



**Sirlene Adriana Kleinübing**

**“Liberação controlada da oxitetraciclina encapsulada em matriz de  
alginato/quitosana recoberta com Acril-EZE<sup>®</sup> MP em leito  
fluidizado”**

Campinas – SP

2013





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**Sirlene Adriana Kleinubing**

**“Liberação controlada da oxitetraciclina encapsulada em matriz de alginato/quitosana recoberta com Acril-EZE<sup>®</sup> MP em leito fluidizado”**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Lucia Helena Innocentini Mei**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Unicamp para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, na área de concentração Ciência e Tecnologia de Materiais.

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pela aluna Sirlene Adriana Kleinubing.

  
Dra. Lucia Helena Innocentini Mei – Orientadora  
FEQ/Unicamp

Campinas – SP

2013

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura  
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

K674I Kleinubing, Sirlene Adriana, 1980-  
Liberação controlada da oxitetraciclina encapsulada em matriz de alginato/quitosana recoberta com Acril-EZE® MP em leito fluidizado / Sirlene Adriana Kleinubing. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Lucia Helena Innocentini Mei.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química.

1. Microencapsulação. 2. Tecnologia de liberação controlada. 3. Biopolímeros. 4. Oxitetraciclina. I. Mei, Lúcia Helena Innocentini, 1953-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Controlled release of oxytetracycline encapsulated in alginate/chitosan matrix coated with Acril-EZE® MP in fluidized bed

**Palavras-chave em inglês:**

Microencapsulation

Controlled release technology

Biopolymers

Oxytetracycline

**Área de concentração:** Ciência e Tecnologia de Materiais

**Titulação:** Mestra em Engenharia Química

**Banca examinadora:**

Lucia Helena Innocentini Mei [Orientador]

Ana Rita Morales

Almenara de Souza Fonseca Silva

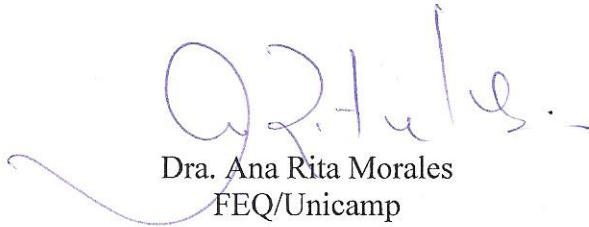
**Data de defesa:** 22-04-2013

**Programa de Pós-Graduação:** Engenharia Química

Dissertação de mestrado defendida por Sirlene Adriana Kleinubing e aprovada em 22 de abril de 2013 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Dra. Lucia Helena Innocentini Mei – Orientadora  
FEQ/Unicamp



Dra. Ana Rita Morales  
FEQ/Unicamp



Dra. Almenara de Souza Fonseca Silva  
Faculdade de Odontologia e Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo  
Mandic

Dedico este trabalho aos meus pais, *Matilde e Walter Kleinubing*, a quem devo a realização deste sonho.

Aos meus sobrinhos, *Isabela, Ana Clara e Samuel*, com todo meu amor.

## **Agradecimentos**

À Deus a quem agradeço pela vida e pela minha família.

Aos meus pais Matilde e Walter a quem não tenho palavras para agradecer tanta dedicação e amor.

Aos meus queridos sobrinhos Isabela, Ana Clara e Samuel pela alegria que trouxeram a nossa família.

A minha irmã Jaiana que me mostrou o caminho e esteve ao meu lado na realização deste sonho.

A minha irmã Diana pela amizade e cumplicidade.

A Professora Lucia Helena Innocentini Mei, minha orientadora, pelos importantes ensinamentos e palavras encorajadoras que foram fundamentais durante a realização deste trabalho.

A minha irmã Jaiana e meu cunhado Guilherme por terem aberto as portas de sua casa para me receber em Campinas.

A aluna de Iniciação Científica Danielle Chati Seraphim pela imensa ajuda na realização deste trabalho e pela grande amizade que levarei sempre comigo.

A nossa família científica, Ananda, Danielle, Gustavo, Ivanei, Ivi, Jesus, Leonardo, Karen, Silvia, pela amizade que tanto me fortalece e impulsiona todos os dias.

Ao grande amigo Carlos Alexandre pela ajuda e constante disponibilidade.

A todos os amigos pelos bons momentos compartilhados.

À banca examinadora pela disponibilidade e contribuição com este trabalho.

Ao Professor Carlos Lenz pela gentileza em ceder o microscópio confocal multifóton e pela disposição em nos auxiliar.

A todos os funcionários da FEQ pela ajuda constante.

À FAPESP, pelo suporte financeiro essencial para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O presente trabalho fundamenta-se no desenvolvimento de micropartículas de polímeros naturais para utilização em sistemas de liberação gastrorresistentes, onde o fármaco passa pelo meio gástrico intacto, permitindo sua absorção apenas no meio entérico. O fármaco selecionado neste estudo foi a oxitetraciclina (OTC), um antibiótico que ao ser ingerido pode causar irritação na mucosa gástrica, limitando seu uso na forma de liberação convencional. O método escolhido para preparação das micropartículas foi por coacervação complexa em um único estágio. Os polímeros naturais escolhidos foram o alginato de natureza aniônica e a quitosana de natureza catiônica, por serem biocompatíveis, não tóxicos e de fácil degradação. Caracterizações morfológicas das micropartículas, com e sem fármaco, para análise da superfície e do seu interior foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A distribuição da OTC nas micropartículas foi determinada por Microscopia confocal multifóton baseada na fluorescência inerente deste fármaco, enquanto que a identidade química e a interação entre os biopolímeros de alginato e quitosana foi investigada por Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). A análise térmica do material foi realizada por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). A modulação da liberação da OTC das micropartículas foi feita por recobrimento das mesmas em leito fluidizado, com uma dispersão polimérica à base de Acril-EZE® MP, um polímero sintético gastrorresistente de natureza aniônica. O estudo da cinética de liberação *in vitro* do fármaco foi realizada por método espectrofotométrico, em meio de dissolução ácido e meio tamponado pH6,8, simulando o perfil de dissolução nos fluidos gástricos e intestinais. Pela microscopia confocal a laser verificou-se que a encapsulação da OTC foi bastante eficiente. A espectroscopia FTIR foi útil para se observar deslocamentos das bandas de absorção do alginato e da quitosana, comprovando interação iônica entre os grupos carboxílicos do alginato e os grupos amina da quitosana. A solução de Acril-EZE® MP se mostrou adequada para o estudo da modulação da liberação controlada da OTC microencapsulada na matriz escolhida. Nos estudos do perfil de liberação deste fármaco, verificou-se uma liberação inicial rápida em meio ácido nas micropartículas não recobertas. Após o recobrimento com Acril-EZE® MP, com 50% de ganho de massa, a liberação da OTC neste meio foi reduzida, obtendo-se o efeito de gastrorresistência



desejado. Em meio básico a liberação foi gradual, sendo que o fármaco foi totalmente liberado em cinco horas, para as micropartículas com e sem recobrimento. Deste modo, o sistema estudado mostrou um grande potencial para aplicação em sistemas de liberação controlada de OTC *in vivo*, desde que sejam realizados os testes necessários, podendo ser produzido em curto prazo em escala comercial.

**Palavras-chaves:** Recobrimento entérico, Microencapsulação, Biopolímeros, Oxitetraciclina.

## ABSTRACT

The present work focused on the development of microparticles based on natural polymers for use in gastro-release systems, where drug-sensitive gastric medium may follow intact until its enteric controlled delivery. The oxytetracycline (OTC) was selected in this study, since it is an antibiotic that, when ingested, may cause irritation of the gastric mucosa, limiting its use in conventional treatment. The method chosen to prepare microparticles was the complex coacervation in a single stage. Natural polymers chosen were the polyanionic alginate and the policationic chitosan because they are biocompatible, nontoxic and easy degradation. Morphological characterizations of the surface and interior of the microparticles, with and without drug, were made by scanning electron microscopy (SEM). The distribution of OTC in the microparticles was determined by multiphoton confocal microscopy, taking the advantage of the inherent fluorescence of OTC. By infrared spectroscopy with Fourier Transform - FTIR it was possible to follow chemical identities of each component and the interaction between the biopolymers chitosan and alginate by the displacement of the absorption bands of each biopolymer. The modulation of OTC release from microparticles was made by coating these microparticles in fluidized bed with a polymer dispersion based on acryl-EZE® MP, a synthetic anionic polymer gastro-resistant. The kinetics of *in vitro* release of OTC was performed by spectrophotometric method, in acid dissolution medium buffered medium pH6,8 to study the both environment of interest, ie gastric and intestinal. By confocal laser microscopy it was verified that the encapsulation of OTC was quite efficient. A solution of acryl-EZE® MP was adequate to study the modulation of microencapsulated controlled release of OTC in the matrix chosen. Kinetic studies showed rapid release of OTC at the beginning of the experiments in acidic medium, for uncoated microparticles. After coating with acryl-EZE® PM, 50% mass gain, the suppression of OTC "burst effect", in the range of two hours, was significantly reduced, meaning the material has a great potential to avoid the gastric resistance desired. In basic medium the release was gradual, and was completed in five hours, for both coated and uncoated microparticles. Thus, the system studied showed a great potential for application to short-term delivery systems for OTC *in vivo*, subject to further studies, also aiming its commercial viability.

**Keyword:** Enteric coating, Microencapsulation, Biopolymers, Oxytetracycline.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Estrutura química de tetraciclina.....	5
Figura 2.2 Principais estruturas dos derivados da tetraciclina.....	6
Figura 2.3 Estrutura química da oxitetraciclina.....	7
Figura 2.4 Representação esquemática da quantidade acumulativa de fármaco cedido de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata, prolongada e retardada.....	8
Figura 2.5 Estrutura química do alginato de sódio, indicando ácido gulurônico (G) e ácido manurônico (M).....	12
Figura 2.6 Esquema das ligações cruzadas do alginato de cálcio. As esferas em preto representam os íons $Ca^{++}$ , enquanto as linhas representam as cadeias de alginato.....	12
Figura 2.7 Estrutura química da quitosana.....	13
Figura 2.8 Representação esquemática da formação de complexos polieletrólitos entre as cadeias de alginato de sódio e quitosana.....	14
Figura 2.9 Visualização da camada de revestimentos em grânulos.....	17
Figura 2.10 Estrutura química básica dos derivados acrílicos e metacrílicos.....	21
Figura 2.11 Estruturas químicas de (a) Eudragit® FS 39 (b) Eudragit® L 100 (c) Eudragit® L30D.....	23
Figura 2.12 Representação esquemática do recobrimento de partículas em leito fluidizado.....	24
Figura 2.13 Regimes de fluidização (a) leito fixo (b) fluidização particulada (c) fluidização borbulhante (d) pistonado (e) turbulento (f) fluidização rápida.....	26

Figura 2.14 Diagrama simplificado de classificação de partículas para fluidização através de ar em condições normais.....	27
Figura 3.1 Sistema de preparação das microesferas de alginato/quitosana contendo OTC (Laboratório de Biomateriais – FEQ/UNICAMP).....	34
Figura 3.2 Leito fluidizado usado para o recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana com oxitetraciclina encapsulada (Laboratório de Biomateriais – Faculdade de Engenharia Química –UNICAMP).....	41
Figura 4.1 Espectro de FT-IR da quitosana.....	44
Figura 4.2 Micrografia da OTC obtidas por MEV utilizando (a) aumento de 250x (b) e aumento de 1500x.....	46
Figura 4.3 Imagens das micropartículas de alginato e quitosana contendo OTC, obtidas por microscopia óptica com aumento de 10x: (a) micropartículas úmidas; (b) micropartículas secas com aumento de 20x; (c) micropartículas secas com aumento de 40X.....	48
Figura 4.4 Imagem de MEV do branco das micropartículas de alginato e quitosana sem OTC (a) aumento de 50x; (b) aumento de 250x.....	48
Figura 4.5 Imagem de MEV das micropartículas de alginato e quitosana com OTC (a) aumento de 50x; (b) aumento de 250x.....	49
Figura 4.6 Imagens de MEV do revestimento de quitosana nas micropartículas de alginato (a) aumento de 5000x; (b) aumento de 1500x.....	50

Figura 4.7 Imagem de MEV da presença de fissura em micropartícula de alginato/quitosana (aumento de 250x).....	50
Figura 4.8 (a) espectro de emissão de fluorescência da OTC microencapsulada em alginato/quitosana; (b) imagem de uma micropartícula com os pontos escolhidos para registrar o espectro de fluorescência da OTC.....	51
Figura 4.9 Corte ortogonal da imagem 3D de microscopia confocal a laser, indicando a encapsulação da OTC numa micropartícula de alginato/quitosana.....	53
Figura 4.10 Gráfico de distribuição da intensidade de fluorescência da OTC em uma micropartícula de alginato/quitosana.....	54
Figura 4.11 Imagem FLIM de uma micropartícula de alginato/quitosana, mostrando o tempo de decaimento da fluorescência de seus componentes identificados por cores.....	55
Figura 4.12 Curva de decaimento da fluorescência da OTC numa micropartícula de alginato/quitosana, em função do tempo.....	55
Figura 4.13 Espectros obtidos para o biopolímero (a) alginato puro; (b) quitosana pura; (c) micropartícula de alginato/quitosana sem a OTC (branco).....	56
Figura 4.14 Curva de DSC da quitosana pura.....	58
Figura 4.15 Curva de DSC do alginato de sódio.....	58
Figura 4.16 Curva de DSC da oxitetraciclina.....	59
Figura 4.17 Curvas de DSC de micropartículas de alginato e quitosana sem OTC (branco).....	59
Figura 4.18 Curva de DSC das micropartículas de alginato e quitosana com OTC.....	60

Figura 4.19 Classificação de Geldart para o tipo de fluidização das micropartículas de alginato/quitosana estudadas.....	62
Figura 4.20 Imagem de MEV de uma micropartícula de alginato/quitosana com recobrimento polimérico Acril-EZE® MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 2500x.....	66
Figura 4.21 Imagem de MEV de uma micropartícula de alginato/quitosana com recobrimento polimérico Acril-EZE® MP, com 50% de ganho de massa: (a) aumento de 200x (b) aumento de 600x.....	67
Figura 4.22 Imagem de MEV de corte transversal de uma micropartícula recoberta com Acril-EZE® MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 1000x.....	68
Figura 4.23 Imagem de MEV de corte transversal de uma micropartícula recoberta com Acril-EZE® MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 600x.....	69
Figura 4.24 Concentração da oxitetraciclina liberada em meio ácido (pH1,2), versus tempo.....	71
Figura 4.25 Concentração da oxitetraciclina em meio tampão pH 6,8 versus tempo.....	72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Principais tipos e características de Eudragit® disponíveis.....	22
Tabela 4.1 Absorbâncias relativas às bandas 1655 cm <sup>-1</sup> e 3450 cm <sup>-1</sup> da quitosana.....	45
Tabela 4.2 Porcentagem de ganho de massa das micropartículas de alginato/quitosana com o recobrimento a base de Acril-EZE® MP.....	64



## ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

OTC: Oxitetraciclina;

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MO: Microscopia Óptica

FT-IR: Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier;

CaCl<sub>2</sub> : Cloreto de cálcio;

NaCl: Cloreto de sódio;

NaOH: Hidróxido de sódio;

LSCM :Laser Scanning Confocal Microscopy;

FLIM : Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy;

%I: Porcentagem de intumescimento das micropartículas;

m<sub>f</sub>: Massa das micropartículas secas;

m<sub>0</sub>: Massa inicial das micropartículas expandidas;

V<sub>a</sub>: Volume da câmara da amostra;

V<sub>e</sub>: Volume da câmara de expansão;

V<sub>s</sub>: Volume do sólido;

SF: Fator de forma;

γ<sub>lv</sub>: Tensão superficial líquido vapor ;

θ: Ângulo de contato;

M *filme*: Massa do filme formado sobre os grânulos

M *grânulos iniciais*: Massa inicial dos grânulos

T<sub>g</sub>: Temperatura de transição vítrea

D<sub>p</sub>: Diâmetro da partícula

ρ: Densidade do fluido

ρ<sub>s</sub>: Densidade aparente do sólido

U<sub>fm</sub>: Velocidade da mínima fluidização

U<sub>B</sub>: Velocidade para iniciar as bolhas

GD: Grau de desacetilação

η<sub>rel</sub>: Viscosidade relativa

$\eta_{\text{esp}}$ : Viscosidade específica

$\eta_{\text{sp}/c}$ : Viscosidade intrínseca

Mv: Massa molecular viscosimétrica

DSC: Calorimetria exploratória diferencial

Wad: Trabalho de adesão

$\mu\text{m}$ : Micrometro

psi: Libra-força por polegada quadrada

rpm: Rotações por minuto

mN/m: Milinewton metro

## SUMÁRIO

Resumo .....	VIII
Abstract.....	X
1. Introdução .....	1
1.1 Objetivos.....	3
2. Revisão bibliográfica.....	5
2.1 Oxitetraciclina.....	5
2.2 Sistemas de liberação de fármacos.....	7
2.3 Microencapsulação.....	9
2.4 Biopolímeros: alginato de sódio e quitosana.....	11
2.4.1 Alginato de sódio.....	11
2.4.2 Quitosana.....	13
2.5 Recobrimento de produtos farmacêuticos.....	15
2.6 Aplicações do recobrimento na área farmacêutica.....	20
2.6.1 Polímeros metacrílicos: Eudragit® .....	21
2.7 Recobrimento de partículas em leito fluidizado.....	23
2.7.1 Regimes de fluidização.....	24
2.7.2 Propriedades das partículas.....	26
2.7.3 Variáveis do processo de recobrimento em leito fluidizado.....	28
3. Materiais e Métodos .....	31
3.1 Materiais .....	31
3.2 Caracterização da quitosana .....	31

3.2.1 Grau de desacetilação da quitosana .....	31
3.2.2 Determinação da massa molecular da quitosana por viscosimetria .....	32
3.3 Caracterização da Oxitetraciclina .....	33
3.3.1 Análise visual .....	33
3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	33
3.3.3 Ponto de fusão.....	33
3.4 Preparação das micropartículas .....	34
3.4.1 Obtenção das micropartículas de alginato/quitosana com o fármaco aprisionado.....	34
3.5 Caracterização das micropartículas de alginato/quitosana.....	35
3.5.1 Carregamento da oxitetraciclina .....	35
3.5.2 Intumescimento das micropartículas .....	35
3.5.3 Microscopia Óptica .....	35
3.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura .....	36
3.5.5 Perfil de distribuição de OTC nas micropartículas.....	36
3.5.6 Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT- IR).....	37
3.5.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	37
3.6 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana em Leito Fluidizado....	37
3.6.1 Características das micropartículas de alginato/quitosana quanto à fluidização.	38
3.6.1.1 Granulometria das micropartículas de alginato/quitosana.....	38
3.6.1.2 Densidade real das micropartículas de alginato/quitosana.....	38

3.6.1.3 Densidade da solução polimérica de Acril-Eze ® MP.....	39
3.6.2 Circularidade das micropartículas de alginato/quitosana.....	39
3.6.3 Preparo da solução polimérica: Acril-EZE® MP.....	39
3.6.4 Caracterização da solução polimérica de recobrimento: Acril-EZE® MP.....	40
3.6.4.1 Ângulo de contato, tensão superficial e determinação do trabalho de adesão.....	40
3.6.5 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana.....	41
3.6.6 Caracterização das micropartículas recobertas com Acril-EZE® MP.....	42
3.6.6.1 Crescimento do grânulo.....	42
3.6.6.2 Análise morfológica das micropartículas de alginato/quitosana recobertas com Acril-EZE® MP.....	43
3.7 Cinética de liberação da oxitetraciclina nas micropartículas antes e após o recobrimento em leito fluidizado.....	43
4. Resultados e Discussão.....	44
4.1 Caracterização da quitosana .....	44
4.1.1 Determinação do grau de desacetilação da quitosana .....	44
4.1.2 Determinação da massa molecular da quitosana .....	45
4.2 Caracterização da oxitetraciclina .....	46
4.2.1 Determinação das características físicas da OTC .....	46
4.3 Preparação das micropartículas de alginato/quitosana com OTC.....	46
4.4 Caracterização das micropartículas de alginato/quitosana .....	47
4.4.1 Carregamento de OTC e grau de intumescimento das micropartículas .....	47
4.4.2 Microscopia óptica .....	47

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura .....	48
4.4.4 Perfil de distribuição de OTC nas micropartículas.....	51
4.4.5 Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	56
4.4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	57
4.5 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana com OTC em leito fluidizado.....	61
4.5.1 Características das micropartículas quanto à fluidização.....	62
4.5.2 Circularidade das micropartículas de alginato/quitosana com OTC .....	62
4.5.3 Características da solução polimérica de recobrimento: Acril-EZE® MP.....	63
4.5.3.1 Ângulo de contato, tensão superficial e trabalho de adesão.....	63
4.5.4 Caracterização das micropartículas de alginato/quitosana recobertas.....	64
4.5.4.1 Ganho de massa das micropartículas após o recobrimento.....	64
4.5.4.2 Análise morfológica.....	65
4.6 Cinética de liberação da OTC antes e após o recobrimento.....	70
5. Conclusões .....	74
6. Sugestões para trabalhos futuros.....	75
7. Referências bibliográficas .....	76
Apêndices.....	93

## 1. Introdução

A tecnologia de sistemas de liberação modulada de fármacos tem chamado à atenção de pesquisadores devido à amplitude de suas aplicações e devido aos grandes benefícios que podem trazer na área médica e farmacêutica.

O custo das pesquisas na área farmacêutica, para o desenvolvimento de novas substâncias ativas é, em geral, muito elevado. Assim, há um grande interesse das indústrias farmacêuticas no desenvolvimento de novas formas e diferentes sistemas de liberação de fármacos, com os princípios ativos já existentes. Com isso, esses produtos podem adquirir características diferenciadas que podem solucionar problemas presentes nos ativos, como a baixa absorção, redução de efeitos colaterais e não adesão do paciente ao tratamento (ALLEN *et al.*, 2007).

A oxitetraciclina (OTC) é um antibiótico da família das tetraciclinas de amplo espectro, cuja ação bacteriostática se dá por inibição da síntese proteica, sendo ativa contra uma ampla gama de organismos Gram-negativos e Gram-positivos. Este antibiótico é especialmente útil no trato de Uretrites não especificadas, Linfogranuloma (LGV), Doença de Lyme, Brucelose, Cólera, Peste, Tifo, Febre recidiva, Tularemia e infecções caudadas por Chlamydia, Mycoplasma e Rickettsia. Entretanto, pode causar efeitos adversos graves quando administrado por via oral, principalmente distúrbios gastrointestinais, limitando seu uso na forma de liberação convencional.

Sistemas matriciais poliméricos empregados como sistemas de liberação modificada de fármacos tem o propósito de modular a dissolução do ativo de acordo com o efeito terapêutico desejado. Entre os diferentes tipos de sistemas de liberação modificada de fármacos, tem-se a forma farmacêutica gastrorresistente a qual impede a liberação de ativos no meio gástrico, fazendo com que este seja liberado somente no meio entérico, reduzindo os distúrbios gástricos provocados por determinados fármacos (COSTA e LOBO, 1999).

O grande desafio no uso de sistemas matriciais poliméricos na encapsulação de fármacos, para obtenção de formas farmacêuticas de liberação modificada, se deve às irregularidades que estes dispositivos podem apresentar tais como, superfícies rugosas, presença de poros e fissuras, como demonstradas em trabalho anterior de Cruz *et al* (2004), que prejudicam a liberação modulada de determinados fármacos. Uma das consequências é a liberação inicial rápida do ativo, através destes poros e fissuras, inviabilizando a sua encapsulação.

Em decorrência, nota-se um grande esforço por parte dos pesquisadores no sentido de evitar o efeito "burst" (ou liberação instantânea) na administração de fármacos, sendo encontrados na literatura vários trabalhos focados no desenvolvimento de métodos que previnem ou reduzem este efeito em matrizes poliméricas (SEVERINO *et al.*, 2012; FERRARI *et al.*, 2012; ALBANEZ, 2012). Entre as estratégias adotadas, tem-se a modificação das características de superfície das matrizes carreadoras de drogas, através da deposição de uma camada exterior de polímero de recobrimento (PARK, 1992).

A técnica de recobrimento de sistemas multiparticulados vem sendo extensamente explorada em diversas áreas, com grande destaque na indústria farmacêutica. Na área farmacêutica, o recobrimento pode proporcionar grandes benefícios ao produto, conferindo a eles características superficiais específicas (FERRARI *et al.*, 2012); além de servir como uma barreira na liberação inicial rápida do ativo, pelos poros e fissuras presentes na superfície das matrizes encapsulantes.

Esta é uma técnica antiga utilizada na indústria farmacêutica, desde o século XVII, com uma evolução significativa a partir de 1950, quando foram introduzidos novos conceitos em equipamentos para recobrir medicamentos. Já nos anos 70, deu-se o início do recobrimento com materiais poliméricos formadores de filme, ou filmogênicos (SILVA, 2003), trazendo uma inovação à indústria farmacêutica.

A maioria dos novos produtos farmacêuticos revestidos lançados no mercado apresentam preferencialmente os recobrimentos formadores de filmes. Ao longo das quatro últimas décadas, uma grande quantidade e variedade de polímeros formadores de filmes têm sido avaliadas e utilizadas para o revestimento de formas sólidas orais (BUNHAK *et al.*, 2007), preferencialmente em meio aquoso. A utilização do solvente aquoso se mostra mais seguro do ponto de vista toxicológico, além de se tornar mais econômico, se comparado ao valor de custo dos solventes orgânicos (CEREA *et al.*, 2004), muitos dos quais estão sendo gradualmente substituídos pela indústria moderna.

Como uma escolha viável do equipamento recobridor, tem-se o leito fluidizado que é adequado para recobrimento de partículas pequenas e é vantajoso pela qualidade do produto obtido, pois é capaz de formar uma camada uniforme sobre a partícula, em um curto período do processo (MARTINS *et al.*, 2008), conferindo uma série de benefícios aos produtos formados.



Deste modo, escolheu-se trabalhar com sistemas matriciais poliméricos multiparticulados com o propósito de modular a dissolução de ativos de acordo com o efeito terapêutico desejado. Para isso recobriu-se micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC com uma suspensão polimérica em leito fluidizado, a fim de evitar que este fármaco cause distúrbios gástricos por efeito "burst", quando administrado por via oral.

## **1.1 Objetivos**

Com base no exposto, o trabalho que aqui se apresenta visa desenvolver um sistema de liberação controlada gastrorresistente pH dependente, com o antibiótico OTC encapsulado em matriz microparticulada de alginato e quitosana, recoberta com Acril-EZE® MP em leito fluidizado. O foco deste trabalho foi desenvolver um dispositivo que promova a liberação gastrorresistente do fármaco, a fim de reduzir os distúrbios gástricos causados ao paciente por este fármaco, quando administrados por via oral.

### **Objetivos específicos**

- Preparar as micropartículas de alginato/quitosana aprisionando o fármaco, pelo método de coacervação complexa em um único estágio.
- Caracterizar as micropartículas obtidas visando avaliar a morfologia da superfície e a superfície de fratura das micropartículas. A técnica utilizada foi à microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Avaliar a distribuição da OTC nas micropartículas por microscopia confocal multifóton (Laser Scanning Confocal Microscopy – LSCM) e Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM).
- Caracterizar as micropartículas quanto à fluidização, determinando a sua circularidade, e a classificação de Geldart, 1986.

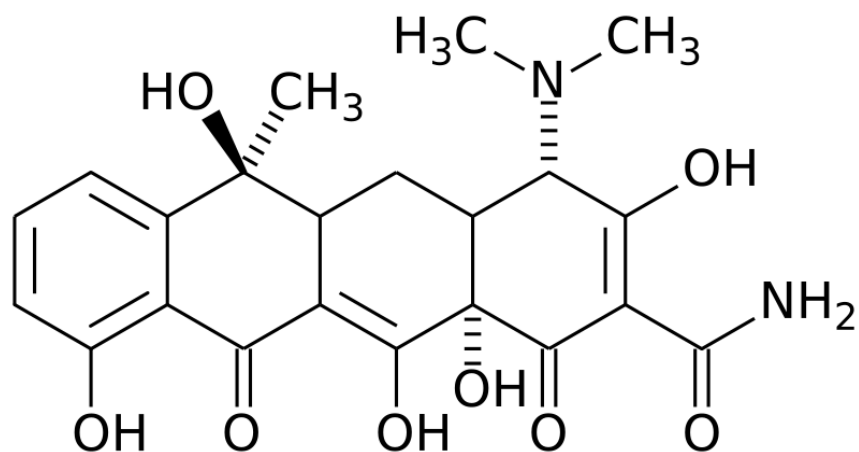
- Caracterizar a solução polimérica de revestimento a base de Acril-EZE® MP: tensão superficial, ângulo de contato e trabalho de adesão, para avaliar a molhabilidade e adesão da solução polimérica na superfície das micropartículas.
- Realizar o recobrimento das micropartículas com a dispersão polimérica Acril-EZE® MP em leito fluidizado.
- Caracterizar as micropartículas recobertas através da determinação do crescimento do grânulo e pela microscopia eletrônica de varredura, determinando-se a morfologia da superfície e a presença de fratura nas mesmas.
- Determinar o perfil de liberação *in vitro* do fármaco microencapsulado, com e sem revestimento. Esses ensaios serão determinantes na avaliação da cinética de liberação da OTC, além de permitir que se conheça a eficácia do sistema de recobrimento escolhido na proteção da OTC no trato estomacal.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Oxitetraciclina

Os antibióticos são agentes químicos capazes de inibir a reprodução ou destruir outros microorganismos (SILVA, 2010), sendo empregados no tratamento de infecções bacterianas.

As tetraciclinas são antibióticos com ação bacteriostática, derivados de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (Figura 2.1), composto por um núcleo tetracíclico linear nos quais uma variedade de grupos funcionais estão ligados (CHOPRA e ROBERTS, 2001).



**Figura 2.1:** Estrutura química da tetraciclina (PEREIRA-MAIA, 2010).

A ação das tetraciclinas é devido à capacidade dessas drogas de se ligarem à subunidade 30S dos ribossomos microbianos, bloqueando a ligação da RNA aminoacil transferase e inibindo a síntese protéica. Por consequência, elas impedem a adição de novos aminoácidos à cadeia polipeptídica em formação (SILVA, 2010).

