

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Caracterização físico-química e avaliação dos perfis de  
liberação *in vitro* de micropartículas revestidas com  
nanocápsulas poliméricas

**GISLANE SCHOLZE DOMINGUES**

PORTO ALEGRE, 2006.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Caracterização físico-química e avaliação dos perfis de  
liberação *in vitro* de micropartículas revestidas com  
nanocápsulas poliméricas

Dissertação apresentada por **Gislane Scholze  
Domingues** para obtenção do GRAU DE  
MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sílvia Stanisçuaski Guterres

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 7 de abril de 2006, pela comissão Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Édison Luis Santana Carvalho  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Ruy Carlos Ruver Beck  
Universidade Federal de Santa Maria

D671c Domingues, Gislane Scholze

Caracterização físico-química e avaliação dos perfis de liberação *in vitro* de micropartículas revestidas com nanocápsulas poliméricas / Gislane Scholze Domingues – Porto Alegre : UFRGS, 2006. - xvi, 161p.: il., gráf., tab.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Micropartículas nanorrevestidas. 2. Indometaxina. 3. Liberação *in vitro*. I. Guterres, Sílvia Stanisçuaski. II. Título.

CDU: 615.4

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria C. F. Ferreira, CRB10/480

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa Dra Sílvia Stanisçuaski Guterres pela iniciação científica que me fez escolher a área da tecnologia farmacêutica e pela orientação deste trabalho. E, sobretudo pelo exemplo profissional de dedicação, seriedade e sucesso.

À Profa Dra Adriana Raffin Pohlmann por suas contribuições importantes.

Aos meus primeiros orientadores de iniciação científica, Prof Dr Jarbas Alves Montanha, que me desafiou à pesquisa científica; e à Profa Dra Carmen Regla Vargas pelas oportunidades.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pelas contribuições na minha formação profissional.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do laboratório 405 e do grupo de pesquisa pelo convívio e contribuições indispensáveis.

À minha mãe, Lia Scholze, pelo apoio incondicional, confiança e amizade. Ao meu irmão, Fabian, pelo auxílio na minha formação.

À Aline pela amizade e cumplicidade. Ao Júnior pelo carinho e solidariedade.

A todas as pessoas que, de uma maneira ou outra, participaram desta etapa.

A CAPES, pelo financiamento de um ano da bolsa de estudos. Ao CNPq e Rede Nanobiotec CNPq/MTC pelo suporte financeiro.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>3</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
2.1 Objetivo geral .....	11
2.1 Objetivos específicos.....	11
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
3.1 Nanopartículas poliméricas .....	15
3.1.1 Métodos de obtenção .....	15
3.1.1.1 Nanoprecipitação.....	16
3.1.1.1.1 Definição.....	16
3.1.1.1.2 Mecanismo de formação das nanocápsulas.....	17
3.1.1.1.3 Vantagens e desvantagens .....	17
3.1.1.2 Emulsificação-difusão.....	17
3.1.1.2.1 Definição.....	17
3.1.1.2.2 Mecanismo de formação das nanocápsulas.....	18
3.1.1.2.3 Vantagens e desvantagens .....	18
3.1.2 Polímeros usuais .....	18
3.1.2.1 Propriedades .....	19
3.1.2.2 Poli( $\epsilon$ -caprolactona).....	20
3.1.2.2.1 Características físico-químicas.....	21
3.1.2.2.2 Poli( $\epsilon$ -caprolactona) em formas de liberação controlada.....	21
3.1.2.3 Eudragit <sup>®</sup> RS 100 .....	23
3.1.2.3.1 Características físico-químicas.....	23
3.1.2.3.2 Eudragit <sup>®</sup> RS 100 em formas de liberação controlada .....	24
3.2 Secagem por aspersão de nanopartículas poliméricas .....	25
3.2.1 Secagem de nanocápsulas contendo fármaco.....	26
3.2.1 Nanorrevestimento de micropartículas inorgânicas contendo fármaco .....	30
3.3 Indometacina .....	33

3.3.1 Propriedades físico-químicas .....	33
3.3.2 Propriedades farmacológicas e toxicidade gastrointestinal .....	34
3.3.3 Sistemas de liberação controlada.....	35
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>41</b>
4.1 Materiais .....	41
4.1.1 Matérias-primas .....	41
4.1.2 Aparelhos e equipamentos .....	41
4.1.3 Solventes e outros materiais .....	43
4.2 Métodos.....	45
4.2.1 Preparação das suspensões de nanocápsulas .....	45
4.2.1.1 Nanoprecipitação (NPPT).....	45
4.2.1.2 Emulsificação-difusão (ED) .....	46
4.2.2 Caracterização das suspensões de nanocápsulas.....	47
4.2.2.1 Determinação do diâmetro das partículas das suspensões coloidais.....	47
4.2.2.2 Determinação do potencial zeta das partículas das suspensões coloidais ..	48
4.2.2.3 Determinação do pH.....	48
4.2.2.4 Doseamento da indometacina nas suspensões (formulações S2, S6 e S8)	48
4.2.2.5 Taxas de associação (formulações S2, S6 e S8).....	49
4.2.3 Preparação das micropartículas nanorrevestidas.....	49
4.2.3.1 Micropartículas contendo indometacina associada ao núcleo (formulações M1, M5 e M7) .....	50
4.2.3.2 Micropartículas contendo indometacina associada às nanocápsulas (formulações M2, M6 e M8).....	50
4.2.3.3 Micropartículas contendo indometacina associada ao dióxido de silício em etapa única (formulações MU1 e MU2) .....	51
4.2.4 Caracterização das micropartículas nanorrevestidas .....	51
4.2.4.1 Determinação do rendimento das micropartículas .....	51
4.2.4.2 Determinação do teor de umidade.....	52
4.2.4.3 Doseamento da indometacina nas micropartículas .....	52

4.2.4.4	Determinação do diâmetro após dispersão dos pós em água.....	52
4.2.4.5	Determinação do potencial zeta após dispersão dos pós em água.....	52
4.2.4.6	Análise morfológica das micropartículas através de microscopia eletrônica de varredura .....	53
4.2.4.7	Análise por microscopia óptica .....	53
4.2.4.8	Determinação da distribuição de tamanho de poros das micropartículas.....	53
4.2.4.9	Determinação da área superficial das micropartículas .....	54
4.2.4.10	Análise granulométrica das micropartículas .....	54
4.2.4.11	Dissolução das micropartículas em célula de fluxo .....	55
4.2.4.12	Avaliação dos perfis de dissolução.....	56
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
5.1	Suspensões de nanocápsulas.....	61
5.2	Micropartículas nanorrevestidas.....	69
5.2.1	Rendimento e teor de umidade .....	70
5.2.2	Quantificação da indometacina nos pós.....	72
5.2.3	Microscopia eletrônica da varredura.....	74
5.2.4	Microscopia óptica.....	77
5.2.5	Determinação da área superficial e distribuição de tamanho de poros .....	80
5.2.6	Análise granulométrica das micropartículas .....	83
5.2.7	Determinação do diâmetro e do potencial zeta nas micropartículas ressuspendidas .....	86
5.2.8	Liberação <i>in vitro</i> .....	90
5.2.9	Modelagem matemática .....	95
5.3	Micropartículas nanorrevestidas preparadas em etapa única .....	102
5.3.1	Rendimento e teor de umidade .....	103
5.3.2	Quantificação da indometacina nos pós.....	103
5.3.3	Microscopia eletrônica da varredura.....	104
5.3.4	Microscopia óptica.....	105
5.3.5	Determinação da área superficial e distribuição de tamanho de poros .....	106
5.3.6	Análise granulométrica das micropartículas .....	107

5.3.7 Determinação do diâmetro e do potencial zeta nas micropartículas ressuspendidas .....	108
5.3.8 Liberação in vitro .....	110
5.3.9 Modelagem matemática .....	111
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>120</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>125</b>
<b>8 ANEXOS .....</b>	<b>130</b>
Anexo 1 .....	131
Validação da metodologia analítica por CLAE para a quantificação da indometacina .....	131
1 Linearidade.....	135
2. Precisão.....	139
3. Exatidão.....	140
4 Especificidade .....	142
5. Limite de quantificação.....	142
Anexo 2 .....	144
Percentual dissolvido de indometacina a partir da indometacina pura triturada, do núcleo e das formulações de micropartículas nanorrevestidas. ....	144
Anexo 3 .....	152
Parâmetros do modelo monoexponencial para as micropartículas nanorrevestidas.. ..	152
Anexo 4 .....	157
Parâmetros e ajuste gráfico da modelagem matemática utilizando a Lei da Potência para as micropartículas nanorrevestidas. ....	157





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fórmula estrutural da poli( $\epsilon$ -caprolactona).....	21
Figura 2	Fórmula estrutural dos polimetacrilatos e substituições do Eudragit <sup>®</sup> RS.....	23
Figura 3	Representação esquemática das micropartículas nanorrevestidas.....	30
Figura 4	Estrutura molecular da indometacina.....	33
Figura 5	Diâmetro das partículas das suspensões de nanocápsulas.....	66
Figura 6	Potencial zeta das suspensões de nanocápsulas.....	67
Figura 7	Fotomicrografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas.....	75
Figura 8	Fotomicrografias do Aerosil <sup>®</sup> 200 e do núcleo.....	75
Figura 9	Fotografias do Aerosil <sup>®</sup> 200.....	77
Figura 10	Fotografias do núcleo.....	78
Figura 11	Fotografias da indometacina.....	78
Figura 12	Fotografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas.....	79
Figura 13	Representação gráfica da distribuição do tamanho de poros.....	82
Figura 14	Diâmetro das partículas das micropartículas nanorrevestidas.....	87
Figura 15	Potencial zeta das micropartículas nanorrevestidas.....	88
Figura 16	Perfis de liberação da indometacina: comparação da forma de associação da indometacina.....	92
Figura 17	Perfis de liberação da indometacina: comparação do polímero empregado nas nanocápsulas.....	93
Figura 18	Perfis de liberação da indometacina: comparação do método de preparação das nanocápsulas.....	94
Figura 19	Perfis de dissolução e ajuste ao modelo monoexponencial.....	98
Figura 20	Esquema do mecanismo de dissolução a partir das micropartículas nanorrevestidas.....	101
Figura 21	Fotomicrografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas MU1 e MU2.....	105



Figura 22	Fotografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas MU1 e MU2.....	106
Figura 23	Distribuição do tamanho de poros, formulações MU1 e MU2.....	107
Figura 24	Diâmetro das partículas das micropartículas nanorrevestidas.....	109
Figura 25	Potencial zeta das micropartículas nanorrevestidas.....	110
Figura 26	Perfis de liberação da indometacina: formulações MU1 e MU2.....	110
Figura 27	Perfis de dissolução e ajuste ao modelo monoexponencial das formulações MU1 e MU2.....	113
Figura A1-1	Curva padrão para acetonitrila.....	139
Figura A1-2	Curva padrão para meio pH 6,8.....	139
Figura A1-3	Cromatogramas obtidos na análise de micropartículas com indometacina e sem indometacina, em acetonitrila e em meio pH 6,8.....	142
Figura A4-1	Ajuste gráfico ao modelo da Lei da Potência para as micropartículas nanorrevestidas.....	160
Figura A4-2	Ajuste gráfico ao modelo da Lei da Potência para as formulações MU1 e MU2.....	161



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sistemas de liberação controlada contendo indometacina.....	36
Tabela 2	Composição das suspensões coloidais preparadas pelo método da nanoprecipitação.....	46
Tabela 3	Composição das suspensões coloidais preparadas pelo método da emulsificação-difusão.....	47
Tabela 4	Série de formulações de nanocápsulas preparadas através de nanoprecipitação ou emulsificação-difusão, contendo indometacina no núcleo.....	49
Tabela 5	Série de formulações de nanocápsulas preparadas através de nanoprecipitação ou emulsificação-difusão, contendo indometacina nas nanocápsulas.....	50
Tabela 6	Condições operacionais utilizadas para a preparação das micropartículas nanorrevestidas em <i>spray dryer</i> .....	51
Tabela 7	Mecanismos de liberação de substâncias por difusão a partir de sistemas poliméricos de diferentes geometrias.....	58
Tabela 8	Características das suspensões de nanocápsulas.....	64
Tabela 9	Micropartículas nanorrevestidas obtidas a partir de suspensões de nanocápsulas.....	69
Tabela 10	Rendimentos da operação de secagem e teor de umidade das micropartículas nanorrevestidas.....	71
Tabela 11	Taxas de recuperação e teor de indometacina das micropartículas nanorrevestidas.....	73
Tabela 12	Área superficial e volume de poros das micropartículas nanorrevestidas.....	81
Tabela 13	Granulometria e distribuição granulométrica das partículas.....	85
Tabela 14	Diâmetro das partículas e potencial zeta das formulações de micropartículas nanorrevestidas ressuspendidas.....	86
Tabela 15	Eficiência de dissolução das micropartículas nanorrevestidas.....	90
Tabela 16	Valores calculados do fator de diferença ( $f_1$ ) e do fator de similaridade ( $f_2$ ) para a dissolução da indometacina a partir de micropartículas nanorrevestidas.....	91



Tabela 17	Valores calculados do fator de diferença ( $f_1$ ) e do fator de similaridade ( $f_2$ ): comparação do polímero empregado nas nanocápsulas.....	93
Tabela 18	Valores calculados do fator de diferença ( $f_1$ ) e do fator de similaridade ( $f_2$ ): comparação do método de preparação das nanocápsulas.....	94
Tabela 19	Parâmetros do modelo monoexponencial.....	97
Tabela 20	Parâmetros da Lei da Potência.....	101
Tabela 21	Formulações preparadas em etapa única.....	102
Tabela 22	Rendimentos da operação de secagem e teores de umidade das micropartículas nanorrevestidas, preparadas em etapa única.....	103
Tabela 23	Taxas de recuperação e teores de indometacina das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.....	104
Tabela 24	Área superficial e volume de poros das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.....	107
Tabela 25	Granulometria e distribuição granulométrica das partículas, formulações MU1 e MU2.....	108
Tabela 26	Diâmetro das partículas e potencial zeta das formulações de micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.....	109
Tabela 27	Eficiência de dissolução das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.....	111
Tabela 28	Valores calculados do fator de diferença ( $f_1$ ) e do fator de similaridade ( $f_2$ ) para a dissolução da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.....	111
Tabela 29	Parâmetros do modelo monoexponencial para as formulações MU1 e MU2.....	112
Tabela 30	Parâmetros da Lei da Potência para as formulações MU1 e MU2..	114
Tabela A1-1	Valores experimentais obtidos no desenvolvimento da curva padrão para acetonitrila.....	137
Tabela A1-2	Valores experimentais obtidos no desenvolvimento da curva padrão para meio pH 6,8.....	138
Tabela A1-3	Determinação do teor de indometacina nas micropartículas nanorrevestidas em acetonitrila.....	140
Tabela A1-4	Determinação do teor de indometacina nas micropartículas nanorrevestidas em meio pH 6,8.....	140
Tabela A1-5	Resultados referentes ao teste de recuperação para acetonitrila....	141



Tabela A1-6	Resultados referentes ao teste de recuperação para meio pH 6,8..	141
Tabela A2-1	Percentuais dissolvidos de indometacina a partir da indometacina triturada e do núcleo em tampão fosfato pH 6,8.....	147
Tabela A2-2	Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M1 e M2 em tampão fosfato pH 6,8.....	148
Tabela A2-3	Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M5 e M6 em tampão fosfato pH 6,8.....	149
Tabela A2-4	Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M7 e M8 em tampão fosfato pH 6,8.....	150
Tabela A2-5	Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação MU1 e MU2 em tampão fosfato pH 6,8.....	151
Tabela A3-1	Valores das constantes de velocidade (k), do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação do modelo monoexponencial às formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8.....	155
Tabela A3-2	Valores das constantes de velocidade (k), do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação do modelo monoexponencial às formulações U1 e U2	155
Tabela A4-1	Valores dos parâmetros a e n, do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação da Lei da Potência às formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8.....	159
Tabela A4-1	Valores dos parâmetros a e n, do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação da Lei da Potência às formulações MU1 e MU2.....	161

## LISTA DE ABREVIATURAS

A/O - Água/óleo

A/O/A – Água em óleo em água

O/A – Óleo/Água

O/A/O – Óleo em água em óleo

ED – Emulsificação-difusão

NPPT – Nanoprecipitação

PCL=poli( $\epsilon$ -caprolactona), 65.000 g/mol

E RS= Eudragit<sup>®</sup> RS100

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MO – Microscopia óptica

PSC – Espectroscopia de correlação de fótons

SPAN – Medida da dispersão granulométrica

$f_2$  - Fator de similaridade

$f_1$  - Fator de diferença

## RESUMO

Micropartículas nanorrevestidas foram preparadas através da secagem por aspersão empregando-se suspensões de nanocápsulas poliméricas como material de revestimento. Uma matriz 2<sup>3</sup> foi empregada, e os fatores analisados foram o método de preparação de nanocápsulas (nanoprecipitação e emulsificação-difusão), o polímero [poli(ε-caprolactona) e Eudragit<sup>®</sup> RS100] e a forma de inclusão da indometacina nas micropartículas (nanocápsulas ou núcleo). Duas formulações adicionais foram preparadas associando a indometacina ao dióxido de silício em etapa única, empregando nanocápsulas obtidas através do método de nanoprecipitação com a poli(ε-caprolactona) e com o Eudragit<sup>®</sup> RS100. As suspensões de nanocápsulas foram caracterizadas através da medida do pH, do tamanho médio de partícula, do potencial zeta e da eficiência de encapsulação. As micropartículas nanorrevestidas foram caracterizadas quanto ao tamanho de partícula, a taxa de associação, ao rendimento, a área superficial e ao volume de poros. A análise morfológica foi realizada através da microscopia eletrônica de varredura e da microscopia óptica. Também foram determinados o tamanho médio de partícula e o potencial zeta dos pós ressuspendidos. Os perfis de dissolução foram avaliados em tampão fosfato pH 6,8 através da eficiência de dissolução, dos fatores de similaridade e de diferença, da modelagem matemática e do modelo da Lei da Potência. O conjunto dos resultados permitiu selecionar as formulações preparadas com Eudragit<sup>®</sup> RS100 como sendo as mais promissoras, porque apresentaram maior controle da liberação do fármaco. Em relação à técnica de preparação das nanocápsulas foi selecionada a nanoprecipitação, pois possibilitou a redução de tensoativos, o que torna o processo de secagem mais eficiente. Além disso, a estratégia de associação do fármaco em uma etapa demonstrou perfis de liberação mais controlados para as micropartículas nanorrevestidas. A modelagem matemática empregando a Lei da Potência permitiu a proposição de um modelo de dissolução, a desaglomeração do sistema nanorrevestido microparticulado.

Palavras-chaves: Indometacina, Micropartículas nanorrevestidas, Liberação *in vitro*

## ABSTRACT

Physico-chemical characterization and evaluation of the *in vitro* release profile from nanocapsule coated-microparticles

Nanocapsule coated-microparticles were prepared using the spray drying method. Nanocapsule polymeric suspensions were used as coating material. A matrix 2<sup>3</sup> was used in order to study the influence of the following parameters: the method of preparation of nanocapsules (nanoprecipitation and emulsification-diffusion), the polymer [poly( $\epsilon$ -caprolactone) and Eudragit<sup>®</sup> RS100] and the way of incorporation of indomethacin in the formulations (into the nanocapsules or blended with silicon dioxide used as core). Two additional formulations were prepared by the association of indomethacin to the silicon dioxide in one step, using nanocapsules prepared by nanoprecipitation using poly( $\epsilon$ -caprolactone) and Eudragit<sup>®</sup> RS100. The nanocapsule suspensions were characterized in terms of particle size, zeta potential and encapsulation efficiency. The dried nanocapsule coated-microparticles were characterized according to the particle size, the yield, encapsulation efficiency, the surface area and the pore volume. The morphologic evaluation was carried out by light microscopy and scanning electron microscopy. The particle medium size and the zeta potential of spray-dried powders after redispersion in water were also determined. *In vitro* release profiles of indomethacin from microparticles were evaluated at pH 6.8 by the dissolution efficiency, the factors of similarity and difference, the mathematical modeling and the model of the Power's Law. According to the set of results, the formulations prepared with Eudragit<sup>®</sup> RS100 are considered the most promising ones, for they demonstrated a higher control over the indomethacin release. Regarding the method of preparation of the nanocapsules, the nanoprecipitation was chosen because it enables a reduction in the concentration of surfactants, making the drying process more efficient. Moreover, the strategy of association of the drug in one step demonstrated a better control of release profiles for nanocapsule coated-microparticles. The mathematical modeling using the Power's Law permitted the proposition of a dissolution model, the desagglomeration of the nanocapsule coated-microparticles system.

Key words: Indomethacin, Nanocapsule coated-microparticles, *In vitro* release





A utilização de formulações que permitam a otimização da velocidade de cedência e do regime de dosagem de fármacos tem sido uma área de intensa pesquisa nas últimas décadas. Neste contexto destacam-se as micropartículas e os sistemas coloidais (lipossomas e nanopartículas) como estratégias estudadas para a administração de fármacos (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

As micropartículas poliméricas têm sido propostas como formas de liberação prolongada, como estratégia para a estabilização de fármacos frente a agentes como luz ou pH e para mascarar características organolépticas de diversas substâncias (O'DONNELL *et al.*, 1997). As micropartículas compreendem as microcápsulas e as microesferas. De acordo com RAVI KUMAR (2000), as microcápsulas podem ser definidas como partículas esféricas com tamanho entre 50 nm e 2 mm contendo uma substância como núcleo. Por sua vez, as microesferas são partículas esféricas matriciais.

As nanopartículas poliméricas (nanocápsulas e nanoesferas) são sistemas carreadores de fármacos que apresentam diâmetros em nanoescala (inferiores a 1  $\mu\text{m}$ ), diferindo-se entre si segundo a composição e a organização estrutural. As nanocápsulas são formadas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido neste núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. Enquanto que, as nanoesferas são sistemas matriciais nos quais o fármaco pode ficar retido ou adsorvido (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

A administração oral de nanopartículas tem sido pesquisada especialmente em relação à diminuição dos efeitos colaterais de certos fármacos, destacando-se os antiinflamatórios não esteróides (diclofenaco e indometacina), os quais causam freqüentemente irritação à mucosa intestinal (GUTERRES *et al.*, 1995a, 1995b; GUTERRES *et al.*, 2001).

Nosso grupo de pesquisa vem realizando trabalhos sobre o desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoparticulados contendo fármacos antiinflamatórios não esteróides. Devido à instabilidade físico-química dos sistemas

coloidais, foi empregada a secagem por aspersão para a obtenção de micropartículas revestidas com nanocápsulas de diclofenaco ou indometacina, empregando o dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem (MÜLLER *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2000). Os produtos obtidos caracterizam-se por apresentar o dióxido de silício, na forma de agregados micrométricos nanorrevestidos com os colóides vesiculares (nanocápsulas) ou matriciais (nanoesferas) (MÜLLER *et al.*, 2000; POHLMANN *et al.*, 2002). Nestes estudos as suspensões coloidais de nanocápsulas ou nanoesferas foram preparadas através do método de nanoprecipitação de polímeros pré-formados, empregando ácido polilático ou poli( $\epsilon$ -caprolactona), matérias-primas amplamente descritas na literatura para esta finalidade (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Os colóides resultantes mostraram-se monodispersos com diâmetro médio de partícula (espectroscopia de correlação de fótons - PCS) entre 200 e 300 nm em suspensão aquosa. Após a secagem através de aspersão (*spray-drying*), os estudos sucessivos demonstraram que as nanocápsulas encontravam-se adsorvidas ao dióxido de silício e apresentavam diâmetros semelhantes (microscopia eletrônica de varredura - MEV) aos medidos na suspensão aquosa original (MÜLLER *et al.*, 2000; MÜLLER *et al.*, 2001; GUTERRES *et al.*, 2000; POHLMANN *et al.*, 2002). Por outro lado, esta operação promoveu alteração do diâmetro das nanoesferas, que após a secagem mostrou-se inferior (70 nm) ao medido antes da secagem, evidenciando alteração da estrutura organizacional destas partículas (POHLMANN *et al.*, 2002).

Estudos de avaliação biológica de tolerância gastrointestinal dos produtos secos (nanocápsulas e nanoesferas) também demonstraram diferenças no comportamento de ambos. Enquanto as nanocápsulas secas promoveram uma proteção significativa da mucosa intestinal de ratos frente aos efeitos ulcerativos do diclofenaco, as nanoesferas não foram capazes de implementar a tolerância digestiva a este fármaco (GUTERRES *et al.*, 2001). Cabe ressaltar que as respectivas suspensões aquosas originais (nanocápsulas e nanoesferas) protegeram a mucosa intestinal de ratos dos efeitos irritantes do diclofenaco e da indometacina (GUTERRES *et al.*, 1995a, 1995b), demonstrando que a alteração organizacional das nanoesferas, causada pela secagem, influenciou negativamente



a capacidade protetora destas nanopartículas matriciais.

Com o objetivo de caracterizar de forma mais consistente estes sistemas aquosos e secos e de melhor compreender sua organização estrutural e o impacto da operação de secagem sobre suas características, alguns trabalhos subseqüentes foram conduzidos (MÜLLER *et al.*, 2001; OBACH, 2002; POHLMANN *et al.*, 2002). Em 2001, MÜLLER e colaboradores determinaram, através de calorimetria diferencial exploratória - DSC, que o polímero poli( $\epsilon$ -caprolactona) quando em formulações de nanocápsulas e nanoesferas apresenta um menor grau de cristalinidade que na matéria-prima pura. No caso das nanocápsulas, o tensoativo de alto EHL, monoestearato de sorbitano, encontra-se dissolvido no óleo, enquanto que nas nanoesferas está disperso na matriz polimérica. Mais recentemente, com base em estudo comparativo realizado através de PCS, POHLMANN e colaboradores (2002) sugeriram que a estrutura das nanoesferas (polímero, monoestearato de sorbitano e polissorbato 80) consistia de uma matriz na qual o tensoativo monoestearato de sorbitano encontrava-se disperso e quando submetidas à secagem, conduzia a estruturas de diâmetro menor, nanorrevestindo o adjuvante de secagem, devido à liberação do tensoativo da matriz polimérica.

Adicionalmente também foram realizadas investigações com o objetivo de avaliar a influência da composição qualitativa e quantitativa das suspensões de nanocápsulas e nanoesferas frente às características dos pós obtidos (MÜLLER 2003, RAFFIN *et al.*, 2003). Assim, através da realização de uma matriz  $2^3$ , foi demonstrada para o caso das nanocápsulas, que após secagem, as formulações contendo menores concentrações de óleo apresentam dois padrões distintos de nanopartículas adsorvidas sobre o dióxido de silício (70 e 200 nm), enquanto que as demais apresentam um padrão único, com diâmetros semelhantes aos das nanocápsulas em suspensão (RAFFIN *et al.*, 2003). Este estudo demonstrou a influência da proporção dos componentes nas formulações sobre as características do nanorrevestimento. Mais recentemente, MÜLLER (2003) demonstrou a aplicabilidade dos pós secos de nanocápsulas, como intermediários para a preparação de formas farmacêuticas derivadas, como cápsulas de gelatina dura, o

que denota a potencialidade destes sistemas no âmbito tecnológico.

Até o presente momento, os trabalhos de secagem de sistemas coloidais por aspersão concentraram-se em suspensões preparadas através do método de nanoprecipitação. Apenas MÜLLER (2003) avaliou preliminarmente a aplicação do método da emulsificação-difusão na secagem por aspersão de nanopartículas. A emulsificação-difusão é uma técnica mais recente para a preparação de suspensões coloidais e se baseia na formação inicial de uma emulsão O/A, a partir de um polímero e um fármaco em um solvente parcialmente miscível em água (fase interna) e de uma dispersão aquosa de um tensoativo (elevado EHL) ou de outro estabilizador (gelatina) (fase externa). Antes da formação da emulsão, ocorre saturação mútua entre a água e o solvente orgânico, para atingir o equilíbrio termodinâmico inicial de ambos os líquidos. Após a formação da emulsão, o solvente orgânico é deslocado para fase externa pela adição de um excesso de água, formando nanocápsulas, posteriormente o solvente pode ser eliminado por destilação (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998). Este método de preparação apresenta vantagens como o uso de menores quantidades de solvente orgânico, possibilidade de controle do tamanho das partículas obtidas, altos rendimentos e reprodutibilidade, possibilidade de controle da espessura da parede polimérica, facilidade de transposição de escala, alta eficiência de encapsulação para fármacos lipofílicos (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; LEGRAND *et al.*, 1999). Por outro lado, apresenta como desvantagens os altos volumes de água a serem eliminados da suspensão e a perda de fármacos solúveis em água para a fase externa, durante a emulsificação (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998).

Nos trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa, os produtos secos foram desenvolvidos baseados no conceito da secagem das suspensões coloidais de nanocápsulas contendo o fármaco. Neste sentido, os estudos demonstraram que as nanovesículas contendo a substância ativa depositaram-se sobre o dióxido de silício organizado em micropartículas (MÜLLER *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2000; MÜLLER *et al.*, 2001; POHLMANN *et al.*, 2002). A limitação desta estratégia consiste na baixa capacidade de associação de fármacos às nanocápsulas, conduzindo a obtenção de pós contendo baixa dosagem da substância. Assim,

esta estratégia deve ser reservada aos fármacos de elevada potência, normalmente administrados em baixas dosagens. Desta forma, uma segunda estratégia foi concebida, associando o fármaco ao adjuvante de secagem (núcleo orgânico-inorgânico) e empregando a suspensão coloidal como material de revestimento, visando o controle da liberação do fármaco (BECK *et al.*, 2004). Até o momento, foram estudadas somente micropartículas contendo diclofenaco ou dexametasona, nanorrevestidas com suspensões de nanocápsulas e nanoesferas preparadas através do método de nanoprecipitação, utilizando Eudragit<sup>®</sup> S100 como polímero (BECK, 2005).

O presente trabalho, com o objetivo de melhor compreender este novo sistema, pretende avaliar a estratégia de nanorrevestimento de micropartículas, empregando a indometacina como fármaco modelo. Para isto será realizado um estudo comparativo de duas séries de formulações, com o fármaco contido no suporte de secagem ou associado às nanocápsulas, estratégia até agora estudada. Também será avaliada a obtenção de micropartículas nanorrevestidas em etapa única. Para o estudo comparativo serão avaliadas formulações obtidas por dois métodos de preparação de suspensões de nanocápsulas, nanoprecipitação, comumente utilizada, e emulsificação-difusão, até o momento pouco explorado pelo nosso grupo. Além disso, será avaliado o emprego de dois diferentes polímeros na preparação das nanocápsulas, um biodegradável poli( $\epsilon$ -caprolactona) e outro metacrilato (Eudragit<sup>®</sup> RS 100).



## 2.1 OBJETIVO GERAL

Preparação e caracterização físico-química de micropartículas nanorrevestidas contendo indometacina. As diferentes formulações serão preparadas de acordo com uma matriz 2<sup>3</sup>, variando-se o método de preparação das nanocápsulas, o polímero e a forma de inclusão do fármaco aos sistemas. Adicionalmente, também serão avaliadas formulações com o fármaco associado ao suporte de secagem preparadas em etapa única, com dois diferentes polímeros.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparação de suspensões de nanocápsulas de poli(ε-caprolactona) e de Eudragit<sup>®</sup> RS 100 através do método de nanoprecipitação e do método de emulsificação-difusão, contendo ou não indometacina;
- Caracterização físico-química das suspensões de nanocápsulas;
- Obtenção de micropartículas nanorrevestidas através da secagem por aspersão utilizando duas estratégias: o fármaco associado às nanocápsulas ou ao núcleo (fármaco/dióxido de silício).
- Obtenção de micropartículas nanorrevestidas através da secagem por aspersão associando o fármaco ao suporte de secagem em etapa única;
- Caracterização das micropartículas nanorrevestidas quanto às suas propriedades físico-químicas e avaliação dos perfis de liberação *in vitro*.



### 3.1 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As pesquisas com sistemas nanoparticulados, carreadores submicrométricos de fármacos, têm sido focalizadas principalmente em otimizar a velocidade de cedência e o regime de dosagem de fármacos. As nanopartículas quando comparadas com outros sistemas coloidais apresentam maior estabilidade em fluidos biológicos e ao armazenamento devido às matérias-primas empregadas na sua produção. Além disso, seus métodos de preparação possibilitam a produção em escala industrial (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; SOPPIMATH *et al.*, 2001).

As nanopartículas podem ser definidas como partículas sólidas coloidais com tamanho inferior a 1  $\mu\text{m}$  que carregam a substância ativa. As nanopartículas podem ser obtidas por diferentes métodos e geralmente apresentam tamanho entre 100 e 500 nm (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998). Conforme a composição e a organização estrutural as nanopartículas podem ser classificadas em nanoesferas e nanocápsulas. As nanoesferas não apresentam óleo na sua composição e são constituídas por uma matriz polimérica estando a substância ativa retida ou adsorvida na matriz. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo a substância ativa estar dissolvida neste núcleo e/ou adsorvida à parede polimérica (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

#### 3.1.1 Métodos de obtenção

As nanopartículas podem ser preparadas por diversos métodos, os quais podem ser classificados, mais amplamente, em dispersão de polímeros pré-formados e polimerização interfacial de monômeros dispersos (SOPPIMATH *et al.*, 2001).

A técnica de preparação de nanopartículas através da polimerização interfacial de monômeros dispersos apresenta como desvantagens o emprego de polímeros não biodegradáveis, os quais geram subprodutos não totalmente

biocompatíveis, além de resíduos tóxicos provenientes dos monômeros, oligômeros, tensoativos residuais ou de catalisadores empregados na reação. Durante a reação de polimerização *in situ* podem ocorrer reações com o fármaco e haver a degradação de outros componentes das nanopartículas, quando a radiação é utilizada como indutora da polimerização, por exemplo (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998).

Incluídos na classificação de dispersão de polímeros pré-formados encontram-se quatro métodos; emulsificação evaporação, nanoprecipitação, *salting-out* e emulsificação-difusão. Comumente, nessas técnicas, durante a preparação uma solução orgânica constitui a fase interna das nanopartículas e a fase aquosa externa apresenta agentes estabilizadores da dispersão de nanopartículas. Outra similaridade entre eles é a baixa taxa de encapsulação de substâncias hidrossolúveis, sendo estes sistemas preferencialmente empregados para fármacos lipofílicos (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; SOPPIMATH *et al.*, 2001).

### 3.1.1.1 Nanoprecipitação

#### 3.1.1.1.1 Definição

A técnica da nanoprecipitação foi descrita e patenteada por FESSI e colaboradores em 1989. O processo consiste no emprego de um solvente semipolar miscível em água, como a acetona e o etanol. Neste solvente o polímero, a substância ativa e um estabilizador (tensoativo de baixo equilíbrio hidrófilo-lipófilo - EHL) são dissolvidos para serem adicionados, sob agitação, a uma fase aquosa contendo estabilizador hidrofílico (tensoativo de alto EHL). As nanopartículas são formadas instantaneamente pela rápida difusão do solvente que é posteriormente eliminado da suspensão através da evaporação sob pressão reduzida (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998).



