

Diana Rita Sousa Travassos

# PRODUÇÃO DE SISTEMAS TRANSDÉRMICOS DE BASE ÁCIDO LÁTICO

Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Química, especialização em Biosistemas, orientada pela Professora Doutora Cristina Maria dos Santos Gaudência Baptista e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra.

Setembro de 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Diana Rita Sousa Travassos

# PRODUÇÃO DE SISTEMAS TRANSDÉRMICOS À BASE DE ÁCIDO LÁTICO

Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, especialização em Biosistemas, apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra.

**Supervisores:**

Professora Doutora Cristina Maria dos Santos Gaudêncio Baptista

**Instituições:**

Departamento de Engenharia Química

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Coimbra, 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

NOTA: Tomou-se a decisão de manter em língua inglesa os nomes de alguns compostos químicos.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

# AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero expressar a minha admiração e agradecer à Professora Doutora Cristina Gaudêncio, pela oportunidade que me deu, pela confiança que depositou em mim, pela sua orientação e disponibilidade que sempre demonstrou. Pelas palavras de incentivo, por todos os conselhos e soluções para alcançar os objetivos desejados. Agradeço pela sabedoria e conhecimento transmitidos e acima de tudo pelo otimismo, pela paciência ao longo deste percurso, pela simpatia e amizade. Quero agradecer também à Doutora Dina Marques, pela inspiração, pelos seus conselhos e disponibilidade sempre que necessário.

Quero agradecer especialmente ao Engenheiro João Miguel Santos, colega de laboratório e amigo, por partilhar comigo os seus conhecimentos, por todo o apoio que me deu em laboratório, pela partilha de ideias, experiências e conselhos, pela dedicação, entrega e total disponibilidade. Obrigada pela enorme contribuição na produção dos materiais e sua caracterização e pela ajuda na superação dos desafios encontrados. Obrigada pela paciência, companheirismo, pelas palavras de incentivo e coragem nos momentos certos e acima de tudo pela amizade. Agradeço pelo exemplo, por me mostrar que nunca devemos desistir dos nossos sonhos.

Agradeço ao Dr. Filipe Aguiar pelas suas ideias e conselhos e por tornar este projeto possível. Quero agradecer ao Dr. Fernando Cruz pela sabedoria e conhecimentos que me transmitiu e pela disponibilidade que sempre demonstrou. Agradeço também à Doutora Patrícia Alves e à Engenheira Cátia Mendes pela simpatia e pelos seus conselhos. À Doutora Ana Dias, à Doutora Mara Braga e ao Doutor Hermínio Sousa e toda a equipa de investigação de Engenharia de Tecidos pela disponibilidade demonstrada e pelos conselhos. Quero deixar um agradecimento à Engenheira Maria João pela paciência e pela realização das análises TGA e DSC. Agradeço também ao Engenheiro Miguel Lamas pela disponibilidade. Agradeço à Doutora Olga Cardoso, da Faculdade de Farmácia, pela realização dos testes de atividade antibacteriana.

Quero agradecer ao Departamento de Engenharia Química, ao Professor Doutor Jorge Rocha, pelos meios disponibilizados para a realização dos trabalhos e pela preocupação com a segurança de todos aqueles que trabalham em prol da investigação. Agradeço também aos colegas que partilharam o laboratório comigo, Ana Moura, Ana Leonor, Engenheira Paula Egas, Inês Pedrosa, João Baeta, Michael Almeida, Cátia Pedro, Adriana Carecho e Bárbara Valente pelo companheirismo, pelo bom ambiente e palavras amigas. Um agradecimento à D. Dulce e Sr. José, pela incansável disponibilidade e paciência. À Sandra e D. Elsa por todo o apoio e pelas palavras encorajadoras.

Um agradecimento muito especial a todos os meus amigos que sempre estiveram presentes ao longo desta caminhada e que tornaram tudo possível. À Daniela Fabíola, Ana Raquel, Mónica Simões, Rita Samarra, Dina Sousa, Daniela Martins, Rachel Cordeiro e Patrícia Costa, o meu muito obrigada, pelo bom ambiente e momentos de descontração, pelo companheirismo, por todo o apoio e pela grande amizade que criámos. Agradeço também à Tânia Santos pelas suas palavras de incentivo e por acreditar em mim. À Catarina, Elton, Tatiana, Paulo, Joana, Martinho e Tiago, agradeço pela amizade, pela paciência e por estarem sempre presentes. Quero agradecer aos meus amigos de infância Rodrigo Couceiro e Micael Simões, com quem posso sempre contar.

Aos meus pais, a quem devo tudo o que sou, o meu muito obrigada. Obrigada pelo enorme apoio, por toda a confiança que depositaram em mim, pela paciência. Devo-vos especialmente a vocês tudo o que alcancei, de outra forma não seria possível. Obrigada por quererem o melhor para mim. À minha irmã agradeço toda a paciência, por ser boa ouvinte e por todas as palavras de incentivo. Ao meu namorado, Rui Azenha, agradeço por todo o amor e carinho, pela paciência e compreensão, pelas palavras encorajadoras, pelo apoio fundamental e incansável e por acreditar em mim. Obrigada por seres o meu pilar e o meu refúgio nos dias mais complicados. À sua família, agradeço todas as palavras de incentivo e força.

Aos meus avós, aos meus tios, primos e afilhados agradeço toda a preocupação e incentivo, todas as palavras de força e todas as alegrias e por acreditarem em mim. Agradeço aos meus avós, em especial ao avô Figueira e à avó Luz, que teriam muito orgulho em ver-me alcançar esta meta. Um agradecimento especial às minhas primas e grandes amigas Inês e Daniela por todos os sorrisos e boa disposição e pelo encorajamento. Agradeço especialmente à minha madrinha Salomé pelos seus conhecimentos, pelas palavras sábias e conselhos e por ser um grande exemplo para mim.

Talvez não existam palavras suficientes para expressar a minha gratidão. A cada um de vós, que contribuiu para que tudo fosse possível, o meu muito obrigada.

Diana Rita Sousa Travassos

## RESUMO

Sistemas transdérmicos para administração de fármacos têm emergido como soluções para administração e terapêuticas eficazes principalmente tratamento hormonal e muscular. Como principais vantagens destes produtos destacam-se a administração localizada e prolongada, reduzindo as dosagens e possíveis efeitos secundários. Os adesivos transdérmicos para administração de anti-inflamatórios não esteróides ainda são raros no mercado. É por isso importante ensaiar estratégias inovadoras com o objetivo de desenvolver adesivos capazes de incorporar estes fármacos, libertando-os de forma controlada.

O ácido láctico e os seus copolímeros têm-se revelado promissores na produção de sistemas de libertação controlada, suturas cirúrgicas e *scaffolds*, com recente investigação da sua aplicabilidade como adesivos cirúrgicos fotopolimerizados. Neste trabalho continuou a investigar-se o ácido láctico, agora como potencial matéria-prima na produção de adesivos transdérmicos para administração de ibuprofeno. O conhecimento já disponível na síntese de adesivos de base ácido láctico foi aplicado permitindo a seleção de três comonómeros: 1,4-butanodiol (BDO), pentaeritritol e polietilenoglicol-300 (PEG-300), que conduziram aos materiais com as características mais favoráveis à aplicação desejada. A modificação dos oligómeros recorreu ao monómero funcional Laromer<sup>®</sup> LR 9000, tendo sido testadas várias razões moleculares oligómero:Laromer<sup>®</sup>, bem como solventes. Através da análise ATR-FTIR foi possível acompanhar o progresso das reações e otimizar o tempo de cada uma. Após adição de Irgacure<sup>®</sup> 2959, um fotoiniciador biocompatível, obtiveram-se materiais resistentes, transparentes e flexíveis, com tempos de fotoreticulação entre 2 e 4 minutos.

Visando a administração transdérmica, a incorporação do fármaco nos géis funcionalizados antes da fotopolimerização recorreu a duas soluções selecionadas, de entre as desenvolvidas. Para garantir a permeação do ativo através da pele foram testados vários solubilizadores, plastificantes, tensioativos e agentes de permeação (transcutol, miristato de isopropilo, miglyol, glicerol, propilenoglicol, PEG300, Tween<sup>®</sup>80, Cremophor<sup>®</sup> RH40 e etanol) em diferentes proporções. Foi critério importante assegurar uma fração de água na solução superior a 5% m/m, o que se revelou um desafio devido às dificuldades de dissolução do ibuprofeno em meio aquoso. Os adesivos finais apresentaram-se resistentes, transparentes e flexíveis, com tempos de reticulação semelhantes aos adesivos base, o que indica que o fármaco não interferiu nas propriedades físicas nem no sucesso da reticulação.

A caracterização dos materiais foi direcionada para a validação da viabilidade da sua utilização como sistema transdérmico de libertação. A capacidade de absorção de água mostrou depender do comonómero: o material com PEG300 foi o mais hidrofílico e o com BDO o mais hidrofóbico. A análise termogravimétrica indicou que os materiais são termicamente mais estáveis após reticulação e que a incorporação de fármaco diminui a sua estabilidade térmica, mas não de forma significativa. Todos os materiais exibiram temperaturas de degradação acima dos 200°C, à exceção do adesivo de BDO com fármaco ( $T_d=185^\circ\text{C}$ ). Através da técnica DSC registaram-se valores negativos para as temperaturas de transição vítrea dos adesivos, com exceção de um material. Quando incubados em PBS os materiais revelaram-se hidroliticamente instáveis numa relação clara com a sua capacidade de absorção de água e estado de reticulação. Concluiu-se que os materiais são biodegradáveis o que, tendo em conta a

aplicação e o seu tempo de uso, não é comprometedor. A energia de superfície de todos os materiais, inferior à da pele, confirma poderem aderir a esta.

Estudos de libertação de fármaco *in vitro* foram realizados (T=37°C) por incubação das amostras em solução de PBS (pH 7,4) e por difusão em célula de Franz. Após 24 horas de avaliação, as percentagens de libertação de ibuprofeno obtidas foram na gama 17-52% para materiais ramificados, 9-49% para material de butanodiol e 30-70% para materiais de PEG300, mostrando depender do comonomero usado, da composição da solução de fármaco incorporada no adesivo e do método de avaliação empregue. Os resultados alcançados foram promissores quando comparados com a literatura. Estudos preliminares de degradação do fármaco por UV permitem, em primeira instância, aferir a reduzida degradação do ativo, não comprometendo a sua atividade.

Face aos resultados obtidos conclui-se que os adesivos de base ácido láctico desenvolvidos apresentam características promissoras como sistemas transdérmicos para administração de ibuprofeno. É necessário consolidar resultados de libertação, efetuando estudos de libertação usando uma membrana lipídica, para simular as camadas da pele, bem como confirmar a não degradação do fármaco por UV. Avaliação de propriedades antibacterianas com bactérias específicas e testes de biocompatibilidade em tecido humano estão previstos para o futuro. De todos os materiais ensaiados, o adesivo com base no oligómero de ácido láctico e PEG300, onde foi incorporada a solução de fármaco com maior fração de água, foi o que se revelou mais promissor podendo de futuro ser bastante útil para a administração transdérmica de ibuprofeno.

**PALAVRAS-CHAVE:** Adesivos transdérmicos, ácido láctico, copolímeros fotoreticuláveis, libertação controlada, ibuprofeno.

## ABSTRACT

Transdermal drug delivery systems have emerged as solutions for effective administration and therapy for muscle and hormonal treatments. Localized and long term delivery, reduced dosages and fewer side effects are the main advantages over traditional drug administration. The transdermal patches for administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs are still rare in the market. It is therefore important to test innovative strategies in order to develop adhesives able to trap these drugs and release them in a controlled manner.

Lactic acid and its copolymers have proved to be promising materials for the production of controlled release systems, surgical sutures and scaffolds, and have recently been used to obtain photopolymerizable surgical adhesives. In this work lactic acid has been assessed once more, now as raw material for the production of transdermal patches for ibuprofen administration. The expertise already available in the synthesis of lactic acid based adhesives was applied, allowing selection of three comonomers: 1,4-butanediol (BDO), pentaerythritol and poly (ethylene glycol)-300 (PEG300), based on the characteristics of the oligomers obtained for the envisaged application. Modification of oligomers resorted to functional monomer Laromer<sup>®</sup> LR 9000, having been tested several molecular ratios (oligomer:Laromer), as well as different solvents. By ATR-FTIR analysis it was possible to follow the progress of the reactions and optimize the reaction time. Upon addition of Irgacure<sup>®</sup> 2959, a biocompatible photoinitiator, resistant, transparent and flexible materials were obtained, with crosslinking times between 2 and 4 minutes.

Aiming at developing transdermal delivery systems, drug mixing in the functionalized gels, before curing, resorted to two solutions selected from among those developed. To ensure the permeation of active ingredients through the skin, several solubility enhancers, plasticizers, surfactants and permeation agents (transcutol, isopropyl myristate, miglyol, glycerol, propylene glycol, PEG300, Tween<sup>®</sup> 80, Cremophor<sup>®</sup> RH40 and ethanol) in different ratios have been assessed. An important criterion was achieving a minimum 5% w/w water content, which proved to be a challenge due to the low solubility of ibuprofen in aqueous medium. The final adhesives were resistant, transparent and flexible, with 2 to 4 minutes crosslinking times, indicating that the drug did not change physical properties or crosslinking.

The characterization of the materials was focused on assessing the viability of their use as transdermal drug delivery systems. Swelling capacity showed to depend on the comonomer used in the synthesis of oligomers: the material with PEG300 was the most hydrophilic and the one with BDO the most hydrophobic. Thermogravimetric analysis pointed out improved thermal stability after crosslinking, and a not significant decrease in stability after drug incorporation. The materials exhibited degradation temperatures above 200°C, except the BDO adhesive with drug ( $T_d=185^\circ\text{C}$ ). As expected, the glass transition temperature of adhesives (DSC) was negative, excepting one. Nonetheless, all  $T_g$ 's were lower than physiological temperature, corroborating their flexibility. When incubated in PBS materials proved to be hydrolytically unstable in agreement with their ability to absorb water and dependent on their crosslinking degree. Based on these results, the materials are considered biodegradable in moist environments, nevertheless the envisaged application as a transdermal device will not be compromised.



The surface energy of all materials, is lower than that of the skin, therefore confirming their adherence to skin. In vitro drug release studies were performed ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ), by incubating samples in PBS solution (pH 7,4) and by using Franz diffusion cells. After 24h, the samples showed ibuprofen releases in the range 17-52% for Star materials, 9-49% for BDO materials and 30-70% for PEG materials. Films performance was strongly dependent on the comonomer used in the oligomers synthesis, drug solution composition in the adhesive and, obviously, on the evaluation method used. The results were promising when compared with the literature. Preliminary studies on ibuprofen degradation in the wavelength of UV used foresee a very limited degradation extent, not compromising drug performance.

The results achieved allow considering that the lactic acid based adhesives developed have promising features as transdermal systems for controlled ibuprofen delivery. Further drug release studies using a membrane simulating the human skin are envisaged, as well as confirming the non-degradation of ibuprofen after photocrosslinking reactions. Antibacterial properties with specific bacteria and human tissue compatibility tests are envisaged in the future to achieve a detailed characterization of these products. In summary, PEG300-lactic acid adhesive with an entrapped drug solution with a higher water content, was considered the most promising system to develop a new generation of ipuprofen pacthes (using polymeric materials produced by greener technologies and based on renewable raw materials).

**KEYWORDS:** Transdermal patches, lactic acid, UV- curable copolymers, drug delivery, ibuprofen.

# ÍNDICE

	Pág.
<b>OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE</b>	1
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	4
1.1 Ácido Lático	4
1.1.1 PLA e Pré-polímeros de ácido láctico – Síntese, Modificação e Aplicações	5
1.2 Fotopolimerização – Fundamentos e Aplicações	10
1.3 Sistemas de libertação controlada de fármacos	12
1.4 Sistemas transdérmicos para administração de fármacos	13
1.4.1 Pele humana	14
1.4.1.1 Permeação através da pele	15
1.4.1.2 Cinética de permeação cutânea e agentes de permeação	15
1.4.2 Componentes básicos de um TDDS	16
1.4.3 Sistemas transdérmicos comercializados em Portugal – Exemplos	17
1.5 Anti-inflamatórios não esteróides – Ibuprofeno	18
1.5.1 Administração tópica de IBU e NSAIDs – Vantagens e limitações	19
1.5.2 Produtos comerciais e estudos realizados para administração tópica de IBU e NSAIDs	19
<b>2. MATERIAIS e MÉTODOS</b>	25
2.1 Apresentação do processo	25
2.2 Materiais	27
2.3 Síntese	27
2.3.1 Síntese dos oligómeros de ácido láctico	27
2.3.1.1 Oligómero de ácido láctico e poli (etilenoglicol) (PEG 300)	27
2.3.1.2 Oligómero de ácido láctico e 1,4-butanodiol	28
2.3.1.3 Oligómero de ácido láctico e pentaeritritol	28
2.3.2 Funcionalização dos oligómeros com Laromer® LR 9000 (LAR)	29
2.3.3 Fotoreticulação dos géis poliméricos	30
2.4 Caracterização dos materiais	31
2.4.1 Espetroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR)	31
2.4.2 Capacidade de absorção de água ( <i>Swelling</i> )	31
2.4.3 Teor de gel ( <i>Gel content</i> )	32
2.4.4 Análises térmicas – TGA e DSC	32
2.4.5 Degradação hidrolítica em PBS	32

2.4.6 Determinação de energias de superfície – Medição de ângulos de contacto	33
2.5 Desenvolvimento de soluções de fármaco- Metodologias	33
2.6 Estudos de libertação do composto ativo	35
2.6.1 Libertação por incubação	36
2.6.2 Libertação em célula de difusão de Franz	37
2.6.3 Quantificação do ativo remanescente na matriz	37
2.7 Estudo de avaliação da degradação do fármaco por UV	38
2.8 Avaliação da atividade antibacteriana dos adesivos	38
<b>3. RESULTADOS</b>	<b>40</b>
3.1 Preparação dos oligómeros base e filmes e sua caracterização	40
3.1.1 Acompanhamento das reações e identificação dos grupos funcionais dos oligómeros e géis por ATR-FTIR	41
3.1.2 Determinação do teor de gel ( <i>Gel content</i> )	43
3.1.3 Capacidade de absorção de água e degradação hidrolítica	43
3.1.4 Avaliação das propriedades térmicas – Oligómeros e adesivos base	47
3.1.4.1 Análise termogravimétrica (TGA)	47
3.1.4.2 Análise por calorimetria diferencial de varrimento (DSC)	49
3.1.5 Medição de ângulos de contacto – Determinação energias superfície	50
3.1.6 Avaliação da atividade antibacteriana	50
3.2 Preparação de adesivos para aplicação transdérmica	52
3.2.1 Caracterização dos adesivos com fármaco por ATR-FTIR	53
3.2.2 Propriedades térmicas – TGA e DSC	55
3.2.3 Estudos de libertação de ibuprofeno <i>in vitro</i>	57
3.2.4 Quantificação do ativo remanescente na matriz	62
3.2.5 Estudo de degradação do ativo	63
<b>4. CONCLUSÕES</b>	<b>64</b>
4.1 Conclusão Geral	64
4.2 Principais contribuições	67
4.3 Perspetivas futuras	67
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>69</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>77</b>
<i>Anexo A – Propriedades físico-químicas do ácido láctico e suas aplicações</i>	77
<i>Anexo B – Propriedades físicas, químicas, mecânicas do poli (ácido láctico)L(+) e aplicações biomédicas do PLA e copolímeros de ácido láctico</i>	78
<i>Anexo C – Estrutura da pele</i>	78

<i>Anexo D – Principais reagentes usados – Propriedades</i>	79
<i>Anexo E – Montagens experimentais das etapas de produção de oligômeros e funcionalização</i>	81
<i>Anexo F – Desenvolvimento de soluções de fármaco</i>	82
<i>Anexo G – Espectrofotômetro – Curvas de calibração de ibuprofeno</i>	84
<i>Anexo H – Estudos de liberação</i>	86
<i>Anexo I – Processo de produção dos adesivos</i>	87
<i>Anexo J – Análise ATR-FTIR</i>	88
<i>Anexo K – Análise por calorimetria diferencial de varrimento (DSC)</i>	90
<i>Anexo L – Estudo de degradação de ibuprofeno por UV</i>	91

# ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> Estudos no âmbito da modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL para aplicações biomédicas.	6
<b>Tabela 1.2</b> Estudos de síntese de materiais poliméricos fotoreticuláveis para aplicações biomédicas.	11
<b>Tabela 1.3</b> Adesivos transdérmicos comercializados em Portugal e suas aplicações (de acordo com os respetivos folhetos informativos da Infarmed).	18
<b>Tabela 1.4</b> Produtos comercializados para administração tópica e transdérmica de NSAIDs e fármacos para alívio de dor muscular.	20
<b>Tabela 1.5</b> Patentes de formulações para administração de fármacos para alívio de dores musculares.	22
<b>Tabela 1.6</b> Estudos de desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos para alívio de dores musculares.	23
<b>Tabela 2.2</b> Composição das soluções desenvolvidas pela metodologia simples em g e %m/m.	34
<b>Tabela 3.1</b> Resumo das condições de operação de todas as etapas de produção e características dos produtos finais.	41
<b>Tabela 3.2</b> Percentagens de <i>gel content</i> , <i>swelling</i> e degradação dos adesivos seleccionados	46
<b>Tabela 3.3</b> Temperaturas de degradação ( $T_d$ ) e temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) para oligómeros, géis funcionalizados e adesivos base reticulados.	49
<b>Tabela 3.4</b> Energias de superfície e respetivas componentes polar e dispersiva para a pele e adesivos base.	50
<b>Tabela 3.5</b> Composição das soluções de ibuprofeno incorporadas nos géis.	52
<b>Tabela 3.6</b> Composições dos adesivos finais em % m/m e em mg, para uma membrana de 120mg.	57
<b>Tabela 3.7</b> Propriedades térmicas dos materiais base e adesivos com fármaco.	57
<b>Tabela 3.8</b> Desempenhos de libertação de ibuprofeno dos adesivos carregados com a solução 1.	61
<b>Tabela 3.9</b> Desempenhos de libertação de ibuprofeno dos adesivos carregados com a solução 2.	61
<b>Tabela 3.10</b> Resultados da quantificação de ativo libertado.	62
<b>Tabela 3.11</b> Avaliação qualitativa da degradação do fármaco por UV.	63

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Etapas de libertação transdérmica e vias de permeação através da pele (Baseado em [57, 58]). As setas na imagem indicam as vias de permeação: (A) intercelular e (B) intracelular.	15
<b>Figura 2.2</b> Reação de produção do oligómero de ácido láctico e poli (etilenoglicol) 300.	28
<b>Figura 2.2</b> Reação de síntese do oligómero de ácido láctico e 1,4-butanodiol.	28
<b>Figura 2.3</b> Reação de produção do oligómero de ácido láctico e pentaeritritol.	28
<b>Figura 2.4</b> Reações de funcionalização dos oligómeros.	30
<b>Figura 3.1</b> Espetros dos oligómeros base e ácido láctico obtidos por análise ATR-FTIR.	42
<b>Figura 3.2</b> Espetros ATR-FTIR dos géis funcionalizados.	42
<b>Figura 3.3</b> Valores de <i>swelling</i> (%) para adesivos reticulados- teste por incubação em água (pH 7,0) destilada e por saturação em solução saturada de cobre penta-hidratado. Temperatura ambiente.	44
<b>Figura 3.4</b> Perda de massa (%) dos adesivos em solução de PBS, durante 6 semanas, a 37°C.	45
<b>Figura 3.5</b> Curvas de degradação térmica dos oligómeros produzidos, obtidas por análise termogravimétrica.	47
<b>Figura 3.6</b> Perfis de degradação térmica dos adesivos no estado líquido (linha contínua) e reticulados (tracejado).	49
<b>Figura 3.7</b> Halos inibitórios das estirpe <i>S. aureus</i> quando em contacto com os adesivos AL-PEG300(1:1,5) e AL-BDO(1:1), em meio de cultura de ágar, durante 24horas.	51
<b>Figura 3.8</b> Exemplos de adesivos transdérmicos produzidos.	53
<b>Figura 3.9</b> Espetros ATR-FTIR dos adesivos AL-PEG1 e AL-PEG2 e respetivo material base líquido.	53
<b>Figura 3.10</b> Espetros ATR-FTIR dos adesivos AL-BDO1 e AL-BDO2 e respetivo material base líquido.	53
<b>Figura 3.11</b> Espetros ATR-FTIR dos adesivos AL-Star1 e AL-Star2 e respetivo material base líquido.	54
<b>Figura 3.12</b> Traços termogravimétricos para géis funcionalizados e adesivos com solução 1.	55
<b>Figura 3.13</b> Traços termogravimétricos para géis funcionalizados e adesivos com solução 2.	56
<b>Figura 3.14</b> Perfis de libertação de ibuprofeno <i>in vitro</i> , por incubação e em célula de Franz (T=37°C; meio coletor: Solução PBS 0,01M, pH 7,4; Agitação magnética:100rpm). Absorvâncias medidas a 221nm. - Comparação de desempenhos de cada material usando diferentes soluções de fármaco.	58
<b>Figura 3.15</b> Perfis de libertação de ibuprofeno <i>in vitro</i> , por incubação e em Célula de Franz (T=37°C; meio coletor: Solução PBS 0,01M, pH 7,4; Agitação magnética: 100rpm). Absorvâncias medidas a 221nm – Comparação de desempenhos dos diferentes materiais quando incorporados com a mesma solução de fármaco.	60

# LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Símbolo/ Abreviatura	Definição
$\Delta H_m$	Entalpia de fusão (kJ/mol)
$C_d$	Concentração de fármaco à superfície do estrato córneo ( $\mu\text{g. mL}^{-1}$ )
$C_r$	Concentração de fármaco no corpo ( $\mu\text{g. mL}^{-1}$ )
$D$	Coefficiente de difusão ( $\text{cm}^2.\text{h}^{-1}$ )
$J$	Fluxo máximo de fármaco através da pele ( $\mu\text{g. cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$ )
$k$	Coefficiente de partição do fármaco
$L$	Espessura da pele ou percurso de difusão (cm)
$m_i$	Massa inicial (g)
$m_f$	Massa final (g)
$m_{s,0}$	Massa seca inicial (g)
$m_{s,t}$	Massa seca no intervalo de tempo t (g)
$P$	Coefficiente de permeabilidade da pele para o fármaco
$T_{\text{amb}}$	Temperatura ambiente ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_c$	Temperatura de cristalização ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_d$	Temperatura de degradação ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_f$	Temperatura de fusão ( $^{\circ}\text{C}$ )
$T_g$	Temperatura de transição vítrea ( $^{\circ}\text{C}$ )
$\theta$	Ângulo de contacto estático ( $^{\circ}$ )
$\gamma$	Energia de superfície ( $\text{mN.m}^{-1}$ )
$\gamma_s^P$	Componente polar da energia de superfície ( $\text{mN.m}^{-1}$ )
$\gamma_s^D$	Componente dispersiva da energia de superfície ( $\text{mN.m}^{-1}$ )
$W_s$	Peso seco (g)
$W_h$	Peso húmido (g)

AL	Ácido Láctico L(+)
AL-PEG	Oligómero linear de ácido láctico e poli (etilenoglicol)
AL-BDO	Oligómero linear de ácido láctico e 1,4-butanodiol
AL-Star	Oligómero ramificado de ácido láctico e pentaeritritol
AL-PEGn	Gel modificado/Adesivo de ácido láctico e PEG300 com solução n
AL-BDO <sub>n</sub>	Gel modificado/Adesivo de ácido láctico e BDO com solução n
AL-Starn	Gel modificado/Adesivo ácido láctico e pentaeritritol com solução n
ATR-FTIR	Espetroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada por transformada de <i>Fourier</i>
BDO	1,4 – Butanodiol
C.Franz	Célula de difusão de Franz
CL	$\epsilon$ - Caprolactona
CQ	<i>Camphorquinone</i>
CS	Quitosano
DDS	Sistemas de libertação controlada de fármacos ( <i>Drug delivery systems</i> )
DMPT	<i>N,N-dimethyl-p-toluidine</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSC	Análise por calorimetria diferencial de varrimento
EC	Estrato Córneo ( <i>Stratum Corneum</i> )
EG	Etilenoglicol
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HDI	Diisocianato de hexametileno
IBU	Ibuprofeno
IEMA	Metacrilato de 2-isocianoetilo



Irg 2959	Irgacure <sup>®</sup> 2959
IV	Radiação infravermelha
LAR	Laromer <sup>®</sup> LR 9000
MMA	Anidrido Metacrílico
NSAIDs	Antiinflamatórios não esteróides ( <i>Nonsteroidal anti-inflammatory drugs</i> )
PBS	<i>Phosphate Buffer Solution</i> (solução tampão fosfato)
PCL	Poli (caprolactona)
PCLLA	Poli (L- ácido láctico - caprolactona)
PDLLA	Poli (D, L -ácido láctico)
PEG	Poli (etilenoglicol)
PLA	Poli (ácido láctico)
PLLA	Poli (L-ácido láctico)
PPG	Poli (propilenoglicol)
PVA	<i>Polyvinyl acetate</i>
PVP	<i>Polyvinylpyrrolidone</i>
RMN	Espectoscopia por ressonância magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
ROP	Polimerização por abertura de anel ( <i>Ring opening polimerization</i> )
TDDS	Sistemas transdérmicos para administração de fármacos ( <i>Transdermal Drug Delivery Systems</i> )
TGA	Análise termogravimétrica
TMI	3- isopropenil – $\alpha$ - dimetilbenzil isocianato
UV	Radiação ultravioleta
4-EDMAB	<i>Ethyl-4-dimethylamino benzoate</i>

---

## OBJETIVOS E ESTRUTURA DA TESE

O uso de formulações tópicas e sistemas transdérmicos para administração de ibuprofeno (IBU) constitui uma alternativa atraente à administração oral, ajudando a minimizar os efeitos secundários desta via, maximizando a libertação no local específico e minimizando a toxicidade sistémica [1-3]. Atualmente já existem formulações tópicas para administração de IBU, contudo estas possuem limitações associadas [4-6]. Nas últimas décadas, têm havido esforços no sentido do desenvolvimento de sistemas transdérmicos para administração de IBU. No entanto, ainda não existem produtos deste tipo no mercado [7] em parte devido à baixa solubilidade do fármaco em questão em meio aquoso e às dificuldades associadas à permeação da pele.

Devido às suas características, os copolímeros de ácido lático têm-se revelado promissores na produção de sistemas de libertação controlada de fármacos, na forma de nanopartículas, micropartículas, lipossomas, entre outros [9-11]. No mercado de transdérmicos, concretamente na forma de adesivos, o ácido lático, e os seus copolímeros, não têm muito explorados [11]. Poucos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de produzir matrizes poliméricas robustas a partir desta matéria-prima capazes de libertar de forma controlada e eficaz um dado princípio ativo. Tal facto prende-se pela dificuldade em produzir copolímeros de adequado peso molecular e viscosidade conducentes a adesivos flexíveis, com boas capacidades de retenção de água e equilíbrios adequados de incorporação/libertação de um dado fármaco. Assim sendo, explorar a produção de materiais de base ácido lático propícios à construção de sistemas transdérmicos para administração tópica de fármacos torna-se um claro desafio. Conjugando estratégias de policondensação com as claras vantagens da fotoreticulação, conseguem-se produzir matrizes versáteis e extremamente promissoras para este fim (tirando partido de todas as propriedades intrínsecas do ácido lático e restantes matérias-primas que se conjuguem) [12-16].

Tendo em conta as propriedades promissoras do ácido lático e seus pré-polímeros para aplicações biomédicas, este trabalho tem como principal objetivo o desenvolvimento de sistemas transdérmicos para administração de IBU, continuando a investigar para esse efeito a produção de matrizes fotoreticuláveis de base ácido lático através de métodos simples. Os resultados importantes alcançados na síntese de materiais poliméricos e fotoreticuláveis podem contribuir para uma aplicação ainda não investigada e para o desenvolvimento de um sistema de administração de ibuprofeno inovador.

A primeira etapa do projeto visou a produção de géis poliméricos fotoreticuláveis de base ácido lático. As metodologias testadas por Marques [17] e Santos [18] conduziram à produção de oligómeros de ácido lático L(+), lineares e ramificados, por policondensação direta, sem adição de catalisadores e solventes, sendo testados os monómeros 1,4-butanodiol e pentaeritritol. Os

oligómeros obtidos foram modificados com vários monómeros funcionais (anidrido metacrílico, metacrilato de 2-isocianoetilo, Laromer<sup>®</sup> LR 9000, 3- isopropenil –  $\alpha$  - dimetilbenzil isocianato) e posteriormente reticulados na presença de luz UV e do fotoiniciador biocompatível, Irgacure<sup>®</sup> 2959. Neste trabalho pretendeu-se continuar a investigar a síntese de géis poliméricos para incorporação de IBU e posterior fotoreticulação, adotando algumas estratégias desenvolvidas por Marques [17] e Santos [18] e testando novos monómeros, de forma a obter materiais promissores para aplicação transdérmica.

Numa segunda etapa pretendeu-se desenvolver soluções de ibuprofeno robustas, capazes de serem incorporadas nos géis poliméricos obtidos antes da fotoreticulação, sem comprometer a estabilidade e disponibilidade do fármaco quando reticulados. Os materiais foram devidamente caracterizados e avaliados os seus desempenhos de libertação, averiguando sobre a sua viabilidade como sistemas transdérmicos para administração de fármacos.

Este documento encontra-se organizado em quatro capítulos principais. No Capítulo 1 descreve-se o enquadramento teórico do tema, discutindo sobre a importância do ácido lático e seus copolímeros na área biomédica. Referem-se as propriedades destes materiais, vantagens/desvantagens, aplicações, produtores, estratégias de síntese e motivações para a modificação de polímeros de ácido lático, devidamente fundamentadas com estudos na área. O processo de fotoreticulação é apresentado, debatendo sobre as suas vantagens na produção de biomateriais. Foi compilada informação sobre sistemas de libertação controlada e o seu contributo vantajoso na administração de fármacos, focando em sistemas transdérmicos para administração de fármacos: propriedades e componentes básicos, pele humana como barreira à permeação, cinética de difusão e exemplos de sistemas transdérmicos comercializados em Portugal. Apresenta-se um enquadramento teórico do fármaco usado (ibuprofeno), referindo as suas propriedades e modo de ação, e debatendo sobre as vantagens e limitações associadas à administração tópica e transdérmica deste fármaco e outros anti-inflamatórios não esteróides (NSAIDs). Por último é apresentada uma revisão de alguns produtos existentes no mercado, patentes e estudo realizados para administração tópica e transdérmica de Ibuprofeno e NSAIDs.

Um breve resumo dos trabalhos desenvolvidos por Marques [17] e Santos [18] permitiu um enquadramento prático do trabalho realizado, no Capítulo 2, e a descrição sucinta do processo inerente a este trabalho, focando a metodologia experimental adotada e as novidades deste projeto. Segue-se uma listagem dos materiais utilizados e respetivos fornecedores, passando de seguida pelos métodos de síntese dos oligómeros, fundamentando as novas estratégias adotadas e a escolha dos monómeros testados e funcionalização dos oligómeros obtidos com o monómero Laromer<sup>®</sup> LR 9000. Apresenta-se uma das etapas principais deste trabalho, o desenvolvimento de soluções de fármaco, a metodologia adotada para este fim, dificuldades encontradas e soluções finais obtidas. Por último refere-se a metodologia para a incorporação

de soluções de fármaco nos géis funcionalizados e fotoreticulação recorrendo ao iniciador Irgacure® 2959, produzindo adesivos transdérmicos para administração de IBU. São descritos os procedimentos experimentais de caracterização dos materiais produzidos e motivações: ATR-FTIR, capacidade de absorção de água, teor de gel, caracterização térmica (TGA, DSC), degradação hidrolítica em PBS, determinação de energias de superfície por medição de ângulos de contacto. Apresenta-se também a metodologia adotada nos estudos libertação para quantificação de ativo, sendo esta uma etapa essencial na caracterização dos adesivos produzidos, estudo de degradação do fármaco por UV e avaliação da atividade antibacteriana.

No Capítulo 3 apresentam-se os resultados obtidos: propriedades dos materiais obtidos, caracterização e estudos de libertação, e respetivas observações que confirmam a viabilidade dos materiais como sistemas transdérmicos para administração de ibuprofeno. No Capítulo 4 fazem-se conclusões gerais sobre o trabalho desenvolvido, debatendo sobre as dificuldades encontradas e expondo soluções e estratégias a seguir no futuro. Face aos resultados obtidos resumem-se as principais contribuições.

# CAPÍTULO I

---

## Revisão Bibliográfica

# I. INTRODUÇÃO

## I.1 Ácido Lático

O ácido lático (ácido 2-hidroxi-propanóico,  $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-COOH}$ ) é um ácido hidroxicarboxílico, considerado uma das moléculas quirais mais simples, existente na forma de dois estereoisômeros, ácido lático L(+) e ácido lático D(-) [19]. Uma vez que possui grupos carboxilo e hidroxilo, é eleito como um dos monómeros com maior potencial de conversão química [20]. O ácido lático L(+), sendo o único estereoisômero produzido pelo corpo humano, durante o metabolismo e na prática de exercício físico, é por isso o mais biocompatível, recebendo especial atenção para aplicações biomédicas [17, 21, 22].

O ácido lático pode ser produzido por síntese química ou por fermentação biológica. A primeira baseia-se essencialmente na hidrólise ácida de lactonitrila, obtendo-se no final uma mistura racêmica de ácido lático L(+) e D(-). Por sua vez, o processo biotecnológico consiste na fermentação de açúcares provenientes de matérias renováveis (materiais celulósicos e amilósicos, melações, soro de leite e queijo) pelas bactérias e fungos filamentosos. Esta última via tem recebido especial atenção, indo de encontro à preservação do ambiente, reduzindo a dependência de recursos petroquímicos e a emissão de  $\text{CO}_2$  [9, 10, 23, 24]. Além disso é extremamente seletiva na produção dos dois estereoisômeros (L(+) e D(-)), obtendo-se produtos com elevado grau de pureza [25]. De entre os maiores produtores de ácido lático pela via fermentativa destacam-se: *Nature Works LLC* (EUA), *Galatic S.A* (Bélgica) e *Purac* (Holanda) [9].