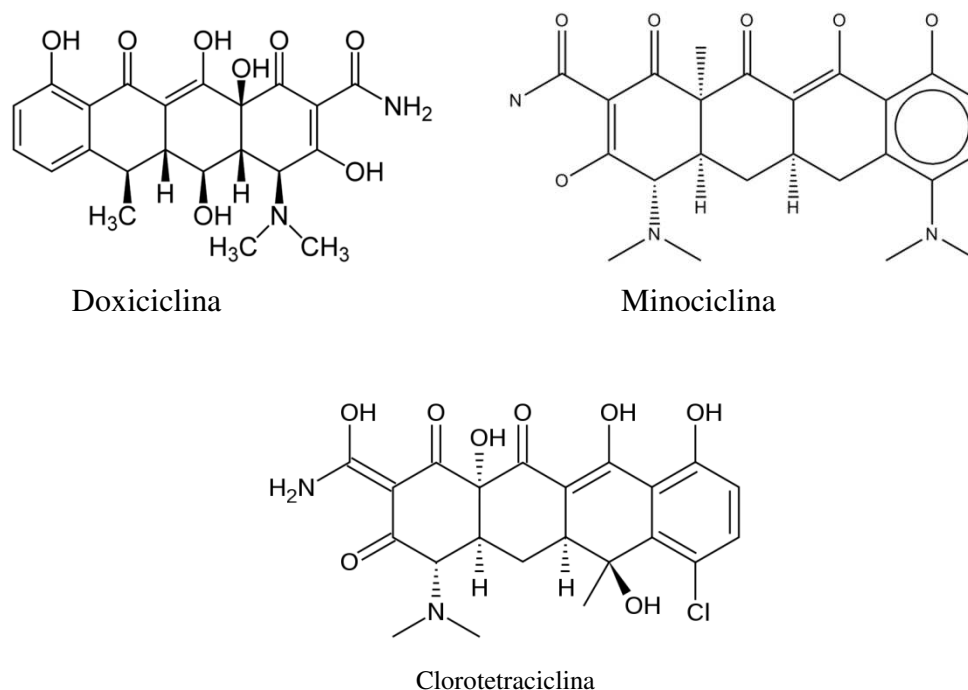
Esses fármacos são administrados por via oral, mas também podem ser administrados pela via parenteral (RANG *et al.*, 2004). A absorção ocorre na porção proximal do intestino delgado e produz seu pico de concentração sérica 1 a 3 horas após a administração (SILVA, 2010).

As tetraciclinas apresentam amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (SILVA, 2010). Para uso clínico são prescritas em infecções do trato respiratório, trato urogenital e para tratar infecções por bactérias relativamente raras, como

*Rickettsias*, *Clamídias*, *Brucelosis*, *Mycoplasma* e protozoários como *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* e *Plasmodium falciparum* (CHOPRA, HAWKEY e HINTON, 1992).

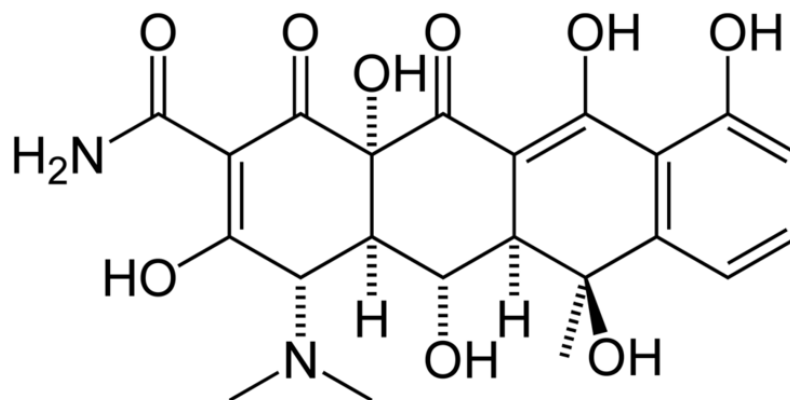
Os efeitos adversos mais comuns consistem em distúrbios gastrointestinais, provocados inicialmente por irritação direta e posteriormente pela modificação da microbiota intestinal (RANG *et al.*, 2004), bem como manchas nos dentes, deformidades ósseas e crescimento anormal do feto em mulheres gestantes (Encyclopédia Britannica, Tetracycline, in [www.britannica.com](http://www.britannica.com)).

Os derivados das tetraciclina diferem entre si pelos grupos funcionais ligados ao grupo tetracíclico linear. Na Figura 2.2 estão representados os nomes e as estruturas dos principais derivados da tetraciclina, sendo que a Figura 2.3 destaca a estrutura da OTC, que é uma substância com largo espectro de uso humano e animal, produzido por microorganismos do gênero *Streptomyces* sp.



**Figura 2.2:** Principais estruturas dos derivados da tetraciclina (PEREIRA-MAIA, 2010).

Entre os efeitos adversos mais graves provocados pela OTC estão os distúrbios gastrointestinais, que causam irritação da mucosa gástrica, náuseas e dispepsia quando administrada por via oral, limitando o uso deste fármaco na forma de liberação convencional.



**Figura 2.3:** Estrutura química da OTC (VAZ JUNIOR, 2010).

Assim, uma forma farmacêutica gastrorresistente oral contendo oxitetraciclina é desejável e indispensável para promover uma redução dos efeitos gástricos deste fármaco, visto que este seria liberado apenas no intestino devido ao revestimento pH dependente.

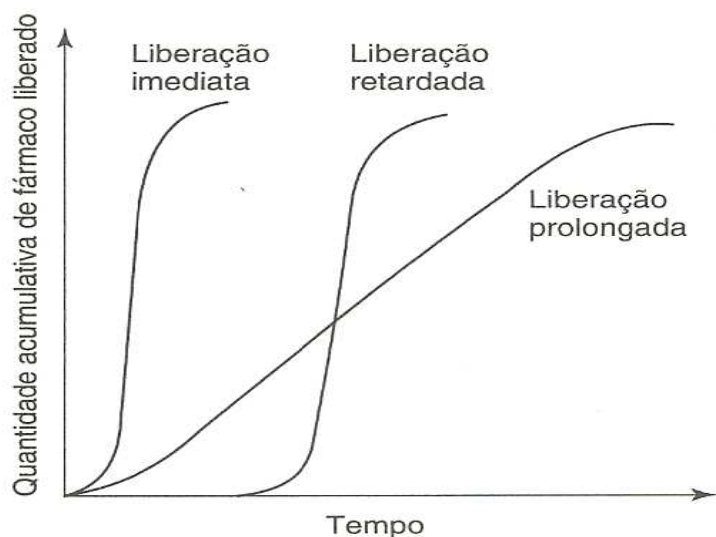
## 2.2 Sistemas de liberação de fármacos

As formas farmacêuticas sólidas, de administração oral, podem ser do tipo convencional ou de liberação modificada. Formas farmacêuticas de liberação convencional são caracterizadas por apresentarem a liberação imediata do fármaco ao ser administrado. Neste caso, o sistema farmacêutico serve apenas como suporte da substância ativa, pouco interferindo nas características da liberação (MANADAS *et al.*, 2002).

Formas farmacêuticas modificadas para uso em liberação de fármacos consistem em sistemas que modificam a taxa ou o local onde as substâncias ativas serão liberadas. Entre as formas farmacêuticas de liberação modificada destacam-se a forma farmacêutica de liberação retardada e a de liberação prolongada.

Em sistemas modificados de liberação, do tipo retardada, a liberação da substância ativa é retardada por um tempo determinado, após o qual a liberação é praticamente imediata. O esquema representativo da quantidade acumulativa de fármacos, liberados de formas farmacêuticas sólidas convencionais (ou imediata), prolongadas e retardadas, pode ser visualizado na Figura 2.4.

Em sistemas de liberação prolongada ou controlada, a taxa de liberação da substância ativa é lenta e em velocidade constante, de modo a manter os níveis terapêuticos, reduzir os efeitos tóxicos, ou atingir qualquer outro fim terapêutico (European Pharmacopoeia, 1997).



**Figura 2.4:** Representação esquemática da quantidade acumulativa de fármaco cedido de formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (convencional), prolongada e retardada (AULTON, 2005).

As formas farmacêuticas de liberação modificada apresentam as seguintes vantagens: diminuição ou eliminação dos efeitos adversos locais e sistêmicos, menor acúmulo do fármaco no organismo, redução do número de administrações diárias, proteção do fármaco de uma eventual degradação pelos componentes dos fluidos biológicos e redução ou mesmo desaparecimento dos picos plasmáticos (DE LA CRUZ PASTRANA *et al.*, 2000; VEIGA, 1988)

A obtenção dos sistemas de liberação modificada dos fármacos podem envolver sistemas monolíticos ou multiparticulados. Em sistemas monolíticos a unidade funcional de liberação é única e a dose não está dividida, como em comprimidos e cápsulas. Em sistemas multiparticuladas o fármaco é dividido em várias subunidades funcionais de liberação, que podem ser grânulos, *pellets* ou esferas (AULTON, 2005).

Estas partículas são colocadas dentro de cápsulas de invólucro duro ou comprimidas diretamente por meio de um processo que garanta o mínimo de ruptura. Ao serem ingeridas,

ocorre à liberação dos multiparticulados a partir do invólucro ou do comprimido e o fármaco passa a ser liberado, de forma predefinida, em função do tempo (AULTON, 2005).

Os sistemas multiparticulados apresentam uma série de vantagens em relação ao sistema monolítico. Entre elas, tem-se a possibilidade de revestimento e de incorporar substâncias incompatíveis na mesma forma farmacêutica, a facilidade de obtenção de dosagens diferentes para o mesmo produto e a facilidade da passagem do fármaco pelo trato gastrointestinal. (AULTON, 2005; PEZZINI, 2007).

O maior destaque dado a estes sistemas está relacionado aos seus benefícios biofarmacotécnicos. Dentre eles, destaca-se o menor risco de irritação da mucosa do trato gastrointestinal, pois as formas farmacêuticas multiparticuladas dispersam-se ao longo do trato gastrointestinal após a administração, evitando a liberação concentrada do fármaco em uma área reduzida, como ocorre com os sistemas unitários, reduzindo o risco de lesão da mucosa por fármacos irritantes (SANTOS *et al.*, 2004; DASHEVSKY, KOLTERB, BODMEIERA, 2004).

Diversas técnicas de obtenção de formas farmacêuticas de liberação modificada têm sido desenvolvidas; entre elas, tem-se a microencapsulação em sistemas matriciais poliméricas, e o recobrimento de grânulos por filmes com características específicas.

### **2.3 Microencapsulação**

A microencapsulação é de fundamental importância nas áreas alimentícia, agrícola, farmacêutica, entre outras. Na área alimentícia, a técnica da microencapsulação aplica-se como forma de reter compostos voláteis, proteger ingredientes contra perdas nutricionais (efeitos de evaporação e umidade, oxigênio e luz ultravioleta), auxiliar na mistura, preservar ou mascarar cor e sabores, inibindo a reação com outros materiais. Na área agrônômica, destaca-se a encapsulação de sementes e pesticidas químicos (herbicidas, inseticidas e parasiticidas), reduzindo a contaminação ambiental e sua toxicidade por contato ou encapsulação de pesticidas, prolongando sua atividade biológica até ser ingerido pela pragadestino (lagartas, insetos adultos, etc.) (MARSHALL *et al.*, 1999).

Na área farmacêutica esta técnica é de grande importância no desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação modificada, além de fornecer proteção ao fármaco contra agentes

atmosféricos, mascarar sabores e odores desagradáveis, proteger o meio gástrico de fármacos agressivos, entre outros.

Micro e nanopartículas poliméricas estão sendo cada vez mais investigadas por suas propriedades de liberação controlada e por carrear fármacos ativos a sítios específicos no corpo humano (FREITAS e MARCHETTI, 2005). A microencapsulação é o processo de envolver substâncias ativas ou outros compostos em um sistema polimérico (capsulas, esferas, filmes), liberando o seu conteúdo de forma controlada e sob condições específicas.

Quando se trata de partículas, de acordo com a estrutura interna, elas podem ser classificadas em; esferas, quando não se pode diferenciar o núcleo (sistema monolítico); e cápsulas, quando o sistema é do tipo reservatório em que o núcleo é bem definido e envolto por um filme polimérico. São denominadas micro, as partículas com tamanho entre 1 a 1000  $\mu\text{m}$  (THIES, 1995).

O transporte seletivo de um agente terapêutico até o local de ação desejado pode otimizar a resposta biológica, evitar fenômenos de sub ou superdosagem, e prevenir reações indesejáveis, como a irritação gástrica provocada por determinados fármacos administrados oralmente.

Os processos de obtenção de sistemas microparticulados podem envolver métodos físico-químicos e mecânicos. Os métodos físico-químicos mais utilizados são: coacervação simples, coacervação complexa, emulsão e evaporação do solvente, emulsão e difusão do solvente e a polimerização interfacial. Dentre os processos mecânicos estão o spray drying, a extrusão/esferonização e a granulação em leito fluidizado e em leito de jorro (KAS, 1997).

A seleção do método depende de vários fatores; tais como, tamanho da partícula desejada, estabilidade térmica e química da substância ativa a ser incorporada, perfil cinético de liberação e estabilidade do produto final (AGNIHOTRI *et al.*, 2004).

O processo de coacervação complexa baseia-se na interação eletrostática entre diferentes polímeros de cargas opostas. Esta interação forma complexos insolúveis, que se concentram nas gotas líquidas que sedimentam e se fundem para formar uma fase coacervada (WEINBRECK *et al.*, 2004). A deposição de tais coacervados ao redor de um núcleo forma uma barreira, promovendo a encapsulação.

Esta técnica apresenta algumas vantagens frente a outras, como a possibilidade de se trabalhar com biopolímeros, a ausência de solventes orgânicos e as condições brandas de temperatura no processamento que impedem a degradação dos fármacos.



A composição do agente encapsulante depende do tipo de aplicação a que se destinam. Polímeros naturais são especialmente adequados, pois apresentam, geralmente, pouca ou nenhuma toxicidade.

## 2.4 Biopolímeros: alginato de sódio e quitosana

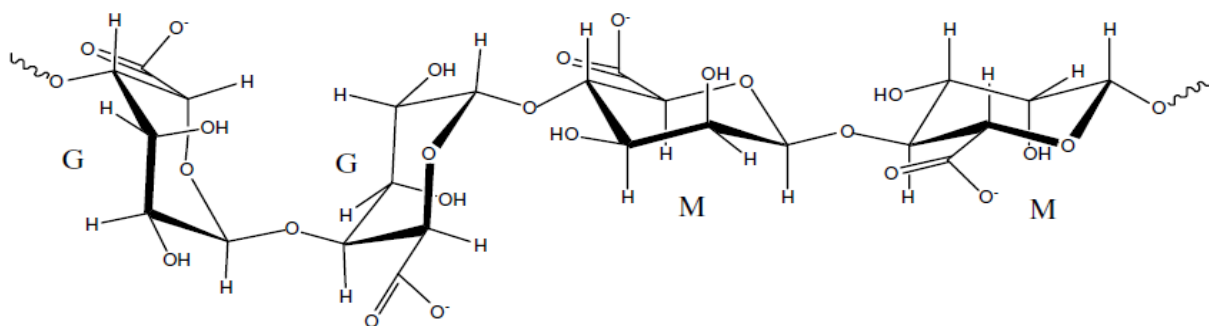
Em sistemas de liberação controlada de fármacos, a droga pode ser incorporada numa estrutura polimérica e liberada do excipiente numa forma predefinida (FERRARI *et al.*, 2012). Biopolímeros, incluindo os polissacarídeos alginato e quitosana, têm sido o foco de um número crescente de estudos relatando sua utilização potencial. Na área biomédica, por exemplo, pode-se citar o encapsulamento de células, o carreamento de fármacos e a engenharia de regeneração de tecidos (LAWRIE, 2007).

Neste setor, o alginato de sódio e a quitosana tem um grande destaque entre os polímeros de ocorrência natural, pois apresentam um amplo leque de aplicações nas áreas médica e farmacêutica, dentre outras. Estes biopolímeros são de fácil degradação hidrolítica e enzimática, biocompatíveis e atóxicos.

### 2.4.1 Alginato de sódio

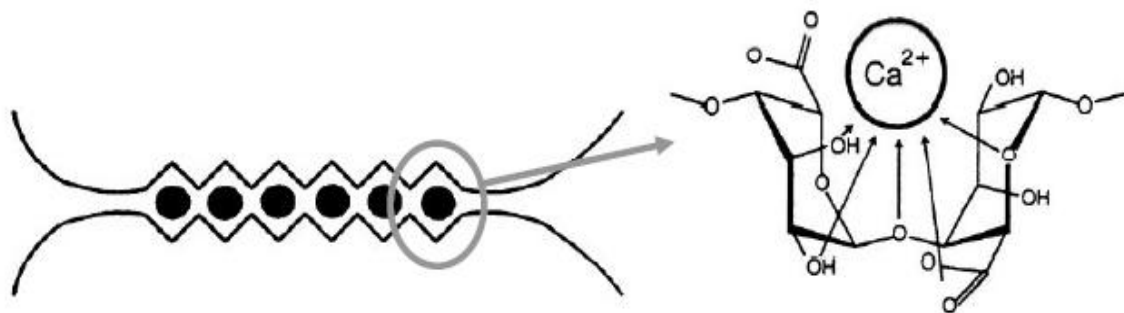
O alginato de sódio é um polímero natural extraído de algas castanhas (*Phaeophyceae*) (GLICKSMAN, 1983). Para fins comerciais, as três espécies mais utilizadas para extração são a *Macrocystis pyrifera*, a *Laminaria hyperborea* e a *Ascophyllum nodosum*.

Quimicamente é um biopolímero aniônico, composto de cadeias lineares de ácido  $\beta$ -D-manurônico (unidade M) e do ácido  $\alpha$ -L-gulurônico (unidade G) (HAUG, 1961) (Figura 2.5), os quais formam, em presença de policátions, micropartículas com capacidade para encapsulamento de vários ativos empregados na área farmacêutica e médica (OH *et al.*, 2009).



**Figura 2.5:** Estrutura química do alginato de sódio, indicando ácido gulurônico (G) e ácido manurônico (M). (SCHURKS *et al.*, 2002).

As unidades G e M, em variadas proporções e arranjos sequenciais, resultam em diferentes orientações na cadeia polimérica. No entanto, apenas as unidades G são orientadas de forma a tornar os ácidos carboxílicos acessíveis para reticulação iônica. A adição de íons bivalentes de cálcio a uma solução aquosa de alginato de sódio resulta na formação de um hidrogel tridimensional (LAWRIE, 2007), conforme esquematizado na Figura 2.6.



**Figura 2.6:** Esquema das ligações cruzadas do alginato de cálcio. As esferas em preto representam os íons  $\text{Ca}^{++}$ , enquanto as linhas representam as cadeias de alginato ( RODRIGUES, 2008).

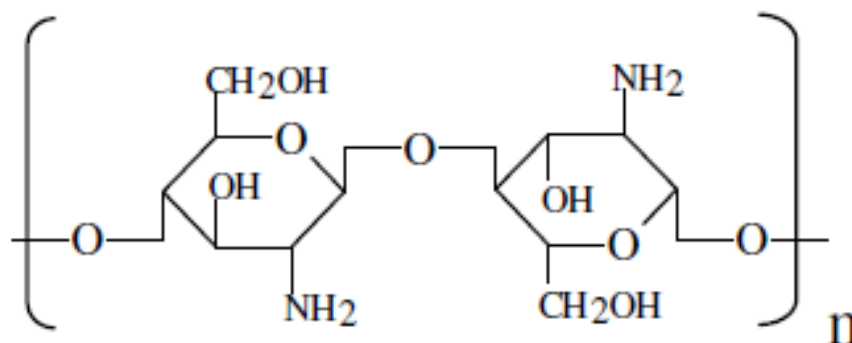
A proporção e a sequência da unidade do ácido manurônico e gulurônico dependem das espécies de algas, do tipo de tecido de cada alga a partir do qual o polissacarídeo é extraído, bem como da época em que as algas são recolhidas (SCHURKS *et al.*, 2002).

A composição do alginato é um parâmetro importante na etapa da geleificação. O conteúdo do resíduo G e o peso molar do alginato variam proporcionalmente com a viscosidade. Assim, quanto maior o teor dos resíduos G, maior será a viscosidade e a rigidez do gel resultante (GOMBOTZ e WEE, 1998). Quando os teores de resíduo G são elevados, desencadeiam uma

geleificação prematura do alginato, resultando em partículas de grande granulometria (PONCELET, 2001).

#### 2.4.2 Quitosana

A quitosana é um polímero linear derivado da quitina, extraída de cascas de crustáceos como caranguejos e lagostas. Contém unidades acetiladas (2-acetoamido-2deoxi-D-glicopirranose) e desacetiladas (2-amino-deoxi-D-glicopirranose), unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4), com predominância das unidades desacetiladas (SANFORD, 1989). A estrutura química da quitosana esta representada na Figura 2.7. Devido à natureza policatiônica, a quitosana quando em contato com soluções ácidas apresenta capacidade de geleificação; porém, em pH neutro e básico torna-se insolúvel. Estas características fazem da quitosana um biomaterial com elevada habilidade de liberação controlada em ambientes gastrointestinais (PAUL e SHARM, 2000).

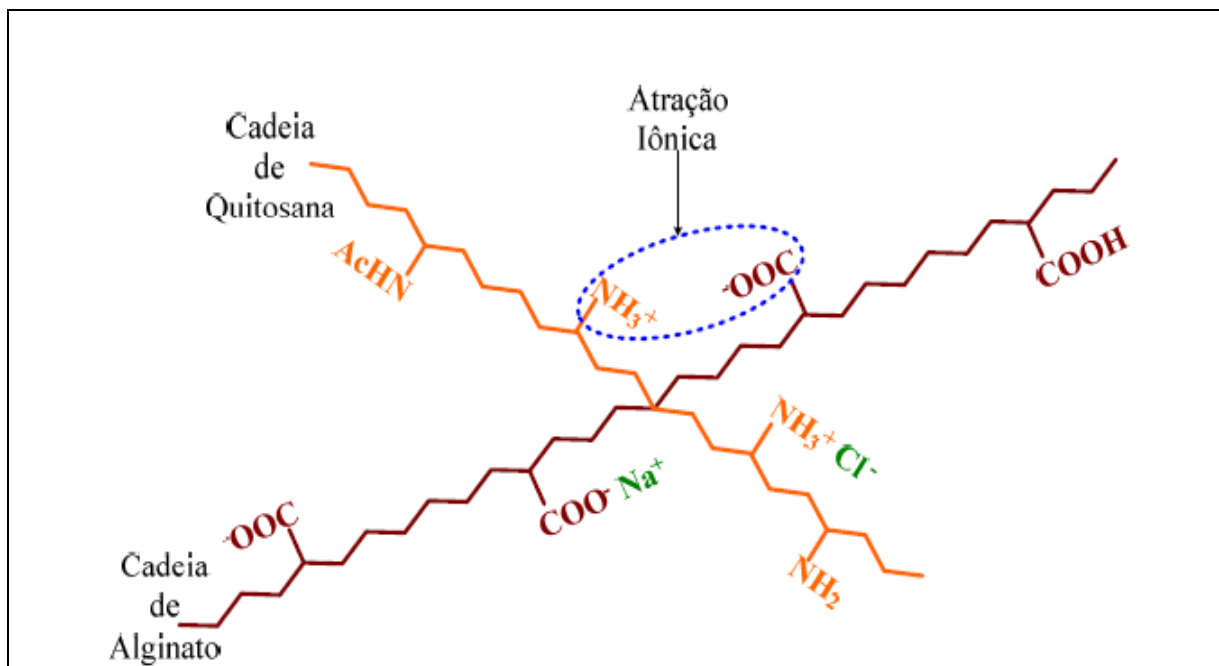


**Figura 2.7:** Estrutura química da quitosana (Vieira, 2008).

Fatores como massa molar e o grau de desacetilação (porcentagem de grupos amino livres presentes no biopolímero) afetam a formação de hidrogéis (BECHERÁN-MARÓN *et al.*, 2004), variando suas propriedades físico-químicas, como a solubilidade e a viscosidade (SILVA *et al.*, 2006).

Um dos fatores que permitem o desenvolvimento de biomateriais usando alginato e quitosana tem sido a sua capacidade de formar um complexo polieletrólito, por ligações iônicas,

quando dissolvidos em meio apropriado. Deste modo, ocorre a interação entre os grupamentos carboxílicos do alginato e amina da quitosana, resultando no entrelaçamento dos polímeros em uma matriz tridimensional conhecido como gel reticulado (Figura 2.8). A formação destes complexos polieletrólitos não parece ser afetada pela razão entre o ácido gulurônico e manurônico do alginato (PENICHE, 2001), em contraste com a formação de hidrogéis do alginato com cátions divalentes (LAWRIE, 2007).



**Figura 2.8:** Representação esquemática da formação de complexos polieletrólitos entre as cadeias de alginato de sódio e quitosana (adpatado por KNILL *et al.*, 2004).

Os complexos de polieletrólito, formados entre a quitosana e o alginato, são insolúveis em água e apresentam maior efetividade em controlar a liberação de materiais incorporados a eles, quando comparados aos incorporados nos mesmos polímeros isolados (YAN *et al.*, 2000).

A liberação dos fármacos incorporados em sistemas matriciais, constituídos por polímeros hidrofílicos, baseia-se na transição do estado vítreo para o estado maleável resultante da penetração de água na matriz (LOPES, 2005).

A temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) dos polímeros é influenciada por vários fatores, dos quais se destaca a presença de líquidos plastificantes. As moléculas desses líquidos são, normalmente, de dimensões reduzidas e ficam retidas entre as cadeias poliméricas, afastando-as

uma das outras, o que reduz as forças de atração intermoleculares polímero – polímero, aumentando a flexibilidade das cadeias.

Desse modo, quando um sistema matricial contém um polímero que intumescce quando entra em contato com a água, considerada um plastificante, ocorre mudança do estado vítreo para um estado maleável, o que está associado com o processo de intumescimento/relaxamento.

A etapa de liberação de fármacos, a partir de sistemas farmacêuticos de matriz hidrofílica, envolve várias fases. Na primeira fase, as matrizes hidrofílicas, quando em contato com o meio de dissolução ou com o fluido aquoso gastrointestinal, absorvem água, sobretudo através dos poros do sistema matricial. Após a hidratação do sistema, com conseqüente liberação imediata do fármaco adsorvido na superfície do comprimido, ocorre o intumescimento/relaxamento das cadeias poliméricas, e forma-se uma camada gelatinosa de polímero (estado maleável) à volta do núcleo seco do comprimido.

Na segunda fase a água continua a penetrar na matriz, mas agora, sobretudo através da camada gelificada que, lentamente, vai se formando. À medida que o núcleo seco fica hidratado, a camada exterior gelificada sofre erosão.

Quando a penetração da água na matriz gelificada excede um valor crítico de concentração (concentração na qual as interações entre a água e o polímero aumentam com conseqüente redução das interações polímero - polímero), as cadeias poliméricas começam a se separar, aumentando os espaços onde a difusão do fármaco ocorrerá.

Nesta fase, a taxa de hidratação diminui relativamente à taxa de erosão. As cadeias poliméricas dispersam-se na camada mais externa, resultando em aumento da taxa de erosão. Em conseqüência do aumento da distância entre as cadeias poliméricas, estas deixam de interagir entre si, separando-se e ocorrendo a desintegração total do sistema (LOPES, 2005).

## **2.5 Recobrimento de produtos farmacêuticos**

São encontrados muitos estudos na literatura que avaliam matrizes poliméricas como alternativa para modificação do perfil de liberação de diversos fármacos. González-Rodríguez *et al.* (2002), prepararam partículas de alginato/quitosana como sistemas carreadores de liberação do diclofenaco de sódio. Anal e Stevens (2005), encapsularam ampicilina em matrizes de alginato e quitosana. Mladenovska *et al.* (2007), produziram micropartículas de alginato/quitosana para

encapsulação do ácido 5 aminosalicílico para uma liberação colón-específica. A conclusão destes autores foi que estas matrizes são promissoras para a liberação modificada de fármacos. Contudo, um dos grandes desafios a ser superado na utilização destas matrizes poliméricas, como agentes carreadores de fármacos, está no fato destas apresentarem superfícies irregulares, porosas (ELGINDY *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2011) e com a presença de fissuras, o que favorece a liberação inicial rápida da droga (efeito “burst”).

Em trabalhos realizados com o intuito de desenvolver um sistema de liberação modificado para a OTC, por microencapsulação utilizando biopolímeros (MI *et al.*, 1997; CRUZ, 2004), foi observado o efeito “burst” na liberação deste fármaco em meio ácido. Isso ocorre devido a estas micropartículas apresentarem a superfície irregular, com fissuras, e pelo fato da OTC ser extremamente solúvel neste meio (MI *et al.*, 1997), o que dificulta a encapsulação deste fármaco.

A importância de evitar o efeito “burst” na liberação de fármacos pode ser notada através dos trabalhos voltados para o desenvolvimento de métodos que previnem ou reduzem este efeito em dispositivos poliméricos (HUANG, 2001). Entre as estratégias adotadas, tem-se a modificação das características de superfície das matrizes carreadoras de drogas, através da deposição de uma camada exterior de polímero de recobrimento (PARK, 1992). Com isso, as superfícies se tornam mais regulares e uniformes, reduzindo a presença de fissuras e poros nestes dispositivos (FERRARI *et al.*, 2012) e favorecendo a liberação controlada dos fármacos.

Processos de recobrimento de formulações farmacêuticas, para modificação das suas características de superfície, vem sendo investigados (DEPYPERE *et al.*, 2009; SEVERINO *et al.*, 2012; MIYADAI *et al.*, 2012; RUJIVIPAT *et al.*, 2012) a fim de obter formulações com características específicas.