#### 3.1.1.1.2 Mecanismo de formação das nanocápsulas

O mecanismo de formação das nanopartículas pode ser explicado pela turbulência interfacial durante a difusão, decorrente da miscibilidade entre os solventes empregados. Gotículas de solvente de tamanho nanométrico encontram-se na interface e são estabilizadas pelo agente de estabilização, quando a difusão do solvente é completada ocorre a agregação polimérica (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998). Para a preparação das nanocápsulas, na fase orgânica são adicionados o óleo e o polímero (insolúvel no óleo); a fase orgânica é adicionada na fase aquosa e o plímero precipita na interface óleo/água. O diâmetro das nanopartículas formadas situa-se entre 100 e 500 nm (FESSI *et al.*, 1989).

#### 3.1.1.1.3 Vantagens e desvantagens

O método de nanoprecipitação é simples de ser executado, reprodutível e aplicável a muitos polímeros. As limitações incluem a necessidade do emprego de solventes miscíveis em água (em que a razão de difusão é suficiente para a produção espontânea da emulsão), a solubilidade das substâncias empregadas (devem ser lipossolúveis) e a quantidade significativa de solvente orgânico utilizado (LEGRAND *et al.*, 1999).

#### 3.1.1.2 Emulsificação-difusão

##### 3.1.1.2.1 Definição

A técnica de emulsificação-difusão faz uso de solventes parcialmente miscíveis em água, o qual devem ser previamente saturados em água para garantir o equilíbrio termodinâmico entre ambos os líquidos. Álcool benzílico e acetato de etila são solventes empregados nesta técnica. Os constituintes da fase interna, polímero, substância ativa, estabilizador são dissolvidos no solvente saturado em água, esta fase é emulsificada sob agitação vigorosa na fase externa constituída de

água saturada no solvente e estabilizador. Posteriormente, a adição de água em excesso causa a difusão do solvente para a fase externa da emulsão, resultando na formação das nanopartículas. O solvente pode ser eliminado a pressão reduzida, por destilação ou filtração tangencial (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; HYE *et al.*, 2001). As nanocápsulas formadas pelo método de emulsificação-difusão têm tamanho superior às formadas por nanoprecipitação, geralmente entre 250 e 600 nm (LEROUX *et al.*, 1995).

#### 3.1.1.2.2 Mecanismo de formação das nanocápsulas

O mecanismo de formação das nanocápsulas pelo método de emulsificação-difusão pode ser entendido pela formação de um fenômeno interfacial durante a difusão do solvente, gerando uma região de supersaturação e agregação polimérica na interface ocasionada pelo deslocamento do solvente em que o polímero não é solúvel (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; HYE *et al.*, 2001).

#### 3.1.1.2.3 Vantagens e desvantagens

A técnica de emulsificação-difusão apresenta como vantagens o emprego de solventes orgânicos menos tóxicos e em menores quantidades, o controle do tamanho e da espessura da parede das nanopartículas, a reprodutibilidade, além da maior facilidade para a produção industrial. Como desvantagens, o alto volume de água para evaporar e a perda de substâncias ativas hidrossolúveis para fase externa aquosa saturada, durante a etapa da emulsificação (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998; LEGRAND *et al.*, 1999).

### 3.1.2 Polímeros usuais

Materiais poliméricos têm sido amplamente empregados como agentes de controle de liberação de fármacos, e estes apresentam diferentes abordagens na concepção da matriz polimérica. A primeira categoria de matrizes poliméricas são as matrizes insolúveis, também classificadas como matrizes formadas por sistemas

plásticos. A segunda categoria é representada pelos materiais hidrofóbicos, insolúveis em água que apresentam capacidade de erosão. A terceira categoria inclui polímeros que formam matrizes hidrofílicas. Matrizes plásticas têm sido amplamente usadas em sistemas de liberação controlada de fármacos, principalmente devido a sua natureza química inerte e a capacidade de associar substâncias ativas. Entretanto, a penetração de líquidos é um fator limitante do emprego destes materiais. As matrizes hidrofóbicas, por sua vez, controlam a liberação de substâncias através da difusão pelos poros e pela erosão do material. Matrizes hidrofílicas, quando expostas às soluções aquosas, não sofrem degradação, mas incorporam a água e formam uma barreira viscosa superficial que controla a liberação de substâncias e a penetração de líquidos para o interior do sistema matricial (REZA *et al.*, 2003).

Polímeros biodegradáveis podem ter origem natural ou sintética, geralmente os sintéticos apresentam vantagens por permitirem modificações de suas propriedades durante o processo de síntese, diferentemente dos naturais. O critério de seleção de um polímero biodegradável considera suas propriedades mecânicas e seu índice de degradação, propriedades dependentes das características físicas e químicas do material (LU e CHEN, 2004).

### 3.1.2.1 Propriedades

As propriedades dos polímeros estão diretamente relacionadas com a natureza química dos monômeros, o peso molecular e a estrutura macromolecular. Os polímeros podem existir no estado amorfo ou em estado cristalino. No estado amorfo ocorre uma disposição desordenada das moléculas e no estado cristalino há uma ordenação tridimensional, isto é, existe cristalinidade. Em polímeros, a cristalinidade dependerá da estrutura química, do peso molecular e do tratamento físico, incluindo temperatura, tempo e forças a que foi submetido o material (MANO e MENDEZ, 1998).

O estado físico do polímero e do fármaco, por exemplo, cristalino, amorfo,

vítreo, elástico ou dispersão molecular são de maior importância para descrever o mecanismo de liberação de fármacos. Por exemplo, o coeficiente difusional de um fármaco em polímero amorfo é superior quando o estado é cristalino (HOMBREIRO-PÉREZ *et al.*, 2003).

O emprego de materiais poliméricos em sistemas de liberação controlada de fármacos inclui parâmetros relacionados com as características do polímero constituinte da preparação de estruturas poliméricas, isto é, o peso molecular, a distribuição de massa e a cristalinidade. Já os parâmetros fármaco-dependentes incluem a solubilidade da substância em fluidos biológicos, o peso molecular e as possíveis interações fármaco-polímero (JEONG *et al.*, 2003).

O emprego de polímeros biodegradáveis para o controle de liberação de fármacos baseia-se em propriedades de biodegradabilidade e biocompatibilidade. Homo- e co-polímeros derivados de poli(ácido lático), poli(ácido glicólico), poli(ácido lático-co-glicólico) e poli( $\epsilon$ -caprolactona) são amplamente empregados na preparação de carreadores de liberação controlada de diversos fármacos. Estes polímeros, poliésteres alifáticos, são degradados principalmente pela hidrólise da ligação éster. Muitos trabalhos têm demonstrado a importância do emprego terapêutico destes materiais poliméricos no desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos micro e nanoparticulados (LAMPRECHT *et al.*, 2000a; 2000b; SINHA *et al.*, 2004; LU e CHEN, 2004). Poli(ácido lático), poli(ácido glicólico) e poli( $\epsilon$ -caprolactona) podem ser empregados em formulações para uso intravenoso (RAVI KUMAR, 2000).

#### 3.1.2.2 Poli( $\epsilon$ -caprolactona)

A poli( $\epsilon$ -caprolactona) é amplamente empregado em suturas devido a sua biocompatibilidade, sendo um dos mais importantes polímeros biodegradáveis na medicina (LU e CHEN, 2004). Poliésteres como a poli( $\epsilon$ -caprolactona) apresentam propriedades bioadesivas. A bioadesividade confere um acréscimo na deposição das partículas em regiões do trato gastrointestinal, aumentando a absorção sistêmica

de fármacos (LAMPRECHT *et al.*, 2000a).

### 3.1.2.2.1 Características físico-químicas

A poli( $\epsilon$ -caprolactona) é um poliéster alifático (Figura 1), semi-cristalino, com temperatura de transição vítrea de  $-60^{\circ}\text{C}$  e ponto de fusão entre  $59$  e  $64^{\circ}\text{C}$ , dependendo da sua natureza cristalina. O peso molecular pode variar entre  $10.000$  a  $80.000$  g/mol. A poli( $\epsilon$ -caprolactona) é solúvel em clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, benzeno, tolueno, ciclohexano e 2-nitropropano à temperatura ambiente. Apresenta baixa solubilidade em acetona, 2-butanona, acetato de etila, dimetilformamida e acetonitrila, e é insolúvel em álcool, éter de petróleo e éter dietílico. A poli( $\epsilon$ -caprolactona) quando empregada em sistemas de liberação de fármacos apresenta como propriedade a alta permeabilidade a substâncias, principalmente, de baixo peso molecular (KIBE, 2001; GIBAUD *et al.*, 2004; SINHA *et al.*, 2004).

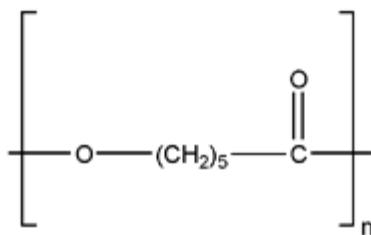


Figura 1. Fórmula estrutural da poli( $\epsilon$ -caprolactona).

A degradação da poli( $\epsilon$ -caprolactona) em ambientes aquosos é favorecida pelo meio alcalino e pelas altas temperaturas. A degradação ocorre por hidrólise química e/ou enzimática, principalmente da ligação éster. Durante a degradação a diminuição da massa molar é acompanhada por uma ampla distribuição da massa molar e pelo desenvolvimento de picos de baixa massa molar (ELDSÄTER *et al.*, 2000).

### 3.1.2.2.2 Poli( $\epsilon$ -caprolactona) em formas de liberação controlada

LAMPRECHT e colaboradores (2000a) caracterizaram micropartículas de três diferentes poliésteres biodegradáveis, poli(ácido láctico), poli(ácido láctico-co-glicólico) e poli( $\epsilon$ -caprolactona). Sulfassalazina e betametasona microencapsuladas foram preparadas por dois métodos de emulsificação/evaporação do solvente (A/O/A ou Sólido/O/A). Os resultados demonstraram que o polímero empregado não influenciou o perfil de liberação das micropartículas, enquanto o método de obtenção (Sólido/O/A) controlou a liberação, diferentemente do método A/O/A.

No mesmo ano, LAMPRECHT e colaboradores (2000b) analisaram a influência dos parâmetros tempo de homogeneização e concentração de substância ativa, no tamanho de partícula e na polidispersão, para obtenção de nanopartículas contendo albumina sérica bovina através da técnica da emulsão dupla (A/O/A), empregando poli(ácido láctico-co-glicólico) e poli( $\epsilon$ -caprolactona) como polímeros. A eficiência da encapsulação da substância ativa hidrofílica e o perfil de liberação foram comparáveis para ambos os polímeros.

JEONG e colaboradores (2003) avaliaram o efeito da microestrutura cristalina de microesferas de papaverina e poli( $\epsilon$ -caprolactona), preparadas através do método de emulsão dupla (A/O/A), na liberação da substância. A liberação da papaverina foi governada pela microestrutura das micropartículas de poli( $\epsilon$ -caprolactona), sugerindo que a difusão muda de acordo com as condições do processo, como a concentração de polímero, suas características térmicas e seu peso molecular. Quanto maior a concentração de poli( $\epsilon$ -caprolactona) empregada, melhor o controle da liberação. O tamanho das micropartículas determinou a liberação, assim como a massa molar da poli( $\epsilon$ -caprolactona) empregada, quanto maior, mais rapidamente ocorreu a liberação da papaverina.

Recentemente, GIBAUD e colaboradores (2004) estudaram a influência dos polímeros poli( $\epsilon$ -caprolactona), Eudragit<sup>®</sup> RS, Eudragit<sup>®</sup> L e misturas (blendas) em micropartículas de acetato de fluodrocortisona obtidas por dois métodos de evaporação de solvente, O/A e Suspensão/O/A, avaliando os perfis de liberação (tampão fosfato 0,1M, pH 7,4, 37°C) em condições *sink*. A liberação do fármaco a

partir de micropartículas de Eudragit<sup>®</sup> RS, obtidas pelo mesmo método, foi mais lenta quando comparada com a poli( $\epsilon$ -caprolactona).

### 3.1.2.3 Eudragit<sup>®</sup> RS 100

Os polímeros polimetacrilatos também têm sido amplamente utilizados na área farmacêutica e empregados na obtenção de sistemas de liberação controlada de diversos fármacos. As micropartículas não degradáveis obtidas de polímeros acrílicos apresentam um importante fenômeno de transporte de massa que ocorre durante a liberação do fármaco. Primeiramente, deve haver um gradiente de concentração e o fármaco deve estar em solução. A difusão do fármaco através da matriz polimérica e/ou através dos poros preenchidos com água ocorre seqüencialmente e/ou simultaneamente com a difusão através da interface líquida e da superfície da partícula (HOMBREIRO-PÉREZ *et al.*, 2003).

#### 3.1.2.3.1 Características físico-químicas

Eudragit<sup>®</sup> RS100 apresenta o nome químico de poli(acrilato etila-co-metacrilato de metila-co-metacrilato de trimetilamônio clorídrico). Copolímeros metacrilatos de amônio são insolúveis em água. O Eudragit<sup>®</sup> RS é um copolímero acrílico e metacrílico (Figura 2) com baixo conteúdo de grupamentos amônio quaternário (5 %). Os grupamentos amônio quaternário estão presentes na forma de sal e conferem certa permeabilidade a água (CHEN *et al.*, 2000; KIBE, 2001).

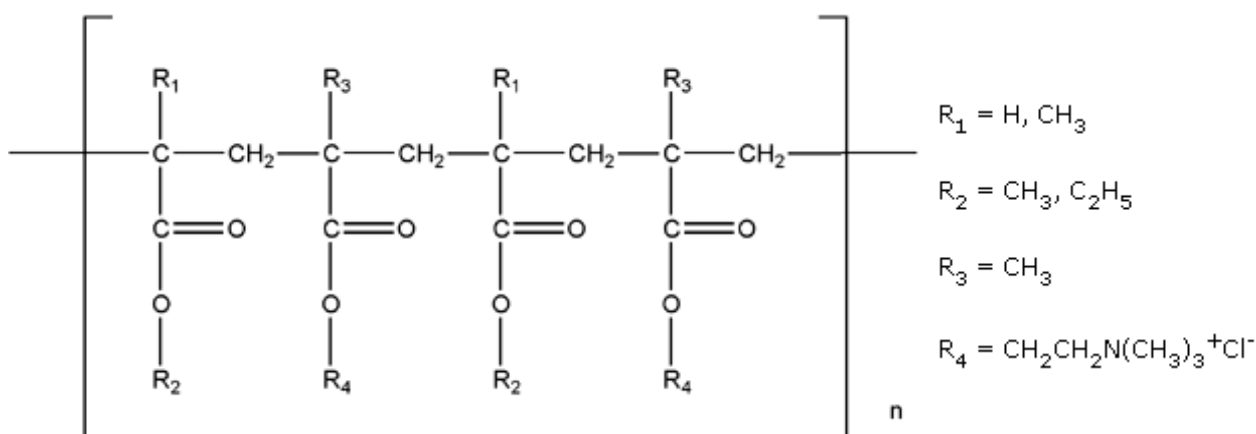


Figura 2. Fórmula estrutural dos polimetacrilatos e substituições do Eudragit® RS.

Devido à presença do grupamento amônio quartenário, o Eudragit® RS é permeável à água independentemente do pH (PEARNCOB *et al.*, 2003; HAZNEDAR e DORTUNÇ, 2004).

### 3.1.2.3.2 Eudragit® RS 100 em formas de liberação controlada

YÜKSEL e colaboradores (1996) desenvolveram microesferas pelo método de evaporação do solvente contendo nicardipina (diidropiridina antagonista do cálcio), e realizaram estudos de liberação em célula de fluxo com pH 1,2 e 7,5. Foi avaliada a interação entre a nicardipina e polímeros metacrílicos (Eudragit® RS e L), sendo o mecanismo da interação estudado através de calorimetria diferencial exploratória e difratometria de raios X. As análises demonstraram que as interações ocorreram em nível molecular, possibilitando a formação de uma solução sólida do fármaco com o polímero.

CHEN e colaboradores (2000) desenvolveram uma dispersão sólida de misoprostol (análogo sintético da prostaglandina E1) e copolímeros metacrilatos de amônio (Eudragit® RS e RL) com objetivo de obter uma liberação sustentada. O misoprostol apresenta alta instabilidade físico-química e a associação com os polímeros Eudragit® promoveu uma proteção do misoprostol da degradação pela água. Este benefício foi devido à baixa mobilidade da água e do misoprostol na estrutura vítrea da matriz polimérica e permitiu uma lenta liberação através da difusão do fármaco pela matriz polimérica.

HAZNEDAR e DORTUNÇ (2004) avaliaram a influência de fatores relacionados com a formulação em relação ao tamanho das partículas, a eficiência da encapsulação e a liberação *in vitro* de microesferas de Eudragit® RS e RL contendo acetazolamida (inibidor da anidrase carbônica) preparadas pelo método de evaporação do solvente. Formas de liberação controlada da acetazolamida têm sido desenvolvidas com o objetivo de minimizar seus efeitos adversos. As formulações



foram preparadas variando-se o polímero, a razão polímero:fármaco e a velocidade de agitação. Os polímeros empregados apresentaram perfis de dissolução diferentes, sendo o Eudragit<sup>®</sup> RL mais permeável que o Eudragit<sup>®</sup> RS, devido ao maior número de grupamentos amônio quaternário do RL. Foram verificados diferentes perfis de liberação, quando o Eudragit<sup>®</sup> RS foi empregado. A liberação foi mais lenta e incompleta em pH ácidos; o aumento da proporção de polímero:fármaco diminuiu a liberação, e o aumento da velocidade de agitação do sistema durante a preparação determinou a formação de estruturas menores e com maior velocidade de liberação.

### **3.2 SECAGEM POR ASPERSÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS**

A instabilidade físico-química de suspensões aquosas de nanopartículas poliméricas limita suas aplicações em produtos farmacêuticos. A sedimentação ou agregação das partículas, a possibilidade de contaminação microbiológica, além da degradação química dos constituintes da formulação, constituem limitações importantes na comercialização das suspensões coloidais (GUTERRES *et al.*, 1995b; SCHAFFAZICK *et al.*, 2002).

Em virtude desta limitação, estratégias de secagem têm sido propostas para aumentar a estabilidade das suspensões e viabilizar o seu uso (MÜLLER *et al.*, 2000). A liofilização constitui em um processo no qual a suspensão congelada é reduzida e a água é eliminada por sublimação. Esse processo apresenta como principais desvantagens o custo elevado, a dificuldade de transposição industrial, a onerosa seleção de crioprotetores e a possibilidade de ruptura das nanovesículas a baixas temperaturas (CHASTEIGNER *et al.*, 1996; SAEZ *et al.*, 2000; AULTON, 2005). Por sua vez, a secagem por aspersion é uma operação de secagem de sistemas dispersos fluidos na qual ocorre a divisão em pequenas gotículas da suspensão (aspersion), no interior de uma torre de secagem onde há ar quente em co e/ou contra corrente e produz-se pós secos particulados. Como vantagens destacam-se o emprego de substâncias termosensíveis, a facilidade de produção em escala industrial, e a obtenção de produtos secos com baixa higroscopicidade

(MASTERS, 1985; AULTON, 2005).

Nesse sentido, a secagem por aspersão foi proposta por nosso grupo de pesquisa para a obtenção de micropartículas secas revestidas com nanopartículas. Especialmente, o desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoparticulados contendo fármacos antiinflamatórios não esteróides tem sido foco de nossas pesquisas. Nanopartículas, nanocápsulas (colóides vesiculares) ou nanoesferas (matriciais), de diclofenaco ou indometacina foram avaliadas empregando o dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem (MÜLLER *et al.*, 2000; GUTERRES *et al.*, 2000). Os produtos obtidos caracterizam-se por apresentar o dióxido de silício, na forma de agregados micrométricos nanorrevestidos com as nanopartículas (nanocápsulas ou nanoesferas) (MÜLLER *et al.*, 2000; POHLMANN *et al.*, 2002).

### *3.2.1 Secagem de nanocápsulas contendo fármaco*

A secagem por aspersão foi proposta, pela primeira vez, para secagem de nanopartículas pelo nosso grupo de pesquisa. MÜLLER e colaboradores em 2000 estudaram nanocápsulas secas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) e Eudragit<sup>®</sup> S90 contendo diclofenaco. A viabilidade da técnica foi demonstrada para a secagem das nanocápsulas associando à suspensão coloidal um suporte de secagem, especificamente o dióxido de silício coloidal a 3 % (p/v). A análise através de MEV do Aerosil<sup>®</sup> 200 evidenciou uma superfície rugosa e a presença de cavidades, já a análise dos produtos secos de nanocápsulas demonstrou a presença das nanovesículas, com uma superfície diferente do adjuvante de secagem. As nanocápsulas revestiram o suporte inorgânico, permanecendo intactas e adsorvidas, e apresentaram diâmetro comparável a suspensão (em torno de 200 nm), formando agregados micrométricos nanorrevestidos.

GUTERRES e colaboradores (2000) e WEISS (2001) avaliaram a influência da fase oleosa de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) e poli(ácido lático) contendo indometacina para a obtenção de nanopartículas secas. As fases oleosas

empregadas foram o Miglyol<sup>®</sup> 810 e o benzoato de benzila. Quando empregado Miglyol<sup>®</sup> 810 visualizou-se micropartículas nanorrevestidas e com o benzoato de benzila o polímero constituinte das nanopartículas foi dissolvido pela fase oleosa.

GUTERRES e colaboradores (2001) conduziram estudos de avaliação biológica de tolerância gastrointestinal dos produtos secos de nanocápsulas e nanoesferas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo diclofenaco. As nanocápsulas secas promoveram uma proteção significativa da mucosa intestinal de ratos frente aos efeitos ulcerativos do diclofenaco e as nanoesferas não foram capazes de implementar a tolerância digestiva deste fármaco. Este estudo demonstrou que a alteração organizacional das nanoesferas, causada pela secagem, e confirmada por MEV, influenciou negativamente a capacidade protetora das nanopartículas matriciais. Em estudo anterior, as respectivas suspensões de nanocápsulas e nanoesferas protegeram a mucosa intestinal de ratos dos efeitos irritantes do diclofenaco e da indometacina (GUTERRES *et al.*, 1995).

Em 2001, MÜLLER e colaboradores caracterizaram produtos secos de nanocápsulas e nanoesferas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo diclofenaco através de análise térmica (DSC) e MEV. Observaram que a poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PM 80.000 g/mol) em formulações de nanocápsulas e nanoesferas apresenta um menor grau de cristalinidade que na matéria-prima pura. Além disso, nas nanocápsulas, o tensoativo de alto EHL, monoestearato de sorbitano, encontra-se dissolvido no óleo, enquanto que nas nanoesferas está disperso na matriz polimérica. Esta constatação possibilitou concluir que o polímero e o monoestearato de sorbitano constituem um sistema bifásico, o tensoativo estaria disperso na matriz polimérica.

Com a finalidade de melhor compreender a organização estrutural e o impacto da operação de secagem sobre as características das nanopartículas, POHLMANN e colaboradores (2002), com base em estudo comparativo realizado através de espectroscopia de correlação de fótons (PCS), demonstraram que os colóides resultantes mostraram-se monodispersos e com diâmetro médio de partícula entre 200 a 300 nm em suspensão aquosa. Após a secagem por aspersão

o diâmetro das nanoesferas mostrou-se inferior (70 nm) ao medido na suspensão original, evidenciando a alteração da estrutura organizacional destas partículas com a secagem. Foi sugerido que a estrutura das nanoesferas (polímero, monoestearato de sorbitano e polissorbato 80) consistia de uma matriz na qual o tensoativo monoestearato de sorbitano encontrava-se disperso. Por sua vez, a redução do tamanho das estruturas matriciais foi explicada pela liberação do tensoativo da matriz polimérica quando estas foram submetidas à secagem por aspersão.

A avaliação dos perfis de liberação *in vitro* e da toxicidade gastrointestinal *in vivo* de pós contendo nanocápsulas, nanoesferas e nanodispersões de indometacina foi realizada por OBACH em 2002. A dissolução de indometacina a partir de micropartículas nanorrevestidas em célula de fluxo foi analisada em quatro meios: meio gástrico simulado sem enzimas; água destilada; meio intestinal simulado e tampão fosfato pH 7,4.

Em meio gástrico simulado (pH 1,2) houve uma liberação bastante lenta e baixa, sendo que após 6 horas o percentual de fármaco liberado a partir dos pós não chegou a 20%. A dissolução das micropartículas em água destilada (pH 5,5) também foi avaliada durante 6 horas e foi demonstrado um perfil de liberação do fármaco lento a partir das nanopartículas secas, atingindo cerca de 90% ao final do experimento. O pH do meio de dissolução determinou a velocidade do processo, pois tanto a forma dissociada quanto a não dissociada do fármaco estavam presentes. A dissolução em meio intestinal simulado (pH 6,8) dos pós foi avaliada durante 2 horas, e, considerando que, neste valor de pH o fármaco encontra-se na forma dissociada, a dissolução foi facilitada. Os perfis das formulações de nanocápsulas, nanoesferas e nanodispersão foram distintos e explicados pelas diferentes formas de associação da indometacina com o polímero, o óleo, a sílica e os tensoativos. O perfil de dissolução em tampão fosfato pH 7,4 durante 2 horas foi similar ao observado para o meio intestinal simulado, mas diferente para os produtos contendo nanocápsulas comparados àqueles contendo nanoesferas e nanoemulsão.

Os produtos secos por aspersão contendo nanocápsulas, nanoesferas e

nanodispersão foram avaliados quanto à tolerância gastrointestinal à indometacina, em ratos, após administração oral dos pós ressuspensos em água destilada. Para todas as formulações, baixos índices lesionais foram observados no estômago e valores crescentes foram observados no duodeno, jejuno e íleo, respectivamente, para as nanoesferas e nanodispersão. Para os pós de nanocápsulas os índices lesionais foram estatisticamente inferiores aos demais, demonstrando que os mesmos induzem a uma efetiva proteção ao trato gastrintestinal contra a ação ulcerogênica da indometacina. A ausência de proteção da formulação contendo nanoesferas pode estar relacionada com a desestruturação do sistema após a secagem por aspersão, o que resultou em um menor tempo de meia vida de liberação e os efeitos *in vivo*. Por sua vez, para o produto contendo nanoemulsão a ausência de proteção às lesões foi justificada pela importância do polímero no controle da liberação do fármaco (OBACH, 2002).

Com o propósito de avaliar a influência da composição qualitativa e quantitativa das micropartículas de nanocápsulas e nanoesferas de indometacina RAFFIN e colaboradores (2003) elaboraram uma matriz 2<sup>3</sup>. As nanocápsulas contendo menores concentrações de óleo e após serem submetidas à secagem, apresentaram dois padrões distintos de nanopartículas adsorvidas sobre o dióxido de silício (70 e 200 nm). As formulações contendo quantidades usuais de tensoativos apresentam um padrão único, com diâmetros semelhantes aos das nanocápsulas em suspensão. Este estudo demonstrou a influência da proporção dos componentes das formulações sobre as características do nanorrevestimento obtido.

MÜLLER (2003) também avaliou a composição quantitativa das formulações de nanopartículas e o método de obtenção desta estruturas: nanoprecipitação ou emulsificação-difusão. A análise das variáveis considerou o rendimento dos pós obtidos e a viabilidade para transposição em escala industrial. Este trabalho demonstrou a aplicabilidade dos pós de nanocápsulas, como intermediários para a preparação de formas farmacêuticas derivadas como cápsulas de gelatina dura, o que demonstra a potencialidade destes sistemas no âmbito tecnológico.

### 3.2.1 Nanorrevestimento de micropartículas inorgânicas contendo fármaco

A estratégia de preparação de micropartículas através da secagem por aspersão de suspensões de nanocápsulas contendo fármaco apresenta como limitação a baixa capacidade de associação de fármacos às nanovesículas. Desta forma, esta estratégia deve ser reservada aos fármacos de elevada potência, normalmente administrados em baixas dosagens, pois as nanopartículas obtidas apresentam baixa capacidade de carga.

Com o objetivo de aumentar a capacidade, foi proposta a associação do fármaco ao adjuvante de secagem e a utilização das nanopartículas como material de revestimento (Figura 3). O estudo destes sistemas coloidais poliméricos na preparação de micropartículas nanorevestidas foi recentemente realizado por BECK (2005). BECK e colaboradores (2004) avaliaram micropartículas nanorevestidas de nanocápsulas ou nanoesferas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) ou Eudragit<sup>®</sup> S100 contendo diclofenaco obtidas pelo método da nanoprecipitação. Evidenciou-se o nanorrevestimento através de MEV e, após estudo de liberação *in vitro*, as propriedades de gastrorresistência das micropartículas obtidas com o polímero Eudragit<sup>®</sup> S100 foram demonstradas.

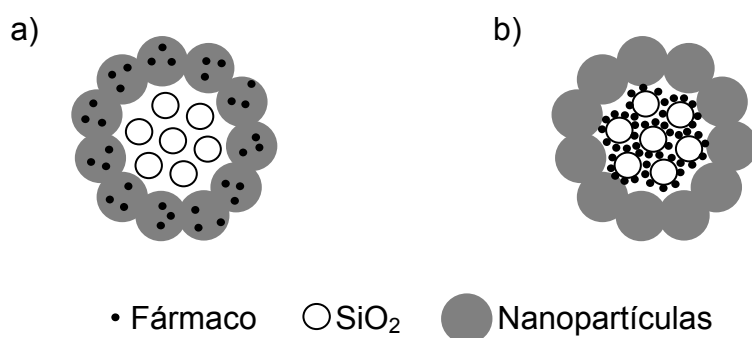


Figura 3. Representação esquemática das micropartículas nanorevestidas, fármaco associado às nanopartículas (a) ou ao adjuvante de secagem (b).

Esse sistema busca alternativas na obtenção de sistemas multiparticulados, com maior dose de fármaco, menor quantidade de tensoativos na formulação, menor variação no perfil de liberação *in vitro* e o emprego de polímeros insolúveis em

solventes aquosos, evitando a utilização de solventes tóxicos ou explosivos no processo de revestimento (BECK, 2005). Neste trabalho, foi demonstrada a possibilidade de aumentar em até cinco vezes o conteúdo de diclofenaco nas micropartículas, através da estratégia de incorporação do fármaco ao núcleo e posterior nanorrevestimento. Também foram avaliados, a morfologia, o método de preparação do núcleo, o rendimento das micropartículas após a secagem por aspersão e a taxa de associação do fármaco ao sistema nanorrevestido.

BECK e colaboradores (2004), através dos experimentos de liberação do diclofenaco a partir das micropartículas e do núcleo orgânico-inorgânico avaliaram o controle da liberação em três diferentes meios. Dessa maneira, o núcleo orgânico-inorgânico contendo diclofenaco, em pH 1,2 apresentou taxa de liberação de  $12,26 \pm 3,88$  % após 5 minutos e este valor permaneceu constante durante os 60 minutos do experimento. Em pH 5,0 o equilíbrio ácido-base do diclofenaco foi alcançado após 15 minutos e a concentração de fármaco no meio foi de  $35,66 \pm 5,16$  %, mantendo-se durante os 60 minutos restantes. Em pH 7,4, 15 minutos de experimento foram suficientes para se atingir  $94,04 \pm 4,67$  % de diclofenaco no meio e 30 minutos para  $98,99 \pm 4,85$  %. Para as micropartículas nanorrevestidas, em pH 1,2 para a formulação contendo nanocápsulas encontraram-se valores de  $16,28 \pm 4,05$  % e de  $5,27 \pm 0,81$  % para formulação obtida a partir de nanoesferas. Em pH 5,0 os valores foram  $64,19 \pm 0,62$  % após 15 minutos e  $80,60 \pm 0,46$  % após 60 minutos, no caso das nanocápsulas e para nanoesferas os valores foram  $31,03 \pm 2,47$  % e  $39,71 \pm 0,87$  %, respectivamente. Em pH 7,4 alcançaram-se valores próximos a 100 % em 5 minutos para a formulação a partir das nanocápsulas enquanto, para a formulação contendo nanoesferas em 5 minutos houve liberação de  $61,14 \pm 10,57$  % e em 60 minutos de  $95,97 \pm 6,14$  %.

Baseado nos dados de liberação do diclofenaco, a taxa de liberação em pH 5,0 foi superior para as micropartículas nanorrevestidas quando comparadas com o núcleo orgânico-inorgânico. Dessa maneira, foi sugerida a existência de uma associação superficial do fármaco às nanopartículas poliméricas, mesmo sendo a suspensão adicionada somente na etapa de secagem. Para melhor elucidar esta

hipótese foi incorporado às suspensões das nanoestruturas um plastificante hidrofóbico, a triacetina, antes da dispersão no núcleo inorgânico-orgânico, com o objetivo de saturar a superfície polimérica, impedindo ao fármaco contido no núcleo associar-se às nanopartículas. Ao utilizar a triacetina para saturar a superfície polimérica foram obtidas micropartículas morfologicamente similares às micropartículas preparadas sem a adição de triacetina. Quando estas formulações revestidas com nanovesículas e saturadas com triacetina foram submetidas ao experimento de dissolução em pH 5,0, o percentual de diclofenaco liberado foi de  $23,9 \pm 1,01$  % após 15 minutos e de  $33,35 \pm 1,79$  % após 60 minutos. Para a formulação a partir das nanoesferas foram encontrados valores de  $55,86 \pm 0,25$  % e de  $60,04 \pm 0,06$  % após 15 e 60 minutos, respectivamente. Estes dados demonstraram que a composição do material de revestimento, nanocápsulas ou nanoesferas e o emprego da triacetina, nas formulações foi fundamental para os perfis de liberação do diclofenaco em diferentes meios.

Em outro trabalho, BECK e colaboradores (2005) prepararam e caracterizaram micropartículas com revestimento nanoestruturado contendo diclofenaco ácido e empregando uma dispersão polimérica contendo Eudragit® S100 e tampão fosfato pH 7,4. Os rendimentos do processo de secagem foram em torno de 80 % e a taxa de encapsulação do diclofenaco 83 %. A visualização de nanoestruturas polidispersas adsorvidas nas micropartículas foi feita através de MEV. A área superficial e o volume de poros foram determinados pelas isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio, e as micropartículas revestidas apresentaram valores de área,  $83 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$  e de volume de poros,  $0,25 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$ ; menores em relação ao núcleo (área:  $163 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$  e volume de poros:  $0,10 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$ ).

A dissolução em célula de fluxo em pH 5,0 do diclofenaco a partir das micropartículas revestidas foi de 75 % em 360 minutos, maior quando comparada com o núcleo (53 % em 360 minutos). Em pH 7,4 não foram observadas diferenças entre o perfil de dissolução das micropartículas revestidas e do núcleo. A aplicação da modelagem matemática demonstrou que em pH 5,0 o modelo biexponencial descrevia o perfil de liberação, enquanto em pH 7,4 o modelo monoexponencial foi o



selecionado. O experimento *in vivo*, demonstrou o efeito protetor das micropartículas revestidas frente à toxicidade do diclofenaco quando comparada com o núcleo e com o fármaco em solução. Assim, o emprego potencial da estratégia de revestimento no desenvolvimento de sistemas de administração oral de fármacos foi demonstrado (BECK *et al.*, 2005).