Devido às propriedades físico-químicas vantajosas do ácido lático, apresentadas detalhadamente no Anexo A, este tem um variado leque de utilizações e uma posição privilegiada no mercado [9]. De entre as aplicações destacam-se a indústria alimentar (tamponante, acidulante, aromatizante, entre outros), a cosmética (produção de produtos de cuidado pessoal), a indústria farmacêutica, na produção de lactatos solúveis em água e a indústria química (matéria-prima para a produção de ésteres, propilenoglicol, ácido propanóico, ácido acrílico, acetaldeídos, entre outros) [26]. Por último, a principal aplicação do ácido lático é como matéria-prima na produção de poli (ácido lático) (PLA) e de copolímeros biodegradáveis, sendo esta aplicação responsável pelo aumento considerável do seu consumo de ácido lático nos últimos anos [24]. As aplicações do ácido lático (AL) são apresentadas de forma mais detalhada no Anexo A.

### 1.1.1 PLA e Pré-polímeros de Ácido Lático – Síntese, modificação e aplicações

O poli (ácido lático) (PLA) é um poliéster termoplástico, biodegradável e renovável, utilizado como potencial substituinte dos polímeros de base petroquímica [27]. As suas propriedades físicas, químicas e mecânicas, apresentadas na Tabela B.1, aliadas à biocompatibilidade e biodegradabilidade e à facilidade de processamento, fazem do PLA um material com aplicação em inúmeras áreas. De destacar a área biomédica, na construção de *scaffolds* porosos para regeneração de tecidos, sistemas de libertação controlada de fármacos, suturas, implantes e próteses. Também desempenha um papel importante como embalagem e películas no setor alimentar e na área agrícola, para sistemas de libertação controlada de pesticidas e fertilizantes [9]. Na Tabela B.2 apresentam-se de forma mais detalhada as aplicações do PLA e de copolímeros de ácido lático, na área biomédica.

A fim de se obter PLA, o AL pode ser polimerizado essencialmente por duas vias: polimerização por abertura de anel (ROP) e policondensação direta. A primeira via, a mais usada para produzir este polímero, recorre a iniciadores e catalisadores (mais comum é o octoato de estanho), obtendo-se um PLA de elevado peso molecular [19]. A grande desvantagem desta técnica para obtenção de PLA destinado a aplicações biomédicas reside no facto de a adição de catalisadores constituir uma fonte de toxicidade para o cérebro e tecidos nervosos e provocar danos no DNA [12]. Torna-se assim necessário recorrer a técnicas de purificação do PLA, que por vezes não se revelam eficazes [28]. Além disso é um processo complexo e moroso. A segunda via, policondensação, é considerada uma via simplista e pouco dispendiosa, tendo como vantagem a possibilidade de controlar os grupos terminais do polímero final. A polimerização é realizada a elevadas temperaturas e em condições de vácuo, de modo a remover toda a água produzida, obtendo-se PLA de baixo peso molecular. Pode decorrer com adição de solventes orgânicos que não interfiram na reação (*solution polycondensation*) ou sem qualquer solvente (*melt polycondensation*), sendo também possível adicionar um catalisador. Este tipo de polimerização é afetado por inúmeros fatores como temperatura, catalisadores, pressão, tempo de reação, entre outros [11]. Achmad *et al.* [29] reportam a síntese de polímeros de AL de baixo peso molecular por condensação direta, sem adição de solventes, catalisadores e iniciadores. A polimerização é dividida em três etapas, a primeira corresponde à purificação do AL (150°C; 150min), seguida da oligomerização (150°C; 300min) e por último a polimerização, durante 96 horas, tendo testado diferentes temperaturas numa gama de 150-200°C. Harshe *et al.* [30] sintetizaram oligómeros de AL de baixo peso molecular por policondensação, sem adição de catalisadores (180°C, 24h), desenvolvendo materiais promissores para polimerização *in situ*. Compararam ainda os materiais obtidos com os que se obtêm por ROP, apresentando as vantagens e as desvantagens de ambos. Kim *et al.* [31] reportam a polimerização de AL por condensação direta, obtendo um polímero de elevado peso molecular. Neste estudo AL com 90% de pureza foi sujeito a desidratação, na presença de

dipentaeritritol, seguindo-se a etapa de policondensação, catalisada por  $Sb_2O_3$  (170-200°C, 27h). Obteve-se um polímero de ácido lático em forma de estrela, com boa resistência mecânica, promissor como sistema de libertação controlada.

Embora o PLA seja um material com inúmeras características vantajosas, que lhe permitem um lugar de destaque na área biomédica, a aplicação que se pretende (adesivo para libertação controlada de fármacos) não tem sido muito estudada [17]. Isto deve-se ao facto de o PLA comercial, de elevado peso molecular, apresentar algumas limitações como uma taxa de degradação lenta, dependendo em parte do ambiente em que o polímero é colocado, solubilidade apenas em solventes tóxicos, hidrofobicidade, criando um ambiente de incompatibilidade com os tecidos vivos, elevada viscosidade dos polímeros, possível interação com os fármacos que se pretendem incorporar, elevada temperatura de transição vítrea, etc. [27, 28]. O PLA de baixo peso molecular consegue ultrapassar algumas destas desvantagens, contudo apresenta propriedades físicas desfavoráveis para algumas aplicações como biomaterial [31].

Nas últimas décadas, a modificação física e química de PLA, de modo a alcançar as propriedades desejadas, tem recebido bastante atenção [27]. Para melhorar as propriedades do material têm sido desenvolvidas algumas estratégias de modificação *bulk* e modificações de superfície, sendo que as últimas se têm revelado fulcrais para aplicações biomédicas. Recorrendo a técnicas de modificação é possível melhorar a hidrofiliicidade, biocompatibilidade e afinidade celular do material, adicionando componentes biocompatíveis e hidrofílicos e ajustando a energia de superfície, a carga superficial e a rugosidade do material [32]. Na literatura encontram-se inúmeros estudos de desenvolvimento de copolímeros de AL com ácido glicólico,  $\epsilon$ -caprolactona, 1,5 – dioxepan-2-ona e macrómeros como polietilenoglicol ou polipropilenoglicol, entre outros. Wang *et al.* [32], Rasal *et. al* [27] e Xiao *et al.* [11] apresentam excelentes artigos de revisão sobre modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL. Na Tabela 1.1 pretende-se compilar alguns desses estudos.

**Tabela 1.1** Estudos no âmbito da modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL para aplicações biomédicas.

Material	Estratégia / Aplicação	Resultados	Referências
PCLLA - PEG – PCLLA	-Copolimerização via abertura de anel, de copolímeros tribloco de poli (caprolactona-co-acido lático)-PEG- poli (caprolactona-co-acido lático). – AL e $\epsilon$ -caprolactona polimerizados na presença de PEG. (130°C, 48h, uso do catalisador Sn(Oct) II). -Dissolução dos materiais em clorofórmio e precipitação em metanol, seguida de filtração. -Produção de nanopartículas para encapsulação de anticancerígeno.	-Polímeros com pesos moleculares entre 50000-60000g/mol. -Rácio de 1:1,5 de AL-CL revelou-se o ótimo – Boa capacidade de encapsulação de fármaco e não exibiu cristalinidade. -Todos os polímeros com $T_g$ na ordem de -25°C.	Zhang <i>et al.</i> [33]



**Tabela 1.1** Estudos no âmbito da modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL para aplicações biomédicas (cont.).

Material	Estratégia / Aplicação	Resultados	Referências
PLA – PEG	<p>-Copolímeros di- e tribloco de PLA sintetizados por ROP, na presença de mono- ou dihidroxilo poli (etilenoglicol). Catalisador: zinco. Rácio PEG/PLA 3:6. Temperatura de 140°C durante 7 dias.</p> <p>-Produto final dissolvido em diclorometano e precipitado em éter.</p> <p>-Preparação de hidrogéis bioabsorvíveis.</p> <p>-Testados vários rácios PEG/PLA e PEG de vários pesos moleculares.</p>	<p>-Testes de solubilidade mostraram que esta depende da composição do polímero obtido. Maioria dos polímeros solúvel em água, devido à cadeia de PLA curta.</p> <p>-Materiais semi-cristalinos, em grande parte devido ao PEG.</p> <p>-Polímeros exibem <math>T_g</math> entre a <math>T_g</math> do PEG e do PLA (-65°C – 60°C), mais próxima do PEG, o que indica componentes parcialmente miscíveis no estado amorfo.</p> <p>-Materiais promissores como sistemas de libertação controlada.</p>	Li and Vert [34]
PDLLA	<p>-Oligómeros de PDLLA por ROP na presença de 1,6-hexanodiol como iniciador e do catalisador Sn(Oct) II (140°C, 40h, em atmosfera de argón).</p> <p>-Funcionalização dos oligómeros com anidrido metacrílico na presença de trietilamina, usando diclorometano como solvente.</p> <p>-Preparação de resina fotoreticulável a partir do polímero modificado, adicionando N-metilpirrolidona como diluente e o iniciador <i>Lucirin-TPO-L</i>.</p> <p>-Fotopolimerização por UV.</p>	<p>-Peso molecular dos oligómeros de 5000g/mol.</p> <p>-Tempos de irradiação de 5min.</p> <p>-Propriedades mecânicas dos materiais permaneceram inalteradas durante 15 dias.</p> <p>-RMN indicou a presença de uma unidade de AL por cada unidade de metacrilato.</p> <p>-Materiais considerados promissores para aplicações ortopédicas e regeneração óssea.</p> <p>-Estáveis quando incubados em meio aquoso.</p>	Melches <i>et al.</i> [35]
PLA-PCL	<p>-Pré-polímero de AL, previamente purificado, e <math>\epsilon</math>-caprolactona na presença de BDO, para oligómeros com terminais hidroxilo. Catalisador octoato de estanho. (150°C, atmosfera inerte).</p> <p>-Funcionalização do pré-polímero com 1,6-hexametileno diisocianato (180°C).</p>	<p>-Tempos de reação variam entre 16 a 25h, dependendo do rácio de AL/CL.</p> <p>-Pré-polímero com <math>T_g</math> inferior à fisiológica.</p> <p>-Propriedades físicas do polímero funcionalizado dependem da composição. Mais AL - matrizes rígidas e plásticas. Mais de CL -elastómeros.</p> <p>-Mais CL aumenta % de alongação e diminui resistência à tração.</p> <p>-Polímeros exibem maior % de <i>swelling</i> quando comparados com produzidos por ROP.</p>	Kylma <i>et al.</i> [36]
PLA-BDO	<p>-Pré-polímeros com grupos terminais hidroxilo, por policondensação direta de AL e BDO.</p> <p>-Funcionalização com óleo de ricino e diisocianato de hexametileno (HDI).</p>	<p>-Excelentes propriedades mecânicas. Elevada resistência à tração, modo de elasticidade baixo e % de alongação elevada.</p> <p>-Elevada biocompatibilidade; Aplicação na área biomédica, em engenharia de tecidos moles.</p>	Fu <i>et al.</i> [37]
EG-AL/CS	<p>-Polimerização de etilenoglicol e AL (1:2), catalisada por ácido fosfórico (100°C – 1h, depois 130°C - 6h).</p> <p>-Funcionalização com HDI. (50°C)</p> <p>-Adição de quitosano como componente adesivo: ligação uretana entre este e o polímero.</p>	<p>-Degradação hidrolítica: perda de massa de 78% em 52 semanas.</p> <p>- Elevada resistência à tração.</p> <p>-Material sem respostas antiinflamatórias nem efeitos negativos.</p>	Suyatma <i>et al.</i> [38]

**Tabela 1.1** Estudos no âmbito da modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL para aplicações biomédicas (cont.).

Material	Estratégia / Aplicação	Resultados	Referências
AL – BDO	<p>-Oligómeros lineares e ramificados de AL. Catalisador Sn(Oct) II, e iniciadores BDO, pentaeritritol e poliglicerina (3h; 160°C).</p> <p>-Funcionalização com MAA (1:2) (3h; 120°C).</p> <p>-Reticulação térmica (90°C; 24h) com iniciador peróxido de benzoílo ou fotoreticulação com iniciadores CQ e 4EDMAB.</p>	<p>-Na oligomerização foram testados diferentes rácios de AL e iniciadores.</p> <p>-Estrutura dos oligómeros varia com a mudança de iniciador (BDO- linear; pentaeritritol- estrela; poliglicerina – ramificado).</p> <p>-Aumentando o iniciador, a densidade de reticulação aumenta, não aumentando necessariamente a resistência.</p> <p>-Materiais estáveis durante 6 semanas de degradação hidrolítica.</p> <p>-Polímeros funcionalizados com poliglicerina exibiram maior resistência e melhores propriedades mecânicas.</p>	<p><b>Helminen et al.</b> [12]</p>
PLA – BDO	<p>-Pré-polímeros de ácido lático com BDO, por condensação direta, sem adição de catalisadores (9h, 150°C, em atmosfera inerte).</p> <p>-Modificação dos pré-polímeros com MAA, IEMA, TMI e Laromer® LR 9000. Tempos de reação: 24h para os três primeiros e 4h para o último. Temperaturas: 130°C para o primeiro e 60°C para os restantes.</p> <p>-Reticulação fotoquímica dos pré-polímeros funcionalizados recorrendo ao iniciador Irgacure® 2959, produzindo matrizes.</p>	<p>-Testadas diferentes quantidades de fotoiniciador.</p> <p>-Capacidade de absorção de água moderada.</p> <p>-T<sub>g</sub> dos filmes é inferior às temperaturas fisiológica e ambiente.</p> <p>-TGA confirmou estabilidade elevada a elevadas temperaturas.</p> <p>-Avaliação preliminar da capacidade de adesão revelou materiais promissores.</p> <p>-Estudos de hemocompatibilidade, ensaios de viabilidade celular e testes de inibição bacteriana. Os adesivos são bio/hemocompatíveis e com atividade antimicrobiana.</p> <p>-Materiais revelaram-se promissores para aplicações biomédicas.</p>	<p><b>Santos [18]</b> <b>Santos et al.</b> [39]</p>
PDLLA – PPG	<p>-Copolímeros tribloco de AL e propilenoglicol (PPG).</p> <p>-Funcionalização com trietilamina, e <i>Methacryloyl chloride</i>, à temperatura ambiente durante 24h (4mol/mol oligómero).</p> <p>-Fotopolimerização na presença de dois iniciadores diferentes (<i>camphorquinone</i> (CQ) e <i>N,Ndimethyl-p-toluidine</i> (DMPT)).</p>	<p>-Testados diferentes rácios de AL e PPG.</p> <p>-Material cadeia mais curta apresentou degradação linear com o tempo. Boa estabilidade com perda de massa de 19% em 14 semanas.</p> <p>-Materiais reticulados em 60s de exposição a luz UV, usando 0,5% de iniciador.</p> <p>-Materiais promissores para construção de bioadesivos injetáveis e degradáveis.</p>	<p><b>Ho et al.</b> [40]</p>
PLA – BDO	<p>-Oligómeros de ácido lático por policondensação direta (baixo peso molecular), sem adição de catalisador. BDO foi usado como co-monómero. Reação durante 9h a 150°C, em atmosfera inerte.</p> <p>-Funcionalização dos oligómeros com MAA e IEMA, durante 24h, a 130°C e 60°C, respetivamente.</p> <p>-Fotoreticulação dos pré-polímeros obtidos usando o fotoiniciador Irgacure® 2959.</p>	<p>-Capacidade de absorção moderada.</p> <p>-Materiais biocompatíveis.</p> <p>-Testes de adesão em folhas de gelatina.</p> <p>-Energia de superfície inferior aos valores reportados para pele humana e sangue.</p> <p>-Avaliação da citotoxicidade usando fibroblastos humanos.</p> <p>-Filme - forte carácter trombogénico quando em contacto com o sangue.</p> <p>-Promissor para aplicação como bioadesivo.</p>	<p><b>Marques [17]</b> <b>Marques et al.</b> [28]</p>

**Tabela 1.1** Estudos no âmbito da modificação de PLA e síntese de copolímeros de AL para aplicações biomédicas (cont.).

Material	Estratégia / Aplicação	Resultados	Referências
PLA-PEG-PLA	<ul style="list-style-type: none"> <li>-AL, previamente recristalizado a partir de acetato de etilo, copolimerizado com PEG, utilizando tolueno como solvente e Sn(Oct)II (0,5% m/m) como catalisador. Em atmosfera inertizada e refluxo, a 110°C, durante 12h.</li> <li>-Produto purificado por dissoluções sucessivas em diclorometano, seguido de precipitação em eter etílico e etanol.</li> <li>-Preparação de nanopartículas micelares para incorporação e liberação de Paclitaxel.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Testados vários rácios de AL-EG.</li> <li>-Cadeias longas de PLA e curtas de PEG- polímeros amorfos. Cadeias longas de PEG e curtas de PLA - alguma cristalinidade.</li> <li>-Copolímero possui menor Tg que PLA puro.</li> <li>-Propriedades térmicas indicam que as fases de PLA e PEG se separam em domínios de cristalinidade distintos.</li> <li>-Maior taxa de degradação quando comparados com o homopolímero, talvez devido à maior hidrofiliidade.</li> <li>-Materiais promissores para incorporação e liberação de fármacos hidrofóbicos.</li> </ul>	Venkatraman <i>et al.</i> [42]

Os trabalhos analisados mostram que algumas modificações, embora melhorem certas propriedades como degradação e funcionalidade, têm um impacto negativo nas propriedades mecânicas dos materiais. Deste modo, deve ser atingido um compromisso entre as propriedades dos materiais finais, duração e simplicidade do processo e ter em conta os reagentes e solventes usados. Embora os resultados reportados sejam cada vez mais promissores, as suas conclusões nem sempre são comprovadas para aplicações biomédicas [11]. Além disso muitas das vezes os polímeros são sintetizados por processos complexos e morosos, obtendo-se materiais com propriedades que não são favoráveis para aplicações biomédicas. Também é de salientar que grande parte dos sistemas de liberação controlada estudados são na forma de nanopartículas, vesículas, microsferas, e pouco se encontra a nível de adesivos.

Em 1997, Hiltunen *et al.* [43] sintetizou pré-polímeros de AL com terminais hidroxilo, de baixo peso molecular, por policondensação direta, na presença de BDO e do catalisador octoato de estanho. Os pré-polímeros foram funcionalizados com diisocianatos, obtendo-se um material com propriedades semelhantes aquele que é produzido por ROP [43]. Baseando-se em Hiltunen [43], em 2012 Marques [17] desenvolveu novas técnicas, mais simples, pouco morosas e dispendiosas, de síntese e modificação de copolímeros de AL, avaliando a potencialidade destes materiais como adesivos para área médica. Já em 2014, baseando-se no trabalho de Marques, Santos [18] procurou complementar recorrendo a novas estratégias de modificação de pré-polímeros de AL, com a finalidade de produzir materiais injetáveis e biocompatíveis para aplicação como adesivos cirúrgicos.

Por sua vez, este trabalho surge no seguimento dos dois últimos, tendo como objetivos a produção de novos materiais à base de ácido lático, apostando em novas técnicas simples para a síntese de oligómeros de AL e sua modificação, e o uso destes materiais para a produção de sistemas transdérmicos. Embora este seja um longo caminho a percorrer, a grande motivação de usar este tipo de materiais advém da grande vantagem que lhes está associada, a capacidade de manipular as suas características de acordo com a aplicação que se pretende.

Como constatado pelos estudos apresentados anteriormente, o poli (etilenoglicol) (PEG), é dos macrómeros mais usados na produção de oligómeros e copolímeros de ácido lático, e por isso um dos escolhidos para este trabalho. É sabido que este composto apresenta propriedades físico-químicas e biológicas, incluindo hidrofiliabilidade, solubilidade em água e em solventes orgânicos, ausência de toxicidade, antigenicidade e imunogenicidade, que fazem dele um material bastante utilizado para aplicações biomédicas e biotecnológicas [44]. A combinação de ácido lático com PEG permite a obtenção de oligómeros com um grau de hidrofiliabilidade, velocidade de degradação, cristalização e biocompatibilidade elevados. Além disso o material obtido tem uma menor capacidade de absorção de proteínas e maior resistência à adesão celular e bacteriana. Este conjunto de características vantajosas tornam os materiais à base de ácido lático e PEG bastante promissores para aplicação como sistemas de libertação controlada de fármacos [9, 11, 45]. Referir que a grande motivação para o uso de PEG neste trabalho foi a produção de materiais mais hidrofílicos, contribuindo para uma maior estabilidade e libertação do ativo a incorporar.

## 1.2 Fotopolimerização – Fundamentos e aplicações

A reticulação, também designada “*crosslinking*”, é uma das formas mais viáveis de preparar redes poliméricas tridimensionais com potencial biomédico [13]. Esta técnica pode ser realizada por polimerização radicalar livre onde se distinguem três vias: química, reticulação térmica e fotoreticulação (por irradiação de luz ultra-violeta (UV)) [14].

Face às vantagens que lhe estão associadas, como: poucos requisitos a nível energético, sem recurso a solventes, rapidez mesmo à temperatura ambiente e custo reduzido, condições que permitem ser levada a cabo em ambientes biológicos, a fotopolimerização é a via mais utilizada na produção de materiais biodegradáveis a partir de monómeros e oligómeros multifuncionais líquidos [39, 46].

Para que o processo de fotoreticulação ocorra, é crucial a presença de um fotoiniciador, sensível a um comprimento de onda específico dentro da gama de radiação UV [46]. Quando submetidas a luz UV as moléculas de fotoiniciador dão origem a radicais livres que vão reagir com as moléculas dos oligómeros fotoreticuláveis [16, 46, 47].

Uma vez que a aplicação final do produto a desenvolver se destina à área biomédica, é necessário ter em conta a escolha do fotoiniciador, garantindo a sua biocompatibilidade [17, 46, 47]. A biocompatibilidade de diferentes iniciadores, usados frequentemente na produção de biomateriais já foi estudada por Williams *et al.* [48]. De entre os três compostos testados (2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Irgacure<sup>®</sup> 2959); 1-hidroxiciclohexil-1-fenil cetona (Irgacure<sup>®</sup> 184) e 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure<sup>®</sup> 651)), o Irgacure<sup>®</sup>

2959 foi o que apresentou uma tolerância celular mais elevada mesmo em concentrações elevadas, sendo por isso usado no trabalho experimental aqui desenvolvido.

A técnica de fotoreticulação também tem sido muito estudada e aplicada na área industrial (endurecimento ultra-rápido, revestimentos protetores, tintas de impressão, películas, adesivos, vernizes, etc.), na área farmacêutica (produção de sistemas de libertação controlada de fármacos) e na área biomédica (produção de biomateriais: *scaffolds*, biossensores, restaurações dentárias, bioadesivos) [15, 39]. A Tabela 1.2 reúne alguns estudos de desenvolvimento de materiais fotoreticuláveis para aplicação na área biomédica.

**Tabela 1.2** Estudos de síntese de materiais poliméricos fotoreticuláveis para aplicações biomédicas.

SISTEMAS DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA FOTOPOLIMERIZÁVEIS		
Síntese /Aplicação	Resultados/ Conclusões	Referência
-Materiais de quitosano carboximetilado, funcionalizados com ácido 4-nitrocínato, sem iniciador. -Matrizes para sistemas de libertação controlada de fármacos.	-Tempos de gelificação de 24h. -Tempo de irradiação e a quantidade de nitrocínato afetam significativamente o <i>swelling</i> do material e a eficiência de gelificação.	<b>Hu et al.</b> [49]
-Polímeros de amido modificados com IEMA. -Fotoiniciador Irgacure® 2959. -Aplicações oftálmicas; Incorporação dos fármacos maleato de timidol e flurbiprofeno de sódio.	-Tempos de irradiação de 2min. -Material hidrofílico. -Durante 6 semanas a velocidade de degradação do material manteve-se constante. - <i>Swelling</i> do material é diretamente proporcional à quantidade de fármaco incorporado.	<b>Vieira et al.</b> [50]
-Hidrogéis de base AL e PEG, funcionalizados com acrilatos (cloreto de acrilóilo). -Fotoiniciador 2,2-dimetoxi-2 fenilacetofenona. -Libertação controlada de compostos bioativos.	-Tempos de irradiação de 20s. -Materiais altamente hidrofílicos. -Permeabilidade depende da densidade de reticulação, que por sua vez depende do peso molecular do PEG – Maior peso molecular → maior permeabilidade → maior taxa de libertação. -Cadeias de AL maiores conferem maior degradabilidade e maior taxa de libertação.	<b>West et al.</b> [51]
-Hidrogéis de base PEG com diferentes monómeros (AL e CL). Funcionalização com metacrilatos. -Fotopolimerização. -Sistema de libertação de DNA.	-Degradação por hidrólise do PLA e PCL levando à libertação do fármaco. -Copolímeros com AL → maior taxa de degradação que copolímeros com CL → libertação mais rápida. -PEG conferiu hidroflicidade aos hidrogéis finais.	<b>Quick et al.</b> [52]
BIOADESIVOS FOTOPOLIMERIZÁVEIS		
Síntese /Aplicação	Resultados/ Conclusões	Referência
-Adesivos à base de PCL, funcionalizados com IEMA. -Fotoiniciador Irgacure® 2959. -Adesivos cirúrgicos.	-Tempos de irradiação de 60s. -Boa capacidade adesiva (testes em folhas de gelatina) -Biocompatível (testes <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> ) -Biodegradável (degradação lenta)	<b>Ferreira et al.</b> [47]
-Bioadesivos de base n-vinil pirrolidona funcionalizados com acrilatos. -Fotopolimerização na presença do iniciador Irgacure® 184. Aplicações <i>in situ</i> .	-Adesivos com força adesiva adequada. -Tempo de irradiação de 3 min, deve ser melhorado para a aplicação pretendida.	<b>Kao et al.</b> [53]
-Adesivos à base de quitosano. -Adesivos cirúrgicos.	-Observadas células inflamadas em torno do material. -Adesivo ainda presente após 30 dias.	<b>Ono et al.</b> [54, 55]

Além destes estudos, é de destacar também alguns já apresentados na Tabela 1.1: Marques *et al.* [28], Santos *et al.* [39], Ho *et al.* [40] e Helminem *et al.* [41], sendo todos os materiais produzidos para aplicação como bioadesivos.

Polímeros reticulados à base de AL têm sido muito explorados para a produção de dispositivos biomédicos. Para que estes oligómeros sejam fotoreticuláveis, são funcionalizados com monómeros, desde isocianatos, acrilatos, metacrilatos a anidridos, introduzindo ligações de carbono duplas nos terminais das suas moléculas [55]. Neste trabalho, pré-polímeros de AL são funcionalizados com Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR) (isocianato funcional) [18], seguindo-se fotoreticulação para obter matrizes poliméricas tridimensionais, resistentes e flexíveis, capazes de serem aplicadas como sistemas transdérmicos de libertação.

Analisando os estudos acima mencionados, existem ainda poucos sistemas de libertação controlada de fármacos a serem produzidos por fotoreticulação, sendo que aqueles que são reportados são na maioria hidrogéis. Estes destinam-se essencialmente a aplicações internas e à libertação de genes, proteínas e outros compostos bioativos, não havendo qualquer estudo referente a matrizes transdérmicas para libertação de antiinflamatórios não esteróides.

### 1.3 Sistemas de libertação controlada de fármacos

A administração de fármacos pelas formas convencionais (76% são administrados oralmente) [56], é influenciada pela fisiologia e metabolismo do organismo, o que produz flutuações nas concentrações de fármaco no plasma, levando no limite a toxicidade indesejada ou fraca eficácia [57]. A concentração de fármaco no plasma aumenta rapidamente após a toma do medicamento, diminuindo logo de seguida, requerendo por isso uma dosagem elevada ou administração frequente. Além disso, devido ao metabolismo hepático, as formas de administração convencionais têm associada a fraca biodisponibilidade podendo ocorrer degradação parcial do fármaco antes de atingir o alvo [4, 58].

Para ultrapassar estas dificuldades têm sido desenvolvidas novas alternativas aos sistemas de dosagem convencionais, mais concretamente, os sistemas de libertação controlada de fármacos (*Drug Delivery Systems*, DDS) [4, 59, 60]. Estes consistem numa forma de dosagem capaz de libertar um ou mais agentes terapêuticos a uma dada velocidade por um período de tempo estipulado, quer sistemicamente quer num órgão específico, garantindo a segurança, melhorando a eficácia dos medicamentos através de um melhor controlo dos níveis de fármaco no plasma sanguíneo e aumentando o conforto e a aceitação do paciente [4, 60, 61].

A libertação controlada implica a associação, química ou física, dos fármacos com materiais biocompatíveis [61]. Nas últimas décadas, materiais poliméricos na forma de micro e nano esferas, micelas e hidrogéis têm sido preparados para libertação controlada, e em 1970 foi

construído o primeiro DDS a partir de polímeros de base AL [58, 60]. A libertação de fármacos através do polímero é tradicionalmente controlada por difusão, contudo, sistemas biodegradáveis que ao longo da sua degradação permitem a libertação do ativo têm sido alvo de investigação. Desde cedo, os polímeros naturais (celulose, colagénio, quitosano, etc.) receberam maior atenção por parte dos investigadores mas, recentemente, os polímeros sintéticos (polianidridos, poliésteres, polimetilmetacrilatos e poliuretanos) têm ganho território na área dos DDS [58].

## 1.4 Sistemas Transdérmicos para administração de fármacos

A aplicação na pele de substâncias medicinais, na forma líquida, semisólida ou sólida, para o tratamento de doenças vem da antiguidade. Contudo, nas últimas décadas, o interesse pela pele como via de passagem de medicamentos para a circulação sistémica tem aumentado [1, 63]. Na tentativa de contornar algumas limitações das formas de dosagem tradicionais (secção 1.3) e aumentar a eficácia terapêutica, surgiram os sistemas transdérmicos para administração de fármacos (*Transdermal Drug Delivery Systems*, TDDS) [2, 7, 64]. Estes sistemas, também conhecidos por *patches*, são formas de dosagem produzidas para libertar uma quantidade de fármaco terapêuticamente eficaz que através da pele do paciente passa para a corrente sanguínea [4, 7, 65, 66]. Os TDDS têm como principal objetivo proporcionar uma libertação prolongada e controlada dos princípios ativos, atingindo concentrações plasmáticas constantes ao longo do tempo [7, 64, 67].

Sistemas transdérmicos envolvem a incorporação de uma quantidade elevada de fármaco numa membrana, que é colocada sobre a pele por um determinado período de tempo. Através de um processo de difusão, o fármaco penetra os tecidos dérmicos. Desde que a concentração de fármaco no *patch* seja superior à concentração do mesmo no sangue, a difusão ocorre, mantendo constante a concentração de ativo no sangue [4, 68, 69]. Um sistema transdérmico deve possuir as seguintes características: 1) Validade de dois anos; 2) Área pequena (menos de 40 cm<sup>2</sup>); 3) Frequência de dosagem conveniente (de um dia a uma semana); 4) Fácil armazenamento; 5) Cosmeticamente aceitável; 6) Ausência de reações alérgicas; 7) Adesão à pele adequada; 8) Desempenho consistente.

Os primeiros adesivos transdérmicos começaram a ser desenvolvidos na década de 70, sendo o primeiro aprovado pela FDA em 1981. Numa membrana microporosa de polipropileno, foi incorporado um reservatório com o fármaco escopolamina numa mistura de óleo mineral e poliisobutileno. Desenvolvido pela ALZA Corp., USA, este *patch* é atualmente comercializado com o nome *Transdem-Scop*<sup>®</sup> e indicado para prevenção de enjoos e náuseas durante as viagens, com períodos de libertação de três dias. Seguiram-se adesivos de nitroglicerina para prevenção de angina de peito (*Transderm-Nitro*<sup>®</sup>) [1, 63, 66]. Nas décadas que se seguiram foram aprovados TDDS para libertação de clonidina, fentanilo, lidocaína, nicotina, estradiol,

testosterona e também adesivos para contraceção, reposição hormonal, doenças de Alzheimer e Parkinson e incontinência urinária. Recentemente, os sistemas transdérmicos têm evoluído de modo a aumentar a velocidade de difusão do fármaco, recorrendo para isso a agentes de permeação, sistemas supersaturados, lipossomas e outro tipo de vesículas. Têm sido desenvolvidos esforços para incorporar proteínas em *patches*, concebidos *patches* para monitorização de diabetes de forma indolor e tratamento de dor crónica associada ao cancro [3, 70-73].

Os TDDS evitam a absorção gastrointestinal e as dificuldades causadas pelo pH, atividade enzimática e interação do fármaco com alimentos e outros fármacos administrados por via oral. Ao libertarem o fármaco no local a que se destina, melhoram a eficácia terapêutica e minimizam os efeitos secundários. São formas de administração não-invasivas, que permitem a libertação de fármacos com tempos de meia vida curtos e a fácil suspensão do tratamento quando desejado. Além destas possuem também as outras vantagens dos DDS [1, 3, 5, 66, 67, 70- 74]. Os TDDS diferem dos sistemas de administração tópica (cremes, géis, loções, *sprays*, etc.) que apenas têm efeito terapêutico nos tecidos adjacentes ao local de aplicação [4-6]. Apesar de serem imensas as vantagens de libertação de fármacos através da pele, esta constitui uma barreira e por isso um grande desafio, pelo que é de extrema importância ter conhecimento das suas propriedades morfológicas, biofísicas e físico-químicas [6, 56].

#### 1.4.1 Pele humana

Considerada o maior e mais acessível órgão do corpo humano, a pele recebe cerca de um terço do sangue que circula através do corpo [1, 2, 5, 7, 70]. A pele humana constitui uma barreira multifuncional, sendo as suas principais funções proteger o corpo do ambiente externo e evitar a perda de água [7, 68, 72, 74, 75].

A pele é composta essencialmente por três tecidos distintos mas mutuamente dependentes: 1) epiderme; 2) derme; 3) hipoderme (Figura C.1). A epiderme, camada mais externa da pele, avascularizada, é constituída essencialmente por tecido epitelial, sendo responsável pela sua resistência estrutural e pela permeabilidade. Divide-se em cinco camadas ou estratos: lúcido, granuloso, espinhoso, basal/germinativo e córneo. O estrato córneo (EC) é o mais superficial, e o mais importante na libertação transdérmica, uma vez que, sendo relativamente impermeável, constitui a principal barreira à penetração de fármacos, controlando a permeação e difusão através da pele. Este é formado essencialmente por células mortas queratinizadas (corneócitos), envolvidas numa matriz lipídica. A derme é uma camada bastante vascularizada de tecido conjuntivo que suporta a epiderme estrutural e nutricionalmente. Esta camada contém terminações nervosas sensoriais, glândulas sudoríparas e respetivos canais, folículos capilares e cabelo, glândulas sebáceas, vasos linfáticos e sanguíneos, responsáveis pela regulação da temperatura e da pressão arterial, fornecimento de nutrientes e oxigénio e eliminação de toxinas da pele. Nesta camada o fármaco é absorvido através dos capilares, entrando na corrente

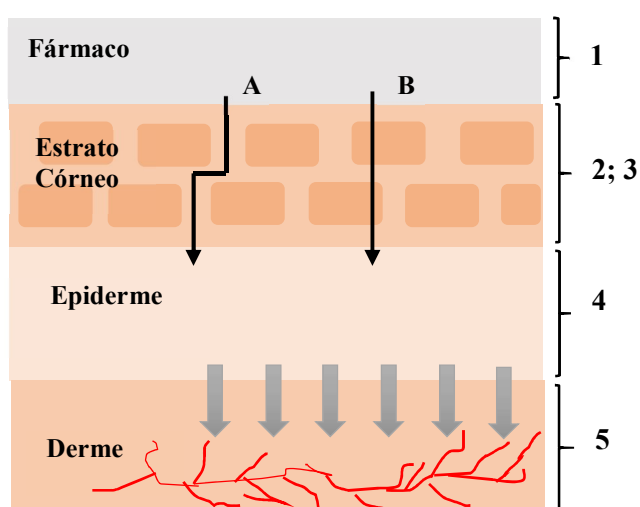


sanguínea. Por último, a hipoderme ou tecido adiposo subcutâneo é constituída por tecido conjuntivo, intercalado com tecido gordo e responsável pela retenção de calor, suporte das estruturas subjacentes e armazenamento de gordura e por unir a pele aos ossos e músculos [1, 5, 7, 64, 70, 72].

Para administração transdérmica, o fármaco tem de penetrar através de todas as camadas da pele para alcançar a circulação sistémica, pelo que é importante compreender todo o processo de permeação, os passos envolvidos, a cinética de permeação e os fatores que a podem influenciar.

#### 1.4.1.1 Permeação através da pele

A libertação de um agente terapêutico a partir de um sistema transdérmico e o seu transporte para a corrente sanguínea é um processo de múltiplos passos, ilustrado na Figura 1.1: 1) Libertação do ativo na formulação; 2) Penetração da substância ativa no EC; 3) Partição na epiderme aquosa; 4) Difusão através da epiderme até à derme superior; 5) Captação da substância pelos capilares e entrada na circulação sistémica [2, 64, 65, 70, 74].



**Figura 1.1** Etapas de libertação transdérmica e vias de permeação através da pele (Baseado em [63, 64]). As setas na imagem indicam as vias de permeação: (A) intercelular e (B) intracelular.

As moléculas de fármaco podem penetrar na pele através dos poros (foliculos capilares e glândulas sudoríparas) ou através do EC (por via intra ou intercelular). A primeira via é considerada menos relevante, devido à área relativamente pequena (cerca de 0,1% da área total da pele), contudo desempenha um papel muito importante na penetração de iões e moléculas polares de maiores dimensões, que dificilmente conseguem penetrar através do EC [7, 65, 75]. A via intracelular envolve a passagem das moléculas de fármaco através dos corneócitos presentes no EC, sendo adequada para moléculas hidrofílicas e apolares. Embora esta seja a via mais direta, a via intercelular, mais tortuosa, é considerada a mais comum, para os fármacos lipofílicos e apolares que atravessam a membrana lipídica que rodeia as células [3, 7, 74]. As vias referidas são ilustradas na Figura 1.1.

#### 1.4.1.2 Cinética de permeação cutânea e agentes de permeação

No desenvolvimento de um TDDS há que ter em conta a cinética de permeação cutânea. A permeação é baseada na difusão passiva, sendo o fluxo máximo de fármaco através da pele ( $J$ ,

normalmente expresso em  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\text{h}^{-1}$ ) estimado pela primeira lei de Fick da difusão (Equação 1.1) [63, 74].

$$J = -D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \quad (\text{Eq. 1.1})$$

sendo  $D$  o coeficiente de difusão através da pele e  $\frac{\partial C(x,t)}{\partial x}$  o gradiente de concentrações de fármaco ao longo da permeação através da pele.