O processo de recobrimento consiste na aplicação de um material sobre a superfície externa de uma partícula sólida, conferindo benefícios e propriedades em relação à forma não revestida (AULTON, 2005), visando um sistema de liberação modificada. A Figura 2.9 mostra a camada de revestimento de grânulos para aplicações farmacêuticas.



**Figura 2.9:** Visualização da camada de revestimentos em grânulos farmacêuticos (NITZ, 2008).

Entre as principais técnicas de revestimentos de produtos farmacêuticos, tem-se: o revestimento por pós, revestimento por imersão, revestimento por compressão, revestimento por açúcar (drageamento) e o revestimento por filme ou película.

### **Revestimento com pós**

Esse revestimento é constituído de pós insolúveis como carbonato de cálcio, talco e amido, diluídos em solução de goma arábica. Nesse processo, não há presença de solventes orgânicos nem de água e, de forma geral, foi projetado com várias aplicações, incluindo: rápida liberação, controle da umidade, formação de películas protetoras e sistema de liberação controlada. A técnica de revestimento com pó seco foi aprovada por produzir comprimidos de resistência gástrica, com uma redução substancial do tempo de processamento. Os benefícios da deposição eletrostática de pós de revestimento em comprimidos farmacêuticos incluem significativas economias de energia, equipamentos simples, redução da movimentação do ar e de limpeza; requisitos principais para reduzir os custos de capital e operação (GUO & SHI, 2009).

### **Revestimento por imersão**

Este revestimento é aplicado aos núcleos de comprimidos, mergulhando os mesmos no líquido de revestimento. Os comprimidos molhados são secos de forma convencional, num

recipiente de revestimento. Alternando várias vezes a imersão com a secagem, consegue-se obter um revestimento uniforme. Este processo é demorado, pouco versátil e menos viável do que as técnicas de revestimento por aspersão. Equipamentos especializados tem sido desenvolvidos para revestir comprimidos por imersão, mas até o momento não é conhecida nenhuma aplicação industrial (LACHMAN, LIEBERMAN & KANIG, 2001).

### **Revestimento por compressão**

O revestimento por compressão, também chamado a seco ou cobertura de compressão, consiste em aplicar o material de revestimento nos comprimidos mediante o uso de máquinas de compressão adequadas (CALLIGARIS, 1991). Porém, este tipo de revestimento se encontra em desuso, embora apresente vantagens como menor tempo de processamento, baixo custo dos equipamentos, baixo requerimento energético e a não utilização de solventes (GUIMARÃES *et al.*, 2008).

### **Revestimento por açúcar (drageamento)**

O revestimento por açúcar, também denominado drageamento, é considerado o método mais antigo de revestimento de comprimidos e envolve a deposição, a partir de soluções aquosas, de revestimentos baseados predominantemente de sacarose (REMINGTON, 2004). Esse revestimento é hidrossolúvel e se dissolve rapidamente após a ingestão. O drageamento protege o fármaco do meio e fornece, principalmente, uma barreira contra o gosto e odor desagradáveis (ANSEL, LLOYD & POPOVICH, 2005).

### **Revestimento por filmes ou peliculado**

O revestimento por película é um processo que envolve a deposição de uma película fina e uniforme na superfície do substrato (VIANA *et al.*, 2006). Esta é a técnica mais moderna e mais frequentemente empregada no revestimento de comprimidos. Quase todos os novos produtos revestidos lançados no mercado apresentam preferencialmente este tipo de revestimento, em vez



de drageamento. A tecnologia farmacêutica, de revestimento por filme, está baseada na utilização de polímeros em solução ou dispersos em meios aquosos ou orgânicos.

Ao longo das quatro últimas décadas, uma grande quantidade e variedade de polímeros filmogênicos têm sido avaliadas e utilizadas para o revestimento de formas sólidas orais (BUNHAK *et al.*, 2007), preferencialmente em meio aquoso. A utilização do solvente aquoso se mostra mais seguro do ponto de vista toxicológico, além de se tornar mais econômico, se comparado ao valor de custo dos solventes orgânicos (CEREA *et al.*, 2004).

Um revestimento peliculado é considerado um revestimento ideal quando o revestimento for contínuo e uniforme em torno de todo grânulo, não podendo ocorrer abrasão ou fenômenos de desprendimento (AULTON, 2005).

Segundo Donida (2000), entre os componentes presentes em uma suspensão de recobrimento destacam-se o polímero, o plastificante e o solvente. O polímero é o responsável pela barreira ou proteção do grânulo. Os principais polímeros utilizados são derivados de celulose, como o hidróxi-propil metil celulose e certos copolímeros de ácido metacrílico e do metacrilato de metila. Contudo, a escolha do polímero depende a que se destina o recobrimento.

O plastificante tem a finalidade de dar flexibilidade à película final, de forma a suportar melhor os esforços. Na seleção do plastificante deve-se garantir que o mesmo seja compatível com o polímero utilizado, para que as propriedades da película se mantenham estáveis durante o armazenamento.

Os principais solventes utilizados nas operações de recobrimento por película pertencem, tipicamente, a uma das seguintes classes: alcoóis, cetonas, éteres, hidrocarbonetos clorados ou água. Sua função no processo de recobrimento é facilitar a deposição dos materiais formadores de película, na superfície do substrato, e garantir uma deposição controlada do polímero, obtendo-se assim uma membrana uniforme e aderente. A tendência atual é a utilização de água como solvente, por questões de segurança e custos.

Outras substâncias também entram na formulação de uma suspensão de recobrimento, tais como: talco e estearato de magnésio, tendo a função de agente de separação e alisamento, respectivamente. Eles reduzem a aglutinação das películas ao secarem e produzem uma película com superfície lisa.

## 2.6 Aplicações do recobrimento na área farmacêutica

Entre as aplicações atribuídas a técnica de recobrimento na área farmacêutica tem-se:

- Melhorar a estabilidade dos fármacos, protegendo-os da exposição destrutiva da luz, umidade e dos agentes atmosféricos;

- Tornar mais agradável o medicamento, quando este for de sabor ou odor desagradável;

- Proporcionar qualidades estéticas e diferenciadas ao produto (MOURA, 2005).

Revestimentos coloridos auxiliam na identificação do produto por parte do paciente, além de facilitar na deglutição do medicamento quando comparados aos não revestidos;

- Aumentar a resistência mecânica do produto;

Importantes aplicações estão direcionadas em modificar, ou controlar, a velocidade de dissolução da forma farmacêutica, o que permite controlar o local de desintegração e dissolução de um comprimido. Permitem também a liberação controlada de fármacos pela difusão da camada de revestimento, garantindo assim veicular a forma farmacêutica desejada ideal para sua finalidade terapêutica, levando em consideração as características físico-químicas do fármaco e o local de absorção do mesmo (MAURER e LEUENBERGER, 2009).

Formas farmacêuticas com recobrimento entérico, designadas como forma de liberação retardada, são consideradas formas de liberação modificadas, desenvolvidas para liberar seu conteúdo ativo no intestino; ou seja, a cápsula passa pelo estômago sem se romper, permitindo a absorção do ativo apenas no intestino, onde o meio alcalino propiciará sua liberação (COSTA e LOBO, 1999).

Este recobrimento tem como finalidade atenuar os efeitos nocivos de medicamentos que contenham componentes agressivos à mucosa estomacal, bem como proteger fármacos instáveis do ataque ácido e facilitar a sua absorção.

Os recobrimentos entéricos mais eficazes são os de cadeia longa com grupos carboxílicos ionizáveis, os quais em pH ácido permanecem insolúveis e em pH intestinal desintegram-se, permitindo a liberação do fármaco (REDDY, 2009).

Os polímeros filmogênicos gastrorresistentes estão disponíveis em uma variedade de tipos, podendo ser divididos em três grandes grupos (PEZZINI, SILVA e FERRAZ, 2007):

- acetofalato de celulose (Aquacoat®, Surelease®): obtido através da reação parcial entre o anidrido ftálico e o éster de acetato de celulose;

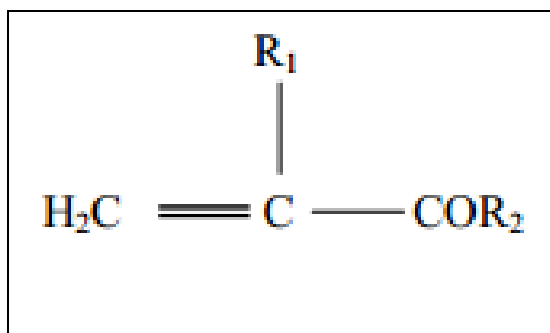
- acetofalato de polivinila (Kollicoat®): obtido através ftalato anidro, acetato de sódio e poli(álcool vinílico) parcialmente hidrolizado.
- derivados de acrílicos e metacrílicos (Eudragit®).

Pelo fato de possuírem grupamentos ácidos carboxílicos livres na rede polimérica, esses polímeros apresentam um perfil de solubilidade diferenciado. Quase sempre são insolúveis em meio aquoso e pH ácido; além disso, a medida que o pH aumenta, mostram um claro e definido aumento de solubilidade em valores de pH específicos. (AULTON, 2005).

### 2.6.1 Polímeros metacrílicos: Eudragit®

Estes polímeros são largamente empregados, constituindo uma importante classe de excipientes devido à sua natureza multifuncional e à sua biocompatibilidade (FERREIRA e VILA NOVA, 2006).

A estrutura química básica dos derivados acrílicos e metacrílicos pode ser observada na Figura 2.10.



**Figura 2.10:** Estrutura química básica dos derivados acrílicos e metacrílicos. (OLIVEIRA, 2006).

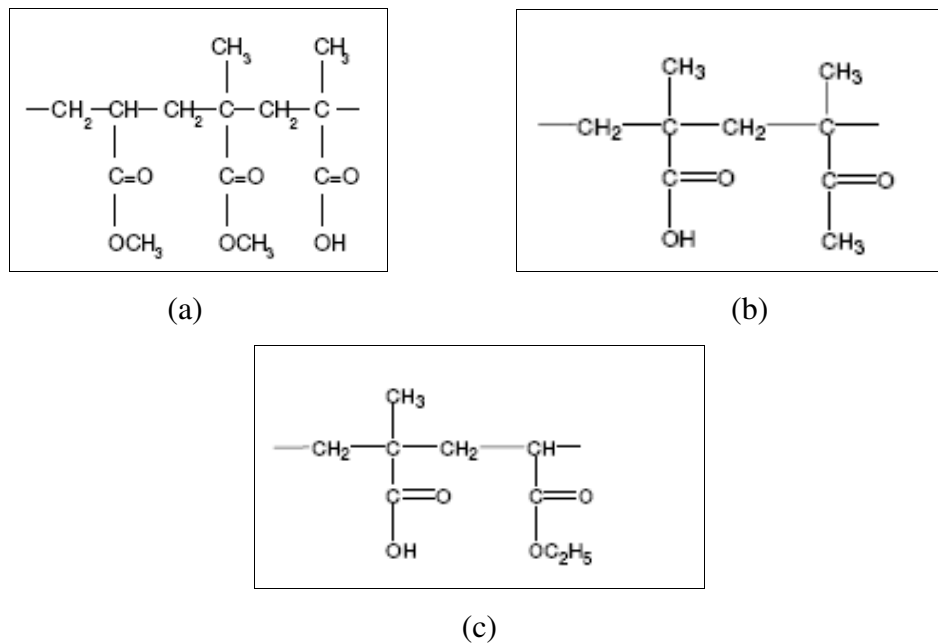
Polímeros específicos derivados do metacrilato, denominados comercialmente de Eudragit®, tem sido desenvolvidos para serem empregados na obtenção de formas farmacêuticas destinadas a administração oral. A Tabela 2.1 apresenta os principais tipos de Eudragit® disponíveis comercialmente, e suas características.

**Tabela 2.1:** Principais tipos e características de Eudragit® disponíveis.

<b>Nome comercial</b>	<b>Tipo</b>	<b>Características de solubilidade e permeabilidade</b>
Eudragit® L100	Copolímero de ácido metacrílico Tipo A	Solúvel nos fluídos intestinais em pH > 6,0
Eudragit® E	Copolímero aminolaquil metacrilato	Solúvel em suco gástrico em pH < 5,0
Eudragit® S	Copolímero de ácido metacrílico Tipo B	Solúvel em pH > 7,0
Eudragit® RL	Copolímero metacrílico de amônio Tipo A	Filmes de alta permeabilidade
Eudragit® RS	Copolímero metacrílico de amônio Tipo B	Filmes de baixa permeabilidade
Eudragit® NE	Dispersão polimérica	Filmes de média permeabilidade

Fonte: USP - pharmacist's pharmacopeia, 2005.

Os polímeros de ácido metacrílico, mais indicados para revestimento gastrorresistentes, são: Eudragit® L, Eudragit® S, e Eudragit® FS (GUNDER, LIPPOLP, 1995). Suas estruturas, apresentadas na Figura 2.11, apresentam como grupo funcional o ácido metacrílico de natureza aniônica; quando em pH ácido do estômago se torna insolúvel e em pH maiores que 5,5 solubiliza-se, liberando o fármaco na faixa de pH entre 5,5 e 7 no meio entérico (FERREIRA, 2000).

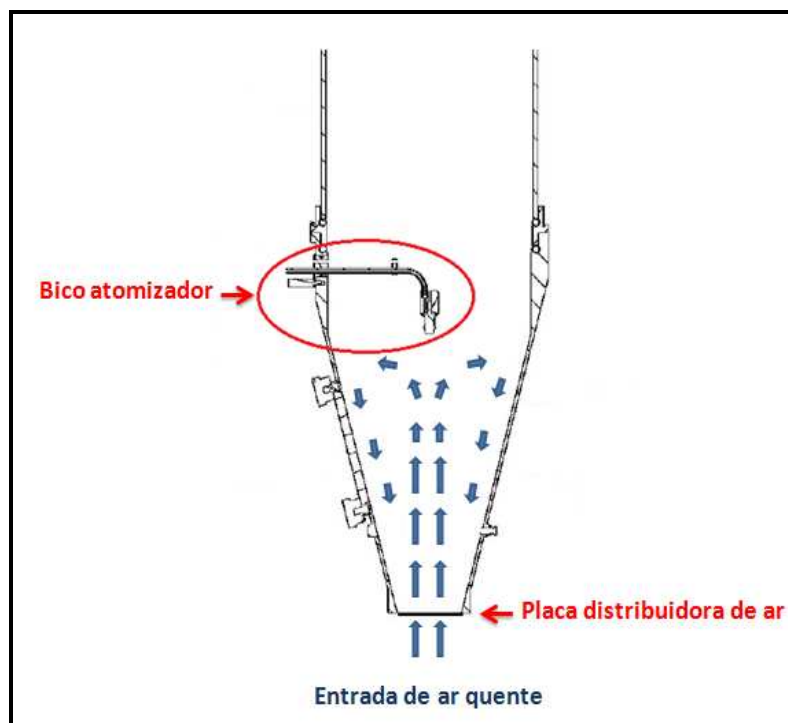


**Figura 2.11:** Estruturas químicas de (a) Eudragit® FS 39 (b) Eudragit® L 100 (c) Eudragit® L 30D (PILLAI; PANCHAGNULA, 2000).

## 2.7 Recobrimento de partículas em leito fluidizado

A fluidização é uma operação unitária usada para recobrimento e granulação simultaneamente, através da atomização de uma solução ou suspensão de revestimento, nas partículas em suspensão (HEMATI *et al.*, 2003).

No processo de recobrimento em leito fluidizado, as partículas são mantidas em suspensão, com a passagem de um gás ascendente pré-aquecido. Sobre essas partículas é aspergida uma solução ou suspensão de recobrimento, na forma de pequenas gotas, através de um bico atomizador, como ilustra a Figura 2.12. Deste modo, esta solução envolve a partícula num processo simultâneo de umedecimento e secagem, até formar uma camada com características específicas (KUNII, D e LEVENSPIEL, 1991).



**Figura 2.12:** Representação esquemática do recobrimento de partículas em leito fluidizado.

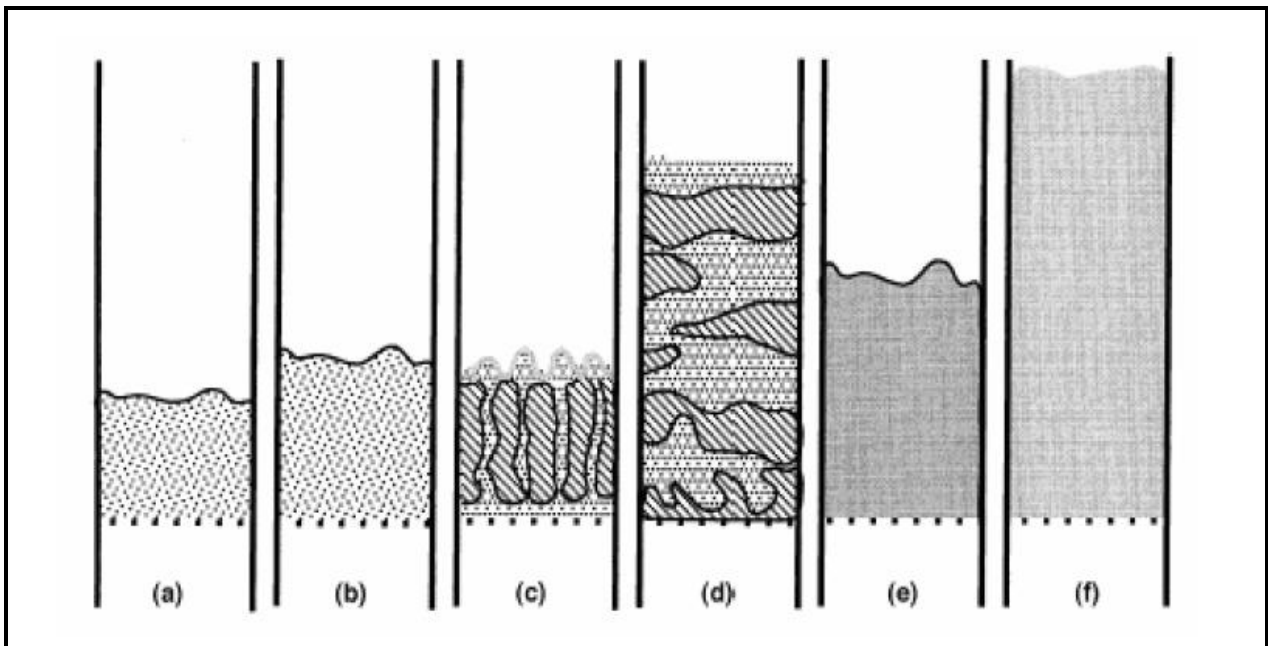
Esse processo é vantajoso pela qualidade do produto obtido, pois é capaz de formar uma camada uniforme sobre a partícula, em um curto período de tempo. Esse procedimento contribui para que ocorra uma difusão controlada e homogênea do fármaco de dentro da partícula para o meio, mantendo a dosagem desejada. Isso ocorre devido às excelentes condições de transferência de calor e massa no interior do leito fluidizado (MARTINS e OLIVEIRA, 2003).

### 2.7.1 Regimes de fluidização

O princípio do leito fluidizado é manter as partículas em suspensão num compartimento fechado do equipamento, através de um jato de ar ascendente. De acordo com Grace (1984), a fluidização pode ser dividida em diversos regimes (Figura 2.13), em função da velocidade do ar dentro do equipamento:

- a) Leito fixo: com velocidade do gás de zero até a de mínima fluidização. Nesta fase, as partículas estão imóveis e o fluido escoava entre os interstícios.

- b) Fluidização particulada ou suave: com a velocidade do gás que mantém mínima fluidização, sendo a velocidade limite para iniciar o regime de bolhas. O leito se expande de maneira progressiva, a superfície superior é bem definida, com pouca agregação de partículas e flutuação de pressão pequena.
- c) Fluidização do tipo borbulhante: com a velocidade do gás acima da velocidade de mínima fluidização, várias bolhas são formadas próximas ao distribuidor e sobem para a superfície do leito.
- d) Fluidização pistonada: com velocidade do gás entre a mínima para a fluidização pistonada, e a mínima para o regime turbulento. As bolhas formadas ocupam grande parte da coluna e a superfície superior sobe e sofre colapsos com frequência, flutuações de pressão são observadas.
- e) Fluidização turbulenta: com velocidade do gás entre a mínima para a fluidização turbulenta e a velocidade terminal das partículas. São observadas regiões de vazios e movimentos desordenados de partículas, com formação de bolhas instáveis. A superfície é indefinida e pequenas flutuações de pressão são observadas.
- f) Fluidização rápida: com velocidade do gás acima da velocidade terminal das partículas. A superfície não é definida, as partículas são transportadas para fora, pelo topo, e podem ser capturadas por um ciclone e reticuladas próximo ao fundo da coluna.
- g) Transporte pneumático: a velocidade do gás é muito superior à velocidade terminal das partículas. Não há praticamente partículas descendentes próximo a superfície do distribuidor de ar, pois as mesmas são arrastadas do leito.

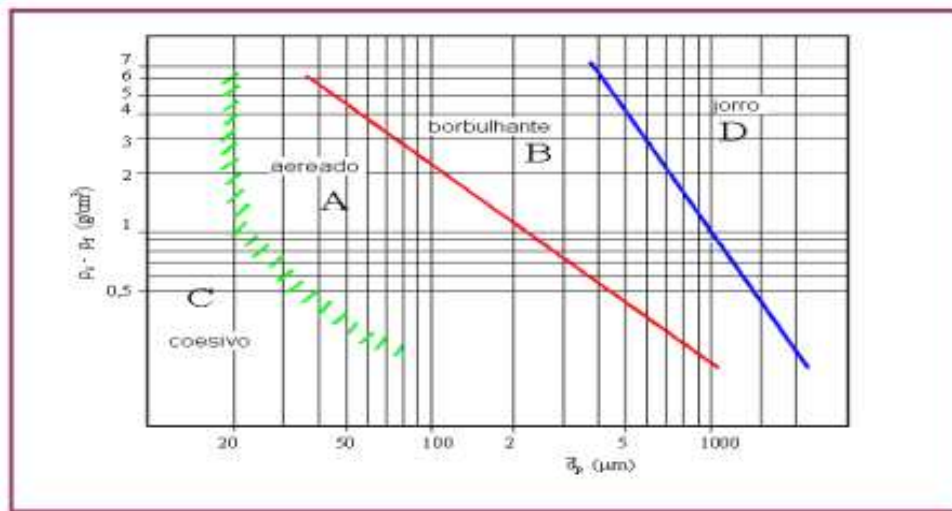


**Figura 2.13:** Regimes de fluidização (a) leito fixo (b) fluidização particulada (c) fluidização borbulhante (d) pistonado (e) turbulento (f) fluidização rápida. (Adaptado de PONCELET & TEUNOU, 2001).

### 2.7.2 Propriedades das partículas

Para a realização da fluidização é indispensável conhecer as propriedades das partículas a serem revestidas. Geldart (1986) estabeleceu quatro grupos de comportamento de partículas fluidizadas, de acordo com a densidade do fluido, do sólido e do diâmetro das partículas. Essa classificação é mostrada pela Figura 2.14, onde o eixo das abscissas caracteriza o diâmetro da partícula ( $d_p$ ), em microns, e o eixo das ordenadas é composto pela diferença entre a densidade aparente do sólido ( $\rho_s$ ) e a densidade do fluido ( $\rho$ ).





**Figura 2.14.** Diagrama simplificado de classificação de partículas para fluidização através de ar em condições normais (Adaptado de: GELDART, 1986).

**Categoria A (fluidização com aeração):** possui uma grande faixa de fluidização, entre a velocidade de mínima fluidização ( $U_{mf}$ ) e velocidade para iniciar as bolhas ( $U_B$ ), proporcionando alta expansão do leito e alta mistura do gás e do sólido. Quando a velocidade do gás aumenta acima da velocidade para iniciar as bolhas, a fluidização é borbulhante e é caracterizada por:

- Bolhas com movimento ascendente e mais rápido que o gás,
- Bolhas que surgem após o distribuidor, dividem-se e coalescem quando sobem em direção à superfície do leito.
- Número de bolhas: em leito raso, só há uma boa mistura das partículas, quando poucas bolhas estão presentes.
- Mudança de regime: quando essas bolhas atingem o diâmetro do leito, o regime muda para pistonado.

**Categoria B (fluidização do tipo areia):** não há evidência do tamanho máximo de bolhas, de modo que a coalescência é o fenômeno predominante. O tamanho das bolhas aumenta com a altura do leito e com a velocidade do gás em excesso, apresentando moderada expansão do leito e mistura de partículas.

**Categoria C (fluidização coesiva):** possui baixa densidade, tem partículas coesivas, é extremamente difícil de fluidizar, com a formação de canais e sem a formação de bolhas. Proporciona baixa expansão do leito e pouca mistura dos sólidos.

**Categoria D (fluidização do tipo jorro):** possui alta densidade, requer alta velocidade para fluidizar e proporciona baixa expansão do leito, além de pouca-mistura de sólidos. São mais adequados ao movimento do jorro. As bolhas têm movimentos ascendentes, mais lentos que o gás, e quando atingem o diâmetro do leito, observa-se o regime pistonado (SEVERINO, 2008).

### 2.7.3 Variáveis no processo de recobrimento em leito fluidizado

A facilidade com que as partículas fluidizam e as condições operacionais com que vão manter a fluidização variam muito e são influenciadas pelos seguintes fatores: o tamanho e a distribuição granulométrica dos sólidos; a relação da densidade sólido-fluido (líquido ou gás); a geometria do equipamento, o tipo do sólido usado, e se os sólidos escoam livremente ou se apresentam a tendência de aglomerarem (BORINI, 2006).

Ao se processar partículas nas operações de revestimento e granulação, existe ainda a adição de agentes de revestimento e de granulação, os quais deverão alterar as características das partículas ao longo do processo, causando mudanças nas suas propriedades de superfície, tamanho, geometria, distribuição granulométrica e densidade. Essas mudanças podem influenciar na qualidade da fluidização e até causar a defluidização total do sistema (BORINI, 2006).

O conhecimento das variáveis do processo é essencial para a compreensão do processo de fluidização. Para que o processo seja monitorado de forma adequada, deve-se conhecer quais são os parâmetros que devem ser controlados e quais características do produto são influenciadas por esses parâmetros.

Quando se trabalha com leito fluidizado, os principais parâmetros operacionais a serem analisados são (GIANNINI; SARPOTDAR, 1988):

- ✓ Temperatura do ar de entrada: a temperatura influencia na qualidade do recobrimento, eficiência do processo e no crescimento do grânulo. É um parâmetro importante na secagem e no processo de formação de aglomerados
- ✓ Volume do ar de fluidização: vazão do ar de fluidização deve ser suficiente para promover uma movimentação cíclica das partículas, sendo responsáveis por

regimes fluidodinâmicos estáveis, com movimento adequado do material e pela taxa de evaporação do agente ligante da suspensão. O aumento da velocidade do ar diminui a ocorrência de aglomeração, pois aumenta o movimento das partículas e facilita a quebra das partículas aglomeradas (HEMATI, 1999).

- ✓ Pressão do ar de atomização: pressão do ar de atomização é responsável pela vazão ar-líquido no orifício do bico atomizador. O aumento da pressão de ar de atomização diminui o tamanho das gotas formadas, facilitando a secagem prematura dessas gotas antes de atingirem a superfície das partículas. Já a diminuição da pressão do ar de atomização pode promover gotas grandes favorecendo a formação de aglomerados (SILVA e ROCHA, 2004).
- ✓ Vazão da solução de recobrimento e vazão de injeção da suspensão de recobrimento pela bomba: a vazão da solução de recobrimento deve ser aplicada de tal forma que não interfira na estabilidade do sistema e não promova aderência entre as partículas, e entre as partículas e o equipamento. É selecionada com base na capacidade de evaporação do ar de fluidização, da adesão da suspensão polimérica ao substrato e da velocidade que as partículas passam pela zona de recobrimento (DEWETTINCK e HUYGHEBAERT, 1999).

O tamanho das gotículas da solução de recobrimento depende do volume e pressão do ar de atomização e das propriedades físicas da suspensão, como: viscosidade e tensão superficial. Este tamanho deve ser selecionado com base no tamanho das partículas a serem revestidas (DEWETTINCK e HUYGHEBAERT, 1999; JONES, 1985; NITZ, 2006). Deve-se evitar a formação de gotas grandes que dificultam a secagem e favorecem a formação de aglomerados.

As variáveis do projeto do equipamento e as propriedades associadas à partícula e a solução de recobrimento, também são fundamentais para que se tenha um processo adequado (SILVA, 2003).

Em relação aos parâmetros do equipamento no processo de recobrimento, a geometria do leito interfere no movimento das partículas durante a fluidização, podendo favorecer a aglomeração. A localização e altura do bico atomizador devem ser reguladas, tal que a nuvem formada com a atomização seja suficientemente adequada para que as gotas geradas não sequem antes de atingir as partículas e não ocorram perdas nas paredes do leito (AULTON e BANKS, 1981).

A placa distribuidora de ar é responsável pela distribuição uniforme deste no leito, para a circulação adequada das partículas. Se a distribuição do ar não for adequada pode ocorrer formação descontrolada de aglomerados, chegando ao colapso do leito fluidodinamicamente ativo.

As propriedades físicas do material a ser revestido são de grande importância durante o processo de recobrimento em leito fluidizado. Uma eficiente movimentação e circulação dos sólidos no leito dependem das propriedades do material, como coesividade, distribuição de tamanho, forma, propriedades estáticas e higroscopicidade. Materiais extremamente coesivos ou com grande carga estática são difíceis de movimentar. Materiais com ampla distribuição de tamanhos apresentam problemas de segregação no leito. Todas essas propriedades afetam diretamente a fluidinâmica do leito, e por consequência o processo de recobrimento (SEVERINO, 2008).

A natureza hidrofóbica ou hidrofílica das partículas tem grandes efeitos no grau de molhamento. O molhamento está diretamente ligado às características da superfície do sólido e da tensão superficial do líquido, através do ângulo de contato entre o líquido de recobrimento e a superfície da partícula a ser recoberta.

A solução de recobrimento deve ser escolhida de acordo com a finalidade desejada. A concentração de material filmogênico afeta a viscosidade, o que influencia no tamanho da gota atomizada e a adesão entre a partícula e o filme já seco. Concentrações altas geralmente formam filmes não uniformes e favorecem a formação de aglomerados.

