

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

**NANOGÉIS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
ASPIRINA®**

Ricardo Bernardes Baldoni

Agosto de 2016
Itajubá

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA

**NANOGÉIS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
ASPIRINA®**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Materiais para Engenharia.

Área de concentração: Não Metais.

Orientador: Prof. Dr. Alvaro A. Alencar de Queiroz

Agosto de 2016
Itajubá

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA

NANOGÉIS PARA LIBERAÇÃO CONTROLADA DE
ASPIRINA®

Ricardo Bernardes Baldoni

Dissertação aprovada por banca examinadora em 26 de agosto 2016, conferindo ao autor o título de *Mestre em Ciências em Materiais para Engenharia*

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alvaro A. Alencar de Queiroz (Orientador)

Prof. Dra. Daniela Sachs

Prof. Dra. Renata Mendes Moura

Agosto de 2016
Itajubá

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a toda minha família, minha mãe, meus irmãos e meu pai Alberto, a quem dedico este trabalho. Sem os seus conselhos ao longo de toda a vida não teria chegado tão longe. Gostaria de agradecer especialmente a minha parceira de todas as horas, Mariane. Esta conquista é tão sua quanto minha. Sem a sua ajuda, carinho, amor, paciência e apoio incondicional em todos os momentos que não estivemos juntos por conta da realização deste trabalho, não conseguiria. Você foi a peça fundamental para que eu atingisse mais esse objetivo. Muito obrigado!

Gostaria de agradecer também ao Prof. Alvaro que, apesar de todos os percalços, fez com que este trabalho fosse possível por meio de sua orientação e apoio;

À Profa. Daniela Sachs por toda orientação ao longo do período de mestrado e por estar sempre pronta para ajudar;

À Profa. Renata pela disponibilidade e pela análise crítica engrandecedora deste trabalho;

Ao Prof. Rossano pela grande ajuda para obtenção das fotos das microesferas;

Aos amigos do mestrado Thiago, Priscila, Tessa e Charlene por toda a ajuda durante a realização da parte prática deste trabalho;

À empresa em que trabalho atualmente pela disponibilidade e por acreditar em meu potencial;

Por fim, agradeço a todas as pessoas que de qualquer forma contribuíram para que a realização deste trabalho fosse possível.

Obrigado!!

RESUMO

Atualmente, o Brasil está passando por um processo de envelhecimento populacional. As estimativas são de que em 2050, 19% da população brasileira terá mais de sessenta e cinco anos de idade. Dentre as comorbidades que afetam este grupo etário, as doenças cardíacas, em especial, as arritmias cardíacas, merecem destaque. Com o passar dos anos, os pacientes idosos que sofrem com a arritmia cardíaca têm seus quadros agravados, e de maneira geral, os tratamentos são longos e requerem grande disciplina dos pacientes, o que acaba por reduzir a efetividade do tratamento. O presente trabalho aborda a síntese e caracterização do dendrímero de poliglicerol reticulado contendo ácido acetilsalicílico. As microesferas de PGLD-AAS foram preparadas pelo método de reticulação fotoquímica usando o metacrilato de glicidila e o agente de reticulação do PGLD. As microesferas de PGLD-AAS foram caracterizadas através das técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram obtidas microesferas de PGLD-AAS com tamanhos de partículas variando entre 5,6 μm e 90,1 μm . Estudos de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizados para entendimento da natureza cristalina e uniformidade de distribuição do fármaco nas microesferas. O Efeito do tempo de reticulação do PGLD e a cinética de liberação do fármaco encapsulado foram investigadas. O estudo de liberação in vitro do AAS das microesferas de PGLD foi realizado em solução tampão fosfato-salina (pH 7,4) a 37 °C. As taxas de liberação foram ajustadas para um modelo empírico para compreensão dos parâmetros de difusão, que indicaram uma tendência de liberação Fickiana de AAS.

Palavras-chave: Dendrímero de poliglicerol, arritmia cardíaca, ácido acetilsalicílico, liberação controlada de fármacos.

ABSTRACT

Currently, Brazil is going through an ageing process of its population. The estimates are that in 2050, 19% of its population will be older than 65 years old. Among comorbidities that usually affect this age group, heart diseases, especially arrhythmias, deserve attention. Over the years, elderly patients who suffer with arrhythmias have their clinical condition aggravated, and commonly, the treatments are long and require great efforts from the patients, what leads to lower treatment's effectiveness. The present study deals with the synthesis and characterization of cross-linked polyglycerol dendrimer (PGLD) containing the drug acetylsalicylic acid (AAS). The PGLD-AAS microspheres were prepared through the photocrosslinking method using glycidyl methacrylate as the crosslinker agent of the PGLD. The PGLD-AAS microspheres were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). PGLD-AAS microspheres with an average particle sizes ranging from 5.6 μm to 90.1 μm were obtained. Differential scanning calorimetry (DSC) studies were performed to understand the crystalline nature of the drug and its uniform distribution into PGLD microspheres. The effect of the time of PGLD cross-linking and amount of the encapsulated drug on the AAS release kinetics was investigated. The *in vitro* release study of AAS from PGLD microspheres was carried out in phosphate buffer solution (pH-7.4) at 37 °C. The release rates were fitted to an empirical equation to understand the diffusion parameters, which indicate a Fickian trend release of AAS.