Para um sistema transdérmico é necessário ter em conta a velocidade de permeação através da pele ( $dQ/dt$ ), dada pela Equação 1.2 [71]:

$$dQ/dt = P (C_d - C_r) \quad (\text{Eq. 1.2})$$

sendo  $C_d$  e  $C_r$  as concentrações do fármaco à superfície do estrato córneo (EC) e no corpo, respetivamente, e  $P$  o coeficiente de permeabilidade da pele para esse fármaco, com  $P = D.k/L$ , sendo  $k$  o coeficiente de partição do fármaco e  $L$  a espessura da pele ou percurso de difusão.

A velocidade de difusão do fármaco depende de diversos fatores de natureza biológica: 1) Integridade da pele (pele intacta representa uma maior barreira à permeação); 2) Local de aplicação/ Espessura da pele, que depende da zona do corpo; 3) Idade da pele; 4) Fluxo sanguíneo na pele que pode ser alterado pelos aditivos na formulação. Há ainda a considerar fatores de natureza físico-química: 1) Grau de hidratação da pele, fator mais importante para aumentar a permeação; 2) pH do permeante, o mais próximo possível da neutralidade e temperatura corporal; 3) Características do fármaco - Coeficientes de difusão e partição superiores a 1, tamanho da molécula e concentração elevada do fármaco no *patch* [56, 70, 76].

A estrutura muito organizada do EC forma uma barreira efetiva para a penetração das substâncias ativas, por isso têm sido feitos esforços para modificar esta barreira, tornando possível a administração de fármacos com baixo potencial de permeação [64]. Tal é possível adicionando promotores químicos de permeação, recorrendo a novas tecnologias para transporte de fármacos (microemulsões, nanopartículas, microsferas, lipossomas, etc.) ou a métodos físicos que alteram diretamente a estrutura da pele (*iontophoresis*, microagulhas, microdermoabrasão, etc.) [76]. Neste estudo vão ser usados promotores químicos de permeação, adicionados diretamente à solução de fármaco.

#### 1.4.2 Componentes básicos de um TDDS

Um TDDS é constituído por multi-camadas poliméricas com funções específicas, nas quais o fármaco e excipientes estão incluídos. A construção de um sistema deste tipo envolve o conhecimento das funções de todas as camadas, bem como uma escolha adequada dos materiais e componentes que as constituem.

A matriz polimérica é considerada uma das camadas mais importantes de um *patch*, sendo a sua principal função controlar a libertação do fármaco [6, 7, 70]. O polímero selecionado deve

obedecer a alguns critérios: 1) Peso molecular,  $T_g$ , funcionalidade química e polimérica adequados para possibilitar a libertação; 2) Permitir a incorporação de uma grande razão de fármaco, não reagindo com este; 3) Ser estável à temperatura corporal, em ambientes húmidos e na presença de excipientes; 4) Elevada processabilidade e viabilidade económica; 5) Biocompatibilidade, tal como os produtos da sua degradação [6, 67]. Na produção de matrizes poliméricas têm sido usados polímeros naturais, elastómeros sintéticos e polímeros sintéticos [6, 7, 69]. Além disso, são usadas estratégias para manipular as propriedades da matriz e as taxas de libertação de fármaco, nomeadamente o grau de reticulação, a síntese de copolímeros (combinando polímeros, em diferentes rácios, é possível tirar partido das vantagens de cada polímero), uso de plastificantes (permitem reduzir a rigidez da estrutura polimérica, melhorando a difusão do fármaco) [3, 6].

O fármaco é o componente principal de um TDDS, encontrando-se em solução, dissolvido ou disperso na matriz polimérica. A solução de fármaco inclui vários excipientes com funções específicas: agentes químicos de permeação, plastificantes, solventes, tensioativos. Para integrar um TDDS são exigidas propriedades físico-químicas específicas a um fármaco, solubilidade em água e óleo, temperatura de fusão inferior a 200 °C, baixo peso molecular (<400 Daltons), tempo de meia vida menor do que 10 horas [6]. Além disso deve ser potente, efetivo e estável quando em contacto com a pele e não irritante nem alergénico [3, 67, 75]. Os agentes químicos de permeação possuem capacidade de hidratação, podem alterar as propriedades do EC, diminuindo, de forma reversível, a sua função de barreira e/ou aumentando o coeficiente de difusão do fármaco [67, 76]. Destacam-se os óleos essenciais, pirrolidonas, ácidos gordos e ésteres, alcoóis, glicóis, fosfolípidos, enzimas, entre outros [6]. Estes compostos devem ser farmacologicamente inertes, específicos e biocompatíveis [67].

A camada adesiva, sensível à pressão, mantém o contacto entre o TDDS e a superfície da pele. Esta camada deve ser física, química e biologicamente compatível, aderir fortemente à pele e de fácil remoção, não deixando resíduos após a remoção do *patch* [7, 70, 75]. O seu revestimento protege o sistema durante o armazenamento, sendo removida antes da aplicação do *patch* [7, 70]. Por último, a camada externa fornece suporte ao *patch* e protege-o do ambiente exterior. Esta camada deve ser resistente, flexível e compatível com os excipientes da formulação [6, 60]. O trabalho agora desenvolvido centrou-se na produção da matriz polimérica, na qual se encontra incorporada a solução de fármaco, não passando pela produção das restantes camadas.

### 1.4.3 Sistemas transdérmicos comercializados em Portugal - Exemplos

Na Tabela 1.3 encontram-se alguns *patches* comercializados atualmente em Portugal, sendo identificado o fármaco incorporado e respetiva aplicação [7].

**Tabela 1.3** Adesivos transdérmicos comercializados em Portugal e suas aplicações (De acordo com os respetivos folhetos informativos da Infarmed).

<b>Substância Ativa</b>	<b>Produto</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Substância Ativa</b>	<b>Produto</b>	<b>Aplicação</b>
<b>Nicotina</b>	Niquitin Clear® Nicotinell® Nicopatch® Nicorette®	Cessação tabágica	<b>Gestodeno + etinilestradiol</b>	Lisvy®	Contraceção feminina
			<b>Etinilestradiol</b>	Evra®	
			<b>Buprenorfina</b>	Transtec® Norspan®	Alívio de dor neoplásica
<b>Lidocaina</b>	Rapydan® EMLA®	Anestesia local	<b>Rivastigmina</b>	Exelon®	Demência de Alzheimer
				Rivastigmina® Ratiopharm®	
<b>Nitroglicerina</b>	Nitroderm® Nitradisc® Nitro-Dur® Discotrina® Plastranit®	Prevenção de angina de peito	<b>Estradiol</b>	Estradot® Climara® Dermestril®	Tratamento de dor de longa duração derivada de cancro
				Estalis®	
				<b>Estradiol + Norestisterona</b>	
<b>Testosterona</b>	Testopatch®	Substituição hormonal, tratamento de hipogonadismo			

Os transdérmicos para alívio de dor, principalmente transdérmicos de anti-inflamatórios não esteróides, são abordados detalhadamente na secção 1.5, uma vez que são o foco deste trabalho.

## 1.5 Anti-inflamatórios não esteróides – Ibuprofeno

Anti-inflamatórios não esteróides (NSAIDs, *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*) são um grupo de fármacos com efeito analgésico, anti-inflamatório e antipirético [77]. Quando administrados em doses regulares e repetidas, podem reduzir a inflamação, o que ajuda a atenuar ainda mais a dor, quando é provocada por inflamação, como no caso de artrite reumatóide [78, 79]. Tem sido investigado o potencial destes fármacos para prevenção de cancro colorectal e para tratamento de cancro e doenças cardiovasculares [77]. São exemplos de NSAIDs a aspirina, o ibuprofeno, o diclofenac, o etodolac, o aceclofenac, o fluribuprofeno, o cetoprofeno, a indometacina, a acemetacina, a nabumetona, etc. [79].

Os NSAIDs atuam de modo a inibir o efeito das enzimas ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2) responsáveis pela formação de prostaglandinas e tromboxano, a partir de ácido araquidónico. As prostaglandinas, maioritariamente produzidas pela COX-2, são responsáveis pela inflamação e dor, logo a sua redução irá reduzir estes sintomas. A maior parte dos NSAIDs não são seletivos, ou seja, inibem a produção de ambas as enzimas, daí poderem causar hemorragias gástricas, pois inibem a enzima COX-1, responsável pela proteção da mucosa do estômago [77-81].

O fármaco escolhido neste projeto foi o ibuprofeno (ácido 2-(4-isobutilfenil)propanóico, IBU), pertencente ao grupo dos NSAIDs. Este fármaco é um dos NSAIDs mais usados, e dos mais aceites pelo público por efeitos terapêuticos facilmente sentidos e menos efeitos colaterais do que os restantes NSAIDs [8, 82]. O IBU tem um caráter ácido ( $pK_a = 5,3$ ) e fraca solubilidade em água. O pico de concentração plasmática é atingido 1 ou 2h após a toma oral. É rapidamente metabolizado (tempo de meia vida de 1,8 a 2h), sendo excretado pelos rins até 24h após a toma oral, o que explica, até certo ponto, a baixa toxicidade de IBU comparativamente com outros NSAIDs, como a aspirina [82, 83].

### **1.5.1 Administração tópica de IBU e NSAIDs – Vantagens e limitações**

Os NSAIDs, de forma geral, são responsáveis por alguns efeitos secundários quando tomados oralmente: possibilidade de úlceras hemorrágicas no tracto gastrointestinal; insuficiência renal; insuficiência cardíaca; apoptose; erupções cutâneas, embora pouco frequentes e retenção de fluidos, entre outras [77, 78, 81, 83].

A baixa solubilidade do IBU em água limita a sua entrada na circulação sistémica durante a digestão. Após a digestão, o IBU entra no intestino delgado, onde é impossível de penetrar através da parede. A baixa solubilidade, quando em formas de dosagem orais, conduz a uma baixa disponibilidade devido à absorção errática ou incompleta no tracto gastrointestinal [8]. Na administração oral, a concentração de IBU necessária para o alívio eficaz da dor e inflamação pode ser facilmente atingida. No entanto, os níveis conseguidos a partir de formas de dosagem convencionais são, em geral mais elevados do que os necessários para manter a terapêutica desejada [84].

Estas dificuldades, aliadas às desvantagens dos NSAIDs que são comuns ao IBU, fazem deste um fármaco promissor para aplicação tópica e transdérmica. Sistemas tópicos e transdérmicos de administração ajudam a minimizar os efeitos colaterais das dosagens orais, fornecendo níveis de fármaco relativamente consistentes no local de aplicação, além de outras vantagens já referidas [80]. Contudo, a grande dificuldade deste tipo de sistemas reside na baixa permeabilidade da pele ao IBU.

### **1.5.2 Produtos comerciais e estudo realizados para administração tópica de IBU e NSAID's**

São inúmeros os estudos realizados no sentido de desenvolver formulações tópicas e transdérmicas para administração de NSAIDs e IBU. A nível de formulações tópicas de IBU, já existem alguns produtos comercializados, contudo as formulações transdérmicas ainda não chegaram ao mercado.

Nas Tabela 1.4 a 1.6 são apresentadas formulações tópicas e transdérmicas para administração de IBU, NSAIDs e outros ativos para alívio de dor muscular, bem como patentes e estudos

neste âmbito, repetivamente. Neste trabalho, o foco são as formulações transdérmicas, uma vez que, como referido anteriormente estas possuem vantagens face às tópicas e constituem uma novidade. Ainda assim, as formulações tópicas são referidas nas tabelas seguintes uma vez que a sua composição constitui uma base importante para o desenvolvimento de soluções de fármaco para incorporação nos *patches*.

**Tabela 1.4** Produtos comercializados para administração tópica e transdérmica de NSAIDs e fármacos para alívio de dor muscular.

Produto	Formulação: Fármaco + Excipientes	Caraterísticas/ Observações
<b>Flector Patch®</b>	<b>Princípio ativo:</b> diclofenac epolamine (13mg/g adesivo) em base aquosa. <b>Excipientes:</b> 1,3-butileno glicol; <i>dihydroxyaluminum aminoacetate</i> ; <i>disodium edetate</i> ; D-sorbitol; fragância Dalin PH; gelatina; Kaolin; <i>methylparaben</i> ; polissorbato 80; <i>povidone</i> ; propilenoglicol; <i>propylparaben</i> ; <i>sodium carboxymethylcellulose</i> ; poliacrilato de sódio; ácido tartárico; dióxido de titânio; água purificada.	-Fármaco impregnado em filme de poliéster revestido de polipropileno. -Apenas para uso tópico. -Sujeito a prescrição. -Terapêutica: 12h em 12h. <b>Produtores:</b> -IBSA Institut Biochimique SA (Suíça) -Teikoku Seiyaku Co. (Japão)
<b>Icy Hot Micro Patch®</b>	<b>Princípio ativo:</b> Mentol (7,5%) <b>Excipientes:</b> <i>glyceryl hydrogenated rosinat</i> ; <i>hydrated silica</i> ; óleo mineral; PEG 400; <i>polyisobutene</i> ; copolímero estireno/isopreno.	Terapêuticas: 12h em 12h ou de 8h em 8h (para o Back Patch®).
<b>Icy Hot Back Patch®</b>	<b>Princípio ativo:</b> Mentol (5%) <b>Excipientes:</b> ácido acrílico; hidróxido de alumínio; carmelose sódica; <i>2-ethylhexyl acrylate</i> ; glicerina; miristato de isopropilo; <i>methyl acrylate</i> ; <i>nonoxynol-30</i> ; <i>polyacrylate</i> ; <i>polyacrylic acid</i> ; polissorbato 80; <i>sorbitan sesquioleate</i> ; amido; talco; ácido tartárico; dióxido de titânio; água purificada.	NOTA: De cada produto, existem diversas variantes (tamanhos, formatos) para diferentes locais de aplicação (pernas, braços, costas, etc.).
<b>TransAct®</b>	<b>Princípio Ativo:</b> Flurbiprofeno (0.294mg/cm <sup>2</sup> ). <b>Excipientes:</b> óleo essencial de hortelã-pimenta; miristato de isopropilo; glicerol; dióxido de titânio; carmelose sódica; caulino pesado; ácido tartárico; polissorbato 80; sesquioleato de sorbitano; poliacrilato de sódio; água purificada.	-Apenas para uso tópico -Terapêutica: 12h em 12h  -Fármaco impregnado num filme de poliéster revestido com uma película polimérica. <b>Produtores:</b> Waymade Plc. (Reino Unido) Amdipharm Ltd. (Portugal)
<b>Voltarol Gel Patch®</b>	<b>Princípio ativo:</b> diclofenac epolamine (140mg de diclofenac sodium, 1%(m/m)). <b>Excipientes:</b> gelatina; <i>povidine</i> (K90); sorbitol; Kaolin; <i>titanium dioxide</i> (E171); <i>disodium edetate</i> (E385); propilenoglicol; <i>methylparahydroxybenzoate</i> (E218); <i>propylparahydroxybenzoate</i> (E216); Ácido tartárico; <i>aluminium glycinate</i> ; <i>carmellose sodiumpolyacrylate</i> ; 1,3-butilenoglicol; polissorbato 80; fragância; água purificada;	-Pasta de fármaco ligeiramente amarelada impregnada em sistema adesivo. Filme suporte de poliéster com uma camada protetora.  -Terapêutica: 24 em 24h (dependendo da dor a tratar). <b>Produtores:</b> -Laboratórios Génévrier (França) -Altergon Italia srl (Itália)

**Tabela 1.4** Produtos comercializados para administração tópica e transdérmica de NSAIDs e fármacos para alívio de dor muscular (cont.).

<b>Produto</b>	<b>Formulação: Fármaco + Excipientes</b>	<b>Caraterísticas/ Observações</b>
<b>Olfen®</b>	<b>Princípio ativo:</b> Diclofenac <b>Excipientes:</b> glicerol; propilenoglicol (E1520); adipato de diisopropilo; sorbitol líquido (cristalizável) (E420); carmelose sódica; poliacrilato de sódio; copolímeros de base metacrilato de butilo; edetato disódico; sulfito de sódio anidro (E221); butil-hidroxitolueno (E 321); alúmen; sílica coloidal anidra; caulino leve (natural); éter láurico de macrogol (9); levomentol; ácido tartárico; água purificada; suporte de fibras de poliéster; película de polipropileno protetora.	-Terapêutica: 2 emplastos por dia (no máximo). NOTA: Apenas é recomendado tratamento de curta duração (3 dias máx.). -Emplastro de 10x14 cm com uma pasta branca a castanho clara, espalhada em camada uniforme com uma película protetora. -Embalagens de 2, 5, 10 ou 14 emplastos. <b>Produtores:</b> Merckle GmbH (Alemanha)
<b>Butrans®</b>	<b>Princípio ativo:</b> <i>Buprenorphine</i> <b>Excipientes:</b> <i>levulinic acid; oleyl oleate; povidone; polyacrylate cross-linked with aluminum.</i>	-Sistema é constituído por uma camada externa protetora, um filme adesivo de sobreposição, uma camada de separação, uma matriz polimérica adesiva com o ativo e um revestimento de libertação. Terapêutica: 7 dias.
<b>Ozonol Gel®</b>	Gel em base aquosa contendo 50mg/g de Ibuprofeno. <b>Excipientes:</b> álcool desnaturado; carbómero 900; propilenoglicol (E1520); dietilamina; carbómero; água purificada.	-Utilização máxima de 10 dias, salvo recomendação médica. -Bisnagas de 4, 30, 50 e 100 g. <b>Produtores:</b> Fleet Laboratories Ltd. (UK)
<b>Nurofen®</b>	<b>Princípio ativo:</b> 5 g IBU/ 100g gel. <b>Excipientes:</b> éter monoetílico do dietilenoglicol; álcool etílico a 96% (etanol); macrogolgliceridos caprilocápricos; laurato de propilenoglicol; metilparabeno (E218); propilparabeno (E216); hidroxipropilcelulose; água purificada.	-Utilização máxima de 7 dias, salvo recomendação médica. -Aplicação 3 a 4 vezes ao dia. -Gel em embalagens de 30 ou 60 g. <b>Produtores:</b> Arafarma Group, S.A
<b>Reumon Gel®</b>	<b>Princípio ativo:</b> Etofenamato – 50mg/g de gel. <b>Excipientes:</b> álcool isopropílico; carbopol 900; Eumulgin M8, hidróxido de sódio; macrogol 400; água purificada.	<b>Utilização:</b> Doenças reumáticas- 3 a 4 semanas; Traumatismos agudos – pode-se prolongar por mais 2 semanas. -Aplicação 3 a 4 vezes ao dia. -Disponível em bisnagas de 40, 60, 100, 150g.

**Tabela 1.5** Patentes de formulações para administração de fármacos para alívio de dores musculares.

Título	Materiais/ Formulações	Tecnologia
<p align="center"><b>“Transdermal delivery patch”</b></p> <p align="center">US 2015/0148431 A1</p> <p align="center">2015</p>	<p>Matriz adesiva contendo um composto biológico ativo.</p> <p><b>- Materiais base para adesivo:</b> Polímeros naturais ou sintéticos, copolímeros ou termopolímeros. De preferência, acrilatos, povidonas e siloxanos (exs: PVP K90, M~360mil Da; Durotak; Eudragit E100). Nota: O polímero deverá estar numa gama de 30-95% m/m do peso total da formulação.</p> <p><b>Ativos preferenciais:</b> Diclofenac, Fenoprofen, Flurbiprofen, Ibuprofen, Indoprofen, Ketoprofen, Ketorolac, Naproxen, Oxametacine, Piroxicam, Suprofen, Celecoxib, etc.</p> <p><b>Agentes de anti-aderência:</b> Acid succinic (1-5 % m/m)</p> <p><b>Agentes de aderência:</b> <i>N-butyl-methacrylic copolymer; Acrylic methyl; Acrylic 2-ethylhexyl copolymer; polyacrylic acid; methacrylic polymer.</i></p>	<p><b>Produção:</b> Uma das técnicas envolve a combinação de um veículo polimérico com um agente de anti-aderência ou um plastificante num solvente apropriado (ex. 50% água, 50% etanol). Este é combinado com uma dispersão de um composto biológico ativo e uma mistura de um componente mono-tocopheryl phosphate e de um di-toco-pheryl phosphate. A mistura é devidamente agitada até completa homogeneização. Colocada num molde e seca (de preferência a 90°C por um período de 0,5h a 24h).</p> <p>Exemplo de composição final: Eudragit E 100 (60,6% m/m), <i>Dibutyl sebacate</i> (27,3% m/m) e <i>succinic acid</i> (5,5%). Os componentes são dissolvidos numa solução de acetona:isopropanol:álcool etílico (60:6,6:33,5 % m/m). A solução é colocada em pequenos moldes entre as camadas de proteção/revestimento à T<sub>amb</sub> e o solvente é depois evaporado a 75°C por 1,5h.</p>
<p align="center"><b>“Controlled-release multilayer patch for the topical use”</b></p> <p align="center">WO 2006/024339 A2</p> <p align="center">2006</p>	<p>Transdérmico de multicamadas: parte adesiva, filme de proteção, matriz de base acrílica ou de silicone. Pelo menos um ingrediente ativo e uma parte removível com a utilização.</p> <p>- Adição de excipientes lipofílicos para promover a afinidade do ativo com a pele.</p> <p><b>Materiais p/ camada de proteção:</b> Polietileno, PVC, poliésteres, poliuretanos, fibras naturais, polipropileno, etc.</p> <p><b>Excipientes lipofílicos:</b> Lanolin, vaseline, polietileno glicol, glicerina, fatty acids, óleos vegetais, etc.</p> <p><b>Ativos preferenciais:</b> Diclofenac, Fenoprofen, Flurbiprofen, Ibuprofen, Indoprofen, Ketoprofen, Ketorolac, Naproxen, Oxametacine, Piroxicam, Suprofen, Celecoxib, etc.</p>	<p><b>Exemplos de Produção:</b></p> <p>1. Primeira camada adesiva (Uceacryl MC 808) é colocada sobre uma folha de silicone e seca numa estufa (60 a 110°C). É colocada uma proteção de polietileno. Numa segunda etapa, é produzido um sistema adesivo misturando 80kg de Uceacryl MC 808, 15kg de lanoline/vaselina (1/1) e 5kg de extratos vegetais secos. Após mistura homogénea, esta é espalhada sobre uma folha de silicone e seca (60 a 110°C). Finalmente é acoplada ao primeiro produto para ser cortada na forma pretendida.</p> <p>2. Difere de 1 no material utilizado para fazer primeira camada adesiva. Neste caso, utiliza-se Durotak 87-2852 (colocado também em folha de silicone). Secagem a 60-80°C. Na segunda etapa, são misturados 80kg de Uceacryl MC 808, 19kg de vaselina viscosa e 1kg de Tiocolchicoside. Após mistura homogénea, é espalhado em folha de silicone, e seco a 60-110°C. Formulação alternativa para a segunda parte do produto: 80kg de Durotak 87-2852, 17kg de lanoline/vaselina (1/1) com 3kg de Diclofenac sódio.</p>



**Tabela 1.5** Patentes de formulações para administração de fármacos para alívio de dores musculares (cont.).

Título	Materiais/ Formulações	Tecnologia
<p>“Patch containing nonsteroidal anti-inflammatory and analgesic agent”</p> <p>US 2006/0172002 A1</p> <p>2006</p>	<p>- Sistema adesivo com camada de suporte, filme laminado de libertação contendo um NSAID (exs. ketoprofen, diclofenac, flurbiprofen, ketorolac, felbinac, etc.). A camada adesiva tem ainda na composição poli (etileno glicol) (M~1000g/mol).</p> <p><b>Materiais base para adesivo:</b> Styrene-isoprene-styrene block copolymer; polyisoprene; polyisobutylene; polybutadiene rubber; silicone rubber; natural rubber ou polyurethane rubber.</p> <p>Preferência por: 1) Styrene-isoprene-styrene (SIS) (exs. Califlex TR-1107, TR-1111, TR-1112; Quintac 3530, 3421; JSR SIS-5229, 5002; Kraton D-KX401CS; Solprene 428, etc.); 2) Polyisobutylene (PIB) (exs. Oppanol B-3, B-10, B-15, B-20, B-50, B-100, B-200; Vistanex LM-MS, LM-MH, MML-80, LLM-100; Tetran 3T, 4T, 5T, 6T).</p>	<p><b>Exemplo de produção:</b></p> <p>Os ingredientes (SIS 10% m/m, PIB 15% m/m, parafina líquida 31% m/m, alicyclic petroleum resin 30% m/m, ammonium chloride 1% m/m, oleic acid 2% m/m, L-menthol 2% m/m, polietileno glicol 2% m/m, zinc stearate 4% m/m, sodium diclofenac 3% m/m) são misturados e dissolvidos em tolueno (com agitação até solução homogênea). A solução é aplicada num filme de poliéster bastante fina (cerca de 100µm após secagem). O tolueno é evaporado na secagem e o sistema é colocado num suporte sob pressão.</p>

**Tabela 1.6** Estudos de desenvolvimento de sistemas de administração de fármacos para alívio de dores musculares.

Título	Materiais/ Tecnologia	Resultados
<p>“Development and Evaluation of Ibuprofen Transdermal Gel Formulations” [85]</p>	<p>Gel polimérico de base quitosano, para incorporação de ibuprofeno.</p> <p>Agentes de permeação: Propilenoglicol; PEG400, ácido oleico, glicerol, mentol.</p> <p><b>Produção:</b> Gel de quitosano preparado por dissolução de 1 g de pó de quitosano em tampão de acetato de sódio 0,1 M (pH 4,5), concentração final de 5% m/m.</p> <p>Ibuprofeno (0,05g) misturado com propanol numa concentração de 5% m/m e a solução foi incorporada no gel. Foram testadas seis formulações diferentes (F1 - F6) incorporando diferentes permeadores.</p>	<p>-Comparativamente com F1 (branco), os materiais com glicerol, mentol e propilenoglicol registaram melhores desempenhos de libertação.</p> <p>-Nenhuma formulação revelou atividade anti-inflamatória, deverão ser necessárias doses maiores. Contudo, a formulação contendo mentol produziu efeito analgésico elevado.</p> <p>-Formulações contendo 5% mentol e 20% de propilenoglicol revelaram propriedades analgésicas melhores do que a Ibutop®.</p>
<p>“In vitro Evaluation of Bioadhesive Films Containing Ibuprofen” [86]</p>	<p>Filmes com IBU dissolvido numa solução: água, adesivo (Plastoid®), plastificante (glicerina) e agente de permeação (propilenoglicol, Soluphor®, PVP 21 % m/m; PEG 400 85% m/m). A solução foi adicionada a PVA (25% m/m).</p> <p>Foram também produzidos adesivos pela técnica DIA (<i>Drug-in-Adhesive</i>): A solução (5% m/m IBU) foi dissolvida no adesivo Duro Tak® 87-2677, este foi laminado e seco.</p>	<p>PVP e PG não produziam uma variação significativa na velocidade de permeação e no total de IBU libertado após 24 h. A 2 - pirrolidona (IBU 4) produziu uma redução significativa em ambos os parâmetros, possivelmente devido ao aumento da solubilidade do IBU no EC que pode ter levado à diminuição do gradiente.</p> <p>Adesivos DIA revelaram maior libertação de IBU e resultados similares aos obtidos a partir da formulação comercial de referência (Ibufen Gel®).</p>
<p>“Medherant's First Ibuprofen Patch – TEPI Patch” [87]</p>	<p>Matriz adesiva polimérica, transparente para libertação de IBU através da pele.</p> <p>Utilização de tecnologia para produção de adesivos desenvolvida pela companhia Bostik, e exclusivamente licenciada para produção de transdérmicos pela Medherant.</p>	<p>Possível incorporar elevadas doses de IBU na matriz polimérica (30% m/m).</p> <p>Perfis de libertação de 12 horas.</p> <p>(Resultados não revelados)</p>

Tem sido estudado o desenvolvimento de formulações transdérmicas para libertação de Ibuprofeno, contudo, atualmente ainda não existe nenhum produto deste tipo a ser

comercializado. A baixa solubilidade de IBU e as dificuldades associadas à permeação na pele constituem um desafio e provavelmente a maior entrave para o desenvolvimento destes *patches*. As tecnologias já patenteadas e as soluções de fármaco desenvolvidas são complexas e com inúmeros componentes. Contrariando este facto, neste trabalho pretende-se desenvolver matrizes onde são incorporadas soluções de fármaco, soluções robustas, usando excipientes para favorecer a libertação e permeação, recorrendo a tecnologias simples, de forma a obter de produtos igualmente robustos, mas que sejam pouco dispendiosos e apresentem adequados desempenhos de libertação à aplicação a que se destinam.

# CAPÍTULO 2

---

## Materiais e Métodos

## 2. MATERIAIS e MÉTODOS

### 2.1 Apresentação do processo

A estratégia seguida na produção de adesivos transdérmicos para libertação controlada de ibuprofeno (IBU) incluiu três etapas principais: Avaliação de novos materiais de base AL recorrendo a comonómeros diferentes dos empregues por Marques [3] e Santos [26]; Produção de formulações de IBU que viabilizassem a sua incorporação e libertação dos materiais seleccionados; Estudo da libertação do IBU dos filmes.

Os estudos de Marques [17] e Santos [18] consistiram no desenvolvimento de novas estratégias de síntese de oligómeros de base ácido lático e no uso do isocianato Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR), de forma inovadora, para funcionalização do oligómero base. Este trabalho, dando continuidade ao já desenvolvido, centrou-se na produção de oligómeros de ácido lático alargando o leque de comonómeros testados e seleccionando como agente de funcionalização o LAR devido aos bons resultados anteriores [18, 39].

O processo iniciou-se com a produção do oligómero base, partindo de ácido lático L(+) e, por policondensação direta, obtendo pré-polímeros<sup>1</sup>, lineares ou ramificados, de baixo peso molecular, sem adição de catalisadores ou solventes tóxicos. A não utilização de catalisadores exigiu operar a temperaturas mais elevadas e aumentar o tempo de reacção [17].

Os comonómeros foram seleccionados de modo a influenciar a estrutura e propriedades físico-químicas dos oligómeros a produzir. Estes compostos com dois ou mais grupos funcionais reagem com 0 ácido lático formando moléculas com grupos terminais carboxilo e hidroxilo. Marques [17] optou pelo 1,4-butanodiol (BDO) (dois grupos hidroxilo), para produção do oligómero linear (AL-BDO) e pelo pentaeritritol (quatro grupos hidroxilo) para obtenção de oligómeros ramificados (AL-Star), ambos de baixo peso molecular. O último é descrito na literatura como promissor para aplicações biomédicas, oferecendo a possibilidade de controlar a degradabilidade e cristalinidade do polímero final [17, 89]. O trabalho agora desenvolvido, além de dar continuidade ao anterior visou testar mais dois monómeros, PEG300 e PEG400 dadas as vantagens do comonómero poli (etilenoglicol) para aplicações biomédicas [9, 11, 44, 45]. A remoção de água foi o principal fator a ter em conta durante a reacção de policondensação.

A funcionalização dos oligómeros obtidos visou a introdução de ligações de carbono duplas no polímero. Marques [17], e posteriormente Santos [18], testaram diversos monómeros funcionais, dando preferência a monómeros altamente reativos de dois grupos distintos:

---

<sup>1</sup>Oligómeros de ácido lático ou pré-polímeros de ácido lático são sinónimos.

anidridos e isocianatos. O anidrido metacrílico (MAA) e o metacrilato de 2-isocianato são alguns dos monómeros mais comuns na literatura sobre este tema. Santos [18] testou ainda o 3-isopropenil-dimetilbenzil isocianato (TMI) e o Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR). O LAR é um diisocianato, desenvolvido pela BASF e comumente combinado com resinas com grupos hidroxilo. É conhecido por conferir flexibilidade aos materiais, melhorando as suas propriedades físicas e mecânicas. Como possui dois grupos isocianato torna-se um composto versátil, podendo ser testado em diferentes proporções com os oligómeros originando materiais com propriedades distintas. Na área biomédica este monómero constitui uma novidade e por isso a sua biocompatibilidade não está solidamente confirmada.

No trabalho desenvolvido por Santos [18] o LAR revelou-se como o monómero de maior sucesso, sendo por isso selecionado para agente de funcionalização neste trabalho. No Anexo D podem ser consultadas a estrutura química e as propriedades do LAR.

A segunda etapa consistiu no desenvolvimento de soluções de fármaco robustas para incorporação no gel funcionalizado. O ativo escolhido para este trabalho foi o Ibuprofeno (IBU), com o objetivo de desenvolver um adesivo que ao libertar o fármaco alivie dores musculares. Para tal optou-se por misturar este ativo, em solução, diretamente no gel polimérico, e proceder depois à fotopolimerização. O IBU é pouco solúvel em água o que constituiu um desafio para garantir uma solução homogénea. Um levantamento de possíveis excipientes que facilitassem a solubilização do fármaco levou à selecção de Transcutol<sup>®</sup>, Miristato de isopropilo e Miglyol<sup>®</sup>. Foram testados tensioativos como o Tween<sup>®</sup> 80 e o Cremophor<sup>®</sup> RH40 bem como a adição de plastificantes como propilenoglicol, glicerol, PEG300 e PEG400, estes dois últimos também usados como comonómeros. Etanol também foi testado e em todas as soluções foi adicionada água. O principal objetivo passou por construir soluções com a maior percentagem possível de água, sem comprometer a solubilidade do ativo.

A fundamentação apresentada no Capítulo 1 [48] justifica a escolha do fotoiniciador Irgacure<sup>®</sup> 2959 que permitiu a produção de filmes. Os géis poliméricos, ou a mistura destes com a solução de fármaco, foram reticulados por fotopolimerização radicalar livre, obtendo-se matrizes sólidas em poucos minutos. A quantidade de iniciador e a densidade de ligações duplas no polímero foram fatores determinantes para garantir o sucesso do processo.

A última etapa deste trabalho consistiu no estudo da cinética da libertação *in vitro* do princípio ativo dos diferentes materiais em que foi incorporado, de modo a perceber qual o comportamento das matrizes adesivas na libertação e a viabilidade dos materiais obtidos em termos de desempenhos de libertação de IBU.

## 2.2 Materiais

A solução aquosa de ácido lático L(+) (80%) (AL), os comonomeros 1,4-butanodiol (99%) (BDO), poli (etilenoglicol) (PEG300 e 400) (99%) e pentaeritritol (98%) foram adquiridos à *Sigma-Aldrich* (Sintra, Portugal) e usados tal como fornecidos. Os solventes acetona e etanol (99,96%) foram adquiridos à *VWR Chemicals* (BDH-Prolabo) e o éter dietílico (99%) foi adquirido à *ACROS Organics*. O monómero Laromer<sup>®</sup> LR 900 (LAR) e o fotoiniciador 2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxi)fenil]-2-metil-1-propanona, conhecido por Irgacure<sup>®</sup> 2959 (97-99%) foram disponibilizados pela BASF (Alemanha).

O ibuprofeno (IBU) foi adquirido à BASF (Alemanha) e os excipientes Transcutol<sup>®</sup> (*diethylene glycol monoethyl ether*) e Mygliol<sup>®</sup> foram gentilmente fornecidos pela empresa 73100, Lda. O glicerol (99%) e miristato de isopropilo foram adquiridos à *Sigma-Aldrich*. Os tensoativos Cremophor<sup>®</sup> RH40 e Tween<sup>®</sup> 80 foram adquiridos às empresas BASF (Alemanha) e Merck, respetivamente.

As pastilhas de PBS, para preparação do meio coletor de fármaco nos estudos de libertação, foram adquiridas à *Sigma-Aldrich*. Os reagentes para medição de ângulos de contacto: formamida (99%), etilenoglicol (99,8%), propilenoglicol (99,5%) e diiodometano (99,5%) foram adquiridos à *Sigma-Aldrich*. No Anexo D são apresentados os principais reagentes usados, suas fórmulas químicas e estruturais e propriedades.

## 2.3 Síntese

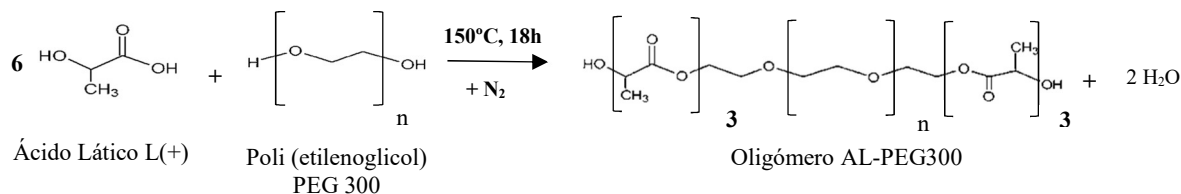
### 2.3.1 Síntese dos oligómeros de ácido lático

Numa primeira fase foram sintetizados diversos pré-polímeros de base ácido lático, por policondensação direta, sem adição de solventes nem catalisadores, sendo testados diferentes monómeros (PEG300, PEG400, BDO, pentaeritritol). Os materiais com PEG400 revelaram-se menos promissores, daí não serem selecionados para incorporação de ativo, nem são incluídos nos procedimentos experimentais abaixo descritos.

#### 2.3.1.1 Oligómero de ácido lático e poli (etilenoglicol)

Num balão de três tubuladuras e fundo redondo, com um volume de 250mL introduziu-se 100mL da solução aquosa de AL L(+) (80%) a que se adicionou 24mL de PEG300, tendo em conta a estequiometria da reação (6:1) (Figura 2.1) e as massas molares dos reagentes.

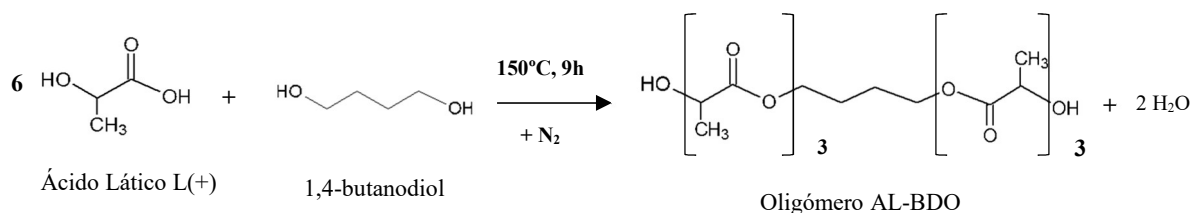
Após a adição dos reagentes, a tubuladura principal foi fechada, sendo colocado um adaptador numa das tubuladuras laterais para remoção de água do sistema. Na terceira tubuladura ligou-se uma corrente de azoto contínua e de caudal constante, para garantir um ambiente inerte. O balão foi colocado num banho de óleo a 150°C. A reação decorreu sob agitação magnética durante 18 horas. O oligómero obtido foi armazenado, para posterior funcionalização. A montagem está ilustrada no Anexo E.