### 3.3 INDOMETACINA

#### 3.3.1 Propriedades físico-químicas

A indometacina, estruturalmente, é um ácido indolacético metilado de nome químico, ácido [1-(4-clorobenzoil)-5-metóxi-2-metilindol-3-il]acético (Figura 4). A indometacina pode ser descrita como pó cristalino, inodoro, de coloração branco-amarelada (REYNOLDS, 1993; ROBERTS *et al.*, 2001).

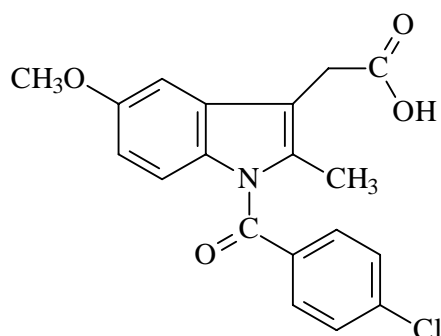


Figura 4. Estrutura molecular da indometacina.

A indometacina apresenta polimorfismo, sendo descritas duas formas,  $\gamma$  e  $\alpha$ . A forma  $\gamma$ , também denominada forma I, apresenta alto ponto de fusão (160-161,5°C), baixa solubilidade e é termodinamicamente mais estável, e forma cristais a temperaturas mais baixas. A forma  $\alpha$  (forma II) é termodinamicamente menos estável e a forma cristalina ocorre a uma temperatura superior. A constante de dissociação (pKa) da indometacina é 4,5 e o coeficiente de partição em diclorometano/tampão fosfato pH 7,0 é de 16,3 e em éter/tampão fosfato pH 7,1 é de 8,2 (O'BRIEN *et al.*, 1984).

A solubilidade da indometacina é maior em clorofórmio e etanol, as formas I e II apresentam diferentes solubilidades em tampão fosfato e ambas são praticamente insolúveis em água (REYNOLDS, 1993; ERMIS e YÜKSEL, 1999).

### 3.3.2 Propriedades farmacológicas e toxicidade gastrintestinal

A indometacina faz parte da classe dos antiinflamatórios não esteróides (AINES), apresenta importantes propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas e foi introduzida na terapêutica para o tratamento da artrite reumatóide e da gota aguda. A dose comumente empregada por via oral situa-se entre 25 a 50 mg, com intervalos de 8 horas e a dose máxima diária é de 200 mg. A indometacina tem sido usada em recém nascidos para o fechamento do ducto arterioso persistente por via intravenosa nas doses de 0,1 a 0,2 mg/Kg a cada 12 horas. (ROBERTS *et al.*, 2001; WANNAMACHER e FERREIRA, 2004).

A indometacina atua por inibir as cicloxigenases, constitutiva (COX-1) e induzível (COX-2) e a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares. A COX-1 é responsável pela proteção fisiológica das prostaglandinas em sítios gástricos e renais e a COX-2 surge nos locais de inflamação. Como outros fármacos da classe dos AINES a indometacina desaclopa a fosforilação oxidativa em concentrações supraterapêuticas e deprime a biossíntese de mucopolissacarídeos (REYNOLDS, 1993; ROBERTS *et al.*, 2001; WANNAMACHER e FERREIRA, 2004).

A absorção da indometacina após administração oral é rápida e ocorre no trato gastrintestinal e o pico de concentração plasmática alcançado após aproximadamente 2 horas, sendo dependente da ingestão alimentar. Cerca de 90% da indometacina ligam-se às proteínas plasmáticas e grande parte liga-se aos tecidos (WANNAMACHER e FERREIRA, 2004).

A principal limitação do emprego terapêutico da indometacina está relacionada aos efeitos lesivos ao trato gastrintestinal. Os efeitos adversos dos AINES podem ser atribuídos ao contato direto (tópico) do fármaco à mucosa gástrica

e por ação sistêmica, após a absorção. A irritação local causada pelo contato direto dos AINES à mucosa está relacionada com a ionização do fármaco. Os AINES são ácidos orgânicos fracos e em pH baixos estão na forma não ionizada, caracteristicamente moléculas apolares e com alta solubilidade em lipídeos, o que compromete a integridade da mucosa pela redução da hidrofobicidade da superfície. Ao penetrar na membrana celular e acumular-se no epitélio da mucosa gástrica, onde o pH local é 7,4, o fármaco apresenta-se na forma ionizada sendo absorvido (REYNOLDS, 1993; FIORUCCI *et al.*, 2001).

A atividade sistêmica compreende a inibição das COX, e o efeito lesivo, especificamente da COX-1 que compromete a síntese das prostaglandinas. Entretanto, estudos com camundongos, que apresentavam deficiência destas enzimas, têm demonstrado que as cicloxigenases não estão unicamente relacionadas com os efeitos adversos dos AINES. Além disso, foi comprovada a baixa eficiência, em relação à diminuição da ação lesiva, dos fármacos seletivos a COX-2. Estes dados sugerem que há um mecanismo independente das isoformas da COX, como a indução da liberação do fator de necrose tumoral alfa que dirige células da membrana gástrica a apoptose (FIORUCCI *et al.*, 2001).

### 3.3.3 Sistemas de liberação controlada

O emprego de formas farmacêuticas de liberação entérica minimiza o contato direto do fármaco com a mucosa gástrica. A Tabela 1 apresenta alguns dos principais sistemas de liberação estudados para a indometacina.

Tabela 1. Sistemas de liberação controlada contendo indometacina.

Sistema	Polímero	Resultados	Referência
Suspensão de nanocápsulas	Isobutil cianoacrilato	Após 12 meses de armazenamento houve redução de 52,8% da indometacina encapsulada, quando em formulações liofilizadas, e 17,5% quando em suspensões. A indometacina encapsulada apresentou 10 vezes mais atividade antiinflamatória, em ratos, quando comparada com a livre. A inibição plaquetária foi maior quando a indometacina estava encapsulada. O polímero também mostrou inibição quando as nanocápsulas estavam vazias.	GÜRSOY <i>et al.</i> , 1989
Microcápsulas	Etilcelulose	O processo de dissolução foi influenciado pela presença de poros na parede das microcápsulas e da matriz dos comprimidos. Os adjuvantes empregados também influenciaram o processo de dissolução da indometacina	TIRKKONEN e PARONEN, 1992
Suspensão de nanocápsulas	PLA	Em relação a liberação <i>in vitro</i> , as nanocápsulas liberaram rapidamente a indometacina (pH 7,2 e 7,4) e o processo foi controlado pelo coeficiente de partição óleo/água do fármaco. Os baixos índices lesionais das nanocápsulas foram atribuídos ao seu núcleo oleoso, que preveniu o contato direto da indometacina com a mucosa, associado com baixas concentrações teciduais e altas concentrações plasmáticas do fármaco. A atividade antiinflamatória foi mantida para as nanocápsulas de indometacina, e em doses baixas o efeito foi mais pronunciado quando o fármaco estava associado as nanocápsulas.	AMMOURY <i>et al.</i> , 1993
Suspensão de nanocápsulas	PLA	A associação a nanocápsulas promoveu o aumento da depuração total, com concentrações maiores encontradas na bile e aumento da circulação enteroepática da indometacina.	FAWAZ <i>et al.</i> , 1993
Suspensão de nanoesferas	PLA e PLGA	O perfil de liberação das nanoesferas foi avaliado como bifásico. Houve uma rápida liberação inicial ( <i>burst effect</i> ), explicada pela presença de fármaco na superfície das nanoesferas, seguida do perfil exponencial, devido à penetração do meio, a dissolução e a difusão da indometacina. O PLGA liberou mais rapidamente a indometacina devido à sua natureza hidrofílica.	MAGENHEIM <i>et al.</i> , 1993
Suspensão de nanocápsulas	PLA	A administração oral demonstrou a proteção à toxicidade por ação local da indometacina, pela nanoencapsulação.	GUTERRES <i>et al.</i> , 1995 <sup>a</sup>
Microesferas	PLA	O método de pás preconizado pela USP, o método <i>Rotating Bottle Apparatus</i> e o método <i>Shaker Incubador</i> apresentaram perfis de liberação similares. Já com método da célula de fluxo modificado a liberação da indometacina foi maior, e considerado o mais adequado. As variáveis que influenciaram os resultados foram a agitação, a presença do tensoativo e a força iônica do meio de dissolução.	CONTI <i>et al.</i> , 1995

(continuação)

Tabela 1. Sistemas de liberação controlada contendo indometacina.

Sistema	Polímero	Resultados	Referência
Nanocápsulas liofilizadas	PLA	As suspensões de nanocápsulas e a redispersão das liofilizadas apresentaram ação protetora, pois baixos índices lesionais foram observados.	CHASTEIGNER <i>et al.</i> , 1995
Suspensões de nanocápsulas e nanoesferas	PCL	As formulações constituídas de polímero mostraram-se mais estáveis durante o armazenamento. Foi observada a diminuição do pH ao longo dos 6 meses de estudo. Quanto a liberação in vitro, a presença do polímero não foi significativa no controle da liberação da indometacina. A maior influência foi atribuída ao coeficiente óleo-água do fármaco.	CALVO <i>et al.</i> , 1996
Dispersão sólida (coprecipitação)	Eudragit <sup>®</sup> RS e Eudragit <sup>®</sup> E	A dispersão de indometacina e Eudragit <sup>®</sup> RS manteve-se estável por 3 anos, entretanto com Eudragit <sup>®</sup> E houve redução significativa da taxa de difusão da indometacina, causada pela interação entre o fármaco e a função amina do polímero.	LOVRECICH <i>et al.</i> , 1996
Suspensões de nanocápsulas	Quitosana e PCL	Maior mucoadesão e biodisponibilidade da indometacina quando associada as nanocápsulas de quitosana.	CALVO <i>et al.</i> , 1997
Pós de nanocápsulas e nanoesferas	PCL e PLA	Foi possível a obtenção de pós de nanocápsulas de indometacina com diâmetro similar ao das suspensões originais. Entretanto para as nanoesferas observou-se alteração das estruturas após a secagem por aspersão. Os pós foram estáveis ao armazenamento após 5 meses. Quando empregado como núcleo oleoso, o benzoato de benzila, dissolveu o polímero.	WEISS, 2001
Pós de nanocápsulas e nanoesferas	PCL	O pH do meio de dissolução influenciou a liberação da indometacina. Os perfis de liberação da indometacina foram avaliados como de primeira ordem. Somente os pós de nanocápsulas foram efetivos na proteção dos efeitos ulcerativos da indometacina	OBACH, 2002
Pós de nanocápsulas e nanoesferas.	PCL	A composição quali-quantitativa influenciou os parâmetros avaliados. Os pós de nanocápsulas foram efetivos na proteção dos efeitos ulcerativos da indometacina	RAFFIN <i>et al.</i> , 2003.
Suspensões de nanocápsulas e nanoesferas	PCL	Observou-se que a localização preferencial da indometacina foi a interface da partícula (gotícula)/água independente do sistema nanoestruturado. A modelagem matemática mostrou ajuste ao modelo monoexponencial para a indometacina.	CRUZ, 2005.

\* PCL: poli( $\epsilon$ -caprolactona); PLA: poli(ácido láctico); PLGA: poli(ácido láctico-co-glicólico)

Tendo em vista os trabalhos descritos na Tabela 1, foi demonstrado que a indometacina é um fármaco adequado para estudos de associação a sistemas nano e microparticulados poliméricos. De uma forma geral, os estudos foram favorecidos pela propriedade de lipossolubilidade da indometacina, o que possibilitou a obtenção de formulações com taxas de associação elevadas. Os trabalhos de estabilidade mostraram que a indometacina é um fármaco estável, pois não se degrada na presença dos componentes das formulações. Além disso, um modelo de associação da indometacina as nanoestruturas foi proposto.

Adicionalmente, a secagem de aspersão foi viável para nanocápsulas contendo a indometacina empregando o dióxido de silício coloidal como suporte de secagem. Os estudos de dissolução realizados para estes pós indicaram um controle da liberação do fármaco e os ensaios *in vivo* mostraram o efeito protetor das partículas secas contendo nanocápsulas poliméricas e indometacina. Dessa maneira, os estudos biológicos demonstraram o potencial dos sistemas nano e microparticulados poliméricos em reduzir os efeitos ulcerogênicos da indometacina.







## 4.1 MATERIAIS

### 4.1.1 *Matérias-primas*

- Substância ativa: indometacina (Sigma, St. Louis, EUA)
  
- Polímeros:
  - Poli( $\epsilon$ -caprolactona) PM 65.000 g/mol (Aldrich, Strasbourg, França)
  
  - Eudragit<sup>®</sup> RS100 poli(acrilato de etila-co-metacrilato de metila-co-metacrilato de trimetilamonio etila clorídrico) (Degussa, São Paulo, Brasil)
  
- Tensoativos
  - EHL 4,3: Monooleato de sorbitano - Span<sup>®</sup> 80 (Delaware, Porto Alegre, Brasil)
  
  - EHL 15,0: Polissorbato 80 - Tween<sup>®</sup> 80 (Delaware, Porto Alegre, Brasil)
  
- Fase Oleosa: Mistura de triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico (Brasquim, Porto Alegre, Brasil)
  
- Adjuvante de secagem: Dióxido de silício coloidal - Aerosil<sup>®</sup> 200 (Degussa, São Paulo, Brasil)

### 4.1.2 *Aparelhos e equipamentos*

- Ultra-Turrax T 25 (Janke e Kunkel; IKA)

- Agitador em hélice (Janke e Kunkel; IKA)
- Evaporador Rotatório R-114 (Büchi)
- Bomba de vácuo V-500 (Büchi Vac<sup>®</sup> )
- *Spray-Drying* MSD<sup>®</sup> 1.0 (Labmaq do Brasil LTDA)
- Aparelho coulométrico de Karl Fischer DL 37 (Mettler)
- Célula de fluxo
  - Células de vidro com diâmetro interno de 1,8 cm (Desaga)
  - Bomba peristáltica Miliplus 3 (Gilson)
  - Pêndulo automático (Desaga)
  - Aquecedor com misturado para banho de água E11 (Haake)
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência
  - Coluna Nova-Pak<sup>®</sup> C18, 3.9 x 300 mm (Waters)
  - Injetor Autosampler série 200 (Perkin Elmer)
  - Bomba série 200 (Perkin Elmer)
  - Detector UV-VIS série 200 (Perkin Elmer)

- Software TotalChrom Workstation (Perkin Elmer)
  
- Centrífuga 4K15 (Sigma)
  
- Potenciômetro B474 (Micronal)
  
- Metalizador 4B SVG-IN (Jeol Jee)
  
- Microscópio eletrônico de varredura JSM-5800 (Jeol Scanning Microcope)
  
- Microscópio Óptico BX-41 (Olympus) e câmera fotográfica PM-20 (Olympus)
  
- Tornado Beckman Coulter (Beckman Instruments)
  
- Sistema de caracterização de partículas
  - Zetasizer<sup>®</sup> Nano ZEN3600 (Malvern Instruments Limited)
  
  - Célula capilar fechada (DTS1060)
  
  - Dispositivo de poliestireno (DTS0012)
  
  - Dispersion Technology Software (Malvern Instruments Limited)
  
- Sistema de vácuo (bomba de vácuo turbomolecular Edward); nitrogênio no estado gasoso e líquido; e barômetro capilar de mercúrio.

#### *4.1.3 Solventes e outros materiais*

- Acetona p.a. (Nuclear e Quimex)

- Acetato de etila p.a. (Quimex)
- Acetonitrila grau CLAE (Merck)
- Ácido fosfórico (Quimex)
- Trietilamina (Merck)
- Água destilada
- Água Milli-Q (Destilador/deionizador Milli-Q<sup>®</sup>)
- Cloreto de sódio p.a. (Merck)
- Fosfato de potássio monobásico p.a. (Merck)
- Hidróxido de sódio p.a. (Merck)
- Membrana 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore)
- Membrana 0,22  $\mu\text{m}$  (Millipore)

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 *Preparação das suspensões de nanocápsulas*

Para a obtenção das suspensões de nanocápsulas contendo ou não indometacina foram utilizados o método de dispersão de polímero pré-formado (FESSI *et al.*, 1989) e o método de emulsificação-difusão (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998). As formulações, em triplicatas, foram preparadas variando-se o polímero utilizado e a presença ou não do fármaco nas nanocápsulas (Tabelas 2 e 3). A composição das formulações de suspensões foi baseada nas quantidades previamente descritas (WEISS, 2001). Entretanto, foi necessário reduzir a quantidade dos tensoativos devido ao baixo rendimento das micropartículas nanorrevestidas obtidas durante a etapa de secagem por aspersão.

#### 4.2.1.1 Nanoprecipitação (NPPT)

O método da nanoprecipitação consiste em preparar uma fase orgânica contendo o polímero, o fármaco e um tensoativo de baixo EHL e vertê-la, sob constante agitação, sobre uma fase aquosa, contendo um tensoativo de elevado EHL, mantendo-se agitação magnética durante 10 minutos. Após, o solvente orgânico e parte da água são eliminados em evaporador rotatório a 40° C de maneira que a concentração final de indometacina seja ajustada para 1,5 mg/mL (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Composição das suspensões preparadas pelo método da nanoprecipitação (formulações S1, S2, S5 e S6).

Composição	Formulações			
	S1	S2	S5	S6
<b>Fase orgânica</b>				
Polímero*	1000 mg	1000 mg	1000 mg	1000 mg
Span <sup>®</sup> 80	383 mg	383 mg	383 mg	383 mg
MTG**	3102 mg	3102 mg	3102 mg	3102 mg
Acetona	267 mL	267 mL	267 mL	267 mL
Indometacina	-	150 mg	-	150 mg
<b>Fase aquosa</b>				
Tween <sup>®</sup> 80	383 mg	383 mg	383 mg	383 mg
Água destilada	533 mL	533 mL	533 mL	533 mL

\*Polímero: poli( $\epsilon$ -caprolactona) 65.000 g/mol (formulações 1 e 2) e Eudragit<sup>®</sup> RS 100 (formulações 5 e 6).

\*\* MTG: mistura de triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico  
O volume das suspensões foi ajustado a 100 mL.

#### 4.2.1.2 Emulsificação-difusão (ED)

O método emulsificação-difusão emprega um solvente parcialmente solúvel em água, que deve ser previamente saturado em água (QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1998). A água foi saturada em acetato de etila (2:1, v/v), em funil de separação por 24 horas. Separadamente, a fase interna foi preparada com o polímero, o óleo, o tensoativo de elevado EHL, o acetato de etila saturado em água e o fármaco. Paralelamente, a fase externa foi preparada com a água saturada em acetato de etila e o tensoativo de baixo EHL. As duas fases foram misturadas empregando-se Ultraturrax<sup>®</sup> a 14000 g por 5 minutos. A dispersão foi deixada em repouso por 10 minutos; após, foi adicionada água destilada, mantendo-se sob agitação (agitador de hélice) durante 40 minutos para que a difusão do solvente ocorra e as nanoestruturas sejam formadas. O solvente orgânico e parte da água foram eliminados em evaporador rotatório a 40° C de forma que a concentração final

de indometacina foi ajustada para 1,5 mg/mL (Tabela 3).

Tabela 3. Composição das suspensões preparadas pelo método da emulsificação-difusão (formulações S3, S4, S7 e S8).

Composição	Formulações			
	S3	S4	S7	S8
<b>Fase orgânica</b>				
Polímero*	1000 mg	1000 mg	1000 mg	1000 mg
Span <sup>®</sup> 80	383 mg	383 mg	383 mg	383 mg
MTG**	3102 mg	3102 mg	3102 mg	3102 mg
Acetato de etila***	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL
Indometacina	-	150 mg	-	150 mg
<b>Fase aquosa</b>				
Tween <sup>®</sup> 80	383 mg	383 mg	383 mg	383 mg
Água destilada****	400 mL	400 mL	400 mL	400 mL

\*Polímero: poli( $\epsilon$ -caprolactona) 65.000 g/mol (formulações 3 e 4) e Eudragit<sup>®</sup> RS 100 (formulações 7 e 8).

\*\* MTG: mistura de triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico

\*\*\* Acetato de etila: Acetato de etila saturado em água.

\*\*\*\* Água destilada: Água destilada saturada em acetato de etila.

\*\*\*\*\* Após a mistura das fases foram adicionados 1000 mL de água destilada e mantida agitação por 40 minutos (agitador hélice).

O volume das suspensões foi ajustado a 100 mL.

#### 4.2.2 Caracterização das suspensões de nanocápsulas

##### 4.2.2.1 Determinação do diâmetro das partículas das suspensões coloidais

O diâmetro médio das partículas em suspensão foi determinado em Zetasizer<sup>®</sup> Nano, submetendo as amostras (leituras em triplicata) a espalhamento de luz dinâmica (90°) observada em dispositivos de poliestireno (DTS0012) - espectroscopia de correlação de fótons. Para isso, as amostras foram diluídas 500 vezes em água purificada por osmose reversa (sistema Milli-Q<sup>®</sup>) filtrada em membrana 0,22  $\mu$ m. As medidas obtidas foram resultantes do espalhamento de luz

causado pela presença de partículas em um líquido. Estas partículas, ao movimentarem-se, geram determinado raio hidrodinâmico que é detectado por flutuações da luz incidente.

#### 4.2.2.2 Determinação do potencial zeta das partículas das suspensões coloidais

O potencial zeta foi determinado no Zetasizer<sup>®</sup> Nano após diluição de 500 vezes das suspensões em solução de NaCl 1mM filtrada em membrana 0,22 µm. Foram utilizadas células capilares fechadas (DTS1060) para as leituras e as medidas foram feitas em triplicata.

#### 4.2.2.3 Determinação do pH

Os valores de pH das suspensões de nanocápsulas foram determinados diretamente nas suspensões, em triplicata, através de um potenciômetro (Micronal B474), previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0.

#### 4.2.2.4 Doseamento da indometacina nas suspensões (formulações S2, S6 e S8)

As suspensões coloidais foram tratadas com acetonitrila para promover a dissolução das nanocápsulas. Após a solubilização, a quantidade total (taxa de recuperação) de fármaco foi determinada através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A detecção foi feita em UV a 254 nm, sendo a fase móvel uma mistura de acetonitrila/água (65:35) (v/v), contendo 50 mM trietilamina, pH 3,3 (aparente) ajustado com ácido fosfórico. O fluxo foi de 1,0 mL/min e o volume de injeção de 20 µL (JAMBLHEKAR *et al.*, 2004). Foi utilizado um cromatógrafo Perkin Elmer S-200 com detector UV-VIS e injetor S-200; e a fase estacionária utilizada foi uma coluna Nova-Pak C18 (3,9 X 150 mm) (Waters).

O método foi validado através da avaliação dos seguintes parâmetros: linearidade, precisão, exatidão, especificidade; seguindo a Resolução nº 899, de 29



de maio de 2003 da ANVISA (ANEXO 1).

#### 4.2.2.5 Taxas de associação (formulações S2, S6 e S8)

A quantidade de fármaco associado as nanoestruturas foi determinada por CLAE, levando-se em consideração a diferença entre a quantidade de fármaco total e livre (presente na fase aquosa da suspensão). A quantidade total foi determinada pela dissolução das nanocápsulas em acetonitrila, a partir de uma amostra de suspensão. Para determinar a quantidade de indometacina presente na fase aquosa da suspensão, foi realizada uma ultrafiltração-centrifugação das suspensões com a utilização de membranas Ultrafree<sup>®</sup> MC durante 5 minutos a 12000 g. Dessa forma, separa-se o ultrafiltrado, onde a indometacina não associada (livre) foi quantificada.

#### *4.2.3 Preparação das micropartículas nanorrevestidas*

As Tabelas 4 e 5 apresentam as duas séries de formulações de micropartículas nanorrevestidas, de acordo com a presença do fármaco, associado ao núcleo inorgânico ou às nanocápsulas poliméricas.

Tabela 4. Série de formulações de nanocápsulas de PCL [poli( $\epsilon$ -caprolactona)] ou Eudragit<sup>®</sup> RS100 preparadas através de NPPT (nanoprecipitação) ou ED (emulsificação-difusão), contendo indometacina no núcleo.

<b>Formulação</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método de preparação das suspensões</b>	<b>Indometacina</b>
<b>M1</b>	PCL 65.000 g/mol	NPPT	Núcleo
<b>M3</b>	PCL 65.000 g/mol	ED	Núcleo
<b>M5</b>	Eudragit <sup>®</sup> RS100	NPPT	Núcleo
<b>M7</b>	Eudragit <sup>®</sup> RS100	ED	Núcleo

Tabela 5. Série de formulações de nanocápsulas de PCL [poli( $\epsilon$ -caprolactona)] ou Eudragit<sup>®</sup> RS100 preparadas através de NPPT (nanoprecipitação) ou ED (emulsificação-difusão), contendo indometacina nas nanocápsulas.

<b>Formulação</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método de preparação das suspensões</b>	<b>Indometacina</b>
<b>M2</b>	PCL 65.000 g/mol	NPPT	Nanocápsulas
<b>M4</b>	PCL 65.000 g/mol	ED	Nanocápsulas
<b>M6</b>	Eudragit <sup>®</sup> RS100	NPPT	Nanocápsulas
<b>M8</b>	Eudragit <sup>®</sup> RS100	ED	Nanocápsulas

#### 4.2.3.1 Micropartículas contendo indometacina associada ao núcleo (formulações M1, M5 e M7)

A uma solução de indometacina (150 mg) em acetona (100 mL) foram adicionados 3 g de dióxido de silício coloidal (Aerosil<sup>®</sup> 200). A mistura foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida, o solvente foi eliminado em evaporador rotatório e o resíduo permaneceu à temperatura ambiente durante 48 horas, para posterior cominuição em gral de porcelana (BECK, 2005).

A etapa de revestimento constitui-se na dispersão do núcleo (3% p/v) obtido anteriormente, em uma suspensão de nanocápsulas, sob agitação magnética durante 3 minutos. Esta dispersão foi nebulizada utilizando-se as condições descritas na Tabela 6.

#### 4.2.3.2 Micropartículas contendo indometacina associada às nanocápsulas (formulações M2, M6 e M8)

As suspensões contendo nanocápsulas de indometacina foram secas pelo método da secagem por aspersão utilizando como suporte de secagem 3% (p/v) de dióxido de silício. A suspensão foi adicionada ao dióxido de silício mantendo-se

agitação durante 3 minutos para posterior aspersão (condições operacionais descritas na Tabela 6).

#### 4.2.3.3 Micropartículas contendo indometacina associada ao dióxido de silício em etapa única (formulações MU1 e MU2)

As suspensões contendo nanocápsulas vazias foram secas pelo método da secagem por aspersão tendo como suporte de secagem 3% (p/v) de dióxido de silício (BECK, 2005). A indometacina foi pesada separadamente ao dióxido de silício e, a suspensão de nanocápsulas vazias foi adicionada a estes componentes, mantendo-se agitação durante 3 minutos para posterior aspersão (condições operacionais descritas na Tabela 6).

Tabela 6. Condições operacionais utilizadas para a preparação das micropartículas nanorrevestidas em spray dryer LM 1.0.

<b>Parâmetros</b>	<b>Condição</b>
Fluxo de alimentação	0,2 L/h
Fluxo de ar	500 NL/h
Pressão de ar comprimido	3 kgf/cm <sup>2</sup>
Temperatura de entrada do ar de secagem	150°C ± 5°C
Temperatura de saída do ar de secagem	80°C ± 5°C
Capa de fluido (diâmetro do bico atomizador)	0,8 mm
Sistema de aspiração	0,6 NMC (0,6 m <sup>3</sup> /min)

#### *4.2.4 Caracterização das micropartículas nanorrevestidas*

##### 4.2.4.1 Determinação do rendimento das micropartículas

O rendimento foi calculado através da relação da massa total de todos os componentes presentes nas suspensões coloidais, diminuindo-se a quantidade de massa da água e somando-se a quantidade de massa de dióxido de silício coloidal e

a massa total obtida no processo de secagem.

#### 4.2.4.2 Determinação do teor de umidade

As micropartículas obtidas foram submetidas à avaliação por método coulométrico por Karl Fischer com reagente de Karl Fischer segundo a Farmacopéia Brasileira 4ª edição. O conteúdo de água é calculado descontando-se o valor do branco do valor encontrado da amostra em microgramas e dividindo este valor pela massa de amostra analisada.

#### 4.2.4.3 Doseamento da indometacina nas micropartículas

O doseamento dos pós seguiu a técnica do doseamento da suspensão, exceto que após a adição da acetonitrila sobre uma quantidade determinada de pó, e agitação por 120 minutos, a dispersão foi centrifugada para sedimentação dos adjuvantes a 3500 g durante 10 minutos. Esta solução foi filtrada a 0,45  $\mu\text{m}$  e analisada por CLAE conforme metodologia previamente validada.

#### 4.2.4.4 Determinação do diâmetro após dispersão dos pós em água

O diâmetro médio das partículas foi determinado após dispersão do pó em água, com igual volume das suspensões originais. O diâmetro foi determinado no Zetasizer<sup>®</sup> Nano, segundo a metodologia descrita por MÜLLER e colaboradores (2001). As micropartículas nanorrevestidas em dispersão foram filtradas através de membrana 0,45  $\mu\text{m}$  e diluídas 500 vezes em água purificada por osmose reversa (sistema Milli-Q<sup>®</sup>) filtrada em membrana 0,22  $\mu\text{m}$ . As medidas foram feitas em dispositivo de poliestireno e em triplicata.

#### 4.2.4.5 Determinação do potencial zeta após dispersão dos pós em água

O potencial zeta foi determinado em equipamento Zetasizer<sup>®</sup> Nano após

dispersão do pó em água, com igual volume das suspensões originais, segundo a metodologia descrita por MÜLLER e colaboradores (2001). As micropartículas nanorrevestidas em dispersão foram filtradas a 0,45  $\mu\text{m}$  e diluídas 500 vezes em solução de NaCl 1 mM filtrada em membrana 0,22  $\mu\text{m}$ . Foram utilizadas células capilares fechadas (DTS1060) para as leituras e as medidas foram feitas em triplicata.

#### 4.2.4.6 Análise morfológica das micropartículas através de microscopia eletrônica de varredura

A análise morfológica (superfície e forma) dos pós foi realizada através de microscopia eletrônica de varredura (Jeol Scanning Microscope, JSM-5800). As amostras submetidas a avaliação microscópica foram primeiramente metalizadas com ouro (Jeol Jee 4BSVG-IN) e as fotomicrografias foram obtidas utilizando-se uma voltagem de 20 kV e aumentos entre 1000 a 45000 vezes. As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS.

#### 4.2.4.7 Análise por microscopia óptica

A análise por microscopia óptica foi realizada em microscópio óptico modelo BX-41 (Olympus®) acoplado a câmera fotográfica PM-20 (Olympus®) através das imagens das micropartículas observadas ao ar e em dispersão no meio aquoso. Para os dois meios utilizados as amostras foram dispostas entre lâmina e lamínula, em aumento de 120 vezes, sob incidência de luz normal nos dois meios e luz polarizada para as micropartículas ressuspensas em água. As análises foram realizadas em laboratório do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da UFRGS.

#### 4.2.4.8 Determinação da distribuição de tamanho de poros das micropartículas

A distribuição do tamanho de poros das micropartículas e dos núcleos, previamente dessecados sob vácuo a 40°C por 2 horas, foi determinada pelas

isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio, medidas no ponto de ebulição do nitrogênio, empregando um barômetro capilar de mercúrio. A análise dos resultados foi realizada utilizando o método BJH (Barret, Joyner, Halenda) (BARRET *et al.*, 1951). As análises foram realizadas no Laboratório de Sólidos e Superfícies do Instituto de Química da UFRGS.

#### 4.2.4.9 Determinação da área superficial das micropartículas

As áreas superficiais das micropartículas, do dióxido de silício e do núcleo foram determinadas nas amostras previamente desgaseificadas, pelo método BET (Brunauer, Emmett e Teller) (BRUNAUER *et al.*, 1938) em equipamento volumétrico, utilizando nitrogênio como gás de adsorção. Foi empregado um equipamento de fabricação própria (IQ-UFRGS), com um sistema de linha de vácuo, obtido pelo emprego de uma bomba de vácuo turbomolecular Edward. As medidas da pressão foram determinadas utilizando-se um barômetro capilar de mercúrio (Hg). Os resultados foram comparados a um padrão de referência de alumina. As análises foram realizadas no Laboratório de Sólidos e Superfícies do Instituto de Química da UFRGS.

#### 4.2.4.10 Análise granulométrica das micropartículas

A análise granulométrica das amostras foi realizada por difratometria a laser das amostras secas através de um equipamento Beckman Coulter® (Tornado).

O SPAN é definido como uma medida da dispersão granulométrica, a qual relaciona os valores encontrados do diâmetro das partículas correspondentes a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada para uma amostra e foi calculado de acordo com a equação 1 (ONEDA; RÉ, 2003).

$$\text{SPAN} = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}}$$

(Equação 1)

A medida de  $d(4,3)$  representa o volume médio das partículas. As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Partículas do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT/SP).

#### 4.2.4.11 Dissolução das micropartículas em célula de fluxo

O meio de dissolução utilizado foi o meio intestinal simulado sem enzimas (USP 28, 2004). Foi preparado dissolvendo-se 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em 250 mL de água destilada. Após a homogeneização, foi adicionado 77 mL de solução de hidróxido de sódio 0,2 N e 500 mL de água destilada. O pH da solução resultante foi submetida à leitura de pH em potenciômetro (B474, Micronal) e este ajustado, se necessário, com solução de NaOH 0,2 N ou HCl 0,2 N a pH  $6,8 \pm 0,1$ . A solução ajustada ou não foi diluída a 1000 mL (OBACH, 2002).

A aparelhagem para dissolução em célula de fluxo consiste em células de vidro de diâmetro interno de 1,8 cm conectadas a uma bomba peristáltica (Miliplus 3, Gilson) através de cânulas de silicone com diâmetro interno de 0,3 mm. O meio de dissolução é mantido em banho termostaticado a  $37 \pm 0,5$  °C. Membranas de fibra de vidro (AP25, Milipore) com poros entre 300 e 1000  $\mu\text{m}$  foram acopladas às células de vidro, a fim de impedir a passagem de adjuvantes para a alíquota a ser coletada. O fluxo de meio de dissolução foi de 1 mL/min e as alíquotas foram coletadas em provetas para o controle do fluxo. Esta metodologia caracteriza-se como um sistema aberto ao qual se imprime fluxo constante, garantindo condições *sink* ao experimento (WASHINGTON, 1990).

A massa de micropartículas utilizada foi correspondente a 1,5 mg de indometacina. Os tempos de coleta para cada formulação foram de 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120 e 150 minutos. Os perfis de dissolução representam a média de três determinações.