Operações de recobrimento são consideradas ótimas quando o produto obtido apresenta a qualidade pretendida, apresentando um mínimo de aglomerados de partículas e a liberação do material ativo dentro das especificações desejadas (REZENDE, 2007).

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1 Materiais

Para o desenvolvimento deste trabalho, sobre encapsulamento de princípio ativo, foi utilizado o fármaco cloridrato de oxitetraciclina (Sigma-Aldrich Co., EUA,  $\geq 95\%$  (HPLC) cristalino). Como agente encapsulante foram utilizados a quitosana (Sigma-Aldrich Co., EUA) e o alginato de sódio de baixo peso molecular (Fluka Chemika, Suíça). O cloreto de cálcio (Synth, P.A., Brasil) foi utilizado como geleificante do alginato. Os solventes utilizados foram ácido acético (Synth, P.A., Brasil) e água destilada. A solução de recobrimento Acril-EZE® MP gastrorresistente tem como base o Eudragit® L100-55, insolúvel em meio ácido e solúvel em pH acima de 5,5, foi fornecida pela Colorcon do Brasil Ltda.

#### 3.2 Caracterizações da quitosana

##### 3.2.1 Grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação da quitosana é um parâmetro importante a ser determinado, pois esta relacionada à porcentagem de grupos aminos livres que irão interagir eletrostaticamente com os grupos carboxílicos do alginato formando uma membrana reticulada que envolve o fármaco.

Pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), o grau de desacetilação da quitosana foi calculado baseando-se na relação entre o valor da absorvância da banda em  $1655\text{ cm}^{-1}$ , associada aos grupamentos carbonila (C=O) do N-acetil, e o valor da absorvância da banda em  $3450\text{ cm}^{-1}$ , associada aos grupamentos hidroxila (OH) da quitosana.

As absorvâncias foram calculadas a partir dos valores de transmitância na região do infravermelho, pela seguinte equação 1:

$$\text{Absorvância} = -\log_{\text{Transmitância}} \quad (\text{Equação 1})$$

Os valores obtidos em absorvância, relativos a estes dois comprimentos de onda, foram utilizados para o cálculo do grau de desacetilação da amostra, segundo a equação 2 proposta por Prado *et al.*, 2004:

$$GD = 97,67 - [26,486 (A_{1655} / A_{3450})] \quad (\text{Equação 2})$$

O equipamento utilizado foi o Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier, modelo Nicolet 6700, da Thermo Scientific, Madison/EUA, do Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração da FEQ.

### 3.2.2 Determinação da massa molecular da quitosana por viscosimetria

Para determinação da massa molecular viscosimétrica foram preparadas soluções de quitosana, em ácido acético 1% e nas seguintes concentrações: 0,003g/dl, 0,006g/dl, 0,05g/dl e 0,1g/dl.

Utilizando um viscosímetro de Ostwald, determinou-se o tempo de efluxo para o solvente puro e para todas as soluções de quitosana. Cada medida foi realizada três vezes, calculando o tempo médio entre as medidas.

A massa molar foi calculada utilizando as equações de viscosidade relativa ( $\eta_{rel}$ ), específica ( $\eta_{esp}$ ), pelas seguintes equações:

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\eta_{esp} = \eta_{rel} - 1 = (t - t_0) / t_0 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde,  $t$  é o tempo da solução de quitosana,  $t_0$  é o tempo da solução padrão.

A viscosidade intrínseca da solução foi determinada através do gráfico de viscosidade intrínseca ( $\eta_{sp}/c$ ) em função da concentração ( $c$ ) das soluções das amostras, por extrapolação da reta obtida por regressão linear para  $c=0$ .

Para a determinação da massa molar viscosimétrica média (M<sub>v</sub>), utilizou-se a equação empírica de Mark-Houwink (Equação 5) que relaciona a viscosidade intrínseca à massa molar do polímero.

$$m_v = \sqrt[a]{[\eta]/k} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde, *c* é a concentração das soluções; *a* e *K* são constantes, cujos valores a 25°C são 0,88 e 2,1x10<sup>-4</sup>, respectivamente.

### 3.3 Caracterização da Oxitetraciclina

#### 3.3.1 Análise visual

Foi realizada a análise visual da OTC, sendo os resultados comparados aos parâmetros encontrados na British Pharmacopoeia, volume II, 6ª edição, 2011.

#### 3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foi realizada a microscopia eletrônica de varredura da OTC com o objetivo de determinar sua morfologia. A análise da amostra metalizada em ouro foi realizada no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração da FEQ (LARAC), em MEV, modelo Leo 440i, da Electron Microscopy/Oxford, Cambridge, Inglaterra.

#### 3.3.3 Ponto de fusão

A determinação do ponto de fusão da OTC foi realizada em aparelho de ponto de fusão, modelo PF 1000, Gehaka Ltda.

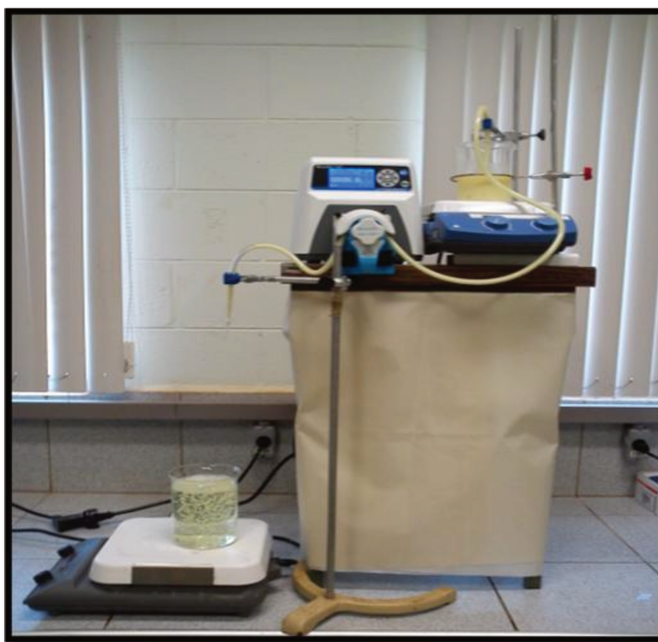
A técnica consiste em vedar uma das extremidades de um capilar de vidro e preenchê-lo com certa quantidade de fármaco. Em seguida, o capilar é colocado no aparelho de ponto de fusão, que aumenta a temperatura com o decorrer do tempo. A fusão do fármaco é visualizada através do visor do equipamento e a temperatura registrada por um termômetro (0 – 300°C), acoplado no aparelho.

### 3.4 Preparação das micropartículas

#### 3.4.1 Obtenção das micropartículas de alginato/quitosana com o fármaco aprisionado.

As micropartículas foram preparadas pelo método de coacervação complexa em um único estágio, pelo gotejamento de uma solução de alginato de sódio e OTC em uma solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e quitosana, mantida sob agitação constante com um agitador magnético.

Preparou-se uma solução de 0,3% de quitosana em ácido acético 1%, sob agitação por 24 horas. Em seguida, adicionou-se  $\text{CaCl}_2$  2,0% nesta solução. Após, o pH foi ajustado para 5,7 com NaOH 1M e a solução filtrada. Uma solução de oxitetraciclina 0,010g/mL dissolvida em alginato de sódio 1,75% e NaCl 0,9% foi gotejada, com o auxílio de uma bomba peristáltica, com uma altura de 30 cm, sobre a solução de cloreto de cálcio, contendo quitosana, como mostrado na Figura 3.1.



**Figura 3.1:** Sistema de preparação das microesferas de alginato/quitosana contendo OTC (Laboratório de Biomateriais – FEQ/UNICAMP).



As micropartículas formadas ficaram sob agitação na solução original, por 24 horas, garantindo assim sua geleificação interna. Após, as micropartículas foram secas a temperatura ambiente.

### 3.5 Caracterizações das micropartículas de alginato/quitosana

#### 3.5.1 Carregamento da oxitetraciclina

O carregamento da oxitetraciclina em mg/g de micropartículas foi determinada pela equação 6:

$$\text{Carregamento de oxitetraciclina} = \frac{\text{Massa de Oxitetraciclina Incorporada}}{\text{Massa micropartículas}} \quad (\text{Equação 6})$$

#### 3.5.2 Intumescimento das micropartículas

As micropartículas foram lavadas com água deionizada, cujo excesso foi retirado com papel filtro, para determinação da massa inicial. Em seguida, essas micropartículas foram secas a temperatura ambiente até que não houvesse variação de massa, determinando-se assim a massa final.

O grau de intumescimento foi determinado pela equação 7 que se segue:

$$\% I_0 = \left( \frac{m_0 - m_f}{m_0} \right) * 100 \quad (\text{Equação 7})$$

Onde:

%I = porcentagem de intumescimento das micropartículas.

$m_f$  = massa das micropartículas secas.

$m_0$  = massa inicial das micropartículas expandidas.

#### 3.5.3 Microscopia Óptica

Foi realizada a microscopia óptica das micropartículas na forma de gel, antes e após o processo de secagem, em um microscópio óptico acoplado a sistemas de aquisição de imagem – ENLTV Win 32 Application.

### 3.5.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A morfologia e as características superficiais das micropartículas obtidas, após a secagem, foram avaliadas pela utilização de microscópio eletrônico de varredura, modelo Leo 440i, da Electron Microscopy/Oxford, Cambridge, Inglaterra. Foram analisadas as micropartículas de alginato e quitosana, com e sem o fármaco (branco).

### 3.5.5 Perfil de distribuição de OTC nas micropartículas

A microscopia confocal multifóton (Laser Scanning Confocal Microscopy – LSCM) é uma ferramenta poderosa que utiliza a fluorescência para obtenção de imagens. Neste trabalho foi realizada a microscopia confocal multifóton das micropartículas para verificar a encapsulação da OTC. Esta foi excitada por dois fótons num comprimento de onda de 780nm, utilizando-se laser de Ti:Safira Mai Tai HP Spectra-Physics (Irvine, USA).

Foi também realizada a microscopia óptica não-linear para obter imagens do tempo de vida de fluorescência (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy - FLIM) que é uma técnica que permite a obtenção de imagens baseando-se na diferença das taxas de decaimento exponencial da fluorescência de uma amostra fluorescente. Utilizou-se laser multifóton Ti:Safira Mai Tai HP Spectra-Physics (Irvine, USA) no comprimento de onda de 780 nm com taxa de repetição de 80 MHz.

O fator principal dessa técnica é a determinação do tempo de vida de decaimento do estado excitado das moléculas fluorescentes, em vez da quantidade de luz emitida (BODDEKE, 1996). Cada marcador fluorescente apresenta um tempo específico de duração para emissão de fluorescência no seu estado excitado, sendo geralmente representado em imagens FLIM em conceitos de cores. Detectando-se as diferenças neste tempo, é possível distinguir-se cromóforos que emitem fluorescência no mesmo comprimento de onda.

Estas técnicas foram realizadas no Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia de Fotônica Aplicada à Biologia Celular (INFABiC), do Instituto de Física Gleb Wataghin da UNICAMP. O microscópio confocal utilizado foi da Modelo LSM780-NLO, Carl Zeiss AG, Alemanha.

### **3.5.6 Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)**

Foi utilizada espectroscopia FT-IR para se avaliar a presença dos grupamentos químicos em amostras de alginato e quitosana, e as mudanças destes grupamentos após a formação das micropartículas. As bandas de absorção características dos polímeros alginato e quitosana foram determinadas em amostras destas substâncias puras. Assim, foram registrados os espectros de FTIR do alginato de sódio puro (pó), da quitosana pura (pó) e do branco, ou seja, das micropartículas sem o fármaco (alginato, quitosana e cálcio).

A determinação dos grupamentos funcionais foi realizada em um Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier, modelo Nicolet 6700, da Thermo Scientific, Madison/EUA, no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração da FEQ. Uma determinada quantidade de amostra foi triturada com brometo de potássio, sendo essa mistura prensada com uma prensa hidráulica para se obter um disco. Este foi então transferido para o Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), e a medida na forma de transmitância foi feita na faixa de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.5.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

As análises de DSC foram realizadas num equipamento de calorimetria diferencial exploratória - DSC (TA Instruments – DSC 2910, USA) para se determinar a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do material. O aquecimento ocorreu de  $-50^\circ$  até  $180^\circ\text{C}$  numa taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{minuto}$ , em atmosfera inerte. As amostras analisadas foram: alginato, quitosana, micropartículas de alginato/quitosana sem OTC (referência) e micropartículas de alginato/quitosana com OTC.

### **3.6 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana em leite fluidizado.**

Nesta etapa do trabalho foi avaliada a espessura de recobrimento necessária para se obter micropartículas com o perfil de liberação gastrorresistente desejado, ou seja, um perfil que pudesse suportar duas horas o ambiente gástrico até a droga alcançar o sistema entérico intacta.

### 3.6.1 Características das micropartículas de alginato/quitosana quanto à fluidização

Para a classificação de Geldart, 1986, as partículas foram analisadas quanto à granulometria por microscopia óptica, a densidade por picnometria gasosa, e a densidade da solução polimérica por picnometria líquida.

#### 3.6.1.1 Granulometria das micropartículas de alginato/quitosana

A análise granulométrica das micropartículas foi realizada em um microscópio óptico Leica DMLM, Alemanha, no Laboratório de Recursos Analíticos e de Calibração da FEQ. Foram medidos os diâmetros de 50 micropartículas, determinando-se posteriormente a média granulométrica das mesmas.

#### 3.6.1.2 Densidade real das micropartículas de alginato/quitosana

A densidade real das micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC foi determinada por picnometria gasosa, utilizando-se o equipamento AccuPyc 1330 V2.02, da Micromeritics, USA.

A amostra foi colocada em uma câmara e submetida a um processo de desgaseificação, para remoção de impurezas e umidade que eventualmente pudesse conter. Depois de levado todo o sistema à pressão atmosférica, isolou-se a câmara de expansão, fechando-se a válvula e pressurizando-se a câmara que continha a amostra, até uma pressão  $P_1$  (cerca de 17 psi). Seguidamente, a válvula de expansão foi aberta e, como consequência, a pressão caiu para um valor  $P_2$ . Admitindo-se comportamento ideal do Hélio, o volume do sólido pode ser calculado a partir da seguinte equação (SMITH, 1996):

$$P_1(V_a - V_s) = P_2(V_a - V_s - V_g) \quad (\text{Equação 8})$$

Onde:

$$V_s = V_a - \frac{V_e}{\frac{P_1}{P_2} - 1} \quad (\text{Equação 9})$$

Em que:

$V_a$  - volume da câmara da amostra;

$V_e$  - volume da câmara de expansão;

$V_s$  - volume do sólido.

A densidade é automaticamente calculada pelo aparelho, através da relação entre a massa do sólido (introduzida como dado de entrada) e o volume derivado da Equação 9, acima.

### 3.6.1.3 Densidade da solução polimérica de Acril-Eze ® MP

A densidade da solução polimérica de Acril-Eze ® MP a base de Eudragit® L100 55 foi determinada, em triplicata, por picnometria líquida, seguindo a norma ASTM D 1475-98 (reaprovada em 2012).

### 3.6.2 Circularidade das micropartículas de alginato/quitosana

Foi determinada a circularidade de 50 micropartículas, pela análise das imagens obtidas por microscopia óptica, através do programa ENLTV Win32 Application. A equação utilizada foi:

$$SF = \frac{4\pi \times \text{Área}}{(\text{Perímetro})^2} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde SF= Fator forma

### 3.6.3 Preparo da solução polimérica de Acril-Eze ® MP

O polímero de revestimento utilizado no recobrimento das micropartículas foi o Acril-Eze ® MP, o qual é comercializado na forma de pó, cuja fórmula apresenta o Eudragit® L100-55

(copolímero do ácido metacrílico tipo C), talco, sílica, bicarbonato de sódio e lauril sulfato de sódio.

Foi preparada uma solução aquosa com Acryl-Eze® MP a 20%. Esta solução permaneceu por agitação, em um agitador mecânico, por uma hora. Após, a solução foi filtrada em uma peneira com 170µm de abertura.

### **3.6.4. Caracterização da solução polimérica de recobrimento: Acril-EZE® MP**

A solução polimérica de recobrimento de Acril-EZE® MP foi caracterizada quanto à tensão superficial, ângulo de contato e determinação do trabalho de adesão.

#### **3.6.4.1 Determinação da tensão superficial, ângulo de contato e trabalho de adesão.**

Estas caracterizações nos permitem avaliar a molhabilidade e a forças de adesão da solução de recobrimento, na superfície sólida das micropartículas; ou seja, a interação que ocorre entre uma gotícula da solução e o substrato.

A determinação da tensão superficial foi realizada pelo método do anel de Du Noüy, com a correção matemática de Huh e Mason. As velocidades de subida e de descida do anel foram 5mm/min 10mm/min, respectivamente. O equipamento utilizado foi KSV Sigma 701. Esta análise foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química/ UNICAMP.

A análise de ângulo de contato foi realizada seguindo a norma ASTM D 5946-09. A técnica consiste na medição do ângulo de uma gota, da suspensão de recobrimento, depositada sobre um sólido de superfície lisa. Utilizou-se um goniômetro manual da Tantec, do Laboratório de Física de Polímeros da FEQ. O método consiste na deposição de uma gota da suspensão sobre uma superfície plana, na qual se deseja determinar o ângulo de contato. Um feixe de luz incide nessa gota, projetando sua imagem sobre um anteparo graduado.

Para a obtenção da superfície lisa, sobre a qual a gota foi depositada, as micropartículas foram prensadas em um molde de aço inox, utilizando-se uma prensa hidráulica, com carga de 6 toneladas.

Relacionando-se a tensão superficial da solução polimérica e ângulo de contato, é possível determinar o trabalho de adesão pela equação de Neumann & Good (1979) apresentada a seguir:

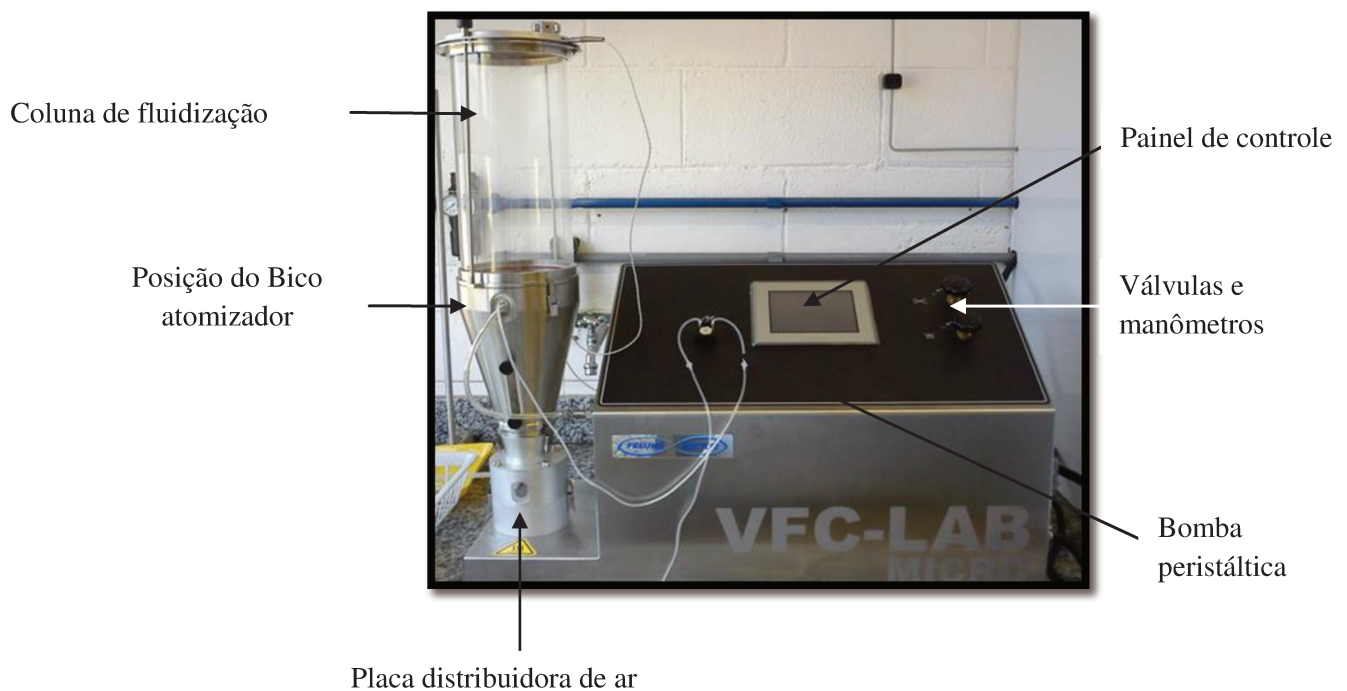
$$W_{ad} = \gamma_{lv}(1 + \cos \theta) \quad (\text{Equação 11})$$

Onde  $\gamma_{lv}$  = tensão superficial líquido-vapor e  $\theta$  = ângulo de contato

Segundo Neumann e Good (1979), altos valores de trabalho de adesão indicam boa receptividade do líquido pelo sólido, enquanto valores baixos indicam baixo molhamento e, conseqüentemente, fraca adesão.

### 3.6.5 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana

O recobrimento das micropartículas foi realizado em um leito fluidizado VFC-LAB micro da marca Freud-Vector Corporation (Figura 3.2).



**Figura 3.2:** Leito fluidizado usado para o recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana com oxitetraciclina encapsulada (Laboratório de Biomateriais – Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP).

Os principais componentes do leito fluidizado são (destacados na Figura 3.2):

- 1- Coluna de fluidização cilíndrica na parte superior, com 160mm de diâmetro e 310mm de altura; e cônica na parte inferior, com 220mm de altura;
- 2 - Bico atomizador, posicionado na parte superior da base cônica no leito fluidizado;
- 3 - Placa de distribuição de ar localizada na base do leito fluidizado;
- 4 - Bomba peristáltica utilizada no transporte da suspensão de recobrimento;
- 5 - Válvulas e manômetros para regulação das vazões de ar de fluidização e ar de atomização.
- 6 - Painel de controle e monitoração das variáveis de processo;
- 7 - Resistência para aquecimento do ar de fluidização controlada;
- 8 - A capacidade do leito é de 10 a 600 g de material;

Neste estudo utilizou-se as seguintes condições operacionais:

- Temperatura do ar de entrada: 50°C
- Vazão do ar de fluidização: 100 L/min
- Pressão do ar de atomização: 12 psi
- Vazão de injeção da suspensão de recobrimento pela bomba: 7 rpm
- Vazão da suspensão de recobrimento: 0,6 mL/min.

A carga de micropartículas utilizada foi de 10 gramas, e o regime de spray da suspensão do recobrimento foi contínuo. Os tempos de recobrimento para 30% e 50% de ganho de massa das micropartículas foram de 180 e 280 min., respectivamente.

### **3.6.6 Caracterização das micropartículas recobertas com Acril-EZE® MP**

As micropartículas recobertas foram caracterizadas através da determinação do crescimento do grânulo e análise morfológica.

#### **3.6.6.1 Crescimento do grânulo**

O crescimento do grânulo ( $\delta$ ) foi determinado pela equação 12:



$$\delta = \left( \frac{M_{\text{filme}}}{M_{\text{grânulos iniciais}}} \right) * 100 \quad (\text{Equação 12})$$

Onde,  $M_{\text{filme}}$  e  $M_{\text{grânulos iniciais}}$  são respectivamente, massa do filme formado sobre os grânulos e massa inicial dos mesmos.

### 3.6.6.2 Análise morfológica das micropartículas de alginato/quitosana recobertas com Acril-EZE® MP

A morfologia e as características superficiais das micropartículas recobertas foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se um microscópio Electron Microscopy Leo 440i da Oxford (Cambridge, Inglaterra).

### 3.7 Cinética de liberação da oxitetraciclina nas micropartículas de alginato/quitosana antes e após o recobrimento em leito fluidizado

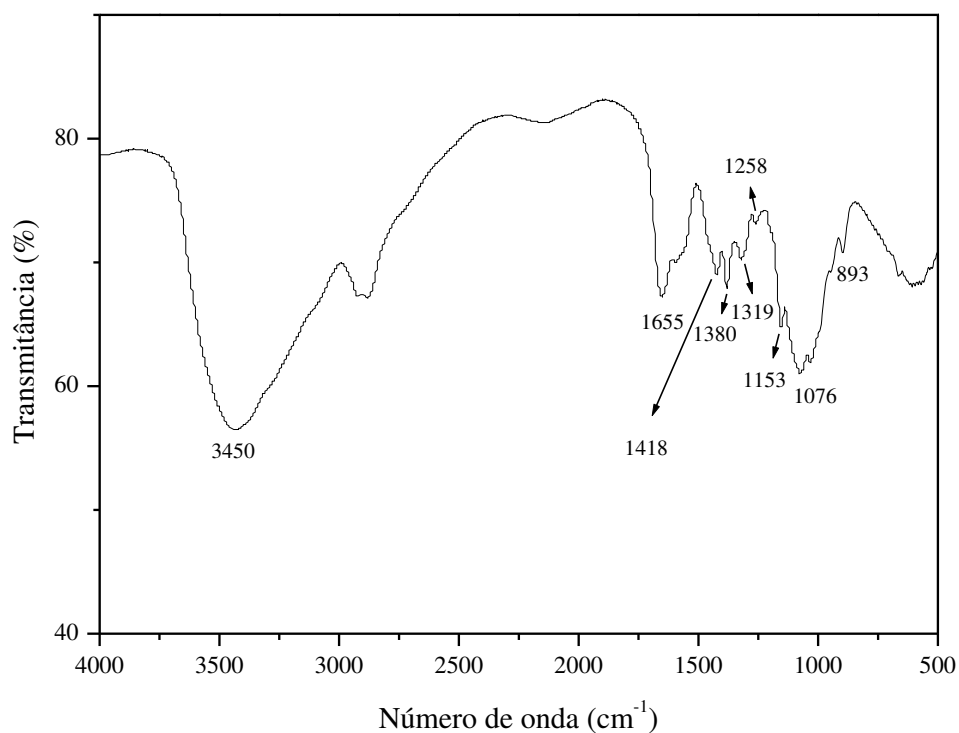
A liberação controlada da oxitetraciclina foi determinada de acordo com o procedimento descrito por (CRUZ, 2004). A concentração de OTC liberada das micropartículas de alginato/quitosana, antes e após o recobrimento, em solução de ácido clorídrico 0,1M pH 1,2 e solução tris/HCl 0,2M pH 6,8 que simulam o ambiente gastrointestinal, foi determinada por medida direta da absorbância à 268nm, em espectrofotômetro Varian 1G. Aproximadamente 0,05mg de micropartículas foram colocadas num meio de dissolução e deixadas em banho Maria, da Marconi Equipamentos para Laboratório, com agitação orbital tipo Dubnoff e velocidade de rotação de 100 rpm, à temperatura de  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . As alíquotas foram retiradas num intervalo de 30 minutos durante 2 horas, em seguida, em intervalo de 60 minutos durante 3 horas, e finalmente a última alíquota foi retirada após 24 horas.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Caracterizações da quitosana

#### 4.1.1 Determinação do grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação da quitosana está relacionado com a quantidade de grupamentos amino livres presentes na cadeia polimérica. Pela técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foi calculado o grau de desacetilação da quitosana, baseando-se na relação entre os valores de absorbância das bandas em  $1655$  e  $3450\text{cm}^{-1}$  associadas aos grupamentos amida e hidroxila, respectivamente. O espectro da quitosana obtido na região do infravermelho está representado na Figura 4.1.



**Figura 4.1:** Espectro de FT-IR da quitosana

A Tabela 4.1 apresenta os valores das absorvâncias obtidas (calculadas a partir dos valores da transmitância - equação 1), sendo que o grau de desacetilação calculado pela equação 2 foi de 70 %.

**Tabela 4.1:** Absorvâncias relativas às bandas  $1655\text{ cm}^{-1}$  e  $3450\text{ cm}^{-1}$  da quitosana

Bandas	Absorvância
$1655\text{ cm}^{-1}$ (amida)	1,82
$3450\text{ cm}^{-1}$ (hidroxila)	1,75

Segundo Canella e Garcia (2001), a quitosana comercial possui grau de desacetilação (GD) variando entre 70 e 95 %. Quanto maior o seu grau de desacetilação maior será a proporção de grupamentos amino livres presentes na cadeia polimérica que vão interagir com os grupamentos carboxílicos do alginato na formação das micropartículas. Com isso, as propriedades de encapsulamento do fármaco pelas micropartículas melhoram (DALY, 1988) pela formação de pseudo-reticulações, que formam barreiras para a liberação do fármaco, controlando sua liberação.

#### 4.1.2 Determinação da massa molecular da quitosana

A massa molecular viscosimétrica média (Mv) da quitosana obtida foi de  $8,9 \times 10^5$  g/mol, sendo considerada quitosana de alto peso molecular (TAVARIA *et al.*, 2012). O peso molecular do polímero tem um papel importante na liberação sustentada de fármacos encapsulados em matrizes poliméricas, pois está relacionado ao processo de difusão destas substâncias através destes dispositivos.