**Figura 2.3** Reação de produção do oligómero de ácido lático e poli (etilenoglicol) 300.

### 2.3.1.2 Oligómero de ácido lático e 1,4-butanodiol

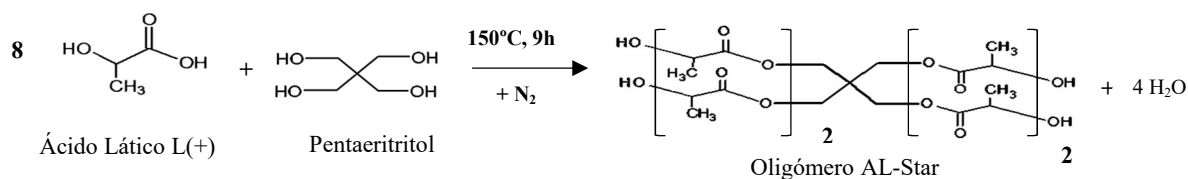
O procedimento foi igual ao descrito para a obtenção do oligómero com PEG300, apenas diferiu no comonomero adicionado, o 1,4-butanodiol. De acordo com a estequiometria da reação (Figura 2.2) e as massas molares dos reagentes, foram adicionados 16mL de BDO a 100mL de solução aquosa de AL L(+). A reação decorreu a 150°C durante 9 horas.



**Figura 2.2** Reação de síntese do oligómero de ácido lático e 1,4-butanodiol.

### 2.3.1.3 Oligómero de ácido lático e pentaeritritol

Para a produção do oligómero de ácido lático em forma de estrela, procedeu-se da mesma forma que para os oligómeros anteriores, sendo que neste caso foram adicionados 9mL de pentaeritritol a 100 mL de solução aquosa de AL e a reação decorreu a 150°C durante 9 horas. Esta reação é ilustrada na Figura 2.3.



**Figura 2.3** Reação de produção do oligómero de ácido lático e pentaeritritol.

Os tempos de reação para os três oligómeros foram otimizados acompanhando o processo com a análise de amostras da mistura reagente por ATR-FTIR e a pesagens dos balões em intervalos de tempo conhecidos, para avaliar o tempo necessário para a remoção total de água do sistema. No final os oligómeros foram armazenados num exsiccador, em frascos abertos, na presença de peneiros moleculares, para eventual remoção de alguma água.

### 2.3.2 Funcionalização dos Oligómeros com Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR)

Uma vez produzidos os oligómeros, estes foram funcionalizados com o diisocianato Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR), sendo testadas diferentes razões molares entre o oligómero e o LAR (1:1, 1:1,5, 1:2), de modo a melhorar as propriedades físicas dos produtos finais, bem como diferentes solventes (éter dietílico e acetona). Nem todos os produtos funcionalizados foram bem sucedidos, contudo algumas das características destes materiais são apresentadas no Capítulo 3, para fundamentar a sua exclusão.

No caso do oligómero de AL-PEG300, a razão molar 1:1,5 originou materiais mais maleáveis e homogêneos. A reação é apresentada na Figura 2.4. Introduziu-se 5g de oligómero num balão de três tubuladuras, de capacidade 100mL. A acetona revelou ser o solvente mais adequado devido ao seu baixo ponto de ebulição, baixa toxicidade e por promover a mistura entre o oligómero e o LAR, sendo adicionados 5mL deste solvente. Na tubuladura central foi colocado um condensador para que a reação ocorresse com refluxo do solvente. No topo do condensador colocou-se uma torre de secagem para evitar a entrada de humidade no sistema. Por fim adicionou-se ao sistema 5,11 mL de LAR (correspondente a 1,5 moles). Esta adição foi efetuada de forma precisa e rápida, para evitar a entrada de humidade no balão, uma vez que o LAR é muito reativo com a água, o que poderá levar à perda de grupos isocianatos necessários para introduzir ligações duplas nas extremidades dos oligómeros. A reação decorreu a 60°C, durante 4 horas, sendo o sistema protegido da luz com papel de alumínio. No Anexo E está ilustrada a montagem.

Para o oligómero de AL-BDO a melhor razão molar correspondeu a uma estequiometria de 1:1, de acordo com a Figura 2.4. O éter dietílico provou ser o melhor solvente tendo favorecido o tempo de reticulação. Procedeu-se como anteriormente, adicionando a 5g de oligómero 5 a 8mL éter dietílico. Inertizou-se o sistema com azoto e de seguida adicionaram-se 5mL de LAR (correspondente a 1 mol). A reação decorreu a 60°C, durante 4 horas, sendo o conteúdo do balão protegido da luz.

Por último, para produção do gel funcionalizado em forma de estrela, a estequiometria que conduziu a melhores resultados foi 1:2, Figura 2.4. A 5g de oligómero introduzidas num balão de três tubuladuras, adicionaram-se 10mL de éter dietílico. Inertizou-se o sistema e de seguida foram adicionados 6,58mL de LAR (2 moles). A reação decorreu a 75°C, durante 4 horas, com o sistema protegido da luz. Neste caso, como o oligómero em causa apresenta um maior peso



molecular e consequentemente maior viscosidade, foi necessário controlar a agitação magnética com frequência para garantir uma mistura perfeita dos componentes.

Uma vez que são usadas diferentes estequiometrias de reação (Oligômero: LAR), os produtos finais apresentam estruturas diferentes. A reação ocorre entre o grupo isocianato do LAR e o grupo hidroxilo do oligômero. Em todos os materiais existem isocianatos livres na estrutura dos oligômeros funcionalizados.

O fotoiniciador Irgacure<sup>®</sup> 2959 foi adicionado a cada um dos géis e deixou-se em agitação até solubilizar. A percentagem de fotoiniciador utilizada correspondeu a 1% do número de moles de ligações de carbono duplas existentes em cada molécula modificada, quantidade suficiente para reticular o material sem lhe conferir toxicidade [18]. O gel foi armazenado, protegido da luz, para posterior incorporação de solução de fármaco e reticulação.

Os tempos de reação foram otimizados recorrendo a amostras ao longo do processo e à sua análise por ATR-FTIR.

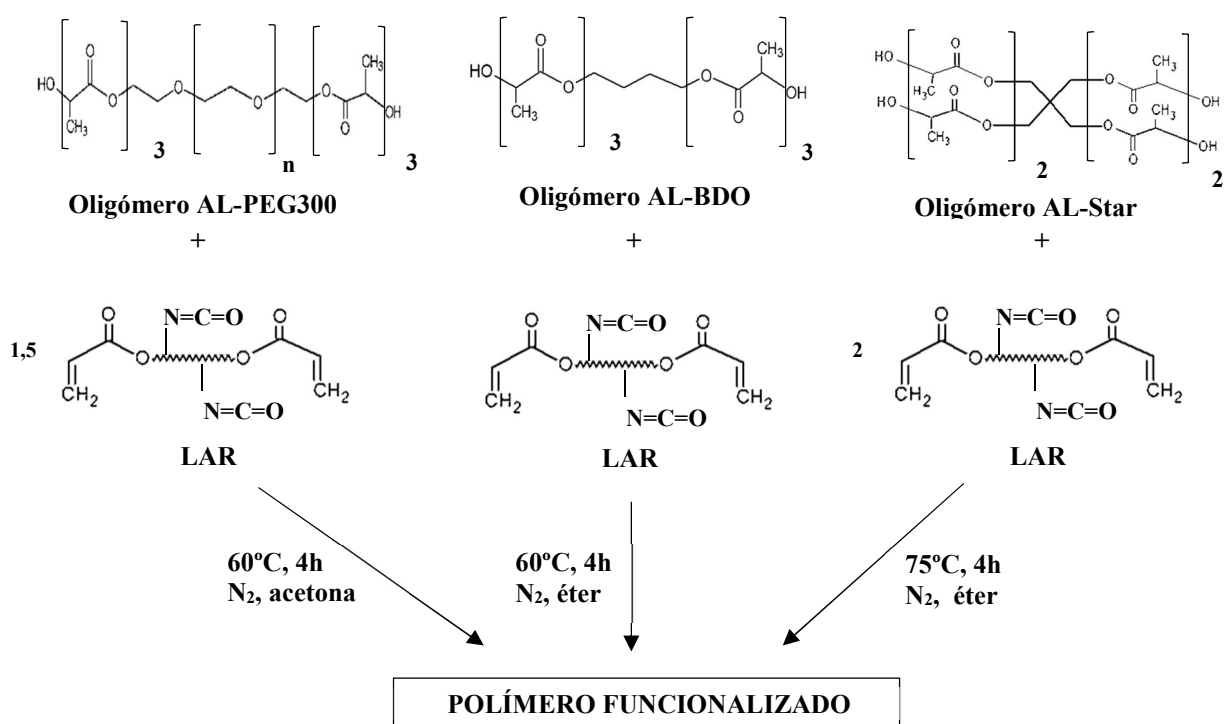


Figura 2.4 Reações de funcionalização dos oligômeros.

### 2.3.3 Fotoreticulação dos géis poliméricos

Para reticulação dos géis das formulações finais recorreu-se a uma lâmpada UV (UVGL-48, *Multiband UV*, da *Mineral Light<sup>®</sup> Lamp*), na gama de radiação entre 280-100nm (comprimento de onda em que o Irg 2959 é mais sensível) [17, 18]. Os géis foram colocados em placas devidamente limpas e secas e as amostras foram espalhadas com um cilindro espalhador em inóx, obtendo-se filmes com uma espessura fixa de 1mm. Seguiu-se a reticulação, sendo

testados diferentes tempos de irradiação para cada material de modo a conhecer o tempo necessário para este reticular.

Obtiveram-se filmes com diferentes propriedades mecânicas, todos eles transparentes, resistentes e flexíveis. Todos os adesivos foram secos numa estufa de vácuo, a 37°C, de modo a remover os solventes (éter dietílico e acetona) da sua composição. Foram posteriormente armazenados num exsiccador à temperatura ambiente, para posterior caracterização.

## 2.4 Caracterização

As propriedades dos filmes sem e com fármaco, foram avaliadas recorrendo a diversas técnicas de caracterização. Os fundamentos de cada técnica, o porquê da sua utilização e os procedimentos adotados são apresentados neste subcapítulo.

### 2.4.1 Espetroscopia de infravermelho com reflexão total atenuada (ATR-FTIR)

A técnica ATR-FTIR permite a identificação dos grupos funcionais dos compostos na amostra. Através da passagem de um feixe de luz infravermelha (IV) é possível obter o espectro da amostra. Cada grupo funcional absorve energia num número de onda característico, que permite a sua identificação [90].

A evolução das reações de produção de oligómeros e de funcionalização foi acompanhada recolhendo amostras da mistura que foram analisadas por ATR-FTIR de imediato de modo a avaliar a extensão da reação e o seu tempo ótimo. Foram ainda analisados todos os reagentes utilizados, oligómeros produzidos, polímeros funcionalizados, e, na fase final do trabalho os adesivos com soluções de fármaco, de modo a identificar os grupos funcionais que foram introduzidos. Estas análises foram feitas recorrendo ao equipamento *Jasco FT/IR-4200 Spectrometer* com um *Golden Gate Single Reflection Diamond ATR*. Os espectros foram obtidos com 64 scans, com resolução de 4cm<sup>-1</sup>.

### 2.4.2 Capacidade de absorção de água (*Swelling*)

Para um adesivo transdérmico, a capacidade de absorção de água é um fator determinante, uma vez que influencia o desempenho de libertação do composto ativo e a sua degradação. Assim esta propriedade foi avaliada para todos os materiais base (sem fármaco).

O teste foi feito por incubação: amostras de filme, secas e de massa conhecida ( $m_s$ ) foram incubadas em frascos fechados com 10mL de água destilada à temperatura ambiente. A massa das membranas húmidas ( $m_h$ ) foi pesada em intervalos de tempo estipulados até se atingir um peso máximo. O teste foi realizado em triplicado, com e sem reposição do volume de água (esta variável não influenciou os resultados obtidos). A capacidade de absorção de água foi também

avaliada em atmosfera saturada num exsiccador à temperatura ambiente e também em triplicado, usando como solução de saturação a solução de cobre penta-hidratado, com 96% de saturação. Este segundo método é o mais pertinente para a aplicação que se pretende. A % *Swelling* foi calculada pela Equação 2.1:

$$\% \textit{Swelling} = \left( \frac{m_h - m_s}{m_s} \right) \times 100 \quad (2.1)$$

### 2.4.3 Teor de gel (*Gel content*)

O *gel content* foi determinado para cada um dos adesivos base de modo a conhecer o seu grau de reticulação. Amostras de adesivos secos foram pesadas ( $m_i$ ) e colocadas em frascos fechados com éter dietílico durante 24 horas com agitação. Qualquer líquido residual presente foi dissolvido no éter, restando apenas a matriz sólida. As matrizes foram secas numa estufa a 37°C e pesadas até se obter um valor constante ( $m_f$ ). O teste foi realizado em triplicado para cada material. O *gel content*, em %, foi determinado pela Equação 2.2.

$$\% \textit{gel content} = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \quad (2.2)$$

### 2.4.4 Análises térmicas – TGA e DSC

Para perceber a estabilidade térmica dos materiais, realizou-se uma análise termogravimétrica (TGA) a todas as amostras líquidas e reticuladas, bem como a todos os reagentes utilizados. Os materiais foram sujeitos a um aumento controlado da temperatura, obtendo-se um gráfico da perda de massa em função da temperatura e/ou tempo. A temperatura de degradação ( $T_d$ ) de cada material, corresponde à temperatura a partir da qual o material começou a sofrer uma perda de massa significativa. Desta forma conclui-se sobre a estabilidade do material para a aplicação desejada, averiguando a possibilidade dos materiais serem esterilizáveis, uma vez que serão aplicados na pele [91]. Para a realização da técnica foram usadas 5 a 10mg de produto e recorreu-se ao equipamento *SDT Q500*, da *Thermal Analysis Instruments*. Para todas as amostras a temperatura de aquecimento foi 600°C, com uma velocidade de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>, em atmosfera inerte com um fluxo de azoto de 100mL min<sup>-1</sup>. Para tratamento de resultados recorreu-se ao software *Universal analysis 2000* da *TA Instruments*.

A análise por calorimetria diferencial de varrimento (DSC) para todos os materiais reticulados (base e com fármaco) permitiu determinar a temperatura de transição vítrea dos materiais [92]. Para tal recorreu-se ao equipamento *Q1000* da *TA Instruments*, para registo de curvas do fluxo de calor medido em função da temperatura e/ou tempo. Estes espetros permitem determinar: a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), a temperatura de fusão ( $T_f$ ), a temperatura de cristalização ( $T_c$ ) e a entalpia de fusão ( $\Delta H_m$ ) de cada material. Os testes foram executados com uma velocidade de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup> numa atmosfera de azoto com fluxo de 100mL min<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup> e numa gama de temperaturas entre  $-80^{\circ}\text{C}$  e a temperatura de degradação de cada amostra (determinadas antes por TGA).

### 2.4.5 Degradação hidrolítica em PBS

Em alguns sistemas transdérmicos para administração de fármacos a libertação é controlada pela degradação da matriz. Assim pode ser importante que os materiais sejam biodegradáveis mas o tempo de degradação não deve prejudicar a terapêutica desejada. É pois importante estudar a degradação dos materiais sintetizados através da sua perda de massa ao longo do tempo quando em solução salina.

Foram avaliados em duplicado todos os filmes base e um material com excipientes da solução de fármaco para perceber a influência dos mesmos no processo de degradação. Depois de secos os materiais foram cortados e pesados ( $m_{s,0}$ ). Cada triplicado da amostra foi introduzido em frasco fechado com solução de PBS, num total de 48 frascos por material, o teste foi conduzido durante 6 semanas, a  $37^{\circ}\text{C}$ . Em cada tempo estipulado (24h, 72h, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 semanas) as matrizes foram retiradas dos frascos e colocadas a secar (a  $37^{\circ}\text{C}$ ), sendo a sua massa pesada em intervalos de tempo estipulados ( $m_{s,t}$ ).

A degradação foi determinada pela perda de massa (%) de cada matriz em cada intervalo de tempo, pela Equação 2.3.

$$\% \text{ Perda de massa} = \frac{m_{s,0} - m_{s,t}}{m_{s,t}} \times 100 \quad (2.3)$$

Sendo  $m_{s,0}$  e  $m_{s,t}$  as massas inicial seca e ao fim de um determinado tempo de degradação. Os valores obtidos foram representados em função do tempo.

### 2.4.6 Determinação de energias de superfície – Medição de ângulos de contacto

O valor da energia de superfície de cada material fornece informação sobre a sua interação com os tecidos biológicos, neste caso a pele, permitindo concluir sobre a sua capacidade de adesão. Para o produto e aplicação em causa, esta avaliação é pertinente [94].

Foram determinadas as energias de superfície dos materiais base reticulados, e de um material com fármaco para comparação, através de medição de ângulos de contacto. Os materiais reticulados foram cortados do tamanho de uma lamela sobre a qual foram colados com fita cola de dupla face. Recorreu-se ao equipamento *OCA 20*, da *Dataphysics* para medição de ângulos de contacto estáticos ( $\theta$ ), usando cinco líquidos: água; formamida; etilenoglicol; propilenoglicol e diiodometano. Para cada material e cada líquido foram efetuadas 12 medições em diferentes zonas da lamela, de modo a determinar um ângulo de contacto médio. Não foram aceites valores com desvio superior a 2. A partir dos ângulos medidos e recorrendo ao método de *Owens-*

Wendt-Rabel e Kaeble, calculou-se a energia de superfície ( $\gamma$ ) e as respectivas componentes dispersiva ( $\gamma_S^D$ ) e polar ( $\gamma_S^P$ ) [93, 94].

## 2.5 Desenvolvimento de soluções de fármaco - Metodologias

Os produtos tópicos comerciais e os estudos reportados na literatura apresentam concentrações de fármaco de 5% -10% (m/m) para uma terapêutica eficaz (Tabela 1.4 a 1.6) [8, 65, 85, 86]. No trabalho desenvolvido optou-se por ter como objetivo concentrações de ativo próximas de 5% (m/m) no produto final.

Uma vez que o IBU é pouco solúvel em água, houve necessidade de desenvolver soluções de fármaco com componentes que garantissem a solubilidade deste ativo e a sua estabilidade em meio aquoso, uma vez que a presença de água é fundamental para melhorar a administração transdérmica. Inicialmente optou-se por soluções com multicomponentes contendo solubilizador(es), plastificante(s), tensioativos(s) e etanol como agente de permeação para além de água, misturados por esta sequência. Foram testados diversos solubilizadores (Transcutol<sup>®</sup>, miristato de isopropilo, Miglyol<sup>®</sup>), vários plastificantes (PEG300, PEG400, glicerol, propilenoglicol) e tensioativos (Cremophor<sup>®</sup> RH40 e Tween<sup>®</sup> 80). Estes componentes foram escolhidos com base em estudos já realizados no âmbito de formulações transdérmicas e cosméticas [8, 65, 75, 85, 86, 95, 96, 97]. No Anexo F são apresentados os excipientes usados para preparação de soluções e discriminadas as composições de cada solução, bem como algumas considerações e decisões tomadas na preparação destas soluções.

A metodologia multicomponentes não se revelou eficaz, uma vez que, quando em repouso, as soluções apresentavam duas fases distintas, sendo que nalguns casos a mistura ficou turva e o fármaco precipitou. Assim, optou-se por uma metodologia mais simples, com menos componentes de forma a garantir uma solução robusta e com percentagem de água superior a 5% m/m. As soluções preparadas por esta estratégia seguiram os mesmos passos que as anteriores mas apenas foram adicionados ibuprofeno, solubilizadores (Transcutol<sup>®</sup>, miristato de isopropilo e etanol), PEG300 como plastificante e água. As composições das soluções preparadas são apresentadas na Tabela 2.1.

Como referido no Capítulo 1, o pH ótimo para uma solução de fármaco para administração transdérmica deve situar-se entre 5-6. O pH das soluções obtidas foi na gama 3-5. Houve por isso necessidade de corrigir o pH, recorrendo a NaOH (0,1M), que foi adicionado às soluções sob agitação (gota a gota, para não comprometer a solubilidade do ativo) até atingir o pH desejado. Ao longo desta adição o pH foi medido com um medidor de pH, 716 DMS Titrino da Metrohm. Foram ainda testadas outras estratégias de correção de pH, como por exemplo corrigir o pH da mistura final, gel com a solução de fármaco. Contudo a primeira estratégia revelou-se

mais eficaz. Ainda assim há que ter em conta que a adição do polímero irá acidificar a mistura o produto final.

**Tabela 2.1** Composição das soluções desenvolvidas pela metodologia simples em g e %m/m. (Base 5mL solução)

Componentes	Solução 1		Solução 2		Solução 3		Solução 4	
	g	% m/m	g	% m/m	g	% m/m	g	% m/m
<b>Ibuprofeno</b>	1,18	22,64	1,18	16,55	1,18	13,18	1,18	13,35
<b>Transcutol</b>	2,47	47,39	1,73	24,26	2,48	27,69	-	-
<b>Miristato de Isopropilo</b>	-	-	0,77	10,81	-	-	-	-
<b>Etanol</b>	-	-	-	-	0,79	8,82	3,16	35,76
<b>PEG 300</b>	0,56	10,79	0,57	7,99	0,57	6,33	0,57	6,42
<b>Água</b>	1	19,18	0,75	10,51	1	11,17	1	11,32
<b>NaOH</b>	-	-	2,13	29,88	2,94	32,81	2,93	33,15
<b>RESULTADOS</b>	Solução robusta; Material resistente		Solução robusta; Material resistente		Materiais muito frágeis.		Materiais resistentes e flexíveis; Pouca reprodutibilidade, provavelmente devido evaporação do etanol.	

Nem todas as soluções de fármaco descritas na Tabela 2.1 demonstraram a mesma homogeneidade, estabilidade e robustez para incorporação nos géis poliméricos. Assim, o estudo prosseguiu apenas com as soluções 1 e 2 que foram testadas nos géis funcionalizados selecionados. A mistura decorreu à temperatura ambiente num balão com agitação magnética, protegido com papel de alumínio, e a cada massa de gel preparada foram adicionados 5mL de solução de fármaco a que correspondeu ~ 5% m/m de IBU na formulação final. Uma vez homogeneizado, o gel final foi armazenado, protegido da luz, para posterior reticulação. Obtiveram-se no total seis materiais distintos (AL-PEG1, AL-PEG2, AL-BDO1, AL-BDO2, AL-Star1, AL-Star2 onde 1 e 2 correspondem à solução de fármaco incorporada). Os materiais foram de seguida reticulados por irradiação UV, na presença do iniciador Irgacure<sup>®</sup> 2959, obtendo-se tempos de UV de 2 minutos para os materiais AL-BDO1 e AL-BDO2 e 4 minutos para os restantes.

## 2.6 Estudos de libertação do composto ativo

O desempenho na libertação do composto ativo foi a propriedade mais importante a avaliar nos adesivos desenvolvidos. Foi também muito importante conhecer a quantidade de fármaco ainda presente na matriz no final do estudo e confirmar que não se degradou por exposição a radiação UV, uma vez que o IBU é sensível na gama de comprimentos de onda utilizados para reticulação dos materiais.

Os estudos de libertação do ativo foram realizados *in vitro*, por incubação e numa célula de difusão de Franz (12ml Jacketed Franz Cell, da Soham Scientific), recorrendo à solução salina PBS como meio coletor, uma vez que é o que melhor imita a composição do plasma sanguíneo.

No Anexo G apresenta-se o procedimento para a preparação desta solução tampão. Para quantificar o ativo libertado para o meio recorreu-se ao espectrofotómetro UV-Vis *Jasco V-550*. A análise da concentração de IBU no meio coletor por espectrofotometria exigiu: identificação do comprimento de onda para a quantificação de IBU em solução de PBS (221nm) e a construção de curva de calibração de IBU em PBS. O procedimento seguido e a curva de calibração obtida são apresentados no Anexo G.

### 2.6.1 Libertação por incubação

O estudo de libertação de fármaco por incubação consistiu em colocar uma amostra da matriz numa solução salina de PBS (0,01M, pH 7,4) e ir recolhendo amostras da solução em intervalos de tempo conhecidos. As matrizes, após secas, foram cortadas com uma área conhecida e cada amostra foi submetida a incubação em frasco fechado, com 20mL de solução de PBS. Estes frascos foram colocados numa incubadora (*Orbital incubator SI500*, da *Suart*), a 37°C, 100 rpm. As amostras do fluido coletor foram recolhidas aos 30 minutos e depois de hora a hora até às 8 horas, e uma última amostra às 24 horas de incubação. De cada vez que se retirou a amostra foi repostado o volume inicial com solução fresca de PBS. Um esquema do procedimento é apresentado no Anexo H. As amostras de fluido foram guardadas em *ependorfs* para posterior quantificação da concentração de IBU por medição de absorvância (absorvância-A).

No processo de libertação de fármaco numa solução de vários componentes, incorporado na matriz há que também considerar a possibilidade de libertação destes excipientes para a solução de PBS. Para quantificar essa libertação foram preparadas soluções com os mesmos excipientes mas sem fármaco, que foram incorporadas nos géis. Seguindo o mesmo procedimento de reticulação e secagem obtiveram-se seis novos materiais que se designaram por “brancos”. Estes materiais foram sujeitos ao processo de libertação nas condições descritas acima com recolha de amostras para medição da absorvância (absorvância-B). As absorvâncias-B foram deduzidas às absorvâncias-A das soluções dos materiais com fármaco. Assim pretendeu-se assegurar apenas a quantificação de IBU.

A partir da massa inicial de membrana, e conhecida o seu carregamento em fármaco, foi calculada a taxa cumulativa de libertação de fármaco, pela equação 2.4. Para cada material realizou-se o estudo em quadruplicado.

$$\text{Taxa cumulativa de libertação (\%)} = \frac{m_{IBU \text{ libertado},t}}{m_{IBU,0}} \times 100 \quad (2.4)$$

Sendo  $m_{IBU \text{ libertado},t}$  a massa total de ibuprofeno libertado no instante  $t$  e  $m_{IBU,0}$  a massa teórica de fármaco no adesivo libertado, calculada pela equação 2.5:

$$m_{IBU,0} = \text{massa}_{adesivo,i} * \text{Carregamento}_{teórico} \quad (2.5)$$

Onde  $m_{adesivo,i}$  corresponde à massa inicial seca do adesivo que se liberta e carregamento teórico à percentagem de fármaco no adesivo, de acordo com a Tabela L.1.

Esta é a forma mais simples de estudar a libertação de fármaco *in vitro*, contudo não é a que melhor mimetiza a libertação transdérmica, uma vez que as duas faces da matriz estão em contacto com o fluido recetor, o que corresponde a uma área de contacto dupla da quando aplicada na pele.

### 2.6.2 Libertação em célula de difusão de Franz

Para melhor reproduzir a libertação de fármaco através da pele, recorreu-se a uma célula de difusão de Franz (C.Franz). Como o nome indica, a C.Franz foi desenvolvida por Franz em meados da década de 70 e desde aí tem sido muito utilizada para desenvolvimento e caracterização de adesivos transdérmicos e formulações semi-sólidas [95]. A C.Franz usada consiste numa célula de vidro, com um reservatório de 12mL onde foi colocado um fluido recetor. Este reservatório é envolto por uma camisa onde circula água à temperatura desejada (Figura H.2) (37°C). Para garantir homogeneidade da temperatura e mimetizar a circulação sistémica a célula foi colocada sobre uma placa de agitação magnética a 100 rpm. As amostras de fluido recetor foram removidas através de um tubo capilar lateral também usado para repor o volume de PBS a partir do exterior [76, 95, 98].

A amostra de adesivo com fármaco de dimensões conhecidas (3x3cm) foi colocada no topo da C.Franz em contacto com o fluido recetor, sendo a C.Franz fechada com uma campânula. Pelo capilar, com uma agulha comprida, foram retiradas amostras de fluido coletor nos mesmos intervalos de tempo do estudo por incubação. O volume de PBS foi repostado em cada amostragem. Realizou-se o estudo em triplicado para cada material, O perfil de libertação de fármaco em função do tempo foi calculado seguindo o procedimento descrito em 2.6.1, que também inclui a avaliação de “brancos”.

Ainda assim, esta não é a forma perfeita de reproduzir a libertação transdérmica, uma vez que neste caso o fluido está diretamente em contato com a matriz, sem existência de qualquer barreira. Futuramente, para otimizar os resultados obtidos, pensa-se em adquirir/desenvolver uma camada lipídica, que mimetize o EC, a ser colocada entre o fluido recetor e a formulação transdérmica durante a libertação. A pele de orelha de porco tem sido recomendada para esse efeito [95].

### 2.6.3 Quantificação do ativo remanescente na matriz

No final do estudo de incubação é necessário quantificar o ativo ainda presente na matriz final. As matrizes finais foram secas numa estufa a 37°C e de seguida colocadas a incubar sob agitação em frasco com 20mL de etanol, um bom solubilizador do IBU, devidamente protegidos com *parafilm*. Em intervalos de tempo conhecidos foram retiradas amostras da solução para



quantificação do IBU libertado por medição de absorvância (a 223 nm). O volume inicial de solvente foi repostado por adição de etanol fresco. As absorvâncias foram traduzidas para concentrações através da curva de calibração de IBU em etanol (Anexo G- Figura G.2). Este processo de incubação decorreu por tempo suficiente até se atingirem valores de absorvância da amostra recolhida muito baixos. Quando isto se verificou usou-se um Turrax (*IKA(R)-Turras T25 Basic Disperser*) para triturar as matrizes em etanol, de modo a aumentar a área de contacto e promover a libertação do restante ativo ainda aprisionado. O ativo foi de novo quantificado por espectrofotometria.

## 2.7 Estudo de avaliação da degradação do fármaco por UV

Sendo o IBU sensível ao UV na gama em que se trabalhou (280-100nm) (uma vez que o fotoiniciador absorve no comprimento de onda de 276nm), e por isso havendo a possibilidade de se degradar, foi testada, de forma qualitativa, a degradação do fármaco quando sujeito a tempos de irradiação UV de 2 e 4 minutos. Segundo estudos realizados por Szabó [99], o tempo de meia vida do IBU quando exposto a UV são 600 segundos, no comprimento de onda de 259nm. No trabalho aqui apresentado este foi sujeito irradiação UV por 180 e 240 segundos.

Foram preparadas, em duplicado, soluções de fármaco em éter dietílico e acetona (solventes usados no processo), com a mesma concentração de IBU que nos géis finais. Uma das soluções foi sujeita a irradiação UV pelo mesmo tempo que o gel, e a outra não. As duas soluções foram objeto de um varrimento do espectro no espectrofotómetro. Verificou-se que as curvas obtidas das soluções sujeita ou não a irradiação são praticamente sobreponíveis para os dois tempos de irradiação e para todas as soluções preparadas. Assim conclui-se, de forma preliminar, que o tempo de irradiação aplicado não foi suficiente para degradar, de forma significativa, o fármaco.

Uma vez que os solventes usados na construção dos adesivos, acetona e éter dietílico são bastante voláteis, isto impediu a construção de curvas de calibração de concentração de IBU nos mesmos através do espectrofotómetro, devido à variabilidade nas concentrações das soluções padrão preparadas e conseqüentemente, a quantificação do ibuprofeno degradado por UV. A forma mais eficaz de quantificar a degradação de IBU por UV seria através da técnica HPLC. Será algo a otimizar futuramente.

## 2.8 Avaliação da atividade antibacteriana dos adesivos

Pretende-se avaliar a interação dos materiais obtidos com as bactérias. Para a aplicação pretendida esta avaliação não é crucial, contudo, dado o possível interesse em explorar outras aplicações, nomeadamente o tratamento de incisões, úlceras, etc, foi feito um estudo preliminar. Deste modo, foi estudado o potencial antibacteriano dos materiais produzidos. Este estudo foi feito em duplicado, para todos os materiais base e apenas alguns materiais com fármaco, devido a limitações.

Na avaliação da atividade antibacteriana foram usadas cinco estirpes de microrganismos distintas: 1) *Staphylococcus Aureus*, gram positivo, responsável por infecções associadas ao uso de biomateriais e encontrada na pele de pessoas saudáveis; 2) *Staphylococcus epidermis*, gram positivo, a bactéria mais comum na pele; 3) *Eschericia coli*, gram negativo, normalmente presente no trato gastrointestinal, sendo a maioria inofensiva; 4) *Pseudomonas aeruginosa*, gram positiva, encontrada principalmente na água e nos solos, nos seres humanos pode causar infecções em indivíduos imunocomprometidos; 5) *Candida albicans*, levedura, espécie comum na flora gastrointestinal, qualquer desvio no funcionamento normal do organismo pode levar a proliferação deste fungo e desenvolvimento da doença candidíase [100-103]. Para cada material foram cortados cinco discos de área conhecida (um para cada estirpe), sendo colocados em caixas de Petri em contacto com as culturas microbianas durante 24 horas a 37°C, num meio de cultura de agár. Posteriormente foram analisados os halos inibitórios criados por cada material de modo a perceber o seu potencial antibacteriano.

Por questões de tempo, a compatibilidade com a pele humana não foi avaliada, mas é um estudo essencial e critério máximo para aprovação de um transdérmico no mercado (e portanto fundamental a avaliar no futuro).

No Anexo I é apresentado um esquema de todo o processo de produção dos adesivos transdérmicos.

# CAPÍTULO 3

---

## Resultados

## 3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

### 3.1 Preparação dos oligômeros e filmes e sua caracterização

O trabalho desenvolvido visou estudar diferentes géis poliméricos modificados de base ácido láctico (AL) recorrendo a quatro comonómeros diferentes para selecionar os melhores candidatos à incorporação de Ibuprofeno (IBU).

Os diferentes oligômeros de base AL incluíram um dos quatro comonómeros selecionados: pentaeritritol, 1,4-butanodiol, PEG300 e PEG400. As reações de policondensação decorreram a 150°C durante o tempo necessário para remoção total de água do sistema. Foram obtidos géis ligeiramente viscosos e transparentes, de baixo peso molecular (AL-Star, AL-BDO, AL-PEG300 e AL-PEG400, respetivamente), o primeiro com estrutura ramificada.

Na etapa seguinte, os oligômeros foram funcionalizados com Laromer<sup>®</sup> LR 9000 (LAR), usando o solvente adequado (éter dietílico ou acetona) para promover a mistura entre os compostos e facilitar a agitação. O solvente utilizado e a sua quantidade dependeram do comonómero funcional empregue na produção do oligómero. Obtiveram-se polímeros modificados com ligações de carbono duplas nos seus terminais. A todos foi adicionada uma quantidade fixa de Irgacure<sup>®</sup> 2959 (1% do número de moles de ligações duplas), permitindo uma reticulação rápida dos materiais na presença de luz UV. No final foram obtidos géis viscosos e homogéneos.

Após exposição a UV produziram-se diferentes filmes, AL-Star(1:1) (2 min), AL-Star(1:2) (2 min), AL-BDO(1:1) (2 min), AL-PEG300(1:1) (4 min), AL-PEG 300(1:1,5) (4 min), AL-PEG400(1:1) (4min). A designação AL advém do ácido láctico, Star, BDO, PEG300 e PEG400 são os comonómeros usados e 1:1, 1:1,5 e 1:2 são as razões estequiométricas oligómero:LAR testadas. Para os materiais com pentaeritritol e BDO foi usado éter dietílico como solvente, para o AL-PEG300 testaram-se éter dietílico e acetona e para o PEG400 a acetona.

O material AL-Star(1:1) revelou-se frágil, assim como o material AL-PEG300(1:1)-éter e AL-PEG300(1:1). Como as razões estequiométricas 1:1 não resultaram para estes materiais, foram testadas outras, obtendo-se o material AL-Star(1:2), com maior densidade de grupos isocianato, revelando maior resistência que o anterior, permanecendo flexível e transparente. A reação de funcionalização do material AL-PEG300(1:1,5)-éter decorreu com problemas de agitação e apresentou duas fases, obtendo-se um material não homogéneo. Constatou-se que o PEG é insolúvel em éter dietílico, pelo que se optou pela acetona como solvente. O material com PEG400, embora se tenha revelado resistente e transparente após reticulação, quando se incorporou a solução de fármaco e se testou a fotoreticulação o material obtido era bastante frágil. Estes materiais foram descartados prosseguindo-se para a caracterização dos materiais

base AL-Star(1:2), AL-BDO(1:1), e AL-PEG300(1:1,5). Ainda assim são apresentadas na Tabela 3.1 as características básicas de todos os materiais sintetizados, como termo de comparação, destacando os materiais selecionados.

**Tabela 3.1** Resumo das condições de operação de todas as etapas de produção e das características dos produtos finais.

Material e Solvente	Oligomerização			Funcionalização		Fotopolimerização		
	Comonomero	Tempo (h)	Temp. (°C)	Tempo (h)	Temp. (°C)	% Irg 2959	Tempo de irradiação (min)	Caraterísticas
AL-PEG300(1:1)-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	PEG300	18	150	4	60	1	25	Frágil e quebradiço.
AL-PEG300(1:1,5)-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	PEG300	18	150	4	60	1	2,5	Resistente mas não homogêneo.
AL-PEG300(1:1,5)-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	PEG300	18	150	4	60	1	4	Resistente, transparente e flexível.
AL-PEG400(1:1)-C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	PEG400	18	150	4	60	1	4	Resistente, muito transparente e flexível. Dificuldades incorporação fármaco.
AL-BDO(1:1)-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	BDO	9	150	4	60	1	2	Resistente e flexível. Transparente.
AL-Star(1:1)-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	Pentaeritritol	9	150	4	75	1	2	Frágil e quebradiço.
AL-Star(1:2)-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O	Pentaeritritol	9	150	4	75	1	2	Muito resistente e flexível.

Como referido, os adesivos em destaque apresentam boas propriedades físicas como elevada resistência e flexibilidade. Além disso são transparentes e homogêneos. Cada reação foi controlada por ATR-FTIR para otimizar o tempo e garantir a presença dos grupos funcionais desejados nos adesivos finais. No caso dos oligómeros de AL-PEG300 e AL-PEG400, uma vez que se trata de estratégias novas, a temperatura da reação também foi otimizada para acelerar a remoção de água e assim diminuir o tempo de reação. Os tempos de reticulação obtidos foram otimizados até se obter uma matriz sólida a partir dos géis funcionalizados.