#### 4.2.4.12 Avaliação dos perfis de dissolução

Os perfis de liberação das diferentes formulações foram avaliados por três diferentes metodologias.

O fator de similaridade ( $f_2$ ) e o fator de diferença ( $f_1$ ) foram aplicados, segundo SHAH e colaboradores (1998). O fator de diferença ( $f_1$ ) mede a porcentagem de erro entre duas curvas em todos os tempos (equação 2):

$$f_1 = \frac{\sum_{j=1}^n |R_j - T_j|}{\sum_{j=1}^n R_j} \times 100$$

(Equação 2)

onde  $n$  é o número de amostras, e  $R_j$  e  $T_j$  são os percentuais dissolvidos dos produtos referência e teste em cada tempo  $j$ . Já, o fator de similaridade ( $f_2$ ) é a transformação logarítmica da soma dos quadrados da diferença dos erros entre o teste  $T_j$  e a referência  $R_j$  em todos os tempos (equação 3):

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{j=1}^n |R_j - T_j|^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

(Equação 3)

Esses parâmetros permitem identificar diferenças superiores a 10 % entre perfis de dissolução. Valores de  $f_2$  superiores a 50 e valores de  $f_1$  inferiores a 15 são indicativos de similaridade. Compararam-se os pontos da curva até 85 % de dissolução e, como recomendado, não se utilizou mais que um ponto acima de 85 % (MOORE; FLANNER (1996) *apud* COSTA; LOBO, 2001<sup>1</sup>, O'HARA *et al.*, 1998; SHAH *et al.*, 1998).

---

<sup>1</sup> MOORE e FLANNER. Mathematical comparison of dissolution profiles. Pharm. Tech., v.20, p. 64-74, 1996 *apud* COSTA e LOBO. Modeling and comparison of dissolution profiles. Eur. J. Pharm. Sci., v.13, p. 23-133, 2001.



A eficiência de dissolução, por sua vez, foi determinada (equação 4):

$$DE = \frac{\int_0^t y \cdot dt}{y_{100} \cdot t} \times 100\%$$

(Equação 5)

onde  $y$  é percentagem de fármaco dissolvido no tempo  $t$ . A eficiência de dissolução é expressa como a percentagem da área de um retângulo que descreve 100 % da dissolução no mesmo período de tempo (KHAN, 1975). A eficiência de dissolução foi comparada para as diferentes micropartículas através do método estatístico ANOVA ( $\alpha=0,05$ ).

Os métodos modelo-dependentes foram aplicados, definindo-se para avaliação dos perfis de dissolução o modelo monoexponencial (equação 6):

$$C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

(Equação 6)

onde:  $C$  é a concentração no tempo  $t$ ;  $C_0$  é a concentração inicial e  $k$  a constante cinética observada (COSTA e LOBO, 2001).

A Lei da Potência foi avaliada para descrever a liberação do fármaco a partir da matriz polimérica. Este modelo semi-empírico relaciona exponencialmente a liberação de uma substância com o tempo (equação 7):

$$f_t = a \cdot t^n$$

(Equação 7)

onde:  $a$  é a constante que incorpora características estruturais e geométricas do sistema de liberação,  $n$  o expoente de liberação e indicativo do mecanismo de liberação da substância, e a função de  $t$  é a liberação fracional do fármaco (SIEPMANN e PEPAS, 2001, REZA *et al.*, 2003).

O valor de  $n$  foi utilizado para caracterizar o mecanismo de liberação, conforme a Tabela 7.

Tabela 7. Mecanismos de liberação de substâncias por difusão a partir de sistemas poliméricos de diferentes geometrias (SIEPMANN e PEPAS, 2001).

Expoente de liberação ( $n$ )			Mecanismo de liberação da substância
Filmes	Cilíndrico	Esférico	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Caso anômalo
1,0	0,89	0,85	Caso-II
$> 1,0$	$> 0,89$	$> 0,85$	Super caso-II

A adequabilidade dos modelos aos dados experimentais foi avaliada com o auxílio do programa Micro Math<sup>®</sup> Scientist<sup>®</sup>, comparando-se os modelos entre si com base nos parâmetros: o critério de seleção de modelo (MSC), o coeficiente de correlação, o ajuste gráfico e os valores das constantes.





## 5.1 SUSPENSÕES DE NANOCÁPSULAS

Para as suspensões de nanocápsulas (S1, S2, S5, S6, S7 e S8) foi visualizado reflexo azulado mediante a observação à luz natural, decorrente do efeito Tyndall, típico das suspensões coloidais (MAGENHEIM e BENITA, 1991). Por outro lado, nas formulações preparadas com poli( $\epsilon$ -caprolactona) pelo método da emulsificação-difusão (suspensões S3 e S4) nas quais o polímero precipitou durante a etapa de difusão, este efeito não foi verificado. A Tabela 8 relaciona as características físico-químicas das suspensões de nanocápsulas.

A finalidade dos tensoativos em sistemas nanométricos, citada por AMMOUY<sup>2</sup> (1990) *apud* GUTERRES e colaboradores (1995), é proporcionar estabilidade aos sistemas nanoparticulados. Sendo assim, o tensoativo de elevado EHL evita a sedimentação das partículas e a difusão da substância ativa encapsulada; por sua vez o de baixo EHL é necessário para a obtenção de uma população de tamanho pequeno e homogêneo.

A formação das nanopartículas pelo método da emulsificação-difusão depende da estabilidade e do tamanho dos glóbulos produzidos durante a etapa de emulsificação. Por sua vez, os glóbulos formados dependem da concentração de estabilizante, devendo haver quantidade suficiente para formar uma monocamada na interface do glóbulo, para que durante a turbulência interfacial gerada no processo de difusão se obtenham partículas nanométricas estáveis. (JALIL e NIXON, 1990 *apud* QUINTANAR-GUERRERO *et al.*, 1996<sup>3</sup>; HYE *et al.*, 2001). Além disso, a estabilização das gotículas, após o processo de difusão, também depende

---

2 AMMOURY, N., Etude physico-chimique et biologique de vecteurs colloïdaux vésiculaires d'indimétacine-acide polylactique, Thesis, Université de Paris-Sud (1990) *apud* GUTERRES, S. S.; FESSI, H.; BARRAT, G.; DEVISSAGUET, J.-P.; PUISIEUX, F. Poly(D,L-lactide) nanocapsules containing diclofenac: formulation and stability study. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 113, p. 57-63, 1995.

3 JALIL, R. e NIXON, J. Microencapsulation using poly(L-lactic acid) II: Preparative variables affecting microcapsule properties. *J Microencapsulation*, 7, p. 25-39, 1990 *apud* QUINTANAR-GUERRERO, D., FESSI, H., ALLÉMANN, E., DOELKER, E. Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(D,L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 143, p. 133-141, 1996.

da adsorção de estabilizantes na interface, para evitar a coalescência das partículas e a formação de aglomerados no sistema nanoparticulado (KNOW *et al.*, 2001).

Nesse sentido, GALINDO-RODRIGUES e colaboradores (2004) avaliaram a influência da concentração de poli(vinil álcool) (PVA) como estabilizante e o emprego de três diferentes métodos de preparação de nanoestruturas (*salting-out*, emulsificação-difusão e nanoprecipitação) na obtenção de nanopartículas de Eudragit® L. Os autores concluíram que o aumento da concentração de PVA (de 7 a 21 % v/v) reduziu o diâmetro médio das nanoestruturas (de 715 a 108 nm). Além disso, a formação das nanopartículas pelo método da emulsificação-difusão foi dependente da interação do estabilizante com a interface dos glóbulos formados na etapa da emulsificação, devido à redução da tensão interfacial, da estabilização mecânica e estérica. A adsorção do estabilizante influenciou a viscosidade da fase contínua e evitou a ruptura das vesículas, promovendo a estabilização hidrodinâmica das mesmas.

As nanocápsulas obtidas com a poli( $\epsilon$ -caprolactona), caracteristicamente, apresentam diâmetros superiores às preparadas com copolímeros metacrilatos de amônio - Eudragit® (LEROUX *et al.*, 1995). Como descrito anteriormente, o tamanho dos glóbulos e a concentração de tensoativos influenciam a estabilização do sistema nanoparticulado. Considerando as condições de preparação das suspensões de nanocápsulas do presente trabalho, podemos inferir que não foi possível a preparação de suspensões de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) pelo método da emulsificação-difusão devido a concentração insuficiente (0,383 g/100 mL) de tensoativos necessária para formação de uma monocamada na interface das nanopartículas de diâmetros superiores (maiores que 370 nm).

No presente trabalho, as suspensões de nanocápsulas foram preparadas com 0,383 g/100 mL de tensoativos, metade da concentração (0,766 g/100 mL) usual através dos métodos da nanoprecipitação e da emulsificação-difusão. As quantidades de tensoativos foram reduzidas com o objetivo de melhorar o rendimento do processo de secagem das micropartículas nanorrevestidas

preparadas na seqüência. MÜLLER (2003) descreveu que a untuosidade dos pós e, conseqüentemente, o rendimento do processo de secagem por aspersão relacionam-se diretamente com a concentração de tensoativos e de óleo nas suspensões de nanopartículas. Nesse sentido, BECK (2005) no seu estudo de formulação de micropartículas nanorrevestidas reduziu para 0,153 g/100 mL a quantidade de tensoativos nas suspensões de nanopartículas, empregando o monoestearato de sorbitano (Span<sup>®</sup> 60) como tensoativo de baixo EHL e o Eudragit S100 como polímero.

As concentrações de tensoativos empregadas no presente trabalho consideraram que o método de emulsificação-difusão exige quantidades superiores de estabilizantes no sistema nanoparticulado, quando comparado com o método da nanoprecipitação. MÜLLER (2003) avaliou as concentrações de 2,5 g/100 mL e 1,0 g/100 mL de tensoativos (Epikuron 170<sup>®</sup> e Tween 80<sup>®</sup>) na preparação de suspensões de nanocápsulas pelo método da emulsificação-difusão e pelo método de nanoprecipitação. Embora tenha observado que as suspensões contendo maiores concentrações de tensoativos apresentaram maior estabilidade, as preparadas com 1,0 g/100 mL originaram partículas secas por aspersão com melhores características.

Tabela 8. Características físico-químicas das suspensões de nanocápsulas.

Suspensão	Polímero*	Método**	Indometacina (mg/mL)	pH ± DP	Taxa de associação (% ± DP)	Diâmetro (nm ± DP)	Potencial zeta (mV ± DP)
S1	PCL	NPPT	-	5,5 ± 0,2	-	374 ± 12	-23,30 ± 0,27
S2	PCL	NPPT	1,5	5,0 ± 0,1	95,6 ± 1,4	303 ± 70	-24,31 ± 1,68
S3	PCL	ED	-	-	-	-	-
S4	PCL	ED	1,5	-	-	-	-
S5	E RS	NPPT	-	4,4 ± 0,3	-	161 ± 3	+23,37 ± 1,47
S6	E RS	NPPT	1,5	3,5 ± 0,2	93,3 ± 3,6	147 ± 4	+19,24 ± 2,41
S7	E RS	ED	-	3,8 ± 0,3	-	223 ± 6	+26,91 ± 1,34
S8	E RS	ED	1,5	3,1 ± 0,1	95,5 ± 2,3	211 ± 7	+17,79 ± 1,99

\*PCL=poli(ε-caprolactona), 65.000 g/mol, E RS= Eudragit® RS100;

\*\*NPPT=nanoprecipitação, ED=emulsificação-difusão.

DP= desvio padrão referente à triplicata de lote.



A medida do pH é um parâmetro importante na avaliação da estabilidade de sistemas coloidais, pois alterações de seus valores podem estar relacionadas com a degradação do polímero, de algum outro componente da formulação ou até mesmo com a difusão do fármaco das nanocápsulas para o meio aquoso (GUTERRES *et al.*, 1995). Valores de pH ácidos foram verificados para todas as formulações (entre 3,1 e 5,5) (Tabela 8).

Valores de pH menores foram observados para as suspensões de nanocápsulas contendo indometacina, quando comparados com as formulações sem indometacina. Os menores valores de pH para as nanocápsulas contendo o fármaco devem-se à influência da natureza ácida da indometacina (pKa 4,5) e indicam, provavelmente, que parte da indometacina esteja adsorvida à parede polimérica. O método de preparação das suspensões de nanocápsulas também ocasionou influência sobre a medida de pH. Quando se compara as formulações S5 e S6 com S7 e S8, observa-se valores de pH inferiores para as formulações preparadas pelo método da emulsificação-difusão com o mesmo polímero, justificado pela presença residual de ácido acético formado da hidrólise do acetato de etila.

O diâmetro médio das partículas das formulações apresentou-se na faixa de 147 a 374 nm (Tabela 8). Estes resultados são compatíveis com os sistemas coloidais estudados preparados com polímeros pré-formados (MÜLLER, 2003 e CRUZ, 2005). A diferença mais significativa de diâmetro foi em relação ao polímero empregado. Os diâmetros das nanocápsulas de Eudragit® RS ( $161 \pm 3$  nm e  $147 \pm 4$  nm) foram inferiores quando comparadas com nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) ( $374 \pm 12$  nm e  $303 \pm 70$  nm) obtidas pelo método de nanoprecipitação.

As nanocápsulas preparadas pelo método da emulsificação-difusão apresentaram diâmetros médios ligeiramente superiores ( $223 \pm 6$  nm e  $211 \pm 7$  nm) àquelas preparadas pelo método da nanoprecipitação ( $161 \pm 3$  nm e  $147 \pm 4$  nm). O método de preparação influenciou o diâmetro médio das nanocápsulas, como já descrito na literatura (MÜLLER, 2003), em trabalho que demonstrou que as

nanocápsulas, de poli( $\epsilon$ -caprolactona) e Miglyol 810<sup>®</sup>, preparadas por emulsificação-difusão foram maiores ( $764 \pm 56$  nm) que as correspondentes obtidas por nanoprecipitação ( $206 \pm 54$  nm).

Por outro lado, a presença da indometacina não influenciou significativamente o diâmetro das partículas, para as formulações preparadas com ambos os polímeros e métodos. A representação gráfica dos diâmetros médios das partículas nas suspensões de nanocápsulas pode ser visualizada na Figura 5.

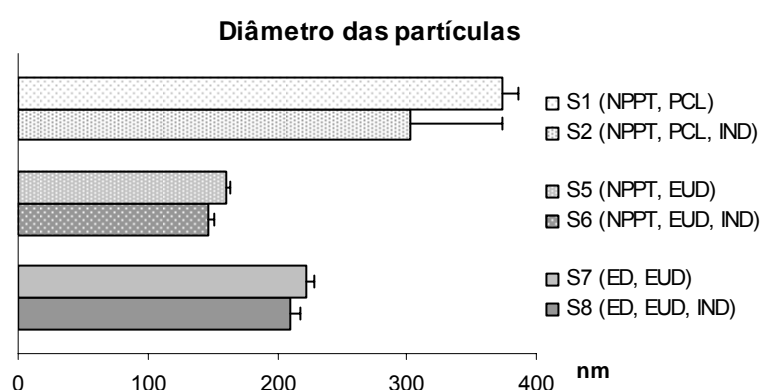


Figura 5. Diâmetro das partículas das suspensões de nanocápsulas (formulações S1, S2, S5, S6, S7 e S8).

A carga da superfície das nanopartículas é um parâmetro importante para avaliação da estabilidade, e da interação das nanoestruturas com outras substâncias. A superfície eletrostática das nanopartículas pode ser consequência da adsorção de estruturas iônicas da suspensão ou, da dissociação de grupamentos do polímero (MAGENHEIM e BENITA, 1991).

As suspensões preparadas com Eudragit<sup>®</sup> RS100 apresentaram valores de potencial zeta positivos  $+23,37 \pm 1,47$  mV e  $+19,24 \pm 2,41$  mV para as formulações obtidas por nanoprecipitação (S5 e S6, respectivamente) e  $+26,91 \pm 1,34$  mV e  $+17,79 \pm 1,99$  mV para as obtidas por emulsificação difusão (S7 e S8, respectivamente).

O valor positivo do potencial zeta pode ser explicado pela carga positiva dos

grupamentos amônio quartenário do polímero, tendo sido descrito por UBRICH e colaboradores em 2005 ao avaliar o potencial zeta de nanocápsulas de Eudragit® RS ou RL contendo ciclosporina e preparadas pelo método de nanoprecipitação (valores entre +49 mV e +63 mV). Os autores observaram também que nanocápsulas contendo ciclosporina apresentaram valores de potencial zeta inferiores e isto foi justificado pela adsorção do fármaco no polímero.

Da mesma maneira, a presença da indometacina diminuiu o potencial zeta das nanocápsulas de +23,37 mV para +19,24 mV e de + 26,91 mV para +17,79 mV. A presença de grupamento ácido ionizável na estrutura do fármaco pode justificar a redução do valor de potencial zeta, associando-se a esta informação, a diminuição do pH verificada nas suspensões contendo indometacina. A representação gráfica do potencial zeta das suspensões de nanocápsulas pode ser visualizada na Figura 6.

As suspensões (S1 e S2) preparadas com a poli( $\epsilon$ -caprolactona) apresentaram potencial zeta negativo ( $-23,30 \pm 0,27$  mV e  $-24,31 \pm 1,68$  mV). Estes valores estão de acordo com a literatura que descreve valores negativos para a poli( $\epsilon$ -caprolactona) e justificam-se pela presença do grupamento éster (MULLER *et al.*, 2001). Assim como para as formulações anteriores, a presença da indometacina deixou mais negativo o valor de potencial zeta. A representação gráfica do potencial zeta das suspensões de nanocápsulas pode ser visualizada na Figura 6.

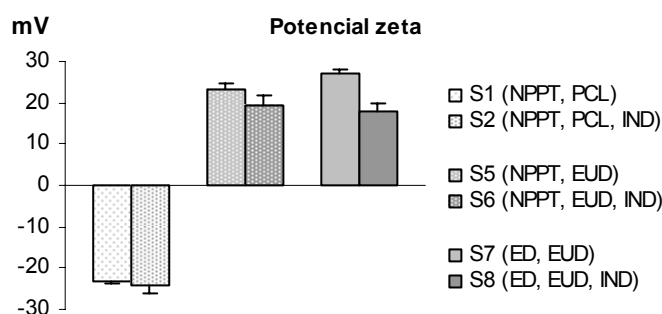


Figura 6. Potencial zeta das suspensões de nanocápsulas (formulações S1, S2, S5, S6, S7 e S8).

O doseamento das formulações contendo indometacina situou-se entre 93,3 e 95,6%. Através da técnica de ultrafiltração centrifugação as taxas de associação da indometacina às nanocápsulas, para todas as suspensões, foram próximas a 100%, correspondente ao teor total. Resultados similares, já descritos em trabalhos anteriores (WEISS, 2001; OBACH, 2002; CRUZ, 2005), são justificados pela elevada solubilidade da indometacina na fase oleosa (triglicerídeos de cadeia média) e pelo coeficiente de partição O/A favorável à sua permanência na fase oleosa das nanocápsulas.

## 5.2 MICROPARTÍCULAS NANORREVESTIDAS

Foi possível, através da secagem por aspersão, obter-se pós, a partir das nanocápsulas contendo indometacina (formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8), na presença de dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem; e das nanocápsulas vazias, na presença do núcleo orgânico-inorgânico contendo indometacina. A Tabela 9 relaciona as características das micropartículas nanorrevestidas.

Tabela 9. Micropartículas nanorrevestidas obtidas a partir de suspensões de nanocápsulas.

Formulação	Polímero*	Método de preparo das suspensões*	Indometacina
M1	PCL	NPPT	Núcleo
M2	PCL	NPPT	Nanocápsulas
M3**	PCL	ED	Núcleo
M4**	PCL	ED	Nanocápsulas
M5	E RS	NPPT	Núcleo
M6	E RS	NPPT	Nanocápsulas
M7	E RS	ED	Núcleo
M8	E RS	ED	Nanocápsulas

\*PCL= poli( $\epsilon$ -caprolactona) 65.000 g/mol, E RS= Eudragit<sup>®</sup> RS100; NPPT= nanoprecipitação, ED= emulsificação-difusão

\*\* Não foi possível a preparação das formulações 3 e 4 devido à precipitação do polímero durante a preparação das suspensões.

### 5.2.1 Rendimento e teor de umidade

Os rendimentos obtidos, apresentados na Tabela 10, (entre 50 e 71 %) foram comparáveis com os observados em outros trabalhos do grupo. Entretanto, deve-se considerar que no presente trabalho foi utilizado outro equipamento de secagem por aspersão (MSD<sup>®</sup> 1.0 – LM) com dimensões e parâmetros diferentes ao empregado em trabalhos anteriores (Mini Spray-dryer Büchi<sup>®</sup> 190 - BÜCHI). Além disso, foi utilizado atomizador de 0,8 mm de diâmetro, enquanto que nos outros trabalhos havia sido utilizado atomizador de 0,7 mm.

A secagem por aspersão pode ser dividida em quatro etapas: primeiro a aspersão do líquido em forma de pequenas gotículas, depois a mistura do agente de secagem com as gotas formadas; na seqüência a secagem das gotas (evaporação); e por fim a separação do produto seco arrastado pela corrente de gás (MASTERS, 1985).

Nesse sentido, inúmeros trabalhos têm demonstrado que os parâmetros das etapas do processo de secagem por aspersão, incluindo equipamento e amostra, são fundamentais para caracterizar os produtos obtidos (ONEDA e RÉ, 2003, GOULA *et al.*, 2004). MÜLLER (2003) e BECK (2005) avaliaram os parâmetros da secagem por aspersão para sistemas microparticulados contendo nanopartículas, evidenciando diferentes resultados ao variar, principalmente a temperatura de entrada e o fluxo de alimentação.

As condições de entrada do atomizador (pressão, vazão e temperatura) e as relativas ao líquido (vazão, viscosidade, tensão superficial, densidade e concentração de sólidos dissolvidos) diferenciam, a geometria das partículas produzidas. Assim, a etapa de aspersão define a distribuição inicial do tamanho das gotas e determina, indiretamente o tamanho e as características das partículas secas produzidas (ONEDA e RÉ, 2003; GOULA *et al.*, 2004).

Outras condições relativas ao equipamento e os parâmetros do gás de arraste do produto seco influenciam as partículas secas. Em um trabalho, FOSTER e LEATHERMAN, (1995) avaliaram que o aumento da câmara de secagem e a mudança do sistema de atomização, de pneumático para o sistema por pressão, ocasionaram alteração no tamanho das partículas e na densidade bruta dos pós.

De uma forma geral, os rendimentos dos pós das formulações no qual o fármaco estava associado ao núcleo (formulações M1, M5 e M7) foram inferiores quando comparados com o fármaco associado às nanocápsulas (formulações M2, M6 e M8), entretanto os valores de desvio padrão observados não favorecem a comparação (Tabela 10).

Dessa maneira, os valores observados e o desvio padrão encontrado (Tabela 10) não permitem a comparação em relação à influência do método de preparação das nanocápsulas, formulações M5 com M7 e M6 com M8, obtidas pelo método da emulsificação com as preparadas por nanoprecipitação. Da mesma forma, não foi possível a comparação das formulações M1 com M5 e M2 com M6, em relação ao polímero empregado.

Tabela 10. Rendimentos da operação de secagem e teor de umidade das micropartículas nanorrevestidas.

Formulação	Polímero	Método	Indometacina	Rendimento (% ± DP)	Umidade (% ± DP)
1	PCL	NPPT	Núcleo	56 ± 8	0,63 ± 0,06
2	PCL	NPPT	Nanocápsulas	66 ± 10	0,66 ± 0,19
3	PCL	ED	Núcleo	-	-
4	PCL	ED	Nanocápsulas	-	-
5	E RS	NPPT	Núcleo	60 ± 10	0,76 ± 0,11
6	E RS	NPPT	Nanocápsulas	71 ± 12	0,82 ± 0,02
7	E RS	ED	Núcleo	50 ± 5	0,71 ± 0,08
8	E RS	ED	Nanocápsulas	62 ± 7	0,67 ± 0,10

\*DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

No que diz respeito aos teores de umidade, todas as formulações apresentaram valores inferiores a 1 %. Estes resultados confirmam a eficiência do processo de secagem e demonstram valores inferiores ao máximo permitido em códigos oficiais (2,5 %) para o dióxido de silício coloidal, matéria-prima predominante (KIBE *et al.*, 2001).

### 5.2.2 Quantificação da indometacina nos pós

Em relação ao doseamento da indometacina nos pós foram verificados para os produtos preparados com poli( $\epsilon$ -caprolactona) valores de recuperação do fármaco de 65,5% para a formulação 1 e 80% para a 2. Para os pós preparados com Eudragit® RS100 foram verificados os valores: 71,1 % para formulação 5 e 73,5 % para a formulação 6; 62,7 % para 7 e 77,9 % para a 8 (Tabela 11).

A comparação das taxas de recuperação, em relação à forma de associação do fármaco com as respectivas formulações, demonstrou rendimentos inferiores para as formulações 1, 5 e 7 (65,5 %, 71,1 % e 62,7 %, respectivamente) quando a indometacina estava no núcleo; em comparação com as formulações 2, 6 e 8 (80,0 %, 73,5 % e 77,9 %, respectivamente) nas quais a indometacina estava associada às nanocápsulas.

Os teores de indometacina nas micropartículas nanorrevestidas situaram-se entre 11,8 mg/ g a 15,0 mg/ g. Para o núcleo a taxa de recuperação foi de 92,4 % e o teor de indometacina foi 44 mg/ g.



Tabela 11. Taxas de recuperação e teores de indometacina das micropartículas nanorrevestidas.

<b>Formulação</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método</b>	<b>Indometacina</b>	<b>Taxa de recuperação %</b>	<b>Teor (mg/g ± DP)</b>
<b>M1</b>	PCL	NPPT	Núcleo	65,5	12,3 ± 0,6
<b>M2</b>	PCL	NPPT	Nanocápsulas	80,0	15,0 ± 2,2
<b>M3</b>	PCL	ED	Núcleo	-	-
<b>M4</b>	PCL	ED	Nanocápsulas	-	-
<b>M5</b>	E RS	NPPT	Núcleo	71,1	13,3 ± 0,6
<b>M6</b>	E RS	NPPT	Nanocápsulas	73,5	13,8 ± 1,0
<b>M7</b>	E RS	ED	Núcleo	62,7	11,8 ± 0,4
<b>M8</b>	E RS	ED	Nanocápsulas	77,9	14,6 ± 0,8
<b>Núcleo</b>	-	-	-	92,4	44,0 ± 0,5

\*DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Durante a etapa de secagem das formulações observou-se aderido, no ciclone do equipamento, pó com certa untuosidade. Pode-se atribuir esta untuosidade aos tensoativos e/ou ao óleo presente nas suspensões de nanocápsulas. Neste sentido, a indometacina poderia, em parte, estar associada a este pó, havendo conseqüentemente uma diminuição da concentração de fármaco no produto coletado, justificando os resultados dos teores apresentados na Tabela 11.

Nesse sentido, BECK (2005) demonstrou a influência da temperatura de entrada nas taxas de recuperação de sistemas microparticulados nanorrevestidos, tendo sido considerada como temperatura ideal 170°C. Além disso, no mesmo trabalho foram descritas taxas de recuperação do diclofenaco (na forma ácida) entre 105 e 160 %, devido à adesão do pó na câmara de secagem que causou segregação da formulação e sua concentração no produto final.

Cabe ressaltar que, as micropartículas preparadas neste trabalho foram originadas de suspensões de nanocápsulas contendo baixas concentrações de

tensoativos (0,383 g/100 mL), e o monooleato de sorbitano (Span<sup>®</sup> 80, EHL 4,3) foi empregado na preparação destas nanoestruturas e, estas posteriormente utilizadas na secagem por aspersão de micropartículas nanorrevestidas.

### *5.2.3 Microscopia eletrônica da varredura*

A análise através de MEV demonstrou para as todas as formulações em aumento de 1000 x (Figura 7: 1a, 2a, 5a, 6a, 7a e 8a) partículas esféricas, irregulares, com ampla distribuição de tamanho, e aparentemente similares entre si. Entretanto, observa-se que as formulações 1, 5 e 7, obtidas a partir do núcleo apresentaram estruturas mais irregulares se comparadas com as formulações correspondentes preparadas com o fármaco associado às nanocápsulas (formulações M2, M6 e M8).

A análise morfológica das micropartículas M2, M6 e M8 (Figura 7: 2a, 6a e 8a) demonstrou que as micropartículas apresentaram-se visualmente menores do que as observadas na fotomicrografia do Aerosil<sup>®</sup> 200 (Figura 8: Aa). Para as formulações M1, M5 e M7 (Figura 7: 1a, 5a e 7a) visualiza-se estruturas irregulares correspondendo ao núcleo e semelhantes a este (Figura 8: Na).

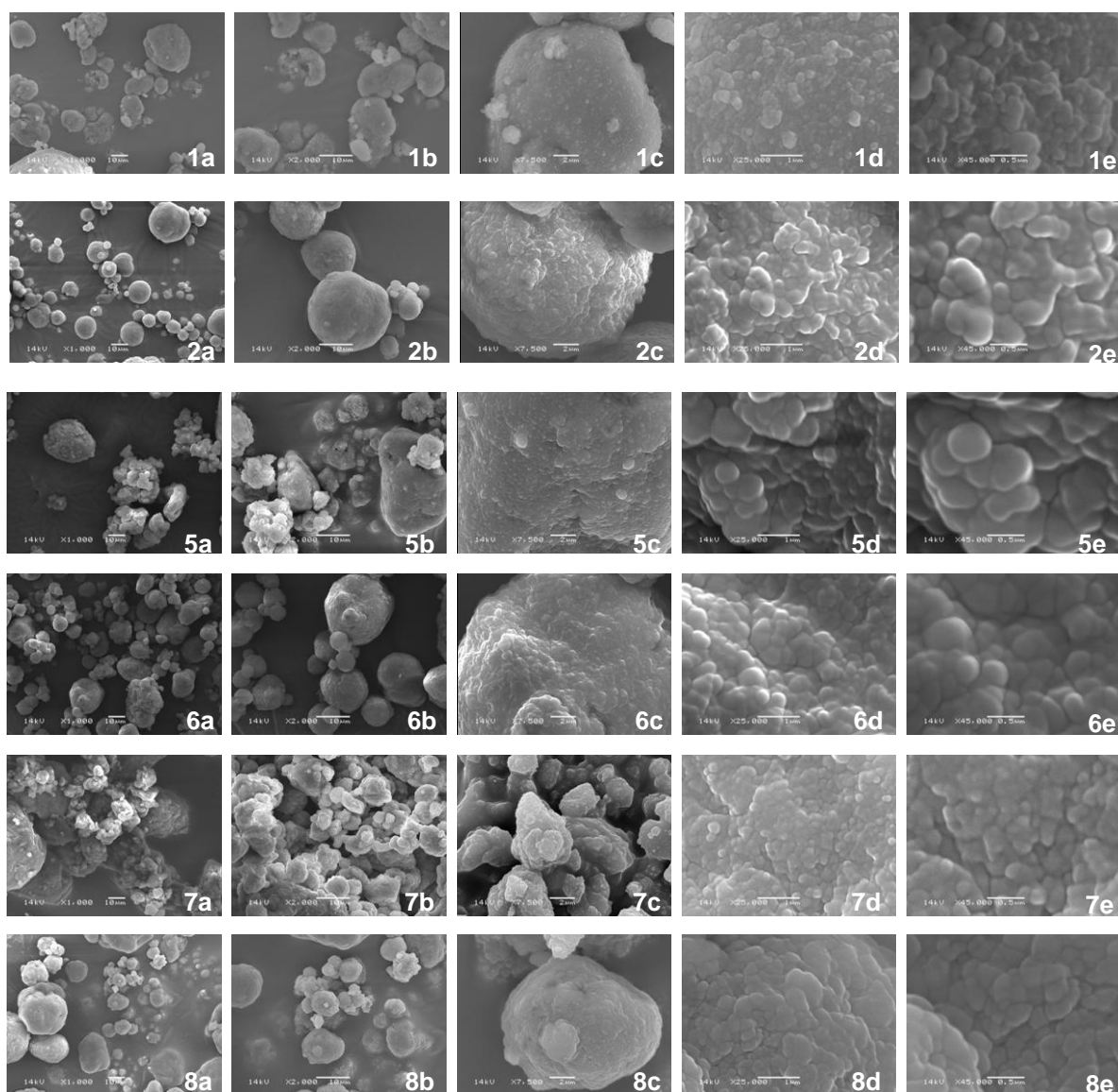


Figura 7. Fotomicrografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas 1, 2, 5, 6, 7, e 8 magnitudes 1000 x (a), 2000 x (b), 7500 x (c), 25000 x (d) e 45000 x (e).

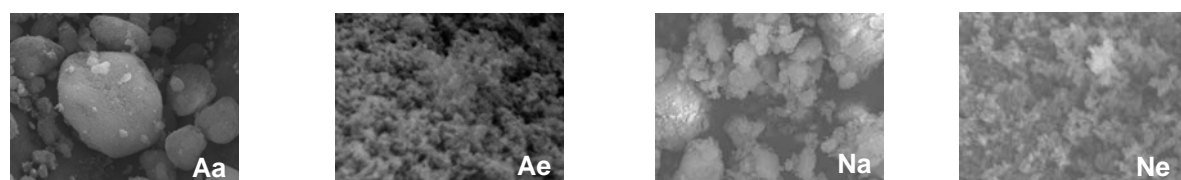


Figura 8. Fotomicrografias do Aerosil<sup>®</sup> 200 (A) e do núcleo (N), magnitudes 1000 x (a) e 45000 x (e).

Quando observadas a um aumento de 7500 x (Figura 7: 1c, 2c, 5c, 6c, 7c e 8c), as formulações mostraram a presença de nanopartículas depositadas à

superfície das micropartículas.

Em aumentos superiores (25000 x e 45000 x) (Figura 7: 1d, 2d, 5d, 6d, 7d e 8d; 1e, 2e, 5e, 6e, 7e e 8e) observa-se aspecto similar para o nanorrevestimento das formulações, estruturas nanométricas, cujos diâmetros não necessariamente correspondem às suspensões coloidais de origem, recobrimo as micropartículas.

Para as formulações preparadas com poli( $\epsilon$ -caprolactona) os diâmetros nas suspensões aquosas situaram-se em torno de 370 nm. Por outro lado, observando as imagens da formulação M1 na forma pulverulenta verifica-se partículas em torno de 200 nm e para a formulação M2, em torno de 300 nm (Figura 7: 1e e 2e). Para o Eudragit<sup>®</sup> RS100 as suspensões originais apresentavam diâmetro em torno de 150 nm e as formulações M5 e M6 na forma de micropartículas (Figura 7: 5e e 6e) em torno de 200 nm, e para as formulações M7 e M8 (Figura : 7e e 8e) as suspensões em torno de 215 nm e os pós em torno de 200 nm.

