



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

**PRODUÇÃO DE FILMES DE ECOVIO®/QUITOSANA/POLI
(ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO PARA LIBERAÇÃO
DE IBUPROFENO**

Diego Batista Messias

Toledo – PR, 2021

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

**PRODUÇÃO DE FILMES DE ECOVIO®/QUITOSANA/POLI
(ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO PARA LIBERAÇÃO
DE IBUPROFENO**

Diego Batista Messias

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

Orientador(a): Josiane Caetano Dragunski

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

Batista Messias, Diego

Produção de filmes de ecovio®/quitosana/poli (óxido de etileno) por eletrofiação para liberação de ibuprofeno / Diego Batista Messias; orientadora Josiane Caetano Dragunski. -- Toledo, 2021.

61 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Toledo) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

1. ecovio®. 2. quitosana. 3. poli (óxido de etileno). 4. ibuprofeno. I. Caetano Dragunski, Josiane , orient. II. Título.

DIEGO BATISTA MESSIAS

**PRODUÇÃO DE FILMES DE ECOVIO®/QUITOSANA/POLI (ÓXIDO DE ETILENO) POR
ELETROFIAÇÃO PARA LIBERAÇÃO DE IBUPROFENO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química, acompanhada pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dra. Josiane Caetano Dragunski (Orientadora)

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)

Dra. Késsily Barbosa Rufato (Banca)

Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Dr. Fernando Reinoldo Scremin (Banca)

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	12
1.1 INTRODUÇÃO GERAL	12
1.2 Objetivos	15
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 IBUPROFENO	16
2.2 POLÍMEROS	18
2.2.1 PLA	18
2.2.2 PBAT	19
2.2.3 Quitosana	20
2.2.4 PEO	22
2.3 ELETROFIAÇÃO	23
2.3.1 Tensão aplicada	24
2.3.2 Solvente apropriado e concentração da solução de polímero	25
2.3.3 Fluxo aplicado	25
2.3.4 Agulha – distância coletor	26
2.4 LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	26
2.4.1 O uso de ibuprofeno em sistemas de liberação transdérmica	28
3.0 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	30
3.1 Materiais, métodos e reagentes	30
3.2 Produção dos filmes	31
3.2.1 Caracterização dos filmes	32
3.3 Perfil de dissolução	32
3.4 Avaliação de parâmetros de validação do método analítico	34
3.4.1 Linearidade	34
3.4.2 Seletividade	34
3.4.3 Faixa de trabalho	35
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36

4.1 CARACETRIZAÇÃO DOS FILMES	36
4.1.1 Análises de microscopia eletrônica de varredura	36
4.1.2 Análises termogravimétricas	37
4.1.3 Análises de calorimetria exploratória diferencial	40
4.1.4 Análises de difração de raios-X	42
4.2 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO	44
4.2.1 Linearidade e faixa de trabalho	44
4.2.2 Teste do coeficiente angular	45
4.2.3 Teste do coeficiente linear (Intercepto)	46
4.2.4 Impacto do coeficiente linear (Intercepto)	46
4.2.5 Coeficiente de correlação de Pearson	47
4.2.6 Teste de normalidade dos resíduos	48
4.2.7 Avaliação da homocedasticidade: Teste de Breusch Pagan	49
4.2.8 A avaliação de valores extremos na resposta (outliers)	49
4.2.9 Teste de independência dos dados	50
4.3 TESTE DE LIBERAÇÃO DO IBUPROFENO	51
5.0 CONCLUSÃO	56
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1.1: Materiais utilizados para a produção das soluções analíticas	30
Tabela 3.1.2: Equipamentos utilizados para a produção das soluções analíticas	30
Tabela 4.2.2.1: Resultados do teste F da ANOVA para o coeficiente angular	46
Tabela 4.2.4.1: Impacto do coeficiente linear sobre a quantificação de ibuprofeno na faixa de trabalho do método	47
Tabela 4.2.5.1: A avaliação da qualidade do modelo de ajuste do conjunto de dados	48
Tabela 4.2.6.1: Resultados do teste de normalidade de resíduos de Shapiro-Wilk	48
Tabela 4.2.7.1: Teste de homocedasticidade – Breusch Pagan	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1.1: Estrutura química das duas formas isoméricas do ibuprofeno	16
Figura 2.1.2: Mecanismo de ação do ibuprofeno	17
Figura 2.2.1.1: Estrutura química do PLA	19
Figura 2.2.2.1: Estrutura química do PBAT	19
Figura 2.2.3.1: Estrutura química da quitosana	20
Figura 2.2.4.1: Estrutura química do PEO	23
Figura 2.3.1: Esquema de uma configuração de eletrofição, que mostra o cone de Taylor e a imagem de uma esteira de eletrofição. Adaptado de Wallace <i>et al.</i>	24
Figura 3.3.1: Método 5 – Aparato de pá sobre disco	33
Figura 4.1.1.1: Microscopia eletrônica de varredura para os filmes: (a) ecovio®/ quitosana/PEO, (b) ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e (c) ecovio® + ibuprofeno	36
Figura 4.1.2.1: Termogramas das análises termogravimétricas. (a) Ecovio® (—), (b) quitosana (—), (c) PEO (—) e (d) ibuprofeno (—)	37-38
Figura 4.1.2.2: Termogramas das análises termogravimétricas. (a) Ecovio®/quitosana/PEO (—), (b) ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—) e (c) ecovio® + ibuprofeno (—)	38-39
Figura 4.1.3.1: Termogramas das análises de calorimetria exploratória diferencial. (a) Ecovio® (—), (b) quitosana (—) e (c) PEO (—)	40-41
Figura 4.1.3.2: Sobreposição de termogramas da análise de DSC dos diferentes filmes. Ecovio® + ibuprofeno (—); Ecovio®/quitosana/PEO (—) e Ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—)	41
Figura 4.1.4.1: Difratogramas da análise de DRX. (a) Ecovio (—), (b) quitosana (—), (c) PEO (—) e (d) ibuprofeno (—)	42-43
Figura 4.1.4.2: Sobreposição de difratogramas da análise de DRX dos diferentes filmes. Ecovio® + ibuprofeno (—); Ecovio®/quitosana/PEO (—) e Ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—)	43
Figura 4.2.1.1: Diagrama de distribuição para a curva de absorvância x concentração de ibuprofeno nas concentrações 0,0034 mg/mL à 0,0204 mg/mL	45
Figura 4.2.8.1: Distribuição de resíduos padronizados para a avaliação de tendência dos resíduos	50
Figura 4.2.9.1: Distribuição de resíduos na ordem de coleta das soluções	51
Figura 4.3.1: Dissolutor para a liberação de ibuprofeno com concentração teórica de 8,5 mg de fármaco	52
Figura 4.3.2: Perfil de dissolução de ibuprofeno liberado em função do tempo	53

PRODUÇÃO DE FILMES DE ECOVIO®/QUITOSANA/POLI (ÓXIDO DE ETILENO) POR ELETROFIAÇÃO PARA LIBERAÇÃO DE IBUPROFENO

Diego Batista Messias

RESUMO

O ibuprofeno é um medicamento que apresenta efeitos anti-inflamatório, analgésico e antipirético. Por ser um fármaco de ampla utilização no tratamento de dores e febre, existe um grande interesse em seu estudo devido aos efeitos colaterais que podem ser gerados pelo uso diário por via oral. Desta forma, este trabalho visa a produção de filmes poliméricos de ecovio® (blenda polimérica composta de poliácido láctico e de poli (butileno-adipato-co-tereftalato)/quitosana/poli (óxido de etileno)) para liberação transdérmica de ibuprofeno, obtidos por eletrofiação. Inicialmente foi preparada uma solução de polímero constituída por quitosana e poli (óxido de etileno) (90/10% - m/v), em uma solução de água e ácido acético (10/90% - v/v). Esta solução foi eletrofiada, com 20 cm de distância entre agulha e a placa coletora, 0,5 mL/h de fluxo e 18 kV de diferença de potencial aplicada. Em seguida, o ecovio® (15% - m/v), foi associado ao fármaco ibuprofeno (30% - m/v) em uma solução de clorofórmio e dimetilformamida (85/15% - v/v) e esta solução foi eletrofiada sobre o filme composto de quitosana e poli (óxido de etileno) com 12 cm de distância entre agulha e a placa coletora, 1,0 mL/h de fluxo e 18 kV de diferença de potencial aplicada. Foram produzidos mais quatro filmes, dois por eletrofiação (ecovio®/quitosana/PEO e ecovio® + ibuprofeno) e os outros dois filmes (ecovio® + ibuprofeno e ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno) foram fabricados por casting. As caracterizações morfológicas destes filmes foram feitas por MEV e mostraram um aumento do número de beads e descontinuidade das fibras, além disso, foram realizadas caracterizações físico-químicas usando TGA, DSC e raios-x, que exibiram a incorporação do fármaco nos filmes. O estudo de liberação foi realizado em condições que simulam o estado da pele, de acordo com os parâmetros farmacopeicos. O método utilizado para a quantificação de ibuprofeno durante o estudo de liberação, mostrou seletividade e linearidade, pois as porcentagens de interferência das absorvâncias dos componentes ecovio®/quitosana/PEO exibiram resultados inferiores a 2% em relação à solução padrão, e o coeficiente de correlação de Pearson obtido foi igual a 0,9999. Portanto, o método é seletivo e linear para a quantificação de ibuprofeno no intervalo de 0,0034 mg/mL à 0,0204 mg/mL. O filme produzido por eletrofiação contendo ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno liberou em 30 minutos, aproximadamente, 95% da substância ativa, sendo liberado 100% em 90 minutos, ou seja, o filme apresentou perfil de liberação rápida. Desta forma, o filme de ecovio®/quitosana/poli (óxido de etileno) incorporado ao ibuprofeno demonstrou-se promissor para utilização em liberação transdérmica. Já o filme eletrofiado de ecovio® + ibuprofeno e os filmes produzidos por

casting apresentaram resultados de liberação na faixa de 60-80% de fármaco, o que indica que em 90 minutos não houve uma liberação completa do fármaco disponível.

Palavras-chave: ecovio®; quitosana; poli (óxido de etileno); ibuprofeno.

PRODUCTION OF ECOVIO®/CHITOSAN/POLY (ETHYLENE OXIDE) FILMS BY ELECTROPHYLING FOR IBUPROFEN RELEASE

Diego Batista Messias

ABSTRACT

Ibuprofen is a drug that has anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects. As it is a drug widely used in the treatment of pain and fever, there is great interest in its study due to the side effects that can be generated by daily oral use. Thus, this work aims at the production of polymeric films of ecovio® (polymeric blend composed of polylactic acid and poly(butylene-adipate-co-terephthalate)/chitosan/poly(ethylene oxide)) for transdermal delivery of ibuprofen, obtained by electrospinning. Initially, a polymer solution consisting of chitosan and poly (ethylene oxide) (90/10% - m/v) in a solution of water and acetic acid (10/90% - v/v) was prepared. This solution was electrospun, with a 20 cm distance between the needle and the collection plate, 0.5 mL/h of flow and 18 kV of applied potential difference. Then, ecovio® (15% - m/v) was associated with the drug ibuprofen (30% - m/v) in a solution of chloroform and dimethylformamide (85/15% - v/v) and this solution was electrospun on the film composed of chitosan and poly(ethylene oxide) with 12 cm of distance between the needle and the collecting plate, 1.0 mL/h of flow and 18 kV of applied potential difference. Four more films were produced, two by electrospinning (ecovio®/chitosan/PEO and ecovio® + ibuprofen) and the other two films (ecovio® + ibuprofen and ecovio®/chitosan/PEO + ibuprofen) were manufactured by casting. The morphological characterizations of these films were performed by SEM and showed an increase in the number of beads and fiber discontinuity. Furthermore, physicochemical characterizations were performed using TGA, DSC and x-rays, which showed the incorporation of the drug in the films. The release study was performed under conditions that simulate the condition of the skin, according to pharmacopoeial parameters. The method used to quantify ibuprofen during the release study showed selectivity and linearity, as the interference percentages of the absorbances of the ecovio®/chitosan/PEO components exhibited results below 2% compared to the standard solution, and the Pearson's correlation coefficient obtained was equal to 0.9999. Therefore, the method is selective and linear for the quantification of ibuprofen in the range of 0.0034 mg/mL to 0.0204 mg/mL. The electrospun film containing ecovio®/chitosan/PEO + ibuprofen released, in 30 minutes, approximately 95% of the active substance, being 100% released in 90 minutes, that is, the film presented a rapid release profile. Thus, the ecovio®/chitosan/poly (ethylene oxide) film incorporated with ibuprofen showed promise for use in transdermal delivery. On the other hand, the electrospun film of ecovio® + ibuprofen and the films produced by casting showed release results in the range of 60-80% of the drug, which indicates that in 90 minutes there was no complete release of the drug available.

Keywords: ecovio®; chitosan; poly (ethylene oxide); ibuprofen.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

O estudo dos chamados nanomaterias alcançou importância significativa no final do século XX [1]. No século XXI, a área da ciência conhecida como nanociência e nanotecnologia superou os limites da academia e da indústria e se tornou objeto de pesquisas em diversas áreas do conhecimento, como a Biologia, Engenharias, Física, Geologia, Química, Medicina, etc [1].

A nanociência e a nanotecnologia oferecem muitos benefícios em uma vasta quantidade de aplicações, tais como: na fotônica, como lasers de pontos quânticos [2], na estética, como cosméticos [3], na química, como armazenadores de energia [4], na medicina, na administração de fármacos [5], entre outras utilidades.

Os nanomaterias são classificados em vários tipos, como os nanotubos de carbono, nanopartículas metálicas, nanopartículas de óxidos de metais de transição, nanoemulsões, os mais diferentes tipos de nanocompósitos e os polímeros [1]. Dentre esses materiais, destacam-se os polímeros de uso farmacêutico empregados em filmes concebidos como plataformas para sistemas transdérmicos, tais como: copolímero do etileno e acetato de vinila [6], poli (álcool vinílico) [7] e copolímero metil vinil éter e anidrido maleico [8].

Diversos polímeros têm sido empregados na fabricação de nanofibras. Dentre esses, o poliácido láctico (PLA) se destaca devido às suas propriedades. O PLA é um poliéster termoplástico alifático linear, biodegradável e que apresenta alto peso molecular [9].

A mistura entre PLA e poli (butileno-adipato-co-tereftalato) (PBAT) têm sido objeto de estudo de pesquisas para melhorar suas propriedades [10], no entanto, a literatura é um pouco escassa no que diz respeito a produção de filmes preparados a partir desta mistura (PLA/PBAT) [11].

O PBAT é um copoliéster aleatório e linear [12], que apresenta alto alongamento na ruptura, baixo módulo de elasticidade, comportamento mecânico semelhante a um elastômero termoplástico [10] e é biodegradável [11].

A quitosana é um biopolímero [13], utilizada em cosméticos e está sob investigação para o uso em formulações farmacêuticas [8]. A quitosana é um polímero natural extraído de insetos, crustáceos e apresenta estrutura cristalina altamente organizada [13].

O poli (óxido de etileno) (PEO) é um polímero de origem sintética, semicristalino a temperatura ambiente [14], solúvel em água [15] e biocompatível [16]. Em pesquisas científicas, este polímero é associado a quitosana para a produção de filmes finos [16].

Assim, a produção de um filme fino à base de PLA, PBAT, quitosana, PEO e de um fármaco transforma-se em uma opção atrativa para o tratamento de dores e doenças em sistemas de liberação transdérmica.

Uma das técnicas utilizadas para a obtenção destes filmes finos de polímeros é a eletrofiação. Esta técnica é simples, versátil e econômica e utiliza as forças eletrostáticas para produzir esses filmes em tamanho nanométrico [17]. Os filmes produzidos por esta técnica apresentam alta relação superfície/volume, alta porosidade e redes porosas interconectadas [18-20].

Desta forma, os filmes produzidos por eletrofiação podem ser candidatos vantajosos para a utilização em sistemas de liberação transdérmica. Nestes sistemas, uma quantidade terapêutica de fármaco passa através da pele, a fim de chegar na corrente sanguínea e exercer efeitos sistemáticos [21].