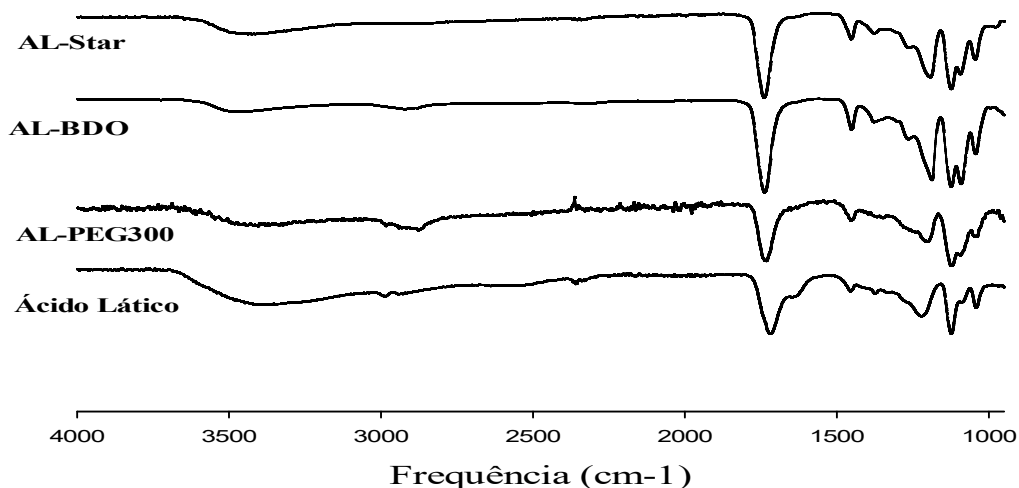
Dos materiais selecionados, o de oligómero ramificado revelou-se mais duro e menos maleável, seguindo-se o adesivo com BDO e por último os adesivos com PEG300 que, embora mais frágeis também são os mais flexíveis. Todos apresentaram propriedades distintas no que diz respeito a dureza e flexibilidade, mas promissoras para o desenvolvimento de adesivos transdérmicos.

### 3.1.1 Acompanhamento das reações e identificação dos grupos funcionais dos oligómeros e géis por ATR-FTIR

De modo a perceber qual o tempo ótimo para as reações de oligomerização e funcionalização, recorreu-se à técnica ATR-FTIR para identificar os grupos funcionais presentes nos materiais

analisados, concluindo assim sobre o sucesso das reações. No Anexo J apresentam-se os grupos funcionais detetados por ATR-FTIR e respetivos números de onda para facilitar a identificação.

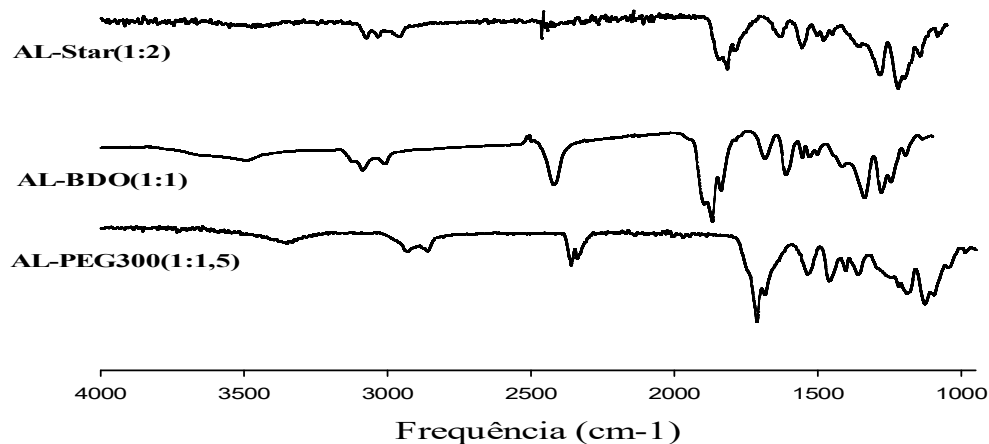
Na Figura 3.1 são apresentados os espectros resultantes da análise ATR-FTIR para os oligómeros AL-Star, AL-BDO e AL-PEG300, assim como o do reagente base, AL. Os espectros dos respetivos monómeros encontram-se no Anexo J.



**Figura 3.1** Espectros dos oligómeros base e ácido lático obtidos por análise ATR-FTIR.

Na curva do ácido lático encontra-se um pico acentuado nos  $3381\text{ cm}^{-1}$ , correspondente aos grupos OH. Já nos oligómeros, na zona dos  $3478\text{ cm}^{-1}$ , essa banda continua presente mas menos pronunciada devido à reação de policondensação que liberta água. Além disso, em todos os espectros na Figura 3.1 é visível uma banda nos  $1735\text{ cm}^{-1}$ , característica das ligações éster, C=O.

A análise por ATR-FTIR foi também aplicada aos materiais resultantes da funcionalização com LAR para conhecer o tempo de reação ótimo e identificar o aparecimento de ligações duplas C=C nos géis finais. Os espectros do agente funcional LAR e do iniciador Irgacure<sup>®</sup> 2959 são apresentados no anexo J.



**Figura 3.2** Espectros ATR-FTIR dos géis funcionalizados.

Nos espectros na Figura 3.2 observa-se o desaparecimento da banda característica dos grupos OH dos oligómeros na zona dos  $3478\text{cm}^{-1}$ , o que se esperava, uma vez que estes grupos reagiram com os grupos isocianato do LAR. Nos materiais AL-PEG300(1:1,5) e AL-BDO(1:1) ainda é visível um pico na zona  $2300\text{-}2400\text{cm}^{-1}$ , característica dos grupos isocianato, o que poderia indicar que o tempo de reação deveria ser prolongado para o seu consumo total. Contudo de acordo com as estruturas das moléculas (oligómeros e LAR, Figura 2.4) e dadas as estequiometrias, haverá sempre grupos isocianato livres nestes materiais. O desaparecimento dessa banda no material AL-Star(1:2) indica um maior consumo de isocianatos e por isso um maior rendimento da reação, o que já seria de esperar pela estrutura ramificada do AL-Star. A banda na zona dos  $1683\text{cm}^{-1}$ , presente em todos os espectros, corresponde às ligações de carbono duplas,  $\text{C}=\text{C}$ . Além disso é visível o aparecimento de uma banda na zona  $1530\text{-}1600\text{cm}^{-1}$ , característica das ligações uretana (NH) formadas, o que indica ter havido reação entre os oligómeros e os grupos isocianato do monómero funcional. Conclui-se também, pelo espectro do Irgacure<sup>®</sup> 2959, no Anexo J, que a sua adição não altera a composição dos materiais.

### 3.1.2 Determinação do teor de gel (*Gel content*)

O teor de gel (*gel content*) de cada adesivo foi determinado para concluir sobre o seu estado de reticulação. Um teor de gel de 100% corresponde a uma conversão total de ligações de carbono duplas [28]. O tempo de irradiação é um fator determinante na reticulação do material que mais reticulado tende a absorver menos água e, conseqüentemente, degradar de forma mais lenta.

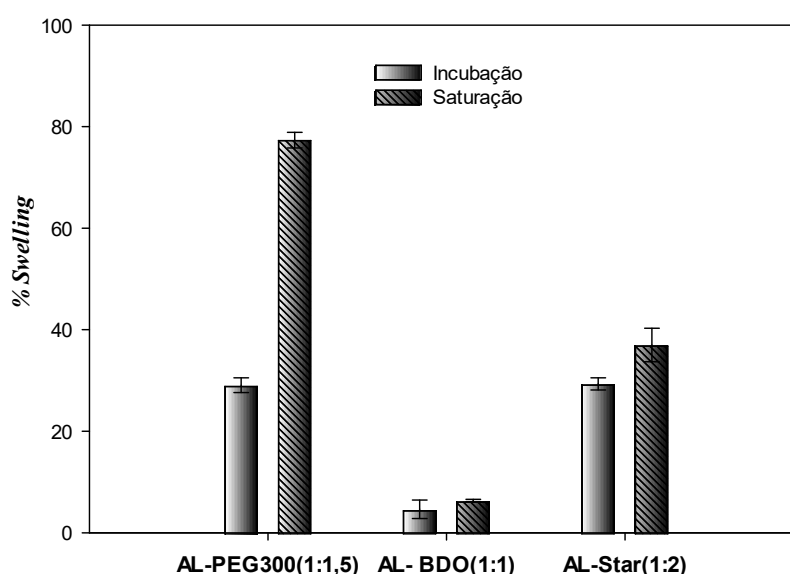
Foram obtidos valores de *gel content* de 77,4% para os adesivos AL-PEG300(1:1,5), 84,8% para os adesivos AL-BDO(1:1) e para os adesivos AL-Star(1:2) o valor obtido foi 94,8%. O AL-Star(1:2) é o material com maior densidade de ligações duplas e por isso aquele que apresenta maior valor de *gel content* [28]. O adesivo AL-PEG300(1:1,5) sofreu maior tempo de exposição a UV, contudo apresenta um rendimento de reticulação inferior aos restantes, isto provavelmente porque se trata de um material com uma cadeia mais comprida e menos compacta [35]. Torna-se difícil fazer comparações entre os adesivos obtidos já que possuem tempos de irradiação e moléculas distintas, ainda assim será de novo comentado a seguir.

### 3.1.3 Capacidade de absorção de água e degradação hidrolítica

Adesivos transdérmicos para administração de ativo pressupõem a libertação de uma substância através da pele, de forma controlada. Este controlo pode ser atingido pela difusão do ativo, manipulável consoante a porosidade da matriz polimérica, ou pela degradação da matriz, que para os materiais em causa é influenciada pela sua capacidade de absorção de água, já que estes são susceptíveis à hidrólise. Assim, um adesivo com elevada % *swelling*, ou seja, mais hidrofílico, libertará mais facilmente o ativo incorporado. Ainda assim, é necessário que haja um balanço entre a % de *swelling* e a degradação do material. No caso dos transdérmicos pretende-se que o material mantenha a sua integridade até se atingir a terapêutica desejada. A

capacidade de hidratação é também fundamental ter em conta para a estabilidade da solução de fármaco e para se estabelecer um equilíbrio entre os constituintes da pele e a passagem do fármaco pelas várias barreiras até ao destino

Para todos os materiais base foi determinada a capacidade de absorção de água, pela Equação 2.1, com testes por incubação e em atmosfera saturada. Ambos os testes foram realizados em triplicado, à temperatura ambiente, até se atingirem pesos constantes, o primeiro realizou-se em água destilada e o segundo em atmosfera saturada. Na Figura 3.3 apresentam-se os resultados de *swelling* máximo obtidos para todos os materiais reticulados selecionados para posterior incorporação de ativo, Tabela 3.1.



**Figura 3.3** Valores de *swelling* (%) para adesivos reticulados- teste por incubação em água destilada e por saturação. Temperatura ambiente.

Num período de tempo distinto, cada material atingiu a capacidade máxima de absorção de água. Nos testes por incubação, o material com PEG300, pesado de 10 em 10 min, atingiu o *swelling* máximo aos 40min. Já o material AL-BDO(1:1) atingiu o pico máximo aos 180min e o material Star aos 360min. No caso dos testes por saturação os tempos foram 7, 5 e 9 semanas, respetivamente. O teste de incubação também foi efetuado com reposição total de líquido, contudo esta variável não afetou significativamente os resultados, pelo que não são aqui apresentados.

Comparando materiais, no teste de incubação, os materiais AL-PEG300(1:1,5) e AL-Star(1:2) revelaram-se mais hidrofílicos que o material AL-BDO(1:1), com valores de *swelling* relativamente próximos (~28% - Figura 3.3). Na avaliação da capacidade de absorção de água por saturação, o material com o comonómero PEG registou uma capacidade de absorção de água muito mais elevada que os restantes, seguindo-se o AL-Star(1:2) e por último o AL-



BDO(1:1). A molécula de PEG é conhecida pela sua hidrofilicidade [13, 14, 23], quando combinada com o AL, de carácter hidrofóbico, produz um copolímero de natureza mais hidrofílica. Em comparação com os outros materiais, o material AL-PEG300 possui uma cadeia mais comprida, com maior espaço entre ligações para acomodação de maiores quantidades de água. O pentaeritritol é uma molécula em estrela, que em conjunto com o AL produz um copolímero ramificado, e à partida mais hidrofílico que o material linear com BDO [17].

O teste de *swelling* por saturação apresentou resultados superiores à incubação, especialmente no caso do AL-PEG300(1:1,5), onde a diferença é notória. Esta diferença deve ser confirmada com novos testes. Estando a capacidade de inchaço diretamente relacionada com a degradação, a interpretação dos resultados obtidos não é linear. Uma vez que os materiais são susceptíveis à hidrólise, estes estão constantemente a aumentar de massa, devido à absorção de água, e a perdê-la, devido à hidrólise. Assim, principalmente no caso do teste por incubação, os valores de *swelling* podem estar subvalorizados devido perda de massa que os materiais vão sofrendo por hidrólise. A funcionalização do polímero com LAR é um fator que pode influenciar o *swelling* dos materiais devido à interação do monómero funcional com os grupos OH [18], contudo este não foi avaliado neste trabalho, uma vez que para cada material foi apenas testada uma razão oligómero:LAR.

No caso de aplicação cutânea, um adesivo pode ser facilmente removido da pele ou então degradar-se com o tempo, sendo absorvido pela mesma. Os estudos de degradação dos materiais foram realizados durante 6 semanas, por incubação em solução de PBS, a 37 °C. Avaliou-se a variação de massa das membranas durante intervalos de tempo estipulados, sendo a perda de massa (%) calculada pela Equação 2.3. Na Figura 3.4 são apresentados as perdas atingidas pelos três materiais selecionados.

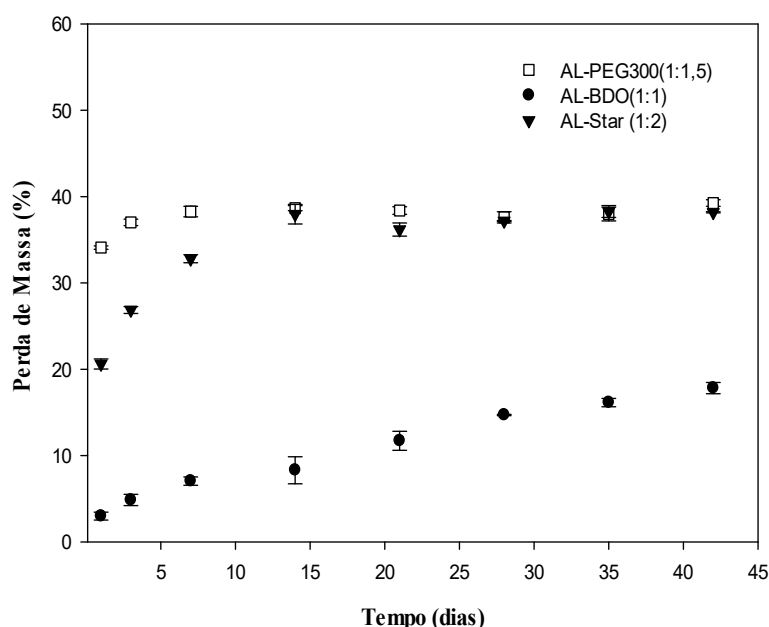


Figura 3.4 Perda de massa (%) dos adesivos em solução de PBS, durante 6 semanas, a 37°C.

Os resultados indicam que para todos os materiais, a perda de massa foi mais acentuada nos primeiros sete dias, tendo tendência a estabilizar. Esta redução inicial brusca de massa pode dever-se à libertação para o meio de componentes de baixo peso molecular como monómero ou iniciador aprisionados na matriz [17, 18]. A variação de massa inicial é notável em todos os materiais, contudo o AL-BDO(1:1) tem uma degradação bastante mais lenta que os outros dois filmes que atingem o mesmo estado estacionário.

A hidrofiliidade do polímero é um dos principais fatores que condicionam a sua degradação. Os materiais AL-PEG300(1:1,5) e AL-Star(1:2) apresentaram valores de *swelling* próximos, quando incubados, e superiores a AL-BDO(1:1), o mesmo acontece com a perda de massa. Estes resultados confirmam que a capacidade de inchaço, e portanto a hidrofiliidade, são diretamente proporcionais à degradação dos materiais.

Na primeira semana de ensaio, a diferença entre a perda de massa de AL-PEG300(1:1,5) e AL-Star(1:2) é visível. O primeiro apresenta maior flexibilidade, resultante de um maior comprimento de cadeia, sendo mais susceptível à hidrólise, o que justifica a degradação inicial mais rápida. A degradação de um material é também influenciada pelo seu teor de gel. Um material mais reticulado (maior % de gel *content*) possui uma matriz mais densa e menos propícia à hidrólise, consequentemente, a degradação será mais lenta.

O estudo de degradação foi realizado também para materiais onde foram incorporadas soluções de excipientes usados nas soluções de fármaco desenvolvidas, de forma a perceber a influência destes componentes na degradação das matrizes. Os resultados obtidos são praticamente sobreponíveis aos dos materiais base, não sendo apresentados na Figura 3.4. Pode concluir-se que a adição de excipientes não alterou a degradação do material. Neste trabalho pressupõe-se a administração de fármaco por 24 horas, e espera-se que a degradação dos materiais não condicione o tratamento. Nas primeiras 24 horas o material AL-BDO(1:1) apresentou perda de massa pouco significativa (3%), o material AL-PEG3000(1:1,5) perdeu cerca de 34% da sua massa inicial e o material AL-Star(1:2) 20,6% (Figura 3.4). Como no ensaio o material está incubado na solução salina, a sua degradação será muito mais rápida do que no caso de estar colocado sobre a pele. Assim, a perda de massa registada não compromete a aplicação pretendida.

Na Tabela 3.2 resumem-se os resultados de *gel content*, capacidade de absorção de água e degradação nas primeiras 24 horas, dos materiais base selecionados para a construção de transdérmicos.

**Tabela 3.2** Percentagens de *gel content*, *swelling* e degradação dos adesivos selecionados.

Adesivo	% <i>Gel content</i>	% <i>Swelling</i>		% Degradação (24h)
		Incubação	Saturação	
AL-PEG300(1:1,5)	77,2	29,1	77,3	34,1
AL-BDO(1:1)	84,8	4,6	6,4	3,0
AL-Star(1:2)	94,8	29,3	37,0	20,6

Comparando valores de *swelling*, *gel content* e degradação, sabe-se que materiais mais reticulados possuem uma estrutura mais compacta e portanto maior dificuldade em absorver água e degradação mais lenta. Assim, maior rendimento de reticulação pressupõe menor % *swelling* e menor % de degradação em 24 horas. O adesivo AL-PEG300(1:1,5) é o que apresenta menor % de *gel content* e maior capacidade de absorção de água sendo, por isso, o mais susceptível à degradação. A comparação feita acima nem sempre é linear, já que as matrizes de AL-Star(1:2), apesar de apresentarem maior densidade de ligações duplas, não são as mais hidrofóbicas nem as menos degradáveis, uma vez que a sua estrutura ramificada lhe confere maior capacidade de inchaço e de degradação. Por último, as matrizes AL-BDO(1:1) possuem um valor de *gel content* elevado, apresentado % de *swelling* bastante baixa assim como degradação lenta. Verifica-se que o comonomero base influencia bastante a degradação dos materiais, uma vez é deste que depende a hidroflicidade dos mesmos.

### 3.1.4 Avaliação das propriedades térmicas – Oligómeros e adesivos base

As propriedades térmicas dos oligómeros e dos adesivos base foram avaliadas, sendo apresentadas nesta secção. A análise termogravimétrica foi realizada aos oligómeros e aos adesivos no estado líquido e reticulado, enquanto a análise por calorimetria diferencial de varrimento se realizou apenas para os adesivos reticulados.

#### 3.1.4.1 Análise Termogravimétrica (TGA)

Através de análise termogravimétrica descrita no Capítulo 2, foi possível avaliar a estabilidade térmica dos materiais quando sujeitos a aumento de temperatura até 600°C, determinando a temperatura de degradação ( $T_d$ ) pelos perfis de degradação. A possível influência dos comonomeros nos pré-polímeros finais, foi avaliada por comparação com PLA comercial. Ao analisar os materiais ainda líquidos e após reticulação pretende-se confirmar a constância desta propriedade e a influência da reticulação na estabilidade térmica dos adesivos, analisando a sua  $T_d$  quando líquidos e após reticulados. Na Figura 3.5 apresentam-se as curvas de degradação térmica dos oligómeros produzidos.

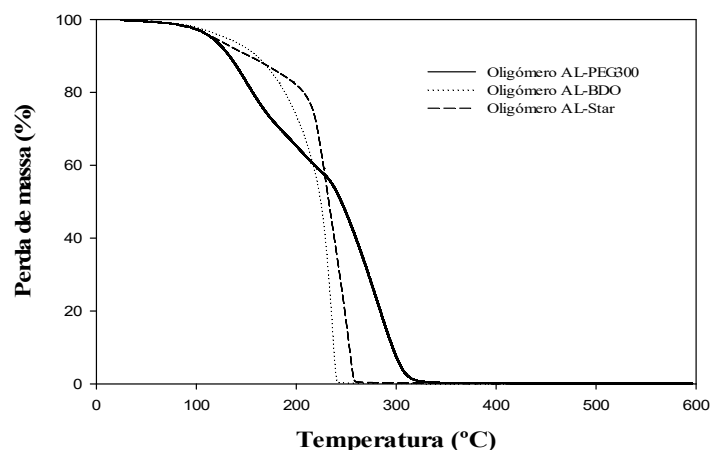


Figura 3.5 Curvas de degradação térmica dos oligómeros, obtidas por análise termogravimétrica.

Os perfis de degradação na Figura 3.5 mostram uma ligeira perda de massa inicial, perto dos 100°C. Supõe-se que esta perda de massa corresponda à evaporação de água ainda contida nos géis, indicando que a reação deveria ser prolongada por mais tempo.

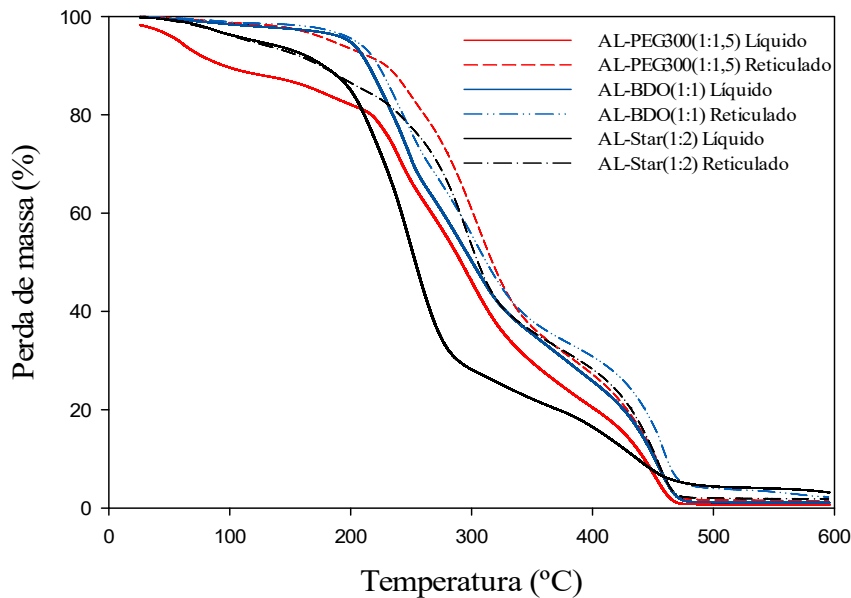
O AL-PEG, apresenta uma segunda perda de massa aos 170°C, correspondente à perda de PEG300 (por sobreposição com a curva deste composto). Observou-se ainda uma terceira descida acentuada, nos 236°C, correspondente à degradação do ácido lático, sendo esta considerada a  $T_d$  do material. A partir dos 330°C verificou-se a degradação completa do polímero. A curva respeitante ao AL-BDO apresenta uma segunda descida acentuada aos 193°C, sendo esta a  $T_d$  do material. Aos 240°C o polímero foi completamente degradado. Por último, no AL-Star observa-se uma descida pronunciada do perfil aos 220°C, assumindo-se esta como a  $T_d$  do polímero. A partir dos 260°C o polímero encontra-se todo degradado.

Comparando estes resultados com a temperatura de degradação do homopolímero de AL comercial (200°C) [26, 88], a  $T_d$  dos oligómeros AL-PEG300 e AL-Star é superior. É comum na literatura a adição de plastificantes para aumentar a estabilidade térmica dos polímeros de ácido lático [104-106], o que se confirma pela perda de massa do material AL-PEG300, indicando maior estabilidade térmica que os restantes e, como já referido, que o PLA comercial. Apenas o oligómero de BDO se apresenta menos estável que o comercial, contudo os valores obtidos não impediram a reação de funcionalização a 60 ou 75°C.

Na Figura 3.6 são apresentados os perfis de perda de massa de todos os géis produzidos, líquidos e reticulados. A análise dos traços permite concluir que todos os materiais funcionalizados, líquidos e sólidos, apresentam temperaturas de degradação superiores aos oligómeros que lhes deram origem. Todos os materiais apresentam uma perda de massa, que pode ir até 20% (gel de AL-PEG300(1:1,5)), até aos 200°C, sendo a perda de massa mais acentuada a partir dessa temperatura. O decréscimo de massa inicial pode estar relacionada com o solvente utilizado na funcionalização (éter dietílico ou acetona) ainda presente. No gel AL-PEG300(1:1,5) esta descida é mais acentuada. Como na produção deste gel se usou acetona (ponto de ebulição mais elevado que o éter dietílico) pode-se justificar este resultado. Nos materiais reticulados, AL-PEG300(1:1,5) e AL-BDO(1:1), essa perda de massa não é tão acentuada, o que pode indicar que estavam praticamente secos.

O primeiro ponto de inflexão, que indica a  $T_d$ , evidencia a maior estabilidade térmica dos materiais funcionalizados comparativamente aos oligómeros base, na Figura 3.5. O gel com PEG300 continua a apresentar maior estabilidade que os restantes, já o gel de oligómero estrela revela perda de massa acentuada a temperaturas inferiores aos restantes, o que poderá significar perda de monómero funcional não reagido. Contudo, este é o que apresenta maior quantidade de produto por degradar no final da análise e quando reticulado revela maior estabilidade térmica. Este material, AL-Star(1:2), é o que apresenta maior teor de gel, o que pode conduzir a uma degradação mais lenta.

Todos os materiais reticulados evidenciaram  $T_d$  superior ao gel correspondente, sugerindo que a fotoreticulação origina materiais termicamente mais estáveis. As temperaturas de degradação de todos os materiais apresentados resumem-se na Tabela 3.3, na próxima secção.



**Figura 3.6** Perfis de degradação dos adesivos no estado líquido (linha contínua) e reticulados (tracejado).

### 3.1.4.2 Análise por calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Recorrendo à técnica DSC foi possível determinar a temperatura de transição vítrea dos adesivos base reticulados. Sabe-se pela literatura que materiais com valores de  $T_g$  menores têm tendência a sofrer degradação hidrolítica mais rápida pois as suas redes não são tão compactas e resistentes. Para cada material a análise foi feita desde  $-80^\circ\text{C}$  até à  $T_d$  do mesmo, determinada por TGA. As curvas, que permitiram o cálculo da  $T_g$  são apresentadas no Anexo K. A Tabela 3.3 resume as  $T_d$  e  $T_g$  dos pré-polímeros, géis e adesivos obtidos por TGA e DSC.

**Tabela 3.3** Temperaturas de degradação ( $T_d$ ) e temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) para oligómeros, géis funcionalizados e adesivos base reticulados.

Oligómeros	$T_d$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	Géis Funcionalizados	$T_d$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )	Adesivos Reticulados	$T_d$ ( $^\circ\text{C}$ )	$T_g$ ( $^\circ\text{C}$ )
AL-PEG300	236	-	AL-PEG300(1:1,5)	240	-	AL-PEG300(1:1,5)	250	11,9
AL-BDO	193	-	AL-BDO(1:1)	220	-	AL-BDO(1:1)	235	-18,8
AL-Star	220	-	AL-Star(1:2)	225	-	AL-Star(1:2)	270	-40,5

Segundo Hamad, *et al.* [88], o valor de  $T_g$  do PLA comercial (elevado peso molecular) é  $58^\circ\text{C}$ . Sabendo também que o peso molecular dos polímeros influencia de forma positiva a sua cristalinidade [17, 14], polímeros de menor peso molecular apresentam menores valores de  $T_g$ . Os polímeros obtidos são de baixo peso molecular, exibindo  $T_g$  inferiores à  $T_g$  do PLA. Embora não tenha sido avaliado o peso molecular dos polímeros, a estrutura das moléculas (Figura 2.4)

permite prever menor peso molecular para o AL-BDO(1:1), seguindo-se o AL-PEG300(1:1,5) e por último o AL-Star(1:2). Comparando os polímeros lineares, o AL-BDO(1:1), de menor peso molecular tem menor  $T_g$  que o AL-PEG300(1:1,5). É reportado na literatura que os polímeros de AL ramificados exibem menor cristalinidade do que os lineares [90], o que justificará a menor  $T_g$  para o AL-Star. Além disso sabe-se que o comonomero PEG confere cristalinidade ao polímero.

### 3.1.5 Medição de ângulos de contacto – Determinação de energias de superfície

Através da determinação das energias de superfície dos materiais é possível perceber o grau de adesão que estes podem ter à pele. O valor de energia de superfície está diretamente relacionado com a hidrofiliabilidade dos materiais e com a sua biocompatibilidade [94]. Uma vez que se pretende uma aplicação transdérmica, esta análise é bastante pertinente, concluindo sobre a capacidade adesiva das matrizes e a necessidade ou não de desenvolver uma camada adesiva. A energia de superfície foi determinada para todas as matrizes reticuladas sem fármaco.

Um material só irá aderir a uma superfície onde é colocado se a sua energia de superfície for inferior ou igual à dessa superfície, a pele, neste estudo. Na Tabela 3.4 apresentam-se os valores das energias de superfície, medidas para cada adesivo, assim como para a pele. Todos os adesivos sintetizados apresentaram valores de energia de superfície inferiores ao valor obtido para a pele. Deste modo os adesivos irão aderir eficazmente à pele, sendo facilmente removidos após a finalização do tratamento [47]. Quando preparadas lamelas para a avaliação de ângulos de contacto, os materiais mostraram-se de tal forma aderentes ao vidro que quando sujeitos a secagem criaram fissuras. Assim foram reticulados e secos primeiro e depois colados às lamelas com fita cola de dupla face. Esta elevada adesão confirma os valores de energia de superfície obtidos.

**Tabela 3.4** Energias de superfície e respetivas componentes polar e dispersiva para a pele e adesivos base.

	$\gamma_s$ (mN/m)	$\gamma_s^D$ (mN/m)	$\gamma_s^P$ (mN/m)
<b>Pele</b>	36-56 <sup>(a)</sup>	-	-
<b>AL-PEG300(1:1,5)</b>	26,33	20,00	6,33
<b>AL-BDO(1:1)</b>	37,69	34,92	2,77
<b>AL-Star(1:2)</b>	40,92	30,82	10,1

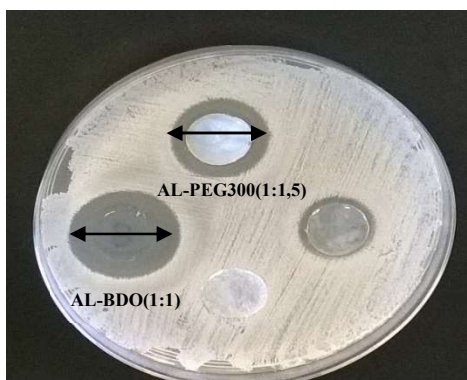
(a) Parâmetros avaliados por outros autores [47].

### 3.1.6 Avaliação da atividade antibacteriana

Uma vez que os materiais produzidos estarão em contacto com a pele, é importante conhecer as interações destes com a bactérias da pele. Pretende-se que os materiais possuam atividade antibacteriana para estripes como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, responsáveis por reações adversas. Além disso existem bactérias

como *Staphylococcus epidermidis*, características da flora da pele que não devem ser destruídas pelos materiais. Todas as bactérias referidas foram testadas [100-103].

Pretendeu-se avaliar, de forma qualitativa, a resposta das estirpes microbianas quando em contacto com os adesivos produzidos. Para tal estes foram colocados em meios esterilizados, em contacto com a cultura. Se estes materiais exibirem comportamento antibacteriano, as bactérias não irão crescer à sua volta, formando-se um halo inibitório maior ou menor consoante a sensibilidade da estirpe ao adesivo [107, 108]. Na Figura 3.7 apresentam-se os halos inibitórios para a estirpe *S.aureus*, para ilustrar o teste.



**Figura 3.7** Halos inibitórios das estirpe *S. aureus* quando em contacto com os adesivos AL-PEG300(1:1,5) e AL-BDO(1:1), em meio de cultura de agár, durante 24 horas.

O teste foi realizado em duplicado e a reprodutibilidade não se verificou. No primeiro teste, quando em contacto com os adesivos, as bactérias *S.aureus* e *S.epidermis* não apresentaram halos inibitórios. As estirpes *E.coli* e *Pseudomonas* apenas apresentaram halos inibitórios para o adesivo de PEG300. Debaixo de todos os discos não se verificou crescimento das bactérias, o que indica ter havido inibição, ou então as condições não se revelaram favoráveis para o crescimento microbiano (falta de oxigénio). O teste foi repetido apenas para os adesivos AL-PEG300(1:1,5) e AL-BDO(1:1). O crescimento de todas as estirpes testadas foi inibido pelos adesivos, sendo mais visível na *S. epidermis*, com halos de 19,8 e 23,5 mm, respetivamente. Estas discrepâncias podem ser derivadas da baixa difusão do componente inibidor para o meio de cultura, devido à má aderência dos adesivos ao meio ou à composição deste meio, que impossibilitou esse processo, ou da preparação do meio de cultura.

Os resultados obtidos não foram conclusivos. Apenas se pode afirmar que todos os adesivos produziram alguma resposta inibitória das estirpes, deduzindo que possuem propriedades antibacterianas. Pretendia-se que estes adesivos não inibissem o crescimento da bactéria, *S. epidermis*, verificando-se o contrário. Contudo, para se obterem resultados mais conclusivos, o teste terá de ser repetido.

## 3.2 Preparação de adesivos para aplicação transdérmica

No Capítulo 2 (seção 2.5) foram descritos os objetivos da solução de fármaco a incorporar nos adesivos e a metodologia seguida para escolher os excipientes da solução de fármaco. O estudo apresentado levou à seleção de duas soluções, cuja composição se recorda na Tabela 3.5. À exceção do miristato de isopropilo, um solubilizador, que está apenas presente na solução 2, todos os outros excipientes são comuns às duas soluções. As frações mássicas de IBU e água são superiores na solução 1.

**Tabela 3.5** Composição das soluções de ibuprofeno incorporadas nos géis.

Componentes	Solução 1		Solução 2	
	g	%m/m	g	%m/m
<b>Ibuprofeno</b>	1,18	22,64	1,18	16,55
<b>Transcutol</b>	2,47	47,39	1,73	24,26
<b>Miristato de isopropilo</b>	-	-	0,77	10,81
<b>PEG300</b>	0,56	10,79	0,57	7,99
<b>Água</b>	1	19,18	0,75	10,51
<b>NaOH</b>	-	-	2,13	29,88

Cada uma destas soluções foi adicionada a todos os géis funcionalizados já com o fotoiniciador, sendo de seguida reticulados, obtendo-se no total seis produtos: AL-PEG1; AL-BDO1; AL-Star1; AL-PEG2; AL-BDO2; AL-Star2. A designação considera o ácido lático, o comonomero usado na produção do oligómero e o número que corresponde à solução 1 ou solução 2. Pretendeu-se que os géis finais apresentassem concentrações de IBU cerca de 5% (m/m) ou mais, correspondente à concentração usual em transdérmicos e produtos de administração tópica (Tabela 1.4) [8, 65, 85, 86]. Sabendo que o pH da pele varia entre 4,6 e 5,8, pretendeu-se desenvolver materiais com pH dentro desta gama de valores. Embora tenha sido impossível avaliar o valor de pH dos materiais finais, fixou-se como objetivo soluções de fármaco com pH próximo de 6, uma vez que o gel polimérico possui carácter ácido devido ao AL presente. Durante a correção de pH com NaOH surgiram dificuldades em manter a homogeneidade da solução, tendo ocorrido precipitação do IBU. Em alguns casos não se atingiu o pH desejado, sendo este um parâmetro a melhorar no futuro.

Uma vez reticuladas, as matrizes foram secas a 37°C, para evitar a evaporação da água, não comprometendo o seu grau de hidratação, uma propriedade importante para a velocidade de libertação. Na Tabela 3.6 são apresentadas as composições finais dos adesivos com fármaco após secagem, tendo em conta uma massa média de 120mg de membrana.



**Tabela 3.6** Composições dos adesivos finais em %m/m e em mg, para uma membrana de 120mg.

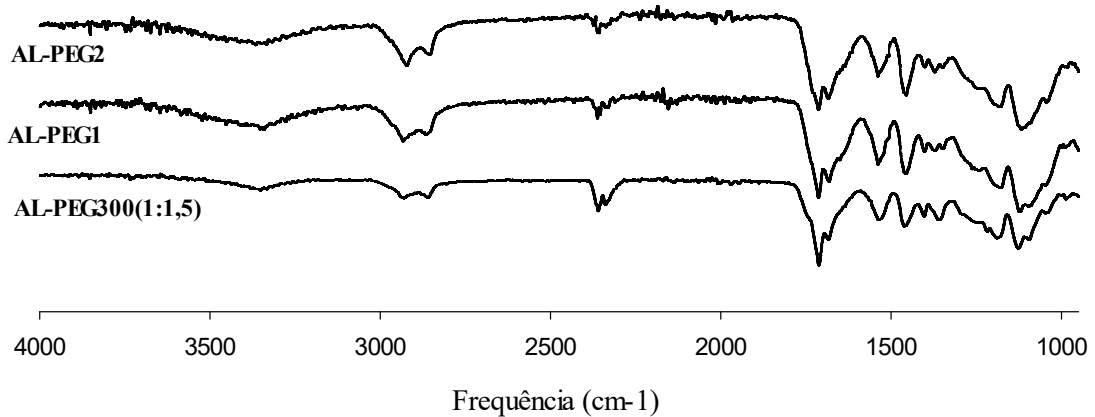
Componentes	AL-PEG1		AL-BDO1		AL-Star1		AL-PEG2		AL-BDO2		AL-Star2	
	% m/m	mg	% m/m	mg	% m/m	mg	% m/m	mg	% m/m	mg	% m/m	mg
Gel polimérico funcionalizado	72,7	87,3	77,4	92,8	76,9	92,2	62,4	74,9	60,2	72,2	68,2	81,9
Ibuprofeno	6,2	7,4	5,1	6,2	5,2	6,3	6,2	7,4	6,5	7,8	5,2	6,2
Transcutol	12,9	15,5	10,7	12,9	11,0	13,2	9,5	11,4	10,1	12,1	8,1	9,7
Miristato de Isopropilo	-	-	-	-	-	-	4,0	4,8	4,2	5,1	3,4	4,1
PEG300	3,0	3,5	2,4	2,9	2,5	3,0	2,9	3,5	3,1	3,7	2,4	2,9
Água purificada	5,2	6,3	4,4	5,2	4,4	5,3	3,9	4,7	4,1	5,0	3,3	4,0
NaOH	-	-	-	-	-	-	11,1	13,3	11,8	14,1	9,4	11,2
TOTAL	100	120	100	120	100	120	100	120	100	120	100	120
pH	4,24						5,45					

Todos os materiais se apresentaram resistentes, homogêneos e flexíveis após reticulação. A incorporação de soluções de fármaco nos adesivos apenas alterou o tempo de reticulação dos adesivos AL-Star1 e AL-Star2, que necessitaram de 4 minutos de irradiação UV para formarem matrizes reticuladas. Na Figura 3.8 apresentam-se alguns exemplos de adesivos obtidos.