Para justificar as diferenças de medidas, deve-se considerar que a metodologia (PSC) de determinação do diâmetro das suspensões de nanocápsulas mede o raio hidrodinâmico das partículas em suspensão aquosa. Por sua vez, a análise das formulações pulverulentas através de MEV avalia partículas secas e aglomeradas. Por esta razão, as imagens das fotomicrografias podem ser interpretadas, em aumentos de 45000 x, como sendo estruturas nanométricas todas da mesma ordem de grandeza. Também, é interessante mostrar que as nanocápsulas parecem parcialmente fundidas entre si provavelmente devido ao recobrimento das nanocápsulas por algum dos componentes da formulação.

#### 5.2.4 Microscopia óptica

As formulações também foram analisadas morfológicamente através do conjunto de imagens obtidas por microscopia óptica. O aspecto visual das micropartículas dispersas em água demonstrou que os pós são adequados para a ressuspensão.

O Aerosil® 200 foi analisado ao ar e na água em luz normal, o núcleo e a indometacina foram analisados no ar, na água com luz normal, e na água com luz polarizada (Figuras 9, 10 e 11).

O Aerosil® 200 apresentou imagens aglomeradas sem forma e delimitação definidas. Ao ar os contornos foram menos aparentes (Figura 9: Aa) e quando disperso em água (Figura 9: Ab) foi possível observar imagens mais esféricas e também aglomeradas. Não foi possível a visualização quando a amostra foi submetida à luz polarizada.

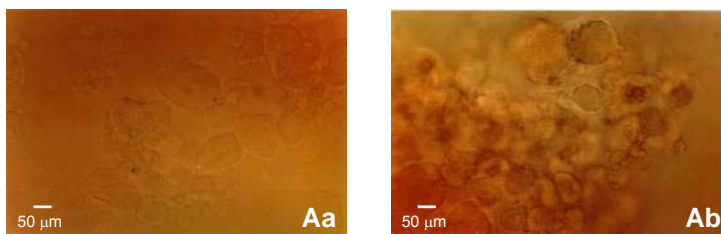


Figura 9. Fotografias do Aerosil® 200 observado no ar (Aa) e na água (Ab) [luz normal (120x)].

O núcleo apresentou imagem similar à do Aerosil® 200 (Figura 10: Na), porém quando analisado disperso em água (Figura 10: Nb) o núcleo exibiu contornos mais definidos e o aglomerado menos denso. Foi possível visualizar cristais (Figura 10: Nc) quando a luz polarizada foi empregada. Estes cristais apresentaram-se como uma difração distribuída pelo campo da imagem, não apresentando formato, provavelmente devido à técnica empregada para a preparação do núcleo, na qual a indometacina foi solubilizada em acetona e misturada ao dióxido de silício e após a secagem o núcleo triturado, por isso visualiza-se o dióxido de silício alterando a

estrutura dos cristais.

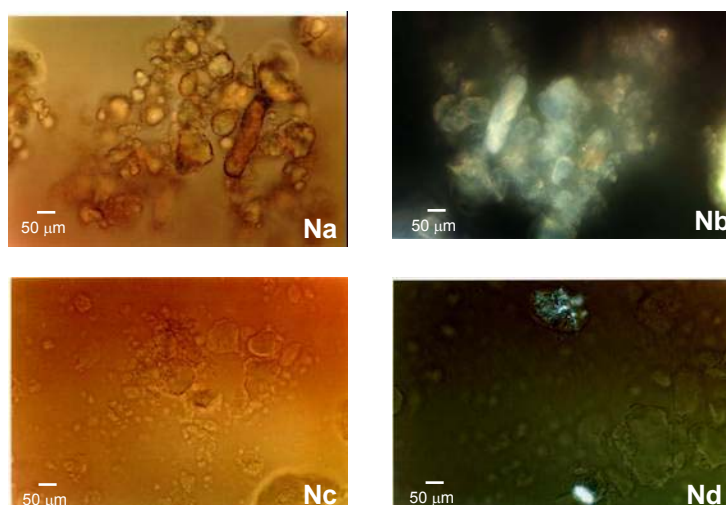


Figura 10. Fotografias do núcleo observado no ar (Na) [luz normal (120x)], (Nb) [luz polarizada (120x)] e na água (Nc) [luz normal (120x)], (Nd) [luz polarizada (120x)].

A indometacina pura apresentou-se na forma de cristais bem definidos, aparentemente em forma de losango (Figura 11: Ia e Ib). Na imagem com luz polarizada (Figura 11: Ic) foi possível visualizar a difração dos cristais.

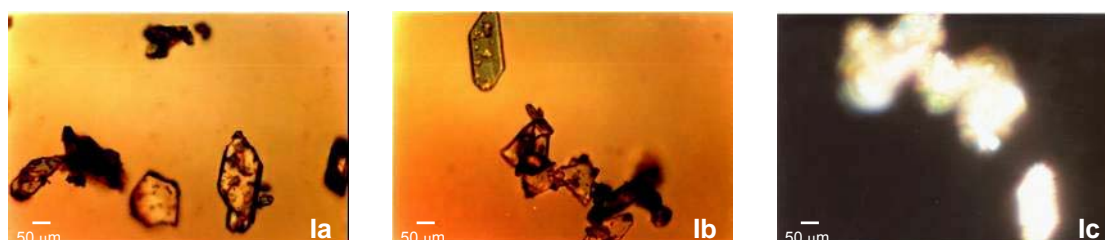


Figura 11. Fotografias da indometacina observada no ar (Ia) e na água (Ib) [luz normal (120x)]; e na água (Ic) [luz polarizada (120x)].

Na Figura 12 é possível observar que as formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8, quando analisadas no ar sob luz normal apresentam-se com características morfológicas irregulares, em aglomerados (Figura 12: 1a, 2a, 5a, 6a, 7a e 8a). As imagens correspondentes às micropartículas dispersas em água (Figura 12: 1b, 2b, 5b, 6b, 7b e 8b) permitem visualizar o tamanho reduzido das mesmas e o formato predominantemente esférico. Quanto à presença de cristais, é possível visualizá-los inseridos nas micropartículas através da difração nas imagens (Figura 12: 1c, 2c, 5c, 6c, 7c e 8c).

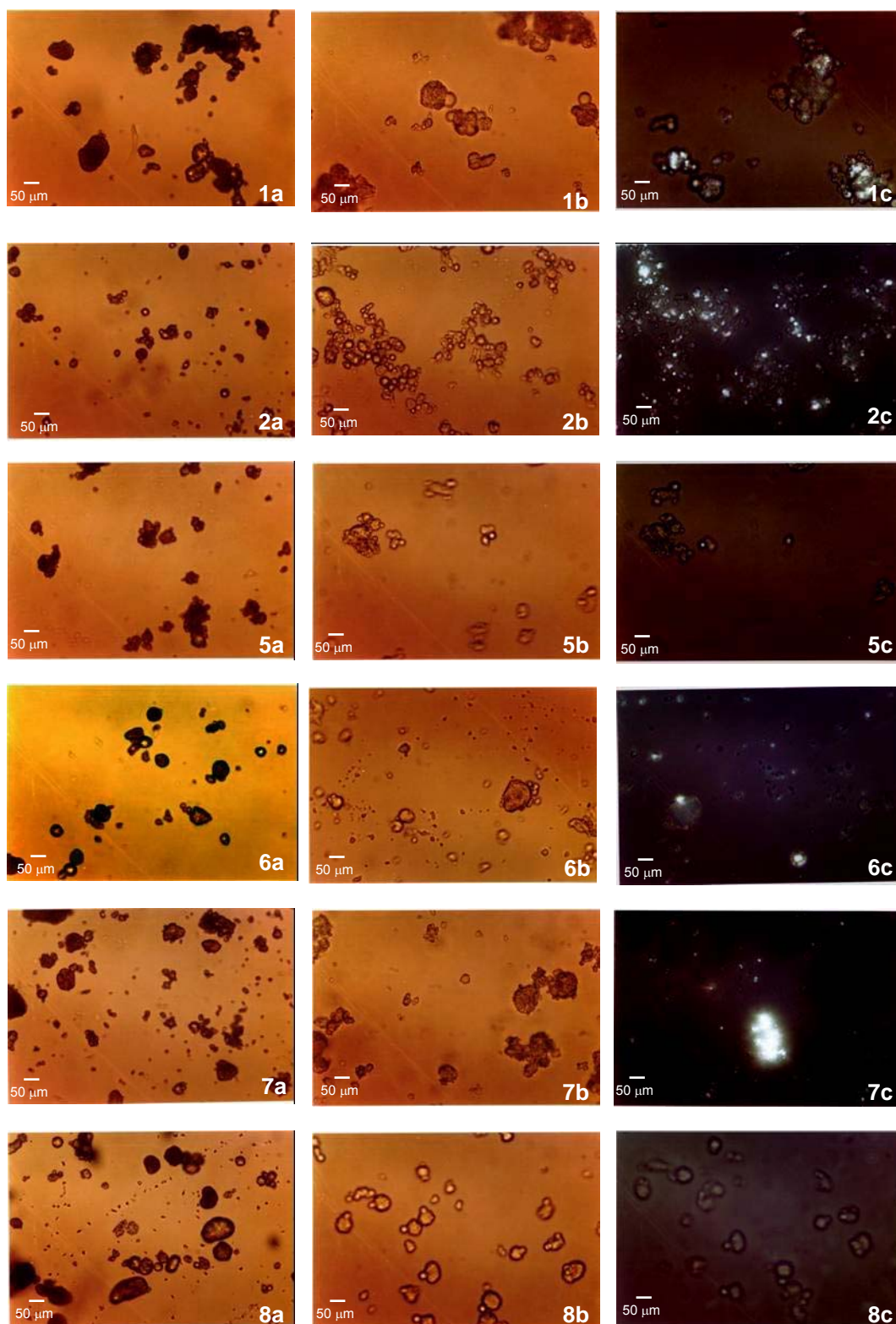


Figura 12. Fotografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas M1, M2, M5, M6, M7 e M8 observadas no ar (a) e na água (b) [luz normal (120x)]; e na água (c) [luz polarizada (120x)].

### 5.2.5 Determinação da área superficial e distribuição de tamanho de poros

A determinação da área superficial, do volume, tamanho e distribuição de poros das formulações foi realizada através das isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio e os resultados analisados conforme os métodos de BET e BJH. O Aerosil® 200, adjuvante de secagem das micropartículas nanorrevestidas, caracteristicamente não apresenta poros (KIBE *et al.*, 2001) e a área superficial determinada experimentalmente ( $213 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ ) é conseqüência da agregação de suas partículas primárias as quais os diâmetros variam entre 10 e 30 nm.

As áreas superficiais (Tabela 12) das micropartículas nanorrevestidas apresentaram valores inferiores quando comparados com a área superficial do adjuvante de secagem. Esta redução das medidas de área superficial pode ser atribuída à presença das nanoestruturas recobrando os espaços interparticulares do dióxido de silício. As áreas superficiais das formulações M1, M5 e M7 foram maiores quando comparadas com as formulações M2, M6 e M8. Observou-se que as formulações preparadas com o núcleo apresentaram áreas superiores às preparadas com o fármaco contido na nanocápsulas, este resultado provavelmente deve-se a alteração na granulométrica das partículas durante a preparação do núcleo.

Em relação ao método de preparação das nanocápsulas, comparou-se as formulações M5 com M7 e M6 com M8. Foram encontrados valores ligeiramente maiores de área superficial para as formulações preparadas pelo método da nanoprecipitação ( $97$  e  $72 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ ) em relação ao método da emulsificação-difusão ( $73$  e  $64 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ ). Este resultado pode ser atribuído ao menor diâmetro médio das nanocápsulas preparadas por nanoprecipitação, que conduziriam a um revestimento mais uniforme. A comparação em relação aos diferentes polímeros não evidenciou diferenças.

O volume de poros apresentou-se comparável para as formulações, não demonstrando influência das variáveis analisadas. A Figura 13 mostra que o



diâmetro dos poros, para todos os casos foi inferior a 6 nm. Pode-se também observar a redução do volume dos poros para todas as formulações em relação ao medido para o Aerosil® 200 e para o núcleo, demonstrando o recobrimento dos mesmos (Tabela 12).

Tabela 12. Área superficial e volume de poros das micropartículas nanorrevestidas.

<b>Formulação</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método</b>	<b>Indometacina</b>	<b>Área superficial (m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Volume de poros (cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>
<b>M1</b>	PCL	NPPT	Núcleo	98	0,072
<b>M2</b>	PCL	NPPT	Nanocápsulas	74	0,054
<b>M3</b>	PCL	ED	-	-	-
<b>M4</b>	PCL	ED	-	-	-
<b>M5</b>	E RS	NPPT	Núcleo	97	0,069
<b>M6</b>	E RS	NPPT	Nanocápsulas	72	0,043
<b>M7</b>	E RS	ED	Núcleo	73	0,072
<b>M8</b>	E RS	ED	Nanocápsulas	64	0,060
<b>Aerosil® 200</b>	-		-	213	0,307
<b>Núcleo</b>	-		Núcleo	189	0,236

\* R<sup>2</sup>= ≥ 0,9 ≤ 1,0

Em relação ao volume de poros, estes podem ser classificados de acordo com o seu diâmetro. Quando o diâmetro dos poros é maior que 50 nm são considerados macroporos; quando menores que 2 nm, microporos e os intermediários (entre 2 nm e 50 nm) são os mesoporos (IUPAC, 1994). Para todas as amostras foram verificados volumes de poros inferiores a 0,072 cm<sup>3</sup>/g com distribuição de tamanho menor que 6 nm, além disso a técnica empregada é válida para poros de diâmetro entre 2 a 50 nm. Dessa maneira, sugere-se que as áreas superficiais são decorrentes dos mesoporos das partículas, visualizáveis através de microscopia eletrônica de varredura.

BECK (2005) em seu estudo de formulação encontrou, para as micropartículas nanorrevestidas de Eudragit® S100, valores de área superficial e volume de poros de  $131 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$  e  $0,15 \text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$  quando empregadas suspensões de nanoesferas e de  $61 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$  e  $0,04 \text{ cm}^3.\text{g}^{-1}$  para as nanocápsulas. Esses dados apresentam valores próximos aos encontrados para as formulações deste trabalho indicando que os produtos secos por aspersão contendo sistemas nanoestruturados apresentam área superficial e volume de poros da mesma magnitude.

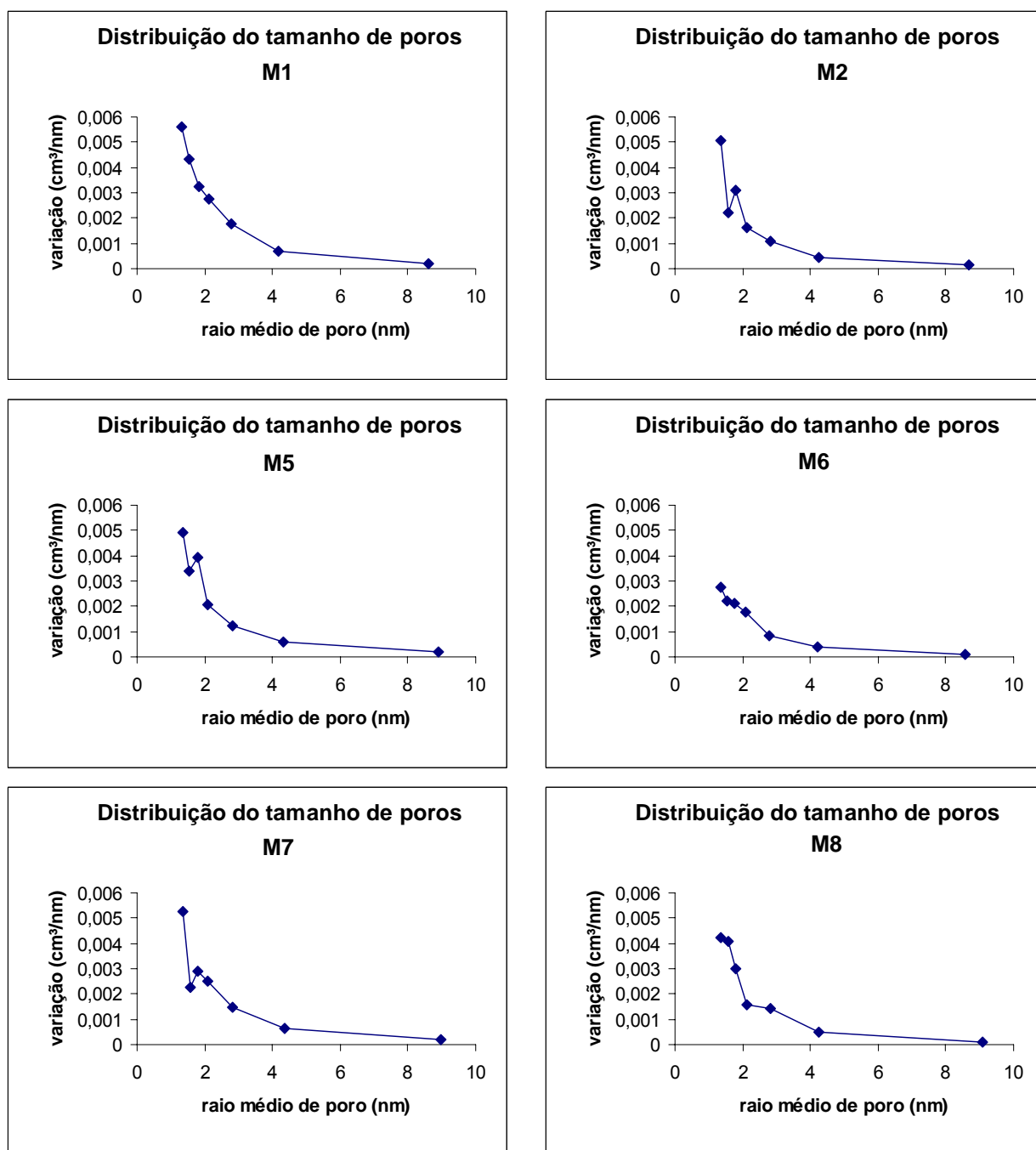


Figura 13. Representação gráfica da distribuição do tamanho de poros.

### 5.2.6 Análise granulométrica das micropartículas

A análise granulométrica das amostras (Tabela 13) foi realizada através de um equipamento Beckman Coulter® (Tornado).

Os valores de SPAN das formulações M2, M6 e M8 (Tabela 13) foram maiores (entre 2,5 e 3,5) em comparação com o Aerosil® 200 (valor igual a 1,5) e das formulações M1, M5 e M7 inferiores (entre 2,2 e 5,3) em comparação com o núcleo (valor igual a 7,9). Quando comparadas duas a duas, as formulações preparadas com o núcleo (M1, M5 e M7) apresentaram maiores valores de SPAN (valores entre 3,5 e 5,3) do que as formulações M2 e M6, nas quais a indometacina foi associada às nanocápsulas (valores entre 2,2 e 2,5). A comparação das formulações em relação ao método de preparação e ao polímero empregado não evidenciou influências desses parâmetros.

O  $d(4,3)$  representa o diâmetro médio em volume e foi escolhido para expressar o diâmetro das micropartículas. Os valores de  $d(4,3)$  sempre foram superiores para as formulações nas quais o fármaco encontra-se no núcleo. O valor de  $d(4,3)$  para o núcleo também é superior ao valor do Aerosil® 200. Sendo assim, as formulações preparadas com o núcleo apresentaram maiores granulometria e dispersão granulométrica. A comparação das formulações em relação ao método de preparação demonstrou valores maiores de  $d(4,3)$  para aquelas obtidas por nanoprecipitação (formulações M5 e M6 em relação às formulações M7 e M8).

No estudo de BECK (2005) os valores de  $d(4,3)$  para as micropartículas nanorrevestidas preparadas a partir das nanoesferas foram entre 12 e 22  $\mu\text{m}$ ; e para as nanocápsulas entre 12,9 e 61,7  $\mu\text{m}$ . Através da avaliação dos parâmetros de secagem por aspersão, foi possível relacionar o aumento da temperatura de entrada na câmara de secagem com a diminuição do tamanho das partículas. Estes resultados indicam, novamente, as características similares dos produtos obtidos através da secagem por aspersão. Valores de  $d(4,3)$  entre 7,24 e 56,70 (Tabela 13) foram encontrados para as micropartículas nanorrevestidas do presente trabalho,

considerando que a temperatura de secagem foi a mesma para todas as formulações, pode-se inferir a influência de outros parâmetros nas diferenças entre os valores encontrados.

OLIVEIRA e colaboradores (2005) relacionaram que o tamanho das gotas formadas durante a etapa de *spray* na secagem por aspersão são proporcionais à viscosidade do líquido e a tensão superficial, e afetam indiretamente a granulometria dos pós produzidos através da secagem por aspersão. Pode-se supor que as viscosidades das formulações preparadas a partir do núcleo foram maiores em relação às obtidas a partir do dióxido de silício puro. Esta mudança de viscosidade pode estar relacionada à alteração da granulometria do núcleo causada durante a etapa de preparação, a qual inclui a cominuição em gral de porcelana, não gerando partículas com granulometria igual a do Aerosil<sup>®</sup> 200.

Tabela 13. Granulometria e distribuição granulométrica das partículas.

Formulação	Polímero	Método	Indometacina	d (4,3) $\mu\text{m}$	d (0,1) $\mu\text{m}$	d (0,5) $\mu\text{m}$	d (0,9) $\mu\text{m}$	SPAN
<b>M1</b>	PCL	NPPT	Núcleo	56,70	5,45	34,42	126,80	3,52
<b>M2</b>	PCL	NPPT	Nanocápsulas	8,76	0,99	6,78	18,32	2,56
<b>M3</b>	PCL	ED	-	-	-	-	-	-
<b>M4</b>	PCL	ED	-	-	-	-	-	-
<b>M5</b>	E RS	NPPT	Núcleo	23,04	2,53	12,65	69,90	5,32
<b>M6</b>	E RS	NPPT	Nanocápsulas	19,61	3,65	13,34	32,82	2,18
<b>M7</b>	E RS	ED	Núcleo	12,33	1,10	6,126	27,71	4,34
<b>M8</b>	E RS	ED	Nanocápsulas	7,24	0,71	4,67	18,56	3,82
<b>Aerosil 200<sup>®</sup></b>	-	-	-	21,80	8,61	19,17	37,83	1,52
<b>Núcleo</b>	-	-	Núcleo	76,44	4,005	29,00	232,9	7,893

d (4,3)  $\mu\text{m}$ : diâmetro médio em volume.

d (0,1)  $\mu\text{m}$ : diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada.

d (0,5)  $\mu\text{m}$ : diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada.

d (0,9)  $\mu\text{m}$ : diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada.

SPAN: dispersão granulométrica.

### 5.2.7 Determinação do diâmetro e do potencial zeta nas micropartículas ressuspensas

As micropartículas nanorrevestidas foram ressuspensas na mesma diluição (em água) das suspensões aquosas antes da secagem por aspersão. Após filtração em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  as formulações foram diluídas 500 vezes em água ultra-pura para a leitura do potencial zeta. Os valores dos diâmetros estão descritos na Tabela 14 e representados na Figura 14.

Tabela 14. Diâmetro das partículas e potencial zeta das formulações de micropartículas nanorrevestidas ressuspensas.

Formulação	Polímero	Método	Indometacina	Diâmetro (nm)	Potencial zeta (mV)
<b>M1</b>	PCL	NPPT	Núcleo	300,63 $\pm$ 6,12	-13,63 $\pm$ 3,29
<b>M2</b>	PCL	NPPT	Nanocápsulas	291,67 $\pm$ 101,97	-23,81 $\pm$ 4,73
<b>M3</b>	PCL	ED	-	-	-
<b>M4</b>	PCL	ED	-	-	-
<b>M5</b>	E RS	NPPT	Núcleo	272,07 $\pm$ 34,86	-2,97 $\pm$ 2,58
<b>M6</b>	E RS	NPPT	Nanocápsulas	332,70 $\pm$ 81,32	-18,17 $\pm$ 3,67
<b>M7</b>	E RS	ED	Núcleo	367,60 $\pm$ 332,00	-7,63 $\pm$ 2,62
<b>M8</b>	E RS	ED	Nanocápsulas	336,33 $\pm$ 200,79	-16,48 $\pm$ 2,75
<b>Branco 1</b>	PCL	NPPT	-	350,90 $\pm$ 69,07	-13,16 $\pm$ 2,28
<b>Branco 2</b>	E RS	NPPT	-	270,57 $\pm$ 89,12	-17,78 $\pm$ 1,51
<b>Branco 3</b>	E RS	ED	-	197,20 $\pm$ 89,04	-18,26 $\pm$ 3,29

Ao comparar os diâmetros das suspensões originais com os valores obtidos após a ressuspensão observa-se que os mesmos mantiveram-se similares, em torno de 300 nm, para todas as formulações, inclusive para aquelas preparadas sem o fármaco (branco). Entretanto, em todos os casos, através da análise do desvio padrão, verifica-se um aumento da polidispersão, provavelmente devido à redispersão em agregados pela presença do polissorbato 80 e do dióxido de silício.

Comparando-se as micropartículas preparadas sem o fármaco (branco) não foi possível verificar alguma diferença nos diâmetros, podendo-se, então, concluir que o fármaco não afetou o diâmetro das micropartículas secas ressuspensas.

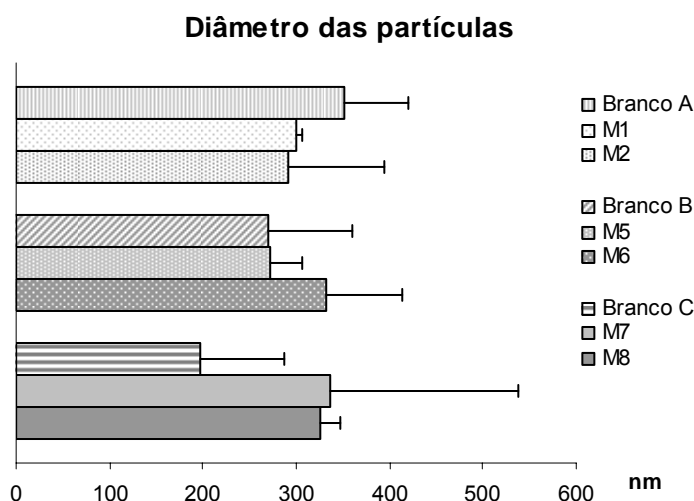


Figura 14. Diâmetro das partículas das micropartículas nanorrevestidas.

O potencial zeta das micropartículas ressuspensas foi comparado com os valores das suspensões originais. Para as suspensões S1 e S2 os valores iniciais eram próximos a -24 mV, para as micropartículas verifica-se para a formulação M1 aproximadamente, -13 mV e para a M2, -24 mV. Para as suspensões S5 e S6 os valores eram próximos a +20 mV e para os pós próximos a -3 mV e a -18 mV, respectivamente. Para as suspensões S7 e S8, próximos a +27 mV e a +18 mV, e para os pós aproximadamente -8 mV e -17 mV, respectivamente.

Em relação às suspensões originais, o potencial zeta alterou significativamente nas formulações preparadas com Eudragit® RS100. Nas suspensões originais os valores de potencial zeta eram positivos e nos pós ressuspensos, negativos. Pode-se justificar esta alteração pela possível interação molecular do grupamento carboxílico da indometacina com os grupamentos amônio quaternários do polímero. A ligação dos grupamentos promoveria, inicialmente, a neutralização de cargas e após a inversão, pois haveria indometacina em excesso associada à superfície das estruturas. Além disso, o tensoativo e o próprio dióxido de silício da formulação podem alterar a carga de superfície. Esta influência pode

ser observada nos valores igualmente negativos das formulações brancas, nas quais a indometacina não estava presente.

Ao comparar os valores de potencial zeta das formulações com o branco observa-se (Figura 15) que as formulações M5 e M7 apresentaram comportamento diferente do seu branco. As formulações M6 e M8 apresentaram valores próximos ao branco. Desta forma, pode-se considerar que a forma de associação do fármaco altera o potencial zeta, indicando uma interação diferente do polímero com os demais componentes da formulação.

As análises dos resultados das formulações M1 e M2 permitem observar um comportamento diferenciado. A formulação na qual a indometacina esta associada ao núcleo apresentou valores mais negativos, enquanto que a formulação M1 ficou mais próxima do branco.

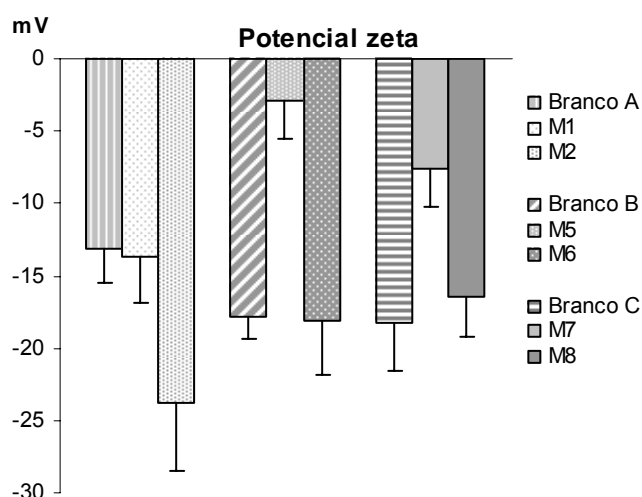


Figura 15. Potencial zeta das micropartículas nanorrevestidas.

MÜLLER e colaboradores em 2001 também avaliaram o diâmetro e o potencial zeta de micropartículas nanorrevestidas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo diclofenaco nas nanoestruturas. As suspensões de nanocápsulas apresentaram diâmetros entre 281 nm sem fármaco e 340 nm com diclofenaco e potencial zeta de -15,4 mV e -17,1 mV, respectivamente. O ressuspendido apresentou diâmetro aproximado de 192 nm e o potencial zeta -20,1 mV, indicando uma pequena redução do diâmetro medido. Porém, não foram visualizadas por MEV alterações



estruturais do sistema após a secagem por aspersão. Por outro lado, as micropartículas obtidas de nanoesferas sofreram desestruturação, visualizadas através de MEV e avaliadas por DSC. Os valores de diâmetro passaram de 247 nm para 188 nm e o potencial permaneceu com valores entre -18 mV.

No presente trabalho, as análises de diâmetro das partículas dos pós ressuspensos indicam uma alteração das estruturas após o processo de secagem, entretanto estes resultados não necessariamente indicam uma desestruturação do sistema ou a perda da funcionalidade, por exemplo, o controle da liberação. Nesse sentido, GUTERRES e colaboradores (2001) avaliaram a administração oral a ratos Wistar de ressuspensos de produtos secos por aspersão a partir de suspensões de nanocápsulas e de nanoesferas contendo diclofenaco. O estudo de tolerância gastrointestinal demonstrou baixos índices lesionais para as formulações a partir de nanocápsulas de diclofenaco, demonstrando a aplicação potencial desses sistemas ressuspensos na administração oral de fármacos.

### 5.2.8 Liberação *in vitro*

Os percentuais de dissolução da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas e do núcleo encontram-se no Anexo 2 deste trabalho. A eficiência de dissolução calculada para o núcleo apresentou valor de 82 %. Valores de eficiência de dissolução de 76,82 % e de 78,08 % para as formulações M1 e M2, respectivamente; e de 62,88 %, 62,45 %, 58,79 % e 63,40 % para as formulações M5, M6, M7 e M8, respectivamente, foram observados (Tabela 15). A avaliação de eficiência de dissolução demonstrou diferenças em relação ao polímero empregado na formulação, sendo superior quando a poli( $\epsilon$ -caprolactona) foi utilizada.

Tabela 15. Eficiência de dissolução das micropartículas nanorrevestidas.

Formulação	Polímero	Método	Indometacina	Eficiência de dissolução %
<b>M1</b>	PCL	NPPT	Núcleo	76,82 $\pm$ 1,13
<b>M2</b>	PCL	NPPT	Nanocápsulas	78,08 $\pm$ 1,59
<b>M3</b>	PCL	ED	-	-
<b>M4</b>	PCL	ED	-	-
<b>M5</b>	E RS	NPPT	Núcleo	62,88 $\pm$ 1,75
<b>M6</b>	E RS	NPPT	Nanocápsulas	62,45 $\pm$ 2,24
<b>M7</b>	E RS	ED	Núcleo	58,79 $\pm$ 1,27
<b>M8</b>	E RS	ED	Nanocápsulas	63,40 $\pm$ 1,40

\*Cada valor representa a média de três determinações.

A comparação dos valores de eficiência de dissolução das formulações duas a duas resultou nos valores de  $F$  de ANOVA. Em relação à presença da indometacina: M1 e M2: ( $F= 1,8760$ , menor que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ); M5 e M6: ( $F= 0,0697$  menor que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ); e M7 e M8\*: ( $F= 17,8144$ , maior que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ). Em relação ao método de preparação das nanocápsulas: M5 e M7\*: ( $F= 10,7562$  maior que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ); e M6 e M8: ( $F= 0,3841$ , menor que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ). Em relação ao polímero: M1 e M5\*: ( $F= 134,4667$  maior que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ); e M2 e M6\*: ( $F= 116,6134$ , maior que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ).

A avaliação dos valores de  $F$  de ANOVA para a eficiência de dissolução apontaram diferenças significativas para a relação entre os polímeros empregados. A comparação da forma de associação da indometacina evidenciou diferença somente entre as formulações M7 e M8, e em relação ao método obtenção das nanocápsulas somente para as formulações M5 e M7. Entretanto, não foi possível estabelecer uma relação entre estas variáveis, tendo em vista os resultados que seguem.

A comparação dos perfis de liberação das formulações M1 com M2, M5 com M6 e M7 com M8 em meio intestinal simulado (pH 6,8), através dos fatores de similaridade ( $f_2$ ) e diferença ( $f_1$ ) (Tabela 16) demonstrou que as formulações não são diferentes entre si. As representações gráficas (Figura 16) permitem visualizar este resultado, pois os pontos experimentais se sobrepõem.

Tabela 16. Valores calculados do fator de diferença ( $f_1$ ) e do fator de similaridade ( $f_2$ ) para a dissolução da indometacina a partir de micropartículas nanorrevestidas.

