% incorporadas ao Ecovio 15%

Tabela 7 - Detalhamento do comportamento mecânico das fibras de Cilostazol 0 %, 10%, 20% e 30% incorporadas ao Ecovio 15%

Amostra	Módulo Elástico (MPa)	Tensão Máxima (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
Ecovio + 0 % Cilostazol	0,14	1,09	40
Ecovio + 10% Cilostazol	0,13	0,69	38
Ecovio + 20% Cilostazol	0,41	1,32	35
Ecovio + 30% Cilostazol	0,46	1,89	45

5.1.7 Estudo de liberação

As membranas poliméricas eletrofiada foram desenvolvidas com objetivo de serem utilizadas pelo paciente como um sistema de administração transdérmico, em que haverá uma liberação do Cilostazol de forma sistêmica através da pele e evitando o metabolismo de primeira passagem pelo fígado, bem como sua competição pelas enzimas do citocromo. Dessa forma, para demonstrar que o fármaco é capaz de ser liberado da membrana quando em contato com o pH fisiológico, é de extrema necessidade que se faça um estudo da dissolução do fármaco. Os resultados das liberações são vistos nas figuras do Apêndice I desse trabalho para as concentrações de 5%, 10%, 20% e 30% de Cilostazol.

Após 250 dias que essas membranas foram analisadas, foi realizado um novo processo de liberação, pois nem todo fármaco havia sido retirado da matriz polimérica. Essas membranas foram armazenadas em temperatura ambiente do laboratório e dentro de um envelope confeccionado de papel manteiga, onde elas não tinham contato com umidade e estavam livres de grandes atritos que pudessem rompê-las. O processo de liberação foi executado exatamente da mesma maneira como descrito no procedimento experimental, utilizando a mesma solução tampão fosfato de potássio pH 5,5, porém as coletas foram realizadas apenas uma vez ao dia. Inicialmente realizou-se a coleta zero dia, seguida da coleta em 24 horas, 96 horas, 168 horas e 192 horas. As figuras 28 a 30 demonstram que a membrana manteve a liberação do fármaco mesmo após 250 dias armazenadas e também por uma semana de liberação. Esses resultados corroboram com os obtidos nos gráficos APÊNDICE I e ainda demonstram que a membrana é estável mesmo depois de dias armazenada e mantém sua atividade. Ressalta-se que esse estudo posterior não foi realizado com a membrana de 5%, pois a primeira liberação realizada nessa concentração de fármaco demonstrou pouca atividade de liberação, com baixa taxa de liberação do Cilostazol e por poucas horas, não sendo tão efetiva quanto as demais concentrações, logo ela foi excluída desse estudo final.

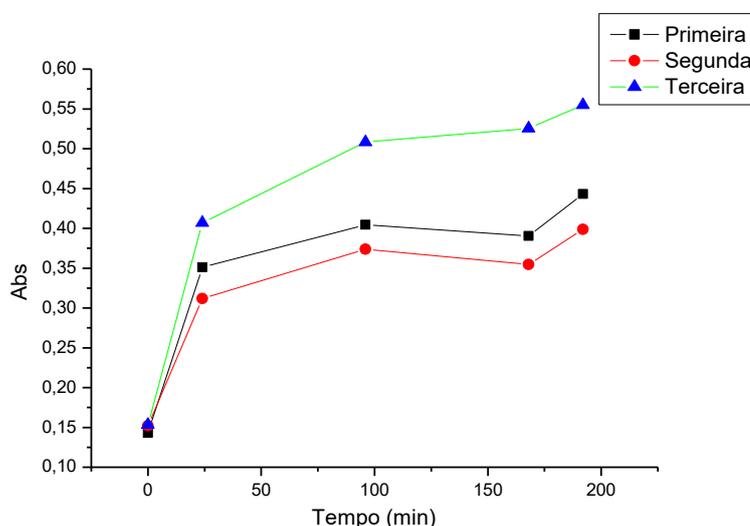


Figura 28 - Curva da liberação de Cilostazol 10%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação

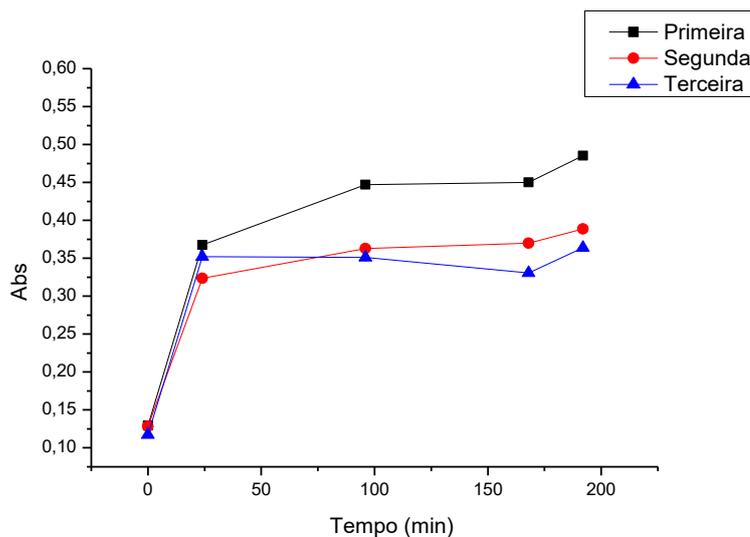


Figura 29 - Curva da liberação de Cilostazol 20%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação

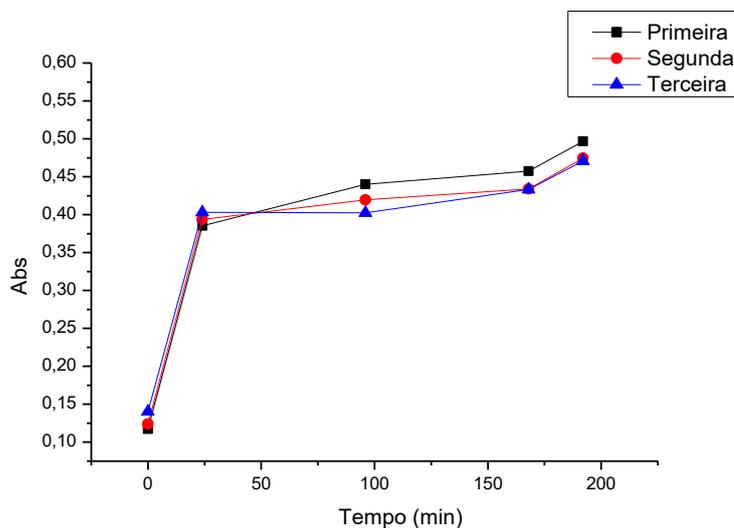


Figura 30 - Curva da liberação de Cilostazol 30%, produzido com Ecovio a 15% após 250 dias da 1ª liberação

5.1.7 Aplicação aos modelos cinéticos

A aplicação dos modelos cinéticos foi realizada utilizando todas as concentrações testadas de Cilostazol, 5%, 10%, 20% e 30% e os modelos testados foram Ordem Zero, Primeira Ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell e Peppas-Sahlin. Os gráficos 31 a 54 mostram os resultados dos modelos cinéticos aplicados aos resultados de liberação

encontrados, sendo a curva demonstrada em azul a obtida e em vermelho a curva de liberação esperada.