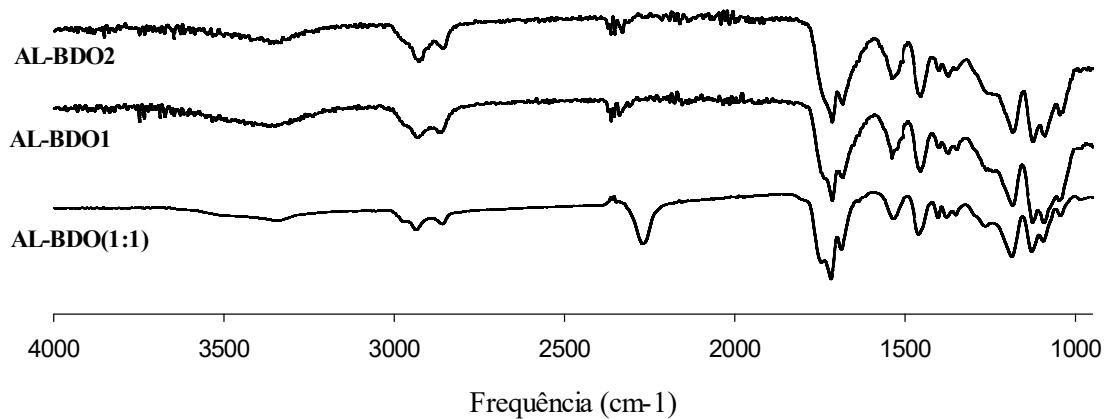
**Figura 3.8** Exemplos de adesivos transdérmicos produzidos.

### 3.2.1 Caracterização dos adesivos com fármaco por ATR-FTIR

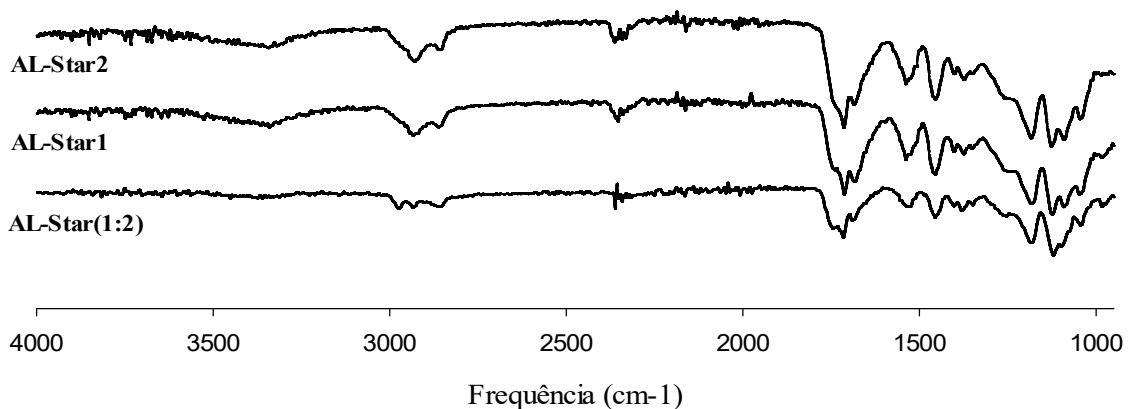
Foram analisados por ATR-FTIR todos os adesivos com fármaco para confirmar o efeito da reticulação nos grupos funcionais dos polímeros e para verificar se a solução de fármaco alterou o espectro dos materiais, o que poderia significar reação química para além do aprisionamento da solução. Nas Figuras 3.9 a 3.11 apresentam-se os espectros ATR-FTIR dos adesivos, bem como dos materiais base, líquidos, que lhes deram origem (AL-PEG300(1:1,5), AL-BDO(1:1) e AL-Star(1:2)).



**Figura 3.9** Espectros ATR-FTIR dos adesivos AL-PEG1 e AL-PEG2 e respectivo material base líquido.



**Figura 3.10** Espectros ATR-FTIR dos adesivos AL-BDO1 e AL-BDO2 e respectivo material base líquido.



**Figura 3.11** Espectros ATR-FTIR dos adesivos AL-Star1 e AL-Star2 e respectivo material base líquido.

Analisando as Figuras 3.9 a 3.11 verifica-se que os espectros dos líquidos e dos adesivos reticulados são praticamente sobreponíveis, seja qual for a solução usada. O que indica que não houve reação entre o fármaco incorporado e o polímero. Através da análise dos espectros do IBU e excipientes (Anexo J - Figura J.3) verifica-se que os grupos funcionais destes compostos

detetados por ATR-FTIR são sobreponíveis aos grupos funcionais do gel polimérico sem fármaco. Pode ser encontrada aí uma justificação para o facto das diferentes composições das soluções 1 e 2 não se revelarem na análise dos espectros ATR-FTIR de cada adesivo.

A comparação entre os espectros do gel e do adesivo com fármaco também permitem avaliar o processo de reticulação. Nos espectros dos adesivos com fármaco nas Figuras 3.9 a 3.11 continua a ser visível uma banda de pequena intensidade correspondente ao grupo OH ( $3447\text{cm}^{-1}$ ) e a banda característica da ligação éster C=O ( $1735\text{cm}^{-1}$ ). A banda do grupo isocianato,  $2300\text{-}2400\text{cm}^{-1}$  é pouco visível, confirmando o seu consumo. Uma vez que os materiais sofreram reticulação, a banda da ligação C=C deveria ter desaparecido, como consequência da reticulação do material. Em todos os espectros, essa banda é visível nos géis funcionalizados, na zona dos  $1683\text{cm}^{-1}$  e também nos adesivos reticulados. Pode-se então concluir que nos adesivos finais ainda existem ligações duplas e que não foi atingido 100% de rendimento de reticulação de 100%, como se comprovou pelos resultados de avaliação do *gel content*. O tempo de reticulação foi determinado por um compromisso entre a obtenção de filmes e o tempo de exposição do IBU a radiação UV, que se pretendeu reduzir ao mínimo para não comprometer a sua atividade. Para melhorar a reticulação duas estratégias podem vir a ser adotadas: aumentar o tempo de irradiação, ou a quantidade de iniciador adicionada (1% do número de moles de ligações duplas, neste estudo), que não terá sido suficiente ou alterar o fotoiniciador para outro, biocompatível, que absorva em comprimentos de onda distintos dos do fármaco. No entanto, há que ter em consideração as propriedades físicas dos adesivos, que se pretendem flexíveis e maleáveis.

### 3.2.2 Propriedades Térmicas – TGA e DSC

A influência, ou não, da incorporação de soluções de ativo sobre as propriedades dos materiais poliméricos e sua estabilidade foi ainda avaliada através das técnicas de análise termogravimétrica e calorimetria diferencial de varrimento. Nas Figuras 3.12 e 3.13 apresen-

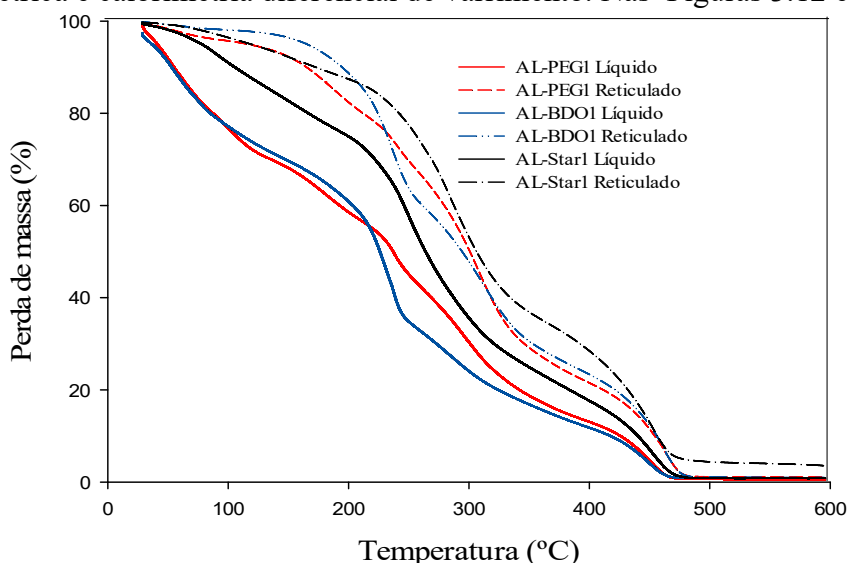
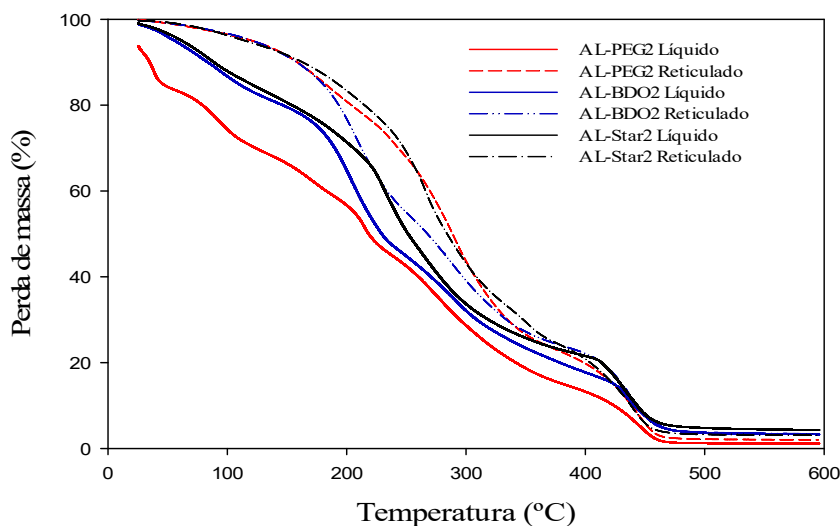


Figura 3.12 Traços termogravimétricos para géis funcionalizados e adesivos com solução 1.

tam-se as curvas de TGA para os materiais com as soluções de fármaco 1 e 2 ainda em fase líquida e após reticulação, que foram usadas para determinar a  $T_d$  de todos estes materiais.

Na Figura 3.12, nas curvas correspondentes aos géis (líquidos), é visível uma perda de massa acentuada, correspondente a aproximadamente 30% da massa inicial de gel, até 130°C no caso do AL-PEG1 e AL-BDO1 e 180°C no caso do AL-Star1. A diminuição de massa é, neste caso, superior à registada nos géis sem solução de fármaco, apresentados na Figura 3.6, uma vez que estes géis na Figura 3.12 incluem na sua composição água e solventes, constituintes das soluções de fármaco, com temperaturas de ebulição inferiores a 130 ou 180°C. Nos traços dos adesivos ainda é visível alguma perda de massa inicial, correspondente a solvente que possa estar contido nas matrizes devido a secagem insuficiente.

Tal como se registou nos materiais base – Figura 3.6, todos os adesivos na Figura 3.12 apresentam maior estabilidade térmica do que os géis que lhes deram origem, confirmando mais uma vez que a fotoreticulação confere estabilidade térmica aos materiais. Comparando os traços dos materiais líquidos, o gel AL-PEG1 apresenta maior estabilidade,  $T_d = 234^\circ\text{C}$ , seguindo-se o gel AL-Star1, com  $T_d$  de  $220^\circ\text{C}$ , sendo gel AL-BDO1 o menos estável,  $T_d = 185^\circ\text{C}$ . Relativamente aos materiais reticulados na Figura 3.12, os adesivos AL-PEG1 e AL-Star1 apresentam  $T_d$  igual a  $237^\circ\text{C}$  e o adesivo AL-BDO1 possui  $T_d$  de  $195^\circ\text{C}$ . Aos  $470^\circ\text{C}$  os materiais líquidos e reticulados encontravam-se completamente degradados, à exceção do adesivo AL-Star1, que até aos  $600^\circ\text{C}$  ainda não tinha sido completamente degradado.



**Figura 3.13** Traços termogravimétricos para géis funcionalizados e adesivos com solução 2.

A Figura 3.13 apresenta os traços gravimétricos dos materiais a que foi adicionada a solução 2 de fármaco e são muitas as semelhanças com a Figura 3.12. A perda acentuada de massa inicial nos géis com a solução 2 é mais acentuada no caso do gel AL-PEG2, o que pode ser explicado pelo facto de na produção deste gel ser usada acetona como solvente. Como o seu ponto de

ebulição é superior ao do éter dietílico usado nos outros géis, o gel final contém uma quantidade superior de solvente que evapora quando sujeito às temperaturas da análise TGA causando diminuição da massa de gel. Nos adesivos também é visível uma perda de massa inicial mas não tão acentuada, uma vez que estes já passaram por um processo de secagem.

Na sequência do registado com a solução 1, com a adição da solução 2 o material AL-PEG2 continua a ser o que apresenta maior estabilidade térmica, tendo o gel uma  $T_d$  de 215°C e o adesivo 230°C. Na escala de estabilidade segue-se o material AL-Star2, o gel com uma  $T_d$  de 205°C e o adesivo 220°C. Por último o AL-BDO, com  $T_d$  de 180°C e 184°C para o gel e adesivo, respetivamente. Através dos valores registados conclui-se, mais uma vez, que os adesivos apresentam maior estabilidade térmica que os respetivos géis funcionalizados.

Na Tabela 3.7 são compiladas as  $T_d$  de todos os materiais sintetizados e dos materiais base respetivos para facilitar comparações. Todos os adesivos com fármaco foram avaliados por DSC, de modo a identificar as transições térmicas. As curvas obtidas são apresentadas no Anexo K e os valores de  $T_g$  registados na Tabela 3.5, assim como os valores de  $T_g$  dos adesivos base, para possibilitar comparação, averiguando sobre a influência da incorporação do fármaco e excipientes no grau de cristalinidade do adesivo final.

**Tabela 3.7** Propriedades térmicas dos materiais base e adesivos com fármaco.

Materiais		$T_d$ (°C)		$T_g$ (°C)
		Géis	Adesivos	Adesivos
Materiais Base	AL-PEG300(1:1,5)	240	250	11,9
	AL-BDO(1:1)	235	235	-18,8
	AL-Star(1:2)	270	270	-40,5
Materiais solução 1	AL-PEG1	234	237	-46,3
	AL-BDO1	185	195	-36,1
	AL-Star1	220	237	-33,3
Materiais solução 2	AL-PEG2	215	230	-56,3
	AL-BDO2	185	180	-40,1
	AL-Star2	205	220	-43,1

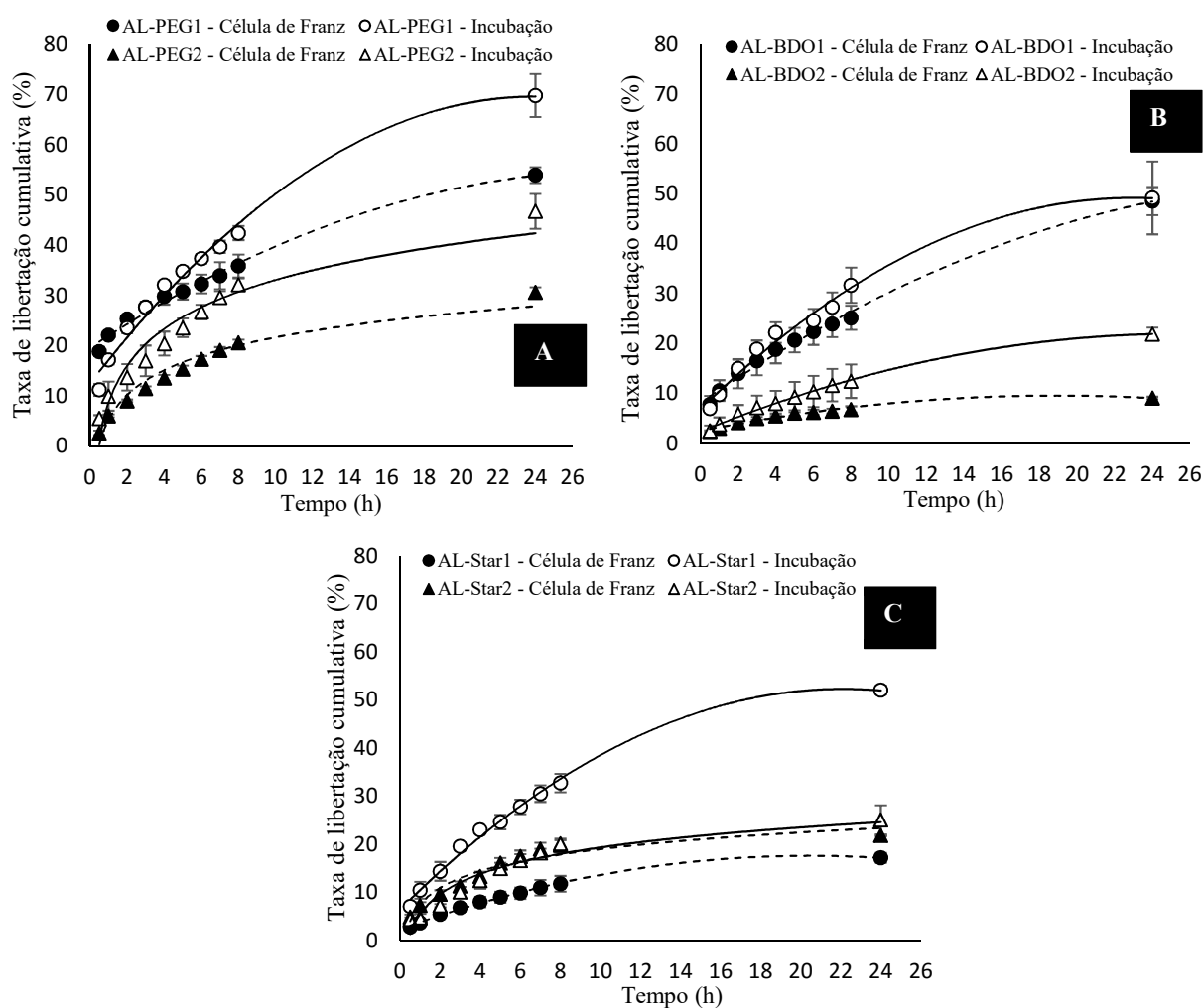
Comparando os valores de temperatura de transição vítrea dos adesivos com fármaco com os adesivos base, observa-se que a presença de excipientes nas matrizes conduziu à diminuição da  $T_g$  e consequentemente da cristalinidade do polímero. Menores valores de  $T_g$  indicam que este material passa facilmente do estado vítreo para o estado borrachoso [17, 14, 109]. Na verdade, os adesivos finais obtidos possuem uma consistência mais borrachosa do que os respetivos adesivos base.

A comparação dos valores de  $T_d$  na Tabela 3.7 indica que os adesivos sem fármaco são termicamente mais estáveis, conclusão com base em valores de  $T_d$  ligeiramente superiores. Adesivos com fármaco possuem na sua constituição excipientes como transcutole e miristato de

isopropilo, que embora não sejam muito voláteis, têm pontos de ebulição de 196 e 168°C, respetivamente. Como estes compostos evaporam, existe perda de massa do material e este começa a degradar-se a temperaturas mais baixas. Entre as duas soluções as diferenças não são significativas. Embora estes materiais possuam  $T_d$  inferiores aos materiais base, estas não põem em causa o seu processo de produção, uma vez que durante este processo se opera a temperaturas inferiores às de degradação.

### 3.2.3 Estudos de libertação de ibuprofeno *in vitro*

As propriedades dos adesivos enquanto sistemas de libertação controlada de IBU foram investigadas através de estudos de libertação *in vitro*. Como referido no Capítulo 2, estes estudos foram realizados por incubação e recorrendo a uma célula de difusão de Franz, a 37°C com agitação de 100 rpm, tendo uma solução de PBS (pH 7,4) como meio recetor. Através da



**Figura 3.14** Perfis de libertação de ibuprofeno *in vitro*, por incubação e em célula de Franz ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ; meio coletor: Solução PBS 0,01M, pH 7,4; Agitação magnética: 100rpm). Absorvâncias medidas a 221 nm. - Comparação de desempenhos de cada material usando diferentes soluções de fármaco.

recolha de amostras do meio coletor em intervalos de tempo estabelecidos e da medição da absorvância dessas amostras, convertida em concentração de IBU, foi possível calcular a

evolução da percentagem de libertação de fármaco. Foi tido em consideração que, para além do IBU, outros excipientes da solução podem ser libertados.

Como descrito na secção 2.6.1 a libertação destes excipientes das matrizes designadas por “branco” foi estudada nas mesmas condições experimentais. Uma vez subtraída a contribuição do “branco” no valor de absorvância medido, a concentração de IBU no meio coletor foi obtida recorrendo à curva de calibração concentração/ absorvância para este fármaco na Figura G.1. Para cada sistema os ensaios de libertação foram realizados em triplicado ou em quadruplicado, e decorreram, ao longo de 24h, com recolha mais frequente de amostras nas 8h iniciais. Os perfis de libertação cumulativa de IBU, calculados pelas equações 2.4 e 2.5 no Capítulo 2, e respetivos desvios padrão estão representados nas Figuras 3.14 e 3.15.

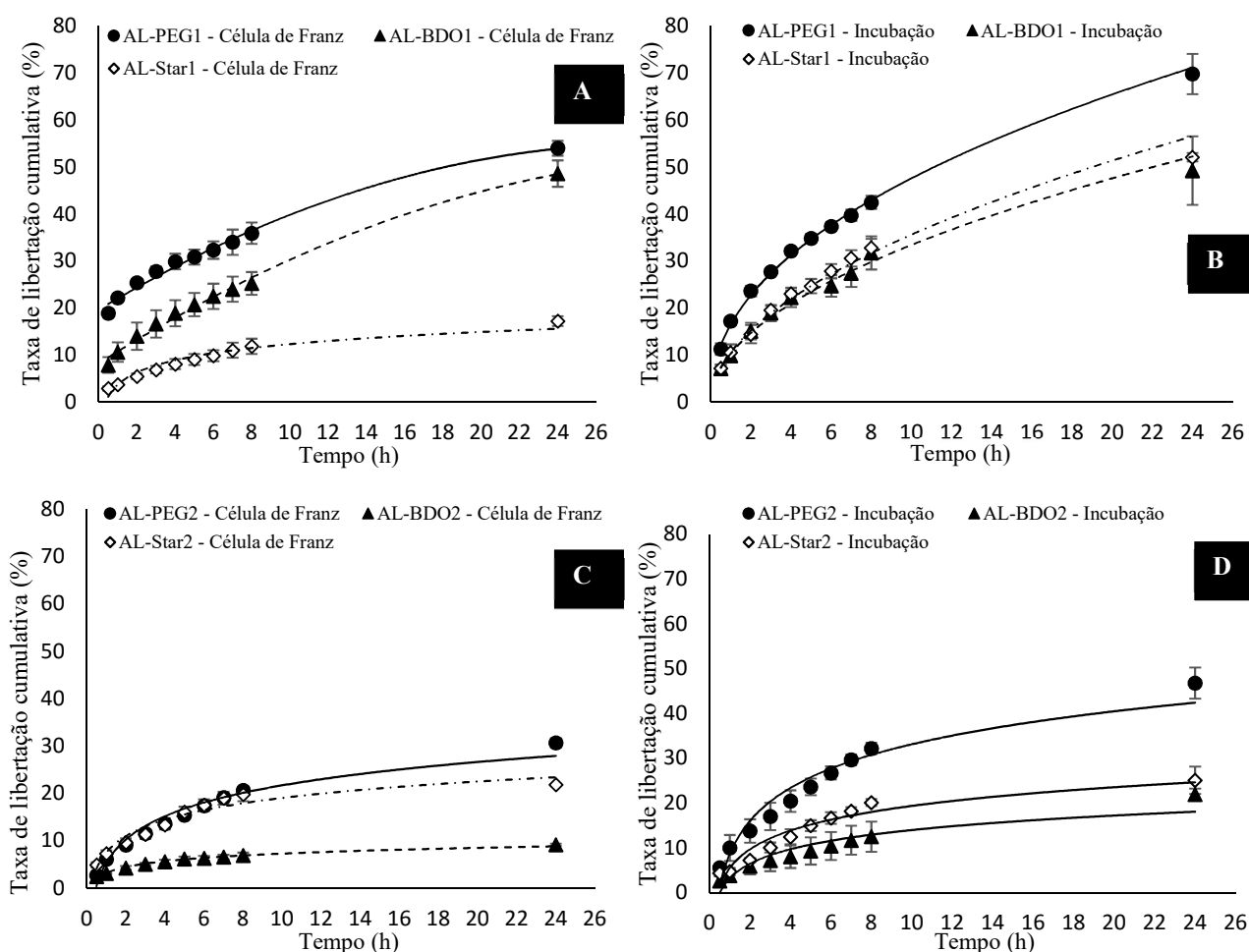
Na Figura 3.14 são representados os perfis de libertação por incubação e em C.Franz de cada adesivo para as soluções de fármaco 1 e 2, Tabela 2.1. É possível observar que para todos os materiais apresentados, independentemente da solução, os testes por incubação originaram, na generalidade valores de libertação de fármaco superiores aos medidos com a célula de Franz. Este resultado era espectável, uma vez que quando incubados, os adesivos têm uma maior área de contacto com o líquido envolvente, facilitando a difusão do fármaco para o meio. Nos adesivos da Figura 3.14-B, embora isto se verifique, os perfis de incubação e C.Franz estão bastante próximos. Uma vez que o material AL-BDO tem capacidade de absorção de água mais baixa, o contacto que estabelece com o meio recetor pode não ser tão determinante para a difusão do fármaco, daí as diferenças não serem tão visíveis. No adesivo AL-Star2, os perfis de teste por incubação e C.Franz são praticamente sobrepostos.

Comparando os resultados com as duas soluções, a solução 1, no geral, apresenta melhores desempenhos de libertação de IBU que a solução 2 que contém miristato de isopropilo e menos água. Estudos na literatura indicaram que o miristato de isopropilo é um excelente agente de permeação, aumentando a fluidez lipídica do EC [97]. Como neste trabalho ainda não foi usada uma película a mimetizar o EC, na libertação a contribuição do miristato de isopropilo não foi visível. Contudo no futuro, quando se incluir a camada lipídica, os resultados com este composto podem vir a ser diferentes. Além disso, a maior percentagem de água na solução 1 poderá ter contribuído para valores mais promissores uma vez que esta desempenha um papel fundamental na difusão. No entanto, no adesivo AL-Star o desempenho de libertação em C.Franz com a solução 1 foi inferior ao esperado quando comparado com as outras taxas de libertação na Figura 3.14-C.

Na Figura 3.15 apresentam-se os mesmos perfis de libertação dos adesivos com o objetivo de permitir avaliar o desempenho dos diferentes materiais base. A interpretação dos resultados obtidos tem de ter em conta as propriedades físicas de cada material, essencialmente a capacidade de absorção de água e a sua taxa de degradação (Tabela 3.2). Os adesivos de

PEG300, por apresentarem maiores valores de *swelling* e taxas de degradação mais rápida, antevê-se serem os mais eficientes na libertação. Os adesivos de BDO, como possuem cadeias mais curtas, o que permite uma estrutura mais compacta, são os mais hidrofóbicos, e devem apresentar menores taxas de libertação.

Observando a Figura 3.15, conclui-se que os adesivos de PEG são os que apresentam taxas de libertação superiores, o que se esperava, devido à sua hidrofiliicidade, que é uma mais-valia na libertação do fármaco. Este resultado do AL-PEG é registado para as duas soluções e duas técnicas de libertação testadas. A Tabela 3.2, com resultados que também podem ser estendidos aos filmes incorporados com as soluções de excipientes, mostra que as características de capacidade de absorção de água e degradação do AL-Star são na mesma ordem de grandeza das do AL-PEG e claramente superiores às do AL-BDO. Justifica-se assim que na Figura 3.15 os filmes AL-Star apresentem taxa de libertação superior à dos materiais AL-BDO. A única exceção está presente no ensaio com a solução 1 em célula de Franz, Figura 3.15-A, que já na Figura 3.14-C era discordante dos restantes perfis.



**Figura 3.15** Perfis de libertação de ibuprofeno *in vitro*, por incubação e em Célula de Franz ( $T=37^{\circ}\text{C}$ ; meio coletor: Solução PBS 0,01M, pH 7,4; Agitação magnética: 100rpm). Absorvâncias medidas a 221 nm. - Comparação de desempenhos dos diferentes materiais quando incorporados com a mesma solução de fármaco.



Observando os desvios padrão de cada ponto experimental nas Figuras 3.14 e 3.15, é possível afirmar que os resultados são bastante reprodutíveis, apresentando desvios pouco significativos. De salientar que associados a estes testes existem erros experimentais como secagem das matrizes, erros de amostragem, erros de medição de absorvâncias, entre outros, que podem justificar os desvios.

Nas Tabelas 3.8 e 3.9 resumem-se os desempenhos de libertação de ibuprofeno (%) para todos os adesivos na meia hora inicial, passadas 8 horas e às 24 horas, comuns às Figuras 3.14 e 3.15, bem como a massa total de ibuprofeno libertada em 24 horas e a correspondente concentração média de IBU no líquido recetor.

**Tabela 3.8** Desempenhos de libertação de ibuprofeno dos adesivos carregados com a solução 1.

Taxa de libertação cumulativa (%)	AL-PEG1		AL-BDO1		AL-Star1	
	Incubação	C. Franz	Incubação	C. Franz	Incubação	C. Franz
0,5h	11,25	18,87	7,05	7,85	7,13	2,85
8h	42,45	35,91	31,72	25,20	32,77	11,82
24h	69,80	54,00	49,23	48,60	52,08	17,20
m IBU libertada <sup>(b)</sup> (mg)	4,74	3,65	2,83	2,02	1,76	1,04
C <sub>IBU</sub> <sup>(c)</sup> (mg mL <sup>-1</sup> )	0,024	0,030	0,014	0,017	0,009	0,009

b) Massa total de IBU libertado em 24 horas (mg).

c) Valor médio da concentração de IBU libertado para o meio recetor em 24 horas (mg/mL).

**Tabela 3.9** Desempenhos de libertação de ibuprofeno dos adesivos carregados com a solução 2.

Taxa de libertação cumulativa (%)	AL-PEG2		AL-BDO2		AL-Star2	
	Incubação	C. Franz	Incubação	C. Franz	Incubação	C. Franz
0,5h	5,58	2,71	2,60	2,41	4,37	4,87
8h	32,20	20,64	12,50	6,86	20,12	19,78
24h	46,78	30,66	21,96	9,13	25,08	21,83
m IBU libertado <sup>(b)</sup> (mg)	3,23	1,91	2,41	0,72	1,95	1,55
C <sub>IBU</sub> <sup>(c)</sup> (mg mL <sup>-1</sup> )	0,016	0,016	0,012	0,006	0,010	0,013

b) Massa total de IBU libertado em 24 horas (mg)

c) Valor médio da concentração de IBU libertado para o meio recetor em 24 horas (mg/mL).

A concentração média de ibuprofeno no líquido recetor ao fim de 24 horas, C<sub>IBU</sub> foi calculada de acordo com a equação 3.1:

$$C_{IBU} = m_{IBU,libertado} \times V_{liquido\ recetor} \quad (3.1)$$

Onde V<sub>líquido recetor</sub> é o volume de PBS em mL, correspondente ao número de amostras retiradas em 24h, 120mL no caso da C.Franz e 200mL na incubação.

Analisando as Tabelas 3.8 e 3.9 conclui-se que nem sempre foram os materiais que apresentaram maiores taxas de libertação os que libertaram maior massa de fármaco, uma vez

que a taxa de libertação depende da massa de fármaco inicial que foi, teoricamente, incorporada na matriz (Tabela 3.6). O valor da concentração média de IBU libertado em 24 horas,  $C_{IBU}$ , permite uma análise dos dois métodos de avaliação da libertação. Ao analisar  $C_{IBU}$ , os valores são em geral superiores nos ensaios com célula de Franz, que usa menor volume de líquido coletor.

Como ainda não são comercializados adesivos para administração transdérmica de IBU, para possível comparação, recorreu-se a trabalhos publicados para perceber qual a concentração diária de IBU (mg/mL) necessária para atingir a terapêutica pretendida. Estudos realizados com comprimidos de 400mg de ibuprofeno indicam que concentração diária de IBU no sangue de 0,06mg/mL foi suficiente para aliviar a dor de 90% dos pacientes sujeitos ao teste [110]. As concentrações diárias obtidas para os adesivos desenvolvidos correspondem a massas iniciais de fármaco muito menores do que as referidas na literatura, daí os resultados serem muito inferiores. Deste modo não é possível estabelecer comparações lineares. No entanto, sabe-se que num transdérmico não são necessárias doses tão elevadas de fármaco como na administração oral para atingir a a terapêutica desejada.

Os valores da concentração diária foram obtidos sem ter em conta a barreira criada pela pele, sabendo que estudos realizados com essa barreira irão conduzir a concentrações de IBU mais baixas no fluido recetor. importa estudar outras cargas de fármaco, manipulando solubilidades e percentagens dos outros constituintes. Importa também avaliar estes comportamentos nos outros meios recetores, e com outras temperaturas.

### 3.2.4 Quantificação do ativo remanescente na matriz

A quantificação experimental do ativo que ficou aprisionado nas matrizes após a libertação visou fazer um balanço de massa global ao ibuprofeno e perceber qual o rendimento global do processo. A libertação do ativo retido nas matrizes foi feita em etanol e com o auxílio do equipamento Turrax. Na Tabela 3.9 são apresentadas as taxas de libertação cumulativas obtidas no estudo de libertação e na lavagem com etanol, bem como o rendimento global do processo (%).

**Tabela 3.10** Resultados da quantificação de ativo libertado.

Adesivos	m IBU libertado (mg)		mIBU residual (mg)		% libertação total	
	Incubação	C.Franz	Incubação	C.Franz	Incubação	C.Franz
AL-PEG1	4,74	3,65	0,14	1,91	70,98	85,85
AL-BDO1	2,83	2,02	1,60	1,56	75,40	86,52
AL-Star1	1,76	1,04	1,08	1,65	78,32	44,43
AL-PEG2	3,23	1,91	1,62	1,42	70,42	53,29
AL-BDO2	2,41	0,72	1,53	1,63	35,82	29,93
AL-Star2	1,95	1,55	1,28	1,80	48,12	47,10

A percentagem de libertação total foi calculada pela equação 3.2:

$$\%libertação\ total = \frac{m_{IBU\ libertado} + m_{IBU\ residual}}{m_{IBU,0}} \times 100 \quad (3.2)$$

Onde  $m_{IBU, libertado}$  corresponde à massa total de fármaco libertado para o meio recetor durante o estudo de libertação,  $m_{IBU, residual}$  à massa total de fármaco libertado da matriz durante a lavagem com etanol e moagem com Turrax e  $m_{IBU,0}$  a massa teórica de fármaco na matriz antes do estudo de libertação, calculada pela equação 3.2. A percentagem de libertação corresponde ao total de IBU libertado após estudo de libertação e lavagem da matriz final.

Na Tabela 3.9 verifica-se que os filmes AL-Star1 e AL-BDO2, que exibiram menores taxas cumulativas de libertação na célula de Franz (Figura 3.15-A e 3.15-C) continham mais IBU residual no final do que o libertado durante o estudo (de libertação), o que revela coerência dos estudos. Todavia, estes dois adesivos são dos que mais se afastam da quantificação de todo o fármaco incorporado no filme. Na Tabela 3.9, as matrizes que sofreram libertação por incubação apresentaram, na última coluna, uma quantificação de ibuprofeno superior a 70%, à exceção de AL-BDO2 e AL-Star2, 35,8 e 48,1%, repetivamente. Na libertação em C.Franz os materiais AL-PEG1 e AL-BDO1 atingem-se valores superiores a 80%. Nestes casos, a diferença para a quantificação total pode-se justificar pelos erros experimentais associados. Na avaliação do ibuprofeno residual removido por lavagem com etanol, a elevada volatilidade deste composto pode conduzir a erros na avaliação das concentrações das amostras. Um outro fator que pode explicar não estar a ser detetado todo o IBU incorporado é a possibilidade de precipitação do fármaco no adesivo. A degradação do fármaco por UV foi estudada apenas de forma preliminar e também poderá ter influência na quantificação experimental.

### 3.2.5 Estudo de degradação de ibuprofeno por UV

O IBU, possuindo um anel benzénico (Anexo D), absorve radiação UV na gama de comprimentos de onda em que se opera, podendo sofrer degradação. Assim, foi avaliado o potencial de degradação do fármaco quando exposto aos tempos de irradiação necessários para reticular as matrizes (2 e 4min). O procedimento foi realizado como descrito no Capítulo 2. Através da medição de absorvâncias das soluções de IBU em éter dietílico e acetona foi possível avaliar de forma qualitativa a concentração de fármaco na amostra.

Na Tabela 3.11 encontram-se os valores de absorvância medidos a 210nm (comprimento de onda para quantificação de IBU em acetona) para soluções de fármaco em acetona expostas, ou não, a UV. Para confirmar estes valores apresentam-se no Anexo L as curvas obtidas por varrimento em espectrofotómetro para cada solução.