Keywords: Polyglycerol dendrimer, Cardiac arrhythmia, Acetylsalicylic acid, controlled drug delivery

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Taxa de Fecundidade Total, Regiões do Brasil, Suécia e Inglaterra – 1900-2000.....	2
Figura 2	- Projeção etária nacional para o ano de 2050.....	3
Figura 3	- Evolução dos Grupos Etários no Brasil.....	3
Figura 4	- Motivos de mortalidade proporcional em idosos por causas nos anos de 1996-2000 e 2006-2010.....	5
Figura 5	- Efeito da Aspirina® na taxa de mortalidade de pacientes com infarto do miocárdio durante um período de 35 dias.....	11
Figura 6	- Morfologia das Plaquetas.....	17
Figura 7	- Mecanismo de adesão plaquetária.....	19
Figura 8	- Mecanismo da Aspirina® na agregação plaquetária.....	21
Figura 9	- Dendrímero de PAMAN de terceira geração.....	23
Figura 10	- Dendrímero de poliglicerol (PGLD).....	24
Figura 11	- DSC 60 Plus – Shimadzu Corporation.....	31
Figura 12	- Termobalança TGA 50 – Shimadzu Corporation.....	31
Figura 13	- Microscópio Eletrônico de Varredura SUPERSCAN SS-50 – Shimadzu Corporation.....	32
Figura 14	- Metalizador IONCOATER IC-50 – Shimadzu Corporation.....	33
Figura 15	- Espectrofotômetro UV-VIS CARY 50 – Varian Inc./Agilent Technologies.....	33
Figura 16	- Espectrômetro IRT Tracer 100 equipado com atenuados de reflexão – Shimadzu Corporation.....	34
Figura 17	- Ilustração do procedimento experimental para obtenção das microesferas PGD-AAS.....	35
Figura 18	- Reação de obtenção do ácido acetilsalicílico.....	39
Figura 19	- Dendrímero de poliglicerol.....	40
Figura 20	- Espectros de absorção no infravermelho para a Aspirina® e gel de PGLD-AAS.....	41
Figura 21	- Curvas termogravimétricas dos precursores Aspirina® e PGLD-AAS.....	43
Figura 22	- Espectro de absorção no infravermelho das microesferas de PGLD-AAS	44
Figura 23	- Curva termogravimétrica das microesferas de PGLD-AAS.....	46
Figura 24	- Curva DSC das microesferas de PGLD-AAS.....	46
Figura 25	- Micrografias MEV das microesferas de PGLD-AAS obtidas no presente trabalho.....	47
Figura 26	- Distribuição de tamanhos das microesferas de PGLD-AAS obtidas a partir de micrografia MEV.....	49
Figura 27	- Curva de Calibração para o estudo da liberação do AAS do sistema PGLD-AAS.....	50
Figura 28	- Perfil de liberação do AAS do sistema PGLD-AAS.....	51
Figura 29	- Regressão linear para obtenção do coeficiente de difusão do sistema. MPGLD ₁₀ e MPGLD ₂₀₀	54
Figura 30	- Regressão linear para obtenção do coeficiente de Fick do sistema.....	56
Figura 31	- Valores de coeficiente de difusão em relação ao diâmetro médio das amostras de microesferas.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Utilização de anticoagulantes na fibrilação atrial persistente.....	10
Tabela 2	-	Concentrações de ASS utilizadas para elaboração da curva de calibração	36
Tabela 3	-	Distribuição de tamanhos para amostras de microesferas.....	48
Tabela 4	-	Quartis para distribuição de tamanho das amostras de microesferas.....	48
Tabela 5	-	Expoente n e mecanismo de liberação de fármaco envolvido.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	-	Ácido acetilsalicílico
ADP	-	Fosfato de Adenosina
AFASAK	-	Estudo de Fibrilação Atrial, Aspirina e Anticoagulação de Copenhagen
ATP	-	Trifosfato de Adenosina
AVC	-	Acidente Vascular Encefálico
BAATAF	-	Teste de Anticoagulação Para Fibrilação Atrial da área de Boston
CAFA	-	Estudo Canadense de Anticoagulação na Fibrilação Atrial
COX 1	-	Ciclo-oxigenase – 1
COX 2	-	Ciclo-oxigenase – 2
DCV	-	Doenças Cardiovasculares
DSC	-	Calorimetria exploratória diferencial
FA	-	Fibrilação Atrial
FDA	-	Food and Drug Administration
FIXa	-	Complexo fator tenase
FIXa	-	Fator de Christmas
FT-IR	-	Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier
FTIR/ATR	-	Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada
FVIIIa	-	Fator anti-hemofílico
FXa	-	Complexo fator protrombinase
FXI	-	ATP
G4	-	4ª Geração
GPIb-IX-V	-	Glicoproteína Ib-IX-V
GPV	-	Glicoproteína
GPVI	-	Glicoproteína VI
MEV	-	Microscopia eletrônica de varredura
MPGLD ₁₀	-	Microesferas de poliglicerol dendrítico obtidas a partir de 10 minutos de exposição à radiação UV
MPGLD ₂₀₀	-	Microesferas de poliglicerol dendrítico obtidas a partir de 200 minutos de exposição à radiação UV
PAA	-	Poli(ácido acrílico)
PAMAN	-	Poli(amidoamina)
PBS	-	Solução buffer fosfato-salina
PEG	-	Poli(etileno glicol)
PEVA	-	Poli (etileno-co-acetato de vinila)
PG	-	Prostaglandina
PGD2	-	Prostaglandina D2
PGE2	-	Prostaglandina E2
PGF2	-	Prostaglandina F2 – alfa
PGH2	-	Prostaglandina H2
PGI2	-	Prostaciclina
PGLD	-	Dendrímero de poliglicerol
PHEMA	-	Poli(metacrilato de 2-hidroxietila)
PVA	-	Poli(álcool vinílico)
SCA	-	Sistema Canicular Aberto
SPAF	-	Estudo I da Prevenção de Acidentes Vasculares na Fibrilação Atrial dos EUA
SPAF II	-	Estudo II da Prevenção de Acidentes Vasculares na Fibrilação Atrial dos EUA

SPAF III	-	Estudo III da Prevenção de Acidentes Vasculares na Fibrilação Atrial dos EUA
TEE	-	Transição de Estrutura Etária
TFPI	-	Inibidor da via do fator Tecidual
TG/DTG	-	Curva termogravimétrica/ termogravimétrica derivada
TGA	-	Análise termogravimétrica
TXA2	-	Tromboxano A2
UV	-	Radiação Ultravioleta
vWF	-	Fator de von Willebrand