Segundo a literatura, sistemas matriciais formados por polímeros de alto peso molecular liberam o fármaco mais lentamente quando comparados a polímeros de baixo peso molecular (BODMEIE *et al.*, 1989; OMELCZUCK e MCGINITY, 1992; ASO *et al.*, 1994). Porém, outros parâmetros estão associados ao processo da difusão do ativo pelas matrizes poliméricas, como o

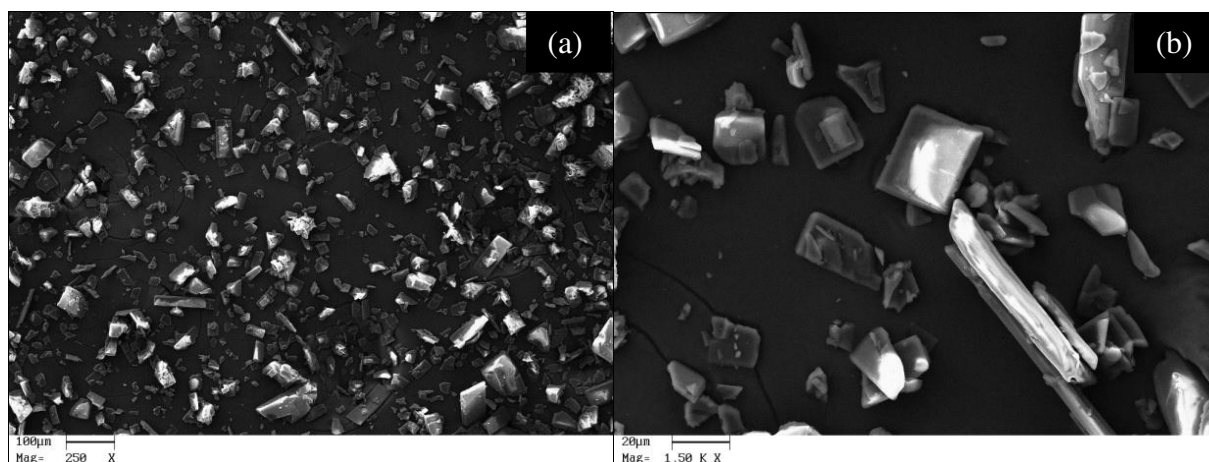
peso molecular do ativo, tamanho e geometria dos dispositivos e os excipientes presentes (RAMKISSOON-GANORKAR *et al.*, 1999).

## 4.2 Caracterizações da oxitetraciclina

### 4.2.1 Determinação das características físicas da OTC

A análise visual mostrou que a OTC apresenta-se na forma de um pó cristalino, de coloração amarela, sendo que estes resultados estão de acordo com a British Pharmacopoeia, volume II, 6ª edição, 2011.

A Figura 4.2 apresenta as imagens obtidas por MEV da morfologia da OTC, onde se observa cristais retangulares.



**Figura 4.2:** Micrografia da OTC obtidas por MEV utilizando (a) aumento de 250x (b) e aumento de 1500x.

A temperatura do ponto de fusão da OTC foi de  $184 \pm 2$  °C. Segundo Blase (1957), a OTC pura se funde a uma temperatura de 185° C. Assim, o valor obtido está dentro do valor esperado, o que mostra que a OTC esta dentro do grau de pureza exigido.

## 4.3 Preparação das micropartículas de alginato/quitosana com OTC

As micropartículas foram preparadas pelo método de coacervação complexa em estágio único. Nesta etapa do trabalho, os parâmetros concentração de alginato e altura de gotejamento

foram avaliados, com foco nas melhores condições para se obter micropartículas esféricas. A esfericidade das micropartículas está diretamente associada à sua tensão superficial que, por sua vez, está relacionada à viscosidade da solução de alginato e à velocidade de impacto da partícula com a superfície da solução aquosa de cloreto de cálcio (WELTER, 2009).

A concentração de alginato foi definida em 1,75%, pois concentrações inferiores a esta formaram micropartículas pouco esféricas, e em concentrações maiores as partículas produzidas eram grandes e fora da escala micrométrica desejada. A altura de gotejamento foi variada em 7, 15, 30 e 40 cm, sendo que na altura de 30 cm as micropartículas apresentaram melhor esfericidade, semelhante ao verificado por Welter (2009), que comprovou que esta altura era a melhor dentre outras testadas.

Em nosso trabalho, verificou-se que em alturas inferiores, as micropartículas se apresentaram na forma de gota, com formação de cauda, e em alturas superiores estas ficaram na forma achatada. Portanto, optou-se por fixar a altura em 30 cm após esta etapa do trabalho.

#### **4.4 Caracterizações das micropartículas de alginato/quitosana**

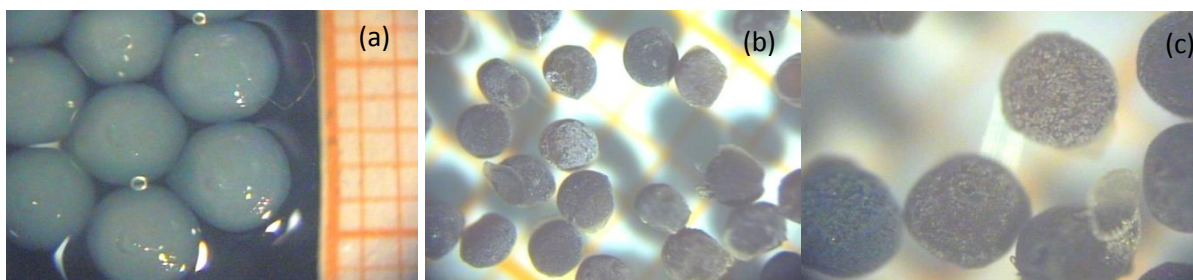
##### **4.4.1 Carregamento de OTC e grau de intumescimento das micropartículas**

Carregamento de OTC corresponde à porcentagem de OTC presente nas micropartículas. Neste estudo o carregamento de OTC encontrado foi de  $421 \pm 13,23$  mg de OTC por gramas de micropartículas.

O grau de intumescimento das micropartículas foi de  $96 \pm 0,28$  %. Este valor está relacionado à capacidade que as micropartículas apresentam de intumescer quando entram em contato com o meio de dissolução, sendo que o intumescimento e a erosão são processos pelos quais ocorre a liberação de fármacos encapsulados em matrizes poliméricas (FREIRE, 2006).

##### **4.4.2 Microscopia óptica**

A Figura 4.3 (a) exibe as esferas de alginato e quitosana contendo OTC, na forma de gel, obtidas a partir da geleificação do alginato com cloreto de cálcio, antes do processo de secagem.

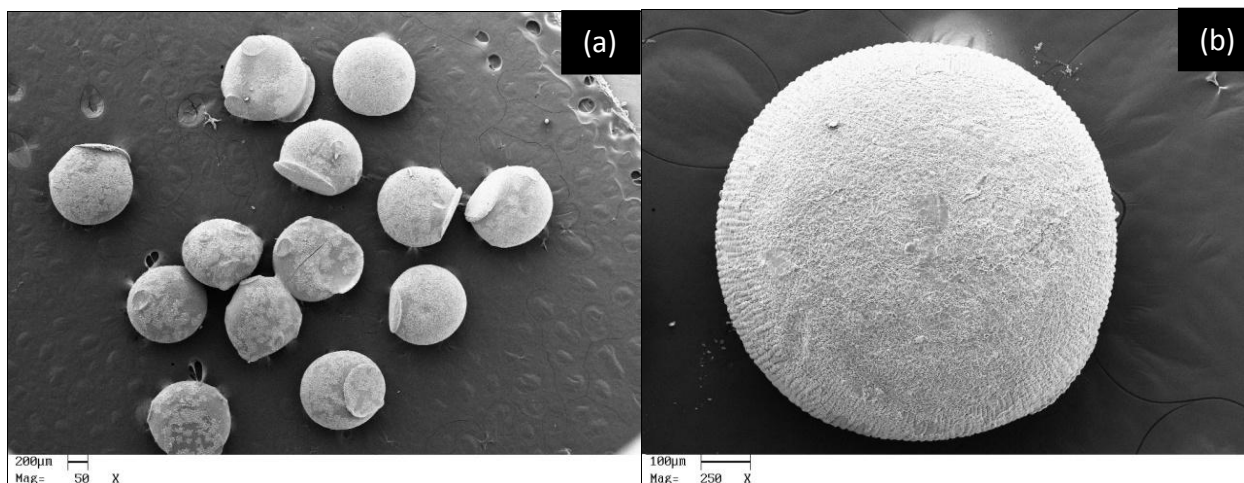


**Figura 4.3:** Imagens das micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC, obtidas por microscopia óptica com aumento de 10x: (a) micropartículas úmidas; (b) micropartículas secas com aumento de 20x; (c) micropartículas secas com aumento de 40X.

Nas figuras 4.3 (b) e 4.3 (c) temos as imagens das micropartículas secas. Nota-se que o processo de secagem das partículas não afetou significativamente a geometria esférica das mesmas, o que é importante neste trabalho, já que estas partículas serão recobertas em leito fluidizado, no qual a geometria esférica das partículas influencia na qualidade do recobrimento.

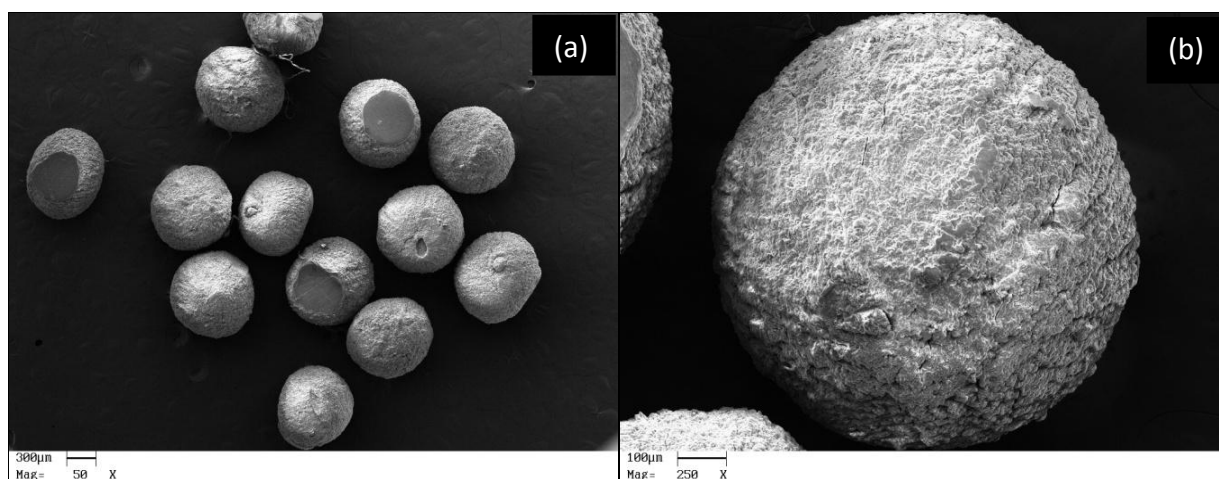
#### 4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 4.4 e 4.5 apresentam as imagens obtidas por MEV da amostra referência (branco), e das micropartículas de alginato e quitosana contendo OTC. As Figuras 4.4 (a) e 4.4 (b) representam o branco, onde se pode observar a morfologia esférica das micropartículas.



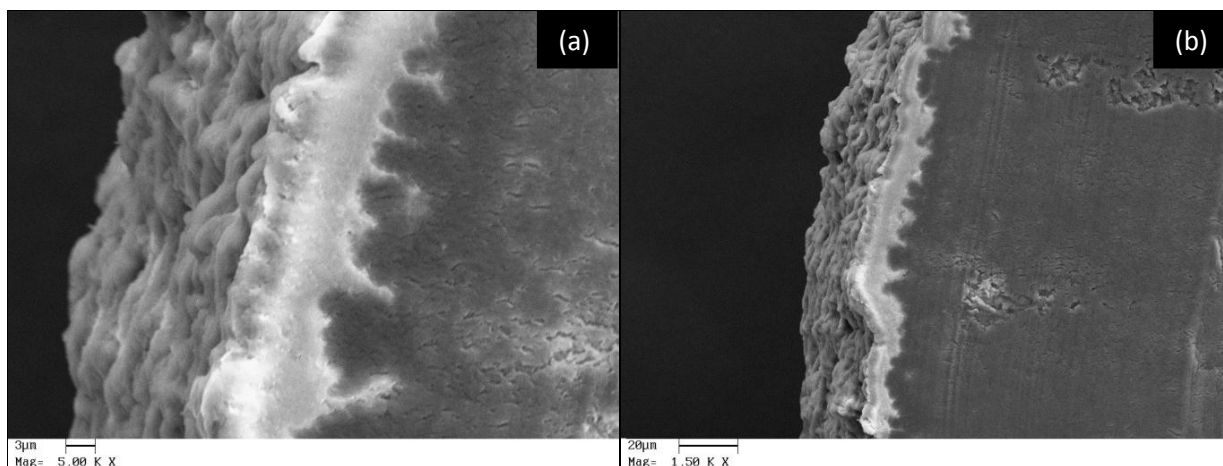
**Figura 4.4:** Imagem de MEV do branco das micropartículas de alginato/quitosana sem OTC (a) aumento de 50x; (b) aumento de 250x.

As Figuras 4.5 (a) e 4.5 (b) mostram as imagens obtidas das micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC, onde nota-se que a superfície das micropartículas apresentam-se mais irregulares. Isto evidencia que a OTC interfere na coacervação da microesfera por sua geometria não esférica, que atua como guia para a deposição da camada externa de quitosana irregular (CRUZ, 2004).



**Figura 4.5:** Imagem de MEV das micropartículas de alginato/quitosana com OTC (a) aumento de 50x; (b) aumento de 250x.

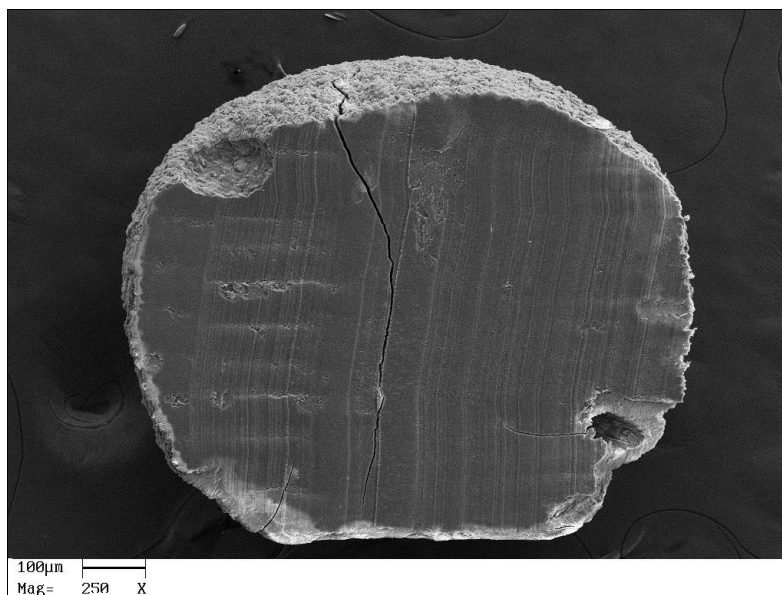
Nas Figuras 4.6 (a) e 4.6 (b) têm-se as imagens de MEV obtidas de uma micropartícula aleatória de alginato e quitosana contendo OTC, cortada ao meio. É possível observar claramente a presença do revestimento de quitosana na micropartícula de alginato, o qual deve funcionar como uma barreira para a difusão do fármaco, diminuindo a porosidade das microcápsulas, conforme também observado por outros pesquisadores (HUGUET *et al.*, 1996; SEZER e AKBUGA, 1999; YU, 2009).



**Figura 4.6:** Imagens de MEV do revestimento de quitosana nas micropartículas de alginato (a) aumento de 5000x; (b) aumento de 1500x.

Na imagem obtida de uma micropartícula cortada, representada na Figura 4.7, podemos observar a presença de fissura na forma de um canal, que também foram observadas por (GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2002; ELGINDY *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2011).

Os canais que se formam em partículas ou micropartículas podem servir como facilitadores de escoamento rápido de drogas (efeito “burst”) para o meio externo, conforme foi observado no decorrer deste trabalho, o que motivou o uso de recobrimento nas micropartículas para tentar controlar esse efeito.



**Figura 4.7:** Imagem de MEV da presença de fissura em micropartícula de alginato/quitosana (aumento de 250x).

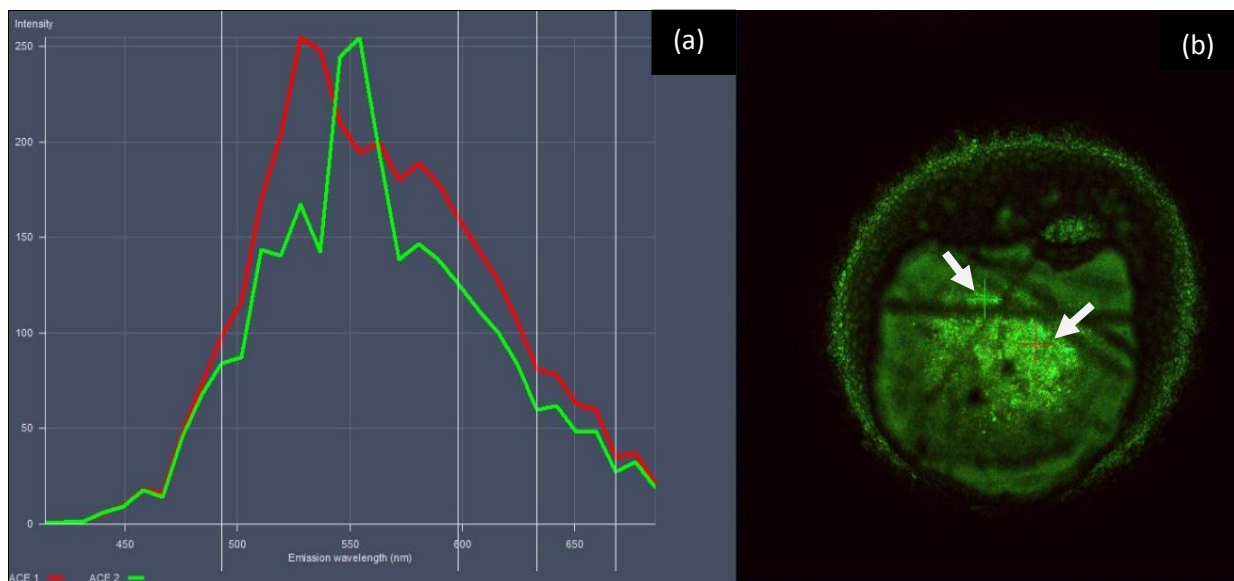


#### 4.4.4 Perfil de distribuição de OTC nas micropartículas

A microscopia confocal multifóton permitiu a visualização e caracterização não só da superfície, mas também do interior das micropartículas estudadas. As propriedades fundamentais desta técnica reside no fato dela permitir o seccionamento óptico de uma amostra, associado com a digitalização da imagem desta seção.

Para o sucesso desta técnica, o material deve apresentar fluorescência, ou ser dopado com marcador fluorocromo, para permitir seu mapeamento. A oxitetraciclina, por si só, se comporta como um fluorocromo, o que nos permitiu visualizar a sua distribuição no interior de uma micropartícula, sem a necessidade de marcação.

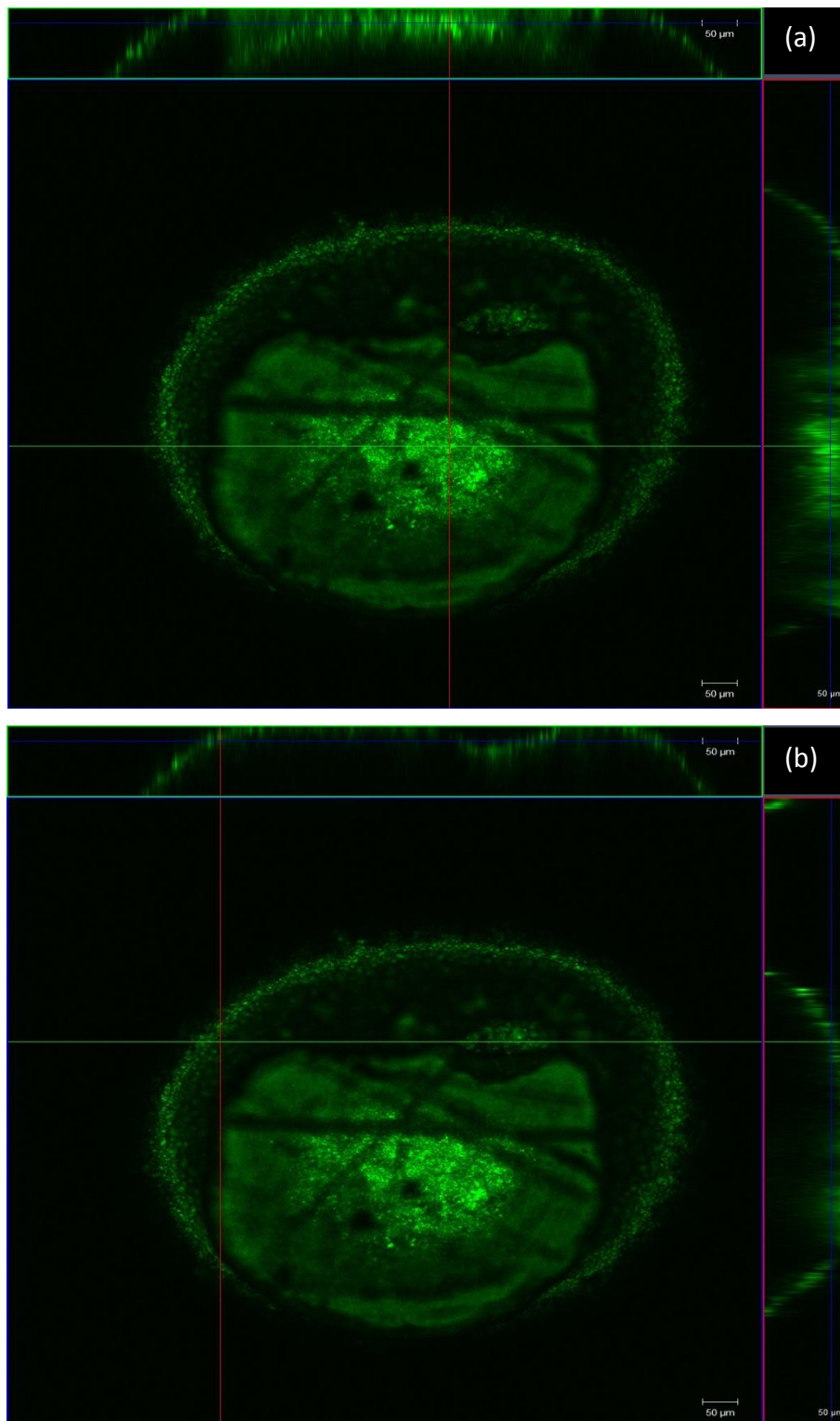
Ao ser excitada por dois fótons num comprimento de onda de 780nm, a oxitetraciclina emite fluorescência num comprimento de onda de 500 - 600 nm, como pode ser visualizado no espectro de emissão mostrado na Figura 4.8(a). Os pontos exatos de onde foram feitos os espectros, podem ser visualizados na figura 4.8 (b) indicados pelas setas brancas.



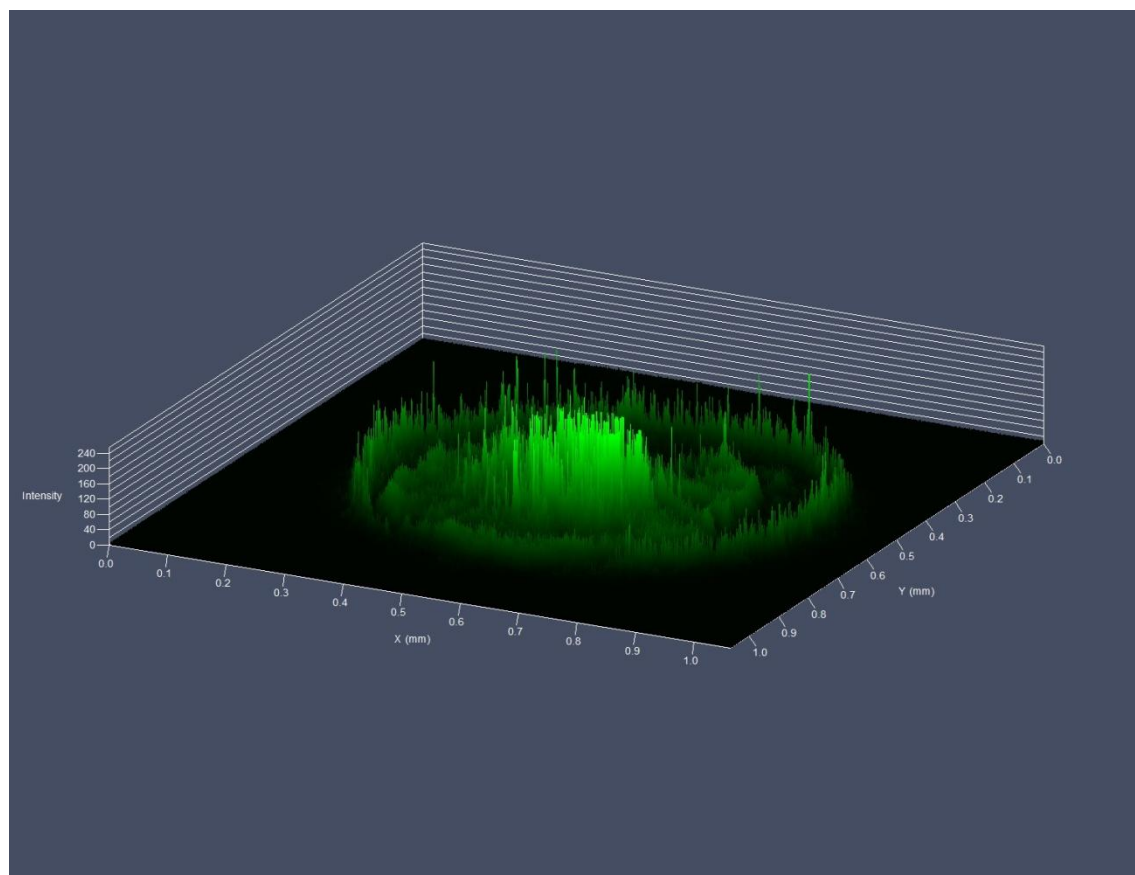
**Figura 4.8:** (a) espectro de emissão de fluorescência da OTC microencapsulada em alginato/quitosana; (b) imagem de uma micropartícula com os pontos escolhidos para registrar o espectro de fluorescência da OTC.

A Figura 4.9 apresenta as imagens 3D de microscopia confocal multifóton, onde se visualiza em 3 D a região onde a OTC se encontra encapsulada na micropartícula. Na imagem 3D é possível observar, pelo corte ortogonal, que a OTC encontra-se distribuída predominantemente na região central da micropartícula, já que esta região apresentou maior intensidade de fluorescência, observada pelo maior brilho. A imagem do plano xy é mostrada na parte central (vide Figura 4.9 (a)), enquanto que a linha verde define o perfil de fluorescência do plano xz da imagem para a esquerda, e a linha vermelha define o plano yz de imagem superior (vide Figura 4.9 (b)).

Verificando a distribuição quantitativa da intensidade de fluorescência, foi possível mapear a distribuição da OTC na micropartícula, como observado na Figura 4.10, a qual se encontra predominantemente na região central, confirmando a eficiência do sistema de encapsulamento em uso.

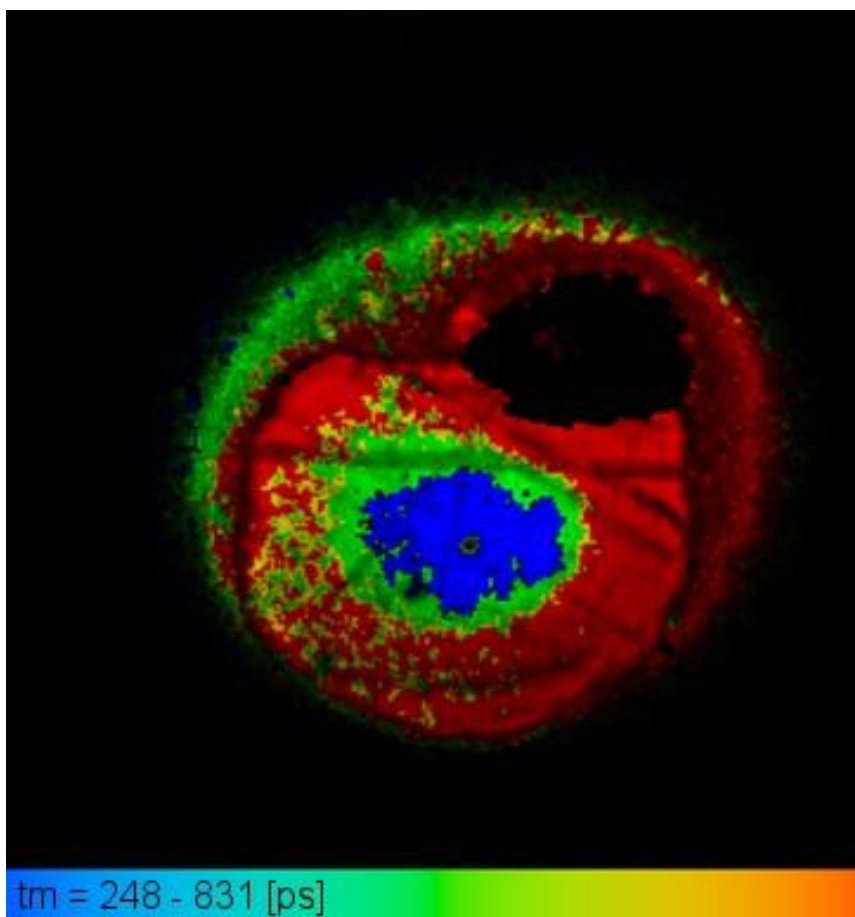


**Figura 4.9:** Corte ortogonal da imagem 3D de microscopia confocal a laser (a) plano xy (b) linha verde: perfil de fluorescência do plano xz da imagem para a esquerda; linha vermelha: plano yz de imagem superior.