**Tabela 3.11** Avaliação qualitativa da degradação do fármaco por UV.

	Tempo exposição a UV (min)	Absorvância (cm <sup>-1</sup> )	% Degradação
Solução A	2	0,7839	2,7
	Sem exposição	0,8064	-
Solução B	4	0,7930	2,3
	Sem exposição	0,8140	-

Como se pode observar pelos valores da Tabela 3.10, a percentagem de degradação registada tanto para 2 como para 4 minutos de exposição a UV foi apenas de 2,7/2,3%. Este resultado está de acordo com o referido em [99]: tempo de meia vida de IBU quando sujeito a UV: 600s. Nas Figuras L.1 e L.2 é possível observar uma descida mínima do pico de absorvância, que não se considera significativa. Conclui-se que o tempo de exposição dos adesivos a UV não foi o suficiente para a degradação de uma quantidade de fármaco que afetasse o seu desempenho final. Ainda assim, é de referir novamente que este é apenas um teste qualitativo. Para avaliar este parâmetro de forma quantitativa será necessário recorrer a outras técnicas de análise, como HPLC.

# CAPÍTULO 4

---

## Conclusões

## 4. CONCLUSÕES

### 4.1 Conclusão geral

Oligómeros de base ácido lático foram produzidos por policondensação direta, sem adição de solventes e catalisador. Recorreu-se a estratégias já estabelecidas e outras concebidas para produção dos oligómeros. Obtiveram-se materiais de estrutura linear e ramificada, com dois e quatro grupos hidroxilo, respetivamente, que foram funcionalizados com o monómero Laromer<sup>®</sup> LR 9000, introduzindo ligações duplas na estrutura. Tendo como objetivo a produção de sistemas transdérmicos para libertação de fármaco foram desenvolvidas soluções de ibuprofeno (IBU) robustas para incorporação nos géis modificados antes da fotopolimerização. Após fotopolimerizados os géis originaram filmes resistentes e transparentes.

O trabalho centrou-se na confirmação de estudos anteriores, no que diz respeito à síntese de oligómeros, e no teste de novos comonómeros, PEG300 e PEG400, para a produção de oligómeros mais hidrofílicos. Por não se revelar adequado à incorporação do fármaco, o oligómero de ácido lático-PEG400 foi excluído. Na etapa de funcionalização recorreu-se a protocolos já estabelecidos, funcionalizando os oligómeros com o monómero LAR. Para cada oligómero foram testadas várias proporções estequiométricas oligómero:LAR de modo a otimizar as propriedades dos materiais finais. Obtiveram-se os géis ácido lático-pentaeritritol(1:2) (AL-Star), ácido lático-1,4-butanodiol(1:1) (AL-BDO) e ácido lático-PEG300(1:1,5) (AL-PEG300), que foram posteriormente reticulados por irradiação UV, na presença do iniciador Irgacure<sup>®</sup> 2959. O tempo mínimo de reticulação correspondeu a 2 minutos para os primeiros géis e 4 minutos para o último. Recorreu-se à análise ATR-FTIR para acompanhar o progresso de todas as reações e estimar a sua duração.

A segunda etapa do trabalho correspondeu ao desenvolvimento de soluções de IBU com características adequadas à administração transdérmica. Um dos principais objetivos foi a incorporação da maior percentagem de água possível nas soluções, sem comprometer a solubilidade e estabilidade do ativo. Para tal, houve necessidade de recorrer a solubilizadores como Transcutol<sup>®</sup>, miristato de isopropilo e Miglyol<sup>®</sup>. Foram também utilizados os tensoativos Tween<sup>®</sup> 80 e Cremophor<sup>®</sup> RH 40 e os plastificantes: glicerol, propilenoglicol, PEG300 e PEG400. Para contornar as dificuldades de permeação utilizou-se o etanol como agente de permeação, embora alguns dos restantes componentes já tenham essa função.

Numa primeira abordagem foram preparadas soluções com múltiplos componentes, em diferentes proporções, que revelaram problemas de miscibilidade e estabilidade mesmo com elevadas percentagens de água. Soluções com apenas 5% de água mostraram-se estáveis e com alguns problemas na reticulação e de consistência dos adesivos finais. Optou-se por introduzir menos excipientes, o que possibilitou a incorporação de uma percentagem de água superior a

5% em todas as soluções. Duas delas, contendo ibuprofeno, miristato de isopropilo, transcutool, e PEG300, mostraram-se mais robustas, sendo selecionadas para incorporação nos géis.

A incorporação do fármaco não alterou as propriedades dos adesivos. Estes mativeram-se homogêneos, resistentes e transparentes, apresentando maior flexibilidade que os filmes sem fármaco. A reticulação dos materiais não foi comprometida pela adição de solução de fármaco.

As propriedades dos materiais base e adesivos foram avaliadas, tendo em vista o seu potencial como sistemas transdérmicos para administração de IBU. Determinou-se o teor de gel de todas as matrizes sem fármaco, averiguando a sua influência nas restantes propriedades avaliadas. Foram obtidos valores de *gel content* de 77-94%, conforme os comonomeros usados. A capacidade de absorção de água foi determinada para todas as matrizes base, em água destilada e em atmosfera saturada. Em ambos os meios os materiais revelaram comportamentos distintos, dependentes do comonomero. Os valores de *swelling* ficaram na gama de 5-29% no teste por incubação e 6-77% pelo método de saturação, tendo-se registado uma grande diferença nos dois testes para a matriz de AL-PEG300. As matrizes de PEG300 mostraram ser mais hidrofílicas e as de BDO menos hidrofílicas, o que pode encontrar justificação na estrutura dos oligómeros.

Uma vez que os materiais produzidos são suscetíveis à hidrólise, é importante ter em consideração a taxa de degradação de cada material. Assim, foi avaliada a degradação hidrolítica das matrizes sem fármaco em solução de PBS, durante 6 semanas. Todos os materiais registaram uma perda de massa acentuada nos primeiros sete dias, com tendência a estabilizar num valor inferior a 40%. Verificou-se que a taxa de degradação das matrizes é diretamente proporcional ao seu estado de reticulação e capacidade de absorção de água. Ou seja, materiais mais hidrofílicos e com menor teor de gel tenderam a degradar mais rapidamente, o que aconteceu com a matriz com PEG300. Ao fim de 24 horas a perda de massa situava-se na gama de 3-34%. Embora biodegradáveis, as taxas de degradação dos materiais permitem uma boa libertação do ativo sem comprometer o seu desempenho como transdérmicos.

A análise termogravimétrica avaliou a estabilidade térmica de todos os materiais – oligómeros, géis e adesivos, com e sem fármaco. Os oligómeros base apresentaram  $T_d$  entre 193 - 236°C, sendo o oligómero de PEG300 o mais estável. A estabilidade aumentou quando foram analisados os géis funcionalizados,  $220^\circ\text{C} < T_d < 240^\circ\text{C}$  e o processo de reticulação ainda favoreceu a estabilidade térmica. Os materiais com fármaco apresentaram  $T_d$  ligeiramente menor, próxima de 200°C, o que se pode justificar pela inclusão de novos compostos. Ainda assim registaram-se  $T_d$  próximas de 200°C. As temperaturas de transição vítrea das matrizes reticuladas foram obtidas por DSC, sendo todas inferiores à temperatura fisiológica. Adesivos com fármaco registaram  $T_g$  ainda menor, característica de uma consistência mais borrachosa, visível nos adesivos obtidos.

A viabilidade de adesão dos materiais à pele foi confirmada pela medição de energia de superfície dos adesivos base, registando-se valores inferiores à energia de superfície da pele. O

potencial bactericida dos filmes base foi avaliado de forma preliminar, concluindo que todos possuem propriedades antibacterianas. Esta característica é vantajosa para a aplicação desejada, em certa medida, uma vez que não se pretende que, a título de exemplo, a bactéria *S. epidermis*, presente na da pele, seja inibida.

De modo a avaliar o desempenho dos adesivos como sistemas transdérmicos para administração de ibuprofeno, foram realizados estudos de libertação *in vitro*, por incubação e em célula de Franz, usando PBS (pH 7,4) como meio coletor. Registaram-se perfis de libertação durante 24 horas para os filmes com as duas soluções de fármaco. No caso da solução 1, as percentagens de libertação cumulativa variaram entre 49 e 70% nos testes de incubação e de 17 - 69% nos testes em C.Franz. Já para adesivos com a solução 2, os valores do teste de incubação estiveram compreendidos no intervalo 22 - 47% e no teste de libertação em C.Franz resultaram percentagens de libertação de 9 - 31%. Os valores superiores na libertação por incubação devem-se essencialmente à maior área de contacto entre o adesivo e o meio coletor. Conclui-se que os comónomos utilizados, a capacidade de absorção de água, a degradação hidrolítica, o estado de reticulação dos adesivos e a solução incorporada influenciam os desempenhos de libertação. O adesivo de ácido lático e PEG300 incorporado com a solução 1 foi o que apresentou melhores desempenhos de libertação.

O rendimento do processo de libertação incluiu a quantificação do ativo remanescente nos adesivos, através de libertação em etanol. Para materiais provenientes de estudos de incubação obtiveram-se rendimentos superiores a 70%, à excessão dos materiais AL-BDO2 e AL-Star2. Os materiais AL-PEG1 e AL-BDO1, confirmaram rendimentos de libertação elevados no estudo em C.Franz, alcançaram valores de libertação superiores a 80%. Os valores obtidos são aceitáveis, uma vez que este tipo de trabalhos tem associados erros experimentais. Como o IBU é sensível à radiação UV na gama de comprimentos em que se operou, fez-se um estudo preliminar de degradação deste fármaco. As percentagens de degradação registadas, entre 2,3 - 2,5% não se consideraram significativas.

Face aos resultados obtidos, os adesivos transdérmicos fotopolimerizados, de ácido lático para administração de ibuprofeno podem vir a ganhar destaque no mercado, especialmente se o comónomo for o PEG300. O agente de funcionalização, Laromer® LR 9000 confirmou ser promissor para aplicações biomédicas. O adesivo AL-PEG1 mostrou-se resistente, termicamente estável, flexível e homogéneo, com tempos de reticulação razoáveis e desempenhos de libertação promissores. As suas características tornam-no promissor como TDDS e também como adesivo cirúrgico e o material base pode ser útil para incorporação de outros fármacos.



## 4.2 Principais contribuições

Este trabalho procurou ser uma mais-valia na revisão teórica sobre o tema e no desenvolvimento e caracterização de novos produtos promissores como sistemas de libertação controlada de fármacos.

1. Revisão bibliográfica: Pretendeu-se abordar três áreas essenciais: ácido lático, focando a sua aplicação na área biomédia; Sistemas transdérmicos para administração de fármacos e ibuprofeno, destacando as motivações para a incorporação deste fármaco neste tipo de sistemas. Em cada temática foram apresentados contributos importantes para a síntese e caracterização desta classe de produtos, patentes e produtos comercializados.
2. Síntese e caracterização de adesivos de base ácido lático e desenvolvimento de novas estratégias: a validação dos resultados de estudos anteriores e a caracterização complementar permitiram perceber o potencial dos materiais como sistemas de libertação controlada de ativos. Além disso as novas estratégias de oligomerização desenvolvidas permitiram alargar a gama de produtos explorando um comonomero bastante promissor na área biomédica, o PEG300.
3. Desenvolvimento de soluções robustas de ibuprofeno: a preparação de soluções estáveis de fármacos hidrofóbicos tem sido alvo de estudo intenso. As soluções desenvolvidas, de forma simples constituem um contributo promissor nesta área.
4. Revolução do mercado: Até ao momento o ibuprofeno ainda não se encontra disponível para administração transdérmica. Aliar o ácido lático e o PEG, que por si só já são materiais de destaque na área biomédica, à técnica promissora de fotopolimerização e a soluções simples de IBU para a construção de adesivos transdérmicos para administração de fármacos é algo inovador, que pode revolucionar o mercado. Estes materiais poderão abrir novos horizontes à investigação na área biomédica, para diversas aplicações.

## 4.3 Perspetivas futuras

Nesta secção recomenda-se um conjunto de estratégias de desenvolvimento e otimização a adotar no futuro.

1. **Reprodução e otimização de protocolos no que diz respeito à produção de oligómeros de PEG300 e respetiva funcionalização:** otimizar a temperatura na etapa de oligomerização, de modo a obter tempos de reação inferiores; otimizar a quantidade de solvente a usar para melhorar a viscosidade dos géis finais; investigar diferentes

quantidades de fotoiniciador e a sua influência nos adesivos finais, sem comprometer o custo de produção e a biocompatibilidade. Teste de novas estequiometrias oligómero-LAR, estudando a influência do monômero funcional nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos adesivos finais.

2. **Otimização do pH dos produtos finais:** teste de novas metodologias de correção de pH, atingindo pH próximos de 6 nos produtos finais.
3. **Otimização dos estudos de libertação:** realização de novos testes para avaliar a reprodutibilidade dos materiais; incorporação de uma membrana lipídica, que mimetize o estrato córneo, nos estudos de libertação em célula de Franz.
4. **Quantificação do fármaco por HPLC:** definição de metodologia para a medição de concentração de ibuprofeno por HPLC. Estudo quantitativo em HPLC do fármaco degradado durante a exposição dos materiais a radiação UV.
5. **Confirmação da adesão dos materiais à pele:** repetir os testes de avaliação de energias de superfície para garantir que não haverá necessidade de introduzir uma camada adesiva, num futuro produto a ser comercializado.
6. **Testes de atividade antibacteriana:** estudos mais aprofundados de modo obter resultados mais robustos e conclusivos.
7. **Teste de novos comonómeros na produção de oligómeros de ácido láctico:** avaliação do desempenho do 2-etil-1,3-hexanodiol como comonómero.
8. **Desenvolver soluções de fármaco com novos excipientes:** exemplos- polissorbato 80, mentol, ácido tartárico.
9. **Comparação de desempenhos com produtos comerciais:** estudos de libertação *in vitro* de transdérmicos comerciais para administração de substâncias ativas e géis para administração de IBU, permitiria comparar resultados e concluir sobre os desempenhos dos produtos desenvolvidos por comparação com produtos já comercializados.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Prabhakar, D., Sreekanth, J., Jayaveera, K.N., Transdermal Drug Delivery Patches: A Review, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 3(4), 213-221, 2013.
- [2] Shinde, P.V. et al., A Review on Advance Technologies for Developing Transdermal Drug Delivery Systems, *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovations*, 2 (4), 1-15, 2014.
- [3] Yadav, V. et al., Transdermal Drug Delivery: A Technical Writeup, *J. Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1(1), 5-12, 2012.
- [4] Shubhangi, C., Piush, S., Ajay, A., Shiv, G. K., Transdermal Patches: A Review on Novel Approach for Drug Delivery, *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), 531-548, 2015.
- [5] Patil, S.M., Bagawan, M.G., Transdermal Drug Delivery System – Basic Understanding for Development, *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, 3(6), 76-92, 2013.
- [6] Saroha, K., Yadav, B., Sharma, B., Transdermal Patch: A Discrete Dosage Form, *Int. J. Curr. Pharm. Res.*, 3(3), 98-108, 2011.
- [7] Dias, A.R.P., Sistemas Transdérmicos, Dissertação de Mestrado, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2013.
- [8] Lakshimi, P.K., Kumar, M.K., Sridharan, A., Bhaskaran, S., Formulation and evaluation of ibuprofen topical gel: a novel approach for penetration enhancement, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 3(3), 2011.
- [9] Nampoothiri K.M., Nair N.R., John, R.P., An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research, *Bioresource Technology*, 110, 8493–8501, 2010.
- [10] Wee, I.J., Kim, J.N., Ryu, H.W., Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications, *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (2), 163–172, 2006.
- [11] Xiao, L., Wang, B., Yang, G., Gauthier, M., Poly (Lactic Acid)-Based Biomaterials: Synthesis, Modification and Applications, *Biomedical Science, Engineering and Technology*, Prof. Dhanjoo N. Ghista (Ed.), ISBN: 978-953-307-471-9, InTech, 2012.
- [12] Helminen, A.O., Korhonen, H., Seppala, J.V., Structure Modification and Crosslinking of Methacrylated Polylactide Oligomers, *Journal of Applied Polymer Science*, 86, 3616–3624, 2002.
- [13] Seppala, J., Korhonen, H., Hakala, R., Malin, M., Photocrosslinkable Polyesters and Poly (ester anhydrides) for Biomedical Applications, *Macromolecular BioScience*, 11, 1647-1652, 2011.
- [14] Hakala, R., Crosslinked poly (ester anhydrides) for controlled drug delivery, Doctoral Thesis, School of Chemical Technology, Aalto University, Finland, 2013.
- [15] Studer, K., Decker, C., Beck, C., Schwalm, R., Thermal and photochemical curing of isocyanate and acrylate functionalized oligomers, *European Polymer Journal*, 41, 157–167, 2005.
- [16] Ferreira, P., Coelho, J.F.J., Almeida, J.F., Gil, M.H., Photocrosslinkable Polymers for Biomedical Applications, *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*, Prof. Reza Fazel (Ed.), ISBN: 978-953-307-309-5, InTech, 2011.

- [17] Marques, D.A.S., Studies on high molecular weight poly (lactic acid) synthesis, Doctoral Thesis, Universidade de Coimbra, 2012.
- [18] Santos, J.M.C., Preparação de Bioadesivos a partir de Ácido Lático, Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2014.
- [19] Lunt, J., Large-scale production, properties and commercial applications of lactic acid polymers, *Polymer Degradation and Stability*, 59, 145-152, 1998.
- [20] Varadarajan S., Miller D.J., Catalytic Upgrading of Fermentation-Derived Organic Acids, *Biotechnology Progress*, 15, 845-854, 1999.
- [21] Capellari, J.B., Biossíntese de ácido láctico por *Lactobacillus amylovorus* a partir de resíduos agroindustriais, Tese de Mestrado, Universidade da região de Joinville-Univille, 2010.
- [22] Martinez, F.A.C., Balciunas, E. M., Salgado, J. M., González, J. M. D., Converte, A., Oliveira, R. P. S., Lactic acid properties applications and production: A review, *Trends in Food Science & Technology*, 30, 70-83, 2013.
- [23] Lasprilla, A.J.R., Martinez, G. A. R., Lunelli, B. H., Jardini, A. L., Filho R. M., Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review, *Biotechnology Advances*, 30, 321–328, 2012.
- [24] Adsul, M.J., Varma, A.J., Gokhale, D. V., Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose, *Green Chemistry*, 9, 58-62, 2007.
- [25] Lunelli, B.H., Andrade, R.R., Atala, D.I., Wolf, M.R. , Maugeri, F.F., Maciel, F.R., Production of lactic acid from sucrose: strain selection, fermentation, and kinetic modeling, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 161(1-8), 227-237, 2010.
- [26] John, R.P., Anisha, G.S., Nampoothiri, K.M., Pandey, A., Direct lactic acid fermentation: focus on simultaneous saccharification and lactic acid production, *Biotechnol. Adv.*, 27(2), 145-152, 2009.
- [27] Rasal, R.M., Janorkar, A.V., Hirt, D.E., Poly (lactic acid) modifications, *Progress in Polymer Science*, 35, 338-356, 2010.
- [28] Marques, D.S., Santos, J.M.C., Ferreira, P., Correia, T.P., Correia, I.J., Gil, M.H., Baptista, C.M.S.G., Photocurable bioadhesive based on lactic acid, *Materials Science and Engineering*, 58, 601-609, 2016.
- [29] Achmad, F., Yamane, K., Quan, S., Kokugan, T., Synthesis of polylactic acid by direct polycondensation under vacuum without catalysts, solvents and initiators, *Chemical Engineering Journal*, 151, 342–350, 2009.
- [30] Harshe, Y.M., Storti, G., Morbidelli, M., Gelosa, S., Moscatelli, D., *Macromol. React. Eng.*, 1, 611–621, 2007.
- [31] Kim, S.H., Kim, Y.H., Direct Condensation Polymerization of Lactic acid, *Macromol. Symp.* 144, 277-28, 1999.
- [32] Wang, S., Cui, W., Bei, J., Bulk and surface modifications of polylactide, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 381(3), 547-556, 2005.
- [33] Zhang, L., Hu, Y., Jiang, X., Yang, C., Lu, W., Yang, Y.H., Camptothecin derivative-loaded poly(caprolactone-co-lactide)-b-PEG-b-poly(caprolactone-co-lactide) nanoparticles and their biodistribution in mice, *Journal of Controlled Release*, 96(1), 135– 148, 2004.

- [34] Li, S., Vert, M., Synthesis, characterization, and stereocomplex-induced gelation of block copolymers prepared by ring-opening polymerization of L (D)-lactide in the presence of poly (ethylene glycol), *Macromolecules*, 36(21), 8008-8014, 2003.
- [35] Melchels, F.P., Velders, A.H., Feijen, J., Grijpma, D.W., Photo-crosslinked poly (D, L-lactide)-based networks. Structural characterization by HRMAS NMR spectroscopy and hydrolytic degradation behavior, *Macromolecules*, 43(20), 8570-8579, 2010.
- [36] Kylma, J., Seppala, J.V., Synthesis and Characterization of a Biodegradable Thermoplastic Poly(ester-urethane) Elastomer, *Macromolecules*, 30, 2876-2882, 1997.
- [37] Fu, B., Xiao, L., Yu, L.J., Yang, G., Preparation of lactic acid based polyurethanes modified by castor oil, *Advanced Materials Research*, Vols. 47-50, 1458-1461, 2008.
- [38] Suyatma, E.N., Copinet, A., Tighzert, L., Coma, V., Mechanical and Barrier Properties of Biodegradable Films Made from Chitosan and Poly (Lactic Acid) Blends, *Journal of Polymers and the Environment*, 12(1), 2004.
- [39] Santos, J.M.C., Marques, D.S., Alves, P., Correia, T.P., Correia, I.J., Baptista, C.M.S.G., Ferreira, P., Synthesis, functionalization and characterization of UV-curable lactic acid based oligomers to be used as surgical adhesives, *Reactive and Functional Polymers*, 94, 43-54, 2015.
- [40] Ho, S-M., Young, A.M., Synthesis, polymerization and degradation of poly(lactidecopropylene glycol) dimethacrylate adhesives, *Eur Polym J*, 42, 1775-1785, 2006.
- [41] Xiong, X.Y., Li, Y.P., Li, Z.L., Zhou, C.L., Tam, K.C., Liu, Z.Y., Xie, G.X., Vesicles from Pluronic/poly(lactic acid) block copolymers as new carriers for oral insulin delivery, *Journal of Controlled Release*, Vol.120,11-17, 2007.
- [42] Venkatraman, S.S., Jie, P., Min, F., Freddy, B.Y.C., Leong-Huat, G., Micelle-like nanoparticles of PLA-PEG-PLA triblock copolymer as chemotherapeutic carrier, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol.298, 219-232, 2005.
- [43] Hiltunen, K., Seppala, J.V., Harkonen, M., Lactic Acid Based Poly (ester-urethanes): Use of Hydroxyl Terminated Prepolymer in Urethane Synthesis, *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 1091-1100, 1997.
- [44] Deng, X., Liu, Y., Yuan, M., Synthesis and characterization of poly (D, L-lactic acid)-co-poly (ethylene glycol)-co-poly(L-lysine) copolymer, *European Polymer Journal*, 38, 1435-1441, 2002.
- [45] Xiao, R.Z., Zeng, Z.W., Zhou, G.L., Wang, J.J., Li, F.Z., Wang, A.M., Recent advances in PEG-PLA block copolymer nanoparticles, *International Journal of Nanomedicine*, 5, 1057-1065, 2010.
- [46] Ifkovits, J.L., Burdick, J.A., Review: Photopolymerizable and Degradable Biomaterials for Tissue Engineering Applications, *Tissue Engineering*, 13(10), 2007.
- [47] Ferreira, P., Preparação e caracterização de adesivos de base uretana, Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 2007.
- [48] Williams, C. G., Malik, A., Kim, T. K., Manson, P., Elisseeff, J, Variable cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation, *Biomaterials*, 26(11), 1211-1218, 2005.
- [49] Hu, R., Chen, Y.Y., Zhang, L.M., Synthesis and characterization of in situ photogelable polysaccharide derivative for drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 393 (1-2), 96-103, 2010.

- [50] Vieira, A.P., Ferreira, P., Coelho, J.F.J., Gil, M.H., Photocrosslinkable starch based polymers for ophthalmologic drug delivery, *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol.43, No.4, 325-332, 2008.
- [51] West, J.L., Hubbell, J.A., Photopolymerized hydrogel materials for drug delivery applications, *Reactive Polymers*, 25, 139-147, 1995.
- [52] Quick, D.J., Anseth, K.S., DNA delivery from photocrosslinked PEG hydrogels: encapsulation efficiency, release profiles, and DNA quality, *Journal Controlled Release*, 96, 341– 351, 2004.
- [53] Kao, F., Manivannan, G., Sawan, S.P., UV Curable Bioadhesives: Copolymers of N-Vinyl Pyrrolidone, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*, 38(3), 191-196, 1997.
- [54] Ono, K., Saito, Y., Yura, H., Ishikawa, K., Kurita, A., Akaike, T., Ishihara, M., Photocrosslinkable chitosan as a biologic adhesive, *J. Biomed. Mater. Res.*, 49 (2), 289-295, 2000.
- [55] Ono, K., Ishihara, M., Ozeki, Y., Deguchi, H., Sato, M., Saito, Y., Yura, H., Sato, M., Kikuchi, M., Kurita, A., Maehara, T., Photocrosslinkable chitosan as a biological adhesive with surgical applications, *Surgery*, 130 (5), 844-850, 2001.
- [56] Shingade, G.M., Amer, Q., Sabale, P.M., Grampurohit, N.D., Gadhave, M.V., Jadhav, S.L., Gaikwad, D.D., Patil, K.T., Review on: Recent Trend on Transdermal Drug Delivery System, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2(1), 66-75, 2012.
- [57] Saltzman, M.K., *Drug Delivery: Engineering Principles for Drug Therapy (Topics in Chemical Engineering)*, Oxford University Press, 2001.
- [58] Vogelson, C.T., Advances in Drug Delivery Systems, *Modern Drug Discovery*, 4(4), 49-52, 2001.
- [59] *Drug Delivery Systems: Getting Drugs to Their Targets in a Controlled Manner*, National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, 2013.  
Available from: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/drug-delivery-systems-getting-drugs-their-targets-controlled-manner>
- [60] Ikada, Y., Tsuji, H., Biodegradable polyesters for medical and ecological applications, *Macromol. Rapid Commun*, 21, 117–132, 2000.
- [61] Hakala, R., Crosslinked poly (ester anhydrides) for controlled drug delivery, *Doctoral Dissertations*, Aalto University, 2013.
- [62] Coimbra, P.M.A., *Preparação e Caracterização de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos com base em Polímeros de Origem Natural*, Tese de Doutorado, Universidade de Coimbra, 2010.
- [63] Mbah, C.J., Uzor., P.F., Omeje, E.O., Perspectives on Transdermal Drug Delivery, *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(3), 680-700, 2011.
- [64] Sawamura, A.M.S., Franco, S.L., Sistemas terapêuticos transdérmicos, *Arq. Apadec.*, 8 (1), 40-47, 2004.
- [65] Sankavarapu, V., Aukunuru, J., Development and evaluation of zero order sustained release matrix type transdermal films of ibuprofen, *J. Global Pharma Tech.*, 2(2), 51-58, 2010.
- [66] Patel, D., Chaudhary, S.A., Parmar, B., Bhura, N., Transdermal Drug Delivery System: A Review, *The Pharma Innovation*, 1(4), 66-75, 2012.
- [67] Jalwal, P. et.al., A review on transdermal patches, *T. Ph. Res.*, 3, 139-149, 2010.
- [68] Sharma, S., Kumar, S., Gupta, R., A Review on Transdermal Drug Delivery, *IJAPBC*, 1(1), 100-110, 2012.

- [69] Alam, M.I. et al., Type, Preparation and Evaluation of Transdermal Patch: A Review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 2199-2233, 2013.
- [70] Sharma, N., Agarwal, G., Rana, A.C., Bhat, Z.A., Kumar, D., A Review: Transdermal Drug Delivery System: A Tool for Novel Drug Delivery System, *Int. J. Drug Dev. & Res.*, 3(3), 70-84, 2011.
- [71] Thomas, B.J., Finnin, B.C., The transdermal revolution, *Drug Discovery Today*, 9(16), 697-703, 2004.
- [72] Wilson, E.J., Three Generations: The Past, Present and Future of Transdermal Drug Delivery Systems, College of Southern Maryland, 2011.
- [73] Mali, A.D., Bathe, R., Patil, M., An updated review on transdermal drug delivery systems, *International Journal of Advances in Scientific Research*, 1(6), 244-254, 2015.
- [74] Alkilani, A.Z., McCrudden, M.T.C., Donnelly, R.F., Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum, *Pharmaceutics*, 7, 438-470, 2015.
- [75] Sheth, N.S., Mistry, R.B., Formulation and evaluation of transdermal patches and to study permeation enhancement effect of eugenol, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(3), 96-101, 2011.
- [76] Silva, J.A., Apolinário, A.C., Souza, M.S.R., Damasceno, B.P.G.L., Medeiros, A.C.D., Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas, *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, 31(3), 125-131, 2010.
- [77] Ramchandani, U., Shrivastava, S.K., Dubey, P.K., Current trends in NDDS with special reference to NSAIDs, *International Journal of Pharma Bio Sciences*, 2(1), 92-110, 2011.
- [78] Batlouni, M., Anti-Inflamatórios Não Esteróides: Efeitos Cardiovasculares, Cérebro-Vasculares e Renais, *Arq. Bras. Cardiol.*, 94(4), 556-563, 2010.
- [79] Anti-inflammatory Painkillers, *Patients*  
Available from: <http://www.patient.info/health/anti-inflammatory-painkillers>
- [80] Peterson, K., et al., Drug Class Review Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs), *Drug Effectiveness Review Project*, 7-8, 2010.
- [81] Vaile, J.H., Davis, P., Topical NSAIDs for Musculoskeletal Conditions, *Drugs*, 56(5), 783-799, 1998.
- [82] Busson, M., et al., Update on Ibuprofen: Review Article, *J. Int. Med. Res.*, 14(53), 1986.
- [83] Bushra, R., Aslam, N., An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen, *Oman Medical Journal*, 25(3), 155-161, 2010.
- [84] Bijaya, G., Preethi, G.B., Roopak, M., Versha, P., Transdermal Delivery of Ibuprofen and its Prodrugs by Passive Diffusion and Iontophoresis, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 79-84, 2010.
- [85] Rasool, B.K.A., Abu-Ghabrieh, E.F., Fahmy, S.A., Saad, H.S., Khann, S.A., Development and Evaluation of Ibuprofen Transdermal Gel Formulations, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4), 355-363, 2010.
- [86] Padula, C., Nicoli, S., Santi, P., In vitro Evaluation of Bioadhesive Films Containing Ibuprofen, *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, 10, 2011.
- [87] Medherant's First Ibuprofen Patch – TEPI Patch Technology  
Em: <http://www.medherant.co.uk/news/medherants-first-ibuprofen-patch-tepi-patchtechnology>



- [88] Hamad, K., Kaseem, M., Yang, H.W., Deri, F., Ko, Y.G., Properties and medical applications of polylactic acid: A review, *Polymer Letters*, 9(5), 435–455, 2015.
- [89] Corneillie, S., Smet, M., PLA architectures: the role of branching, *Polym. Chem.*, 6, 850-867, 2015.
- [90] Ramer, G., Lendl, B., Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, 2013.
- [91] Gabbott, P., Principles and Applications of Thermal Analysis, Blackwell, 2008.
- [92] Hohne, G., Hemminger, W.F., Flammersheim, H.J., Differential Scanning Calorimetry, Springer, *Second Edition*, 2003.
- [93] Thomsen, F., Practical Contact Angle Measurement (5), 2008  
Em: <http://www.kruss.de>
- [94] Cardoso, R.M., Modificação superficial de uma poliuretana para preparação de válvulas cardíacas, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.
- [95] Praça, F.S.G., Libertação e permeação *in vitro* de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais, Tese de Douturamento, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2010.
- [96] Reeh, Y-S., Chang, S-Y., Park, C-W., Chi, S-C., Park, E-S., Optimization of ibuprofen gel formulations using experimental design technique for enhanced transdermal penetration, *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 4-20, 2008.
- [97] Rafeiro, D.F.B., Novas estratégias de promoção da permeação transdérmica, Dissertação de Mestrado, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona, Lisboa, 2013.
- [98] Dhiman, S., Singh, T.G., Rehni, A.K., Transdermal patches: a recent approach to new drug delivery system, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(5), 26-34, 2011.
- [99] Szabó, R.K., Decomposition of some pharmaceuticals by Advanced Oxidation Processes, Doctoral Thesis, University of Szeged, Doctoral School of Environmental Sciences, Université de Poitiers, Ecole Doctorale Science pour l'Environnement Gay Lussac, Szeged, 2010.
- [100] Pinheiro, Pedro, Staphylococcus aureus – Quais são os riscos desta bactéria?, 2016  
Em: <http://www.mdsaude.com/2009/02/estafilococos-aureus-mrsa.html>
- [101] Frazão, Arthur, Escherichia Coli, Tua Saúde, 2016  
Em: <http://www.tuasaude.com/escherichia-coli/>
- [102] Baldini, R.L., Genes envolvidos na patogenicidade da bacteria Pseudomonas aeruginosa, Instituto de Química, USP.
- [103] Pinheiro, Pedro, Candidíase- Sintomas, Tipos e Causas, 2016.  
Em: <http://www.mdsaude.com/2009/01/o-que-e-candidiase.html>
- [104] Sungsanit, K., Rheological and Mechanical Behaviour of Poly (Lactic Acid)/Polyethylene Glycol Blends, Doctoral Thesis, School of Civil, Environmental and Chemical Engineering College of Science, Engineering and Health, RMIT University, 2011.
- [105] Tariq, F., Noori1, M., Ali1, N.A., Study the mechanical and thermal properties of biodegradable polylactic acid/poly ethylene glycol nanocomposites, *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management*, 3(1), 459-464, 2014.

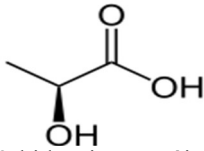
- [106] Zhao, H., Liu, Z., Park, S., Kim, S.H., Kim, J.H., Piao, L., Preparation and Characterization of PEG/PLA Multiblock and Triblock Copolymer, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 33(5),1638-1642, 2012.
- [107] Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K., Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79, 2016.
- [108] Valgas, C., Souza, S.M., Smânia, E.F.A., Smânia, A., Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products, *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 369-380, 2007.
- [109] Reis, A.C.M., Efeito da temperatura de cura na temperatura de transição vítrea de um adesivo estrutural, Dissertação do MIEM, Faculdade Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2012.
- [110] Derendorf, H., Hochhaus, G., Handbook of Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Correlation, pp.160, CRC Press, 1995.

# ANEXOS

---

## Anexo A – Propriedades físico-químicas do ácido lático e suas aplicações

**Tabela A.1** Propriedades físico-químicas do ácido lático [17, 18, 88].

<b>Estrutura Química</b>	
<b>Nome IUPAC</b>	Ácido 2-hidroxiopropanóico
<b>Número CAS</b>	Geral: 598-82-3
<b>Fórmula Química</b>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
<b>Peso Molecular (g mol<sup>-1</sup>)</b>	90,08
<b>Temperatura de fusão (°C)</b>	L(+): 53 D(-): 53 Mistura racémica: 18
<b>Temperatura de ebulição (°C)</b>	122 (a 14 mmHg)
<b>Massa volúmica (g cm<sup>-3</sup>) (80% em solução)</b>	1,209
<b>Acidez (pKa)</b>	3,85
<b>Viscosidade (mPa s)</b>	28,5 (85% em solução, 20°C)
<b>Solubilidade em água (%m/m)</b>	L(+): 86 (20°C)
<b>Entalpia de fusão (kJ mol<sup>-1</sup>)</b>	L(+): 16,8

**Tabela A.2** Aplicações de ácido lático em diversas áreas (adaptado de [10]).

<b>Indústria Alimentar</b>	<b>Indústria Farmacêutica/Biomédica</b>	<b>Indústria Cosmética</b>	<b>Indústria Química</b>	<b>Indústria Química (como Matéria-Prima)</b>
-Acidulante				
-Conservante				
-Aromatizante	-Próteses	-Agente anti-acne e anti-tártaro	-Intermediário quiral	-Óxido de propileno
-Regulador de pH	-Suturas cirúrgicas	-Regulador de pH	-Solvente “verde”	-Acetaldeídos
-Fortificação mineral	-Sistemas de libertação controlada de fármacos	-Hidratante	-Regulador de pH	-Ácido acrílico
-Melhoria da qualidade microbiana	-Solução de diálise	-Agente de rejuvenescimento da pele/ Esfoliante	-Agente de limpeza	-Ácido propanóico
	-Preparações minerais		-Agente de libertação lenta de ácido	-Lactato de etilo
	-Soluções intravenosas		-Agente de descalcificação	-2,3- pentanediona
				-Poli (ácido lático) (PLA)

## Anexo B — Propriedades físicas, químicas e mecânicas do poli (ácido lático) L(+) — (PLLA) e aplicações biomédicas do PLA e copolímeros de ácido lático

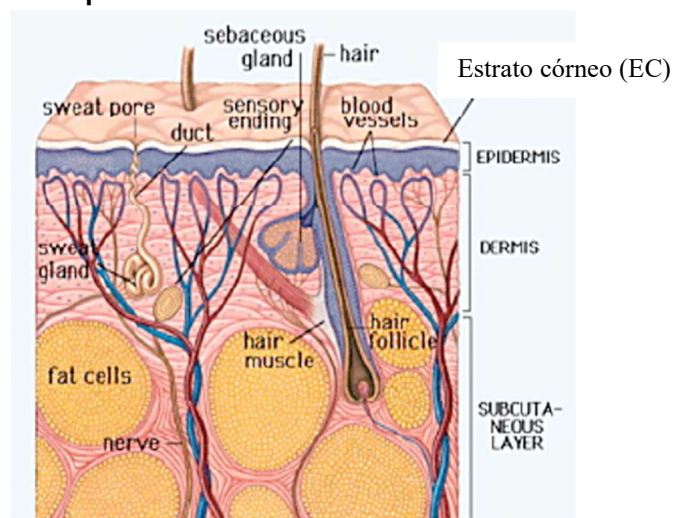
**Tabela B.1** Propriedades físicas, químicas e mecânicas do PLLA (adaptado de [18])

Temperatura de fusão $T_m$ (°C)	≈ 180
Temperatura de transição vítrea $T_g$ (°C)	55-50
Temperatura de degradação $T_d$ (°C)	≈ 200
Massa volúmica (g cm <sup>-3</sup> )	1,290
Cristalinidade	Semicristalino
Elongação (%)	20 – 30
Tempo de degradação (em PBS, 37°C)	4-6 meses
Solubilidade	Solúvel em clorofórmio, THF, dioxano, benzeno. Insolúvel em água, etanol, metanol, hexano.