LISTA DE SÍMBOLOS

%	-	Percentual
∇^2	-	Operador Laplaciano
\vec{v}	-	Velocidade média de escoamento do fluido
μm	-	Micrometros
b	-	Raio das microesferas de PGLD-AAS
cm^{-1}	-	Número de onda
d	-	Constante do sistema
D	-	Coefficiente de difusão de Fick
J	-	Fluxo de átomos
K	-	Constante característica do sistema
LN	-	Logaritmo natural
M^2	-	Metro quadrado
M_i	-	Massa de Aspirina® liberada do sistema PGLD-AAS no equilíbrio
min	-	Minutos
M_m	-	Massa de microesferas
M_{me}	-	Massa de Aspirina® encapsulada na microesfera
M_o	-	Massa inicial de Aspirina®
Mol.L^{-1}	-	Concentração em mols por litro
MPGLD	-	Massa inicial e PGLD
M_t	-	Massa de Aspirina® liberada do sistema PGLD-AAS no instante t
MT	-	Massa total de microesferas no processo
M_t/M_i	-	Fração em massa de Aspirina® liberada do sistema PGLD-AAS
mW/g	-	MiliWatts por grama
n	-	Expoente característico do tipo de transporte envolvido, n de Fick
$^{\circ}\text{C}$	-	Graus Celsius
Q_1	-	Primeiro quartil
Q_2	-	Segundo quartil
Q_3	-	Terceiro quartil
R	-	Número de Reynolds
s	-	Segundo
t	-	Instante de tempo
ΔH	-	Varição entálpica
η	-	Coefficiente de viscosidade do fluido
ρ	-	Densidade do fluido

SUMÁRIO

1	MOTIVAÇÃO PARA O TRABALHO.....	1
1.1	AUMENTO DA POPULAÇÃO IDOSA BRASILEIRA E DOENÇAS CARDÍACAS.....	2
1.2	ARRITMIA CARDÍACA E O NÚMERO DE REYNOLDS.....	5
1.3	PROCESSO DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA NA ARRITMIA CARDÍACA....	7
1.4	UTILIZAÇÃO DA ASPIRINA® PARA O “TRATAMENTO” DE ARRITMIAS CARDÍACAS.....	8
1.5	UTILIZAÇÃO E EFEITOS DA ASPIRINA® EM IDOSOS.....	10
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
2	O PAPEL DA ARRITMIA NO PROCESSO DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA.....	15
2.1	ASPECTOS ESTRUTURAIS E BIOFUNCIONAIS DAS PLAQUETAS SANGÜÍNEAS.....	16
2.2	MECANISMO DE ADESÃO PLAQUETÁRIA NA ARRITMIA CARDÍACA.....	18
2.3	MECANISMO DA ASPIRINA® NO PROCESSO DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA.....	20
2.4	DISPOSITIVOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE ASPIRINA®.....	21
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
3	OBJETIVOS DO TRABALHO.....	27
3.1	OBJETIVOS GERAIS.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	MATERIAIS.....	30
4.1.1	Aspirina®.....	30
4.1.2	Poliglicerol dendrítico contendo AAS.....	30
4.2	EQUIPAMENTOS.....	30
4.3	MÉTODOS.....	34

5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS PRECURSORES AAS E PGLD-AAS.....	39
5.1.1	Análise de espectroscopia vibracional (FTIR/ATR).....	39
5.1.2	Análise termogravimétrica.....	42
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MICROESFERAS DE PGLD-AAS.....	44
5.2.1	Análise de espectroscopia vibracional (FTIR/ATR).....	44
5.2.2	Análise termogravimétrica e de calorimetria exploratória diferencial.....	45
5.3	CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS MICROESFERAS DE PGLD-AAS.....	47
5.4	ESTUDO DA LIBERAÇÃO DO AAS DO SISTEMA PGLD-AAS.....	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
6	CONCLUSÕES.....	61
6.1	CONCLUSÕES.....	62
7	PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	63
7.1	PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	64

MOTIVAÇÃO PARA O TRABALHO

Este trabalho visa o desenvolvimento de microesferas para a liberação controlada de Aspirina® como uma possível alternativa para o tratamento de arritmia cardíaca em idosos em substituição a terapia convencional. A arritmia cardíaca, em especial a fibrilação atrial, acomete grande parte da população idosa no mundo e é apontada como um dos grandes precursores para os eventos tromboembólicos que acometem este grupo populacional. Desta forma, o presente capítulo resume os fatores motivacionais que impulsionaram a realização deste trabalho, como o aumento da população idosa brasileira, a utilização da Aspirina® como agente terapêutico das arritmias cardíacas e seus efeitos quando utilizada no tratamento de arritmia em idosos e ainda alguns conceitos fundamentais relacionados a arritmia cardíaca que servirão como embasamento teórico para o desenvolvimento do trabalho.

1

Aumento da população idosa brasileira e doenças cardíacas

Arritmia cardíaca e o número de Reynolds

Processo de ativação plaquetária na arritmia cardíaca

Utilização da Aspirina® para o “tratamento” de arritmias cardíacas

Utilização e efeitos da Aspirina® em idosos

1.1 Aumento da população idosa brasileira e doenças cardíacas

Atualmente, o Brasil está passando por um processo de Transição de Estrutura Etária (TEE) extremamente rápido, caracterizado pela redução na proporção de indivíduos mais jovens e aumento da proporção de indivíduos idosos, ou seja, o Brasil passa por um processo de envelhecimento populacional. Conforme mencionado por Nasri (2008), o Brasil passa por um processo de transição demográfica similar ao Europeu, caracterizado pela redução da fecundidade, porém com diferenças significativas com relação ao período histórico em que ambos ocorreram. Conforme relatado por Wong e Carvalho (2006), a transição de estrutura etária no Brasil se iniciou entre os anos Quarenta e Sessenta, período no qual a população brasileira experimentou redução significativa na mortalidade com taxa de fecundidade constante. A partir da segunda metade da década de Sessenta, a contínua redução na taxa de fecundidade tem contribuído para a redução deste índice em passos surpreendentes em comparação com alguns países da Europa, como Inglaterra e Suécia, que levaram cerca de seis décadas para reduzir seus índices de fecundidade. O Brasil em contrapartida, experimentou declínio similar em apenas um quarto de século. A Figura 1 ilustra a referida redução em comparação com países desenvolvidos:

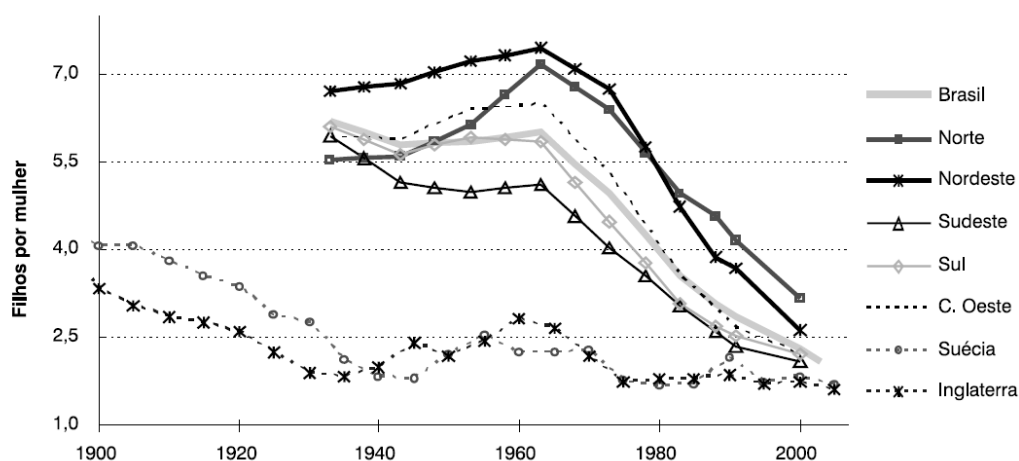


Figura 1: Taxa de Fecundidade Total, Regiões do Brasil, Suécia e Inglaterra – 1900-2000.

Fonte: Adaptado de Wong e Carvalho (2006).

Nasri (2008) informa que o grupo etário de cinco a nove anos declinou de quatorze para doze por cento entre os anos de 1970 e 1990. Neste período, o número de crianças com idade inferior a cinco anos reduziu de quinze para onze por cento. No ano 2000, ambos grupos representavam, cada um, nove por cento da população total. Em contrapartida, o grupo etário

composto por pessoas com idade acima de sessenta e cinco anos cresceu de três e meio por cento em 1970 para cinco e meio por cento em 2000. Estima-se que a população dentro deste grupo etário represente dezanove por cento da população nacional em 2050. Estes fatos levarão a uma mudança drástica no padrão da pirâmide etária brasileira, conforme ilustra a Figura 2:

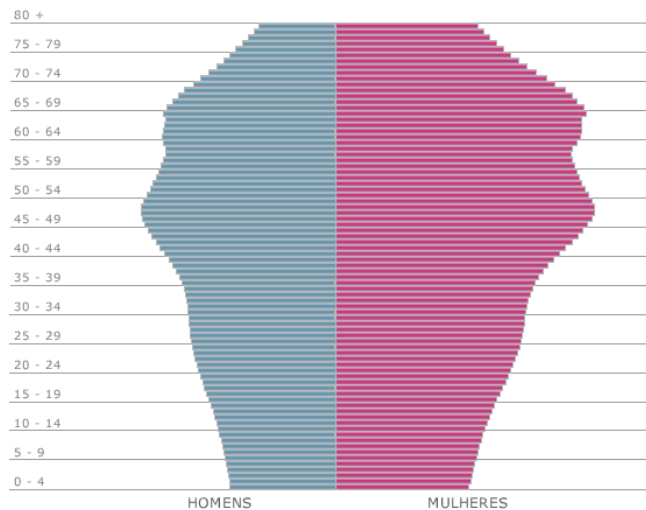


Figura 2: Projeção etária nacional para o ano de 2050.
Fonte: IBGE (2016).

Outro ponto destacado por Nasri (2008) que também deve ser levado em consideração é o próprio envelhecimento da população idosa, onde é possível observar que em 2050, idosos acima de oitenta anos representarão vinte e oito por cento do total deste grupo etário. A Figura 3 ilustra a previsão de evolução dos grupos etários no Brasil até o ano de 2030:

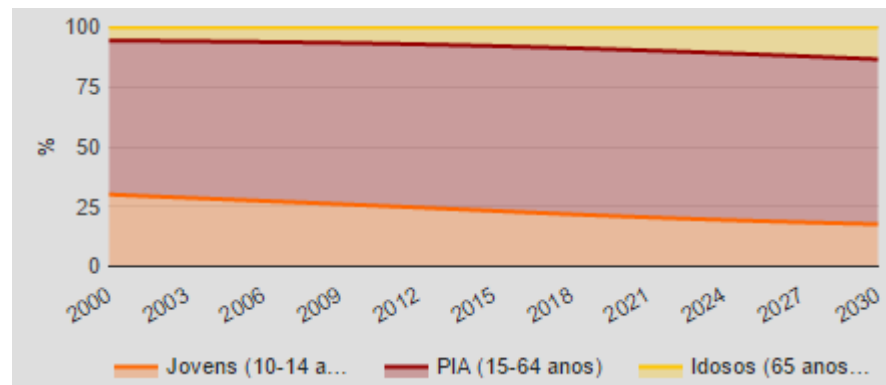


Figura 3: Evolução dos Grupos Etários no Brasil – 2000 a 2030.
Fonte: IBGE (2016).

Outro aspecto de importância para a caracterização da população idosa brasileira é a relação entre o número de pessoas idosas do sexo masculino e feminino. Camarano (2002) relata que a “feminização da velhice” é decorrente da menor longevidade do sexo masculino na composição por sexo deste grupo etário. Nasri (2008) destaca que para cem mulheres idosas havia oitenta e um homens idosos, enquanto que em 2050 estima-se que no grupo acima de 80 anos teremos duas idosas para cada idoso.