Para ser associado a uma nanofibra polimérica o fármaco deve ser relativamente hidrofílico e hidrofóbico para penetrar com sucesso a pele, pois a principal barreira de penetração está dentro do estrato córneo [22, 23]. Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são bons candidatos para essa modalidade de administração, pois apresentam baixo peso molecular e propriedades físico-químicas adequadas e sua aplicação transdérmica já foi relatada [24, 25].

Um fármaco anti-inflamatório que pode ser inserido nesse tipo de material é o ibuprofeno, que é uma das drogas empregadas para aliviar a dor moderada, reduzir o inchaço e controlar a febre [26]. Este medicamento é comercializado sob as formas farmacêuticas de cápsulas, comprimidos, creme ou gel, gotas de solução tópica e intravascular, granulado e suspensão oral [27]. Entretanto, quando o ibuprofeno é ingerido

por via oral o mesmo apresenta riscos, como inflamação do estômago (gastrite), o que pode resultar em úlcera estomacal ou sangramento [25, 28].

Neste contexto, um filme produzido com os polímeros PLA, PBAT, quitosana e PEO e ibuprofeno, gera um novo material para a liberação transdérmica, capaz de solucionar efeitos gástricos, como pH, atividade enzimática e interação do fármaco com alimentos, bebidas ou outras substâncias administradas oralmente [21].

Desse modo, este trabalho visa a produção de um filme fino constituído por ibuprofeno incorporado ao copolímero ecovio®/quitosana/PEO para a liberação transdérmica, que é um candidato promissor, que pode substituir o tratamento realizado por via oral.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Produzir filmes de ecovio®/quitosana/PEO por eletrofiação para a liberação de ibuprofeno.

1.2.2 Objetivos específicos

Determinar os parâmetros adequados para a produção de nanofibras de ecovio®/quitosana/PEO por eletrofiação para a liberação de ibuprofeno.

Caracterizar as fibras produzidas por calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios-X (DRX), termogravimetria (TGA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

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

Realizar o estudo de liberação do ibuprofeno em função do tempo *in vitro* pelo teste de dissolução e quantificar o fármaco por espectrofotometria.

Definir o perfil de liberação de ibuprofeno por meio do filme produzido.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IBUPROFENO

O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteroide, derivado do ácido 2-(4-isobutilfenil) propiônico, com atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética [29]. É comercializado sob as formas farmacêuticas de cápsulas, comprimidos, creme ou gel, gotas de solução tópica e intravascular, granulado e suspensão oral [27]. Este ativo possui a aparência de um pó cristalino branco, massa molecular igual a 206,28 g/mol, é solúvel em metanol e possui a fórmula química $C_{13}H_{18}O_2$ [24]. Os enantiômeros do ibuprofeno são apresentados na Figura 2.1.1.

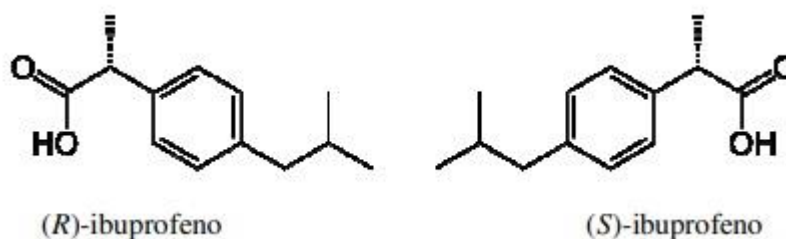


Figura 2.1.1: Estrutura química das duas formas isoméricas do ibuprofeno [27].

O ibuprofeno combate a dor nos pacientes. Quando as células sofrem danos, elas liberam o ácido araquidônico, as enzimas COX-1 e COX-2 (Ciclooxigenases) transformam o ácido araquidônico em prostaglandina, que é transformada em outros elementos, responsáveis por aumentar a febre e provocar o processo inflamatório [30]. Como toda enzima, possui um local ativo (parte em que todas as reações ocorrem), os locais ativos das enzimas COX-1 e COX-2 reagem facilmente ao ácido araquidônico e preenchem o local ativo [30]. Agora, quando o paciente ingere o ibuprofeno, o fármaco ocupa o local ativo, o que faz com que a prostaglandina não seja produzida, o que minimiza a dor, a inflamação ou a febre [30]. Na Figura 2.1.2 é exposto o mecanismo de ação do ibuprofeno.

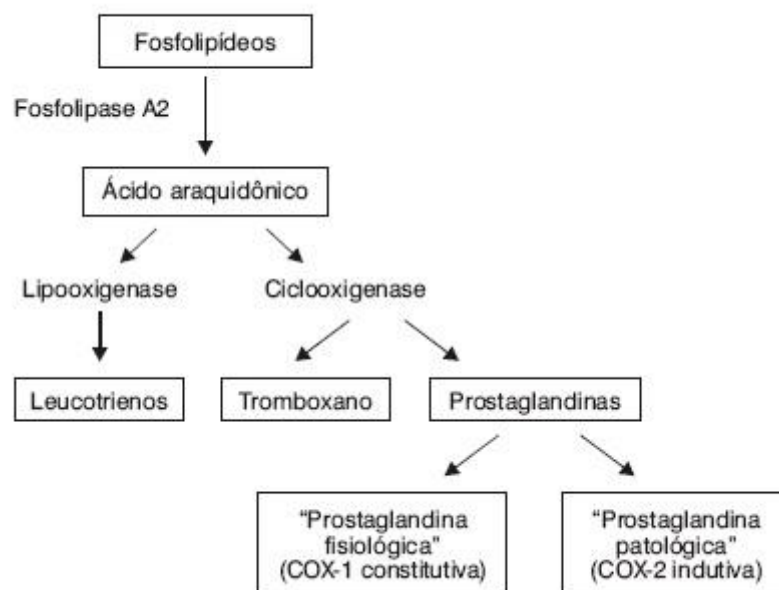


Figura 2.1.2: Mecanismo de ação do ibuprofeno [30].

No entanto, em casos de utilização diária do fármaco por via oral, o medicamento pode ocasionar efeitos desagradáveis, tais como: cistite, rinite, anemia, aplástica, neutropenia, insuficiência cardíaca, insuficiência renal, entre outras [26]. Com isso, um filme produzido com polímeros e ibuprofeno, gera um novo material para sistemas de liberação transdérmica, capaz de solucionar efeitos gástricos, como pH, atividade enzimática e interação do fármaco com alimentos, bebidas ou outras substâncias administradas oralmente [21].

Salomé e Ferreira (2017), avaliaram o impacto do curativo de espuma não aderente com ibuprofeno em pacientes portadores de úlcera venosa. Para isso, os pesquisadores empregaram dois questionários e as avaliações foram feitas no momento da inclusão do paciente no estudo por cinco consultas. Na primeira consulta de teste todos os pacientes relataram dor intensa na ferida. Já no quinto dia de investigação, os pacientes relataram ausência de dor ou dor moderada. Na quinta consulta, as pessoas investigadas relataram uma melhora efetiva na dor. Com isso, os autores concluíram que o curativo de espuma não aderente é eficaz na redução da dor de feridas nos pacientes [31].

Na literatura há relatos do uso de ibuprofeno em curativos da linha *biatain* com prata, onde o ativo foi liberado de forma contínua, na medida que o exsudado era absorvido, devido a uma tecnologia de absorção do curativo, que evita a saturação da espuma [32].

É importante destacar que um fármaco utilizado em sistemas de liberação transdérmica deve possuir atividades anti-inflamatória e antimicrobiana, a fim de possibilitar ao paciente uma minimização da dor e um processo de cicatrização de feridas livre do desenvolvimento de patógenos. Entretanto, o ibuprofeno não possui atividade antimicrobiana, por isso a associação deste fármaco com o polímero quitosana se torna uma opção promissora para sistemas de liberação transdérmica, uma vez que a quitosana possui atividade antimicrobiana [33] e sua aplicação para sistema de liberação controlada de ibuprofeno já foi relatada e se demonstrou viável [34].

2.2 POLÍMEROS

Os polímeros são compostos macromoleculares, que podem ser de origem natural ou sintética, formados por longas cadeias compostas por pequenas moléculas repetidas por meio de ligações covalentes [1]. Os polímeros orgânicos são amplamente utilizados em aplicações comerciais, no entanto, os polímeros também podem ser inorgânicos [1]. Já os copolímeros são macromoléculas compostas por duas ou mais unidades de estruturas diferentes, que estão distribuídas de forma a gerar segmentos [9].

Dentre estes polímeros, encontram-se os biodegradáveis, que são polímeros degradados por meio da ação de microorganismos de ocorrência natural como algas, bactérias e fungos [35]. Estes têm atraído a atenção de muitos cientistas e engenheiros de materiais, uma vez que apresentam menor impacto ambiental e balanço positivo de dióxido de carbono (CO₂) após a compostagem [36].

2.2.1 PLA

O PLA é um poliéster termoplástico alifático linear, biodegradável, que apresenta alto peso molecular e é produzido pela polimerização de abertura do anel do monômero de lactídeo [9]. A Figura 2.2.1.1 exibe a estrutura química do PLA.

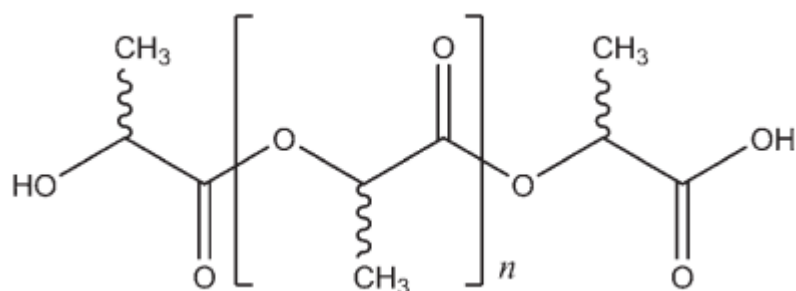


Figura 2.2.1.1: Estrutura química do PLA [6].

As aplicações em formulações farmacêuticas do PLA compreendem os sistemas de distribuição de drogas em implantes, injeções e dispersões sólidos orais [6]. Este poliéster também é utilizado como agente de revestimento e agente de liberação controlada [6]. Além disto, este polímero é aplicado como parte de dispositivos médicos que incluem curativos cirúrgicos, suturas e estentes [6].

O PLA ocorre como um material branco em grânulos, possui ponto de fusão amorfo e resistência à tração 35-85 Mpa [6]. Além do mais, o PLA é insolúvel em água e é solúvel em diclorometano, tetrahidrofurano, clorofórmio e acetona [6].

Este polímero se mistura com polímeros flexíveis e tem sido amplamente estudado para melhorar as suas propriedades mecânicas, principalmente para aumentar a sua tenacidade [11, 37].

2.2.2 PBAT

O PBAT é um copoliéster aleatório e linear, que é constituído de dois tipos de comonômero, o butileno tereftalato (BT) e o adipato de butileno (BA) [12]. O PBAT apresenta alto alongamento na ruptura, baixo módulo de elasticidade, comportamento mecânico semelhante a um elastômero termoplástico [10] e é biodegradável [11]. A Figura 2.2.2.1 mostra a estrutura química do PBAT.

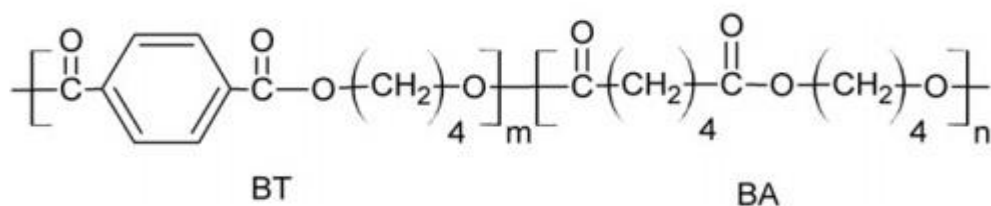


Figura 2.2.2.1: Estrutura química do PBAT [12].

A mistura entre PLA /PBAT foi objeto de estudo de uma pesquisa científica que investigou a compatibilidade de blendas com o uso de epóxido multifuncional *Joncryl* como extensor de cadeia, o que levou o aumento do módulo de tração, alongamento na ruptura e na viscosidade complexa da mistura [10]. Entretanto, a literatura é um pouco escassa no que diz respeito a produção de filmes preparados a partir desta mistura (PLA/PBAT) [11].

A combinação dos polímeros PLA/PBAT é realizada pela BASF (Badische Anilin & Soda Fabrik), comercializada com o nome *ecovio*® [38]. As principais vantagens do *ecovio*® abrangem a certificação como compostável e conteúdo de base biológica [38].

2.2.3 Quitosana

A quitina é um polímero natural fabricado comercialmente a partir de insetos, conchas de camarões e caranguejos, constituído por unidades monoméricas de β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose [13, 6]. A quitosana é obtida por meio da reação de desacetilação da quitina em meio básico [13]. A quitina ligeiramente desacetilada gera a quitosana, que é um polissacarídeo, composto de glucosamina e N-acetilglucosamina [6]. Na essência, o que diferencia a quitina da quitosana é o grau de desacetilação. A quitina desacetilada forma solúveis sais de amina, isto é, a quitosana, que apresenta grau de desacetilação superior a 80-85% [6]. Já a quitina apresenta grau de acetilação superior a 40% [39]. Na Figura 2.2.3.1 é exposta a estrutura química da quitosana.

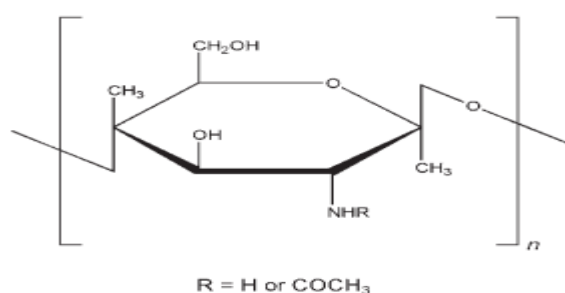


Figura 2.2.3.1: Estrutura química da quitosana [6].

A quitosana é um pó branco, que não possui odor e é estável à temperatura ambiente, mas é higroscópico após a secagem [6]. Além disso, a quitosana é um biopolímero de baixa toxicidade, biocompatível, biodegradável e hidrofílico [40]. As suas propriedades principais são: pH = 4,0-6,0, densidade = 1,35-1,40 g/cm³ e tamanho de

partícula < 30 μm [6]. A quitosana é relativamente solúvel em água, insolúvel em álcool etílico, solventes orgânicos e neutros ou soluções alcalinas com pH acima de 6,5 [6]. Este biopolímero se solubiliza em soluções diluídas ou concentradas em grande parte dos ácidos orgânicos e em alguns inorgânicos minerais, com exceção dos ácidos fosfórico e sulfúrico [6]. A quitosana é solúvel em soluções ácidas diluídas por ser considerada uma base forte, pois apresenta grupos amino primários com valor de pKa de 6,3 [41]. Em baixos valores de pH, as aminas são protonadas e carregadas positivamente e o polissacarídeo é convertido em um polieletrólito catiônico [41]. No entanto, em valores de pH acima de 6,0, as aminas da quitosana são desprotonadas e o biopolímero perde a sua carga e passa a ser insolúvel [41]. A alteração solúvel-insolúvel da quitosana ocorre na faixa de pH de 6,0-6,5 [41].

Este polissacarídeo é capaz de estabelecer interações de hidrogênio com outras moléculas, pois a sua estrutura é constituída por grupos OH e NH_2 [40]. Além de que, a quitosana é um polieletrólito catiônico apto a formar uma intensa interação eletrostática com o muco ou uma superfície mucosa com carga negativa [40].

As categorias funcionais da quitosana incluem agente de revestimento, agente formador de filme, agente de aumento de viscosidade, desintegrante, mucoadesivo e aglutinante para comprimidos [6]. Por causa das diversas propriedades já mencionadas, a quitosana é utilizada em cosméticos [6] e oferece muitas oportunidades para aplicações em formulações farmacêuticas. Isso porque existem dados na literatura que informam que o polímero também possui características antimicrobiana [33] e analgésica [42].