**Tabela B.2** Aplicações biomédicas de PLA e copolímeros de ácido lático (adaptado de [11]).

Engenharia de Tecidos	Sistemas de libertação controlada	Outras Áreas
-Scaffolds porosos para reparação de tecidos, incluindo bexiga, cartilagem, fígado, tecido adiposo e tecido ósseo.	-Formas de dosagem como, microcápsulas, micro e nanopartículas, pílulas, etc. -Libertação controlada de fármacos, proteínas/peptídeos e DNA/RNA.	-Membranas (coberturas para feridas) -Implantes e dispositivos médicos (parafusos, suturas, etc.) -Tratamento dermatológico (lipoatrofia e rejuvenescimento de cicatrizes)

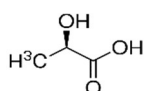
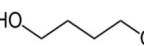
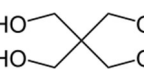
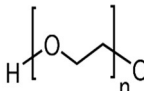
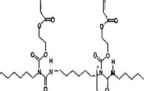
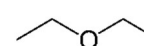
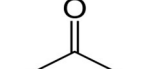
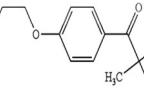
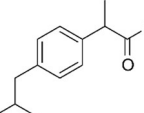
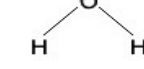
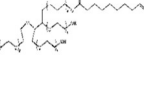
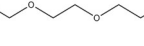
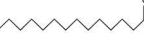
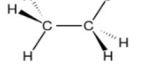
## Anexo C — Estrutura da pele



**Figura C.1** Estrutura da pele humana [73].

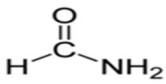
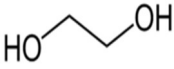
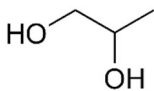
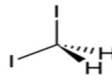
## Anexo D – Principais reagentes usados – Propriedades

**Tabela D.1** Principais reagentes, estruturas química e molecular e propriedades (De acordo com fichas de especificação dos fornecedores).

Nome da substância	Fórmula Química	Estrutura Química	Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Massa volúmica (g mL <sup>-1</sup> )
Ácido 2-hidroxi-propanóico ou Ácido Lático L(+)	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>		90,08	53	122 a 12 mmHg	1,21 (80% v/v)
1,4 – butanodiol	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>		90,12	16	230	1,02
Pentaeritritol	C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>4</sub>		136,15	253 - 258	276	1,39 (a 20°C)
Poli (etilenoglicol) ou PEG300	H(OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> OH		300,00	15	>300 °C	1,13
Laromer® LR 9000	-		578,00	ND	ND	1,15
Éter dietílico	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O		74,12	-116	35	0,71
Acetona	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O		58,08	-95	56	0,79
2-hidroxi-1-[4-(2-hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona ou Irgacure® 2959	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>		224,30	86,5 - 89,5	ND	ND
Ibuprofeno	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>		206,27	76 °C (mist. racémica) 54 °C (enantiômer o)	154 - 157	1,18
Água	H <sub>2</sub> O		18,02	0	100	1
Tween® 80	C <sub>32</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub>		604,81	ND	> 100 a 1,013 hPa	1,07
Transcutol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>		134,18	-76	196 - 202	0,99
Miristato de Isopropilo	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>		270,45	ND	167 a 9 mmHg	0,85
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O		46,07	-114	78,37	0,79

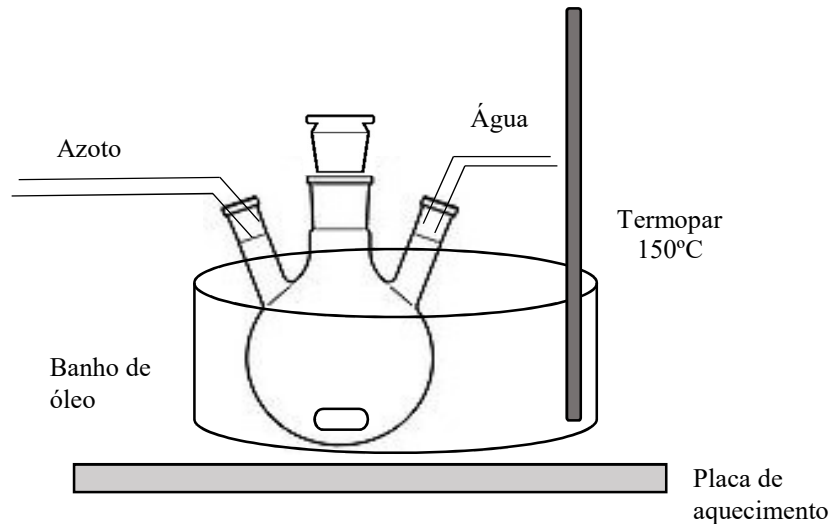
ND – Não disponível

**Tabela D.2** Principais reagentes, estruturas química e molecular e propriedades.

Nome da substância	Fórmula Química	Estrutura Química	Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Ponto de fusão (°C)	Ponto de ebulição (°C)	Massa volúmica (g mL <sup>-1</sup> )
Hidróxido de Sódio	NaOH	$\text{Na}^+ \text{O}^- \text{H}$	39,997	322	1388	2,13
Formamida	CH <sub>3</sub> NO		45,04	2-3	210	1,134
Etilenoglicol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>		62,07	-13	196 - 198	1,11
Propilenoglicol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>		76,09	-59	188	1,036
Diiodometano	CH <sub>2</sub> I <sub>2</sub>		267,84	67 - 69 a 11mmHg	181	3,32

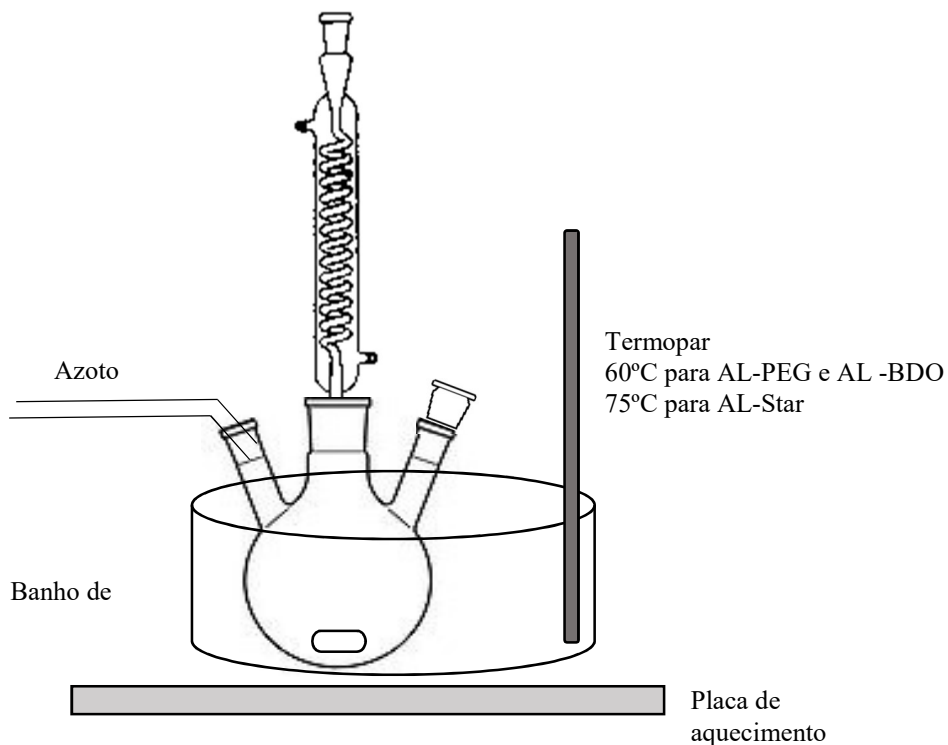
## Anexo E – Montagens experimentais das etapas de produção de oligômeros e funcionalização.

Produção dos oligômeros: AL-PEG300 (18h); AL-BDO (9h); AL-Star (9h)



**Figura E.1** Representação da montagem experimental para produção dos oligômeros de base ácido lático.

Funcionalização dos Oligômeros com Laromer (4h)



**Figura E.2** Representação esquemática da montagem experimental para funcionalização dos oligômeros com Laromer® LR 9000.



## Anexo F – Desenvolvimento de soluções de fármaco

### Lista dos Excipientes Selecionados

**Tabela F.3** Excipientes usados nas soluções de fármaco e respectivas funções.

Função	Excipiente	Caraterísticas / Vantagens
Solubilizador do ativo	<b>Transcutol®</b>	Usado em formulações tópicas como solubilizador de ativos hidrofílicos e hidrofóbicos. Excelente solubilizador de Ibuprofeno.
	<b>Miristato de Isopropilo</b>	Bastante usado em cosmética. Confere emoliência e suavidade.
	<b>Miglyol®</b>	Óleo neutro, bastante usado em cosmética. Excelentes propriedades de hidratação, suavização da pele e promoção da penetração.
Plastificante	<b>PEG300</b>	Aumenta a solubilidade do fármaco por efeito de co-solvência. Agente de permeação [85].
	<b>PEG400</b>	
	<b>Glicerol</b>	
	<b>Propilenoglicol</b>	
Tensioativo	<b>Cremophor®</b>	Os tensioativos interagem com a pele causando um desarranjo estrutural lipídico e aumentando a permeabilidade da mesma.
	<b>RH40</b>	
	<b>Tween® 80</b>	
Agente de permeação	<b>Etanol</b>	Ajuda na permeação do fármaco através da pele [102].
Agente de Hidratação	<b>Água</b>	Papel importante na adesão à pele. Ajuda na penetração do ativo[86].

### Preparação de soluções por metodologia multicomponentes

#### Considerações/ Objetivos:

- Estimativa da massa de produto final do processo de síntese: 12g aprox. (com base em experiências anteriores).
- Carregamento de ativo no produto final de 5% (m/m).
- Soluções de ativo com 5g (0,6g IBU e 4,4g excipientes).
- Máximo de 20% (m/m) de tensioativo na formulação final.

#### Etapas:

1. Todas as etapas decorreram à temperatura ambiente, com agitação de 100 rpm.
2. Pesagem do fármaco num frasco de vidro.
3. Adição de um determinado volume de solubilizadores.
4. Solubilização do tensioativo em água destilada.
5. Adição da solução de tensioativo e água aos restantes componentes (gota a gota).

**Tabela F.4** Composição das soluções com multicomponentes (% m/m). (Base 4,4 g excipientes)

Componentes	Solução A	Solução B	Solução C	Solução D	Solução E	Solução F
Transcutol®	25	35	25	30	20	35
Miglyol®	25	15	20	40	30	25
Glicerol	20	20	20	15	-	-
PEG400	-	-	-	-	-	17,5
Propilenoglicol	-	-	-	-	12,5	-
Tween® 80	10	10	10	10	10	10
Etanol	-	-	5	-	-	7,5
Água	20	20	20	5	5	5
<b>OBJETIVOS/ RESULTADOS</b>	Consistência cremosa.	Miglyol® e glicerol são pouco miscíveis, levou a alterar as % da solução 1. → Material reticulou no balão após incorporação da solução.	Adicionou-se etanol para promover a miscibilidade. → Material frágil após reticulação	Verificar influência da água na estabilidade. → Solução estável; Material resistente, mas solução essencialmente orgânica.	Teste outro plastificante. → Solução robusta; Material impossível descolar após reticulação.	Teste outro plastificante → Solução estável. Material resistente mas 6min reticulação.

### Preparação de soluções por metodologia simples

#### Considerações:

- Testada nova metodologia com o objetivo de produzir soluções mais robustas, com uma % mássica de água superior a 5% e melhores desempenhos de libertação.
- Preparados 5mL de solução, para posterior carregamento no gel.
- Os componentes foram adicionados pela seguinte ordem: IBU + Solubilizador + Plastificante + Água + NaOH (para correção de pH).
- Soluções finais com pH na gama de 4,5 – 6.

As composições das soluções obtidas são apresentadas na Tabela 2.1, no Capítulo 2.

## Anexo G — Espectrofotômetro - Curvas de Calibração de Ibuprofeno

### Preparação da solução tampão PBS

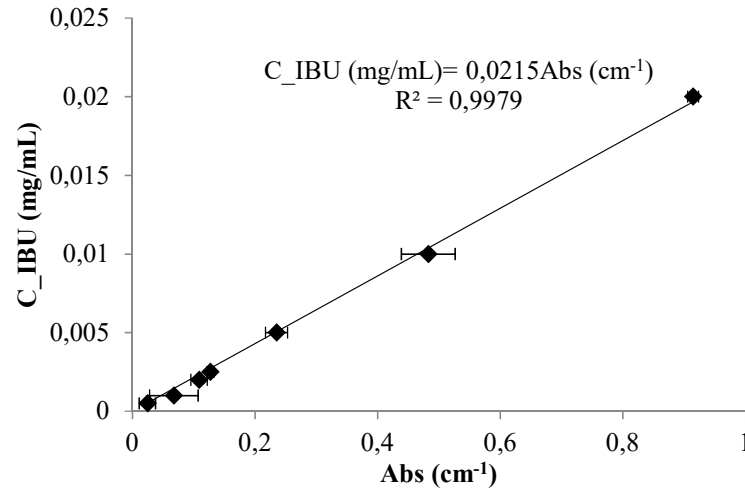
- Foram usadas Pastilhas PBS (*Phosphate buffered saline*), adquiridas à *Sigma- Aldrich*.
- Fornecedor informa que cada pastilha dissolvida em 200mL de água origina uma solução tampão fosfato com concentração 0,01M, sendo 0,0027M em cloreto de potássio e 0,137M em cloreto de sódio de pH 7,4.
- Esta solução foi usada nos estudos de liberação, como meio recetor e nos estudos de degradação, como meio de incubação das matrizes com fármaco.

### Curvas de calibração de ibuprofeno

#### 1. Ibuprofeno dissolvido em PBS

Foi preparada uma solução de IBU em PBS, com concentração 0,1mg/ mL. Esta solução esteve sujeita a agitação magnética durante um longo período de tempo (aproximadamente um mês) para garantir a solubilização total do fármaco, uma vez que o IBU é um fármaco pouco solúvel em meio aquoso.

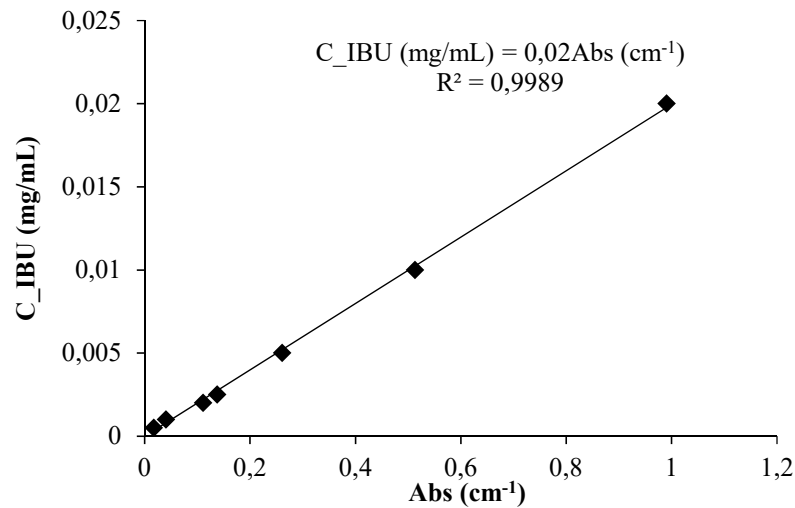
Preparada a solução foi medida a absorvância por varrimento, no espectrofotômetro *UV-Vis Jasco V-550* para avaliar o melhor comprimento de onda para quantificar IBU em PBS (221nm). Estipulou-se como objetivo uma relação linear entre concentração e absorvância no intervalo 0-1cm<sup>-1</sup>. A partir da solução original foram preparadas soluções de diferentes concentrações, até se atingir um valor de absorvância próximo de 1cm<sup>-1</sup>. A solução com absorvância próxima desse valor passou a solução-mãe e a partir desta prepararam-se outras por diluições sucessivas, sendo medidas as suas absorvâncias. Estes valores permitiram traçar a curva de concentração em função das absorvâncias (curva de calibração). Esta curva, apresentada na Figura G.1, foi obtida através de um teste em triplicado, sendo representados os respectivos desvios padrão, a equação característica e o R<sup>2</sup> associado. A curva foi usada na liberação de ibuprofeno para traduzir os valores de absorvância medidos ao longo do tempo em concentrações de IBU.



**Figura G.4** Curva de calibração de concentração de IBU em PBS em função da absorvância (a curva foi obtida com teste em triplicado).

## 2. Ibuprofeno dissolvido em etanol

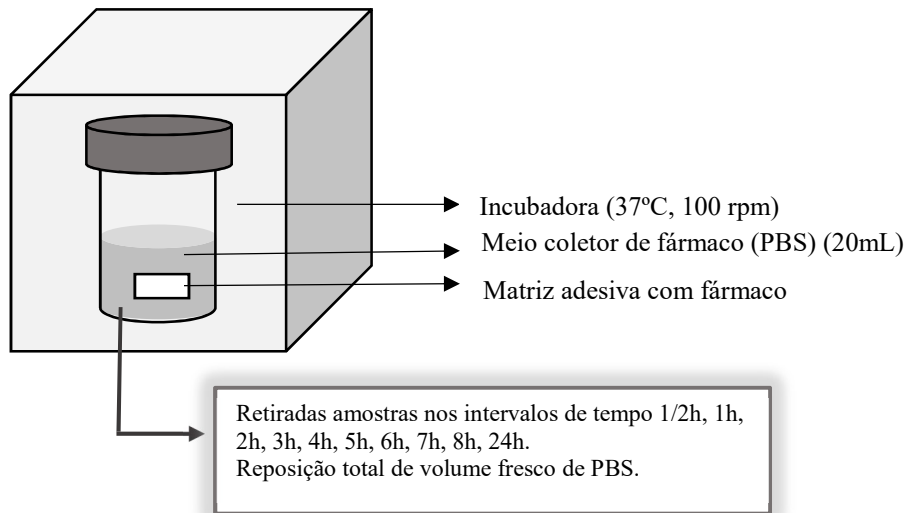
O procedimento para a construção desta curva de calibração para o IBU dissolvido em etanol foi igual ao descrito anteriormente, sendo a curva representada na Figura G.2. Neste caso o comprimento de onda usado para quantificar o fármaco foi 223nm. Esta curva foi usada para traduzir para concentração de IBU as absorvâncias medidas durante a quantificação do ativo remanescente na matriz.



**Figura G.5** Curva de calibração de concentração de IBU em etanol em função da absorvância.

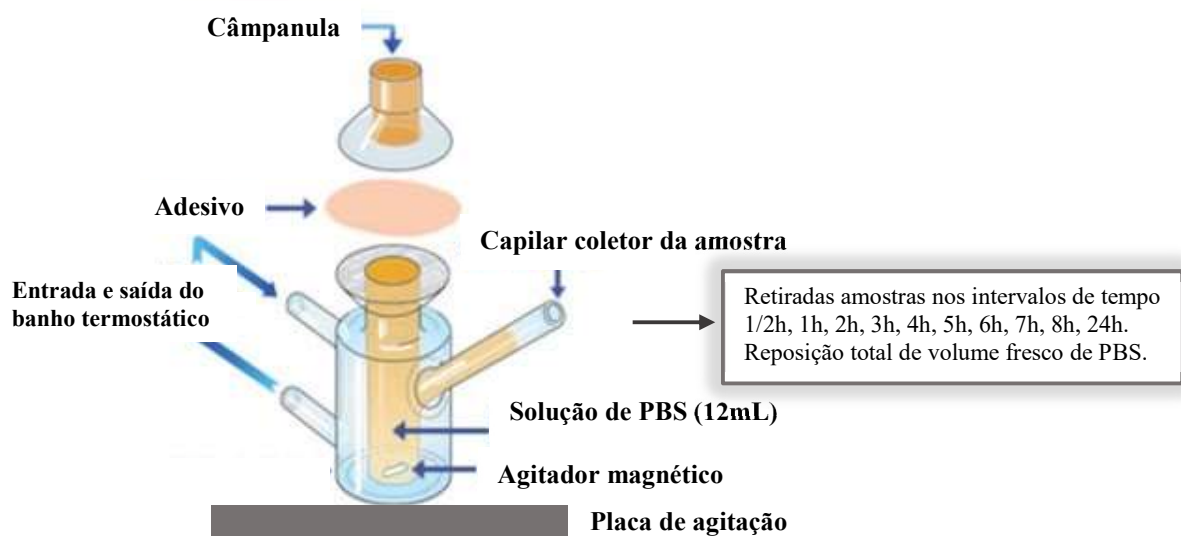
## Anexo H – Estudos de liberação

### Libertação por incubação



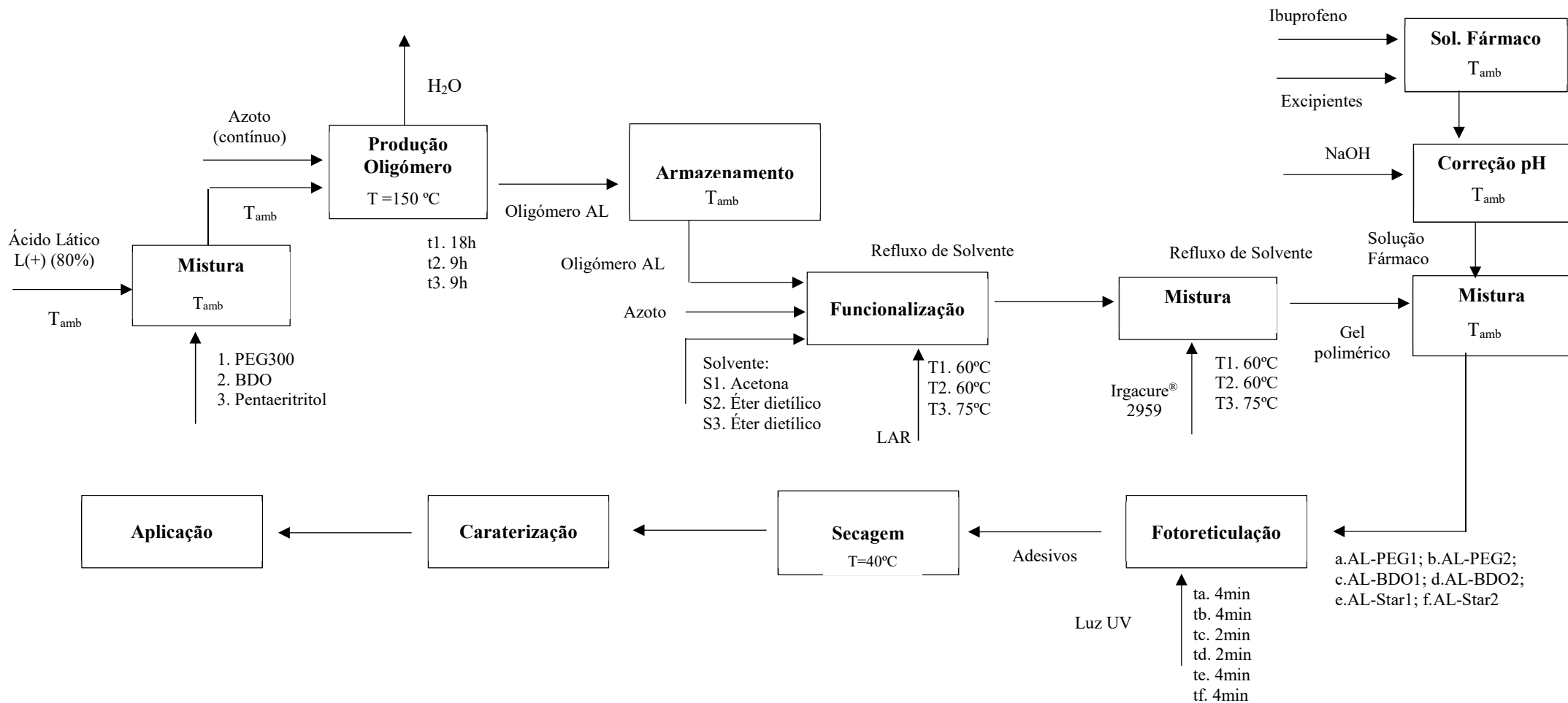
**Figura H.1** Montagem experimental de um estudo de liberação por incubação.

### Libertação em Célula de Franz



**Figura H.2** Montagem experimental de um estudo de liberação em Célula de Difusão de Franz (Adaptado de [75]).

### Anexo I – Processo de produção dos adesivos



**Figura I.6** Processo de produção de transdérmicos de base ácido lático com diferentes comonómeros (conforme descrito no Capítulo 2). Comonómeros : 1-PEG300; 2-BDO; 3-Pentaeritritol

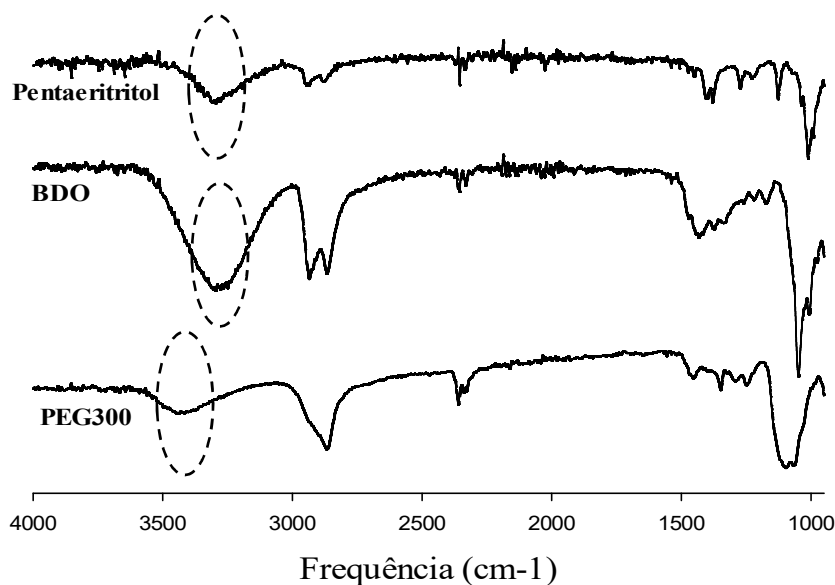
## Anexo J – Análise ATR-FTIR

Nos espectros de ATR-FTIR, os grupos funcionais presentes são identificados pela banda localizada na frequência característica. Na Tabela J.1, estão compiladas as frequências dos grupos funcionais das moléculas em estudo.

**Tabela J.5** Frequência característica da absorção IV para alguns grupos funcionais. (Adaptado de [18]).

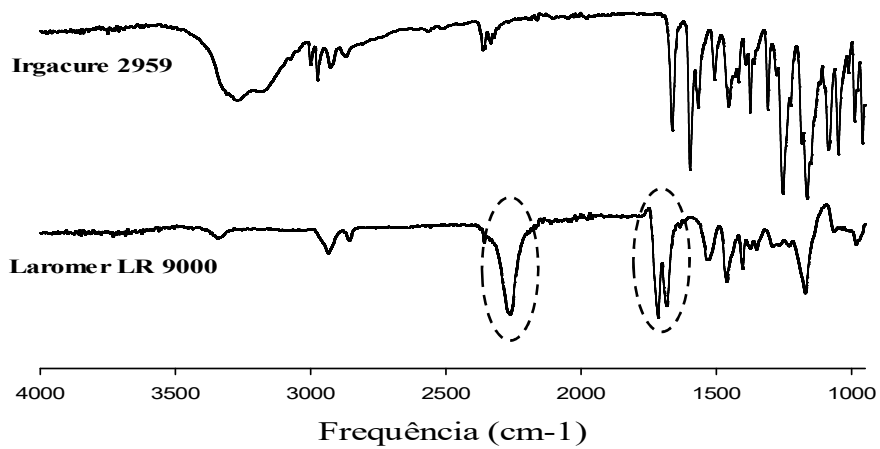
Grupos Funcionais		Frequência (cm <sup>-1</sup> )
OH	Ácidos Carboxílicos Alcôois	3400-2400 ≈ 3650 ou 3400-3300
Ligação éster (C=O)		1750-1735
Isocianatos		≈ 2270
Ligação C=C		1640-1610
Ligação uretana (NH)		3500-3300/3180

Os espectros dos comonómeros usados (PEG300, BDO e pentaeritritol) estão na Figura J.2, sendo visíveis as bandas na zona dos 3400-3300 cm<sup>-1</sup>, correspondentes ao grupo funcional OH.



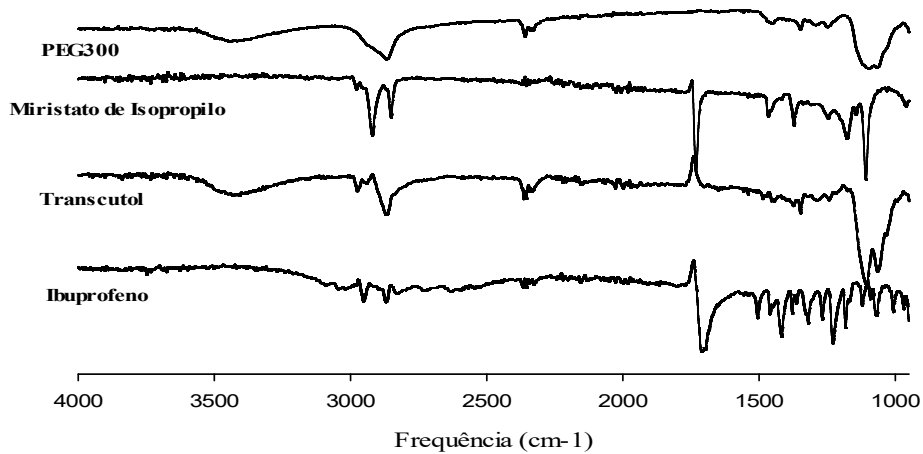
**Figura J.7** Espectros dos comonómeros usados na produção de oligómeros, obtidos por ATR-FTIR.

No espectro do LAR, na Figura J.2, é visível uma banda pronunciada a 2262 cm<sup>-1</sup>, característica dos grupos isocianato, banda esta que deveria desaparecer quando os polímeros são funcionalizados, já que os isocianatos são consumidos por reação com os grupos OH dos oligómeros. No mesmo espectro é possível identificar uma banda a 1722 cm<sup>-1</sup>, correspondente à elongação da ligação C=O e outra a 1685 cm<sup>-1</sup> característica das ligações de carbono duplas (C=C). O segundo espectro na Figura J.2 corresponde ao fotoiniciador Irg 2959.



**Figura J.8** Espectros ATR-FTIR do agente funcional - Laromer<sup>®</sup> LR 9000 e do iniciador- Irgacure<sup>®</sup> 2959.

Na preparação das soluções de fármaco foram utilizados vários excipientes cujos espectros ATR-FTIR são apresentados na Figura J.3.

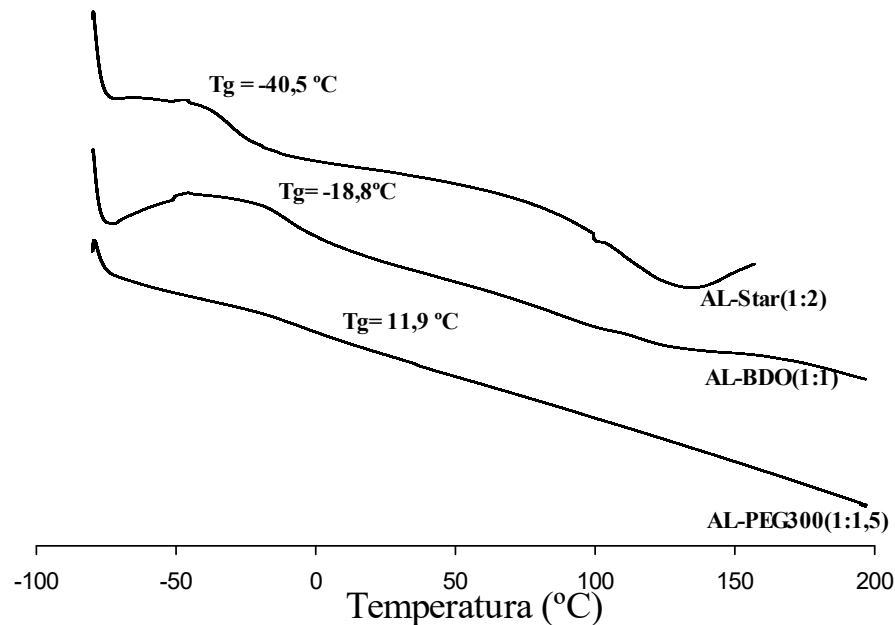


**Figura J.3** Espectros de ATR-FTIR do fármaco e excipientes utilizados na construção das soluções de fármaco.



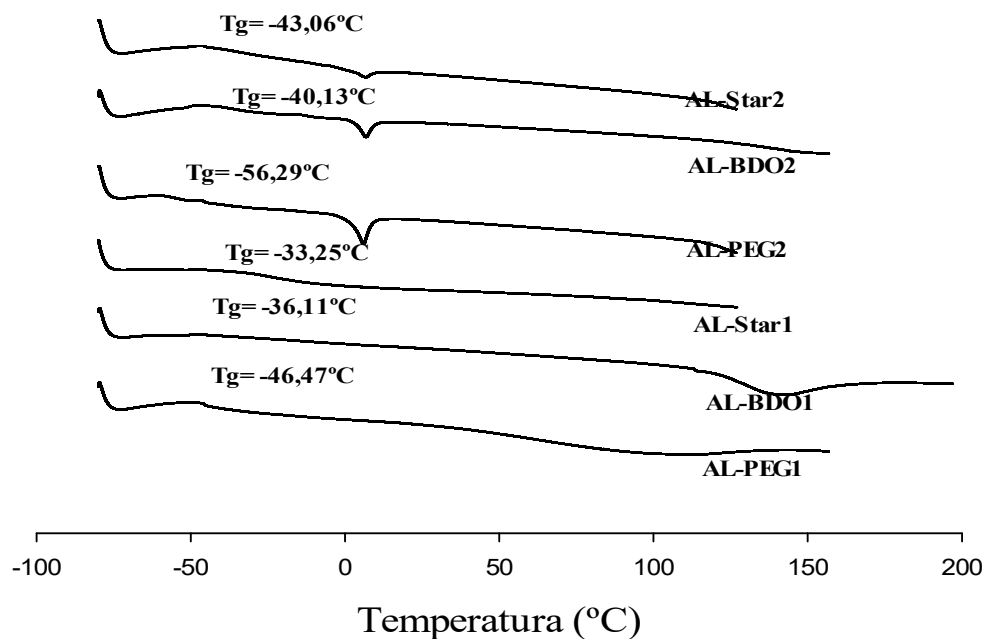
## Anexo K – Análise por calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Na Figura K.1 apresentam-se as curvas de DSC dos adesivos base reticulados. Estas curvas permitiram determinar as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) apresentadas na Tabela 3.3.



**Figura K.9** Curvas de DSC dos adesivos base reticulados e respectivas  $T_g$ .

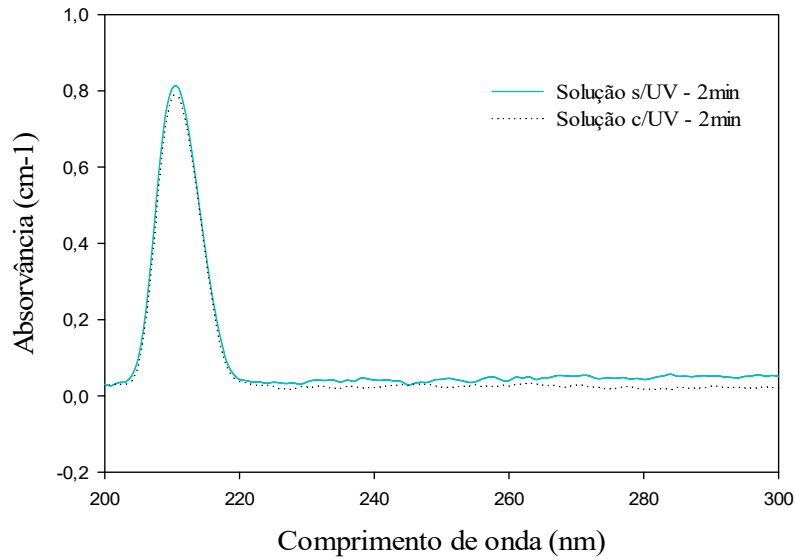
Na Figura K.2 são apresentadas as curvas de DSC e respectivas  $T_g$  dos adesivos com solução de fármaco.



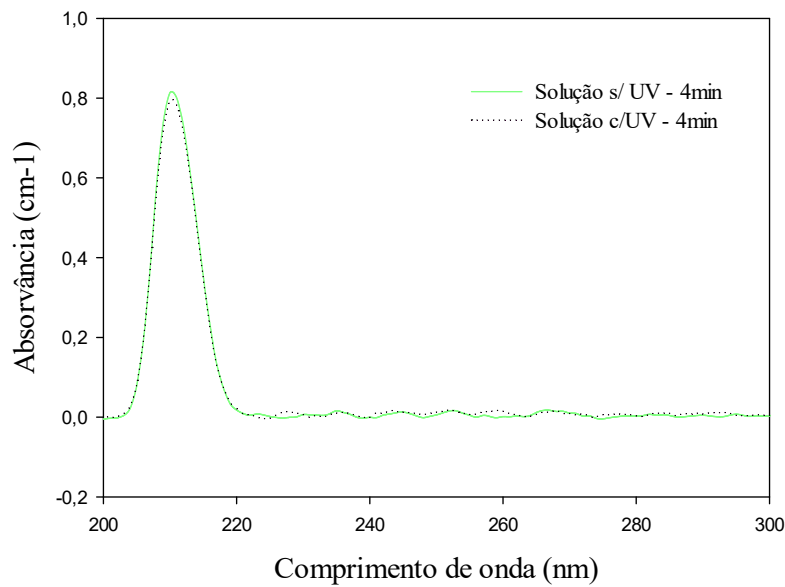
**Figura K.2** Curvas de DSC dos adesivos com fármaco e respectivas  $T_g$ .

## Anexo L – Estudo de degradação de ibuprofeno por UV

Nas Figuras L.1 e L.2 são apresentados os perfis de absorvância de soluções sujeitas ou não a irradiação UV durante 2 e 4 minutos, obtidos por varrimento no espectrofotômetro, respetivamente.



**Figura L.1** Perfis de absorvância de soluções de IBU sujeito, ou não, a irradiação UV durante 2 minutos.



**Figura L.2** Perfis de absorvância de soluções de IBU sujeito, ou não, a irradiação UV durante 4 minutos.