Em decorrência da presente transição demográfica brasileira, caracterizada pelo aumento da população de idosos, a análise do perfil epidemiológico desta população se faz de extrema importância. Conforme mencionado por Camarano (2002), entre 1980 e 1997 as principais causas de morte entre a população de idosos está relacionada com doenças do aparelho circulatório, seguida de doenças do aparelho respiratório e neoplasmas. Conforme estudos de Cabrera, Andrade e Wajngarten (2007) durante um período de acompanhamento de um grupo de específico de idosos durante nove anos, entre 1997 e 2007, as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 42,3% do total de óbitos contabilizados no período em estudo, seguido também por doenças respiratórias e neoplasmas. Outras referências, como as de Costa, Guerra, Barreto e Guimarães (2000), Caetano et.al (2008), Zaslavsky e Gus (2002) e de Costa, Peixoto e Giatti (2004) também retratam as doenças cardiovasculares (DCV) como as principais causas de mortalidade em idosos. Conforme relatado por Piuvezam et.al. (2015) é possível observar além da prevalência, um aumento do índice de mortalidade em idosos por doenças cardiovasculares ao longo do tempo. A Figura 4 ilustra o aumento proporcional do índice de mortalidade em idosos por decorrência de doenças cardiovasculares nos períodos de 1996 a 2000 e de 2006 a 2010 em relação a demais causas de morte registradas no período. Ressalta-se que IX representa a mortalidade proporcional decorrente de doenças cardíacas, II neoplasias e X doenças do aparelho respiratório.

Dentre as diversas doenças cardiovasculares presentes em idosos, a arritmia cardíaca merece destaque. Conforme mencionado por Stern, Behar e Gottlieb (2003), a fibrilação atrial e as arritmias ventriculares são presentes e tem seus quadros agravados com o avanço da idade dos pacientes. A medida que os anos vão passando, o organismo das pessoas idosas passa por transformações que as tornam suscetíveis a esta classe de doenças.

Em decorrência do aumento da população de idosos no Brasil e por decorrência das doenças cardíacas inerentes a esta classe de indivíduos, o estudo de materiais e tecnologias aplicáveis em idosos visando o tratamento destas doenças se faz fundamental.

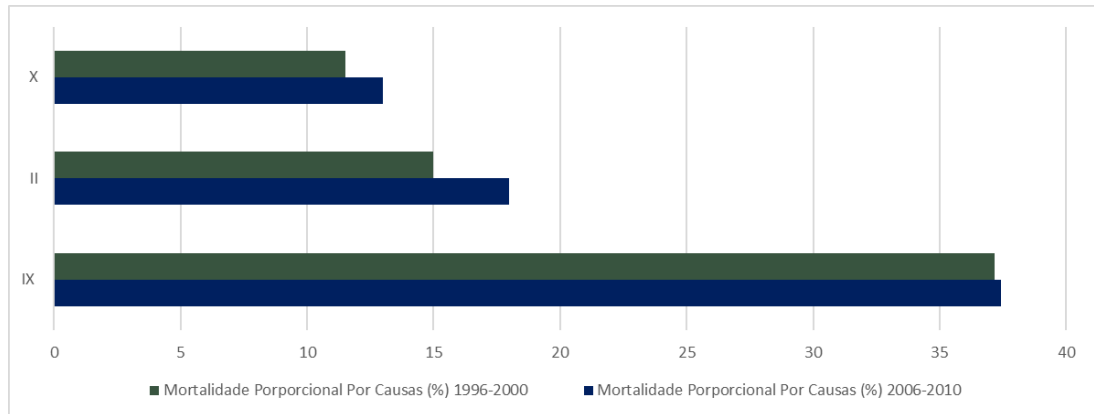


Figura 4: Motivos de mortalidade proporcional em idosos por causas nos anos de 1996-2000 e 2006-2010.
Fonte: Adaptado de Piuvezam (2015).

1.2 Arritmia cardíaca e o número de Reynolds

O escoamento de fluídos é um efeito dinâmico, e seu movimento é definido pela velocidade de escoamento \vec{v} e pela densidade ρ do fluído. Se em qualquer instante, em qualquer ponto do fluído, sua velocidade \vec{v} é constante, seu escoamento é permanente. Se \vec{v} não for constante, seu escoamento é variado (DURAN, 2003). O escoamento de fluídos mais simples é o lamelar, no entanto, se a sua velocidade de escoamento atingir um determinado valor crítico, pode se tornar altamente irregular e se tornar turbulento, passando a ter como característica um aumento bastante pronunciado na resistência ao escoamento. Estas alterações de tipo de escoamento ocorrem por conta de uma combinação de quantidades que excedem o valor crítico, sendo esta combinação chamada de número de Reynolds (DURAN, 2003). Sendo ρ a densidade do fluído, η seu coeficiente de viscosidade, o número de Reynolds pode ser definido como:

$$R = \frac{\rho d}{\eta} \vec{v} \quad (1)$$

Sendo \vec{v} a velocidade média do fluído e d uma característica do sistema.

Duran (2003) informa que de maneira geral, quando R é $<$ que 2.000, o escoamento é lamelar, quando R é $>$ 2.000 passa a ser turbulento. Considerando nosso organismo, o sangue também segue as mesmas características dos fluidos estudados por Osborne Reynolds. Guyton e Hall (2012) informam que quando o sangue flui de forma estável por um vaso sanguíneo longo, ele se comporta como linhas de corrente ao longo do vaso e possui escoamento laminar. Quando o sangue passa a escoar em regime turbulento, o sangue passa a fluir em todas as

direções do vaso e a se misturar continuamente em seu interior. A viscosidade do sangue é normalmente 1/30 poise e a densidade é próxima a 1 (GUYTON e HALL, 2012). Quando R atinge valores entre 200 e 400, ocorre fluxo turbulento em alguns ramos de vasos, no entanto, quando atinge valores em torno de 2.000, apresenta turbulência em vasos retos e lisos. Sob certas condições, o fluxo sanguíneo pode apresentar fluxo turbulento, como quando a intensidade do fluxo é muito elevada ou o quando o sangue passa por uma obstrução no vaso, por ângulo fechado ou por superfície áspera. Stain e Sabbah (1976) informam que a ocorrência de fluxo sanguíneo turbulento pode ocorrer também por decorrência do processo de adesão plaquetária e que pode contribuir para formação de trombos. Quando o fluxo se torna turbulento, a resistência ao fluxo do sangue é muito maior por conta do atrito total do fluxo no vaso (GUYTON e HALL, 2012), o que pode danificar o tecido endotelial dos vasos e desencadear o processo de adesão plaquetária.