Ordem Zero:

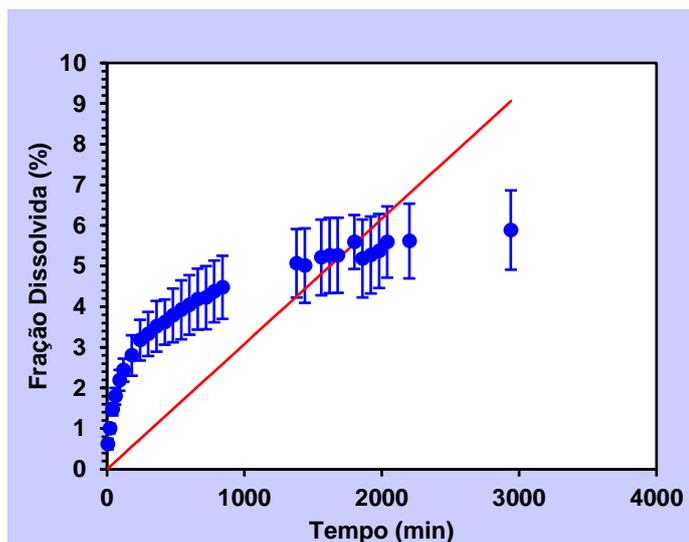


Figura 31 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

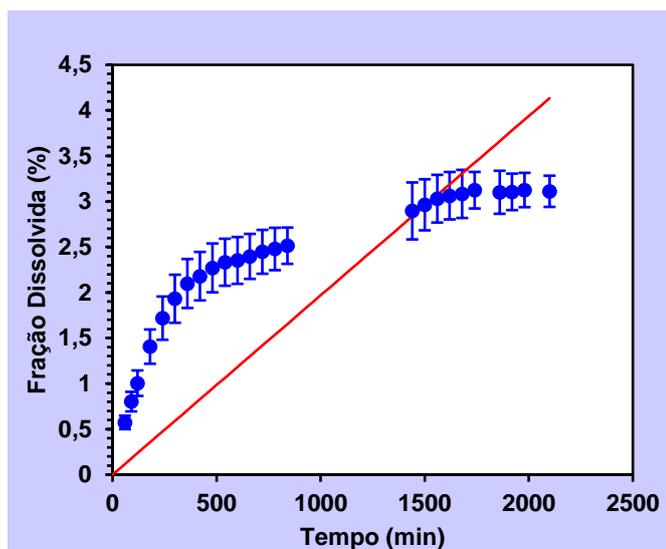


Figura 32 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

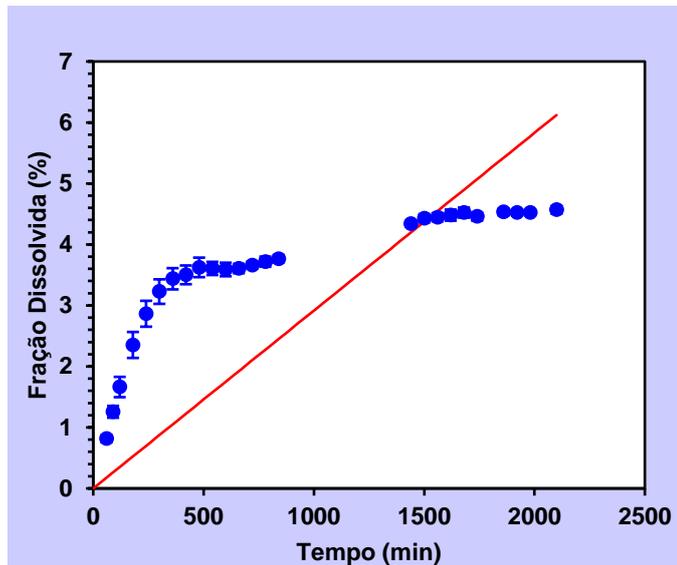


Figura 33 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

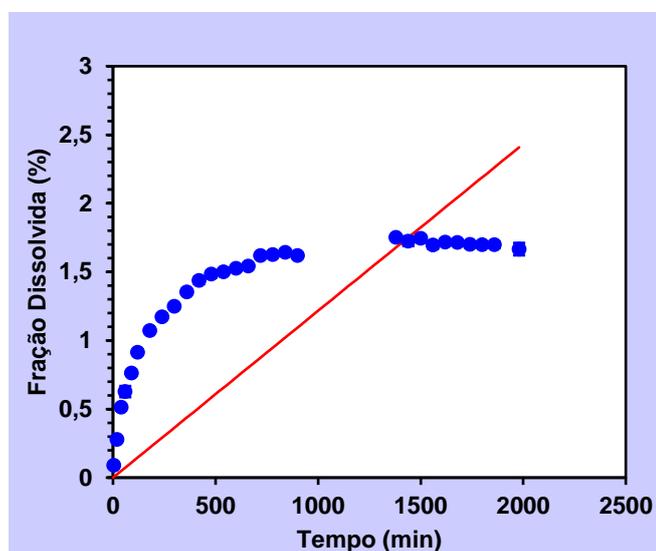


Figura 34 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Primeira Ordem:

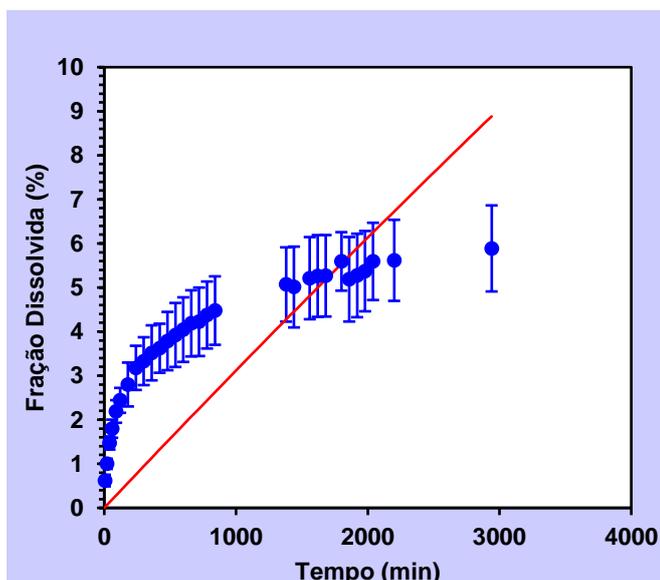


Figura 35 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

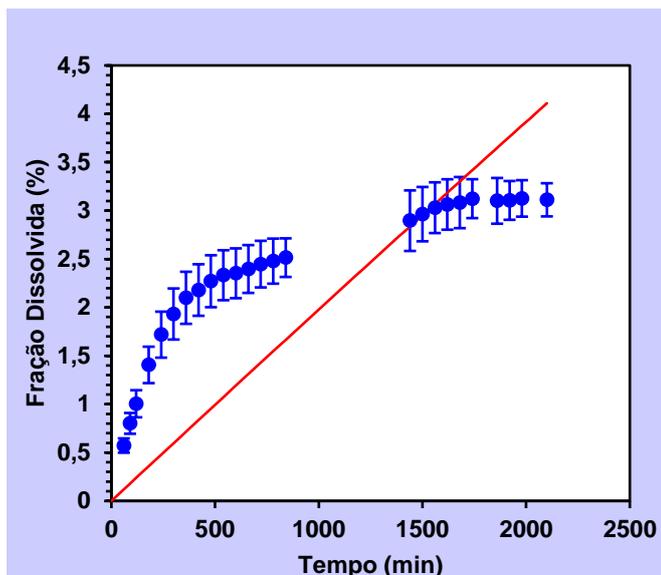


Figura 36 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

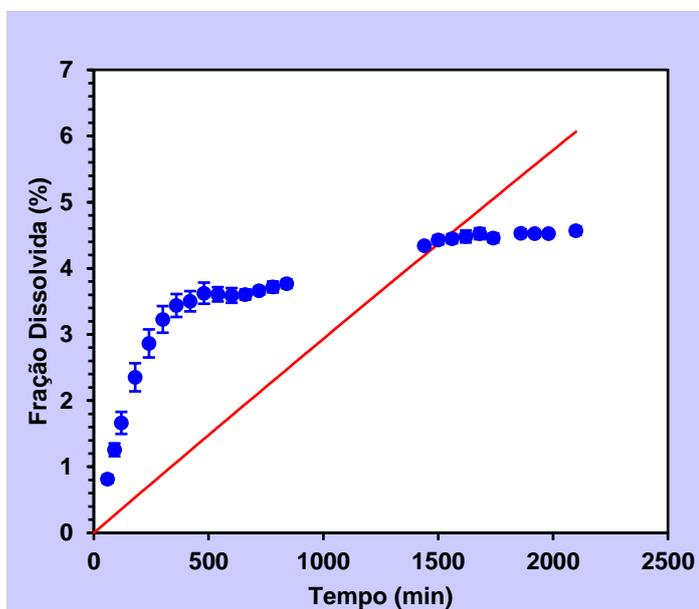


Figura 37 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

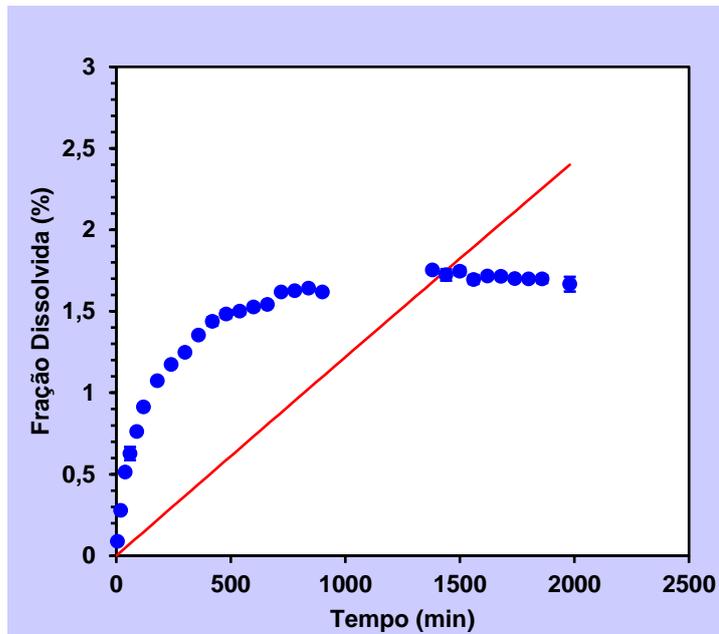


Figura 38 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Higuchi:

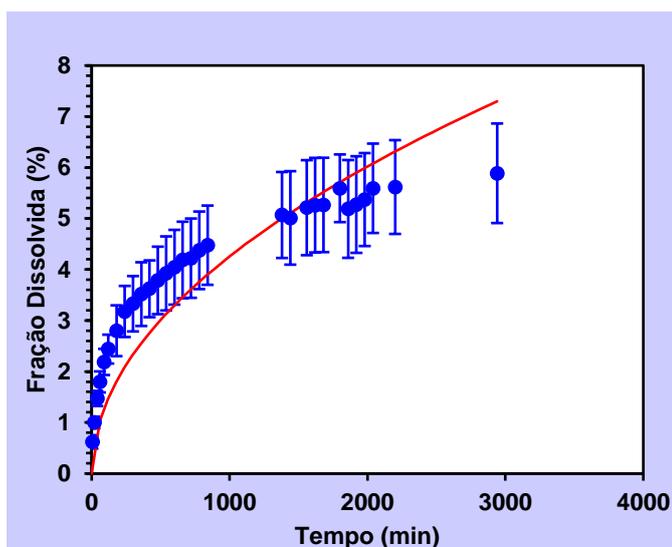


Figura 39 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

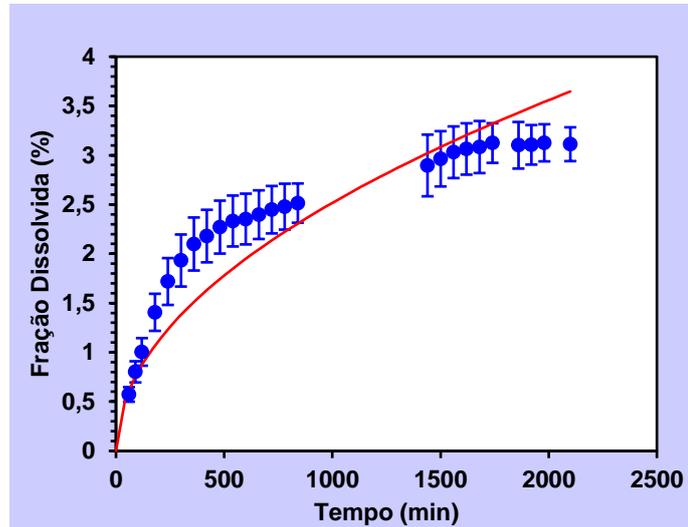


Figura 40 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

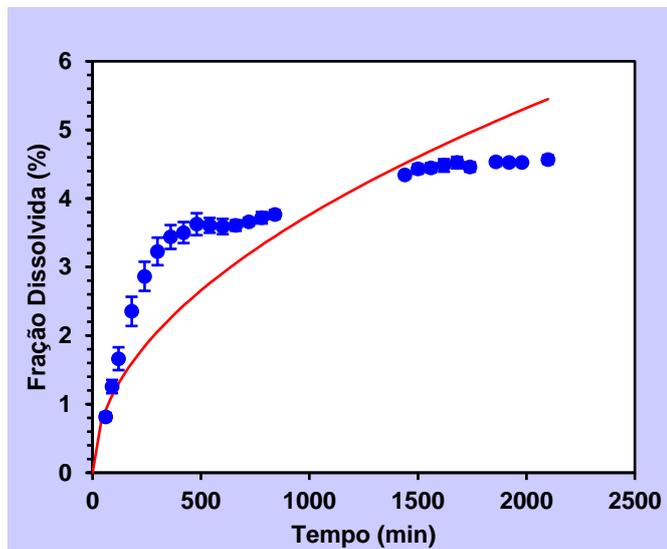


Figura 41 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

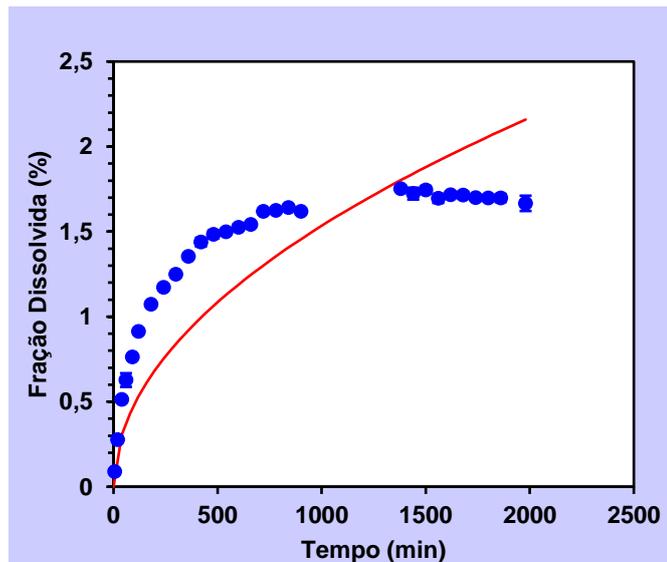


Figura 42 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Korsmeyer-Peppas:

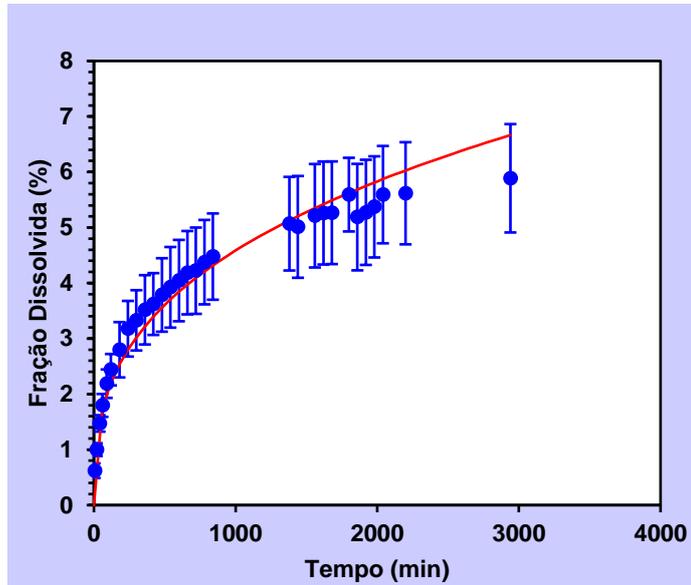


Figura 43 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

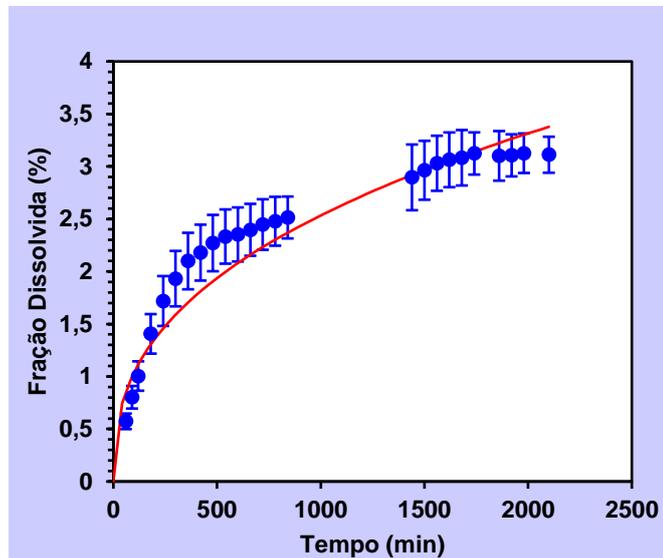


Figura 44 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

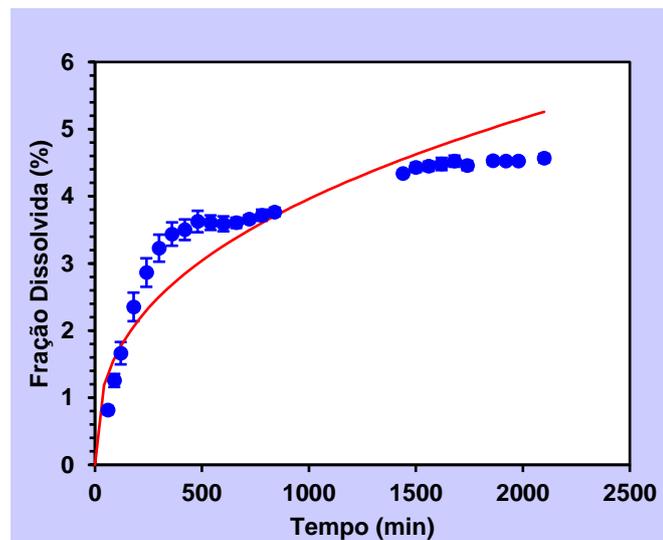


Figura 45 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

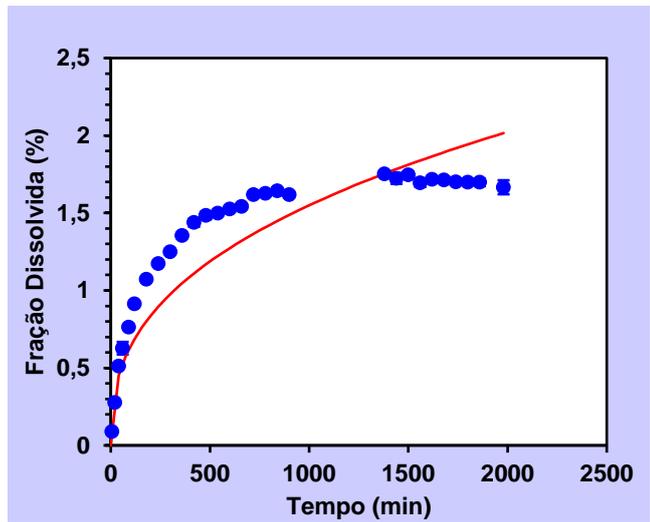


Figura 46 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Hixson-Crowell:

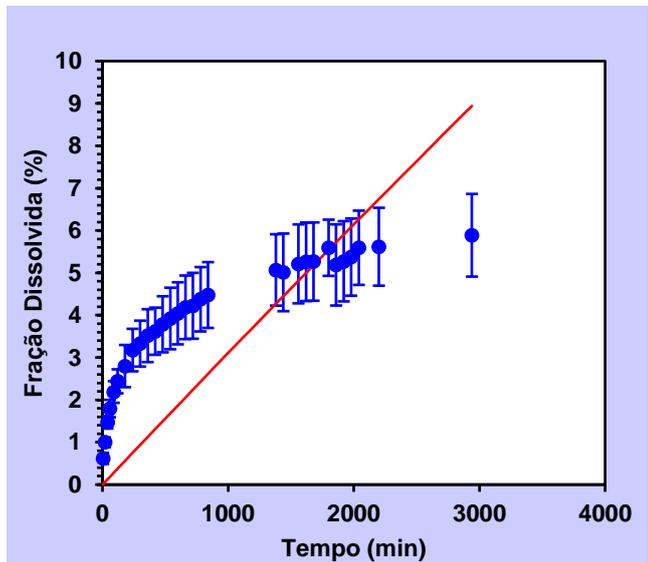


Figura 47 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

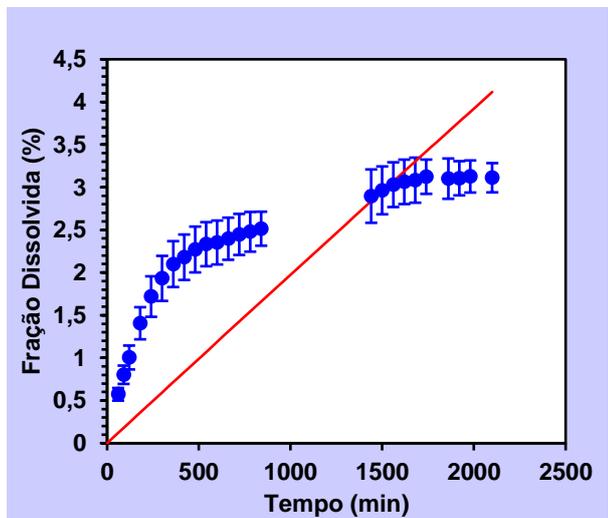


Figura 48 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

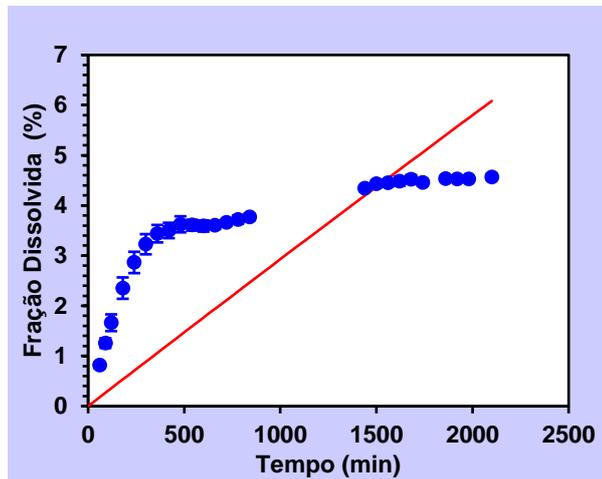


Figura 49 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

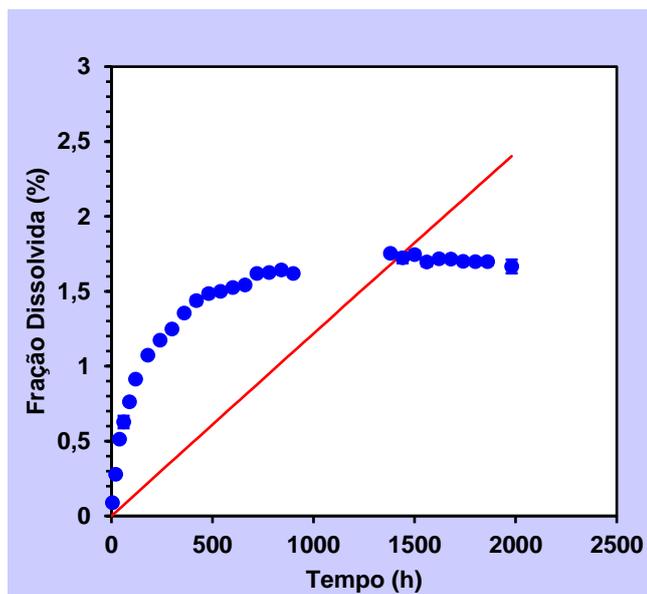


Figura 50 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Peppas-Sahlin:

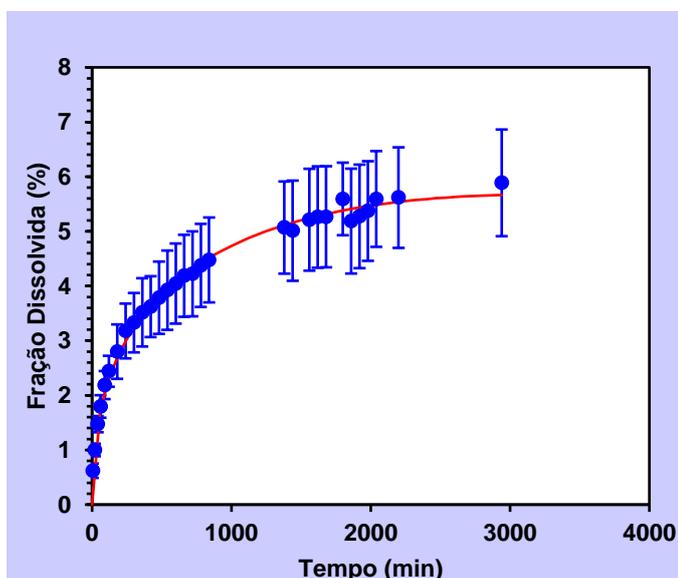


Figura 51 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 5%

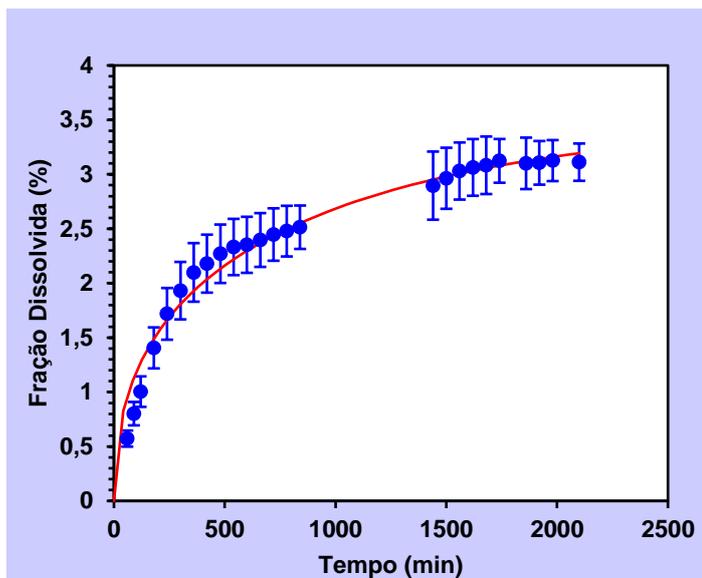


Figura 52 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 10%

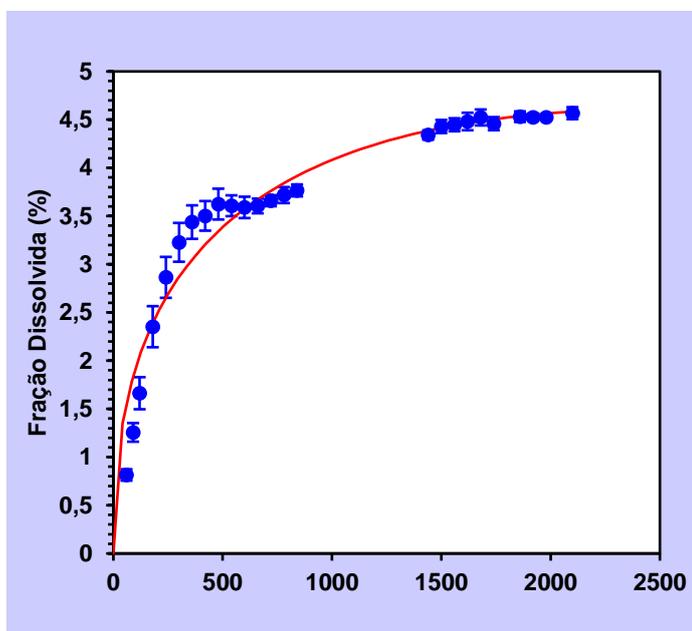


Figura 53 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 20%

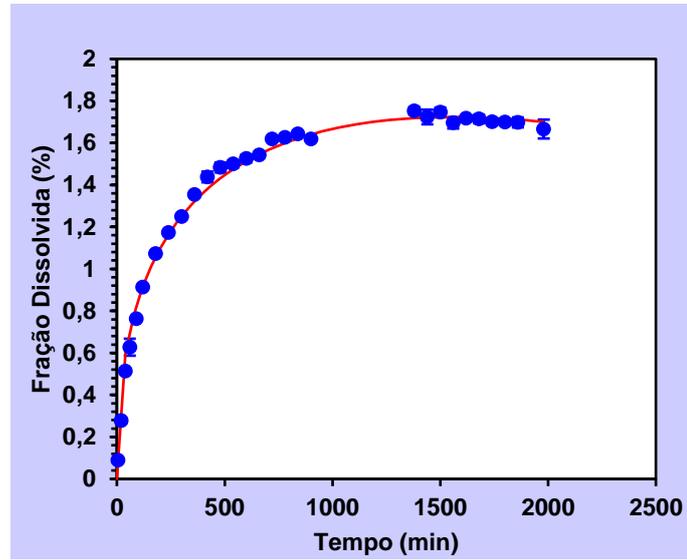


Figura 54 - Gráficos da aplicação ao modelo na concentração de Cilostazol 30%

Tabela 8 - Parâmetros encontrados na aplicação dos modelos cinéticos

Concentração de Cilostazol	Modelo Cinético	R	R ² ajustado	AIC
5%	Ordem Zero	-0,4651	-0,4651	128,19
	Primeira Ordem	-0,4225	-0,4225	127,31
	Higuchi	0,7355	0,7355	76,84
	Korsmeyer-Peppas	0,9827	0,9820	-2,89
	Hixson-Crowell	-0,4364	-0,4364	127,60
	Peppas-Shalin	0,9897	0,9889	-16,45
10%	Ordem Zero	-0,5120	-0,5120	77,29
	Primeira Ordem	-0,4845	-0,4845	76,82
	Higuchi	0,7435	0,7435	29,57
	Korsmeyer-Peppas	0,8850	0,8800	12,54
	Hixson-Crowell	-0,4936	-0,4936	76,97
	Peppas-Shalin	0,9621	0,9586	-11,52
20%	Ordem Zero	-1,0717	-1,0717	102,42
	Primeira Ordem	-1,0213	-1,0213	101,80
	Higuchi	0,5666	0,5666	62,73
	Korsmeyer-Peppas	0,8103	0,8021	44,76
	Hixson-Crowell	-1,0379	-1,0379	102,00
	Peppas-Shalin	0,9385	0,9329	18,56
30%	Ordem Zero	-0,8059	-0,8059	72,76
	Primeira Ordem	-0,7902	-0,7902	72,51
	Higuchi	0,5473	0,5473	32,64
	Korsmeyer-Peppas	0,7256	0,7154	19,90
	Hixson-Crowell	-0,7954	-0,7954	72,59
	Peppas-Shalin	0,9852	0,9840	-62,73

Analisando a tabela acima e os valores encontrados para os parâmetros e confrontando esses resultados com o que foi observado nos gráficos do estudo cinético, pode-se concluir que os melhores ajustes foram para o modelo de Peppas-Shalin, pois apresentaram valores de coeficiente de determinação ajustado (R² ajustado) maiores que 0,95, bem como os menores valores de AIC. Os valor de R² avalia o ajuste do modelo, conforme a equação abaixo:

$$R_{ajustado} = 1 - \frac{(N - 1)}{(N - p)} (1 - R^2) \quad \text{Equação 08}$$

Em que N é o número de pontos de tempo coletados na dissolução do Cilostazol e p é o número de parâmetros do modelo. O R² sempre aumenta ou fica constante quando se adiciona novos parâmetros ao modelo. Já o R² ajustado pode reduzir seu valor caso o novo parâmetro melhore o modelo ou resulte a um excessivo ajuste. Sendo assim, um bom modelo cinético é aquele que possui os maiores resultados de R²(39; 40).

Já os valores de Akaike (AIC) demonstram o quanto o modelo matemático foi ajustado para se parecer com os dados experimentais. Portanto, o menor valor de AIC demonstra o modelo cinético ideal, que pode ser calculado conforme equação abaixo:

$$AIC = n \times \ln(WSSR) + 2 \times p$$

Equação 09

Em que n é o número de pontos de tempo coletados na dissolução do Cilostazol e p é o número de parâmetros do modelo, WSSR é a soma ponderada do quadrado dos resíduos.

Dessa forma, pode-se concluir que a matriz polimérica de Ecovio contendo Cilostazol aplica-se melhor ao modelo de Peppas-Shalin, corroborando com os dados obtidos experimentalmente. O modelo Peppas-Sahlin preconiza o mecanismo de difusão por dois métodos, difusão do polímero ou relaxamento da matriz polimérica. Ao se analisar os parâmetros k_1 e k_2 , no qual k_1 representa o coeficiente de contribuição de Fick e k_2 o coeficiente de contribuição de relaxamento, quando $k_1 < k_2$ o sistema segue o mecanismo de intumescimento controlado pela matriz, e quando $k_1 > k_2$ o sistema segue o mecanismo controlado por difusão, sendo este último o mecanismo de liberação do Cilostazol⁽³⁹⁾.

6 CONCLUSÃO

As fibras de Ecovio® eletrofiadas contendo Cilostazol nas concentrações de 5%, 10%, 20% e 30% foram desenvolvidas e preparadas de forma eficaz, uma vez que todas apresentaram boa solubilidade do fármaco ao polímero e formaram membranas uniformes e capazes de serem dissolvidas em solução tampão fosfato de potássio pH 5,5.

Através das análises morfológicas, térmicas, de Raio-X e espectroscopia na região do infravermelho, foi possível caracterizar as membranas e analisar a interação do Cilostazol com o polímero utilizado. Posteriormente, através das análises de liberação, avaliou-se os modelos cinéticos que melhor se aplicariam ao perfil de dissolução do fármaco e ficou determinado que o modelo de Peppas-Shalin foi o mais adequado, através dos valores de R^2 e critério de Akaike (AIC).

Portanto, conclui-se que o fármaco Cilostazol eletrofiado ao polímero Ecovio® possui potencial de liberação quando utilizado no pH fisiológico de 5,5 e dessa forma, como via de liberação transdérmica.

7 REFERÊNCIAS

1. ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. Pag. 14 – 20.
2. Praça F.S.G. **Liberação e permeação in vitro de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais**, 2010; 8-14.
3. CHANG, Wei-Min; WANG, Cheng-Chien; CHEN, Chuh-Yung. **The combination of electrospinning and forcespinning: effects on a viscoelastic jet and a single nanofiber**. Chemical Engineering Journal, v. 244, p. 540-551, 2014.
4. Bhardwaj, N. and S.C. Kundu. **Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique**. Biotechnology Advances, 2010. 28(3): p. 325-347.
5. VIANA, J. D.; ARAÚJO, E. M.; MELO, T. J. A. **Avaliação das propriedades mecânicas de bionanocompósitos PLA/PBAT/Argila organofílica**. Rev Eletrôn Mat Proces, v 7, n. 1, p. 20-25, 2012.
6. COSTA, M. C.; OLIVEIRA, S. V.; ARAÚJO, E. M. **Propriedades mecânicas e térmicas de sistemas de PLA e PBAT/PLA**. Rev Eletrôn Mat Proces, v 9, n. 2, p. 112- 117, 2014.
7. Althaia S.A. Indústria Farmacêutica. **Bula do medicamento Cilostazol 50 mg e 100 mg**. Bula Padrão aprovada pela ANVISA em 10/04/2013.
8. COSTA, I. F. e BURIHAN, E. **Manifestações clínicas das doenças vasculares periféricas**. In: Nectoux, J. E. et al. **Doença vascular periféricas: métodos diagnósticos não invasivos**. Rio de Janeiro: Revinter. 1994, p.1- 9.
9. DRINKWATER, B. L. **Physical activity and health outcomes in women**. In H. A. **Quinney et al.** (Eds). **Toward active living**. Champaign, Illinois: Human Kinetics, 1994, p.33-38.
10. THUNE, I. et al. **Physical activity improves the metabolic risk profiles in men and women**. **Archives of internal medicine**, 1998; 10(24): 1633-1640.
11. CRIQUI, M. H. et al. **Mortality over a period of 10 years in patients with peripheral arterial disease**. N. Engl. J. Med., 1992; 326(6): 381-386.
12. Alzamora MT, Fores R, Pera G, Baena-Diez JM, Heras A, Sorribes M, et al. **Incidence of peripheral arterial disease in the ARTPER population cohort after 5 years of follow-up**. BMC Cardiovasc Disord. 2016; 16:8.
13. **Organização Pan-Americana de Saúde do Brasil (OPAS)**. https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=1096. Acesso em 09/01/2020.