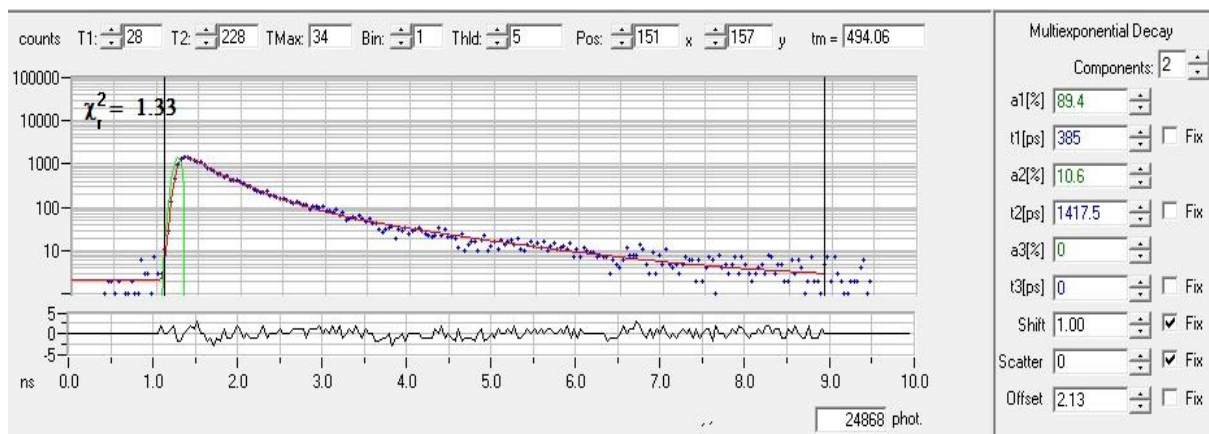


**Figura 4.10:** Gráfico de distribuição da intensidade de fluorescência da OTC em uma micropartícula de alginato/quitosana.

A microscopia de imagem com base em tempo de vida de fluorescência de espécies químicas – FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy) é uma técnica muito sensível ao ambiente químico em torno de fluoróforos. Cada espécie apresenta um tempo de vida de fluorescência e decaimento, que permite identificá-la por cores. As cores de azul a verde, mostradas na Figura 4.11, correspondem ao tempo de decaimento da fluorescência de cada componente da micropartícula em picosegundos. A região central da micropartícula, representada pela cor azul, apresenta tempo de vida médio de 385 picosegundos, mostrado pela curva de decaimento da fluorescência na Figura 4.12. Esta região corresponde a oxitetraciclina que foi excitada por dois fótons, num comprimento de onda de 780nm, correspondente a excitação de 390nm deste fármaco.



**Figura 4.11:** Imagem FLIM de uma micropartícula de alginato/quitosana, mostrando o tempo de decaimento da fluorescência de seus componentes identificados por cores.

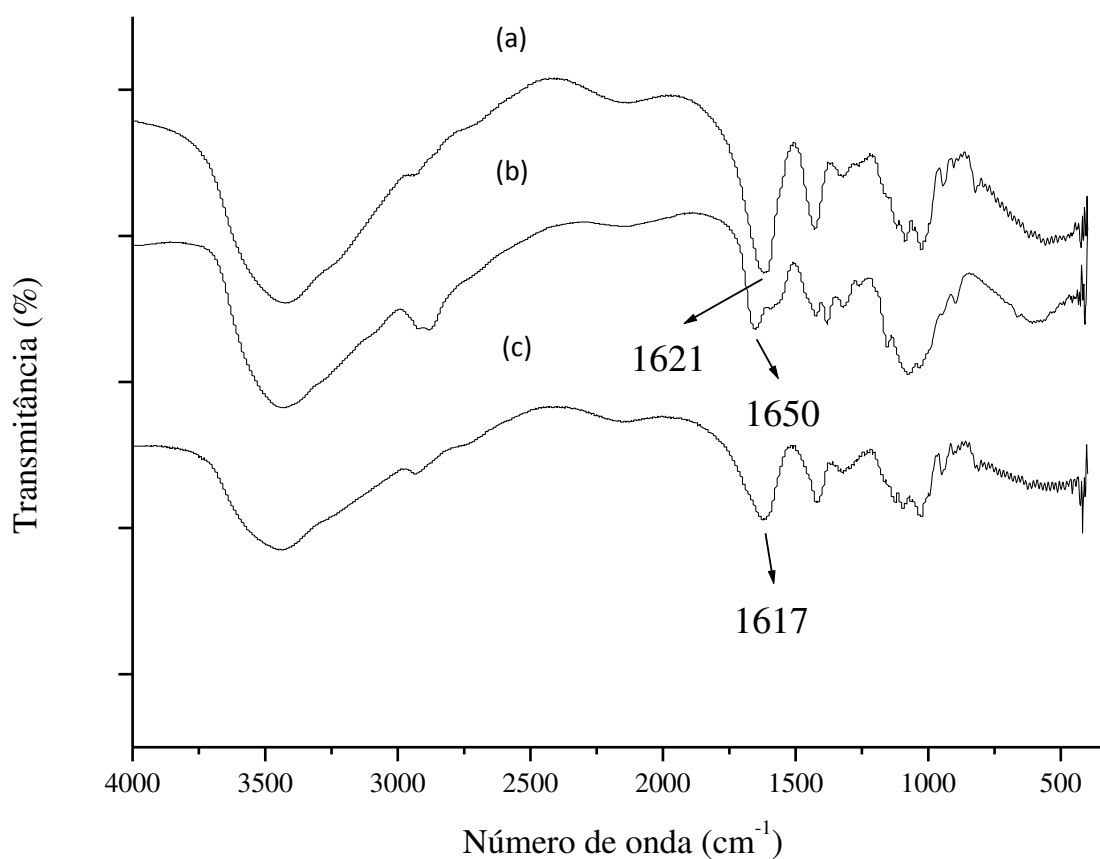


**Figura 4.12:** Curva de decaimento da fluorescência da OTC numa micropartícula de alginato/quitosana, em função do tempo.

#### 4.4.5 Espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foi empregada para confirmar a presença dos grupamentos funcionais em amostras de alginato e quitosana; bem como as mudanças destes grupamentos após a formação das micropartículas, avaliando a ocorrência de interação iônica entre os grupamentos funcionais do alginato e da quitosana.

A Figura 4.13 apresenta os espectros obtidos para o alginato de sódio puro (Figura 4.13a), quitosana pura (Figura 4.13b) e micropartícula sem a OTC (branco) (Figura 4.13c).



**Figura 4.13:** Espectros obtidos para o biopolímero (a) alginato puro; (b) quitosana pura; (c) micropartícula de alginato/quitosana sem a OTC (branco).

A reação dos grupamentos carboxílico do alginato com os grupamentos amina da quitosana, formando um complexo aniônico, já é conhecida (GEORGE, 2006). Como resultado, mudanças são esperadas nas faixas de absorção destes grupamentos após a complexação. Como se pode observar, o pico do ácido carboxílico, perto de  $1621\text{ cm}^{-1}$  (CRUZ, 2004), e o pico da amina, perto de  $1650\text{ cm}^{-1}$  (COSTA JR, 2008) deslocaram significativamente para  $1617\text{ cm}^{-1}$ .

Gazori *et al.*, 2009, observaram resultados semelhantes em um estudo da interação entre o alginato e a quitosana, onde encontraram mudanças na faixas de absorção dos grupamentos ácidos carboxílicos e amida. As interações eletrostáticas entre os grupamentos carboxílicos do alginato e os grupamentos amina da quitosana também já foram descritas por Wang *et al.*, (2001) e Ribeiro *et al.*, (2005).

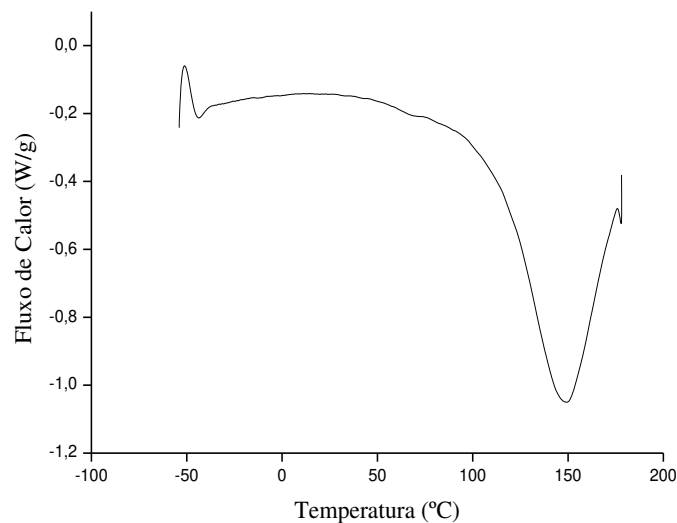
Portanto, nossos resultados foram compatíveis com os de outros pesquisadores.

#### 4.4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

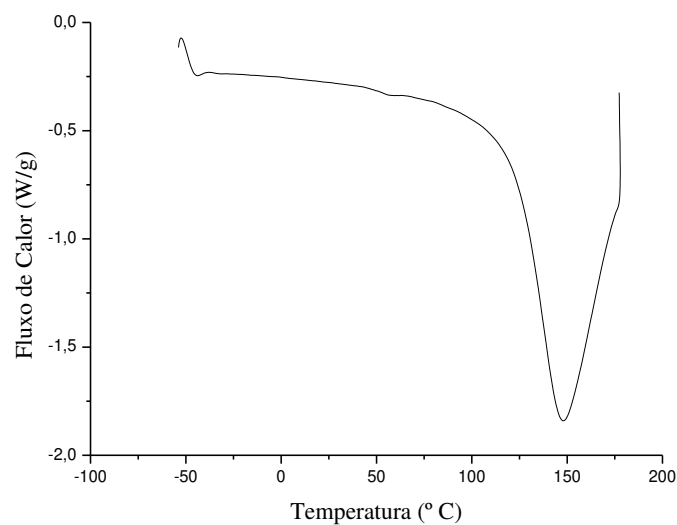
As Figuras 4.14, 4.15, 4.16, 4.17 e 4.18 representam as curvas térmicas da quitosana, alginato de sódio, oxitetraciclina, micropartículas de alginato/quitosana sem OTC (branco) e das micropartículas de alginato/quitosana com OTC, obtidas no intervalo de aquecimento de  $-50^{\circ}$  até  $180^{\circ}\text{C}$ , numa rampa de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , em atmosfera inerte.

A Figura 4.14 representa a curva térmica da quitosana, através da qual é possível observar uma mudança de inclinação na reta na temperatura de aproximadamente  $60^{\circ}\text{C}$  que corresponde a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) do material. O pico endotérmico em torno de  $146^{\circ}\text{C}$  corresponde à desidratação do material, ou seja, a perda de água (DONG *et al.*, 2004). Essa perda de água esta associada aos grupos hidrofílicos presentes nestes polímeros (GAZORI, 2009).

A Figura 4.15, correspondente à curva de DSC do alginato de sódio, é caracterizada pela presença de uma mudança na inclinação da reta, ou seja, a  $T_g$  do material em torno  $46^{\circ}\text{C}$ . O pico endotérmico na temperatura de aproximadamente  $146^{\circ}\text{C}$  é atribuído à desidratação do alginato, semelhante à quitosana.



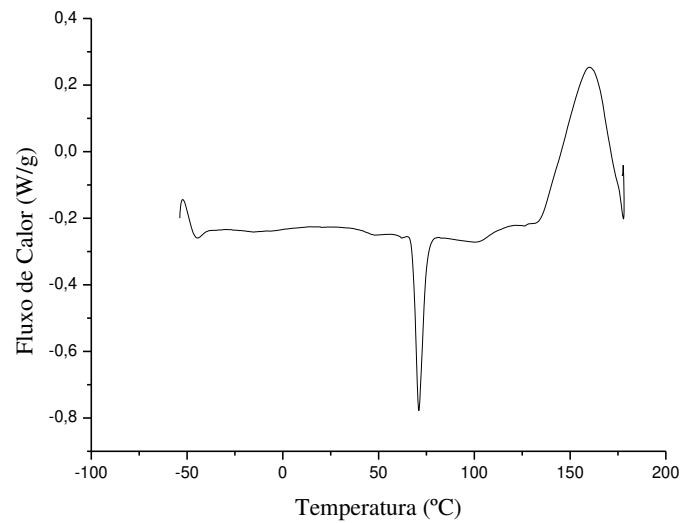
**Figura 4.14:** Curva de DSC da quitosana pura.



**Figura 4.15:** Curva de DSC do alginato de sódio.

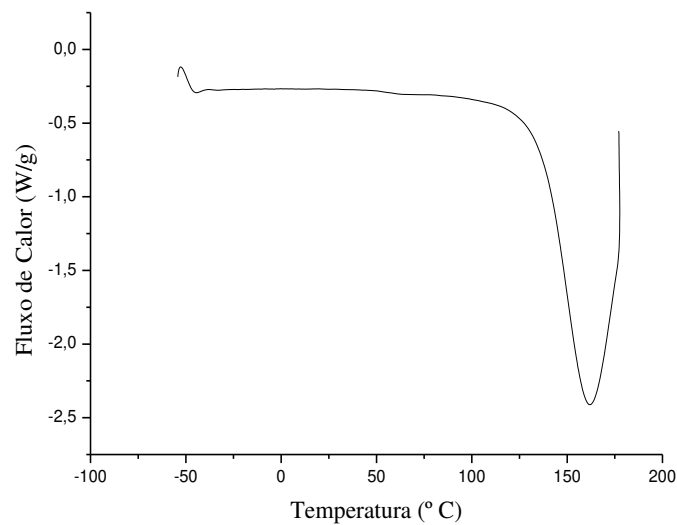
A oxitetraciclina pura, caracterizada termicamente, apresentou um pico endotérmico em 70° C, característico do processo de desidratação do material, como pode ser observado na Figura 4.16. Nesta é possível observar ainda a Tg da oxitetraciclina através da inclinação da curva, próxima de 42° C.





**Figura 4.16:** Curva de DSC da oxitetraciclina

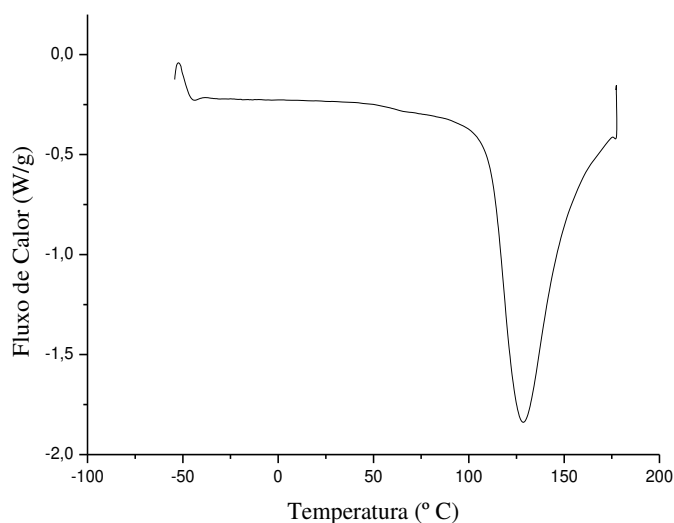
A análise térmica das micropartículas foi realizada com o objetivo de verificar a possibilidade da existência de interações físico-químicas entre os seus componentes. A curva de DSC referente às micropartículas de alginato e quitosana sem OTC (branco) esta apresentada na Figura 4.17.



**Figura 4.17:** Curvas de DSC de micropartículas de alginato/quitosana sem OTC (branco).

É possível observar uma pequena mudança na inclinação da reta em torno de 51° C correspondente a Tg do material. Observa-se ainda um evento endotérmico em 159° C referente à perda de água na formulação. Nota-se, em comparação com os resultados anteriores das Figuras 4.14 e 4.15, que houve um deslocamento nos valores da Tg e no pico endotérmico referente à perda de água das micropartículas (branco), indicando que houve uma interação polieletrólítica entre o alginato e a quitosana, conforme também observado por Mladenovska *et al.*, (2004).

O termograma das micropartículas de alginato e quitosana contendo OTC, conforme a Figura 4.18, apresenta uma suave mudança de inclinação na curva em torno de 62° C, correspondente a Tg do material. É possível observar um evento endotérmico a uma temperatura de 128° C, sendo que este pico está relacionado à temperatura de desidratação das micropartículas.



**Figura 4.18:** Curva de DSC das micropartículas de alginato/quitosana com OTC.

As micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC apresentaram um comportamento distinto quando comparadas as micropartículas de alginato/quitosana sem OTC, sendo observados deslocamentos da temperatura de desidratação do material (na ordem de 31°C) e na sua Tg (na ordem de 10° C). Este comportamento sugere que houve uma associação entre o fármaco e a matriz encapsulante. Neste caso a associação entre o fármaco e a matriz polimérica é esperada, demonstrando que o fármaco encontra-se encapsulado ou ligado na matriz (SARTORI, 2007). Resultados demonstrando que ocorre a associação entre os ativos encapsulados e as

matrizes poliméricas também foram observados por outros pesquisadores (SARTORI, 2007; LOPEZ *et al.*, 2000; FERNÁNDEZ-URRUSUNO *et al.*, 1999; ALONSO *et al.*, 1991).

São encontrados na literatura trabalhos focados na avaliação do tipo de associação que pode ocorrer entre fármacos e os agentes encapsulantes, demonstrando que estas associações podem ocorrer de várias formas: adsorção na superfície dos dispositivos, retenção do fármaco pela matriz polimérica, interação eletrostática e interação por pares iônicos (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). No caso em estudo, são necessárias análises mais criteriosas para avaliar que tipo de associação ocorre entre a oxitetraciclina e o alginato/quitosana, bem como se esta associação altera a estrutura química do fármaco, alterando suas propriedades, como a estabilidade, a biodisponibilidade e a ação farmacológica.

Outro ponto importante a ser destacado em relação à Tg do material está no fato de que a liberação do fármaco baseia-se na transição do estado vítreo das matrizes poliméricas para o estado maleável resultante da penetração da água na matriz, que atua como um plastificante (LOPES, 2005). Assim, as micropartículas de alginato/quitosana com OTC, que apresentam a Tg em torno de 62° C, ao entrar em contato com o meio de dissolução, intumescem, tornando as cadeias poliméricas mais flexíveis com conseqüente diminuição da sua Tg, favorecendo a liberação de ativos para o meio externo (HOFFMAN, 2002).

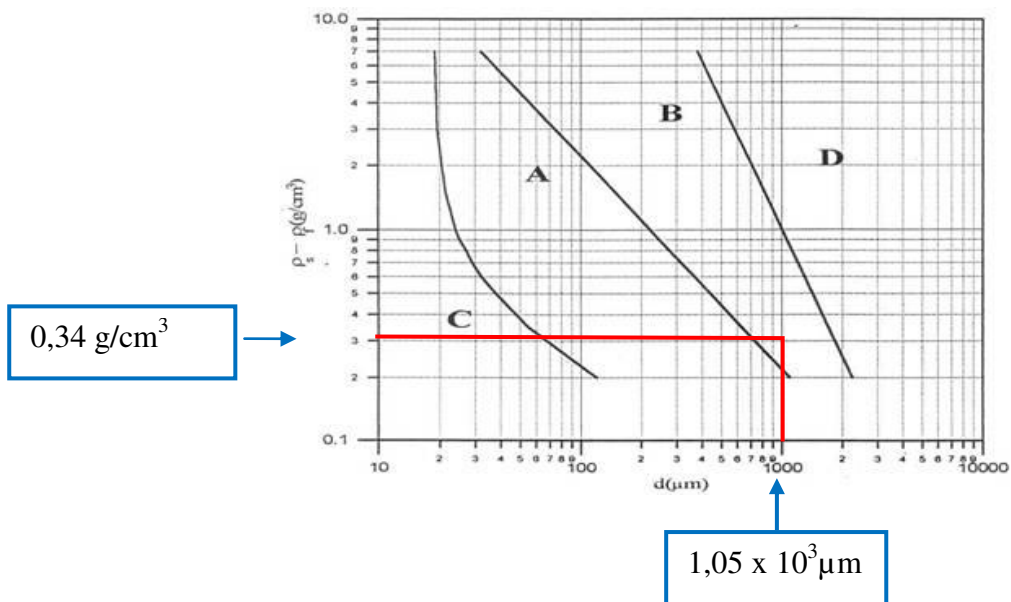
Apesar dos resultados obtidos por esta análise terem sido satisfatórios, ainda são considerados preliminares, devido aos problemas encontrados no decorrer dos ensaios. As amostras degradaram porque o limite superior de temperatura, usado no primeiro aquecimento, ultrapassou o ponto de degradação do material e, conseqüentemente, no segundo aquecimento nada foi observado (somente a linha base). Sendo assim, percebeu-se a necessidade de refazer essas análises respeitando esse limite.

#### **4.5 Recobrimento das micropartículas de alginato/quitosana com OTC em leite fluidizado.**

As micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC foram recobertas com Acril-EZE<sup>®</sup> MP em leite fluidizado, com a finalidade de se evitar a liberação prematura do fármaco no meio gástrico, preservando-o intacto para sua liberação no meio entérico, alvo de nossos estudos.

#### 4.5.1. Características das micropartículas quanto à fluidização

As micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC apresentaram um diâmetro de  $1051,3 \pm 49,6 \mu\text{m}$ . A diferença entre a densidade das micropartículas ( $1,47 \pm 0,0004 \text{ g/cm}^3$ ) e a densidade da solução polimérica ( $1,13 \pm 0,0003 \text{ g/cm}^3$ ) foi de  $0,34 \text{ g/cm}^3$ . Assim, as micropartículas foram classificadas de acordo com Geldart, 1986, como Categoria B (fluidização do tipo borbulhante), como mostra a figura 4.19.



**Figura 4.19:** Classificação de Geldart para o tipo de fluidização das micropartículas de alginato/quitosana estudadas.

Apesar de o material apresentar boas condições de fluidização, sem a formação de aglomerados, não foi possível observar um regime de fluidização definido durante o processo de recobrimento, devido à pequena quantidade de micropartículas utilizada.

#### 4.5.2. Circularidade das micropartículas de alginato/quitosana

A circularidade das micropartículas é um parâmetro importante de ser determinado, pois esta relacionada à eficiência do recobrimento em torno das mesmas. Assim, quanto mais esférica

for partícula, mais regular e uniforme será o seu recobrimento. A média dos valores de circularidade obtidos para 50 micropartículas foi de  $0,82 \pm 0,05$ . Teoricamente, quando a área superficial da esfera com mesmo volume da partícula é igual à área superficial da partícula, temos o valor máximo de  $SF = 1$ . Entretanto, as partículas como aquelas resultantes dos processos de moagem mais comuns na indústria, normalmente apresentam esfericidade na faixa de 0,5 a 0,7 (MASSARANI, 2002). Por comparação, pode-se dizer que os resultados obtidos nestes estudos foram bons.

#### **4.5.3. Caracterização da solução polimérica de recobrimento: Acril-EZE<sup>®</sup> MP**

O Acril-EZE<sup>®</sup> MP é um revestimento gastroprotetor comercial à base de Eudragit<sup>®</sup> L 100 55, muito utilizado na Indústria farmacêutica para medicamentos, incluindo aqueles de liberação controlada que causam distúrbios gástricos severos, como no caso da oxitetraciclina (OTC). Por ser insolúvel em meio ácido, principalmente no pH estomacal, e solúvel em pH acima de 5,5, o Eudragit<sup>®</sup> L 100 55 facilitará a liberação controlada do fármaco no trato entérico, poupando o paciente dos distúrbios gástricos e permitindo que os pacientes que são alérgicos à penicilina possam ser devidamente tratados com OTC.

##### **4.5.3.1. Tensão superficial, ângulo de contato e trabalho de adesão**

O valor de tensão superficial obtido foi de  $37,1 \pm 0,1$  mN/m. O resultado médio de dez medidas, encontrado para o ângulo de contato entre a solução de recobrimento e às micropartículas de alginato/quitosana, foi de  $56^\circ \pm 3^\circ$ . Quando a superfície sólida tem afinidade com o líquido, o ângulo de contato é inferior a  $90^\circ$ , indicando que o líquido tende a se espalhar sobre a superfície. Ângulo de contato maior que  $90^\circ$  indica que a superfície não tem afinidade com o líquido, ou seja, este não molha bem o sólido. Para o valor  $\theta = 0^\circ$ , a molhabilidade é completa; e para  $\theta = 180^\circ$ , não existe molhabilidade (ADAMSON, 1997). No caso em estudo, o ângulo de contato encontrado foi menor do que  $90^\circ$ , mostrando que ocorre molhabilidade da solução polimérica com a superfície das micropartículas. Portanto existe afinidade entre ambas.

O processo de recobrimento requer que as gotículas se liguem às partículas, mantendo-se unidas, devido à existência de forças de adesão (interação que ocorre entre uma gotícula e o

substrato) que atuam nos pontos de ligação (RUMPF, 1992). O trabalho de adesão calculado neste estudo foi de 57,84 mN/m. Este valor apresenta 78,2% do trabalho de adesão máximo ( $W=74$  mN/m), correspondente a  $0^\circ$ , nos indicando boa receptividade do líquido pelo sólido.

A boa adesão entre um polímero de revestimento e a superfície de um sólido, é um pré-requisito importante para a película de revestimento de produtos farmacêuticos. A perda de adesão pode proporcionar o acúmulo de umidade na interface do filme, afetando a estabilidade dos fármacos suscetíveis à degradação hidrolítica, além de comprometer a proteção mecânica que o revestimento proporciona ao substrato sólido (FELTON, 1999). Deste modo, nossos resultados indicam que o Acril-EZE<sup>®</sup> MP resultou numa boa interação com as micropartículas de alginato/quitosana.

#### 4.5.4 Caracterização das micropartículas de alginato/quitosana recobertas

##### 4.5.4.1 Ganho de massa das micropartículas após o revestimento

Segundo a Farmacopeia Americana (USP XXXII, 2009) para que uma forma farmacêutica seja considerada gastrorresistente, a liberação do ativo deve ser de no máximo 10 %, após 2 horas de exposição ao meio ácido. Este tempo de duas horas está relacionado ao tempo de residência do medicamento no estômago, durante seu trânsito gastrointestinal.

Os resultados das porcentagens de ganho de massa das micropartículas de alginato/quitosana em relação ao seu tamanho original, sem revestimento, estão reunidos na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2:** Porcentagem de ganho de massa das micropartículas de alginato/quitosana com o revestimento a base de Acril-EZE<sup>®</sup> MP

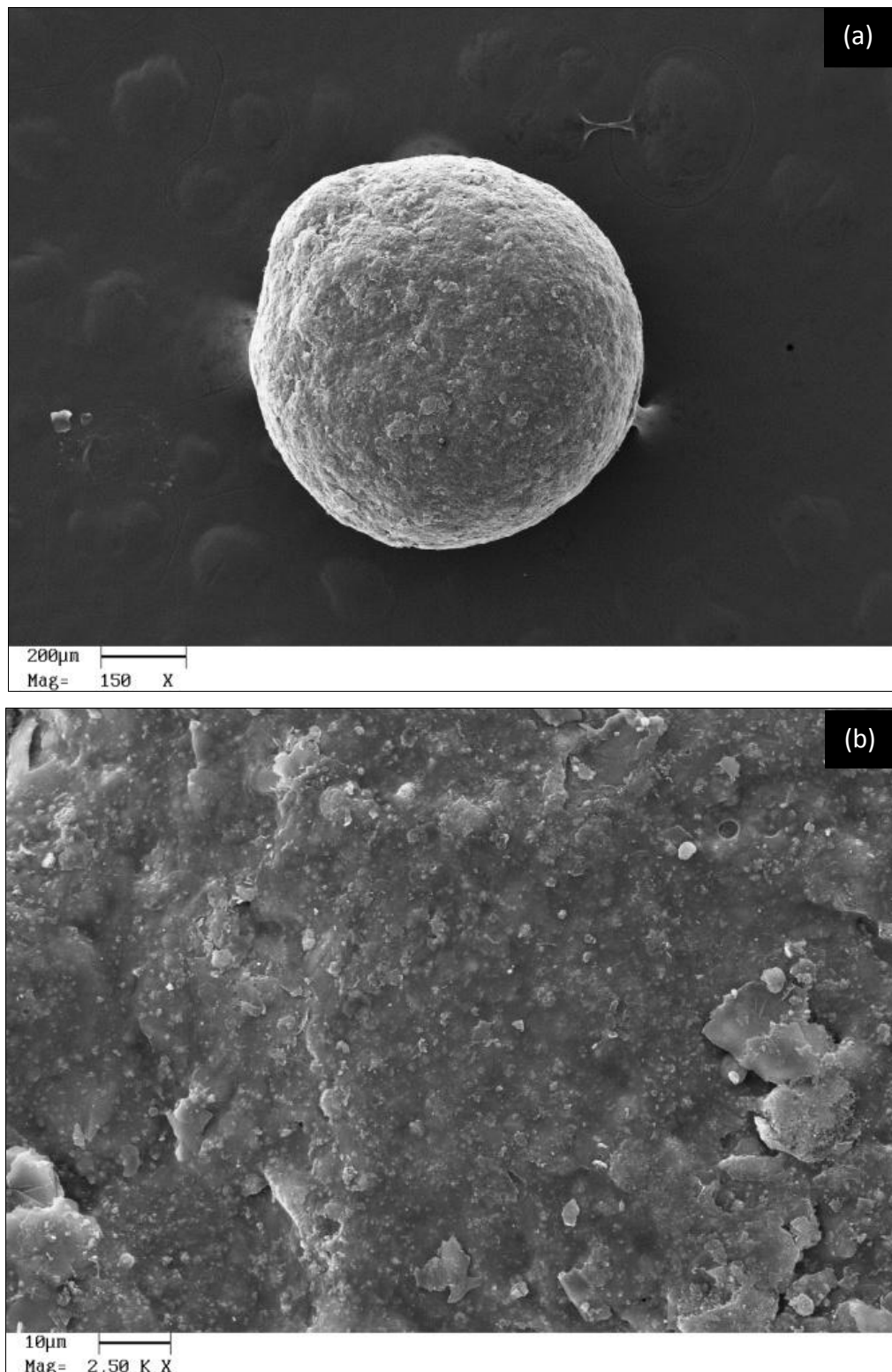
Recobrimentos	Crescimento do grânulo (% de ganho de massa)
1°	29,9
2°	48,9

Inicialmente foi realizado um recobrimento das micropartículas com aproximadamente 30% de ganho de massa, cuja espessura formada, em torno de 30 $\mu$ m (vide Figura 4.22), não foi o suficiente para promover o efeito gastrorresistente preconizado pela farmacopeia. Sendo assim, foi realizado um segundo recobrimento com a solução polimérica a base de Acril-EZE<sup>®</sup> MP com ganho de massa de aproximadamente 50%.