De acordo com Duran (2003) a equação 1 pode ser aplicada para corpos de determinados formatos que se deslocam dentro de um fluido, neste caso d será o comprimento característico do corpo. Nesta condição, a transição entre fluxo laminar e turbulento vai depender do ângulo entre uma linha horizontal de referência e o centro do corpo com as linhas de contato entre o corpo e o fluido.

Conforme relatado por Guazzi e Arena (2009), a arritmia cardíaca altera a hemodinâmica do organismo, acarretando em fluxo turbulento ao longo dos vasos. Segundo Kochiadakis et.al (2002) a fibrilação atrial é caracterizada por uma falta de contração atrial e por um ritmo cardíaco irregular e acelerado, condições que contribuem para variação da circulação sanguínea. Estudos de Takahashi et.al (2001), Clark et.al (1997) e de Stein e Sabbah (1976) correlacionam variações nas características hemodinâmicas do fluxo sanguíneo por decorrência de complicações de fibrilação atrial, embora sem computar valores de número de Reynolds para estas condições.

Por meio das informações apresentadas, é possível afirmar que a arritmia cardíaca contribui para a ocorrência de fluxo sanguíneo turbulento pelo seu potencial de contribuição ao processo de adesão plaquetária e formação de trombos. Estes mecanismos serão explicados nos capítulos seguintes.

1.3 Processo de ativação plaquetária na arritmia cardíaca

A fibrilação atrial (FA) é a arritmia cardíaca mais comum entre os pacientes que apresentam anormalidades no ritmo cardíaco. O caráter trombogênico deste tipo de arritmia pode ser melhor compreendido ao se tomar por referência as componentes da tríade de Virchow para a trombogênese, sendo elas: alterações no fluxo sanguíneo, alterações nos componentes sanguíneos e alteração nas paredes venosas. É sabido que a FA confere um estado hipercoagulante e que as plaquetas sanguíneas, bem como seus mecanismos normais de ativação e adesão, podem ser influenciadas por essa condição. As plaquetas sanguíneas possuem papel importante na resposta hemostática do nosso organismo. A adesão plaquetária e alteração de forma das plaquetas são as primeiras respostas fisiológicas ao estímulo plaquetário. Após a agregação plaquetária, existe uma tendência de deposição de filmes de fibrina sobre as plaquetas, o que resulta na formação de trombos. O mecanismo de ativação plaquetária desencadeia a transformação dos complexos de glicoproteínas IIb e IIIa numa forma em que se tornem favoráveis à ligação de fibrogênio. A associação entre a FA e outras doenças cardíacas potencializa o risco de ocorrência de AVC e tromboembolismo de maneira significativa. Este fenômeno pode ser, ao menos em parte, explicado por alterações no processo de ativação plaquetária e coagulação na presença destas condições (KAMATH, BLANN, LIP, 2001).

A fibrilação atrial é caracterizada por anomalias do fluxo sanguíneo, decorrentes do aumento da estase sanguínea no átrio esquerdo, alterações macroscópicas e microscópicas no átrio esquerdo, como aumento da expressão do fator de von Willebrand (vWF) e fatores de tecido no endocárdio e endotélio e por fim por anomalias relacionadas à ativação plaquetária e cascata de coagulação (CHOUDHURY, CHUNG, BLANN e LIP, 2007). Embora seja possível observar um aumento da ativação plaquetária em indivíduos diagnosticados com FA, o mecanismo que explica o fenômeno ainda é alvo de estudos (WILLOUGHBY et.al, 2010). Conforme relatado por Kamath, Blann e Lip (2001) existem estudos que demonstram o aumento do número de plaquetas expressando P-selectina e dos níveis de plasma de β -tromboglobulina em indivíduos diagnosticados com eventos trombóticos no átrio esquerdo, possivelmente relacionados com o aumento da estase sanguínea decorrente da FA. Willoughby et.al (2010) em seu estudo também relata um número maior plaquetas expressando P-selectina e também uma maior adesão plaquetária presentes em amostras de sangue coletadas do átrio esquerdo em indivíduos diagnosticados com FA, reforçando a evidência de anormalidades na ativação

plaquetária relacionadas a arritmias cardíacas. Embora a FA atinja os dois átrios, fatores como alterações no tamanho e funções mecânicas do átrio esquerdo, alinhados com alteração no fluxo sanguíneo (turbulento) e saturação de oxigênio no átrio esquerdo podem explicar as alterações na ativação/agregação plaquetária presentes na FA (WILLOUGHBY et.al, 2010). Adicionalmente, pelos estudos de Kamath et.al (2002), é possível observar que pela análise de diferentes aspectos presentes no mecanismo de ativação plaquetária como descarga de grânulos alfa (β -tromboglobulina), liberação de componentes da membrana plasmática (sGPV), agregação ex-vivo em relação ao fibrogênio e substituição intravascular de fibrina e, adicionalmente, pela identificação de níveis anormais de plasma das membranas superficiais das plaquetas, gpV, é possível afirmar que indivíduos diagnosticados com FA apresentam níveis anormais em relação a ativação plaquetária.