A ação analgésica da quitosana é atribuída a sua própria natureza policatiônica, pois estudos executados por Okamoto *et al.* mostraram que o efeito analgésico do biopolímero está relacionado a absorção dos íons prótons liberados no sítio inflamatório [42].

O efeito antimicrobiano da quitosana depende de diversos fatores relacionados às propriedades físico-químicas do polissacarídeo, que incluem peso molecular e grau de desacetilação. Um estudo mostrou que quando o peso molecular do polímero era < 300 kDa, o aumento de peso molecular ocasionou um maior efeito antimicrobiano em *S. aureus*, porém o aumento do peso molecular reduziu o efeito antimicrobiano em *E. coli* [33].

De acordo com a literatura, quanto maiores o grau desacetilação da quitosana e a carga positiva do polissacarídeo após a protonação do grupo amino, mais intensa a atividade antimicrobiana [43]. Por exemplo, uma pesquisa mostrou resultados referentes ao

aumento do grau de desacetilação da quitosana de 74% a 96%, o que acentuou a ação antimicrobiana do polímero contra *E. coli* [44].

Apesar de possuir inúmeras propriedades vantajosas, a eletrofiação da quitosana é geralmente limitada por causa de sua ligação de hidrogênio inter e intracadeia, alta viscosidade da solução em baixas concentrações e solubilidade baixa em solventes orgânicos [45]. Entretanto, alguns pesquisadores já tiveram bons resultados na eletrofiação da quitosana a partir de ácido acético, uma vez que a alta concentração do ácido diminui a tensão superficial [46]. Portanto, neste estudo a quitosana foi preparada em uma solução contendo água e ácido acético (10/90% - v/v).

Uma forma de melhorar a eletrofiação da quitosana é misturá-la com outro polímero natural ou sintético. Por exemplo, a fiação da quitosana pode ser otimizada com o uso do polímero sintético PEO [45]. O PEO pode ser associado a quitosana por apresentar propriedades similares aos polissacarídeos (estrutura linear) e pode formar ligações de hidrogênio com outros polímeros [45]. No entanto, a eletrofiação de uma blenda constituída por quitosana e PEO depende da porcentagem de PEO na mistura e da concentração total de polímero [45]. A faixa de porcentagem de PEO é estreita em uma blenda e as fibras podem ser produzidas em uma combinação de quitosana/PEO (90/10% - m/m) [45].

Assim, membranas constituídas por quitosana e PEO poderão ser candidatas promitentes para sistemas de liberação transdérmica.

2.2.4 PEO

O PEO é um pó branco a esbranquiçado, que possui leve odor amoniacal [6]. Suas propriedades típicas são: ângulo de repouso (34°), densidade ($1,3 \text{ g/cm}^3$), ponto de fusão ($65\text{-}70 \text{ }^\circ\text{C}$) e teor de umidade ($< 1\%$) [6].

O PEO é um homopolímero de origem sintética, semicristalino a temperatura ambiente [14], biocompatível [16], solúvel em água [15] e em diversos solventes orgânicos como, acetonitrila, clorofórmio e cloreto de metileno [6]. Este homopolímero é representado pela fórmula $(\text{CH}_2\text{CH}_2)_n$, na qual n representa o número médio de grupos de óxido de etileno. Na Figura 2.2.4.1 é exibida a estrutura química do PEO.

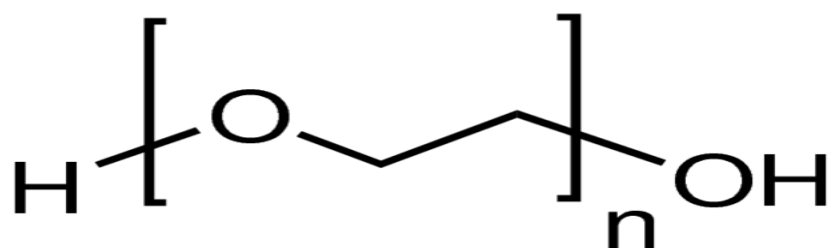


Figura 2.2.4.1: Estrutura química do PEO [15].

As principais características funcionais do PEO são: mucoadesivo, agente de revestimento, aglutinante para comprimidos de concentrações de 5-85% e agente espessante [6]. Além disso, o PEO apresenta grupos poliéter (C-O-C) em sua estrutura, o que facilita a formação de ligações de hidrogênio com grupos hidroxila e amino na quitosana [47].

Alguns autores sugerem que o PEO atua como um transportador de quitosana no processo de eletrofiação devido as interações intermoleculares, o que diminui a viscosidade e aumenta a condutividade da solução polimérica [47]. Desta forma, membranas constituídas por ecovio®/quitosana/PEO e ibuprofeno poderão ser excelentes candidatas para aplicações em sistemas de liberação transdérmica.

2.3 ELETROFIAÇÃO

A eletrofiação é uma técnica simples, versátil e econômica, que utiliza as forças eletrostáticas para produzir filmes finos de polímeros que variam de tamanho submicrônicos a nanômetros [17].

No processo de eletrofiação, uma diferença de potencial (ddp) é aplicada entre a ponta de uma agulha e um coletor metálico e a agulha é mantida na saída de uma seringa que contém a solução do polímero, que é constituída por um solvente volátil [18]. No decorrer deste procedimento experimental, a solução contida na seringa é impulsionada por uma bomba e passa pela agulha em um fluxo constante [18]. No momento em que a gota da solução polimérica chega na ponta da agulha, as cargas elétricas da solução se orientam no sentido do campo elétrico e a solução passa a ser carregada com o fluxo de elétrons entre a agulha e a fonte [18]. Com o aumento da intensidade do campo elétrico, a gota de solução de polímero se alonga, o que gera uma deformação na mesma em forma

do cone de Taylor [48]. No instante em que o campo elétrico atinge um valor no qual a força repulsiva supera a força de tensão superficial da solução de polímero, um jato carregado da solução é ejetado da ponta do cone de Taylor e controlado pelo campo elétrico [18]. No decorrer da viagem do jato no ar, o solvente evapora e um filme fino é depositado sobre uma placa coletora [18].

A Figura 2.3.1 fornece uma representação esquemática de um processo de eletrofiação.

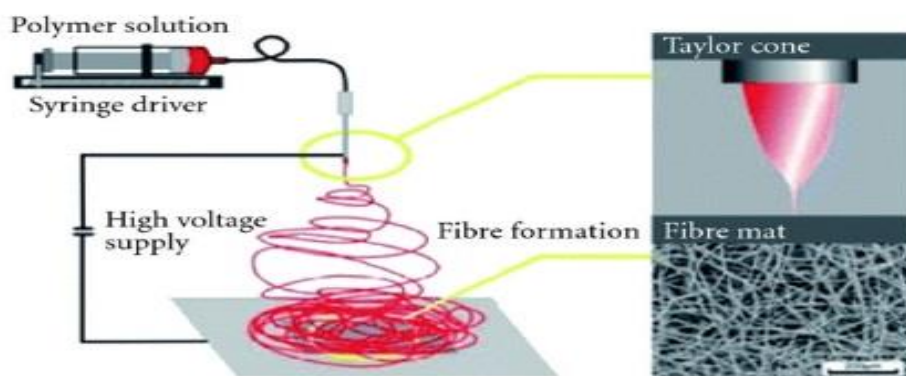


Figura 2.3.1: Esquema de uma configuração de eletrofiação, que mostra o cone de Taylor e a imagem de uma esteira de eletrofiação. Adaptado de Wallace *et al.* [49].

A eletrofiação depende de alguns parâmetros que são fundamentos para atingir a morfologia e as propriedades desejáveis dos filmes finos. Essas variáveis de processamento são denominadas como: tensão aplicada, distância do coletor, fluxo aplicado, solvente adequado e solução de polímero.

2.3.1 Tensão aplicada

A tensão aplicada é um parâmetro que pode apresentar grandes efeitos sobre a produção de um filme. Logo, a tensão empregada é responsável por exceder a tensão superficial da solução de polímero. A partir do aumento da tensão aplicada à agulha, um ponto é alcançado em que as forças eletrostáticas equilibram a tensão superficial da solução, o que gera o cone de Taylor [18]. O aumento da tensão aplicada além deste ponto, ocasiona um jato de fibra, que é ejetado do ápice do cone e depositado na placa coletora, mas um aumento superior na tensão além do valor crítico resulta em morfologias frisadas ou inibe a iniciação do jato de polímero. O valor crítico de voltagem aplicada está associado

ao tipo de solução polimérica ou a intensidade do campo elétrico dentro do qual a formação do filme é desejada [50].

2.3.2 Solvente apropriado e concentração da solução de polímero

A seleção do solvente ideal é crucial, pois o polímero deve ser solubilizado e transformado em um filme por meio da técnica utilizada. Para a escolha de um solvente é necessário considerar a solubilidade do polímero no solvente e o ponto de ebulição do solvente, que indica a sua volatilidade [50]. De modo geral, o solvente precisa ser volátil, o que facilita a desidratação dos filmes no trajeto da ponta da agulha até a superfície do coletor, porém, devem ser evitados solventes muito voláteis que apresentam pontos de ebulição muito baixos, pois podem evaporar na ponta da agulha e causar obstrução na taxa de fluxo da solução polimérica [50]. Já um solvente que possui um ponto de ebulição alto pode não desidratar completamente antes de chegar na placa coletora, o que influencia na porosidade dos filmes formados [50]. Para alcançar uma porosidade apropriada para um filme, pode-se realizar a mistura de dois solventes que possuem diferentes pontos de ebulição [50].

A concentração de polímero na solução é determinante para a produção de um filme, pois a solução deve possuir uma concentração de polímero que seja suficiente para que ocorram os emaranhamentos de cadeia [50]. No entanto, a solução polimérica não deve ser muito diluída ou muito concentrada, uma vez que uma solução muito diluída faz com que a fibra de polímero seja fragmentada em gotas antes de se depositar na placa coletora, devido aos efeitos da tensão superficial. Contudo, em uma solução polimérica muito concentrada, os filmes não podem ser formados devido à alta viscosidade, o que dificulta o controle da taxa de fluxo da solução através da agulha. Com isso, pode-se concluir que existe uma ótima faixa de concentrações de polímero, na qual as fibras podem ser eletrofiadas, quando são mantidos constantes os outros parâmetros [50].

2.3.3 Fluxo aplicado

O fluxo aplicado na solução polimérica é responsável pelos impactos no tamanho, porosidade e formato da fibra, porque a forma de cone na ponta da agulha não é

mantida quando o fluxo da solução polimérica através da agulha for insuficiente para substituir a solução na forma de um jato de fibra [48].

O diâmetro e o tamanho dos poros de um fibra aumentam com o aumento do fluxo empregado, porém em altas taxas de fluxo, são formados defeitos no jato, pois as fibras não podem se secar completamente antes de chegar na placa coletora, o que por sua vez forma fibras achatadas [51].

2.3.4 Agulha - distância do coletor

A distância entre a agulha e a placa coletora pode influenciar no tamanho da fibra. Por isso, a distância entre a agulha e a placa coletora deve ser ideal, pois é necessário um tempo adequado para as fibras se secarem e se depositarem [50]. Uma distância pequena entre a agulha e a placa coletora gera a formação de fibras frisadas, o que é atribuído à secagem incompleta da fibra polimérica antes de ser depositada no coletor [50].

2.4 LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Nos sistemas de liberação de liberação transdérmica, o fármaco atravessa a pele para atingir a circulação sanguínea e exercer efeitos terapêuticos [21]. A pele é constituída pelo estrato córneo, a epiderme e a derme que atuam como uma barreira de proteção [21]. O estrato córneo é formado por 40% de proteínas (queratina) e 40% de água, ou seja, possui um caráter lipídico [21]. Portanto, substâncias que possuem solubilidade aquosa e lipídica são candidatas atrativas para sistemas de liberação transdérmica, pois depois que o fármaco penetra o estrato córneo, ele permeia a epiderme e alcança a derme, e por fim o mesmo se torna disponível para realizar efeitos benéficos nos seres vivos [21].

Nestes sistemas, o fármaco fica disperso em um matriz, que é constituída por um material polimérico, que controla a quantidade de medicamento liberado e, conseqüentemente, livre para a absorção percutânea [21]. As vantagens dos sistemas de liberação transdérmica são: prevenir complicações ligadas à absorção gastrointestinal (pH, atividade enzimática e interação do fármaco com bebidas e alimentos consumidos), evitar sistemas invasivos, evitar efeitos colaterais como diarreia e vômitos ocasionados por administração oral e oferecer um tratamento prolongado com uma só aplicação [21].

As desvantagens dos sistemas de liberação transdérmica incluem a limitação dos fármacos por causa da barreira de proteção da pele e problemas desenvolvidos nos pacientes por um ou mais componentes da matriz [21].

Os estudos de liberação controlada de fármacos tiveram início em 1960, em uma pesquisa que investigou a circulação de sangue de um coelho dentro de um *shunt* arteriovenosa, que descobriu que se o tubo ficasse exposto a gases anestésicos, os coelhos adormeciam. Com isso, o pesquisador propôs que um tubo contendo medicamento poderia ser implantado e se as dimensões e a composição do silicone não mudassem, o implante seria um carreador de fármacos [52, 53].

Atualmente existem inúmeras pesquisas sobre os tipos de filmes poliméricos que são produzidos para a incorporação de ativos e sua utilização no processo de regeneração tecidual [54, 32]. A seguir serão apresentados alguns resultados de trabalhos relacionados a incorporação de um ativo em polímeros e a liberação controlada do fármaco.

Santana (2015) preparou filmes com o polímero agarose para a liberação de ciprofloxacino, por meio do sistema de *casting*. Os ensaios realizados para a avaliação das propriedades morfológicas e mecânicas desses filmes demonstraram que esses são aderentes e transparentes. As análises espectroscópicas mostraram uma incorporação uniforme do ciprofloxacino nos filmes produzidos, que esses apresentam uma estrutura amorfa e sem rachaduras. O estudo de liberação do fármaco demonstrou que uma grande quantidade do fármaco foi liberada nas primeiras 24 horas. Por isso, o trabalho foi concluído, uma vez os filmes produzidos nessa pesquisa apresentaram características adequadas para uma possível utilização na pele [55].

Ambrog *et al.* (2017) prepararam filmes de quitosana, nos quais foi incorporado o ativo clorexidina/montmorilonita. As análises de caracterização demonstraram que os filmes produzidos eram finos, flexíveis, transparentes e homogêneos. Os resultados obtidos por meio dessa pesquisa, confirmaram que os filmes de quitosana contendo clorexidina/montmorilonita apresentam um grande potencial como curativos de feridas para a prevenção da colonização microbiana [56].

Os autores Cheirmadurai, Thanikaivelan, e Murali (2016), prepararam *scaffolds* com base em colágeno híbrido. Como agentes de reticulação foram utilizados o polissacarídeo de semente de *gulmohar* (GSP) e cinamaldeído, a fim de evitar o uso de

agentes de reticulação citotóxicos. Os filmes obtidos apresentaram as seguintes características: baixa transparência, permeabilidade e média porosidade [57].

O autor Gomes (2016), preparou filmes com o uso do polímero alginato para a liberação do extrato de *anadenanthera colubrina*. As análises físico-químicas evidenciaram que os filmes produzidos são flexíveis, aderentes e sem rachaduras. As análises no ultravioleta e visível (UV-Vis) provaram que houve homogeneidade na incorporação dos extratos no filme quando observados a 282 nm. Este trabalho sugeriu como uma perspectiva, o desenvolvimento de um sistema de liberação dos extratos, com diferentes quantidades de cálcio empregadas para a fabricação dos filmes, o que pode promover maior ou menor aprisionamento dos extratos na matriz polimérica, para que a liberação do ativo incorporado seja contínua e prolongada [58].