#### 4.5.4.2. Análise morfológica

A MEV foi realizada para verificação de detalhes superficiais das micropartículas recobertas. O recobrimento gastrorresistente obtido com solução polimérica Acril-EZE<sup>®</sup> MP, com um ganho de massa de aproximadamente 30% e 50%, pode ser visualizado nas Figuras 4.20 e 4.21, respectivamente. Através das imagens destas figuras é possível observar que o recobrimento tornou a superfície das micropartículas mais homogênea, sem a presença de poros e fissuras.

A Figura 4.22 apresenta uma micropartícula recoberta com 30% de ganho de massa, cortada ao meio, sendo possível observar que o recobrimento apresenta uma espessura bastante regular em torno de toda superfície da micropartícula.



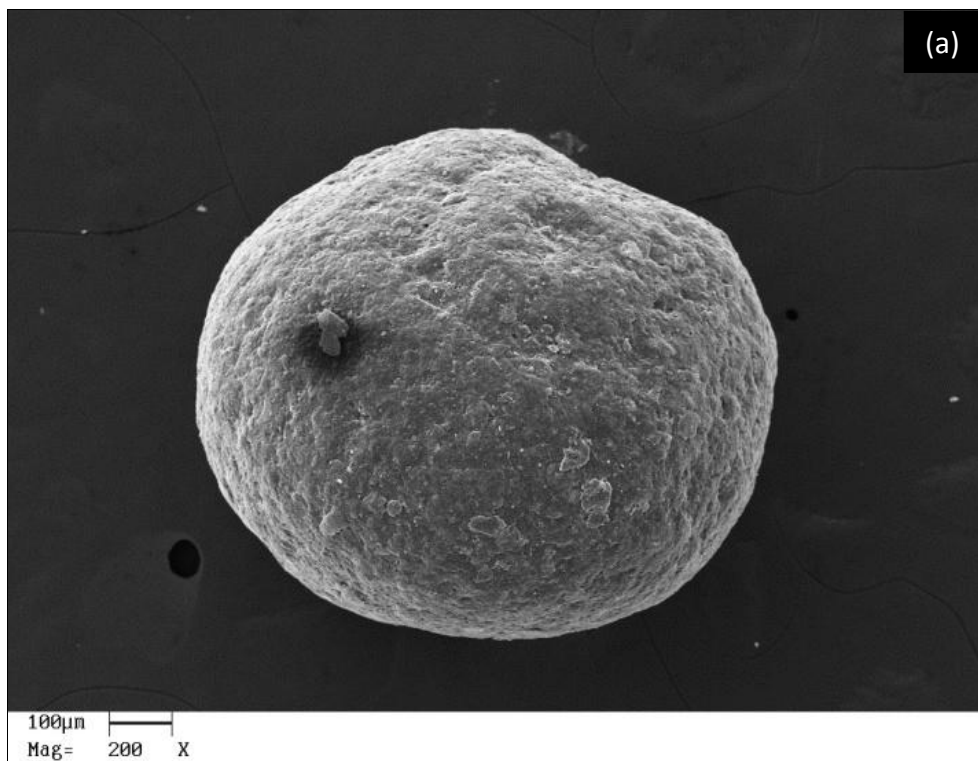
**Figura 4.20:** Imagem de MEV de uma micropartícula de alginato/quitosana com recobrimento polimérico Acril-EZE<sup>®</sup> MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 2500x.

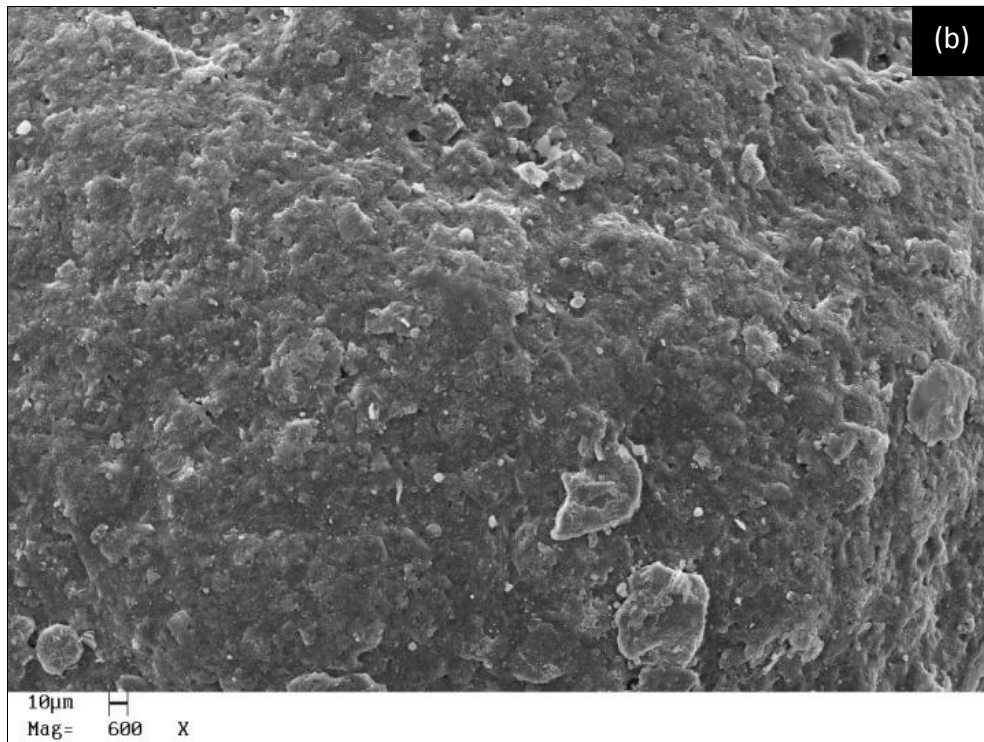


A uniformidade da espessura do filme de recobrimento é um parâmetro importante para evitar a liberação prematura e irregular, além da superdosagem da droga (ALBANEZ, 2012). Portanto, verificou-se que o recobrimento polimérico Acril-EZE<sup>®</sup> MP via leite fluidizado formou uma barreira ao redor das micropartículas, que pode ser manipulada para se controlar as fissuras e o efeito “burst”, como visto nas micropartículas não recobertas (vide Figura 4.7).

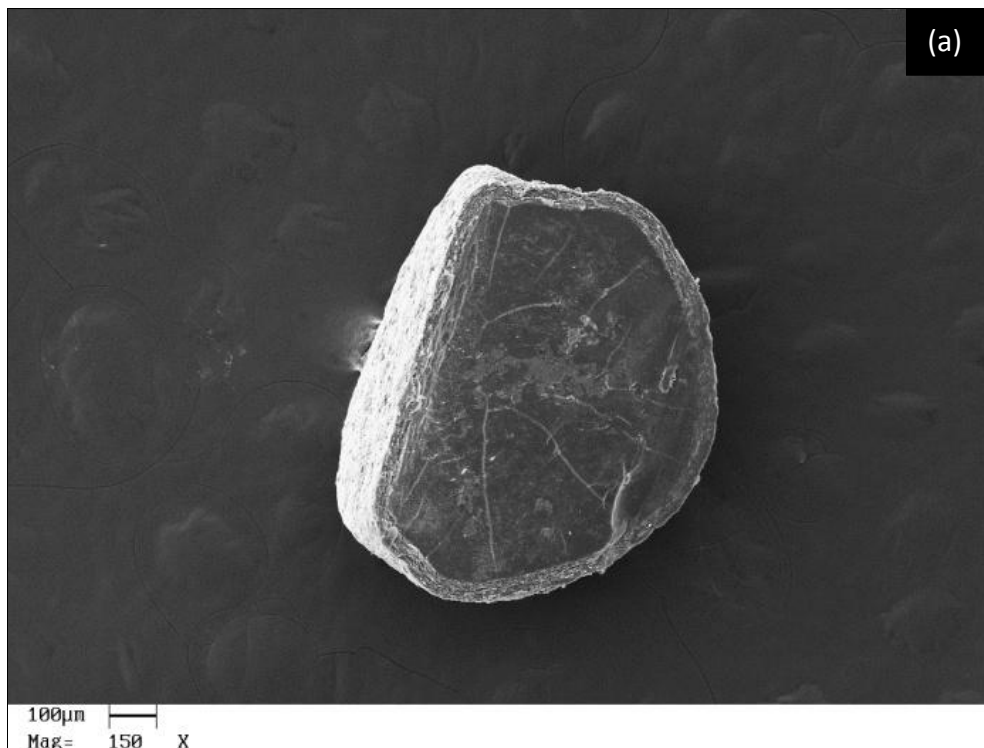
Assim, ao verificar que o recobrimento com aproximadamente 30 $\mu$ m de espessura não foi o suficiente para obter o efeito gastrorresistente, preconizado pela Farmacopeia, manipulou-se o sistema pelo aumento da massa de recobrimento.

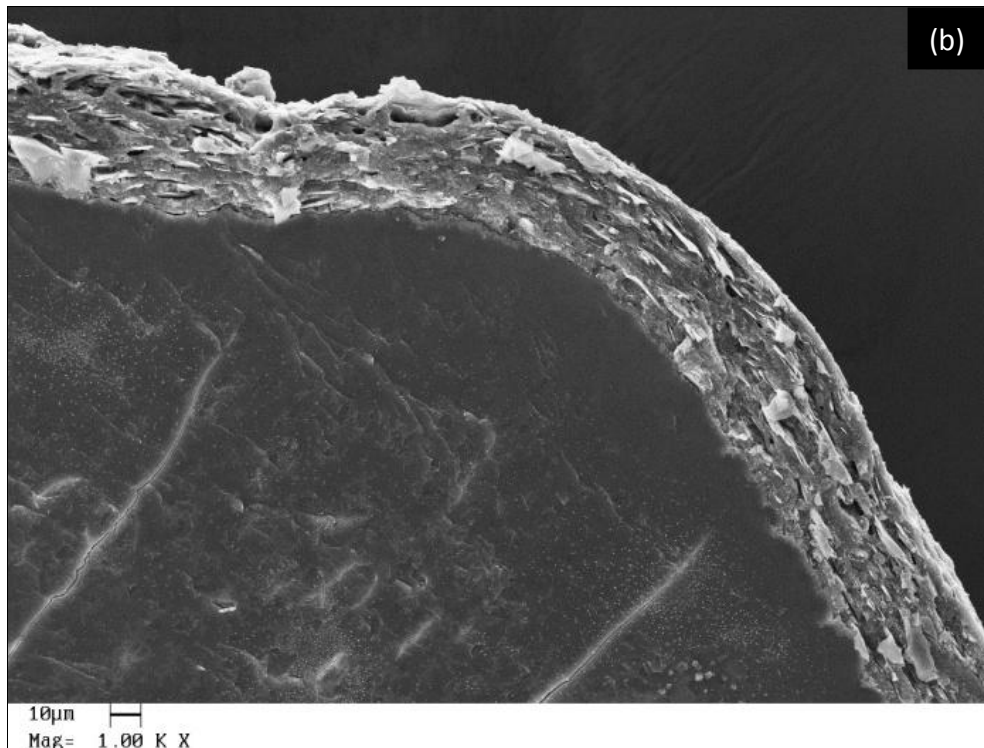
O recobrimento das micropartículas cortada ao meio com ganho de massa de aproximadamente 50% pode ser visualizado na Figura 4.23. Neste caso, o recobrimento apresentou uma espessura de aproximadamente 50  $\mu$ m, suficiente para promover o efeito de gastrorresistência preconizado pela Farmacopeia e alvo deste trabalho.



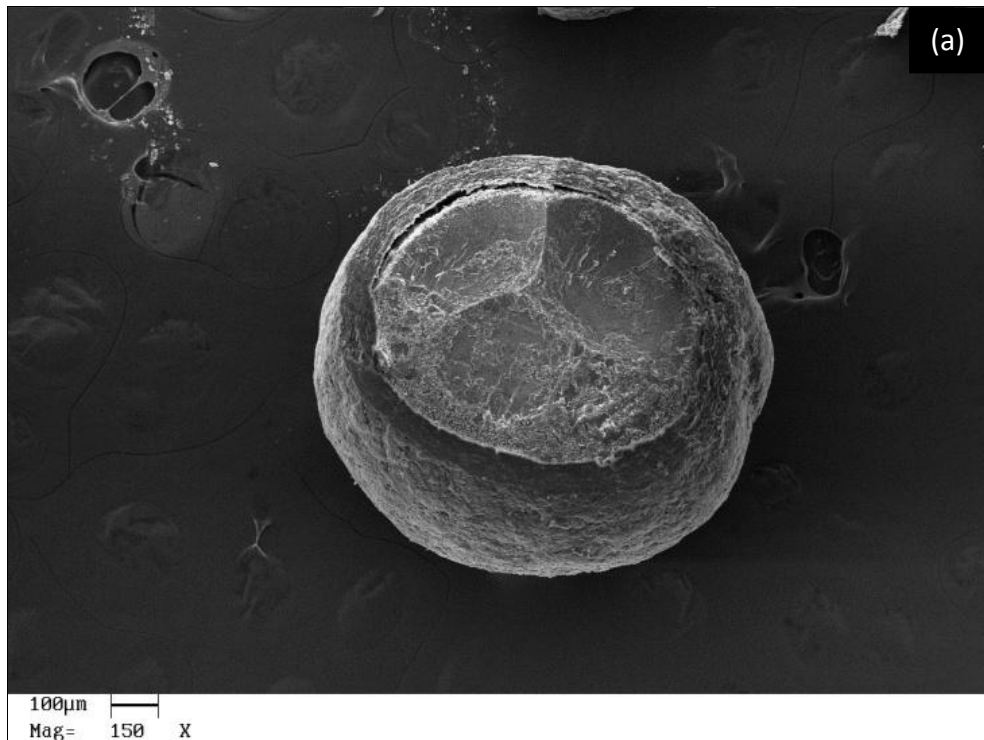


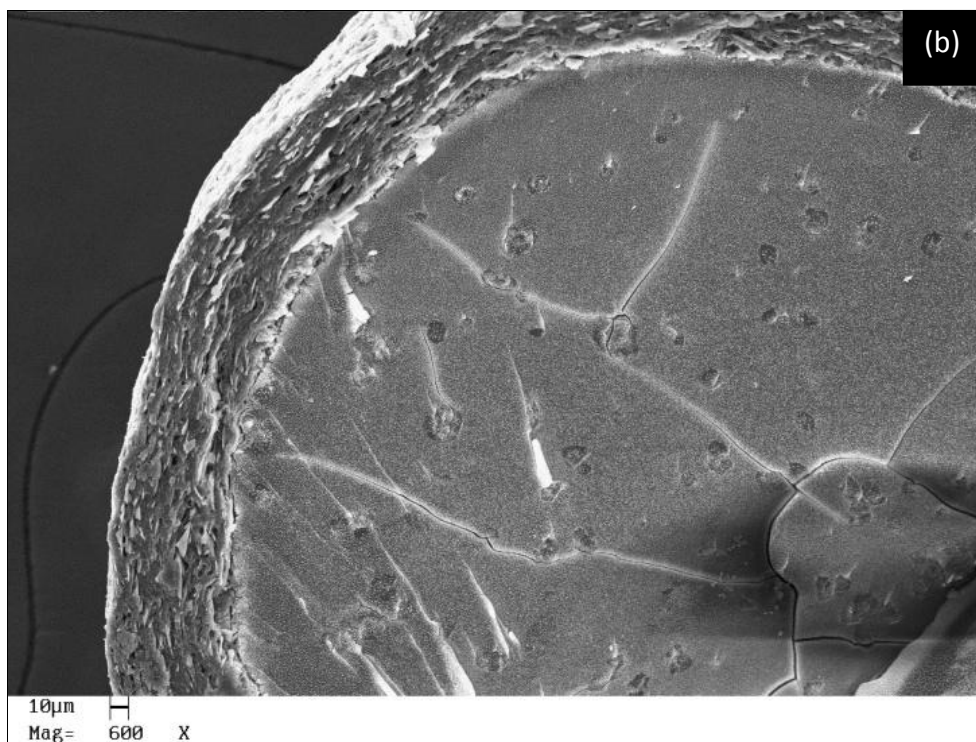
**Figura 4.21:** Imagem de MEV de uma micropartícula de alginato/quitosana com recobrimento polimérico Acril-EZE<sup>®</sup> MP, com 50% de ganho de massa: (a) aumento de 200x (b) aumento de 600x.





**Figura 4.22:** Imagem de MEV de corte transversal de uma micropartícula recoberta com Acril-EZE<sup>®</sup> MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 1000x.





**Figura 4.23:** Imagem de MEV de corte transversal de uma micropartícula recoberta com Acril-EZE<sup>®</sup> MP, com 30% de ganho de massa: (a) aumento de 150x; (b) aumento de 600x.

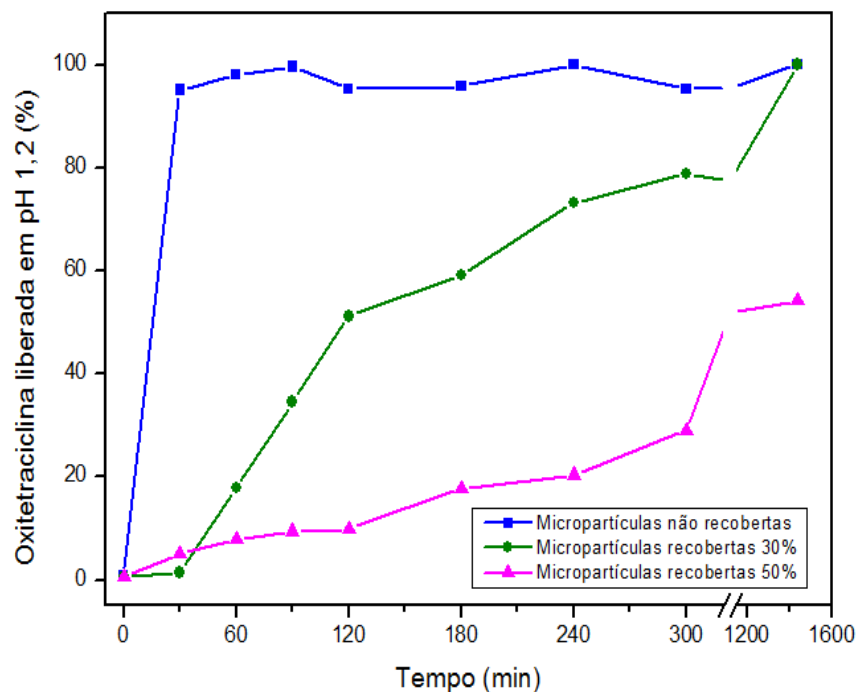
São encontrados na literatura vários trabalhos focados no recobrimento de matrizes poliméricas, com o intuito de modificar as características superficiais dos grânulos (*pellets*), com resultados satisfatórios. Entre eles, podemos citar Ferrari *et al.* (2012) que recobriram *pellets* de celulose microcristalina, contendo metronidazol, com a solução de Kollicoat<sup>®</sup> MAE. Eles observaram que o recobrimento promoveu uma superfície mais lisa e sem a presença de poros, quando comparados aos *pellets* não recobertos, melhorando o perfil de dissolução *in vitro* do ativo, em meios que simulam o ambiente gastrointestinal. Albanez *et al.* (2012) prepararam *pellets* com diclofenaco de sódio, recobertos em leito fluidizado com diferentes soluções gastrorresistentes. Os resultados de MEV mostraram que estes recobrimentos formaram um filme regular e uniforme, em torno de todo grânulo, e que a presença de poros nestes *pellets* diminuiu, favorecendo a obtenção de uma fórmula farmacêutica com perfil de liberação modificada. Severino *et al.* (2012) também propuseram o recobrimento de matrizes de quitosana, contendo didanosina, com soluções poliméricas gastrorresistentes para melhorar o perfil de dissolução do ativo nas condições gastrointestinais. Esses autores mostraram que esta camada de

recobrimento favoreceu a obtenção de fórmulas farmacêuticas com características de liberação entérica.

#### 4.6. Cinética de liberação da OTC antes e após o recobrimento

O perfil de liberação da OTC em meio ácido (pH 1,2), que simula a condição gástrica, está ilustrado na Figura 4.24; enquanto o perfil de liberação do meio tamponado pH6,8 que simula a condição intestinal, está ilustrado na Figura 4.25. Como pode-se observar, no meio ácido as micropartículas não revestidas apresentaram uma liberação rápida da OTC nos primeiros 30 minutos, devido sua alta solubilidade neste meio. Como já mencionado anteriormente, a presença de fissuras nas micropartículas (vide Figura 4.7) pode ter agravado a rápida liberação da OTC. Assim, a solução ácida pode penetrar na matriz pelas fissuras formadas e dissolver rapidamente os cristais do fármaco, o que provoca a rápida difusão do mesmo para fora das micropartículas (MI *et al.*, 1997).

Mi *et al.* (1997) prepararam micropartículas de quitosana para encapsulação da OTC, estudando o perfil de liberação desta em meio ácido e meio tamponado (pH 6,8), constatando a liberação inicial rápida no meio ácido. Cruz (2004) encapsulou a OTC em micropartículas de alginato e quitosana, e também observou a liberação rápida da OTC neste meio, corroborando os resultados de Mi *et al.* (1997) e os nossos. Destes resultados fica evidente a necessidade de se recobrir a micropartícula carreadora de OTC, com um polímero gastrorresistente e atóxico, para proteger o estômago dos efeitos adversos causados por este fármaco. Além disso, esse procedimento também retarda a liberação da droga, acelerada pelas fissuras nas micropartículas, garantindo sua integridade até alcançar o alvo, isto é, o meio entérico.

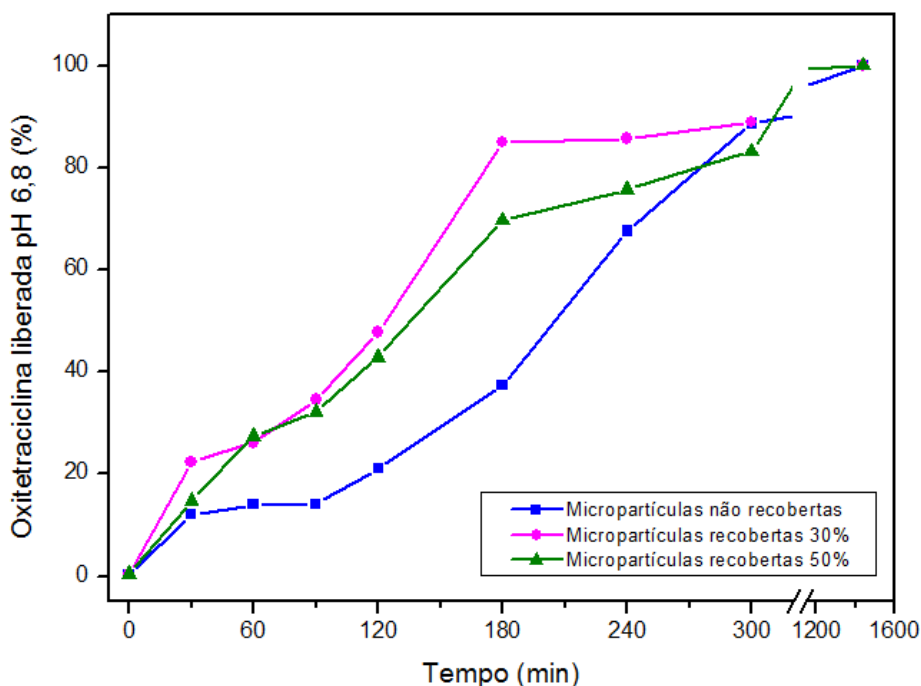


**Figura 4.24:** Concentração da oxitetraciclina liberada em meio ácido (pH1,2) *versus* tempo.

Pode-se observar que um de ganho de massa das micropartículas, em torno de 30%, retardou a liberação da OTC em meio ácido nos primeiros 30 minutos. Porém, em menos de duas horas o fármaco foi liberado numa quantidade maior que 10%, indicando à necessidade de se aumentar a % de recobrimento e, portanto, a espessura da barreira formada pelo mesmo em torno da micropartícula.

Estudos indicam que a maior espessura do revestimento nos *pellets* pode aumentar a proteção contra os meios gástrico e entérico simulados, pois a velocidade de dissolução é reduzida, devido à maior dificuldade da penetração do líquido do meio (ENSSLIN *et al.*, 2009).

Assim, o recobrimento com 50% de ganho de massa, em relação à massa da partícula, tornou possível obter o efeito gastrorresistente desejado, já que houve uma liberação menor que 10% em 2 horas de exposição em meio ácido.



**Figura 4.25:** Concentração da oxitetraciclina em meio tampão pH 6,8 *versus* tempo.

Em pH tamponado 6,8 é possível verificar uma cinética de liberação gradual da OTC, tanto para as micropartículas recobertas quanto para as micropartículas não recobertas; sendo que a concentração se mantém constante após cinco horas, como observado na Figura 4.25. Neste meio, o revestimento Acril-EZE<sup>®</sup> MP apresenta rápida dissolução, permitindo que as micropartículas intumescam e se desintegram, favorecendo a liberação do fármaco à medida que a desintegração ocorre.

Quando as micropartículas entram em contato com o meio básico elas intumescem, devido sua afinidade com a água, que se aloja nos volumes livres entre as cadeias dos polímeros da matriz e se liga através dos grupamentos OH e COOH do alginato e da quitosana. O aumento do volume livre vai favorecer uma maior flexibilidade das cadeias da matriz, com conseqüente abaixamento da Tg do sistema (HOFFMAN, 2002). Como conseqüência, serão favorecidas a dissolução e a difusão do fármaco para o ambiente externo à matriz, ou seja, para o trato intestinal onde a OTC será absorvida pelo organismo.

A presença de poros e fissuras em micropartículas poliméricas carreadoras de fármacos foi um dos grandes desafios a serem superados neste trabalho, cujo intuito foi desenvolver microcapsulas contendo oxitetraciclina para liberação controlada e eficiente de OTC no trato entérico, evitando o efeito "Burst" provocado pelos poros e fissuras, após a administração oral em pacientes com problemas gástricos severos.

Os resultados obtidos com o recobrimento em leito fluidizado, das micropartículas de alginato/quitosana contendo OTC, conforme proposto neste trabalho como alternativa para contornar este desafio, mostraram que foi possível obter micropartículas com superfície lisa, sem a presença de poros e fissuras, evitando o efeito "burst" indesejado.

Deste modo, o sistema desenvolvido neste trabalho se mostrou bastante promissor, pois além de resolver os problemas de fissuras que incentivavam o efeito "Burst" da droga, ele oferece a possibilidade de modulação do tempo de liberação, podendo ser aplicado para outros fármacos.



## 5. Conclusões

Micropartículas gastrorresistentes de alginato/quitosana, recobertas com Acril-EZE® MP em leite fluidizado, demonstraram resultados promissores na obtenção de fórmulas de liberação controlada gastrorresistentes, com grande potencial para obtenção imediata em larga escala pela Indústria farmacêutica.

- As micropartículas de alginato coacervadas com quitosana apresentaram tendência para geometria esférica, sendo possível também visualizar a quitosana coacervada com o alginato na superfície da micropartícula.

- As técnicas de microscopia confocal de fluorescência e a microscopia de imagem de tempo de vida de fluorescência foram muito importantes para se verificar a distribuição volumétrica da OTC no interior das micropartículas, confirmando uma encapsulação eficiente.

- Por MEV foi possível observar que o recobrimento com Acril-EZE® MP realizado em leite fluidizado, promoveu uma superfície regular, com espessura uniforme em torno de toda micropartícula de alginato/quitosana.

- Em meio básico a liberação da OTC ocorreu de maneira gradual, sendo que o fármaco foi totalmente liberado em cinco horas. Isso ocorre tanto para as micropartículas recobertas quanto para as não recobertas, já que neste meio o recobrimento a base de Acril-EZE® MP se dissocia.

- No meio ácido ocorreu uma liberação inicial rápida da OTC nas micropartículas não revestidas, sendo que esta liberação rápida é indesejada, já que este meio simula o meio gástrico, onde este fármaco é agressivo.

- O recobrimento regular e uniforme da ordem de 50  $\mu\text{m}$  das micropartículas de alginato/quitosana, com 50% de ganho de massa, foi o que melhor controlou a rápida liberação da OTC em meio ácido, impedindo a liberação dentro de um período crítico de duas horas conforme o desejado.

## **6. Sugestões para trabalhos futuros**

- Realizar estudos termoanalíticos mais detalhados confirmando os resultados preliminares obtidos por DSC neste trabalho.
- Avaliar o tipo de associação que ocorre entre a oxitetraciclina e os agentes encapsulantes, bem como se esta associação altera a estrutura química do fármaco, alterando a estabilidade, biodisponibilidade e ação do fármaco.
- Aprofundar os estudos da modulação da cinética de liberação em meio gastrointestinal pelos recobrimentos gastrorresistentes e derivar um modelo matemático de difusão do fármaco que se ajuste a essa modulação.
- Variar os parâmetros do processo de recobrimento em leito fluidizado, como: temperatura do ar de entrada, vazão do ar de fluidização, pressão do ar de atomização, vazão de injeção da suspensão de recobrimento pela bomba e vazão da suspensão de recobrimento, verificando a influência destas variáveis no recobrimento final e otimizando as condições do processo.
- Utilizar a formulação proposta para outros fármacos.

## 7. Referências Bibliográficas

ADAMSON, A. W. **Physical Chemistry of Surfaces**. 6<sup>th</sup> ed., New York: JohnWiley & Sons, 1997, 808p.

AGNIHOTRI, S.A.; MALLIKARJUNA, N, N.; AMINABHAVI, T.M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v.100, n.1, p.5 – 28, 2004.

ALBANEZ, R. **Recobrimento gastrorresistente de pellets de diclofenaco de sódio em leito fluidizado tipo wurster**. 119f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2012.

ALONSO, M. J.; LOSA, C.; CALVO, P.; VILA-JATO, J. L. Approaches to improve the association of amikacin sulphate to poly- (cyanoacrylate) nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.68, p. 69, 1991.

ALLEN JR; L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. Tradução Eleonora Lemos Senna**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 776 p.

ANAL, A. K.; STEVENS, W. F. Chitosan–alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 290, p. 45–54, 2005.

ANSEL, H.C.; LLOYD V.A. & POPOVICH N.G. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**, 8. ed. São Paulo: Premier, 2005, 251p.