Embora existam evidências de anormalidades na ativação plaquetária decorrentes da FA, o mecanismo que rege o fenômeno ainda não é totalmente conhecido, sendo difícil creditar os eventos trombogênicos presentes em indivíduos diagnosticados com arritmia cardíaca à ocorrência da fibrilação atrial. Estudos mostram indícios da compatibilidade de fatores relacionados a FA com a tríade de Virchow, no entanto estes fatores podem ser consubstanciais a outras doenças cardíacas associadas a FA.

1.4 Utilização da Aspirina® para o “tratamento” de arritmias cardíacas

Conforme relatado por Atié (2001), as arritmias cardíacas são condições associadas a sintomas de palpitações, piora do desempenho cardíaco, choque circulatório e morte súbita. Laupacis et.al (1995) relata que a partir dos quarenta anos de idade, o aumento à prevalência das arritmias cardíacas, sobretudo a fibrilação atrial, pode ser observada. Este aumento é ainda maior a partir dos sessenta e cinco anos de idade, sendo que sete a quatorze por cento da população idosa dos EUA é acometido por este tipo de arritmia.

A média de idade dos idosos que sofrem de arritmia é de setenta e cinco anos nos EUA. Laupacis et.al (1995) ainda informa que o risco de uma pessoa que sofre de fibrilação atrial sofrer um acidente vascular encefálico (AVC) é seis vezes maior do que em pessoas que não são acometidas pela doença. Atié (2001) informa que para o tratamento da fibrilação atrial em idosos, o emprego de dois tipos básicos de drogas é bastante comum, sendo elas as drogas

destinadas a inibir a coagulação sanguínea, como exemplo a Varfarina, e as aplicadas visando inibir a função plaquetária, a exemplo a Aspirina®.

A Aspirina® inibe o tromboxano A₂, inibindo assim a agregação plaquetária. Atié (2001) relata que por conta de a fibrilação atrial ser o tipo de arritmia mais presente em idosos e estar altamente relacionada a fenômenos tromboembólicos, chegando a se imputar que trinta e um por cento dos acidentes vasculares isquêmicos na população de idosos com mais de oitenta anos de idade são decorrentes deste tipo de arritmia, a faz ser alvo de grandes estudos em relação à formação de trombos e embolia sistêmica e pulmonar, e também, em relação a definição da melhor estratégia para a profilaxia dos acidentes tromboembólicos nesta população. Laupacis et.al (2001) retrata que grandes estudos com foco na terapia antitrombótica foram realizados, dentre eles o estudo de Fibrilação Atrial, Aspirina e Anticoagulação de Copenhagen (AFASAK), o estudo da Prevenção de Acidentes Vasculares na Fibrilação Atrial dos EUA (SPAF, SPAF II, SPAF III), o Teste de Anticoagulação Para Fibrilação Atrial da área de Boston, nos EUA (BAATAF) e o Estudo Canadense de Anticoagulação na Fibrilação Atrial (CAFA). Estes estudos visaram comparar a eficácia em relação aos riscos do uso de drogas como a Varfarina e Aspirina® em relação a terapia antitrombótica na fibrilação atrial, com destaque para o AFASAK e SPAF.

Conforme relatado por Lavitola et.al (2010), os referidos “grandes estudos” apontaram a Varfarina como a mais eficaz no tratamento da fibrilação atrial, no entanto, o excesso de cuidados que devem ser adotados pelos pacientes e visitas periódicas a clínicas e consultórios médicos para manutenção do tratamento fazem com que os pacientes deixem de aderir ao tratamento ao longo do tempo. Neste sentido, o tratamento antitrombótico com a Aspirina® é mais simples, o que pode indicar uma maior efetividade do seu tratamento. Laupacis et.al (1995), também destaca que os estudos AFASAK e SPAF indicam que anticoagulantes são duas vezes mais efetivos que a Aspirina® para o tratamento da fibrilação atrial, porém a análise dos eventuais riscos atrelados ao uso de anticoagulantes, sobretudo o risco de hemorragia intracraniana, devem ser levados em consideração em relação aos benefícios do tratamento. Desta forma, Carverley (2001), relata que a aplicação da Aspirina® passa a ser indicada para o tratamento de fibrilação atrial em pacientes idosos propensos a hemorragias e nos quais os benefícios da Varfarina sejam irrelevantes em relação aos da Aspirina®. Atié (2001) resume as indicações do uso de Aspirina® e Varfarina para o tratamento da fibrilação atrial persistente:

Tabela 1: Utilização de Anticoagulantes na fibrilação atrial persistente.

Idade	Risco (*)	Recomendação
< 65 anos	Baixo	AAS
	Moderado	AAS ou Varfarina
	Alto	Varfarina
65 a 75 anos	Sem Fator de Risco	AAS ou Varfarina
	Baixo, Moderado ou Alto	Varfarina
> 75 anos	Todos os Pacientes	Varfarina

Fonte: Adaptado de Atié (2001).

(*) A Aspirina® deve ser utilizada na dose de 325 mg/dia. A Varfarina deve ser utilizada na dose individual de forma a manter o INR entre 2 e 3. **Alto Risco:** doença reumática, embolias prévias, hipertensão arterial sistólica > 160 mmHg, insuficiência cardíaca ou disfunção ventricular previamente identificada. **Risco Moderado:** diabetes, doença tireoidiana, doença vascular periférica, átrio esquerdo > 5cm. **Baixo Risco:** Sem nenhum fator de risco e idade inferior a 65 anos.

Em resumo, diversos estudos foram realizados visando comparar a eficácia entre as diversas drogas utilizadas para o tratamento da fibrilação atrial, com destaque para a Varfarina e Aspirina®, sendo a primeira a mais indicada para o tratamento em pacientes com maior propensão a acidentes vasculares e idade superior a setenta e cinco anos de idade, em função da sua maior eficácia. Nos pacientes em que os riscos inerentes ao uso da Varfarina (maior propensão a hemorragias) não justifiquem os benefícios do tratamento, e o risco de acidentes vasculares são intermediários ou mínimos, a Aspirina® é a melhor opção. A adequação do paciente ao tratamento também é fator importante para escolha da droga a ser utilizada no tratamento de fibrilação atrial e deve sempre ser levada em consideração no início do tratamento.