2.4.1 O uso de ibuprofeno em sistemas de liberação transdérmica

Rhree *et al.* (2008), desenvolveram uma formulação de gel transdérmico para o ibuprofeno com base na técnica do desenho experimental. Os fatores escolhidos para o planejamento experimental foram a concentração do fármaco, do polioxietileno (5) cetil/ éter oleílico e etanol. A célula de difusão do tipo Franz foi utilizada para avaliar as taxas de permeação na pele e os tempos de latência na pele. Os estudos evidenciaram que a taxa de permeação de ibuprofeno aumentou em proporção à concentração da droga, porém diminuiu em proporção à concentração de polioxietileno (5) cetil/éter oleílico. Já a concentração de etanol foi inversamente proporcional ao tempo de latência. Em suma, os autores produziram um gel de ibuprofeno e esses resultados obtidos ajudaram a encontrar a formulação ideal para a liberação transdérmica do fármaco [59].

O pesquisador Ferreira (2019), empregou acetato de celulose como matriz polimérica na produção de membranas com diferentes morfologias. Para este processamento foi utilizada a acetona como solvente e a água como não solvente. As membranas contendo o ibuprofeno, foram preparadas com a adição de 10% do fármaco e pelo método de evaporação de solvente [60]. Foi realizado o estudo de liberação do ibuprofeno em tampão fosfato 0,1 mol/L pH 7,4, em temperatura fixa de 36 °C e a quantificação foi feita por voltametria de onda quadrada. Uma das membranas testadas, atingiu cerca de 95% de liberação do fármaco nas quatro primeiras horas de ensaio. A

análise de liberação para esta membrana ficou de acordo com a previsão feita na discussão dos resultados das análises térmicas de que a interação polímero-fármaco foi menor para esta membrana (evidenciado pelo valor de temperatura de transição vítrea próximo ao da membrana de referência – 186,69 e 192,64 °C, respectivamente). Com isso, o autor conclui que as membranas produzidas podem ser aplicadas tanto no tratamento de doenças crônicas (liberação do tipo prolongada), quanto no tratamento de enfermidades agudas (liberação muito rápida e imediata), como antitérmico ou analgésico [60].

Tombs *et al.* (2018) investigaram uma nova tecnologia de entrega de ibuprofeno, na qual foi utilizado um novo adesivo sensível a pressão (PSA) reticulado de poli (éter-uretano) como um reservatório da droga, em um processo de fabricação sem solvente a 80 °C em 100% de umidade relativa. Os estudos de dissolução e permeação *in vitro* foram avaliados por HPLC e demonstraram que o ibuprofeno pode ser totalmente (100%) liberado da matriz adesiva e penetrado na pele através da membrana produzida em 24 horas. Os estudos de estabilidade acelerada foram realizados a 40 °C e com 70% de umidade relativa e não mostraram degradação em relação ao conteúdo do medicamento [23]. Desta maneira, o presente trabalho foi realizado com o uso de uma membrana polimérica e o fármaco ibuprofeno visando a liberação transdérmica.

CAPÍTULO 3

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Neste capítulo estão descritos os materiais, equipamentos e procedimentos executados para a produção do filme, teste de liberação e o método analítico empregado para a quantificação do fármaco ibuprofeno.

3.1 Materiais, métodos e reagentes

Os equipamentos/instrumentos de medição utilizados foram calibrados e as vidrarias empregadas no preparo das soluções foram certificadas de acordo com a norma que regula os laboratórios de ensaios de calibração a NBR ISO/IEC 17025 [61].

Os materiais utilizados para a produção do perfil de dissolução e para a avaliação de parâmetros de validação do método analítico foram listados na tabela 3.1.1.

Tabela 3.1.1: Materiais utilizados para a produção das soluções analíticas.

Substância	Lote	Fabricante	Pureza	Validade
Ibuprofeno	1191873	IOL Químicos and Farmacêuticos	99,59%	04/2021
Fosfato de potássio monobásico anidro	1201659	Synth	99,0%	04/2024
Metanol	1212159	Tedia	100,0%	03/2024
Ecovio®	-	BASF	-	-

Os equipamentos utilizados para a produção do perfil de dissolução e para avaliação de parâmetros de validação do método analítico são exibidos na tabela 3.1.2.

Tabela 3.1.2: Equipamentos utilizados para a produção das soluções analíticas

Equipamento	Fabricante	Validade de calibração
Dissolutor	SOTAX	02/2022
Espectrofotômetro	Shimadzu-1800	08/2021
HandyStep	Eppendorf	09/2021
Balança analítica	Mettler Toledo	02/2022

3.2 Produção dos filmes

Para a produção do filme foi preparada uma solução de polímero constituída por quitosana e PEO (90/10% - m/m), em uma solução de água e ácido acético (10/90% - v/v), esta solução foi agitada por 24h, após este tempo, a mesma foi transferida para uma seringa de vidro neutro de 10 mL da marca *Arti Glass*, contendo na ponta uma agulha de 0,70 mm de diâmetro e 25 mm de comprimento da marca *Descarpack*. A seringa foi acoplada a uma bomba, modelo SP100I *syringe pump* e da marca *World Precision Instruments*. A agulha foi conectada a um polo positivo de uma fonte de alta tensão, já o fio terra e o polo negativo foram plugados a uma placa coletora. Sobre a placa coletora foi colocada uma folha de papel vegetal 90 da marca Canson. Esta solução foi eletrofiada, conforme os seguintes parâmetros: 20 cm de distância entre agulha e a placa coletora, 0,5 mL/h de fluxo e 18 kV de diferença de potencial aplicada.

Sobre a membrana composta de quitosana e PEO, foi eletrofiada uma solução de ecovio® (consiste de uma blenda polimérica de PLA e PBAT) 15% - m/v, associado ao fármaco ibuprofeno (30% - m/v) em uma solução de clorofórmio e dimetilformamida (85/15 - v/v). Após a solubilização do ecovio®, foi adicionado o ibuprofeno e a solução agitada por 24h, esta solução foi eletrofiada usando os parâmetros: 12 cm de distância entre agulha e a placa coletora, 1,0 mL/h de fluxo e 18 kV de diferença de potencial aplicada. Os parâmetros utilizados foram estudados anteriormente no grupo de pesquisa.

Com o emprego da técnica de eletrofição foram produzidos mais dois filmes, um composto apenas dos componentes ecovio®/quitosana/PEO e o outro constituído de ecovio® + ibuprofeno. Ambos foram eletrofiados usando os parâmetros descritos anteriormente.

Além disso, foram produzidos filmes por *casting*, um contendo ecovio®/quitosana/PEO e ibuprofeno e o outro apenas ecovio® e ibuprofeno. Em ambos os casos, as soluções foram preparadas como mencionado anteriormente, entretanto após a obtenção das soluções, as mesmas foram transferidas para placas de *petri* e evaporadas em um dessecador.

3.2.1 Caracterização dos filmes

Os filmes produzidos foram caracterizados pelas análises de DSC, DRX, TGA e MEV.

Para as análises de MEV as amostras foram acondicionadas em uma fita adesiva dupla face, as quais foram fixadas em um suporte. Posteriormente, foram metalizadas com ouro até a espessura de, aproximadamente 30 nm, com o emprego de um metalizador *Denton*. O MEV utilizado foi o modelo *VEGA3 TESCAN*.

As análises de DSC foram realizadas com um DSC-60 da *Shimadzu*, na atmosfera de gás nitrogênio (N₂) com vazão de 50 mL/min, com taxa de aquecimento e resfriamento de 10 °C/min. Inicialmente, foi feito o aquecimento em um intervalo de temperatura de 25 °C até 200 °C, logo em seguida promoveu-se o resfriamento de 200 °C até 25 °C, além disso, para todas as análises utilizou-se uma massa de amostra entre 5 e 10 mg em cadinhos de alumínio fechados.

Em um Analisador Térmico *Perkin Elmer STA 6000*, foram realizadas as análises de TGA em atmosfera de gás nitrogênio (N₂) com vazão de 50 mL/min, taxa de aquecimento de 10 °C/min, em um intervalo de temperatura de 25 °C a 650 °C, com o uso de cadinhos de porcelana e massa de amostra entre 5 e 10 mg.

Para a determinação do grau de cristalinidade das amostras, foi utilizado um Difrátômetro *Bruker*®, com difração em ângulo de 2 Θ , variando de 10 a 80°, com resolução de 0,01°, radiação CuK α de $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, com monocromador de grafite.

3.3 Perfil de dissolução

Para o teste de perfil de dissolução foi utilizado o método 5 (aparato da pá sobre disco), que é uma modificação do método 2 (Pás). Neste método foi colocado um disco de aço inoxidável, para manter o filme no fundo da cuba durante o ensaio de dissolução (Figura 3.3.1). Este aparato é utilizado para a avaliação de testes de liberação transdérmica de fármacos, com rotação indicada entre 50 e 100 rotação por minuto (rpm) e pH entre 5 e 6 [62, 63]. Por isso, foram utilizados 500 mL do meio de dissolução tampão fosfato de potássio 0,1 mol.L⁻¹ com pH de 6,0. A agitação escolhida foi de 100 rpm e a temperatura foi mantida em 32,0 \pm 0,5 °C.



Figura 3.3.1: Método 5 – Aparato de pá sobre disco [62].

Adicionou-se 500 mL de meio de dissolução em três cubas do dissolutor. Aguardou-se a estabilização da temperatura em $32 \pm 0,5$ °C, em seguida o display do dissolutor foi acionado e o equivalente a 8,5 miligramas (mg) de ibuprofeno foi adicionado em cada uma das três cubas. Ao término dos tempos de coletas 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos e ainda sob agitação, foram coletados $\pm 10,00$ mL entre a haste e a parede da cuba, as amostras foram filtradas em papel filtro e as leituras das absorvâncias do ibuprofeno foram feitas em um espectrofotômetro ultravioleta e visível (UV-Vis) em 221 nm. O comprimento de onda foi determinado por meio da varredura no intervalo de 200 à 800 nm.

Para realização das análises, foram utilizadas duas cubetas de 10 mm e o meio de dissolução foi empregado como branco. As concentrações foram calculadas frente a uma curva de calibração, construída com solução padrão preparada por diluições, com o uso de meio de dissolução como diluente na faixa da concentração de 0,0034 mg/mL à 0,0204 mg/mL. A solução padrão estoque foi solubilizada com 1 mL de metanol.

Os dados obtidos foram reunidos e analisados, sistematicamente, com o uso do *Microsoft Excel*. Foi calculada a quantidade dissolvida de ibuprofeno, por meio equação 1 apresentada a seguir.

$$\text{Quantidade dissolvida (Q)} = A_a \times V \times 100 / F_r \times D \times F_d \quad \text{Equação 1}$$

Em que, (Q) é quantidade dissolvida em porcentagem, A_a é a absorvância da solução amostra, V é o volume de dissolução nas cubas, em mL, F_r é a média dos fatores

resposta do padrão 1, D é o equivalente de ibuprofeno no filme, em mg e Fd é o fator de diluição utilizado no filme em mL.

3.4 Avaliação de parâmetros de validação do método analítico

A avaliação de parâmetros de validação do método analítico para a quantificação de ibuprofeno, foi realizada por espectrofotometria na região do UV-Vis, por meio dos parâmetros faixa de trabalho, linearidade e seletividade. Todos os procedimentos da validação foram elaborados com base nas concentrações das soluções produzidas pelo perfil de dissolução.

3.4.1 Linearidade

A linearidade foi avaliada por meio de seis níveis de concentrações, com três réplicas em cada nível, preparadas a partir de três soluções estoque. As curvas de calibração foram preparadas com o padrão de ibuprofeno nas concentrações nominais 0,0034, 0,0068, 0,0102, 0,0136, 0,0170 e 0,0204 mg/mL e lidas no UV-Vis, conforme o procedimento utilizado para o perfil de dissolução.

Os resultados obtidos a partir das curvas foram transcritos no *Microsoft Excel* e examinados com o sistema estatístico *Action Stat Pro* para a determinação do diagrama de dispersão, coeficiente angular, coeficiente linear, coeficiente de correlação, teste de normalidade dos resíduos, dos outliers, da homocedasticidade e a avaliação de independência dos dados.

3.4.2 Seletividade

A seletividade foi verificada para comprovar que nenhum dos componentes ecovio®/quitosana/PEO absorvem no mesmo comprimento de onda do ibuprofeno. Para isso, adicionou-se 500 mL de meio de dissolução em uma cuba do dissolutor. Aguardou-se a estabilização da temperatura em $32 \pm 0,5$ °C. O display do dissolutor foi acionado e foram adicionadas 30 mg dos componentes ecovio®/quitosana/PEO nesta cuba. Após passar pelo dissolutor nas mesmas condições utilizadas para a análise de perfil de dissolução por

de 90 minutos, seis alíquotas da amostra foram coletadas, filtradas em papel filtro e lidas no UV-Vis, conforme o procedimento utilizado para o perfil de dissolução.

O cálculo da interferência dos componentes ecovio®/quitosana/PEO foi feito no *Microsoft Excel*, conforme a equação 2 a seguir:

$$\text{Interferência (\%)} = (A_a/A_p) \times C_s \times (V/L) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde A_a é a absorvância obtida a partir dos componentes ecovio®/quitosana/PEO, A_p é a média das absorvâncias obtidas a partir dos padrões 1 e 2, C_s é a média das concentrações dos padrões do padrão 1 e 2 de ibuprofeno, em mg/mL, V é o volume de meio de dissolução utilizado na cuba, em mL e L é a quantidade de ibuprofeno no filme produzido em mg [63].

3.4.3 Faixa de trabalho

A faixa de trabalho foi estabelecida a partir do que é indicado para o teste de dissolução, que corresponde a – 20% da menor concentração obtida nos primeiros pontos de coletas do perfil de dissolução até + 20% da maior concentração obtida a partir do perfil de dissolução [64].

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Inicialmente, foram produzidos filmes contendo ecovio®/quitosana/PEO, ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e ecovio® + ibuprofeno. Esses filmes foram caracterizados para obter as suas propriedades e avaliar se houve a incorporação do fármaco nos mesmos.

4.1.1 Análises de microscopia eletrônica de varredura

Com base nas imagens obtidas por meio das análises de MEV para os filmes de ecovio®/quitosana/PEO, ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e ecovio® + ibuprofeno (Figuras 4.1.1.1 (a, b e c)), constatou-se que a incorporação de ibuprofeno nas fibras poliméricas provocou mudanças morfológicas.