ASO, Y.; YOSHIOKA, S.; LI WAN PO, A.; TERAOKA T.. Effect of temperature on mechanisms of drug release and matrix degradation of poly(D,L-lactide) microspheres, **Journal of Controlled Release**, v.31, p. 33-39, 1994.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2º ed, São Paulo: Ed. Atmed, 2005, 678p.

AULTON, M. E.; BANKS, M. Fluidized Bed Granulation- Factors influencing the quality of the product. **Pharmaceutical Technology**, v. 2, p. 24, 1981.

BECHERÁN-MARÓN, C.; PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL W. Study of interpolyelectrolyte reaction between chitosan and alginate: influence of alginate composition and chitosan molecular weight. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 34, p. 127-133, 2004.

BLASE W, inventor; Chas. Pfizer & Co., Assignee. Hydroxytetracycline compounds.US patent DE 964238. 1953 Sep 02, 1957 May 23.

BODDEKE, F.R, et al. Fluorescence lifetime determination for application in microscopy. 13th International Conference on Pattern Recognition (ICPR'96).v.3, p.854, Austria, 1996.

BODMEIE, R.; OH, K. H.; CHEN, H. The effect of the addition of low molecular weight poly(DL-lactide) on drug release from biodegradable poly(DL-lactide) drug delivery systems, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 51, p. 1-8, 1989.

BORINI, G. B. **Revestimento de partículas por solidificação de material fundido em leitos de jorro e fluidizado: estudo do processo, caracterização das partículas e preparo dos comprimidos**. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/ USP, 2006.

BRAGA, M.B. **Efeitos da molhabilidade e adesão em sistemas sólido-suspensão e filme-suspensão no desempenho do recobrimento em leito de jorro.** 25f. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas/SP, 2012.

BUNHAK, E. J.; MENDES, E. S.; PEREIRA, N. C.; CAVALCANTI, O. A. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor de água. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 312-317, 2007.

CALLIGARIS, D. **Farmacotécnica: Revestimento de formas farmacêuticas sólidas**, 1º ed., São Paulo, 1991, 94 p.

CANELLA, C. N. M. K.; GARCIA, B. R. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – Influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v. 24, n.1. p.13-17, 2001.

CEREA, M.; ZHENG, W.J.; YOUNG, C.R.; MCGINITY, J.W. A novel powder coating process for attaining taste masking and moisture protective films applied to tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 279, p.127-139, 2004.

CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 65, p232 – 260, 2001.

CHOPRA, I., HAWKEY, P.M. and HINTON, M. Tetracyclines, molecular and clinical aspects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v 29, p. 245-277, 1992.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista portuguesa de farmácia**, v. 99, n. 4, 1999.

COSTA JR, E. S.; MANSUR, H.S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.

CRUZ, M. C. P. **Influência do Poli (Etileno Glicol) (PEG) no Processo de Microencapsulação da Oxitetraciclina no Sistema Alginato/Quitosana: Modelamento “in vitro” da Liberação Oral**. 143f. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2004.

DALY, M.; KNORR, D. Mechanics and Diffusional Changes Observed in Multi-Layer Chitosan/Alginate Coacervate Capsules. **Biotechnology Progress**, v. 14, p. 76-81, 1988.

DASHEVSKY, A.; KOLTERB, K.; BODMEIERA, R. pH-independent release of a basic drug from pellets coated with the extended release polymer dispersion Kollicoat® SR 30 D and the enteric polymer dispersion Kollicoat® MAE 30 DP. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 45-49, 2004.

DE LA CRUZ PASTRANA, Y., BOZA RIVERA, A., ESPINO ENRIQUE, T., CARABALLO, I. Pharmacokinetic characterization of oral sustained release formulations: factors that influence pharmacokinetic profiles. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 19, p. 25-34, 2000.

DEPYPERE, F.; OOSTVELDT, P.V.; PIETERS, J.G.; DEWETTINCK, K. Quantification of microparticle coating quality by confocal laser scanning microscopy (CLSM). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, p. 179–186, 2009.

DEWETTINCK, K.; HUYGHEBAERT, A. Fluidized bed coating in food technology. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, pp.163-168, 1999.

DONG, Y.; RUAN, Y.; WANG, H.; ZHAO, Y.; BI, D. Studies on glass transition temperature of chitosan with four techniques. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, p.1553–1558, 2004.

DONIDA, M. W. **Recobrimento polimérico de uréia em leito de jorro bidimensional**. 31f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2000.

ELGINDY, N.; ELKHODAIRY, K.; MOLOKHIA, A.; ELZOGHBY, A. Biopolymeric micro-particles combined with lyophilized monophasic dispersions for controlled flutamide release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 411, p. 113–120, 2011.

Encyclopédia Britannica, Tetracycline, in [www.britannica.com](http://www.britannica.com)

ENSSLIN, S.; MOLL, K. P.; METZ, H.; OTZ, M.; MÄDER, K. Modulating pH-independent release from coated pellets: Effect of coating composition on solubilization processes and drug release. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, p. 111–118, 2009.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA. London: EDQM, p.194-198, 1997

FELTON, L. A., MCGINITY, J. W. Adhesion of polymeric films to pharmaceutical solids. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 47, p. 3–14, 1999.

FERRARI, P.C., SOUZA, F.M., GIORGETTI, L., OLIVEIRA G.F., CHAUD, M.V., FERRAZ, H.G., & EVANGELISTA, R.C. In vitro drug permeation from chitosan pellets. **Carbohydrate Polymers**, 87, 2526– 2531, 2012.

FERREIRA, A. O. Guia Prático da Farmácia Magistral, 2º Edição, Juiz de Fora, 2000, 116p.

FERREIRA, A. O; VILLANOVA, J. **Excipientes e adjuvantes farmacotécnicos**. São Paulo: [s.n.], 2006. p. 135.

FERNÁNDEZ-URRUSUNO, R.; CALVO, P., REMUNÁN-LÓPEZ, C.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, v. 16, n.10, p. 1576 - 1581, 1999.

FREIRE, A. C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, 2006.

FREITAS, M. N.; MARCHETTI, J. M. Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. **INT. J. I. Pharm**, v. 295, n.1-2, p. 201-211, 2005.

GAZORI, T.; KHOSHAYAND, M. R.; AZIZI, E.; YAZDIZADE, P.; NOMANI, A.; HARIRIAN, I. Evaluation of Alginate/Chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. **Carbohydrate Polymers**. v. 77, p. 599–606, 2009.

GELDART, D. Gas fluidization technology. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1986.

GEORGE, M.; ABRAHAM, E. T. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan — a review. **Journal of Controlled Release**. v. 114, p.1–14, 2006.

GIANNINI, R. P.; SARPOTDAR, P.P. **Air suspension and fluidized-bed methods**. In: HSIECH, D. S. T. (Ed.) *Controlled release systems: fabrication technology*. Florida: CRC Press, 1988. v. 1, p 144-148, 1988.

GLICKSMAN, M. Red seaweed extracts. **Food Hydrocolloids**, v. 2, p.73, 1983.

GOMBOTZ, W.R.; WEE, S.F. Protein release from alginate matrices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.31, n. 3, p. 267–285, 1998.



GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M.L.; HOLGADO, M.A.; SÁNCHEZ-LAFUENTE, C.; RABASCO, A.M., & FINI, A. Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 232, p. 225–234, 2002.

GRACE, J. R. **Hydrodynamics of gas fluidized bed, fluidized bed boilers: design and application**. Ed. Pergamon Press. p.13-90, 1984.

GUIMARÃES, G. G.; KATSUKI, G. I.; ZANARDO, N. D.; RIBEIRO, D. A.; CAVALCANTI, O. A.. Avaliação da pectina-HPMC no processo de revestimento por compressão. I - Estudo da propriedade de intumescimento em núcleos revestidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, v. 44, n.1. p. 133-141, 2008.

GUO, H.X. & SHI, Y.P. A novel zein-based dry coating tablet design for zero-order release. **International Journal of Pharmaceutics**, v.370, p. 81-86, 2009.

GUNDER, W.; LIPPOLD, B.H.; LIPPOLD, B.C. Release of drugs from ethyl cellulose microcapsules (diffusion pellets) with pore formers and pore fusion, **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 203–214, 1995.

HAUG, A. The affinity of some divalent metals to different types of alginates. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 15, n. 8, p. 1794-1795, 1961.

HEMATI, M., CHERIF, R.; PONT, V. Fluidized bed coating and granulation: influence of process-related variables and physicochemical properties on the growth kinetics. **Power Technology**. v.130, p.18-34, 2003.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for Biomedical Applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v .43, p.3-12, 2002.

HUANG, X.; BRAZEL, C.S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, p. 121–136, 2001.

HUGUET, M. L.; NEUFELD, R. J.; DELLACHERIE, E. Calcium-alginate beads coated with polycationic polymers: comparison of chitosan and DEAE dextran. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 347–353, 1996.

JONES, D. M. Factors to consider in Fluid-Bed Processing. **Pharmaceutical Technology**, v.9, p. 50 – 62, 1985.

KAS, H.S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. **J. Microencapsulation**, v.14, n.6, p.689 – 711, 1997.

KNILL, C. J.; KENNEDY, J. F.; MISTRY, J.; MIRAFTAB, M.; SMART, G.; GROOCOCK, M. R.; WILLIAMS, H. J. Alginate fibres modified with unhydrolysed and hydrolysed chitosans for wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 65-76, 2004.

KUNII, D.; LEVENSPIEL, O. Fluidization Engineering. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1991.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A. & KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**, 2. ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, p. 599-649, 2001.

LAWRIE, G.; KEEN, I.; DREW, B.; CHANDLER-TEMPLE, A.; RINTOUL, L.; FREDERICKS, P.; AND GRONDAHL, L. Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 2533-2541, 2007.

LOPES, C. M., LOBO, J. M. S., COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143 – 154, 2005.

LOPES, E. C; POHLMANN, A. R.; BASSANI, V.; GUTERRES, S. S.; PHARMAZIE. Polymeric colloidal systems containing ethionamide: preparation and physico-chemical characterization. **Pharmazie**, v. 55, n. 7, p. 527 - 530, 2000.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 375 – 399, 2002.

MARSHALL, M. C.; WELLINGHOFF, S.; BRAZEL, C.; ALEXANDER, M.; AKATAGAWA, S. Controlled Delivery of Pesticides through Synthetic Biodegradable Polymer Compositions, in H. Scher, ed. *Controlled Release Delivery Systems for Pesticides*, New York: Marcel Dekker, Inc., p. 363-394, 1999.

MARTINS, G. Z.; SOUZA, C. R. F.; SHANKAR T. J.; OLIVEIRA, W. P. Effect of process variables on fluidodynamics and adhesion efficiency during spouted bed coating of hard gelatine capsules. **Chemical Engineering and Processing**, v.47, p.2238–2246, 2008.

MARTINS, G.Z. ; OLIVEIRA, W.P. Utilização do leito de jorro para a aplicação de revestimento entérico em cápsulas gelatinosas duras. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n.3, p. 299-307, 2003.

MASSARANI, G. *Fluidodinâmica em sistemas particulados*. 2ºed, Rio de Janeiro: E- Papers Serviços Editoriais Ltda, 2002, 152 p.

MAURER, L. & LEUENBERGER, H. Terahertz pulsed imaging and near infrared imaging to monitor the coating process of pharmaceutical tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 370, n.8, p.16, 2009.

MI, F. L.; WONG, T.; SHYU, S. S. Sustained-release of oxytetracycline from chitosan microspheres prepared by interfacial acylation and spray hardening methods. **Journal Microencapsulation**, v. 14, n. 5, p. 577-591, 1997.

MLADENOVSKA K.; RAICKI, R.S.; JANEVIK, E.I., RISTOSKI, T.; PAVLOVA, M.J.; KAVRAKOVSKI, Z.; DODOV, M.G.; GORACINOVA, K. Colon-specific delivery of 5-aminosalicylic acid from chitosan-Ca-alginate microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 342, p.124–136, 2007.

MOURA, E. **Tecnologia de Obtenção de Revestimento Aquoso Gastro resistente para Comprimidos de Bisacodil 5mg. Pré-formulação e Desenvolvimento do Processo de Revestimento**. 63f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco/Recife, 2005.

MIYADAI, N.; HIGASHI, K.; MORIBE, K.; YAMAMOTO, K. Optimization and characterization of direct coating for ibuprofen particles using a composite fluidized bed. **Advanced Powder Technology**, v. 23, p. 40–45, 2012.

NEUMANN, A. W. & GOOD, R. J. *Surface and Colloid Science*. v.II, 1979.

NITZ, M.; MOFFA, M.; CALEFE, L. Microgrânulos pêm liberação de ativos sob controle. **Revista Química e Derivados**. ed° 479, Editora QD Ltda, São Paulo, 2008.

NITZ, M. **Fluidodinâmica, Secagem e Recobrimento em Leito Pulso-Fluidizado**. 212 f. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2006.

OH J. K.; LEE D. I.; PARK J. M. Biopolymer-based microgels/nanogels for drug delivery Applications. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n.1, p. 1261–1282, 2009.

OLIVEIRA, R.B; LIMA, E. M. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, p 29-35, 2006.

OMELCZUCK, M. O.; MCGINITY, J. W. The influence of polymer Glass Transition temperature and molecular weight on drug release from tablets containing poly (D,L-lactic acid). **Pharmaceutical Research**, v. 9, p. 26-32, 1992.

PARK T.G.; COHEN, S.; LANGER, R. Controlled protein release from polyethyleneimine-coated poly(L-lactic acid) / pluronic blend matrices. **Pharmaceutical Research**, v. 9, p. 37–39, 1992.

PAUL, W., SHARMA, C.P. Chitosan, a Drug Carrier for the 21<sup>st</sup> Century: a Review, S.T.P. **Pharmaceutical Sciences**, v. 10, p 5 – 22, 2000.

PENICHE, C. ARGUELLES-MONAL, W. Chitosan based polyelectrolyte complexes, in natural and synthetic polymers: Challenges and Perspectives, Ed arguelles-monal W., Wiley-VCH, Weinheim. **Macromolecular Symposia**, v. 168, p. 103-116, 2001.

PEREIRA-MAIA, E. C.; SILVA, P. P.; ALMEIDA, W. B.; SANTOS, H. F.; BRUNA LUANA MARCIALII; RUGGIERO, R.; GUERRA, W. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. **Química Nova**, v.33, n.3, p. 700-706, 2010.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n.4, p. 491-502, 2007.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery, **Current Opinion in: Chemical Biology**, v.5, p. 448, 2000.

PONCELET, D. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 944, p. 74-82, 2001.

PRADO, A. G. S., MACEDO, J. L., DIAS, S. C. L., DIAS, J. A. Calorimetric studies of the association of chitin and chitosan with sodium dodecyl sulfate. *Colloids surf. B: **Biointerfaces***, v. 35, p. 23-27, 2004.

RAMKISSOON-GANORKAR, C.; LIU, F.; BAUDYS, M.; KIM, S.W. Modulating insulin-release profile from pH/ thermosensitive polymeric beads through polymer molecular weight. **Journal of Controlled Release**, v. 59, p. 287–298, 1999.

RANG, H. P. *Farmacologia*. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 904p.

REDDY, J. R. K.; GNANAPRAKASH, K.; BADARINATH, A. V.; CHETTY, C. M. S. Formulation and Evaluation of Micro-particles of Metronidazole. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, p.131-136, 2009.

REMINTON, G. **A Ciência e a Prática da Farmácia**, 20. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 2004, 2208 p.

REZENDE, F. A. **Revestimento de grânulos farmacêuticos em leite fluidizado**. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, Ribeirão Preto, 2007.

RIBEIRO, A. J., SILVA, C., FERREIRA, D., VEIGA, F. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, p. 31–40, 2005.

RODRIGUES, A. P. **Preparação e caracterização de membranas de quitosana e alginato para aplicação na terapia de lesões**. Tese de doutorado apresentado a Faculdade de Engenharia Química da UNICAMP. Campinas /SP, 2008.

RUJIVIPAT, S.; BODMEIER, R. Moisture plasticization for enteric Eudragit® L30D-55-coated pellets prior to compression into tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, p. 223–229, 2012.

RUMPF, H. Particle adhesion - research and applications, In: SASTRY, K. V. S. Agglomeration 77, New York, AIME, p.97-129, 1977. Apud: FREIRE, J. T.; OLIVEIRA, W. P. Aspectos Tecnológicos dos Processos de Recobrimento de Partículas, In: Tópicos Especiais de Secagem, v.1, pp.255-293, Universidade Federal de São Carlos , 1992.

SANFORD, P.A. Chitosan: commercial uses and potential applications. In: Skjak-Braek, G.; Anthonsen, T.; Sanford, P. (Eds.) Chitin and Chitosan. Elsevier, p. 51 – 69, 1989.

SANTOS, H. M. M.; VEIGA, F. J. B.; PINA, M. E. T.; SOUSA, J. J. M. S. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica. Parte I. Avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.40, n.4, p.455-470, 2004.

SARTORI, T. **Preparação e caracterização de nanopartículas contendo metotrexato. Avaliação da estabilidade e viabilidade do tecido corneal após administração tópica ocular.** 73 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós graduação em Farmácia, Florianópolis/SC, 2007.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

SCHURKS, N.; WINGENDER, J.; FLEMMING, H. C. AND MAYER, C. Monomer composition and sequence of alginates from *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.30, p. 105–111, 2002.

SEVERINO, P. Revestimento polimérico e farmacocinética de grânulos gastrorresistentes contendo didanosina incorporada em micropartículas de quitosana. 28f. Dissertação de mestrado - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2008.

SEVERINO, P.; OLIVEIRA, G.G.G.; FERRAZ H.G.; SOUTO, E.B.; SANTANA, M.H.A. Preparation of gastro-resistant pellets containing chitosan microspheres for improvement of oral didanosine bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 2, n.3, p.188-192, 2012.

SEZER, A. D.; AKBUGA, J. Release characteristics of chitosan treated alginate beads: II. Sustained release of a low molecular drug from chitosan treated alginate beads, **Journal Microencapsulation**, v.16, p. 687–696, 1999.

SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. C. R.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.

SILVA, O. S. **Desenvolvimento do processo de recobrimento e secagem de microgrânulos em leito fluidizado**. 16f. Tese de Doutorado– Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2003.

SILVA, O. S.; ROCHA, S. C. S. Prediction of Efficiency and Particles Growth in the Granules Coating and Drying Process by Statistical Experimental Design. **Proceedings of the 14th International Drying Symposium**, p. 860 - 867, São Paulo, 2004.

SILVA, PENILDO. **Farmacologia**. 8° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2010, 1325p.

SMITH, D. Characterization of Lactose by Helium Pycnometer. In Stephens, K. (ed.), *The Microreport: News and Ideas for Decision Makers*, 2nd Quarter, 7(2) Micro-meritics Instrument Corporation, USA, 1996.



TAVARIA, F. K.; COSTA, E. M.; PINA-VAZ, I.; CARVALHO, M. F.; PINTADO, M. M. A. Quitosana como biomaterial odontológico: estado da arte. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**. dx.doi.org/10.4322/rbeb.2013.002, 2012.

THIES, C. How to Make Microcapsules Lecture and Laboratory Manual. St. Louis, Missouri, p.28-31,1995.

VAZ JUNIOR, S. **Estudo da sorção do antibiótico oxitetraciclina a sólidos e ácidos húmicos e avaliação dos mecanismos de interação envolvidos**. 10f. Tese de doutorado – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos/SP, 2010.

VEIGA, F. Medicamentos orais de liberação controlada. Comprimidos matriciais hidrófilos. **Boletim da Faculdade de Farmácia**, v. 12, n. 2, p. 17-87, 1988.

VIANA, O. S.; J BENIGNO JÚNIOR, J.; SILVA, R. M. F.; MEDEIROS, F. P. M.; GRANGEIRO JÚNIOR, S.; ALBUQUERQUE, M. M.; NETO, P. J. R.. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de obtenção de comprimidos revestidos de efavirenz - terapia anti-HIV. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n.4, p. 505-511, 2006.

VIEIRA, R. S. **Adsorção competitiva dos íons cobre e mercúrio em membranas de quitosana natural e reticulada. Adsorção competitiva dos íons cobre e mercúrio em membranas de quitosana natural e reticulada**. 11f. Tese de doutorado - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2008.

WANG, L., KHOR, E., LIM, L.Y. Chitosan-alginate-CaCl<sub>2</sub> system for membrane coat application. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, p. 1134–1142, 2001.

WEINBRECK F., TROMP R.H., DE KRUIF C.G., Composition and structure of whey protein/gum arabic coacervates. **Biomacromolecules**, v.5, n.4, p.1437– 1445, 2004.

WELTER, R. A. **Estudo de equilíbrio dos sistemas dos sistemas binários e ternário de troca iônica dos íons cobre, cádmio e cálcio pelo biopolímero alginato**. 108f. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, 2009.

YAMAURA, M. **A química das quitosanas**. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/qv\\_quitosanas](http://www.crq4.org.br/qv_quitosanas)>. Acesso em: 20/11/2012.

YAN, X.; KHOR, E.; LIM, L.Y. PEC films prepared from chitosan-alginate coacervates. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n.7, p. 941-946, 2000.

YU, C.Y.; YIN, B.C.; ZHANG, W.; CHENG, S.X.; ZHANG, X.Z.; ZHUO, R.X. Composite microparticle drug delivery systems based on chitosan, alginate and pectin with improved pH-sensitive drug release property. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 68, p. 245–249, 2009.

ZHANG, Y.; WEI, W., LV, P.; WANG, L.; MA, G. Preparation and evaluation of alginate–chitosan microspheres for oral delivery of insulin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 77, p. 11–19, 2011.

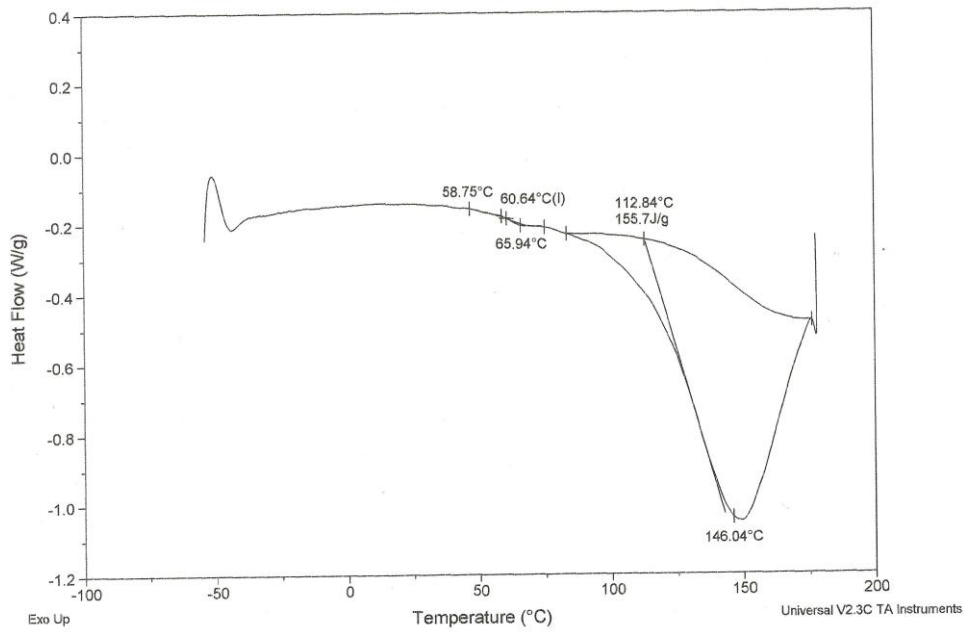
# APÊNDICES

## Apêndice A – Curva de DSC da quitosana pura

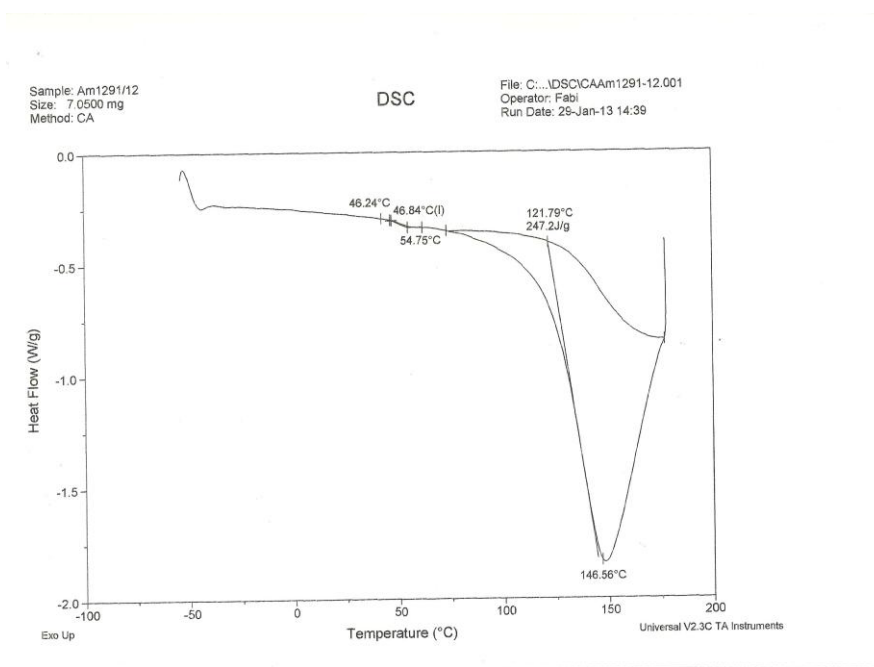
Sample: Am1290/12  
Size: 3.9100 mg  
Method: CA

DSC

File: C:\...DSC\CAAm1290-12.001  
Operator: Fabi  
Run Date: 29-Jan-13 12:24



## Apêndice B – Curva de DSC do alginato de sódio

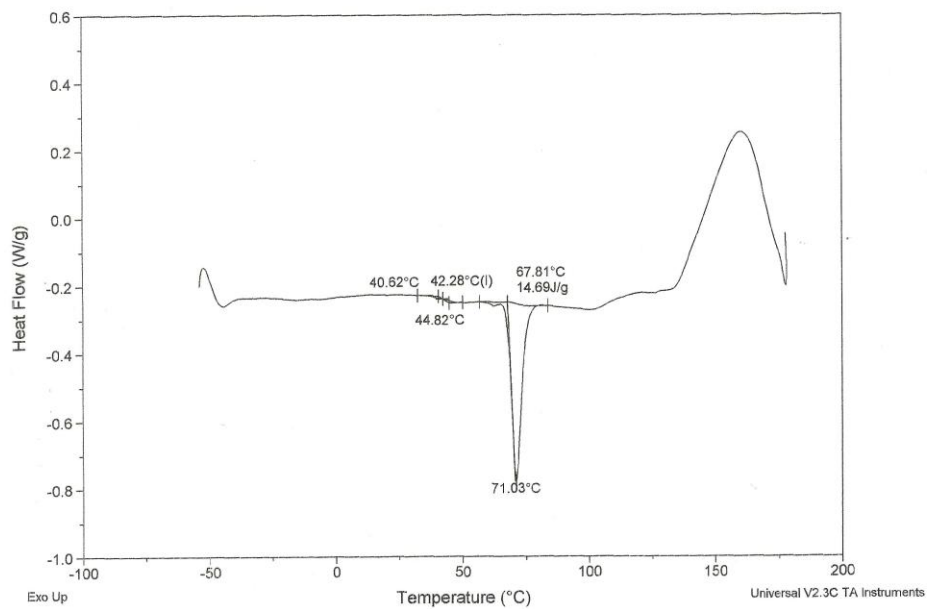


## Apêndice C – Curva de DSC da oxitetraciclina pura

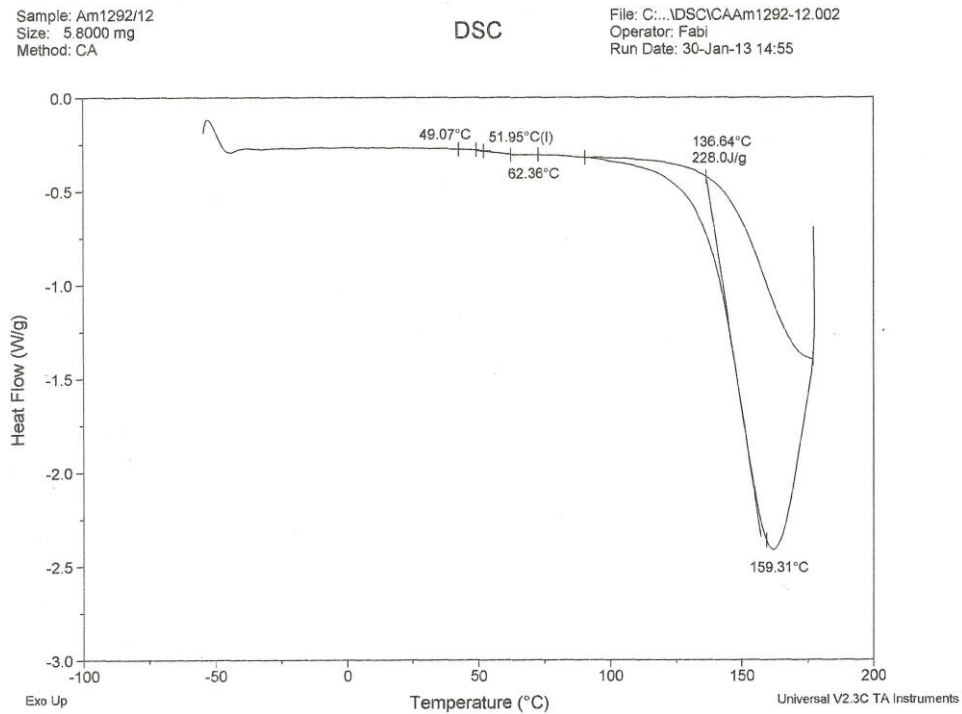
Sample: Am1293/12  
Size: 5.1600 mg  
Method: CA

DSC

File: C:\...\DSC\CAAm1293-12.001  
Operator: Fabi  
Run Date: 29-Jan-13 16:03



## Apêndice D – Curva de DSC das micropartículas de alginato/quitosana sem OTC (branco)



## Apêndice E – Curva de DSC das micropartículas de alginato/quitosana com OTC