<b>Formulações comparadas</b>	<b>Fator de diferença (<math>f_1</math>)</b>	<b>Fator de similaridade (<math>f_2</math>)</b>
<b>M1 e M2</b>	2	85
<b>M5 e M6</b>	3	81
<b>M7 e M8</b>	9	69
<b>M1 e núcleo</b>	9	61
<b>M5 e núcleo</b>	38	37
<b>M7 e núcleo</b>	50	33

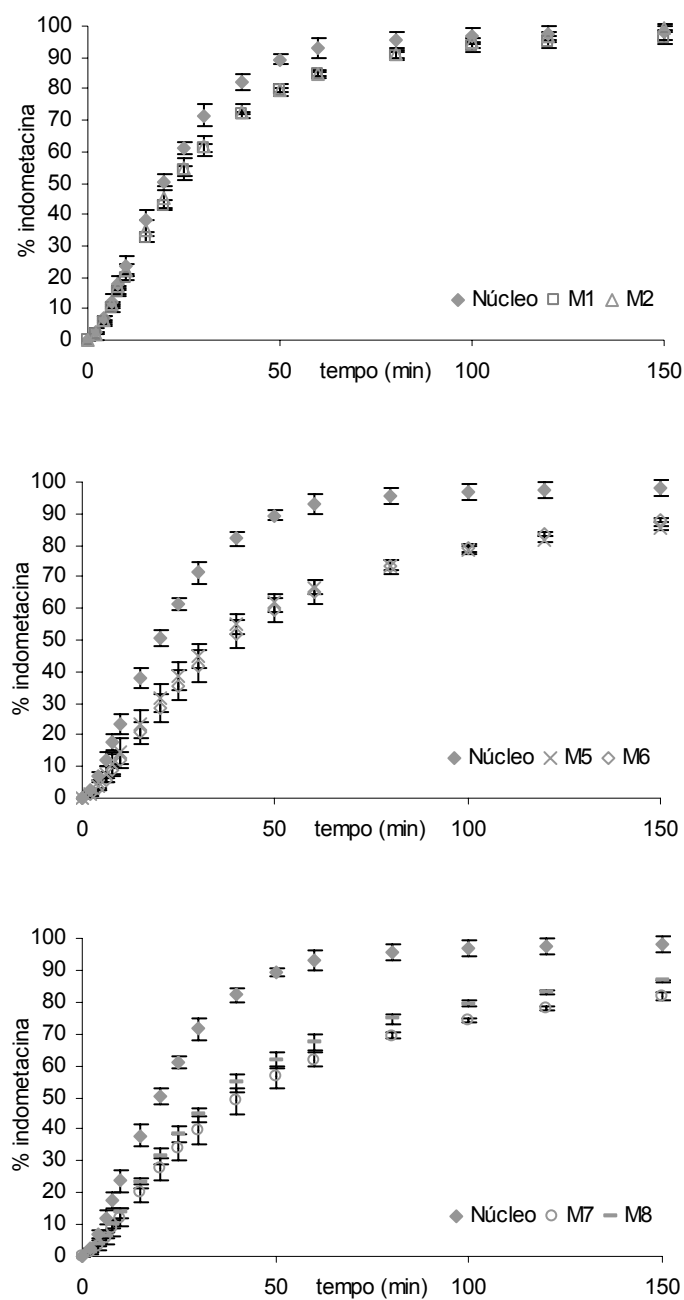


Figura 16. Perfis de liberação da indometacina: comparação da forma de associação da indometacina (formulações M1 e M2; M5 e M6; M7 e M8).

Ao comparar a formulação M1, preparada com poli( $\epsilon$ -caprolactona), com o núcleo através de  $f1/f2$  (Tabela 16) também não observa-se diferença. Entretanto, a comparação das formulações M5 e M7, obtidas através de Eudragit<sup>®</sup> RS100, com o núcleo através de  $f1/f2$  demonstra diferenças entre os perfis, como pode-se visualizar na Figura 16. O polímero empregado na preparação das formulações influenciou os perfis de liberação da indometacina, dessa maneira nas formulações

preparadas com Eudragit® RS100 foi possível observar maior controle na liberação do fármaco por outro lado a poli( $\epsilon$ -caprolactona) foi permeável à indometacina.

A comparação através de  $f1/f2$  em relação ao emprego dos polímeros pode ser analisada na Tabela 17. Os valores encontrados indicam que há diferença entre as formulações, somando-se a essa constatação, a análise de eficiência de dissolução e a visualização gráfica da Figura 17.

Tabela 17. Valores calculados do fator de diferença ( $f1$ ) e do fator de similaridade ( $f2$ ): comparação do polímero empregado nas nanocápsulas.

Formulações comparadas	Fator de diferença ( $f1$ )	Fator de similaridade ( $f2$ )
M1 e M5	21	45
M2 e M6	25	41

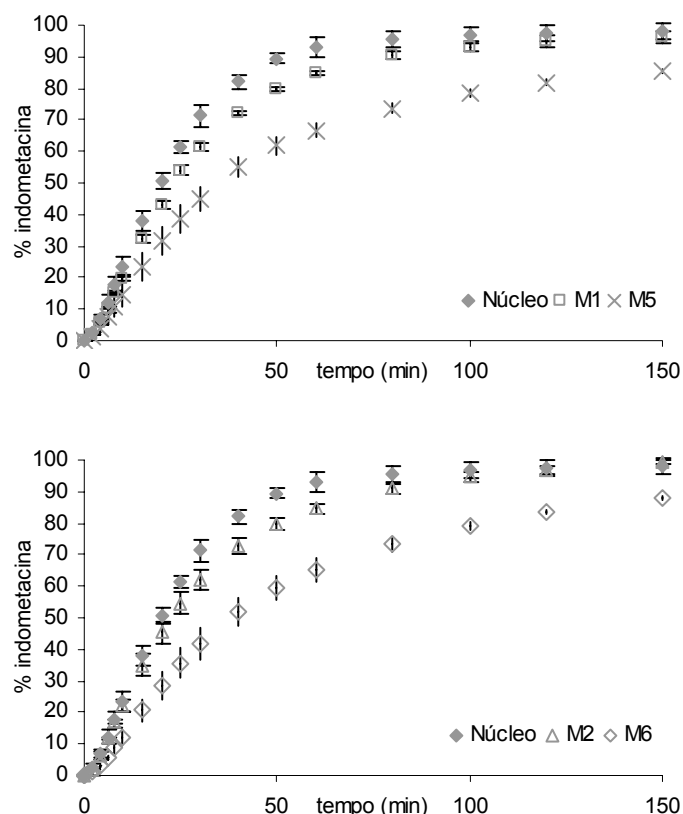


Figura 17. Perfis de liberação da indometacina: comparação do polímero empregado nas nanocápsulas (formulações M1 e M5; M2 e M6).

A comparação através de  $f1/f2$  em relação à técnica de preparação das nanocápsulas, nanoprecipitação ou emulsificação-difusão, (Tabela 18) indica que as formulações são similares, análise esta confirmada pelos valores de eficiência de dissolução, na qual não foi possível estabelecer diferenças e a visualização gráfica da Figura 18.

Tabela 18. Valores calculados do fator de diferença ( $f1$ ) e do fator de similaridade ( $f2$ ): comparação do método de preparação das nanocápsulas.

Formulações comparadas	Fator de diferença ( $f1$ )	Fator de similaridade ( $f2$ )
M5 e M7	8	70
M6 e M8	3	84

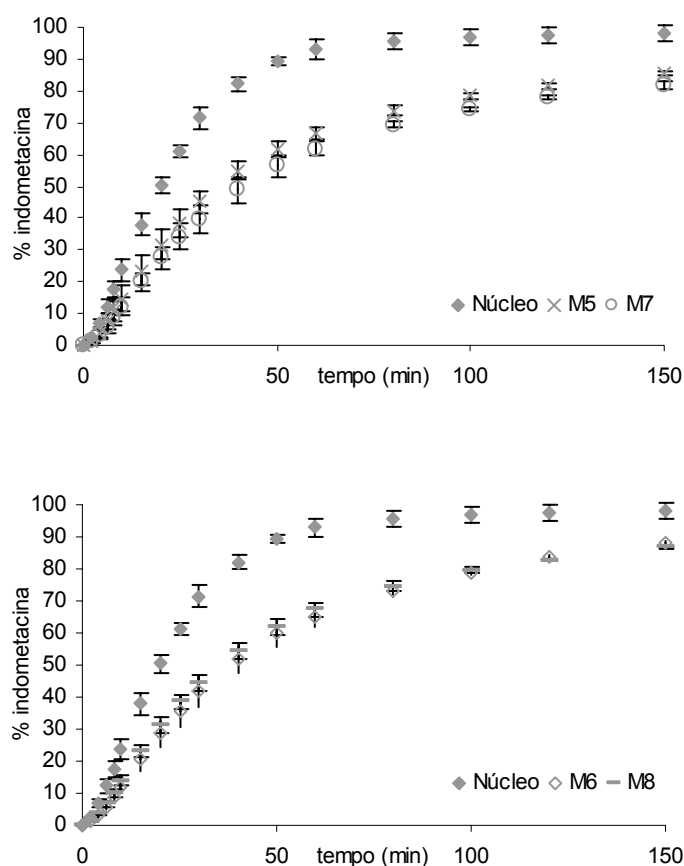


Figura 18. Perfis de liberação da indometacina: comparação do método de preparação das nanocápsulas (formulações M5 e M7; M6 e M8).

A avaliação dos perfis de liberação das micropartículas nanorrevestidas demonstrou haver diferenças significativas em relação ao polímero empregado na preparação das formulações, indicando um controle da liberação para as formulações obtidas a partir do polímero Eudragit® RS100 (Figura 17). Associando-se aos dados de potencial zeta, pode-se inferir a existência de uma ligação molecular entre a indometacina e o grupamento amônio quarternário do polímero, com formação de sal.

### 5.2.9 Modelagem matemática

Através da modelagem matemática pode-se avaliar a aproximação de pontos experimentais a um modelo descrito pela comparação estatística de parâmetros calculados (O'HARA *et al.*, 1998). Sendo assim, os modelos matemáticos (monoexponencial, biexponencial e Weibull) foram avaliados através do melhor ajuste gráfico dos pontos experimentais, maiores coeficientes de correlação e valores de seleção do modelo (MSC) obtidos. O modelo monoexponencial foi o mais adequado para descrever os perfis de liberação do presente trabalho.

A modelagem matemática (ANEXO 3) pelo programa Micromath Scientist® forneceu as constantes cinéticas observadas dos processos  $k$  e os coeficientes de correlação  $r$ , apresentados na Tabela 19. O valor  $k$  relaciona a dissolução do fármaco diretamente com o tempo, sendo esta relação chamada de constante cinética de primeira ordem.

O núcleo apresentou constante cinética  $k$  igual a  $0,036 \text{ min}^{-1}$ . A comparação das constantes cinéticas  $k$  (Tabela 19) das micropartículas nanorrevestidas M1 e M2, demonstrou valores próximos ( $0,0287 \pm 0,0009 \text{ min}^{-1}$  e  $0,0267 \pm 0,0060 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente). Da mesma forma, as formulações M5, M6, M7 e M8 apresentaram valores próximos entre si de constantes cinéticas:  $0,0176 \pm 0,0017 \text{ min}^{-1}$ ;  $0,0167 \pm 0,0017 \text{ min}^{-1}$ ;  $0,0150 \pm 0,0010 \text{ min}^{-1}$  e  $0,0177 \pm 0,0011 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente.

Os tempos de meia vida foram calculados para melhor visualização das diferenças entre as formulações. O núcleo apresentou tempo de meia vida igual a

19,25 minutos. As formulações M1 e M2 apresentaram valores de tempos de meia vida de 24,15 e de 25,96 minutos. Por sua vez, as formulações M5 e M6, tempos de 39,37 e de 41,50 minutos; e para as formulações M7 e M8, tempos de 46,20 e 39,15 minutos. A comparação entre o emprego dos polímeros demonstra haver uma liberação muito mais rápida (em torno de 25 minutos) para as formulações contendo poli( $\epsilon$ -caprolactona) em relação as preparadas com Eudragit<sup>®</sup> RS100 (em torno de 40 minutos). Por outro lado, não foi possível identificar influência do método de obtenção das nanocápsulas e da estratégia de associação da indometacina sobre este parâmetro.

A análise das constantes cinéticas obtidas reforçam a influência do polímero empregado, no caso a poli( $\epsilon$ -caprolactona) *versus* Eudragit<sup>®</sup> RS100, no perfil de dissolução das formulações. Os dados indicam uma velocidade menor para as formulações M5, M6, M7 e M8, todas obtidas a partir de nanocápsulas de Eudragit<sup>®</sup> RS100. A possível interação molecular e, conseqüente, formação de sal, entre o grupamento carboxílico da indometacina e o grupamento amônio quaternário do polímero pode ser responsável pelos perfis de liberação mais lentos das formulações preparadas com este polímero. Além disso, a alta permeabilidade da poli( $\epsilon$ -caprolactona) a fármacos de baixo peso molecular (GIBAUD *et al*, 2004) explicariam os perfis de liberação da indometacina observados para as formulações M1 e M2. Os resultados das análises de potencial zeta também corroboram com esta hipótese de interação molecular.



Tabela 19. Parâmetros do modelo monoexponencial para as formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8.

<b>Parâmetro</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>
<b>Formulação</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0287	0,0009
r	0,9966	0,0014
MSC	4,3640	0,1984
<b>Formulação</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0287	0,0028
r	0,9987	0,0004
MSC	4,9539	0,3259
<b>Formulação</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0176	0,0017
r	0,9927	0,0014
MSC	3,9244	0,2801
<b>Formulação</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0167	0,0017
r	0,9960	0,0020
MSC	4,5273	0,3089
<b>Formulação</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0150	0,0010
r	0,9928	0,0036
MSC	4,0460	0,7073
<b>Formulação</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0177	0,0011
r	0,9943	0,0016
<b>MSC</b>	<b>4,2937</b>	<b>0,3445</b>

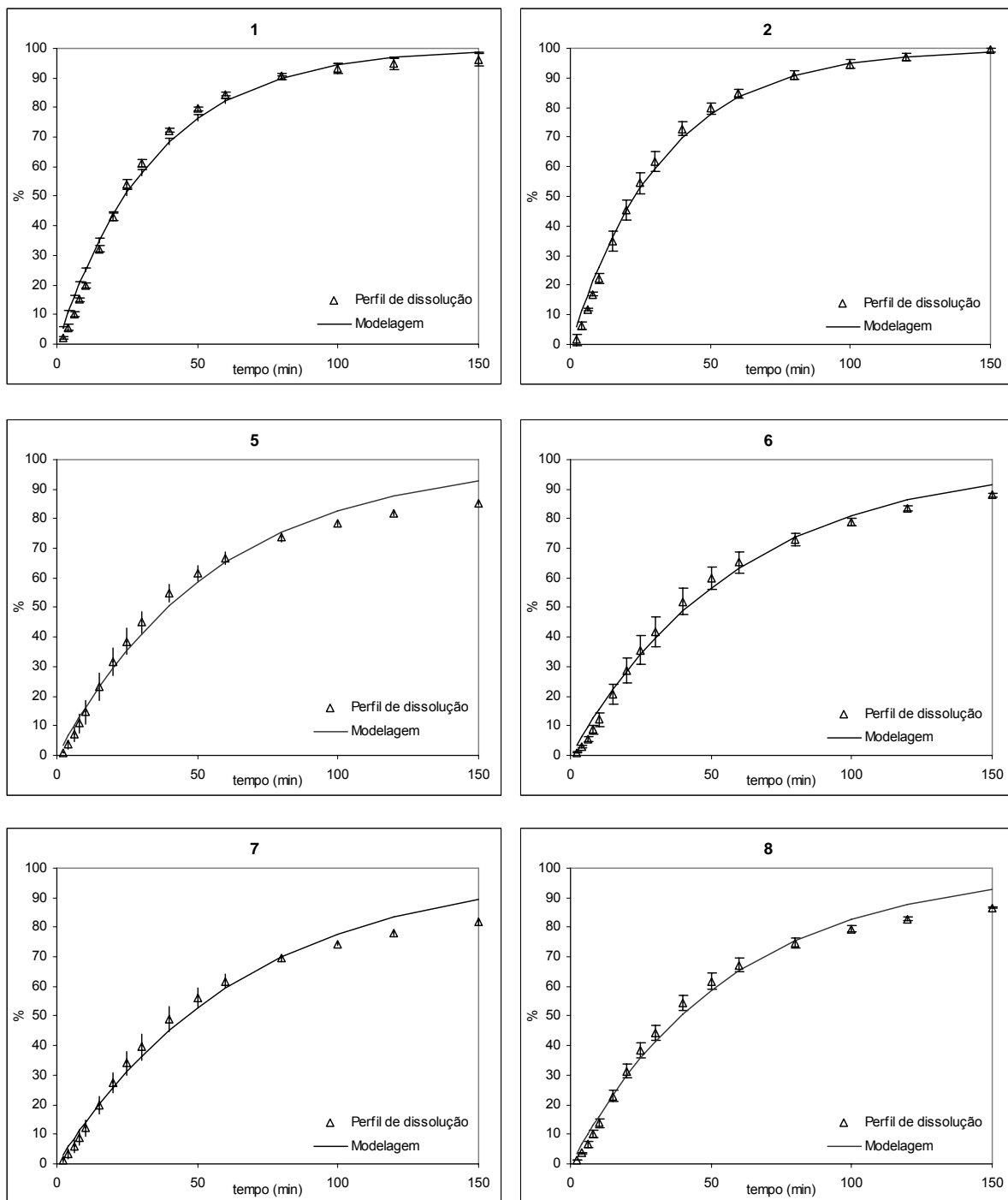


Figura 19. Perfis de dissolução e ajuste ao modelo monoexponencial das formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8.

O modelo semi-empírico da Lei da Potência foi empregado para descrever a liberação da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas. Este modelo relaciona exponencialmente a liberação de uma substância com o tempo, de modo unidimensional. A Lei da Potência apresenta interpretações físicas distintas para os valores de  $n$ , conforme a Tabela 7. Sendo assim, a difusão Fickiana, para a geometria esférica, ocorre quando o valor de  $n$  é igual a 0,43, este valor indica que a liberação da substância é controlada por difusão. Os modelos não-Fickianos apresentam três classes, as quais deferenciam-se em relação à velocidade de difusão do solvente; caso-II, caso anômalo e super caso-II. O caso-II ocorre quando o valor de  $n$  é igual a 0,85 e indica que a liberação da substância é controlada pelo inchamento do sistema. A etapa determinante do processo de liberação, no caso-II, esta relacionada com a velocidade de difusão do solvente em detrimento do relaxamento das macromoléculas do sistema na presença do meio. Valores de  $n$  entre 0,43 e 0,85 indicam o caso anômalo, no qual os fenômenos de difusão e o relaxamento do polímero são da mesma ordem de magnitude. Por sua vez, o super caso-II ocorre quando o valor de  $n$  é maior que 0,85 e a velocidade de difusão do solvente é o fator determinante da liberação (SIEPMANN e PEPPAS, 2001, COSTA e LOBO, 2001, AGNES e ORTEGA, 2003).

A análise da Tabela 20 revela valores de  $n$  maiores que 0,85 para todas as formulações. Esse parâmetro permite classificar o mecanismo de liberação do fármaco, considerando a geometria esférica, como super caso-II. Quando se verificam valores de  $n$  maiores que 1,0; ou, para geometria esférica valores maiores que 0,85, a velocidade de difusão do solvente é muito maior que o relaxamento do polímero, ocorrendo aceleração na penetração do solvente (AGNES e ORTEGA, 2003).

Considerando as propriedades dos polímeros poli( $\epsilon$ -caprolactona) e Eudragit<sup>®</sup> RS100 cabe ressaltar que a permeabilidade de polímeros plásticos e hidrofóbicos depende do grau de cristalinidade, sendo que a permeabilidade é uma função de sua fração amorfa. Além disso, outros fatores influenciam a difusibilidade destes

polímeros; como: a massa molecular elevada, o grau de interligações, o emprego de diluentes e plastificantes (FLORENCE e ATTWOOD, 2003).

Especificamente, para as formulações do presente trabalho que empregam polímeros que não sofrem inchamento em meio aquoso, pode-se aplicar este modelo para descrever o processo de liberação da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas através de mecanismo que considera o sistema como um conjunto de partículas menores nanorrevestidas e aglomeradas, as quais através da penetração do meio de dissolução sofreriam desaglomeração, com conseqüente dissolução da indometacina interiorizada nas partículas ou adsorvida às nanoestruturas. A Figura 20 apresenta a representação esquemática da proposta de liberação da indometacina a partir do sistema considerando o modelo de transporte não-fickano, super caso II.

Tabela 20. Parâmetros da Lei da Potência para as formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8.

Parâmetro	Média	DP
<b>Formulação</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>
a	1,7058	0,1561
n	1,0647	0,3892
r	0,9974	0,0008
MSC	4,7009	0,2914
<b>Formulação</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>
a	2,2173	0,4964
n	0,9904	0,0392
r	0,9957	0,0025
MSC	4,3941	0,6493
<b>Formulação</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>
a	2,0539	0,8996
n	0,8859	0,1046
r	0,9928	0,0030
MSC	3,7353	0,1935
<b>Formulação</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>
a	1,5369	0,4760
n	0,9503	0,0637
r	0,9936	0,0028
MSC	3,8485	0,4940
<b>Formulação</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>
a	1,6071	0,6967
n	0,9226	0,0919
r	0,9944	0,0021
MSC	3,9896	0,3813
<b>Formulação</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>
a	1,9291	0,3060
n	0,9016	0,0352
r	0,9926	0,0013
MSC	3,7099	0,1857

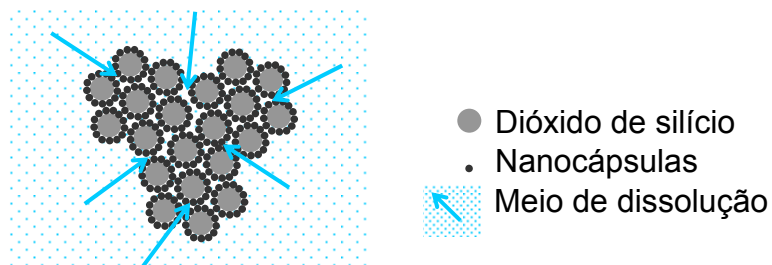


Figura 20. Esquema do mecanismo de dissolução (super caso-II) a partir das micropartículas nanorrevestidas, as setas indicam a penetração do solvente.

### 5.3 MICROPARTÍCULAS NANORREVESTIDAS PREPARADAS EM ETAPA ÚNICA

Nessa seção do presente trabalho foi proposto o desenvolvimento de micropartículas nanorrevestidas preparadas em etapa única, isto é, a indometacina foi associada ao dióxido de silício sem a preparação prévia do núcleo, mediante a mistura física dos componentes (BECK, 2005). As suspensões de nanocápsulas vazias foram preparadas pelo método de nanoprecipitação empregando a poli( $\epsilon$ -caprolactona) e o Eudragit<sup>®</sup> RS 100 como polímeros.

O método da nanoprecipitação foi escolhido em detrimento do método da emulsificação-difusão, pois foi possível a preparação de suspensões de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo 0,383 g/100 mL de tensoativos. Como avaliado na seção 5.1, houve precipitação do polímero durante a etapa de difusão através do método da emulsificação-difusão para as suspensões de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona).

As suspensões que originaram as micropartículas em etapa única foram caracterizadas na seção 5.1.

A Tabela 21 apresenta as formulações obtidas em etapa única.

Tabela 21. Formulações preparadas em etapa única.

<b>Formulação</b>	<b>Polímero</b>	<b>Método</b>	<b>Indometacina</b>
<b>U1</b>	PCL 65.000 g/mol	NPPT	Aerosil <sup>®</sup> 200
<b>U2</b>	Eudragit <sup>®</sup> RS100	NPPT	Aerosil <sup>®</sup> 200

### 5.3.1 Rendimento e teor de umidade

As formulações coletadas apresentaram aspecto pulverulento, com adesão de pó ao ciclone do *spray-dryer*. Os valores de rendimento (Tabela 22) foram, superiores (formulação MU1, 77 % e formulação MU2, 70 %) aos encontrados na seção anterior (formulação M1; 56 % e formulação M5; 60 %). Os teores de umidade apresentaram valores inferiores a 1 %, confirmando a eficiência do processo de secagem. Para o dióxido de silício coloidal, matéria-prima predominante o valor máximo permitido é de 2,5 %, de acordo com os códigos oficiais (KIBE, 2001).

Tabela 22. Rendimentos da operação de secagem e teores de umidade das micropartículas nanorrevestidas, preparadas em etapa única.

Formulação	Rendimento %	Umidade (% ± DP)
MU1	77	0,62 ± 0,14
MU2	70	0,81 ± 0,05

### 5.3.2 Quantificação da indometacina nos pós

A taxa de recuperação da indometacina nos pós para a formulação MU1 foi de 94,4 % e para a formulação MU2 de 135,5 %. O teor de indometacina correspondente foi superior para formulação MU2 comparado com a formulação MU1 (Tabela 23).

Este fenômeno pode ser explicado pela segregação do pó durante a etapa de secagem, ocorrendo concentração do fármaco no pó coletado. BECK (2005) descreveu taxas de recuperação do diclofenaco elevadas para sistemas microparticulados nanorrevestidos, dependendo das condições, valores entre 105 e 160 % foram encontrados e a segregação do pó foi causada pela adesão do mesmo na câmara de secagem e conseqüentemente houve a concentração do produto final.

Tabela 23. Taxas de recuperação e teores de indometacina das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

<b>Formulação</b>	<b>Taxa de recuperação %</b>	<b>Teor (mg/g ± DP)</b>
<b>MU1</b>	94,4	17,7 ± 3,7
<b>MU2</b>	135,5	25,4 ± 3,6

### 5.3.3 Microscopia eletrônica da varredura

A análise através de MEV demonstrou para as formulações em aumento de 1000 x (Figura 21: U1a e U1b) partículas esféricas, irregulares, com ampla distribuição de tamanho, e aparentemente com tamanho superior para formulação MU2. Porém, visualmente menores do que as observadas na fotomicrografia do Aerosil<sup>®</sup> 200 (Figura 8: Aa).

A um aumento de 7500 x (Figura 21: U1b e U2b), as formulações mostraram a presença de nanopartículas depositadas à superfície das micropartículas. Em aumentos superiores (25000 x e 45000 x) (Figura 21: U1d, U2d e U1e, U2e) visualiza-se o nanorrevestimento das formulações onde estruturas de diâmetro nanométrico recobrem as micropartículas.

Além disso, as nanocápsulas parecem parcialmente fundidas entre si provavelmente devido a um fenômeno de coalescência, decorrente da secagem, seja através do recobrimento das nanocápsulas por algum dos componentes da formulação.



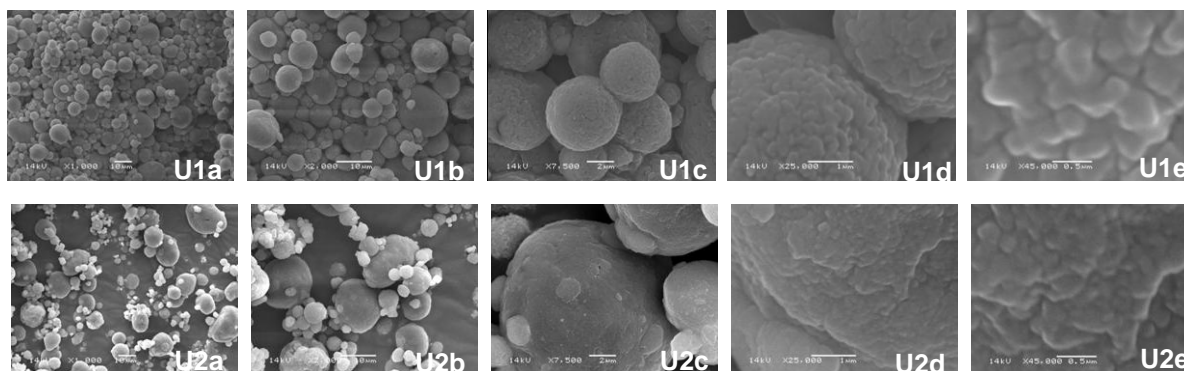


Figura 21. Fotomicrografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas MU1 e MU2 magnitudes 1000 x (a), 2000 x (b), 7500 x (c), 25000 x (d) e 45000 x (e).

### 5.3.4 Microscopia óptica

As formulações foram analisadas através do conjunto de imagens obtidas por microscopia óptica. As micropartículas foram observadas ao ar e em dispersão no meio aquoso. As amostras, para os dois meios utilizados, foram dispostas entre lamina e lamínula, em aumento de 120 vezes, sob incidência de luz normal nos dois meios e luz polarizada para as micropartículas ressuspensas em água. A redispersão em água do pó, visualizado através das imagens das micropartículas ressuspensas demonstraram que os pós são adequados para a ressuspensão.

Na Figura 22 é possível observar que as formulações MU1 e MU2 quando analisadas no ar sob luz normal apresentam-se com características morfológicas irregulares, em aglomerados (Figura 22: U1a e U2a). A formulação MU2 apresentou visualmente partículas maiores que as da formulação MU1.

Nas imagens nas quais as micropartículas estão dispersas em água (Figura 22: U1b e U2b) é possível visualizar o formato predominantemente esférico, e tamanho inferior para a formulação MU1. Quanto à presença de cristais é possível visualizar cristais inseridos nas micropartículas através da difração nas imagens, predominantemente para formulação MU1 (Figura 22: U1c e U2c).

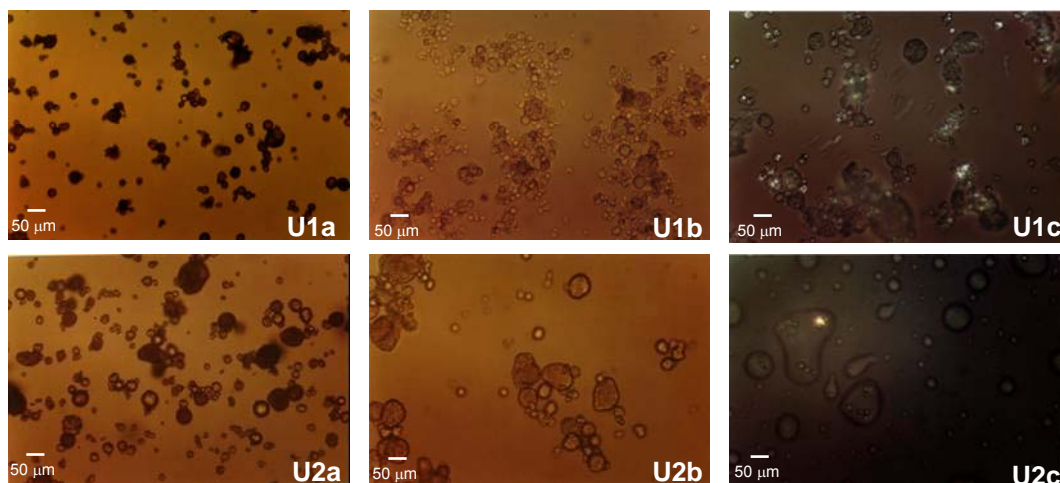


Figura 22. Fotografias das formulações de micropartículas nanorrevestidas MU1 e MU2 observadas no ar (a) e na água (b) [luz normal (120x)]; e na água (c) [luz polarizada (120x)].

### 5.3.5 Determinação da área superficial e distribuição de tamanho de poros

A determinação da área superficial, do volume, tamanho e distribuição de poros das formulações foi realizada através das isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio e os resultados analisados conforme os métodos de BET e BJH.

A área superficial (Tabela 24) das formulações apresentou valores inferiores quando comparados com a área superficial do suporte de secagem (Aerosil<sup>®</sup> 200). Esta redução das medidas de área superficial pode ser atribuída à presença das nanoestruturas recobrando os espaços interparticulares do dióxido de silício.

Ao comparar a área superficial, observa-se que a formulação MU2 apresentou valor superior ao da formulação MU1. Este resultado soma-se ao observado através da análise morfológica, onde a formulação MU2 visualmente apresentou partículas maiores.

O volume de poros (Tabela 24) foi comparável para as formulações e o diâmetro dos poros (Figura 23) foi inferior a 6 nm. Pode-se também observar a redução do volume dos poros para todas as formulações em relação ao medido para o Aerosil<sup>®</sup> 200.

Tabela 24. Área superficial e volume de poros das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

Formulação	Área superficial (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Volume de poros (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )
MU1	78,12	0,093
MU2	85,33	0,102
Aerosil 200 <sup>®</sup>	213,60	0,307

\* R<sup>2</sup>= ≥ 0,9 ≤ 1,0

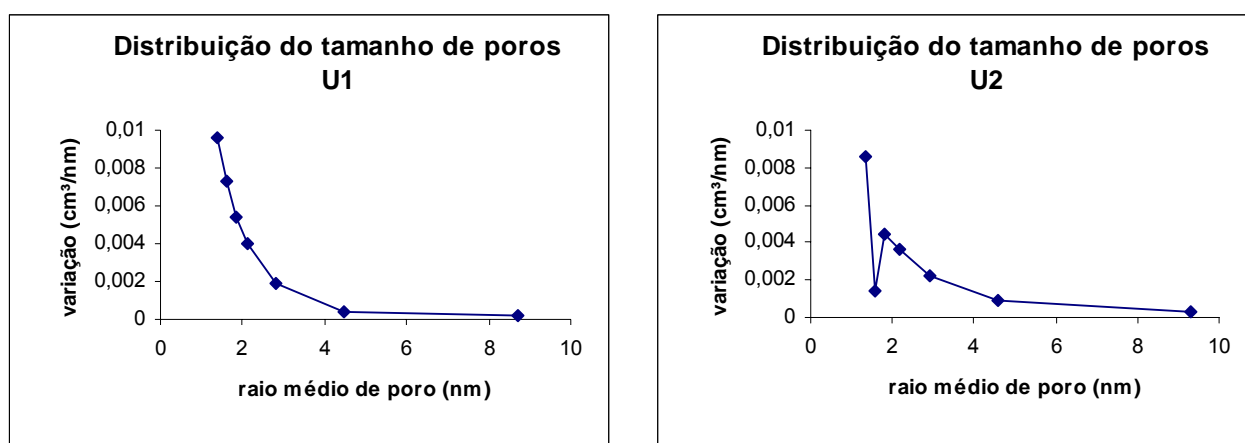


Figura 23. Distribuição do tamanho de poros, formulações MU1 e MU2.

### 5.3.6 Análise granulométrica das micropartículas

A análise granulométrica das amostras (Tabela 25) foi realizada do equipamento Beckman Coulter<sup>®</sup> (Tornado). O SPAN que representa uma medida da dispersão granulométrica foi de 2,45 para a formulação MU1 e de 1,76 para a formulação MU2, superiores em comparação com o Aerosil<sup>®</sup> 200 (SPAN igual a 1,52). O d (4,3) indica o diâmetro médio em volume e foi superior para a formulação MU2 em relação a MU1, mostrando, novamente, o maior tamanho das partículas desta formulação. Ao comparar com o dióxido de silício o valor de d (4,3) das formulações foi menor, indicando que o processo de secagem e nanorrevestimento diminuiu o diâmetro médio e aumentou a distribuição granulométrica (SPAN) das formulações.

Tabela 25. Granulometria e distribuição granulométrica das partículas, formulações MU1 e MU2.

<b>Micropartícula</b>	<b>d (4,3)µm</b>	<b>d (0,1)µm</b>	<b>d (0,5)µm</b>	<b>d (0,9)µm</b>	<b>SPAN</b>
<b>MU1</b>	9,84	1,98	7,89	21,29	2,45
<b>MU2</b>	15,47	3,48	13,16	26,69	1,76
<b>Aerosil® 200</b>	21,80	8,61	19,17	37,83	1,52

d (4,3) µm: diâmetro médio em volume.

d (0,1) µm: diâmetro de partícula correspondente a 10% da distribuição acumulada.

d (0,5) µm: diâmetro de partícula correspondente a 50% da distribuição acumulada.

d (0,9) µm: diâmetro de partícula correspondente a 90% da distribuição acumulada.