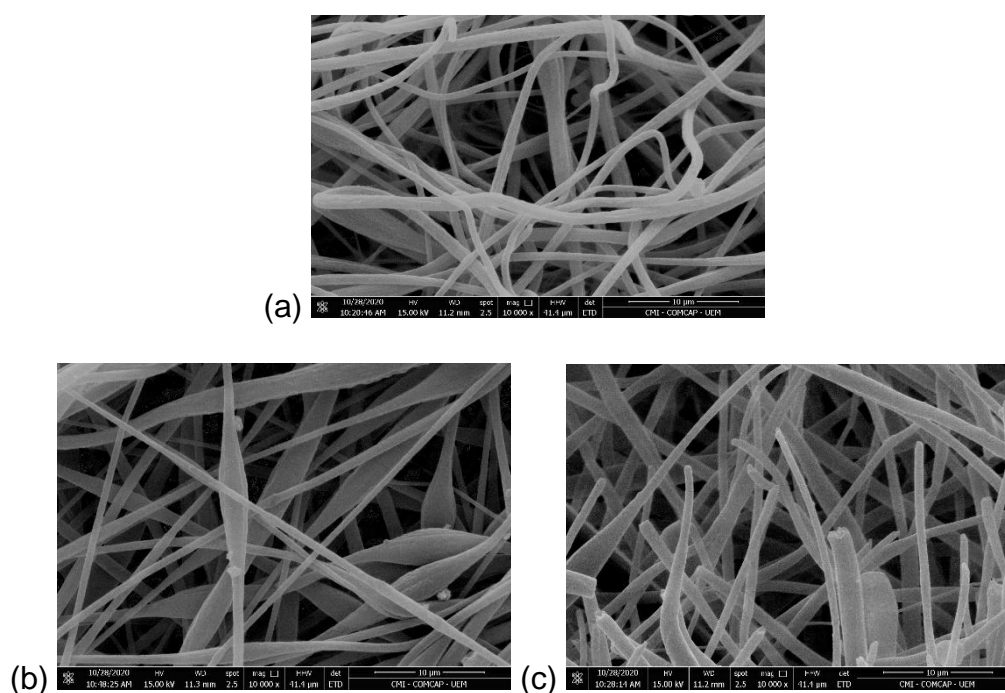


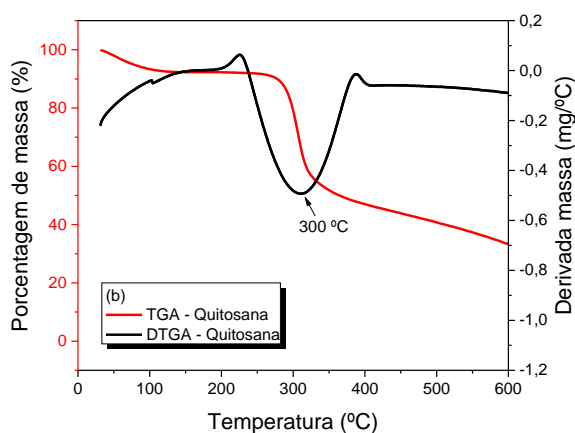
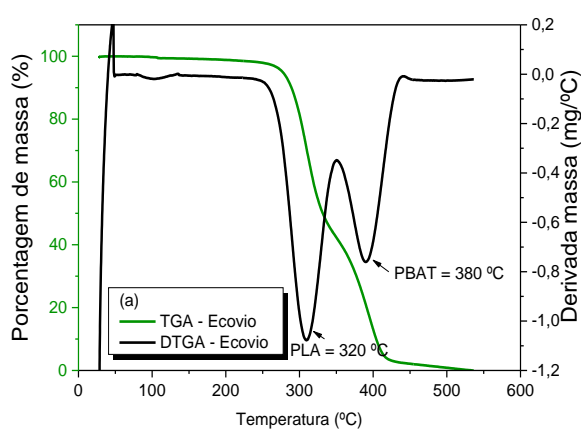
Figura 4.1.1.1: Microscopia eletrônica de varredura para os filmes: (a) ecovio®/quitosana/PEO, (b) ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e (c) ecovio® + ibuprofeno.

Ao comparar os filmes sem (Figura 4.1.1.1 (a)) e com ibuprofeno (Figura 4.1.1.1 (b)), foi possível observar que a inclusão do fármaco favoreceu o surgimento de *beads*

(imperfeições na forma de contas), além disso, pelas imagens de MEV, foi possível obter o diâmetro médio das fibras, em que as fibras sem ibuprofeno apresentaram diâmetro de $2198 \pm 0,653$ nm, e as com ibuprofeno $3011 \pm 1,525$ nm. Pode-se notar que houve um aumento do diâmetro, juntamente com aumento da heterogeneidade das mesmas, essas alterações ocorreram possivelmente pelo aumento da viscosidade e tensão superficial da solução polimérica. Para o filme contendo apenas ecovio® + ibuprofeno (Figura 4.1.1.1(c)), os diâmetro das fibras foram de $3348 \pm 1,017$ nm, indicando que o processo de eletrofição de um polímero sobre o outro não alterou os diâmetros dos mesmos.

4.1.2 Análises termogravimétricas

Para melhor entendimento da incorporação, as curvas de ecovio®, quitosana, PEO e ibuprofeno encontram-se nas Figuras 4.1.2.1 (a), (b), (c) e (d), respectivamente.



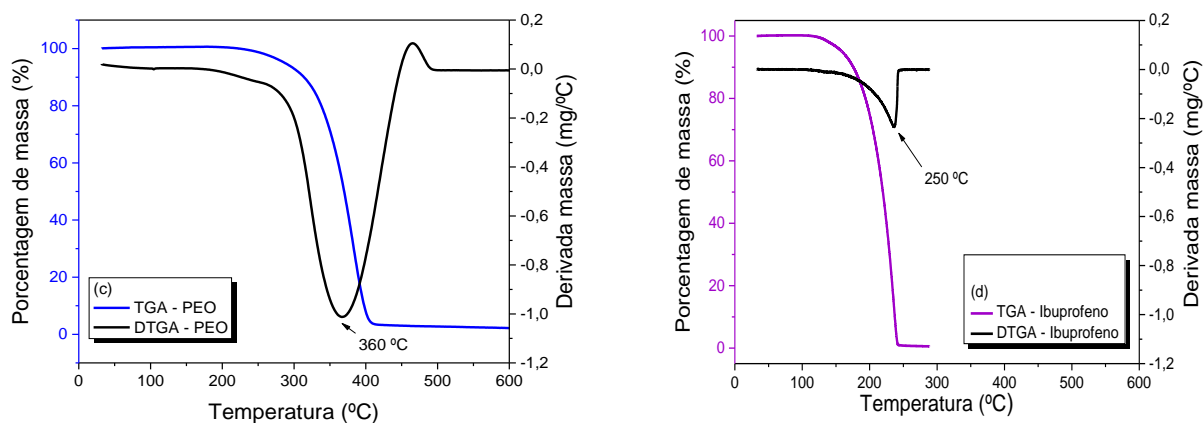
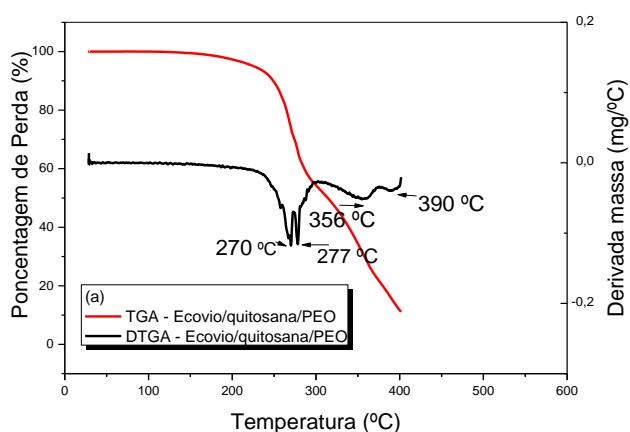


Figura 4.1.2.1: Termogramas das análises termogravimétricas. (a) Ecovio® (—), (b) quitosana (—), (c) PEO (—) e (d) ibuprofeno (—).

Com base nos termogramas das Figuras 4.1.2.1 (a), (b), (c) e (d), foi possível observar que o ecovio® apresenta dois eventos térmicos, um em 320 °C referente ao PLA e o outro em 380 °C relativo ao PBAT, a quitosana apresenta um evento em 300 °C, o PEO mostra um evento em 360 °C e o ibuprofeno tem uma perda de massa em aproximadamente 250 °C.

Os termogramas obtidos para os filmes de ecovio®/quitosana/PEO, ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e ecovio® + ibuprofeno, encontram-se nas Figuras 4.1.2.2 (a), (b) e (c).



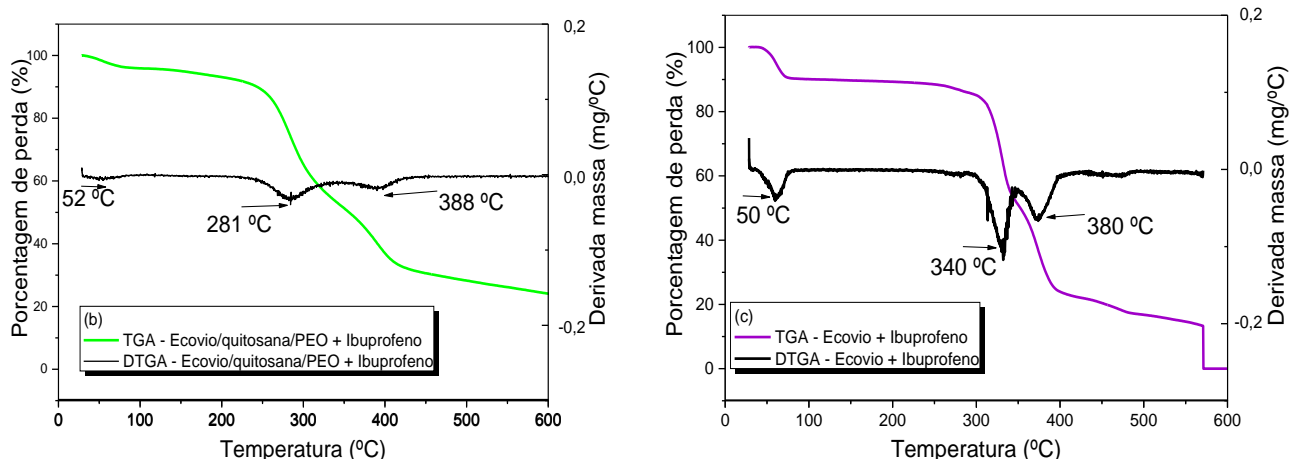


Figura 4.1.2.2: Termogramas das análises termogravimétricas. (a) Ecovio®/quitosana/PEO (—), (b) ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—) e (c) ecovio® + ibuprofeno (—).

De acordo com Sheg *et al.* (2020), pode ser considerado como início da degradação de um composto uma temperatura em que houve perda de 5% da massa inicial e o término da degradação a temperatura que apresenta 95% de perda da massa inicial da análise [65]. Com base nesse conceito foram discutidos os resultados obtidos. A perda de massa que ocorre na faixa de 50 a 100 °C pode ser atribuída a água presente neste material.

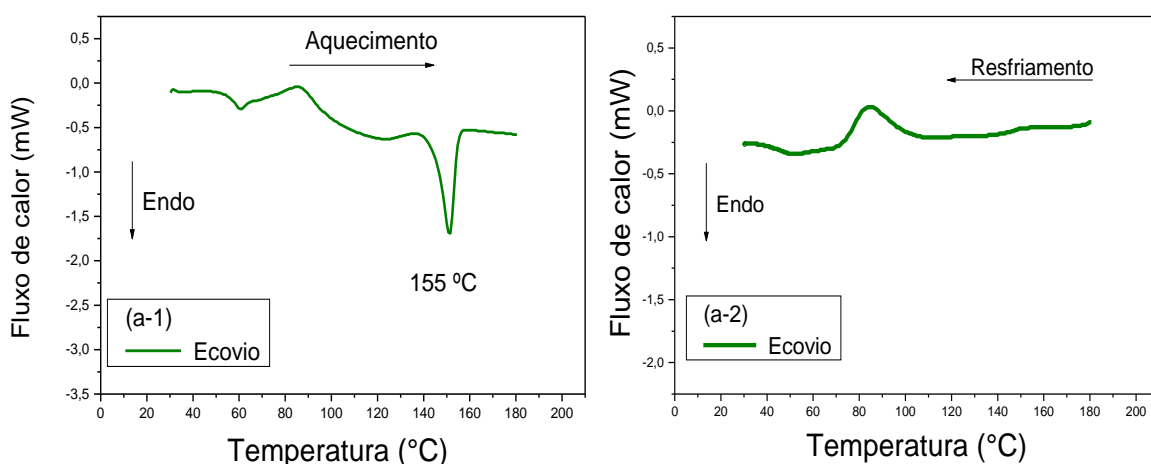
Ao analisar as Figuras 4.1.2.2 (a), (b) e (c), pode-se observar que após a adição da quitosana e do PEO, houve um decréscimo na estabilidade do PLA, em que a temperatura de degradação diminuiu aproximadamente 60 °C. Na região entre 270 e 400 °C, pode-se observar o surgimento de dois eventos térmicos, nesta faixa de temperatura ocorre a degradação da quitosana, PEO, PLA e do PBAT, como observado nas Figuras 4.1.2.1 (a), (b) e (c). Sheng *et al.* (2020), analisaram a TGA / DTGA de PLA e PBAT puro a 10 °C/min e em atmosfera de nitrogênio e observaram que as temperaturas de decomposição em °C foram: PLA – início em 334,7 e término em 384,0 e PBAT – início em 363,8 e término em 420,1 [65], o que ratifica os dados destacados na Figura 4.1.2.1 (a). As decomposições da quitosana pura e do PEO puro ocorrem na mesma faixa dos polímeros PLA e PBAT [66, 67].

Após a adição do ibuprofeno nos filmes (Figura 4.1.2.2 (b)), em comparação com os filmes sem o ibuprofeno (Figura 4.1.2.2 (a)), nota-se um aumento de aproximadamente 10 °C na temperatura de degradação do PLA, além da mudança no perfil de decomposição dos polímeros, ou seja, a temperatura de degradação tanto para o PBAT quanto para o PLA, passou de dois eventos térmicos para apenas um, comprovados pela DTGA. Ao analisar os filmes de ecovio® na presença do fármaco e na ausência de quitosana e PEO (Figura 4.1.2.2 (c)), pode-se dizer, que a inserção do fármaco promoveu maior alteração na temperatura de degradação do polímero PLA, em que aumentou a temperatura de degradação em 20 °C, quando comparado com o filme de ecovio puro (Figura 4.1.2.1 (a))

Esses resultados corroboram com as análises de MEV, indicando que houve a incorporação do fármaco nos filmes poliméricos e que possivelmente ocorre uma maior interação do ibuprofeno com PLA quando comparado ao PBAT.

4.1.3 Análises de calorimetria exploratória diferencial

Nas Figuras 4.1.3.1 (a-1 e a-2), (b) e (c) estão apresentadas as variações energéticas (processos endotérmicos, exotérmicos e mudanças na capacidade calorífica) dos materiais ecovio®, quitosana e PEO, obtidas pelas análises de DSC.



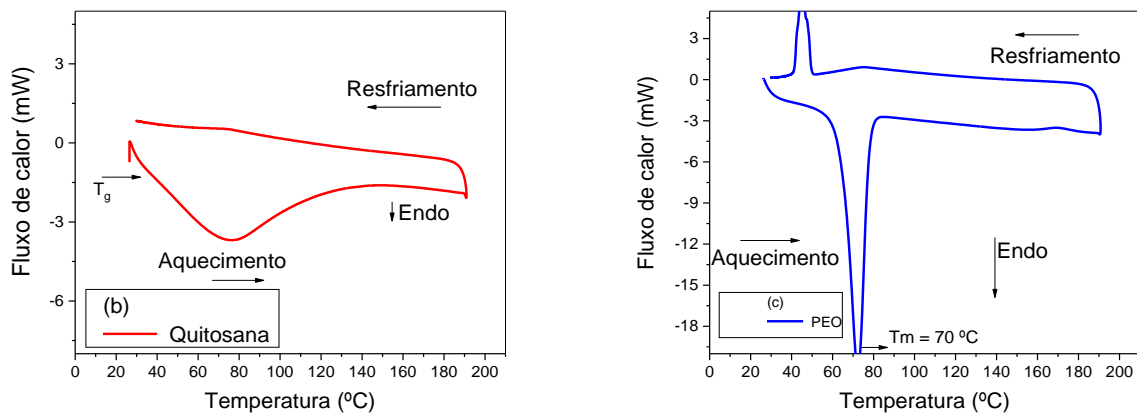


Figura 4.1.3.1: Termogramas das análises de calorimetria exploratória diferencial. (a-1) e (a-2) Ecovio® (—), (b) quitosana (—) e (c) PEO (—).

Com base nos termogramas das Figuras 4.1.3.1 (a), (b) e (c), pode-se afirmar que o ecovio® puro possui um pico endotérmico em 155 °C e o PEO apresenta temperatura de fusão (T_m), dada pelo pico endotérmico, em 67 °C. Isto está em concordância com outros trabalhos encontrados na literatura [11, 66, 67].

Já na Figura 4.1.3.2 são mostradas as variações energéticas dos materiais ecovio®/quitosana/PEO na presença e ausência do ibuprofeno, bem como do ecovio® na presença de ibuprofeno, obtidas pelas análises de DSC.