14. Criqui MH, Ninomiya JK, Wingard DL, Ji M, Fronek A. **Progression of peripheral arterial disease predicts cardiovascular disease morbidity and mortality.** J Am Coll Cardiol. 2008;52(21):1736-42.
15. 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.
16. Christian Burger, Benjamin S. Hsiao, Benjamin Chu. **Nanofibrous material and their applications.** Annual Review of materials Research. 2006, 36, 333.
17. Dersch, R.; Steinhart, M.; Boudriot, U.; Greiner, A.; Wendorff, J. H. **Nanoprocessing of polymers: applications in medicine, sensors, catalysis, photonics.** Polym. Adv. Technol. 2005; 16: 276–282.
18. OKUZAKI, H.; KOBAYASHI, K.; YAN H. **Thermo-responsive nanofiber mats.** *Macromolecules*, v 42, n. 16, p. 5916-5918, 2009.
19. Butaffoco, L; Kolkman NG, Engbers-Buijtenhuijs P, Poot AA, Dijkstra PJ, Vermes I, Feijen J. **Electrospinning of Collagen and Elastin for Tissue Engineering Applications.** *Biomaterials*. Vol. 27 (2006), Pp. 724.
20. 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.
21. RAMAKRISHNA, S. F. K. T. W. L. T. M. Z. **An Introduction to Electrospinning And Nanofibers** (Google eBook). [s.l.] WORLD SCIENTIFIC, 2005.
22. ULTRACKI, L. A. **Polymer alloys and blends: Thermodynamics and rheology.** Munich; Vienna; New York: Hanser Publishers, 1989.
23. DE PAOLI, M. - A. **Degradação e estabilização de polímeros.** São Paulo: Artliber, 2008.
24. COSTA, R. G. F. et al. **Eletrofiação de polímeros em solução: parte II: aplicações e perspectivas.** *Polímeros*, v. 22, n. 2, p. 178–185, 2012b.
25. COSTA, R. G. F.; DE OLIVEIRA, J. E.; DE PAULA, G. F.; PICCIANI, P. H. S.; DE MEDEIROS, E. S.; RIBEIRO, C.; MATTOSO, L. H. C. **Eletrofiação de polímeros em solução. Parte I: fundamentação teórica.** *Polímeros: Ciênc. Tecnol.*, v 22, n. 2, p. 170-177, 2012.
26. COSTA, Rodrigo G.F. et al. **Eletrofiação de Polímeros em Solução. Parte I: Fundamentação Teórica.** *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 22, n. 2, p. 170-177, 2012a.

27. 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.
28. Megelski, S.; Stephens, J. S.; Bruce Chase, D.; Rabolt, J.F. **Micro and Nanostructured Surface Morphology On Electrospun Polymer Fibers.** *Macromolecules*. 2002. 35 (22), 8456–8466.
29. Rodrigo Schneider, Daniel S. Correa. **Estudo De Parâmetros Da Eletrofiação De Polímero Biodegradável E Futuras Aplicações Em Sistemas De Liberação De Fármaco.** Dissertação, UFSCAR, São Carlos/SP, 21 a 22 de Novembro de 2017 371.
30. Ferrero, C.; Muñoz-Ruiz, A.; Jiménez-Castellanos, M.R. **Fronts movement as a useful tool for hydrophilic matrix release mechanism elucidation.** *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v. 202, n. 1-2, p. 21-28, 2000.
31. 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.
32. 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.
33. Seif S, Franzen L, Windbergs M. **Overcoming drug crystallization in electrospun fibers – Elucidating key parameters and developing strategies for drug delivery.** *Int J Pharm [Internet]*. Elsevier; 2015 Jan 15 [cited 2019 Oct 12];478(1):390–7.
34. Gomes MLS, da Silva Nascimento N, Borsato DM, Pretes AP, Nadal JM, Novatski A, et al. **Long-lasting anti-platelet activity of cilostazol from poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) blend nanocapsules.** *Mater Sci Eng C*. Elsevier; 2019 Jan 1;94:694–702.
35. Hu Z, Gao S, Gao J. **Investigation and structural elucidation of a new impurity in bulk drug of cilostazol by LC/MS/MS, FT-IR and NMR.** *J Pharm Biomed Anal*. Elsevier; 2017 Oct 25;145:16–23.
36. PISANI, S.; DORATI, R.; CONTI, B.; MODENA, T.; BRUNI, G.; GENTA, I. **Design of copolymer PLA-PCL electrospun matrix for biomedical applications.** *Reactive and Functional Polymers*, v. 124, p. 77–89, 2018.

37. Patel SG, Rajput SJ. **Enhancement of Oral Bioavailability of Cilostazol by Forming its Inclusion Complexes.** AAPS PharmSciTech. Springer US; 2009 Jun 21;10(2):660–9.
38. Silverajah VSG, Ibrahim NA, Zainuddin N, Yunus WMZW, Hassan HA. **Mechanical, Thermal and Morphological Properties of Poly(lactic acid)/Epoxidized Palm Olein Blend.** *Molecules.* Molecular Diversity Preservation International; 2012 Oct 8;17(10):11729–47.
39. Rychter M, Baranowska-Korczyn A, Milanowski B, Jarek M, Maciejewska BM, Coy EL, et al. **Cilostazol-Loaded Poly(ϵ -Caprolactone) Electrospun Drug Delivery System for Cardiovascular Applications.** *Pharm Res.* Springer US; 2018 Feb 16;35(2):32.
40. REN, Long-Fei et al. **Experimental investigation of the effect of electrospinning parameters on properties of superhydrophobic PDMS/PMMA membrane and its application in membrane distillation.** *Desalination*, v. 404, p. 155-166, 2017.
41. CHEN, Shihong et al. **Electrochemical sensing of hydrogen peroxide using metal nanoparticles: a review.** *Microchimica Acta*, v. 180, n. 1-2, p. 15-32, 2013.
42. COSTA, I. F. e BURIHAN, E. **Manifestações clínicas das doenças vasculares periféricas.** In: Nectoux, J. E. et al. *Doença vascular periféricas: métodos diagnósticos não invasivos.* Rio de Janeiro: Revinter. 1994, p.1- 9.
43. Elsner, JJ; Berdicevsky, I.; Zilberman, M. **In Vitro Microbial Inibição and Cellular Response to Novel biodegradável Composite curativos com liberação controlada de antibióticos.** *Acta Biomater.* 2011, 7, 325 - 336.
44. Elsner, JJ; Shefy-Peleg, A.; Zilberman, M. **Novel biodegradável Composite Ferida curativos com liberação controlada de antibióticos: microestrutura, mecânica e propriedades físicas.** *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2010, 93, 425 - 435.
45. FATHONA, I. W.; YABUKI, A. **A simple one-step fabrication of short polymer nanofibers via electrospinning** *J. Mater. Sci.*, v 49, n. 9, p. 3519-3528, 2014.
46. GARG, Koyal; BOWLIN, Gary L. **Electrospinning jets and nanofibrous structures.** *Biomicrofluidics*, v. 5, n. 1, p. 013403, 2011.
47. PAL, D. B.; SINGH, Pardeep; MISHRA, P. K. **Composite ceria nanofiber with different copper loading using electrospinning method.** *Journal of Alloys and Compounds*, v. 694, p. 10-16, 2017.