SPAN: dispersão granulométrica.

### *5.3.7 Determinação do diâmetro e do potencial zeta nas micropartículas ressuspensas*

Os valores de diâmetro de partícula e de potencial zeta foram determinados após a ressuspensão do pó em volume de água igual ao presente na suspensão original, anterior ao processo de secagem. A Tabela 26 apresenta os resultados para as formulações MU1 e MU2 e das formulações respectivas sem a indometacina (Branco A e Branco B).

Ao comparar os diâmetros das formulações com os brancos (Figura 24) observa-se que a presença da indometacina favoreceu um aumento das medidas e um desvio padrão superior.

Tabela 26. Diâmetro das partículas e potencial zeta das formulações MU1 e MU2, após ressuspensão.

Formulação	Diâmetro	Potencial zeta
MU1	431,97 ± 159,32	-22,91 ± 2,27
MU2	367,60 ± 332,00	-11,45 ± 4,16
Branco A	350,90 ± 69,07	-13,16 ± 2,28
Branco B	270,57 ± 89,12	-17,78 ± 1,51

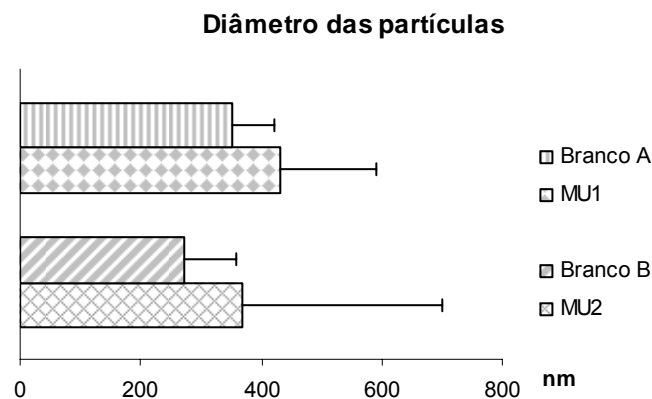


Figura 24. Diâmetro das partículas das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

A avaliação do potencial zeta foi realizada em comparação com as formulações e seus respectivos brancos (Figura 25). A formulação MU1, preparada a partir de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona), comparada com o Branco A, apresentou valores mais negativos. Por sua vez, a formulação MU2, obtida a partir de nanocápsulas de Eudragit<sup>®</sup> RS100, comparada com o Branco B, apresentou valores menos negativos.

Estas observações demonstram a influência do polímero empregado na preparação das formulações. Na formulação MU2, os grupamentos amônio quaternário do polímero favoreceram a formação de sal entre a indometacina através do seu grupamento ácido ionizável.

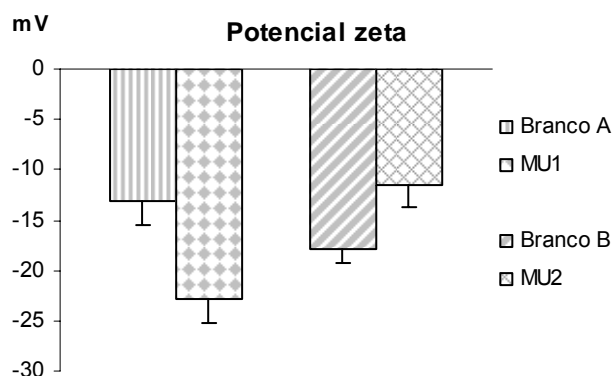


Figura 25. Potencial zeta das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

### 5.3.8 Liberação *in vitro*

A dissolução das formulações MU1 e MU2 em meio intestinal simulado (pH 6,8) foi avaliada (Figura 26), comparativamente, até 200 min (ANEXO 2), pois a partir deste tempo a concentração de fármaco nas alíquotas atingia o limite de quantificação do método validado (ANEXO 1).

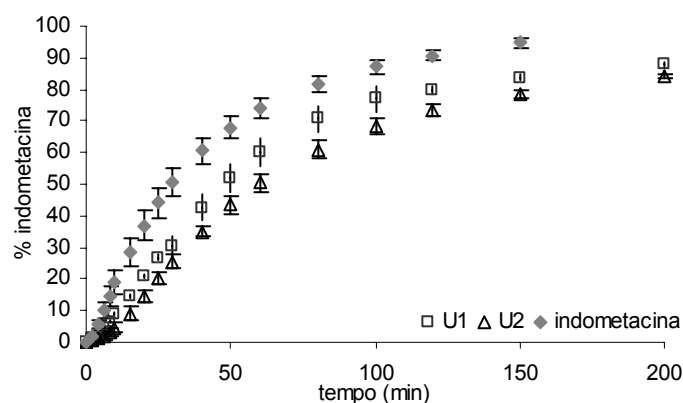


Figura 26. Perfis de liberação da indometacina: formulação MU1 e formulação MU2.

Em 200 minutos, 87,7 % da indometacina foi liberada da formulação MU1, enquanto 83,9 % da formulação MU2 (Figura 26). Somente após 250 minutos de experimento a formulação MU2 dissolveu 88 % de fármaco. Para a formulação MU2 a avaliação foi conduzida até 420 minutos, o percentual de indometacina dissolvido foi de 95,2 % (resultado não demonstrado).

A eficiência de dissolução da indometacina foi calculada até 150 minutos e apresentou valor de 70 %. Para as formulações a eficiência de dissolução (Tabela 27) foi calculada até 200 minutos e demonstrou haver diferença significativa entre os valores ( $F= 26,2808$ , maior que  $F_{crítico}$  para  $\alpha=0,05$ ).

Tabela 27. Eficiência de dissolução das micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

Formulação	Eficiência de dissolução %
MU1	64,67 ± 2,07
MU2	58,27 ± 1,59

Os valores de  $f_1$  e de  $f_2$  (Tabela 28) calculados na comparação entre as formulações MU1 e MU2 demonstraram valores limites dos parâmetros, indicando, provavelmente que as diferenças existentes entre as formulações MU1 e MU2 são inferiores a 10 %. Por outro lado os valores de  $f_1$  e de  $f_2$  (Tabela 28) calculados na comparação das formulações com a indometacina indicam diferenças entre os perfis das formulações MU1 e MU2 em relação à indometacina pura triturada.

Tabela 28. Valores calculados do Fator de diferença ( $f_1$ ) e do Fator de similaridade ( $f_2$ ) para a dissolução da indometacina a partir de micropartículas nanorrevestidas, formulações MU1 e MU2.

Formulações comparadas	Fator de diferença ( $f_1$ )	Fator de similaridade ( $f_2$ )
MU1 e MU2	14	60
Indometacina e MU1	32	45
Indometacina e MU2	56	37

### 5.3.9 Modelagem matemática

A avaliação de modelos matemáticos (ANEXO 3) levou ao melhor ajuste, para as formulações MU1 e MU2, a modelagem monoexponencial (Tabela 29 e Figura 27).

A indometacina apresentou valor de  $k$  igual a  $0,0222 \text{ min}^{-1}$ . A Tabela 29 apresenta um valor de  $k$  maior para a formulação MU1 ( $0,0135 \text{ min}^{-1}$ ) comparando-se com  $0,0106 \text{ min}^{-1}$  da formulação MU2. Essa comparação indica uma maior velocidade de dissolução para a formulação preparada a partir da poli( $\epsilon$ -caprolactona). Os tempos de meia vida foram calculados para melhor visualização desse parâmetro, sendo de 31,21 minutos para a indometacina, 51,33 minutos para formulação MU1 e de 65,38 minutos para formulação MU2. A avaliação dos tempos de meia vida indica haver diferenças entre os perfis de liberação em relação ao polímero empregado na preparação das formulações. A formulação MU2, obtida a partir do Eudragit® RS100 apresentou maior controle da liberação da indometacina quando comparada com a formulação MU1, preparada com poli( $\epsilon$ -caprolactona).

Tabela 29. Parâmetros do modelo monoexponencial para as formulações MU1 e MU2.

<b>Parâmetro</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>
<b>Formulação</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>
k ( $\text{min}^{-1}$ )	0,0135	0,0008
r	0,9955	0,0018
MSC	4,3630	0,3833
<b>Formulação</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>
k ( $\text{min}^{-1}$ )	0,0106	0,0006
r	0,9959	0,0015
MSC	4,1430	0,4119



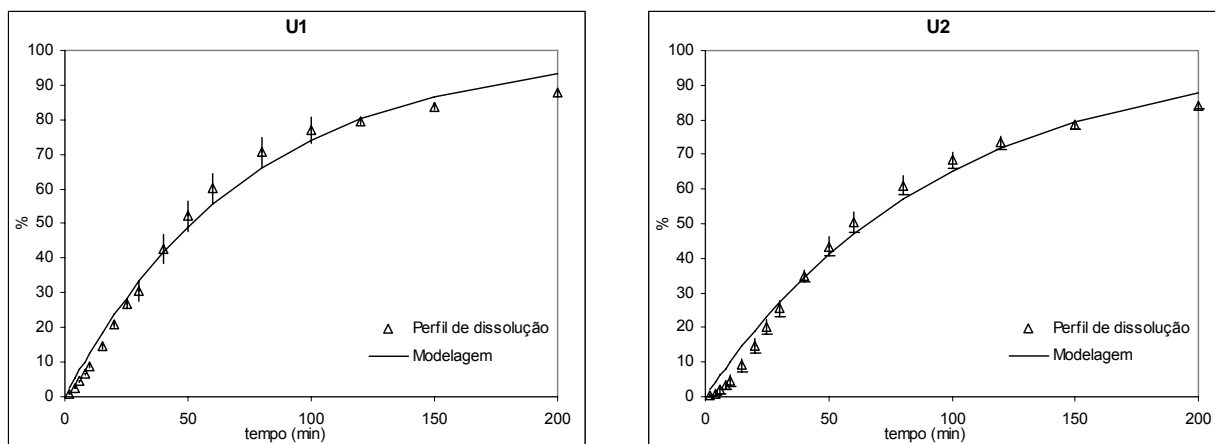


Figura 27 Perfis de dissolução e ajuste ao modelo monoexponencial das formulações MU1 e MU2.

A lei da Potência (SIEPMANN e PEPPAS, 2001, COSTA e LOBO, 2001, AGNES e ORTEGA, 2003) foi aplicada com o objetivo de descrever o mecanismo de liberação da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas, MU1 e MU2 (ANEXO 4). Dessa forma, através do valor de  $n$  foi possível realizar interpretações físicas sobre o mecanismo de liberação. Foram encontrados valores de  $n$  superiores a 0,85 (Tabela 30) para ambas as formulações apontando para os modelos não-Fickianos. Considerando a geometria esférica, esse valor indica o modelo super caso-II para descrever o mecanismo de liberação da indometacina a partir das formulações MU1 e MU2. Dessa maneira, a velocidade de difusão do solvente é muito maior que o relaxamento do polímero, sendo o fator determinante da liberação (AGNES e ORTEGA, 2003). Cabe acrescentar, que os polímeros empregados nas formulações não sofrem ou sofrem apenas um ligeiro inchamento em meio aquoso. Neste caso, pode-se considerar o relaxamento do polímero como a desaglomeração do sistema de micropartículas nanorrevestidas.

Dessa maneira, o modelo super caso-II pode ser descrito para as micropartículas nanorrevestidas, as quais seriam constituídas de conjunto de partículas menores nanorrevestidas e aglomeradas; e através da penetração do meio de dissolução sofreriam desaglomeração; e conseqüentemente ocorreria a dissolução da indometacina interiorizada nas partículas ou adsorvida às nanoestruturas. A área superficial (em torno de  $80 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ) elevada das formulações e a presença do Aerosil<sup>®</sup> 200 (componente majoritário) favoreceriam a penetração do meio de dissolução. Por outro lado, as nanovesículas poliméricas empregadas como

material de revestimento, dependentemente do polímero selecionado, influenciam a facilidade ou não ao acesso do solvente para que ocorra a desaglomeração do sistema e a dissolução da indometacina. O mecanismo de liberação do fármaco a partir das formulações esta esquematicamente representado pela Figura 20.

Tabela 30. Parâmetros da Lei da Potência para as formulações MU1 e MU2.

<b>Parâmetro</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>
<b>Formulação</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>
A	0,9345	0,1049
n	1,0245	0,0425
r	0,9983	0,0003
MSC	5,2142	0,1451
<b>Formulação</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>
A	0,7122	0,2154
n	1,0307	0,0733
r	0,9934	0,0017
MSC	3,8587	0,2408





As suspensões de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo ou não indometacina preparadas pelo método da nanoprecipitação com 0,383 g/100 mL de tensoativos apresentaram diâmetros médios das partículas inferiores a 370 nm, pH na faixa de 5,0 a 5,5, valores de potencial zeta negativos (em torno de -24 mV) e teores totais próximos a 1,5 mg/mL para a suspensão contendo fármaco com eficiência de encapsulação de 100 %.

Não foi possível a obtenção de suspensões de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo ou não indometacina preparadas pelo método da emulsificação-difusão com 0,383 g/100 mL de tensoativos. Os glóbulos formados durante a etapa da emulsificação não foram suficientemente estáveis, havendo precipitação do polímero durante a etapa da difusão.

As suspensões de nanocápsulas de Eudragit<sup>®</sup> RS100 contendo ou não indometacina preparadas pelo método da nanoprecipitação com 0,383 g/100 mL de tensoativos apresentaram diâmetros médios das partículas inferiores a 160 nm, pH na faixa de 3,5 e 4,4, valores de potencial zeta positivos (em torno de +20 mV) e teores totais próximos a 1,5 mg/mL para a suspensão contendo fármaco com eficiência de encapsulação de 100 %.

As suspensões de nanocápsulas de Eudragit<sup>®</sup> RS100 contendo ou não indometacina preparadas pelo método da emulsificação-difusão com 0,383 g/100 mL de tensoativos apresentaram diâmetros médios das partículas inferiores a 223 nm, pH na faixa de 3,1 e 3,8, valores de potencial zeta positivos (em torno de +20 mV) e teores totais próximos a 1,5 mg/mL para a suspensão contendo fármaco com eficiência de encapsulação de 100 %.

A secagem por aspersão das suspensões de nanocápsulas produziu produtos secos com rendimentos entre 50 e 71 % para as formulações da matriz 2<sup>3</sup> e entre 70 e 77% para as preparadas em etapa única, e teores de umidade inferiores a 1 %. As taxas de recuperação de indometacina nas formulações foram entre 62,7 e 77,9 % para as formulações da matriz 2<sup>3</sup> e entre 94,4 e 135,5 % para as obtidas em

etapa única, os teores de indometacina entre 12,3 e 14,6 mg/g de pó e entre 17,7 e 25,4 mg/g de pó, respectivamente.

A análise das imagens através de MEV em aumento de 1000 x demonstrou para todas as formulações partículas esféricas, irregulares e com ampla distribuição de tamanho. Em aumentos maiores (45000 x) foi possível visualizar estruturas nanométricas recobrando as micropartículas. As fotografias em microscopia óptica, quando analisadas através de luz polarizada, demonstraram cristais inseridos nas micropartículas através da difração nas imagens. A análise em meio aquoso possibilitou a visualização da ressuspensão das micropartículas, recuperando-se partículas com diâmetros próximos a 300 nm.

As áreas superficiais das formulações foram reduzidas (valores entre 64 e 98  $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ ) quando comparadas com o respectivo suporte de secagem de origem (em torno de 200  $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ ). A distribuição de tamanho de poros para todas as formulações foi inferior a 6 nm. A análise granulométrica demonstrou valores de SPAN inferiores (entre 3,5 e 5,3) para as formulações a partir do núcleo quando comparadas com o mesmo (valor igual a 7,9) e superiores (entre 2,5 e 3,5) para as formulações obtidas a partir do dióxido de silício quando comparadas com o mesmo (valor igual a 1,5). Para as formulações preparadas em etapa única o valor do SPAN situou-se entre 1,76 e 2,45, superiores ao do dióxido de silício. O diâmetro médio em volume demonstrou que as formulações preparadas com o núcleo apresentaram maiores granulometria e dispersão granulométrica quando comparadas com o dióxido de silício. Quando preparadas em etapa única, o diâmetro médio em volume das formulações foi inferior ao do dióxido de silício.

O diâmetro médio das micropartículas nanorrevestidas após ressuspensão apresentou-se em torno de 300 nm e foi observado o aumento da polidispersão. Os valores de potencial zeta das formulações preparadas com Eudragit® RS100 ressuspendidas foram negativos e quando comparados com as suspensões originais sofreram inversão de sinal, pois as mesmas apresentaram valores positivos.

A liberação *in vitro* evidenciou a influência do polímero na preparação das formulações. As formulações constituídas de Eudragit® RS100 apresentaram maior controle da liberação da indometacina quando comparadas com as obtidas a partir da poli( $\epsilon$ -caprolactona). A existência de interação entre os grupamentos amônio quartenário do Eudragit® RS100 com o grupamento ácido da indometacina e conseqüente formação de sal pode explicar os perfis de liberação das formulações preparadas com o Eudragit® RS100.

O modelo monoexponencial foi o mais adequado para descrever os perfis de liberação das formulações. As formulações obtidas a partir da poli( $\epsilon$ -caprolactona) apresentaram valores de tempo de meia vida em torno de 25 minutos para as formulações da matriz 2<sup>3</sup> e de 51 minutos para a preparada em etapa única, enquanto as formulações da matriz 2<sup>3</sup> preparadas com Eudragit® RS100 apresentaram valores de tempo de meia vida próximos a 40 minutos e a preparada em etapa única 65 minutos. Os resultados de modelagem matemática empregando o modelo da Lei da Potência permitiu a proposição de um modelo de dissolução. A análise do valor de  $n$ , considerando a geometria esférica, demonstrou que a liberação da indometacina a partir das micropartículas nanorrevestidas foi classificada como super caso-II. Dessa maneira, o conjunto de partículas menores nanorrevestidas e aglomeradas, através da penetração do meio de dissolução sofreriam desaglomeração com conseqüente dissolução da indometacina interiorizada nas partículas ou adsorvidas às nanoestruturas.

O conjunto dos resultados permitiu selecionar as formulações preparadas com Eudragit® RS100 como sendo as mais promissoras, porque apresentaram maior controle da liberação do fármaco. Em relação à técnica de preparação das nanocápsulas foi selecionada a nanoprecipitação, por possibilitar a redução de tensoativos, o que torna o processo de secagem mais eficiente. A estratégia de associação do fármaco (no núcleo ou nas nanocápsulas) não influenciou significativamente as características e os perfis de liberação dos produtos pulverulentos. Entretanto, as formulações preparadas em etapa única apresentaram perfis de liberação mais controlados em relação as micropartículas da matriz 2<sup>3</sup>.

---

**7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



AMMOURY, N.; DUBRASQUET, M.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J. P.; PUISIEUX, F.; BENITA, S., Indomethacin-loaded poly(d,l-lactide) nanocapsules: protection from gastrointestinal ulcerations and anti-inflammatory activity evaluation in rats. **Clinical Materials**, v. 13, p. 121-130, 1993.

AGNES, E. J. e ORTEGA, G. G. Modelos matemáticos e físico-química da difusão. **Caderno de Farmácia**, v. 19, n. 1, p. 9-19, 2003.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**, 2 ed. ARTMED, 2005, p 384-401.

BARRET, E. P.; JOYNER, L. G.; HALENDA, P. P. The determination of pore volume and area distributions in porous substances computations from nitrogen isotherms. **Journal of American Chemical Society**, v. 73, p. 373-380, 1951.

BECK, R. C. R.; POHLAMNN, A. R.; GUTERRES, S. S. Nanoparticle coated microparticles; preparation and characterization. **Journal of Microencapsulation**, v. 21 (5), p. 499-512, 2004.

BECK, R. C. R. **Desenvolvimento tecnológico de micropartículas nanorrevestidas: caracterização físico-química e biológica** Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Tese de Doutorado. Ed. Gráfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2005.

BECK, R. C. R.; POHLAMNN, A. R.; BENVENUTTI, E. V.; DALLA COSTA, T.; GUTERRES, S. S. Nanostructure-coated diclofenac-loaded microparticles: preparation, morphological characterization, *in vitro* release and *in vivo* gastrointestinal tolerance. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.16, n. 6A, p. 1233-1240, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do guia para validação de métodos analíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 mai. 2003.

BROADHEAD, J.; ROUAN, S. K. E.; RHODES, C. T. The spray-drying of pharmaceuticals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.

BRUNAUER, S., EMMET, P. H., TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of American Chemical Society**, v. 60, p. 309-319, 1938.

CALVO, P.; VILLA-JATO, C.; J. L.; ALONSO, M. J. Comparative *in vitro* evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 85, n. 5, p. 530-536, 1996.

CALVO, P.; VILA-JATO, J. L.; ALONSO, M. J. Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 153, p. 41-50, 1997.

- CHASTEIGNER, S.; FESSI, H.; CAVÉ, G.; DEVISSAGUET, J-Ph.; PUISIEUX. Gastrointestinal tolerance study of a freeze-dried oral dosage form of indomethacin-loaded nanocapsules. **STP Pharma Sciences**, v. 5, n. 3, p. 242-246, 1995.
- CHEN, D.; TSAY, R.-J.; LIN, H.-I.; CHEN, H.; CHAO, S.-C.; KU, H. Stabilization and sustained-release effect of misoprostol with methacrylate copolymer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 203, p. 141-148, 2000.
- CONTI, B.; GENTA, L.; GIUNCHEDI, P.; MODENA, T. Testing of "in vitro" dissolution behaviour of microparticulate drug delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 10, p. 1223-1233, 1995.
- COSTA, P. e LOBO, J. M. S.. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v.13, p. 123-133, 2001.
- CRUZ, L. **Estudo físico-químico comparativo de sistemas nanoestruturados contendo indometacina ou seu éster etílico e avaliação *in vivo* da atividade anti-dematogênica.** Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Dissertação de Mestrado. Ed. Gráfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2005.
- ELDSÄTER, C.; ERLANDSSON, B.; RENSTAD, R.; ALBERTSSON, A.-C.; KARLSSON, S. The biodegradation of amorphous and crystalline regions in film-blown poly( $\epsilon$ -caprolactone). **Polymer**, v. 41, p. 1297-1304, 2000.
- ERMIS, D. e YUKSEL, A. Preparation of spray-dried microspheres of indomethacin and examination of the effects of coating on dissolution rats. **Journal Microencapsulation**, v. 16, p. 315-324, 1999.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed., São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I.
- FAWAZ, F.; BONINI, F.; GUYOT, M.; LAGUENCY, A. M.; FESSI, H.; DEVISSAGUET, J. P. Influence of poly(D-L-lactide) nanocapsules on the biliary clearance and enterohepatic circulation of indomethacin in the rabbit. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 5, p. 750-765, 1993.
- FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J-P; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55. P. R1-R4, 1989.
- FIORUCCI, S.; ANTONELLI, E.; MORELLI, A. Mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug-gastropathy. **Clinical Review: Digest Liver Disease**, v. 33, supl. 2, p. S35-43, 2001.
- FLORENCE, A. T. e ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia.** 3. ed. Edusp, 2003. Cap. 8.
- FOSTER, T. P. e LEATHERMAN, M. W. Powder characteristics of proteins spray-dried from different spray-dryers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 21 (15), p. 1705-1723, 1995.

GALINDO-RODRIGUEZ, S.; ALLÉMAN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. **Pharmaceutical Research**, v. 21, p. 1428-1439, 2004.

GENNARO, A. R.(Ed.) **Remington: The Science and Practice of Pharmacy**. 19 ed. Easton: Mack Publishing Company, 1995. Cap. 34, p. 593-612.

GIBAUD, S.; AL AWWADI, N. J.; DUCKI, C.; ASTIER, A. Poly( $\epsilon$ -caprolactone and Eudragit microparticles containing fludrocortisone acetate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 491-508, 2004.

GÜRISOY, A.; EROGLU, L.; ULUTIN, S.; TASYÜREK, M.; FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J-P. Evaluation of indomethacin nanocapsules for their physical stability and inhibitory activity on inflammation as platelet aggregation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 52, p. 101-108, 1989.

GUTERRES, S. S.; FESSI, H.; BARRAT, G.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J.-PH. Poly(D,L-lactide) nanocapsules containing non-steroidal anti-inflammatory drugs: gastrointestinal tolerance following intravenous and oral administration. **Pharmaceutical Research**, v. 12, p. 1-3, 1995a.

GUTERRES, S. S.; FESSI, H.; BARRAT, G.; DEVISSAGUET, J.-P.; PUISIEUX, F. Poly(D,L-lactide) nanocapsules containing diclofenac: formulation and stability study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 113, p. 57-63, 1995b.

GUTERRES, S. S.; WEISS, V.; LUCCA FREITAS, L.; POHLMANN, A. R. Influence of benzyl benzoate as oil core on the physicochemical properties of spray-dried powders from polymeric nanocapsules containing indomethacin. **Drug Delivery**, v. 7, p. 195-199, 2000.

GUTERRES, S. S.; MÜLLER, C. R.; POHLMANN, A. R.; DALLA COSTA, T., Gastrointestinal tolerance following oral administration of spray-dried diclofenac-loaded nanocapsules and nanospheres. **S.T.P. Pharma Sciences**, v. 11, p. 229-233, 2001.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G.; KAZAKIS, N. A. Influence of spray drying conditions on tomato powders properties. **Drying Technology**, v. 22, n. 5, p. 1129-1151, 2004.

HAZNEDAR, S. e DOÇRTUNÇ., B. Preparation and in vitro evaluation of Eudragit microspheres containing acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 131-140, 2004.

HOMBREIRO-PÉREZ, M.; SIEPMANN, J.; ZINUTTI, C.; LAMPRECHT, A.; UBRICH, N.; HOFFMAN, M.; RODMEIER, R.; MAINCENT, P. Non-degradable microparticles containing a hydrophilic and/or a lipophilic drug: preparation, characterization and drug release modeling. **Journal of Controlled Release**, v. 88, p. 413-428, 2003.

HYE, Y. R.; JUN, Y. L.; SUNG, W. C.; JANG, Y.; JUNG, H. K. Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method. **Colloids and**

**Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 182, p. 123-130, 2001.

IUPAC, Recommendations for the characterization of porous solids (technical report), **International Union of Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 8, p. 1739-1758, 1994.

JAMBHEKAR, S.; CASELLA, R.; MAHER, T. The physicochemical characteristics and bioavailability of indomethacin from  $\beta$ -cyclodextrin, hydroxyethyl- $\beta$ -cyclodextrin, and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin complexes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 270, p. 149-166, 2004.

JEONG, J-C; LEE, J.; CHO, K Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 92, p. 249-258, 2003.

KHAN, K. A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, p. 48-49, 1975.

KNOW, H-Y.; LEE, J-Y; CHOI, S-W; JANG, Y; KIM, J-H Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method. **Colloids and Surfaces**, v. 182, p. 123-130, 2001.

LAMPRECHT, A.; TORRES, H. R.; SCHÄFER, U. F.; LEHR, C.-M. Biodegradable microparticles as a two-drug controlled release formulation: a potential treatment of inflammatory bowel disease. **Journal of Controlled Release**, v. 69, p. 445-454, 2000a.

LAMPRECHT, A.; UBRICH, N.; PÉREZ, M. H.; LEHR, C.-M.; HOFFMAN, M.; MAINCENT, P. Influences of process parameters on nanoparticle preparation performed by a double emulsion pressure homogenization technique. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 196, p. 177-182, 2000b.

LEGRAND, P.; BARRATT, G.; MOSQUEIRA, V.; FESSI H.; DEVISSAGUET, J.P. Polymeric nanocapsules as drug delivery systems. **S.T.P. Pharma Sciences**. v. 9, p. 411-8, 1999.

LEROUX, J. C.; ALLÉMANN, E; DOELKER, E.; GURNY, R. New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, p. 14-18, 1995.

LOVRECICH, M.; NOBILE, F.; RUBESSA, F.; ZINGONE, G. Effect of ageing on the release of indomethacin from solid dispersions with Eudragits. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 131, p. 247-255, 1996.

LU, Y. e CHEN, S. C. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p. 1621-1633, 2004.

MAGENHEIM, B. e BENITA, S., Nanoparticle characterization: a comprehensive physicochemical approach. **S.T.P. Pharma Sciences**, v. 1, p. 221-241, 1991.

MANO, E. B. e MENDES, L.C. **Introdução a polímeros**, 2 ed Editora Edgard Blücher, 1998.

MASTERS, K. **Spray-drying handbook**, 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1985. 696p.

MÜLLER, C. R.; BASSANI, V. L.; POHLMANN, A. R.; MICHALOWSKI, C. B.; PETROVICK, P. R.; GUTERRES, S. S., Preparation and characterization of spray-dried polymeric nanocapsules. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, p. 343-347, 2000.

MÜLLER, C. R.; SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; DE LUCCA FREITAS, L.; PESCE DA SILVEIRA, N.; DALLA COSTA, T.; GUTERRES, S. S., Spray-dried diclofenac-loaded poli( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules and nanospheres. preparation and physicochemical characterization. **Pharmazie**, v. 56, p. 864-867, 2001.

MÜLLER, C. R. **Produtos secos por aspersão a partir de suspensões de nanocápsulas contendo diclofenaco: caracterização físico-química e avaliação da viabilidade tecnológica de preparação de formas sólidas derivadas**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Tese de Doutorado. Ed. Gráfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2003.

O'BRIEN, M.; McCAULEY, J.; COHEN, E. Indomethacin. **Analytical Profiles of Drug Substances**, v. 13, p. 211-238, 1984.

O'DONNELL, P. e MCGINITY, J. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique **Advanced Drug Delivery Review**, v. 28, p. 25-42, 1997.

OBACH, E. S. **Avaliação dos perfis de liberação *in vitro* e da toxicidade gastrointestinal *in vivo* de indometacina a partir de nebulizados de nanopartículas**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Dissertação de Mestrado. Ed. Gráfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2002.

O'HARA, T.; DUNNE, A.; BUTLER, J.; DEVANE, J. A review of methods used to compare dissolution profile data. **Pharmaceutical Science and Technology Today**, v. 1, n. 5, p. 214-223, 1998.

OLIVEIRA, B. F.; SANTANA, M. H. A.; RÉ, M. I. Spray-dried chitosan microspheres cross-linked with D,L-glyceraldehyde as a potential drug delivery system: preparation and characterization. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n., p. 353-360, 2005.

ONEDA, F.; RÉ, M. I. The effect of formulation variables on the dissolution and physical properties of spray-dried microspheres containing organic salts. **Powder Technology**, v. 130, p. 377-384, 2003.

PALMIERI, G. F.; BONACUCINA, G.; DI MARTINO, P.; MARTELLI, S. Gastro-resistant microspheres containing ketoprofen. **Journal of Microencapsulation**, v. 242, p. 175-178, 2002.

PEARNCJOB, N. e BODMEIER, R. Dry powder coating of pellets with micronized

Eudragit® RS for extended drug release. **Pharmaceutical Research**, v. 20, n.12, p. 1970-1976, 2003.

POHLMANN, A. R.; WEISS, V.; MERTINS, O.; PESCE DA SILVEIRA, N.; GUTERRES, S. S., Spray-dried indomethacin-loaded polyester nanocapsules and nanospheres: development, stability evaluation and nanostructure models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 16, p. 305-312, 2002.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; FESSI, H.; ALLÉMANN, E.; DOELKER, E. Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(D,L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. **International Journal of Pharmaceutics**, 143, p. 133-141, 1996.

QUINTANAR-GUERRERO, D.; ALLÉMANN, E.; FESSI, H.; DOELKER, E. Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, p. 1113-1128, 1998.

RAFFIN, R. P.; OBACH, E. S.; MEZZALIRA, G.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Nanocápsulas poliméricas secas contendo indometacina: estudo de formulação e de tolerância gastrointestinal em ratos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 22, supl.2, p. 163-72, 2003.

RAVI KUMAR, M. N. V. Nano and microparticules as controlled drug delivery devices. **Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science**, v. 3, supl. 2, p. 234-258, 2000.

REYNOLDS, J. E. F. (Ed.) **Martindale The Extra Pharmacopeia**. Londres, Pharmaceutical Press, 30 ed., 1993.

REZA, S.; QUADIR, M., A.; HAIDER, S. S. Comparative evaluation of plastic, hydrophobic and hydrophilic polymers as matrices for controlled-release drug delivery. **Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutics Science**, v. 6 (2), p. 282-291, 2003.

ROBERTS I. I. L. J. e MORROW, J. D. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout In: Hardman J. C.; Limbird, L. E.; Gilman a. G., eds. **Goodman e Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 10 ed. New York: McGraw-Hill; 2001: 687-731.

KIBE, **Pharmaceutical excipients 2001** – single user windows version 2.0 American Pharmaceutical Association, ROWE, R; SHESKEY, P. J.; WELLER, P; J. Washington, DC, USA e Pharmaceutical Press, London, UK, 2001.

SAEZ, A.; GUZMÁN, M.; MOLPECERES, J.; ABERTURAS M. R. Freeze-drying of polycaprolactone and poly(D,L-lactic-glycolic) nanoparticles induce minor particle size changes affecting the oral pharmacokinetics of loaded drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 379-387, 2000.

SCHAFFAZICK S. S.; POHLMANN, A. R.; LUCCA FREITAS, L.; GUTERRES, S. S. Catacterização e estudo de estabilidade de nanocápsulas e de nanoesferas

poliméricas contendo diclofenaco. **Acta Farmaceutica Bonarense**, v. 21, 2, p. 99-106, 2002.

SCHAFFAZICK S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 15, p. 726-737, 2003.

SHAH, V.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J-P. *In vitro* dissolution profile comparison - statistics and analysis of the similarity factor, f<sub>2</sub>. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 6, p. 889-896, 1998.

SIEPMANN, J. e PEPPAS, N. A. Modelling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 139-157, 2001.

SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M; KULKARNI, A. R.; RUDZISKI, W. E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **Journal Control. Release**. v. 70: p. 1-20, 2001.

SINHA, V. R.; BANSAL, K.; KAUSHIK, R.; KUMRIA, R.; TREHAN, A. Poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres and nanospheres: an overview. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 278, p. 1-23, 2004.

UBRICH, N.; SCHMIDT, C.; BODMEIER, R.; HOFFMAN, M.; MAINCENT, P. Oral evaluation in rabbits of cyclosporine-loaded Eudrait RS or RL nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, p. 169-175, 2005.

USP **The United States Pharmacopeia**. 28 ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convencion, p 1941-1951, 2231-2239, 2004.

TIRKKONEN, S. e PARONEN, P. Release of indomethacin from tableted ethylcellulose microcapsules. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 92, p. 55-62, 1993.

WANNACHER, L. e FERREIRA, M. B. C. Antiinflamatórios não-esteróides In: Fuchs, F. D.; Wannmacher, L.; Ferreira, M. B. C. (ed.) **Farmacologia Clínica: fundamentos da terapêutica racional**, 3 ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004: p. 296-304.