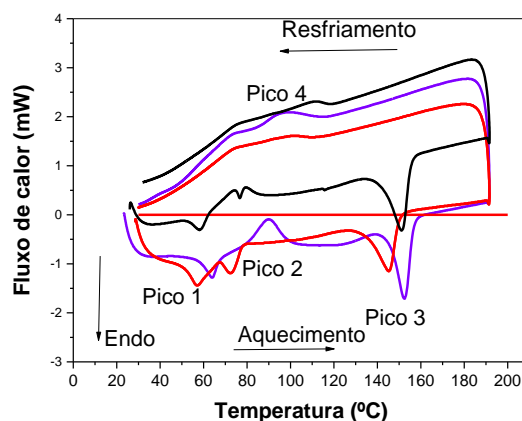


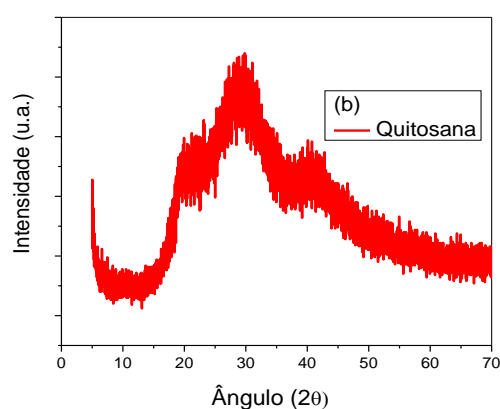
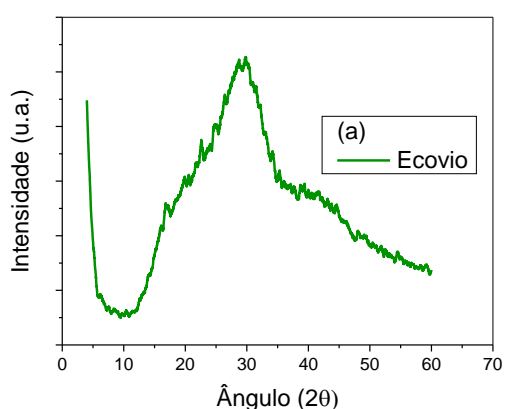
Figura 4.1.3.2: Sobreposição de termogramas da análise de DSC dos diferentes filmes. Ecovio® + ibuprofeno (—); Ecovio®/quitosana/PEO (—) e Ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—).

Ao analisar os termogramas foi possível observar os picos de fusão e recristalização dos polímeros PLA e PBAT. O PBAT mostrou dois picos endotérmicos em, aproximadamente, 60 °C e 120 °C. O pico 1 (60 °C), é atribuído à fusão da parte alifática do PBAT [68] e o pico 2 (120 °C), é referente a fusão da parte aromática do PBAT, o que é confirmado pela literatura que relata que o PBAT apresenta dois picos endotérmicos em 60,4 °C e 126,4 °C [11]. O PLA apresenta um pico endotérmico (temperatura de fusão – Pico 3) na faixa de 155,4 e 151,0 °C [11]. Como as análises de DSC foram feitas com as misturas de PLA e PBAT, houve uma sobreposição entre as região de fusão do PBAT (Pico 1) e a região de cristalização do PLA, que ocorreu em, aproximadamente, 60 °C, o que foi ratificado pela literatura que informa que a temperatura de transição vítrea (T_g) do PLA é de 60,9 °C [11]. Já o pico 4 é atribuído a recristalização dos polímeros.

Os termogramas apresentados na presença e ausência de quitosana e PEO mostram que a presença de ibuprofeno nos polímeros ecovio®, quitosana e PEO ocasionou um aumento na temperatura de fusão quando comparado com o termograma das fibras contendo apenas ecovio®, além disso, na cristalização a observação foi semelhante, o que indica que ocorreu em um meio mais energético e que as fibras interagiram quimicamente. Vale ressaltar que o pico endotérmico da T_m do PEO ocorre na mesma faixa dos picos 1 e 2.

4.1.4 Análises de difração de raios-X

O grau de cristalinidade dos materiais produzidos, foi determinado pelas análises de difração de raios-X. As Figuras 4.1.4.1 (a), (b), (c) e (d) mostram os difratogramas dos materiais puros.



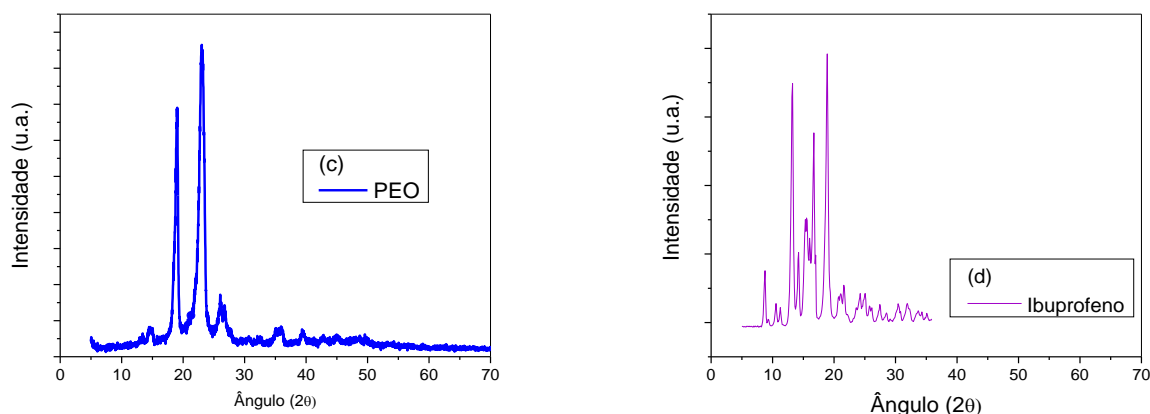


Figura 4.1.4.1: Difratoigramas da análise de DRX. (a) Ecovio® (—), (b) quitosana (—), (c) PEO (—) e (d) ibuprofeno (—).

Pode-se observar que os polímeros ecovio® e quitosana apresentaram características predominantemente amorfas, entretanto o PEO mostrou picos em 19° e 23° e o ibuprofeno em 6°, 14°, 17° e 19°. Esses picos também foram observados por outros pesquisadores [11, 69, 70 e 71].

A Figura 4.1.4.2 mostra as análises de DRX para os seguintes filmes: ecovio®/quitosana/PEO, ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno e ecovio® + ibuprofeno.

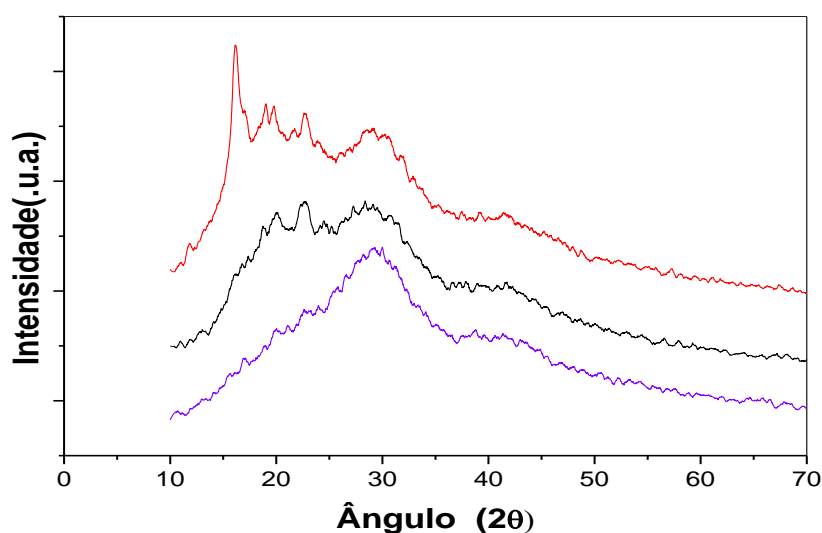


Figura 4.1.4.2: Sobreposição de difratoigramas da análise de DRX dos diferentes filmes. Ecovio®/quitosana/PEO (—); Ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno (—) e Ecovio® + ibuprofeno (—).

O difratograma do filme na ausência de ibuprofeno apresenta picos em, aproximadamente, 19° e 23°, referentes ao PEO que possui estrutura cristalina. Isto está de acordo com a Figura 4.1.4.1 (c) e com os dados apresentados na literatura, que ratificam que o PEO puro exhibe dois picos em 19° e 23° [69]. Vale destacar que a blenda de quitosana e PEO expõe um pico largo em 29° [72], entretanto, este pico pode se sobrepor ao halo do PLA.

Já o halo amorfo observado no intervalo 25-35° foi atribuído ao PLA, como observado por Arruda et al. (2015) [11] e exibido na Figura 4.1.4.1 (a). Os picos de difração observados na Figura 4.1.4.2 (a) em, aproximadamente, 17°, 20°, 22° e 24°, são referentes ao PBAT, indicando uma estrutura cristalina [11].

O filme com apenas ecovio® + ibuprofeno mostrou características amorfas e os filmes constituídos por quitosana e PEO apresentaram picos mais acentuados, com diminuição da intensidade após a adição do ibuprofeno, indicando que houve interação entre o polímero e o fármaco.

4.2 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO

Após a adição do fármaco nas fibras realizou-se as análises para determinar a liberação do mesmo para o meio, entretanto, inicialmente foram avaliados os parâmetros de validação faixa de trabalho, linearidade e seletividade.

4.2.1 Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade do método foi verificada com o uso de uma curva analítica, com seis níveis de concentrações e três réplicas em cada nível, que compreenderam o intervalo de 20% à 120% (0,0034 mg/mL à 0,0204 mg/mL de ibuprofeno) da concentração nominal da amostra, seguindo a RDC 166/2017, que estabelece que é necessário utilizar no mínimo 5 níveis de concentrações em triplicata [64].

A Figura 4.2.1.1 apresenta o diagrama de dispersão, que permite a visualização de uma possível associação entre as variáveis quantitativas.

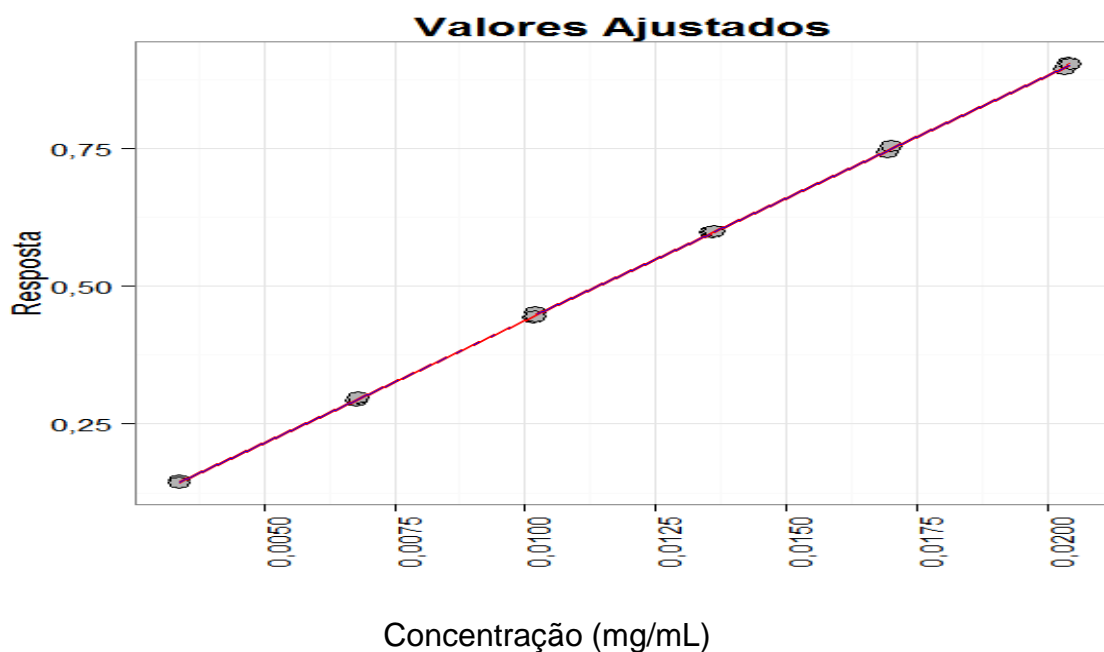


Figura 4.2.1.1: Diagrama de distribuição para a curva de absorvância x concentração de ibuprofeno nas concentrações 0,0034 mg/mL à 0,0204 mg/mL.

Pode-se observar que a linearidade do método mostra que a resposta analítica é diretamente proporcional a concentração de ibuprofeno e varia de forma linear no intervalo de 20% a 120%. Baseado no diagrama de dispersão, foi aplicado o método dos mínimos quadrados ordinários para a estimação dos parâmetros de regressão.

4.2.2 – Teste do coeficiente angular

Para avaliar a significância do modelo foi utilizado o teste F da ANOVA. Neste caso, foram testadas as hipóteses:

H_0 : coeficiente angular igual a zero;

H_1 : coeficiente angular diferente de zero.

Na tabela 4.2.2.1, são apresentados os resultados do teste F da anova do coeficiente angular.

Tabela 4.2.2.1: Resultados do teste F da ANOVA para o coeficiente angular.

	G.L.	Soma de quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Concentração	1	1,2026	1,2026	154071,8553	0
Resíduos	16	0,0001	0		

De acordo com a tabela 4.2.2.1, o P-valor (zero) do teste F da ANOVA é menor do que 0,05 (conforme especificado), então, a hipótese nula (coeficiente angular igual zero) é rejeitada ao nível de significância de 5% [64]. Conseqüentemente, é possível afirmar que estatisticamente há uma correlação entre a concentração e a absorvância na faixa estudada.

4.2.3 – Teste do coeficiente linear (Intercepto)

Foi avaliado também o intercepto (coeficiente linear) com o uso da estatística t de Student, com as seguintes hipóteses:

H₀: intercepto (coeficiente linear) igual a zero;

H₁: intercepto diferente de zero.

O teste t de Student apresentou P-valor ($3e^{-04}$) menor que 0,05, por isso foi rejeitada a hipótese nula (intercepto igual a zero) ao nível de significância de 5%. Logo, o coeficiente linear é significativo e diferente de zero, o que indica que as quantificações de ibuprofeno devem ser realizadas frente a uma curva de calibração ao invés de um ponto único para a padronização na rotina de análise, conforme o que é preconizado pela RDC 166/2017 [64].

4.2.4 – Impacto do coeficiente linear (Intercepto)

O impacto do coeficiente linear foi avaliado com base nos resultados obtidos a partir dos diferentes níveis de concentrações de ibuprofeno. Conforme a tabela 4.2.4.1.

Tabela 4.2.4.1: Impacto do coeficiente linear sobre a quantificação de ibuprofeno na faixa de trabalho do método.

Concentração	Resposta	Ponto	Impacto do coeficiente linear (%)
0,0034	0,147	1	4,756
0,0034	0,146	1	4,7886
0,0034	0,142	1	4,9235
0,0068	0,292	2	2,3943
0,0068	0,296	2	2,3619
0,0068	0,297	2	2,354
0,0102	0,443	3	1,5782
0,0102	0,453	3	1,5433
0,0102	0,445	3	1,5711
0,0136	0,597	4	1,1711
0,0136	0,598	4	1,1691
0,0136	0,599	4	1,1672
0,0169	0,743	5	0,941
0,0170	0,754	5	0,9272
0,0170	0,754	5	0,9272
0,0203	0,895	6	0,7812
0,0204	0,905	6	0,7725
0,0204	0,903	6	0,7742

Com base nos dados exibidos na tabela 4.2.4.1 foi possível observar que o impacto do coeficiente linear é alto quando a concentração é baixa e baixo quando a concentração é alta, o que ratifica a necessidade de utilizar uma curva de calibração para a quantificação de ibuprofeno.

4.2.5 – Coeficiente de correlação de Pearson

Neste caso em que o modelo de ajuste dos dados foi o linear, o coeficiente de correlação de Pearson (r) mediu o grau de proporcionalidade entre a variável explicativa (concentração) e a variável resposta (absorvância). A avaliação da qualidade do modelo de ajuste do conjunto de dados foi feita a partir do r , conforme os dados da tabela 4.2.5.1.