48. Patel SG, Rajput SJ. **Enhancement of Oral Bioavailability of Cilostazol by Forming its Inclusion Complexes.** AAPS PharmSciTech. Springer US; 2009 Jun 21;10(2):660–9.
49. RAMAKRISHNA, S.; JOSE, R.; ARCHANA, P. S.; NAIR, A. S.; BALAMURUGAN, R.; VENUGOPAL, J.; TEO, W. E. **Science and engineering of electrospun nanofibers for advances in clean energy, water filtration, and regenerative medicine.** J. Mater. Sci., v 45, n. 23, p. 6283-6312, 2010.
50. Reiber GE, Lipsky BA, Gibbons GW. **The burden of diabetic foot ulcer.** Am J Surg. 1998;176(Suppl 2a):5-10.

APÊNDICE I

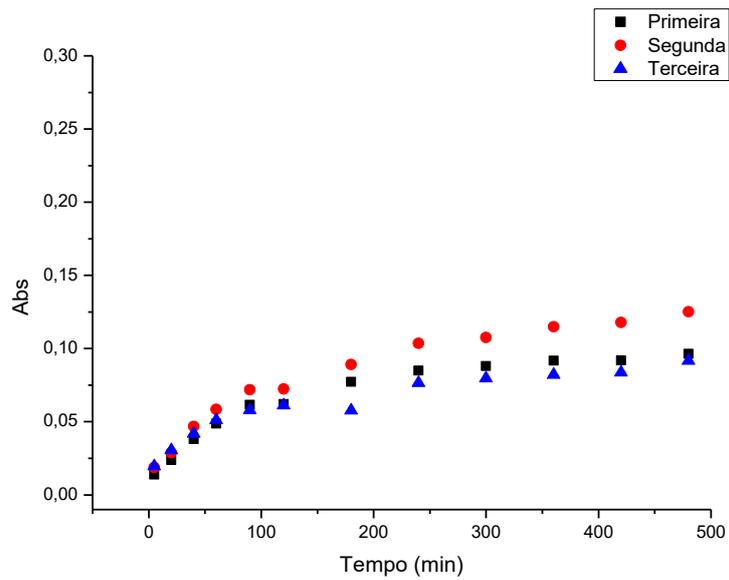


Figura 55 - Gráfico da liberação de Cilostazol 5%, produzido com Ecovio a 15%

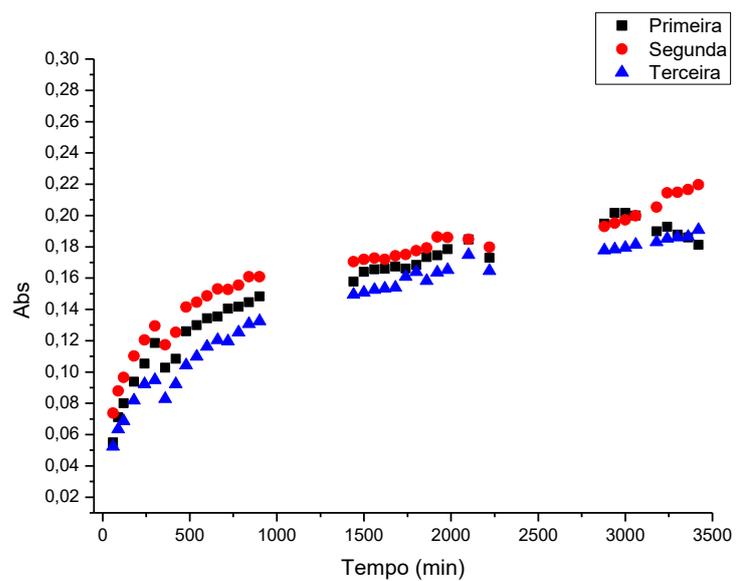


Figura 56 - Gráfico da liberação de Cilostazol 10%, produzido com Ecovio a 15%

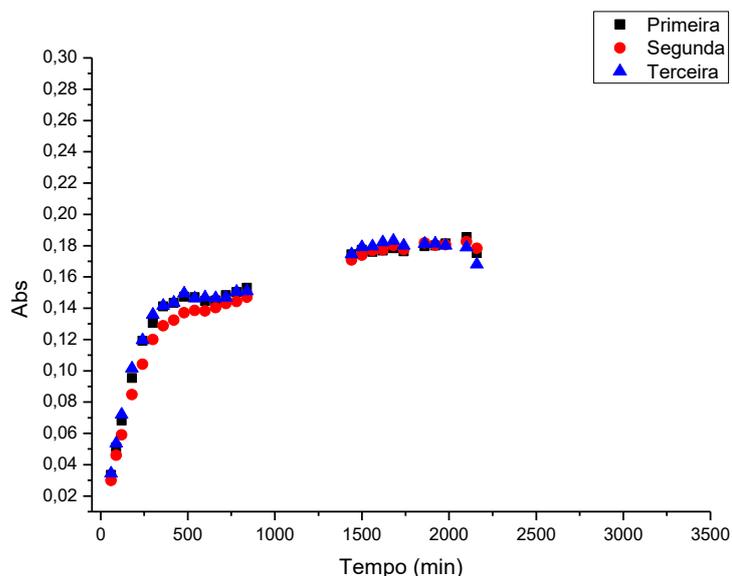


Figura 57 - Gráfico da liberação de Cilostazol 20%, produzido com Ecovio a 15%

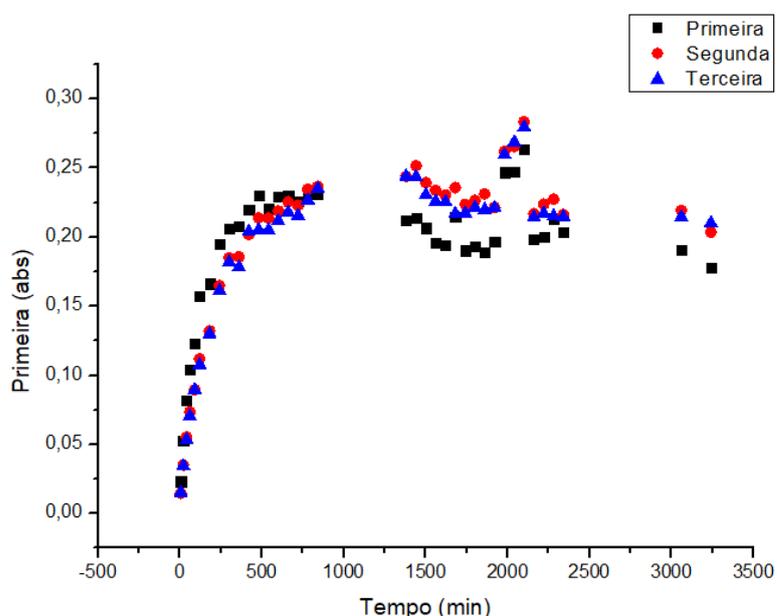


Figura 58 - Gráfico da liberação de Cilostazol 30%, produzido com Ecovio a 15%

Comparando os resultados dos gráficos acima, pode-se concluir que o Cilostazol a 30% na membrana polimérica obteve a melhor eficiência de liberação, uma vez que se manteve por maior tempo com uma liberação constante, o que pensando na membrana como sistema farmacêutico transdérmico, é a melhor opção para o paciente, uma vez que ele poderia usá-la por maior tempo, sem necessidade de troca e com atividade farmacológica estável. Assim, acredita-se que o uso de Cilostazol como sistema transdérmico é uma alternativa promissora para pacientes que sofrem de doenças circulatórias e claudicação intermitente, uma vez que sua ação é local.