WASHINGTON, C. Drug release from microdisperse systems: a critical review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 58, p. 1-12, 1990.

WEISS, V. **Avaliação tecnológica de suspensões e nebulizados de nanocápsulas e nanoesferas contendo indometacina** Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Dissertação de Mestrado. Ed. Gráfica UFRGS, Porto Alegre, RS, 2001.

YUKSEL, N.; KANIK, A. E.; BAYKARA, T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and -independent methods. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 209, p. 57-67, 2000.





---

**ANEXO 1**

*Validação da metodologia analítica por CLAE para a quantificação da indometacina.*



A validação de um procedimento analítico objetiva demonstrar que o mesmo é adequado para a análise pretendida. A validação deve garantir que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar precisão, exatidão, linearidade, sensibilidade e especificidade adequadas à análise (BRASIL, 2003; USP 28, 2005).

A validação do método foi efetuada através da avaliação dos seguintes parâmetros analíticos:

- Linearidade: três curvas padrão foram desenvolvidas, no mesmo dia, com seis níveis de concentração cada. A equação da reta e o coeficiente de correlação foram determinados;

- Precisão: determinada através da precisão intermediária, obtendo-se o coeficiente de variação percentual (CV %) intra-dia e inter-dias;

- Exatidão: determinada através do teste de recuperação da substância ativa. Os resultados foram expressos como percentagem de recuperação;

- Especificidade: avaliada através da análise de formulações sem a substância ativa.

- Limite de quantificação: representa a menor concentração da substância que pode ser quantificada com confiabilidade, avaliada através do coeficiente de variação percentual da concentração em análise.

### *1 Linearidade*

A linearidade de um método analítico corresponde à capacidade do método fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em

exame dentro de uma determinada variação (BRASIL, 2003; USP 28, 2005).

Os valores das áreas absolutas referentes às concentrações analisadas no desenvolvimento da curva padrão estão descritos nas Tabelas A1-1 e A-1-2. Foram desenvolvidas três curvas em um dia. As curvas padrão foram efetuadas em triplicatas e analisadas através da regressão linear, para avaliação da linearidade do método foi realizado tratamento estatístico através da ANOVA.

Tabela A1-1. Valores experimentais obtidos no desenvolvimento da curva padrão para acetonitrila.

Concentração média (µg/mL)	Áreas absolutas	Área média ± d.p.	CV%
1,01	79418,03	76650,53 ± 3591,13	4,68
	77941,08		
	72592,47		
2,53	199260,64	200928,17 ± 1835,74	0,91
	200628,59		
	202895,27		
5,07	401285,81	415507,16 ± 13014,77	3,13
	426824,88		
	418410,79		
10,13	913510,22	898629,37 ± 26670,31	2,97
	867838,88		
	914539,00		
20,27	1886389,44	1854594,37 ± 30221,88	1,63
	1851153,44		
	1826240,23		
40,53	3719067,29	3730495,11 ± 81291,25	2,18
	3816895,58		
	3655522,46		

\*cada valor é média de três determinações.  
CV% = coeficiente de variação percentual.

O valor de F (79020,8) da ANOVA da regressão para acetonitrila foi maior que o F tabelado (251,9) para  $\alpha=0,05$ , indicando a existência de regressão linear entre as variáveis relacionadas.

Tabela A1-2. Valores experimentais obtidos no desenvolvimento da curva padrão para meio pH 6,8.

Concentração média (µg/mL)	Áreas absolutas	Área média ± d.p.	CV%
1,01	88554,16	91043,76 ± 2961,03	3,25
	90258,98		
	94318,13		
2,53	227500,38	228550,20 ± 6784,18	2,97
	222352,13		
	235798,10		
5,07	445842,09	453105,66 ± 11421,76	2,52
	447203,96		
	466270,92		
10,13	910400,15	936291,63 ± 23112,86	2,47
	943631,33		
	954843,42		
20,27	1905501,01	1924218,64 ± 31710,96	1,65
	1906322,67		
	1960832,23		
40,53	3810189,86	3885224,48 ± 71468,88	1,84
	3952493,35		
	3892990,24		

\*cada valor é média de três determinações.  
CV% = coeficiente de variação percentual.

O valor de F (100098,1) da ANOVA da regressão para meio pH 6,8 foi maior que o F tabelado (230,2) para  $\alpha=0,05$ , indicando a existência de regressão linear entre as variáveis relacionadas.

As Figuras A1-1 e A1-2 ilustram as representações gráficas das curvas padrão obtidas no desenvolvimento da cromatografia líquida de alta eficiência para

quantificação da indometacina em dois solventes: acetonitrila e meio pH 6,8. As equações da reta obtidas pelo estudo de regressão linear estão indicadas.

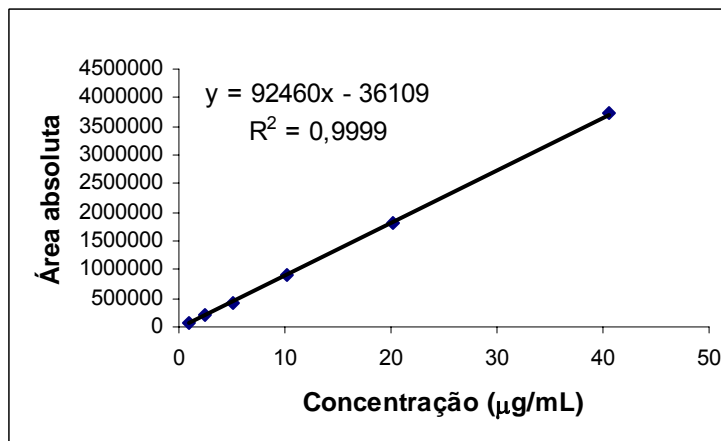


Figura A1-1. Curva padrão para acetonitrila.

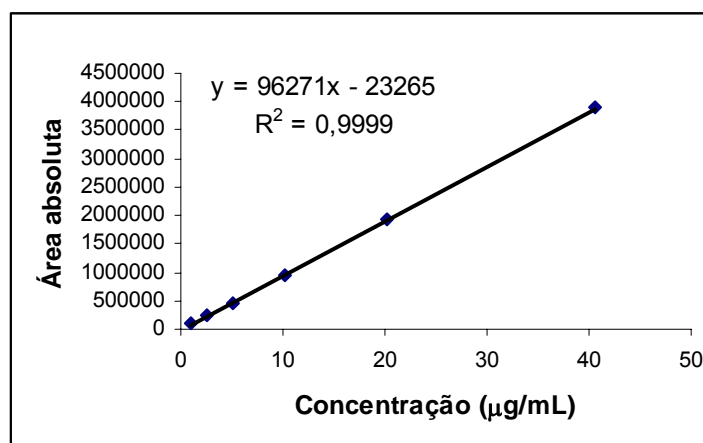


Figura A1-2. Curva padrão para meio pH 6,8.

## 2. Precisão

A determinação da indometacina nas micropartículas nanorrevestidas foi realizada após o tratamento das amostras pulverulentas em acetonitrila, para a total dissolução do fármaco. Alíquotas dessa dispersão inicial foram diluídas em dois solventes; acetonitrila e em meio pH 6,8.

A precisão do método analítico foi avaliada através da determinação das

amostras em um único dia e em dias diferente, e analisado pela concordância entre os resultados obtidos com amostras de igual concentração (BRASIL, 2002; USP 24, 2000). Os resultados foram expressos para os dois diferentes solventes (Tabelas A1-3 e A1-4) através do coeficiente de variação.

Tabela A1-3. Determinação do teor de indometacina nas micropartículas nanorrevestidas em acetonitrila em três diferentes dias.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>
<b>Média (%)</b>	101,74	105,14	102,88
<b>CV% intra-dia</b>	1,55	1,77	1,95
<b>Média geral (%)</b>	103,25		
<b>CV% entre dias</b>	1,68		

\*os valores representam a média do doseamento de seis amostras para o dia 1 e de três amostras para os dias 2 e 3.

Tabela A1-4. Determinação do teor de indometacina nas micropartículas nanorrevestidas em meio pH 6,8 em três diferentes dias.

	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 2</b>	<b>Dia 3</b>
<b>Média (%)</b>	102,30	104,62	104,39
<b>CV% intra-dia</b>	1,67	1,41	0,67
<b>Média geral (%)</b>	103,77		
<b>CV% entre dias</b>	1,23		

\* os valores representam a média do doseamento de seis amostras para o dia 2 e de três amostras para os dias 1 e 3.

O coeficiente de variação médio observado foi abaixo de 2,0 %, para os dois solventes em análise, esses valores caracterizam que a metodologia analítica foi precisa.

### 3. Exatidão

A exatidão de um método analítico mede a proximidade dos resultados obtidos com os valores reais esperados. É expressa como a porcentagem de



recuperação do ensaio de uma amostra de concentração conhecida, adicionada de certa quantidade do padrão de referência da substância em análise (BRASIL, 2002; USP 24, 2000).

As percentagens de recuperação obtidas a partir do teste de recuperação da indometacina para os dois solventes estão apresentados na Tabelas A1-5 e A1-6.

Tabela A1-5. Resultados referentes ao teste de recuperação para acetonitrila.

	<b>Concentração adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentração média recuperada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Recuperação média (%)</b>
<b>R1</b>	2,5	2,45 $\pm$ 0,013	99,02 $\pm$ 1,95
<b>R2</b>	10	10,10 $\pm$ 0,103	99,75 $\pm$ 2,33
<b>R3</b>	20	20,64 $\pm$ 0,035	101,03 $\pm$ 3,48
Recuperação média: 99,93 % $\pm$ 1,02			

\* Cada valor representa a média de três determinações.

Tabela A1-6. Resultados referentes ao teste de recuperação para meio pH 6,8.

	<b>Concentração adicionada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Concentração média recuperada (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Recuperação média (%)</b>
<b>R1</b>	2,5	2,58 $\pm$ 0,011	99,10 $\pm$ 1,84
<b>R2</b>	10	9,84 $\pm$ 0,026	101,15 $\pm$ 3,62
<b>R3</b>	20	19,94 $\pm$ 0,034	104,32 $\pm$ 0,14
Recuperação média: 101,52 % $\pm$ 2,63			

\* Cada valor representa a média de três determinações.

Os dados obtidos demonstram exatidão satisfatória para a metodologia analítica testada, com uma recuperação média de 99,93 % e desvio padrão relativo de 1,02 para micropartículas contendo indometacina analisadas em acetonitrila. Para as micropartículas contendo indometacina analisadas em meio pH 6,8 a

recuperação média foi de 101,52 % e o desvio padrão relativo de 2,63.

#### 4 Especificidade

A partir de uma dispersão de micropartículas em acetonitrila foram efetuadas as diluições em acetonitrila e em tampão fosfato (pH 6,8). Nas mesmas condições, foram preparadas outras dispersões e diluições de micropartículas sem o fármaco. Os cromatogramas obtidos na análise das formulações com indometacina e sem indometacina estão apresentados na Figura A1-3.

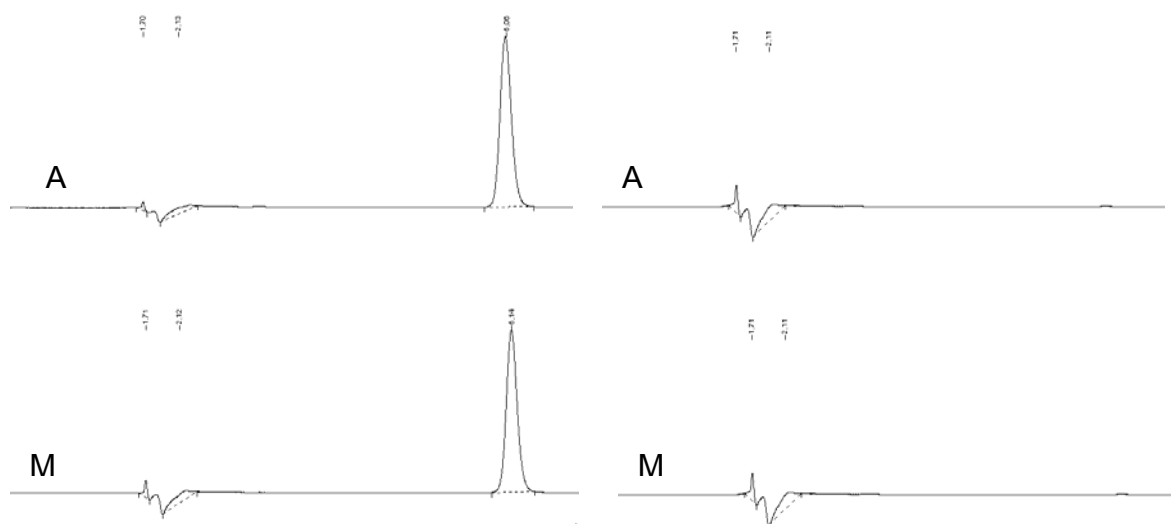


Figura A1-3. Cromatogramas obtidos na análise de micropartículas com indometacina e sem indometacina, em acetonitrila (A) e em meio pH 6,8 (M).

Os cromatogramas apresentados na Figura A1-3 mostram a especificidade do método para a quantificação da indometacina, em acetonitrila (tempo de retenção igual a 6,06) e em meio pH 6,8 (tempo de retenção igual a 6,14), demonstrando que não há interferência dos adjuvantes presentes nas formulações.

#### 5. Limite de quantificação

O limite de quantificação é a menor quantidade da substância em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as

condições experimentais estabelecidas.

O ponto da curva padrão referente à concentração de 1  $\mu\text{g/mL}$  foi considerado o limite de quantificação do método analítico para os dois solventes, uma vez que apresentou coeficiente de variação abaixo de 5,0 %. A concentração de 0,5  $\mu\text{g/mL}$  foi testada e apresentou desvio da linearidade significativo, e coeficiente de variação de 6 % para meio pH 6,8 e de 14 % para acetonitrila, portanto essa concentração foi inadequada para as análises.

---

---

**ANEXO 2**

*Percentual dissolvido de indometacina a partir da indometacina pura triturada, do núcleo e das formulações de micropartículas nanorrevestidas.*

Tabela A2-1. Percentuais dissolvidos de indometacina a partir da indometacina triturada e do núcleo em tampão fosfato pH 6,8.

<b>Tempo (min)</b>	<b>Indometacina (% dissolvida ± DP %)</b>	<b>Núcleo (% dissolvida ± DP %)</b>
2	1,60 ± 0,83	2,38 ± 0,30
4	5,45 ± 1,76	6,85 ± 1,09
6	10,03 ± 2,56	12,19 ± 2,16
8	14,55 ± 3,27	17,54 ± 2,59
10	18,75 ± 3,75	23,64 ± 3,21
15	28,58 ± 4,50	37,98 ± 3,32
20	36,93 ± 4,74	50,45 ± 2,67
25	44,21 ± 4,65	61,24 ± 1,92
30	50,40 ± 4,44	71,41 ± 3,43
40	60,61 ± 4,02	82,14 ± 2,31
50	67,90 ± 3,65	89,36 ± 1,51
60	73,91 ± 3,30	92,91 ± 3,01
80	81,67 ± 2,37	95,60 ± 2,69
100	87,06 ± 2,04	96,81 ± 2,52
120	90,64 ± 1,69	97,40 ± 2,46
150	94,65 ± 1,52	98,20 ± 2,44

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Tabela A2-2. Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M1 e M2 em tampão fosfato pH 6,8.

Tempo (min)	M1 (% dissolvida ± DP %)	M1 Modelagem ± DP %	M2 (% dissolvida ± DP %)	M2 Modelagem ± DP %
2	2,13 ± 0,29	5,19 ± 1,15	1,64 ± 1,88	5,84 ± 0,41
4	5,67 ± 0,91	10,11 ± 2,19	6,25 ± 1,30	11,33 ± 0,77
6	10,05 ± 0,89	14,76 ± 3,12	11,72 ± 0,29	16,51 ± 1,09
8	15,02 ± 0,73	19,16 ± 3,96	16,89 ± 0,62	21,38 ± 1,37
10	19,86 ± 0,90	23,33 ± 4,70	22,32 ± 1,80	25,97 ± 1,61
15	32,24 ± 1,18	32,81 ± 6,22	34,86 ± 3,46	36,29 ± 2,08
20	42,99 ± 1,29	41,07 ± 7,31	45,47 ± 3,48	45,18 ± 2,39
25	54,08 ± 1,55	48,29 ± 8,05	54,46 ± 3,51	52,82 ± 2,57
30	61,30 ± 1,20	54,59 ± 8,52	61,85 ± 3,24	59,40 ± 2,65
40	72,29 ± 0,63	64,92 ± 8,85	72,74 ± 2,32	69,92 ± 2,62
50	79,66 ± 0,56	72,83 ± 8,62	79,65 ± 1,85	77,71 ± 2,42
60	84,59 ± 0,61	78,90 ± 8,07	84,75 ± 1,54	83,48 ± 2,15
80	90,51 ± 1,10	87,17 ± 6,58	90,90 ± 1,35	90,92 ± 1,57
100	93,35 ± 1,62	92,12 ± 5,05	94,71 ± 1,43	95,00 ± 1,08
120	94,90 ± 1,91	95,11 ± 3,73	97,03 ± 1,21	97,25 ± 0,71
150	96,24 ± 2,13	97,57 ± 2,27	99,38 ± 0,71	98,87 ± 0,36

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Tabela A2-3. Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M5 e M6 em tampão fosfato pH 6,8.

Tempo (min)	M5 (% dissolvida ± DP %)	M5 Modelagem ± DP %	M6 (% dissolvida ± DP %)	M6 Modelagem ± DP %
2	0,98 ± 0,25	3,30 ± 0,33	1,00 ± 0,23	3,47 ± 0,33
4	3,61 ± 1,31	6,49 ± 0,64	2,90 ± 0,43	6,81 ± 0,64
6	7,30 ± 2,52	9,57 ± 0,93	5,59 ± 0,78	10,05 ± 0,93
8	10,81 ± 3,27	12,55 ± 1,21	8,71 ± 1,63	13,16 ± 1,19
10	14,66 ± 4,07	15,43 ± 1,46	12,10 ± 2,38	16,17 ± 1,44
15	23,34 ± 4,65	22,23 ± 2,02	20,58 ± 3,45	23,24 ± 1,97
20	31,54 ± 4,62	28,47 ± 2,47	28,56 ± 4,20	29,71 ± 2,40
25	38,45 ± 4,42	34,21 ± 2,85	35,62 ± 4,87	35,64 ± 2,74
30	45,00 ± 3,57	39,49 ± 3,15	41,87 ± 5,03	41,06 ± 3,01
40	54,91 ± 3,02	48,80 ± 3,56	52,10 ± 4,45	50,56 ± 3,34
50	61,71 ± 2,63	56,66 ± 3,78	59,72 ± 3,80	58,52 ± 3,49
60	66,70 ± 2,02	63,32 ± 3,85	65,22 ± 3,58	65,20 ± 3,49
80	73,68 ± 1,52	73,70 ± 3,70	73,11 ± 2,09	75,48 ± 3,25
100	78,46 ± 1,03	81,12 ± 3,34	79,02 ± 1,18	82,72 ± 2,83
120	81,70 ± 0,89	86,44 ± 2,89	83,61 ± 0,85	87,81 ± 2,37
150	85,27 ± 0,63	91,74 ± 2,21	88,08 ± 0,66	92,77 ± 1,72

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Tabela A2-4. Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação M7 e M8 em tampão fosfato pH 6,8.

Tempo (min)	M7 (% dissolvida ± DP %)	M7 Modelagem ± DP %	M8 (% dissolvida ± DP %)	M8 Modelagem ± DP %
2	1,43 ± 0,87	3,48 ± 0,23	1,28 ± 0,15	2,96 ± 0,21
4	3,29 ± 1,69	6,83 ± 0,44	3,60 ± 0,30	5,83 ± 0,41
6	5,93 ± 2,09	10,07 ± 0,63	6,57 ± 1,04	8,62 ± 0,59
8	8,94 ± 2,58	13,20 ± 0,81	10,03 ± 1,35	11,32 ± 0,77
10	12,22 ± 2,74	16,22 ± 0,98	13,83 ± 1,57	13,94 ± 0,93
15	19,83 ± 3,09	23,31 ± 1,34	22,96 ± 1,85	20,16 ± 1,30
20	27,38 ± 3,48	29,80 ± 1,64	31,37 ± 2,32	25,93 ± 1,61
25	33,99 ± 4,12	35,74 ± 1,87	38,44 ± 2,43	31,28 ± 1,87
30	39,57 ± 4,51	41,17 ± 2,05	44,37 ± 2,47	36,25 ± 2,08
40	48,89 ± 4,07	50,70 ± 2,29	54,43 ± 2,67	45,12 ± 2,39
50	56,32 ± 3,21	58,68 ± 2,39	61,76 ± 2,64	52,76 ± 2,58
60	61,81 ± 2,30	65,37 ± 2,40	67,21 ± 2,44	59,33 ± 2,68
80	69,41 ± 1,03	75,66 ± 2,24	74,61 ± 1,72	69,85 ± 2,66
100	74,35 ± 0,55	82,89 ± 1,96	79,47 ± 1,00	77,64 ± 2,48
120	77,97 ± 0,83	87,97 ± 1,65	82,78 ± 0,56	83,41 ± 2,21
150	82,02 ± 1,23	92,90 ± 1,21	86,65 ± 0,18	89,39 ± 1,78

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.



Tabela A2-5. Percentuais dissolvidos de indometacina e modelagem matemática (monoexponencial) a partir da formulação MU1 e MU2 em tampão fosfato pH 6,8.

Tempo (min)	MU1 (% dissolvida ± DP %)	MU1 Modelagem ± DP %	MU2 (% dissolvida ± DP %)	MU2 Modelagem ± DP %
2	0,99 ± 0,23	2,66 ± 0,21	0,34 ± 0,38	2,09 ± 0,13
4	2,63 ± 0,19	5,26 ± 0,41	1,04 ± 0,69	4,14 ± 0,25
6	4,49 ± 0,17	7,78 ± 0,60	1,97 ± 1,08	6,15 ± 0,36
8	6,56 ± 0,13	10,24 ± 0,78	3,24 ± 1,32	8,12 ± 0,48
10	8,84 ± 0,36	12,63 ± 0,95	4,71 ± 1,59	10,04 ± 0,58
15	14,49 ± 0,74	18,33 ± 1,34	9,15 ± 1,95	14,68 ± 0,83
20	20,84 ± 0,69	23,66 ± 1,66	14,55 ± 2,13	19,08 ± 1,05
25	26,84 ± 1,15	28,65 ± 1,95	20,27 ± 2,11	23,25 ± 1,24
30	30,53 ± 3,04	33,30 ± 2,18	25,51 ± 2,25	27,20 ± 1,41
40	42,64 ± 4,33	41,73 ± 2,54	34,88 ± 1,55	34,51 ± 1,69
50	52,11 ± 4,46	49,09 ± 2,77	43,43 ± 2,63	41,09 ± 1,90
60	60,06 ± 4,50	55,52 ± 2,91	50,42 ± 2,93	47,00 ± 2,05
80	70,64 ± 4,18	66,04 ± 2,96	61,02 ± 2,80	57,11 ± 2,21
100	76,90 ± 3,87	74,08 ± 2,82	68,40 ± 2,37	65,29 ± 2,23
120	79,62 ± 1,09	80,21 ± 2,59	73,51 ± 1,88	71,91 ± 2,16
150	83,81 ± 0,94	86,80 ± 2,16	78,69 ± 1,17	79,55 ± 1,96
200	87,66 ± 0,91	93,28 ± 1,47	83,98 ± 0,71	87,95 ± 1,54

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

*Parâmetros do modelo monoexponencial para as micropartículas nanorrevestidas..*

Tabela A3-1. Valores das constantes de velocidade (k), do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação do modelo monoexponencial às formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8, em triplicata de lote.

<b>Parâmetro</b>	<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Lote 3</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>
<b>Formulação</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0281	0,0282	0,0298	0,0287	0,0009
r	0,9967	0,9952	0,9981	0,9966	0,0014
MSC	4,3314	4,1842	4,5769	4,3640	0,1984
<b>Formulação</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0261	0,02853	0,0316	0,0287	0,0028
r	0,9991	0,9988	0,9982	0,9987	0,0004
MSC	5,1460	5,1381	4,5777	4,9539	0,3259
<b>Formulação</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0165	0,0168	0,0196	0,0176	0,0017
r	0,9937	0,9934	0,9910	0,9927	0,0014
MSC	4,0913	4,0811	3,6015	3,9244	0,2801
<b>Formulação</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0172	0,0148	0,0182	0,0167	0,0017
r	0,9959	0,9981	0,9940	0,9960	0,0020
MSC	4,5293	4,8353	4,2175	4,5273	0,3089
<b>Formulação</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0158	0,0138	0,0154	0,0150	0,0010
r	0,9907	0,9971	0,9907	0,9928	0,0036
MSC	3,4934	4,8431	3,8027	4,0460	0,7073
<b>Formulação</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0174	0,0166	0,0189	0,0177	0,0011
r	0,9939	0,9962	0,9929	0,9943	0,0016
MSC	4,1832	4,6800	4,0180	4,2937	0,3445

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Tabela A3-2. Valores das constantes de velocidade (k), do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação do modelo monoexponencial às formulações MU1 e MU2, em triplicata de lote.

<b>Parâmetro</b>	<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Lote 3</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>
<b>Formulação</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0143	0,0127	0,0135	0,0135	0,0008
r	0,9934	0,9969	0,9953	0,9955	0,0018
MSC	3,9735	4,7401	4,3591	4,3630	0,3833
<b>Formulação</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>
k (min <sup>-1</sup> )	0,0105	0,0100	0,0113	0,0106	0,0006
r	0,9943	0,9973	0,9957	0,9959	0,0015
MSC	3,6812	4,4537	4,3151	4,1430	0,4119

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.



---

## **ANEXO 4**

*Parâmetros e ajuste gráfico da modelagem matemática utilizando a Lei da Potência  
para as micropartículas nanorrevestidas.*



Tabela A4-1. Valores dos parâmetros a e n, do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação da Lei da Potência às formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8, em triplicata de lote.

<b>Parâmetro</b>	<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Lote 3</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>
<b>Formulação</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>	<b>M1</b>
a	1,5728	1,6769	1,8797	1,7058	0,1561
n	1,0807	1,7340	1,0407	1,0647	0,3892
r	0,9979	0,9964	0,9976	0,9974	0,0008
MSC	4,9388	4,3740	4,7809	4,7009	0,2914
<b>Formulação</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>	<b>M2</b>
a	1,8791	2,2016	2,2329	2,2173	0,4964
n	1,0099	0,9784	1,0024	0,9904	0,0392
r	0,9966	0,9983	0,9930	0,9957	0,0025
MSC	4,1339	5,1093	3,6788	4,3941	0,6493
<b>Formulação</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>	<b>M5</b>
a	1,2587	2,0447	3,0534	2,0539	0,8996
n	1,0057	0,8795	0,7980	0,8859	0,1046
r	0,9929	0,9934	0,9904	0,9928	0,0030
MSC	3,7445	3,8318	3,4616	3,7353	0,1935
<b>Formulação</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>	<b>M6</b>
a	1,5972	1,0523	2,0007	1,5369	0,4760
n	0,9469	1,0245	0,8981	0,9503	0,0637
r	0,9927	0,9964	0,9908	0,9936	0,0028
MSC	3,7112	4,4413	3,4999	3,8485	0,4940
<b>Formulação</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>	<b>M7</b>
a	2,4493	1,1481	1,3671	1,6071	0,6967
n	0,8229	0,9874	0,9763	0,9226	0,0919
r	0,9937	0,9964	0,9923	0,9944	0,0021
MSC	3,9055	4,4073	3,6591	3,9896	0,3813
<b>Formulação</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>	<b>M8</b>
a	1,6579	1,8881	2,2641	1,9291	0,3060
n	0,9411	0,8944	0,8722	0,9016	0,0352
r	0,9919	0,9940	0,9915	0,9926	0,0013
MSC	3,6293	3,9240	3,5809	3,7099	0,1857

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Os valores experimentais empregados consideraram como limite até 60 % de dissolução, para as formulações M1 e M2 corresponderam aos dados até 30 minutos; e para as formulações M5, M6, M7 e M8, até 50 minutos, como pode ser visualizado nos gráficos da Figura A4-1.

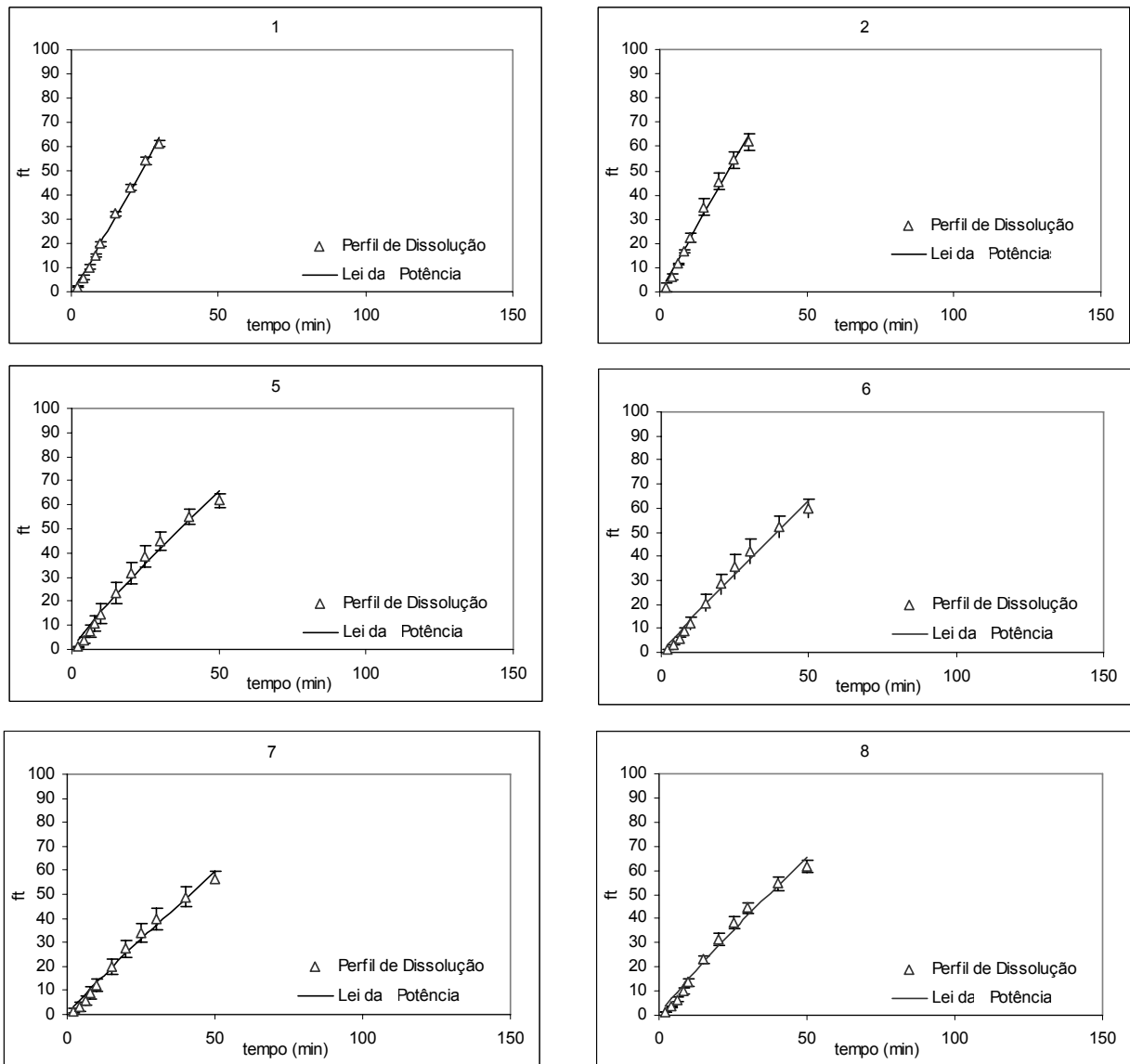


Figura A4-1. Ajuste gráfico ao modelo da Lei da Potência para as micropartículas nanorevestidas (formulações M1, M2, M5, M6, M7 e M8).



Tabela A4-2. Valores dos parâmetros a e n, do critério de seleção do modelo (MSC) e do coeficiente de correlação (r) obtidos pela aplicação da Lei da Potência às formulações MU1 e MU2, em triplicata de lote.

Parâmetro	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	DP
<b>Formulação</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>	<b>MU1</b>
A	0,8389	1,0486	0,9406	0,9345	0,1049
n	1,0657	0,9806	1,0236	1,0245	0,0425
r	0,9978	0,9972	0,9978	0,9983	0,0003
MSC	5,0006	4,7422	4,9857	5,2142	0,1451
<b>Formulação</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>	<b>MU2</b>
A	0,5029	0,7567	0,9313	0,7122	0,2154
n	1,1154	1,0033	0,9774	1,0307	0,0733
r	0,9913	0,9935	0,9945	0,9934	0,0017
MSC	3,5763	3,8473	4,0565	3,8587	0,2408

DP = desvio padrão referente à triplicata de lote.

Os valores experimentais empregados consideraram como limite até 60 % de dissolução, para a formulação MU1 correspondeu aos dados até 60 minutos; e para a formulação MU2, até 80 minutos, como pode ser visualizado nos gráficos da Figura A4-2.

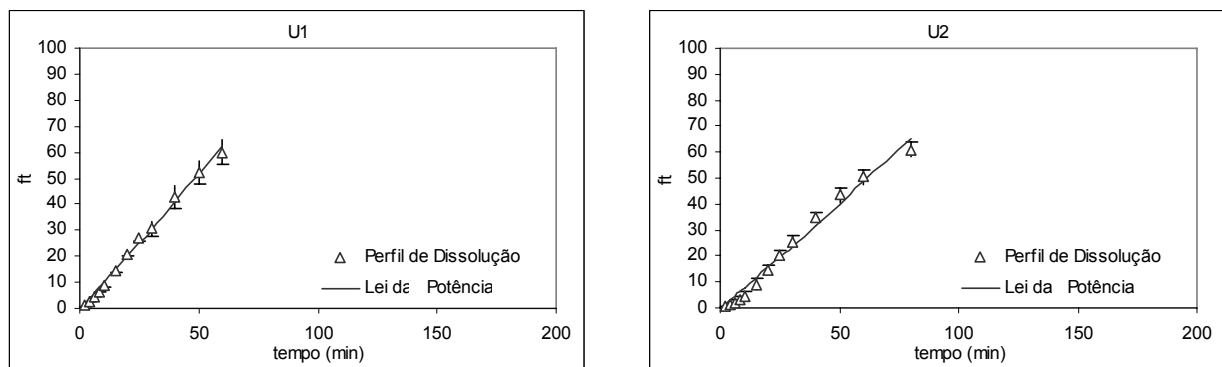


Figura A4-2. Ajuste gráfico ao modelo da Lei da Potência para as micropartículas nanorevestidas (formulações MU1 e MU2).