Tabela 4.2.5.1: A avaliação da qualidade do modelo de ajuste do conjunto de dados.

Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R²	Coefficiente de Correlação
0,0028	16	0,9999	0,9999

De acordo com a tabela 4.2.5.1, o método para a quantificação de ibuprofeno por espectroscopia no UV-Vis pode ser considerado linear, uma vez que o r obtido foi igual a 0,9999, o que demonstrou que os resultados alcançados são diretamente proporcionais à concentração da curva de calibração dentro do intervalo analisado, pois o r é maior do que 0,9900, como preconizado pela ANVISA [64].

4.2.6 – Teste de normalidade dos resíduos

O resíduo obtido em cada nível da linearidade é calculado por meio da diferença entre a absorvância medida experimentalmente e a absorvância estimada pelo modelo utilizado para o conjunto de dados. Para avaliar a normalidade dos resíduos, foi empregado o teste de Shapiro-Wilk com as seguintes hipóteses:

H₀: a distribuição dos resíduos é Normal;

H₁: a distribuição dos resíduos não é Normal.

Na tabela 4.2.6.1 são mostrados os resultados da distribuição dos resíduos.

Tabela 4.2.6.1: Resultados do teste de normalidade de resíduos de Shapiro-Wilk.

	Estatística	P-valor
Shapiro-Wilk	0,9557	0,521

Como P-valor (0,521) do teste de Shapiro-Wilk é maior que 0,05, não foi rejeitada a hipótese de normalidade dos resíduos ao nível de significância de 5%. Logo, a distribuição dos resíduos é normal, o que indica que os erros analíticos são majoritariamente aleatórios e sem indícios de tendência [73].

4.2.7 – Avaliação da homocedasticidade: Teste de Breusch Pagan

O teste Breusch Pagan foi utilizado para avaliar a homogeneidade das variâncias (Homocedasticidade) com o seguinte teste de hipóteses:

H_0 : Variâncias dos níveis são iguais;

H_1 : Pelo menos uma variância diferente.

A seguir são mostrados os resultados do teste de Breusch Pagan na tabela 4.2.7.1.

Tabela 4.2.7.1: Teste de homocedasticidade – Breusch Pagan.

Estatística	GL	P-valor
0,0434	1	0,835

Como P-valor (0,835) do Teste de Breusch Pagan é maior que 0,05 (conforme proposto), não é rejeitada a hipótese de igualdade das variâncias ao nível de significância de 5%. Logo, o modelo é considerado homocedástico, o que mostra que ao longo dos níveis de concentração as variâncias são equivalentes [73].

4.2.8 – A avaliação de valores extremos na resposta (outliers)

Um valor extremo na resposta é um número que é discrepante do conjunto de dados. Como critério, um valor é considerado como extremo na resposta, quando as observações com resíduos padronizados e/ou studentizados são maiores do que 3 [73].

Nesta seção, os resíduos foram avaliados em relação a curva de ajuste e cada resíduo foi dividido pelo desvio padrão de todos os resíduos. Com isso, foi possível expor os resíduos em termos de desvio padrão. Os resultados encontram-se na Figura 4.2.8.1.

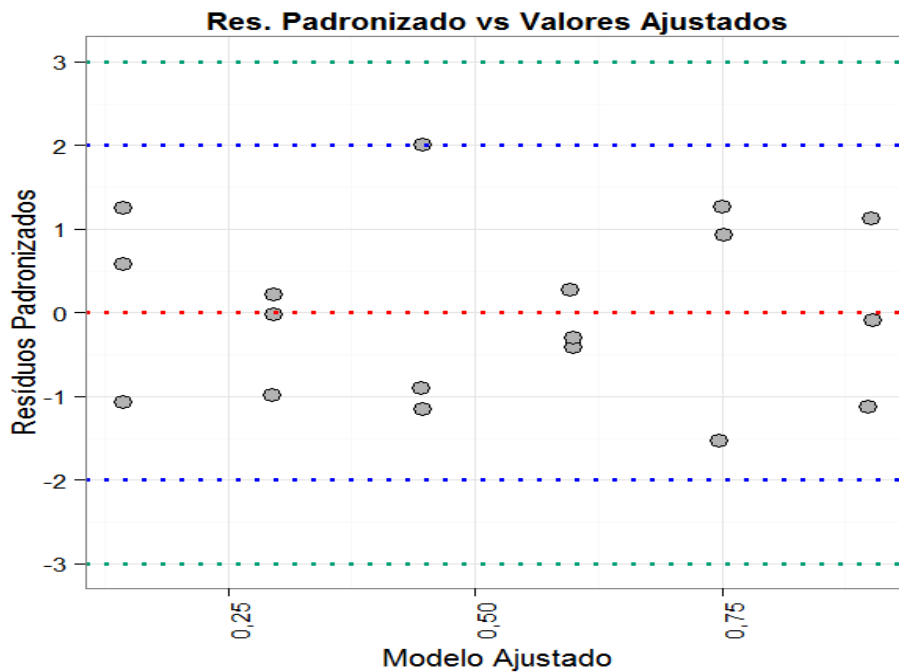


Figura 4.2.8.1: Distribuição de resíduos padronizados para a avaliação de tendência dos resíduos.

A partir da Figura 4.2.8.1, foi possível concluir que não foi encontrado nenhum valor extremo, pois todos os resultados de resíduos padronizados e/ou studentizados são menores do que 3. Com isso, pode-se assegurar que todos os valores são representativos do conjunto de dados do modelo linear. Com isso, pode-se afirmar que é aleatória a distribuição dos resíduos em torno do eixo de concentrações, o que comprova que estes não apresentam tendência nos resultados.

4.2.9 – Teste de independência dos dados

A avaliação do teste de independência dos dados foi feita para provar se os valores contidos no conjunto de dados apresentam tendência semelhante por causa de dependência entre os pontos [73]. Para avaliar a independência das observações foi utilizado o teste de Durbin-Watson, que estima os dados baseado no seguinte teste das seguintes hipóteses:

H_0 : Observações são independentes;

H_1 : Observações não são independentes.

A Figura 4.2.9.1, mostra um esquema gráfico com a distribuição de resíduos na ordem das análises, que mostra de maneira visual se existe tendência a resíduos similares em amostras que foram preparadas ou analisadas em instantes próximos.

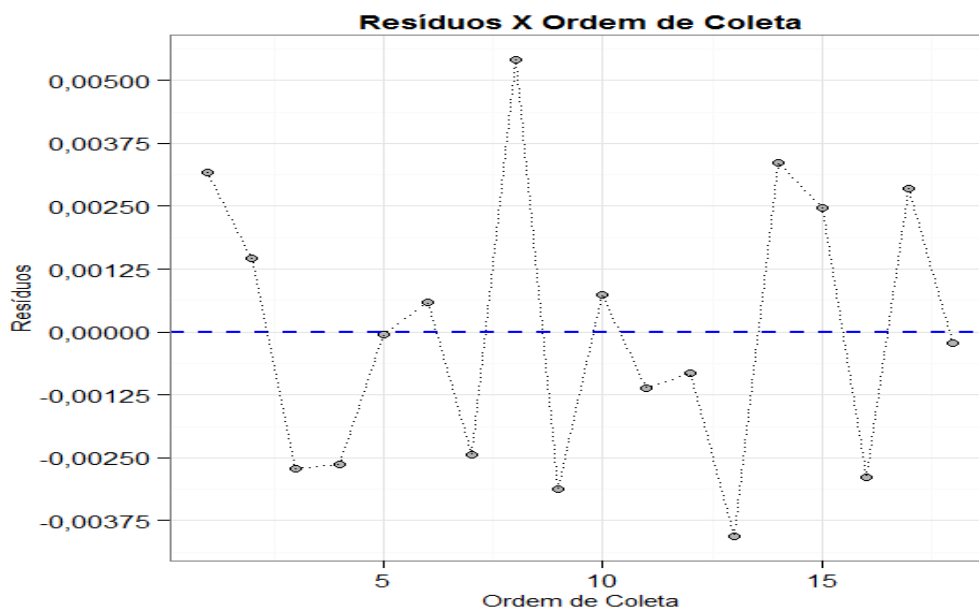


Figura 4.2.9.1: Distribuição de resíduos na ordem de coleta das soluções.

Como P-valor (0,2626) do teste de Durbin-Watson é maior que 0,05. Logo, não foi rejeitada a hipótese de independência das observações ao nível de significância de 5%. Por isso, pode-se dizer que a distribuição de resíduos não possui tendência.

Com base em todos os testes feitos para a avaliação da linearidade para a quantificação de ibuprofeno, pode-se afirmar que o método apresenta linearidade adequada para medir o fármaco.

4.3 TESTE DE LIBERAÇÃO DO IBUPROFENO

Inicialmente realizou-se o teste para avaliar a seletividade do método perante a matriz utilizada. A seletividade foi demonstrada por meio da capacidade de identificar ou quantificar o ibuprofeno, inequivocamente, na presença dos componentes ecovio®/quitosana/PEO. Os resultados das seis alíquotas de amostras que foram coletadas do dissolutor e avaliadas no mesmo comprimento de onda do método (221 nm), mostraram que a seletividade do método foi comprovada, pois a interferência dos componentes ecovio®/quitosana/PEO na análise pode ser considerada praticamente nula (0,033%), o

que exige dessa forma, a possibilidade de interferência do copolímero na quantificação de ibuprofeno [64].

A análise mostra que o método é seletivo para a quantificação de ibuprofeno por espectroscopia no UV-Vis, pois as porcentagens de interferência das absorvâncias são inferiores a 2% em relação à solução padrão [63]. Neste experimento observou-se que os componentes ecovio®/quitosana/PEO não foram dissolvidos visualmente, o que confirma que praticamente nenhuma parcela do copolímero foi dissolvida no meio de dissolução.

Para a realização dos experimentos de liberação, utilizou-se o dissolutor, como mostrado na Figura 4.3.1.



Figura 4.3.1: Dissolutor para a liberação de ibuprofeno com concentração teórica de 8,5 mg de fármaco.

Após avaliar uma possível liberação do copolímero proveniente dos filmes, realizou-se a análise dos perfis de liberação de ibuprofeno para os filmes eletrofiados de ecovio® e ecovio®/quitosana/PEO. Além disso, foram testados dois filmes obtidos por *casting*, pois é a forma mais usada para o preparo deste tipo de estudo [74]. As análises foram feitas em triplicata e os resultados obtidos encontram-se na Figura 4.3.2.

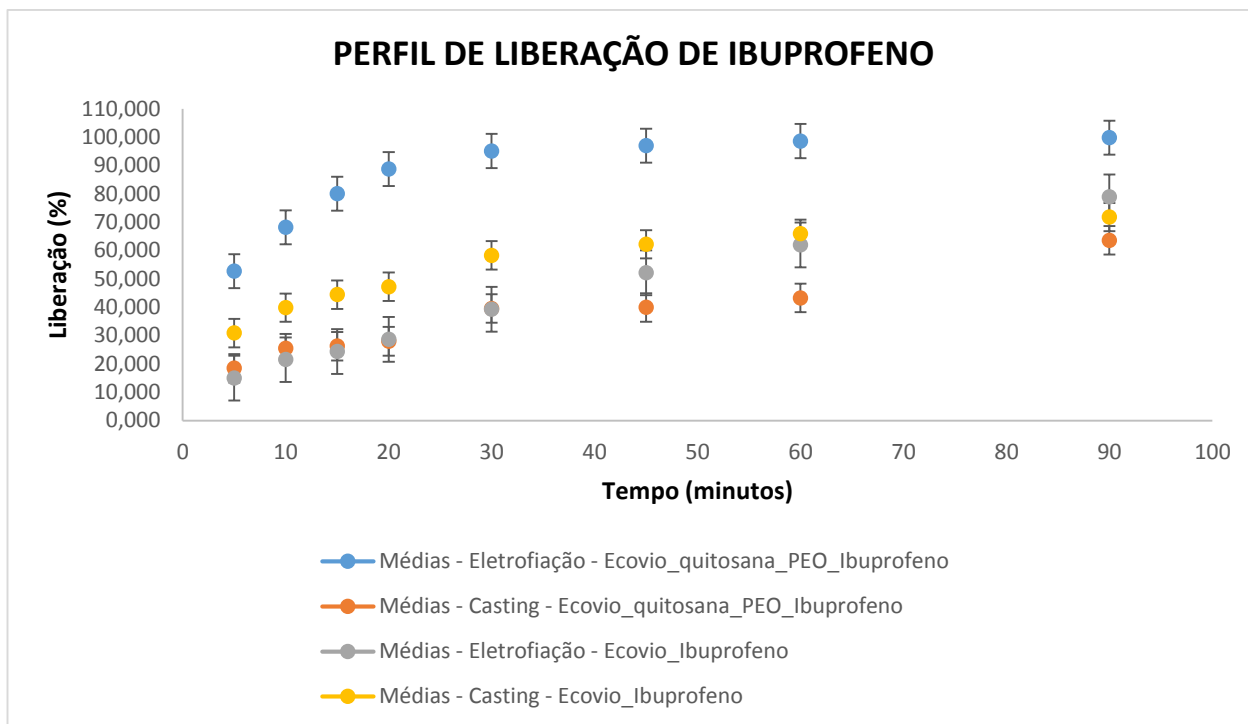


Figura 4.3.2: Perfil de dissolução de ibuprofeno liberado em função do tempo.

O perfil de dissolução do filme de ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno mostra que em 5 minutos, foi liberado aproximadamente, 53% do ativo disponível e, aproximadamente, 95% em 30 minutos. De acordo com a resolução – RDC N° 31, para que um medicamento seja considerado de liberação rápida, este deve apresentar dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em 30 minutos [75].

Embora haja divergências na literatura, a *Food and Drug Administration* informa que um medicamento pertencente à classe II do sistema de Classificação Biofarmacêutica deve apresentar liberação $\geq 85\%$ em 30 minutos [76]. Portanto, foi possível afirmar que o filme produzido apresentou dissolução rápida para a liberação transdérmica do fármaco, pois o estudo de liberação foi realizado em condições que simulam os estados da pele que o medicamento encontrará nos seres humanos, conforme o que é recomendado pela farmacopeia americana [63].

Ao comparar o filme eletrofiado com o filme produzido por casting de ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno, pode-se observar que o filme obtido por *casting* libera apenas 64% em 90 min., possuindo uma liberação mais lenta no início com um aumento após o tempo de dissolução de 60 minutos. A rápida liberação observada pelos filmes eletrofiados podem ser atribuídas ao aumento da área superficial do filme, que com o uso

da eletrofiação tende a ser maior. Megliorini (2019), comparou a liberação de membranas produzidas por *casting* e por eletrofiação, constatando que os filmes produzidos por *casting* apresentam uma liberação mais lenta, conforme o que foi observado neste trabalho [77].

Quando comparados os filmes contendo apenas o polímero ecovio®, pode-se observar que o filme obtido por eletrofiação tem liberação inicial mais lenta, isso ocorre, possivelmente, pois ao eletrofiar usando este polímero, o ibuprofeno tende a ficar no interior das fibras, que por serem hidrofóbicas retardam o início da liberação, entretanto ao final de 90 minutos a liberação foi ligeiramente maior que o filme obtido por *casting*.

O filme eletrofiado que apresentou menor liberação foi o de ecovio® + ibuprofeno, isso ocorre possivelmente devido ao seu caráter hidrofóbico [36,12], fazendo com que o menor contato inicial com a solução diminua sua liberação, entretanto após 90 minutos sua liberação foi de aproximadamente 80%, valor superior ao filme obtido por *casting*.

Apesar de alguns filmes terem apresentado liberação menor que 80% em 90 minutos, novos estudos podem ser realizados para avaliar a viabilidade de sua utilização, pois o fármaco pode ser liberado depois de 90 minutos.

Os resultados obtidos com os filmes produzidos são promissores para a liberação transdérmica, uma vez que o medicamento é amplamente utilizado para o combate da febre, dores e inflamações [29]. Portanto, acredita-se que esta modalidade de aplicação do fármaco é uma possibilidade com grande potencial que deve ser ainda mais investigada, já que o tratamento pode ser realizado *in loco*, o que acelera o processo de alívio da dor do paciente. Além disso, este material pode diminuir os efeitos colaterais gerados pelo uso diário do ibuprofeno, pois o uso contínuo por via oral reduz a concentração de prostaglandinas (substâncias que contribuem para o funcionamento de células e tecidos do organismo) e diminui as defesas do estômago contra o suco gástrico, o que pode causar gastrites e úlceras [26, 30].

É importante destacar que a presença dos polímeros quitosana e PEO nos filmes favoreceu as membranas produzidas, pois a quitosana apresenta adesividade mecânica [77] e o PEO é utilizado em pesquisas científicas na produção de filmes finos [16] e atua como portador de quitosana no processo de eletrofiação [47]. Contudo, o teste *in vivo* se

faz necessário para os filmes fabricados, pois esses estudos geram dados que substituem os resultados *in vitro* [76].

CAPÍTULO 5

CONCLUSÃO

Com base nas técnicas de eletrofiação e de *casting* foi possível produzir filmes de ecovio®/quitosana/PEO incorporados ao ibuprofeno. Esta incorporação pode ser observada usando as técnicas de MEV, TGA, DSC e raios-x. Para avaliar as medidas de liberação (quantificação do ibuprofeno), realizou-se parâmetros de validação do método analítico utilizado para a quantificação, o qual mostrou seletividade e linearidade, sem interferência da matriz.

Os filmes produzidos por eletrofiação de ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno apresentaram dissolução rápida, com liberação de aproximadamente 95% da substância ativa em 30 minutos de dissolução. Assim, pode-se afirmar que os filmes gerados possuem perfil de dissolução rápida para a liberação transdérmica do fármaco, uma vez o estudo de liberação foi realizado em condições que simulam os estados da pele que o medicamento encontrará nos seres humanos. Além disso, o estudo de liberação (*in vitro*) do ibuprofeno em função do tempo, mostrou que 100% do fármaco foi liberado de forma reprodutível em 90 minutos. Com isso, foi possível constatar que os filmes produzidos por eletrofiação de ecovio®/quitosana/PEO incorporados ao ibuprofeno demonstraram-se promissores para liberação transdérmica. Já o filme eletrofiado de ecovio® + ibuprofeno e os filmes de ecovio® + ibuprofeno e ecovio®/quitosana/PEO + ibuprofeno produzidos por *casting* apresentaram resultados na faixa de 60-80% de fármaco, o que indica que em 90 minutos não houve uma liberação completa do fármaco disponível.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Zarbin AJG. Química de (nano) materiais. *Química Nova*. 2007; 30: 1469-1479.
- 2 Yeh NC. Nanotechnology for electronics & photonics. *Technovation*. 2013; 33, 108.
- 3 A. Mihranyan, A, Ferraz N, Stromme M. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Progress in Materials Science*. 2012; 57: 875–910.
- 4 Pomerantseva E, Bonaccorso F, Feng X, Cui Y, Gogotsi Y. Energy storage: The future enabled by nanomaterials. *Science*. 2019; 366: 1-14.
- 5 Min Y, Caster JM, Eblan MJ, Wang AZ. Clinical Translation of Nanomedicine. *Chemical reviews*. 2015; 115: 11147–11190.
- 6 Rowe CR, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6ª Edição. Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association; 2006.
- 7 Wan LSC, Lim LY. Drug release from heat-treated polyvinyl alcohol films. *Drug Dev Ind Pharm*. 1992; 18: 1895–1906.
- 8 Jones DS, Lawlo MS, Woolfson AD. Rheological and mucoadhesive characterization of polymeric systems composed of poly(methylvinylether-co-maleic anhydride) and poly(vinylpyrrolidone) designed as platforms for topical drug delivery. *J Pharm Sciences*. 2003; 92: 995–1007.
- 9 Coelho MRG, Gomes AS. Síntese de copolímeros em bloco com propriedades líquido cristalinas. *Química Nova*. 2007; 30: 636-642.
- 10 Al-Itry R, Lamnawar K, Maazouz A. Improvement of thermal stability, rheological and mechanical properties of PLA, PBAT and their blends by reactive extrusion with functionalized epoxy. *Polymer Degradation and Stability*. 2012; 97:1898-1914.
- 11 Arruda LC, Magaton M, Bretas RES, Ueki MM. Influence of chain extender on mechanical, thermal and morphological properties of blown films of PLA/PBAT blends. *Polymer Testing*. 2015; 43: 27-37.
- 12 Kijchavengkul T, Auras R, Rubino M, Selke S, Ngouajio M, Fernandez RT. Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. *Polymer Degradation and Stability*. 2010; 95: 2641-2647.
- 13 Laranjeira MCM, Fávere VT. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. *Química Nova*. 2009; 32: 672-678.
- 14 Pereira AGB, Gouveia RF, Rubira AF, Muniz E. Blendas de poli (óxido de etileno) e amido: avaliação da miscibilidade e velocidade crescimento de esferulitos por meio de análise térmica e microscopia óptica. *Ipen*. 2007; 9: 1-10.
- 15 Mansur CRE, González G, Lucas EF. Estudo de soluções aquosas de copolímeros em bloco de poli (óxido de etileno)-poli(óxido de propileno) utilizando calorimetria exploratória diferencial (DSC). *SciELO*. 1999; 9: 45-53.

- 16 Bhattarai N, Edmondson D, Veiseh O, Matsen FA., Zhang M. (2005). Electrospun chitosan-based nanofibers and their cellular compatibility. *Biomaterials*. 2005; 26: 6176-6184.
- 17 Pillay V, Dott C, Choonara YE, Tyagi C, Tomar L, Kumar P, *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: 1-22.
- 18 Doshi J, Reneker DH. Electrospinning process and applications of electrospun fibres. *Journal of Electrostatics*. 1995; 35: 151-160.
- 19 Reneker DH, Chun I. Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning. *Nanotecnologia*. 1996; 7: 216-223.
- 20 Deitzel JM, Kleinmeyer J, Harris D, Tan NCB. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*. 2001; 42: 261-272.
- 21 Jr. Allen LD, Popovich NG, Ansel HC. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 9ª Edição. Artmed; 2013.
- 22 Potts RO, Francoeur ML. The influence of stratum corneum morphology on water permeability. *J Invest Dermatol*. 1991; 96:495–999.
- 23 Tombs EL, Nikolaou V, Nurumbetov G, Haddleton DM. Transdermal Delivery of Ibuprofen Utilizing a Novel Solvent-Free Pressure-sensitive Adhesive (PSA): TEPI® Technology. *J. Pharm. Innov*. 2018; 13: 48-57.
- 24 ChemicalBook - https://www.chemicalbook.com/ProductList_En.aspx?kwd=ibuprofen. Acessado em 08/01/2021.
- 25 Rhee YS, Chang SY, Park CW, Chi SC, Park ES. Optimization of ibuprofen gel formulations using experimental design technique for enhanced transdermal penetration. *Int. J. Pharm*. 2008; 364:14–20.
- 26 Ibuprofeno. Toledo - PR: Prati-Donaduzzi. Bula de medicamento.
- 27 Seabra CIR. *Farmacocinética do Ibuprofeno [tese]*. Porto: Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde; 2015.
- 28 Langman MJS, Weil J, Wainwright P, Lawson DH, Rawlins MD, Logan RFA, *et al.* Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet*. 1994; 343:1075–1078.
- 29 Filippa MA, Gasull EI. Ibuprofen solubility in pure organic solvents and aqueous mixtures of cosolvents: Interactions and thermodynamic parameters relating to the solvation process. *Fluid Phase Equilibria*. 2013; 354:185-190.
- 30 Hilário MOE, Terreri MT, Len CA. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. *SciELO*. 2006; 82: 206-212.
- 31 Salomé GM, Ferreira LM. Impacto do curativo de espuma não aderente com Ibuprofeno na vida dos pacientes com úlcera venosa. *SciELO*. 2017; 44: 116-123.
- 32 Moser H, Pereima RR, Pereima MJL. Evolução dos curativos de prata no tratamento de queimaduras de espessura parcial. *Revista Brasileira de Queimaduras*. 2013; 12: 60-67.

- 33 Zheng LY, Zhu JF. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydr. Polym.* 2003; 54: 527-530.
- 34 Juraski AC, Malmonge SM, Daghashtanli NA, Daguano JKMB. Desenvolvimento de hidrogéis de quitosana associados a ibuprofeno para liberação controlada. A produção do conhecimento na Engenharia Biomédica. 2019; 149-158.
- 35 Norma ASTM D6400-04. Standard Specification for Compostable Plastics. 2017.
- 36 Ray SS, Bousmina M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. *Progress in Materials Science.* 2005; 50: 962-1079.
- 37 Lin S, Guo W, Chen C, Ma J, Wang B. Propriedades mecânicas e morfologia de misturas biodegradáveis de poli (ácido láctico) / poli (butileno adipato-co-tereftalato) compatibilizadas por transesterificação. *Materiais e Design.* 2012; 36: 604 – 608.
- 38 BASF [homepage na internet]. Ecovio [acesso em 07 dez. 2021]. Disponível em: <https://ecovio.basf.com.br/transformador>.
- 39 Felipe LO, Rabello LA, Júnior ENO, Santos IJB. Quitosana: da Química Básica à Bioengenharia. *Química e Sociedade.* 2017; 39: 312-320.
- 40 He P, Davis SS, Illum L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *International Journal of Pharmaceutics.* 1998; 166: 75-88.
- 41 Pillai CKS, Paul W, Sharma CP. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science.* 2009; 34: 641-678,
- 42 Okamoto Y, Kawakami K, Miyatake K, Morimoto M, Shigemasa Y, Minami S. Analgesic effects of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers.* 2002; 49: 249-252.
- 43 Jung EJ, Youn DK, Lee SH, No HK, Ha JG, Prinyawiwatkul, W. Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2010; 45: 676-682.
- 44 Liu XF, Guan YL, Yang DH, Li Z, De Yao K. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *J. Appl. Polym. Sci.* 2001; 79: 1324-1335.
- 45 Desai K, Kit K, Li J, Zivanovic S. Morphological and surface properties of electrospun chitosan nanofibers. *Biomacromolecules.* 2008; 9: 1000-1006.
- 46 Geng X, Kwon OH, Jang J. Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials.* 2005; 26: 5427-5432.
- 47 Pakravan M, Heuzey MC, Aiji A. A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. *Polymer.* 2011; 52: 4813-4824.
- 48 Taylor G. Jatos elétricos conduzidos. *Proceedings of the Royal Society of London.* 1969; 313: 453–475.
- 49 Wallace GG, Higgins MJ, Moulton SE, Wang C. Nanobionics: the impact of nanotechnology on implantable medical bionic devices. *Nanoscale.* 2012; 4: 4327-4347.
- 50 Sill TJ, von Recum HA. Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials.* 2008; 29: 1989–2006.

- 51 Megelski S, Stephens JS, Bruce Chase D, Rabolt JF. Micro and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*. 2002; 35: 8456–8466.
- 52 Folkman J, Long DM, Rosenbau R. Silicone rubber - a new diffusion property useful for general anesthesia. *Science*. 1966; 154: 148 – 149.
- 53 Folkman J, Long DM. The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy. *Surg. Res*. 1964; 4: 139-142.
- 54 Boateng JS, Matthews KH, Stevens HNE, Eccleston GM. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008; 97: 2892-2923.
- 55 Santana GM. Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos baseados em agarose com a incorporação de ciprofloxacina para utilização como novo substituto temporário de pele [dissertação (mestrado)]. Recife: Curso de Programa de Pós-graduação Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco; 2015.
- 56 Ambrogi V, Pietrella D, Nocchetti M, Casagrande S, Moretti, V, De Marco S, *et al.* Montmorillonite–chitosan–chlorhexidine composite films with antibiofilm activity and improved cytotoxicity for wound dressing. *Journal of colloid and interface science*. 2017; 491: 265-272.
- 57 Cheirmadurai K, Thanikaivelan P, Murali R. Highly biocompatible collagen–delonix regia seed polysaccharide hybrid scaffolds for antimicrobial wound dressing. *Carbohydrate polymers*. 2016; 137: 584-593.
- 58 Gomes DN. Desenvolvimento e caracterização de filmes de alginato incorporados com extratos de *Anadenanthera colubrina* (vell.) Brenan visando o desenvolvimento de substituto temporário de pele [dissertação (mestrado)]. Recife: Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica; 2016.
- 59 Rhee YS, Chang SY, Park CW, Chi SC, Park ES. Optimization of ibuprofen gel formulations using experimental design technique for enhanced transdermal penetration. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008; 364: 14-20.
- 60 Ferreira MV. Produção de membranas de acetato de celulose simétricas e assimétricas para aplicação na liberação dos fármacos Ibuprofeno e Naproxeno [dissertação (mestrado)]. Uberlândia: Programa de Pós-Graduação em Química; 2019.
- 61 ABNT NBR ISO/IEC nº 17025 de 2005. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração.
- 62 Guia de referência de dissolução. Agilent Technologies, Inc. 2010
- 63 United States Pharmacopeia. Capítulos 40 e 724. 2017.
- 64 Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 166 – Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 24 jul. 2017.
- 65 Sheng X, Lidong F, Xinchao B, Gao L, Xuesi C. Evaluation of PLA content in PLA/PBAT blends using TGA. *Polymer Testing*. 2020; 81: 106211.

- 66 Santos JE, Soares JP, Dockal ER, Filho SPC, Carvalheiro, ETG. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros*. 2003; 13: 242-249.
- 67 Medeiros GB. Preparação e caracterização de nanofibras de zeína/poli (óxido de etileno) por eletrofiação em solução [dissertação (mestrado)]. Londrina: Curso de Programa de Pós-graduação Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2018.
- 68 Gan Z, Kuwabara K, Yamamoto M, Abe H, Doi Y. Solid-state structures and thermal properties of aliphatic–aromatic poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate). *Polymer Degradation and Stability*. 2004; 83: 289-300.
- 69 Lombardo PC. Fotooxidação do compósito poli (óxido de etileno/montmorilonita. Influência da Argila e de fotoestabilizantes [Dissertação (mestrado)]. São Carlos: Curso de Programa de Pós-graduação Ciência e Engenharia de Materiais, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São paulo; 2012.
- 70 Correa KL, Rodrigues APF, Stecanella LA, Pereira RR, Costa RMR, Silva Júnior JOC. Obtenção e caracterização de nanopartículas de quitosana e lecitina para aplicação em formulações farmacêuticas. *Enemp: XXXIX Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados*, 2019: 1-7.
- 71 Peres FO. Estudo de dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e montmorilonita/quitosana [Dissertação (mestrado)]. São Carlos: Curso de Pós-graduação em Química Analítica e Inorgânica, Instituto de Química de São Carlos; 2014.
- 72 Pagno V. Obtenção e Caracterização de membranas poliméricas produzidas a partir da técnica de eletrofiação para remoção do fármaco cloridrato de tetraciclina [Dissertação]. Toledo: Universidade Estadual do Oeste do Paraná; 2018.
- 73 Portal Action. Estatcamp. Disponível em: <http://www.portalaction.com.br/analise-de-regressao/analise-dos-residuos>. Acesso em: 13 de janeiro de 2021.
- 74 Mali S, Grossmann MVE, Yamashita F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. *Semina: Ciências Agrárias*, 2010; 31: 137-156.
- 75 Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 166 – Guia para realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. *Diário Oficial da União*, 11 ago. 2010.
- 76 Guidance for Industry. FDA. Disponível em: <https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/UCM070246.pdf>. Acesso em: 28 de agosto de 2021.
- 77 Megliorini LS. Produção de filmes de PBAT/PLA por eletrofiação para liberação de nitrofurazona [Dissertação (mestrado)]. Toledo: Curso de Pós-graduação em Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná; 2018.