1.5 Utilização e efeitos da Aspirina® em idosos

Com o passar dos anos, o indivíduo tende a ser tornar cada vez mais dependente do uso de medicamentos (PILOTTO et.al, 2003). Conforme mencionado por Krumholz, Chen e

Radford (2001), diversos estudos mostram que a Aspirina® é eficaz no tratamento de pacientes com doenças cardíacas em função da frequência e dosagem utilizada. No entanto, uma revisão com relação aos efeitos decorrentes do uso deste medicamento em idosos deve ser levada em consideração. Como exemplo, o estudo de Lee et.al (2010) retrata a alta utilização da Aspirina® em idosos, decorrente da recomendação de utilização deste medicamento em pacientes diagnosticados com doenças cardíacas e/ou com propensão ao desenvolvimento das mesmas, no entanto não retrata os riscos envolvidos na utilização contínua deste medicamento. Calverley (2001) retrata alguns efeitos indesejados que estão relacionados ao uso da aspirina. Estes estão relacionados a complicações cardiovasculares e cerebrovasculares inerentes a ação inibidora do mecanismo plaquetário no organismo, e dentre eles Calverley (2001) cita o sangramento intracraniano e gastrointestinal (extracraniano).

Os efeitos gastrointestinais estão relacionados com relação de dependência entre a dose aplicada e a inibição da enzima constitutiva ciclo-oxigenase na mucosa gástrica e também com a inibição da produção de tromboxano A₂. O uso de Aspirina® e de outros anti-inflamatórios não-esteroidais aumenta em quatro vezes o risco de sangramento gastrointestinal (CALVERLEY, 2001). Paganini-Hill (1989) retrata também uma possível relação entre o uso diário de aspirina com o desenvolvimento de câncer da pélvis renal e isquemia cardíaca em seu estudo com um grupo de idosos. Calverley (2001) retrata que a Aspirina® reduz a síntese renal dos vasodilatadores PGs, prejudicando o controle da pressão arterial em pacientes diagnosticados com quadros de hipertensão e contribui para o aumento do risco de desenvolvimento de doenças renais crônicas. Calverley (2001) cita que os efeitos positivos da Aspirina® podem variar de acordo com a idade dos pacientes. Analisando diferentes grupos de idosos, é possível observar que os efeitos positivos da Aspirina® podem variar com o aumento da idade, conforme a Figura 5:

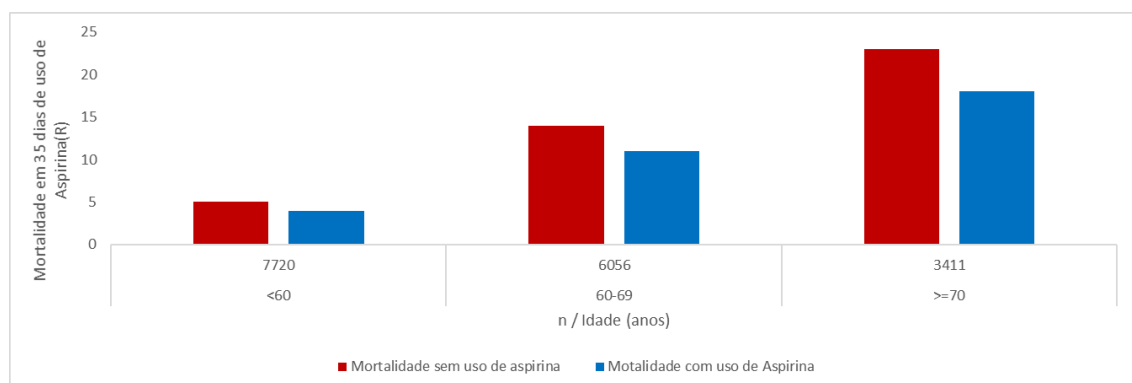


Figura 5: Efeito da Aspirina® na taxa de mortalidade de pacientes com infarto do miocárdio durante um período de 35 dias.
Fonte: Adaptado de CALVERLEY (2001).

Com relação aos efeitos indesejados, não existem indícios que reportem diferenças entre grupos etários (CALVERLEY, 2001). É importante mencionar que à parte da faixa etária do paciente, os riscos inerentes ao uso diário de aspirina em diferentes dosagens em relação aos vários benefícios que o tratamento ofereça devem ser levados em consideração. O uso diário da Aspirina® tende a ser maior em idosos por conta da maior incidência de doenças cardíacas nesta faixa etária de pacientes, fazendo com que a análise risco/benefício para este grupo seja criteriosa.

Referências Bibliográficas

- ATIÉ, J. **Anticoagulação em pacientes com arritmia cardíaca.** *Revista Brasileira de Cardiologia*, Rio de Janeiro, v.14, n.1, p.82-87, 2001.
- CABRERA, M.S.; ANDRADE, S.M; WANJGARTEN.M. **Causas de mortalidade em idosos: estudo de seguimento de nove anos.** *Rev.Bras.Geriatr.Gerentol*, Londrina, v.1, n.1, p.12-51, 2007.
- CAMARANO, J.A et al. **Descrição dos fatores de risco para alterações cardiovasculares em um grupo de idosos.** *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis, v.17, n.2, p.327-335, 2008.
- CALVERLEY, D.C. **Antiplatelet therapy in the elderly.** *Clinics in Geriatric Medicine*, [s.l] v.17, n.1, p.31-47, 2001.
- CAMARANO, A.A. **Envelhecimento da população brasileira: uma contribuição demográfica.** 2002.
- CHOUHDURY, A.; CHUNG, I.; BLANN.A.; LIP, G.Y.H. **Platelet adhesion in atrial fibrillation.** *Journal of Thrombosis Research*, v.88, n.1, p.7-13, 2007.
- CLARK, M.D. et al. **Hemodynamic effects of an irregular sequence of ventricular cycle lengths during atrial fibrillation.** *Journal of The American College of Cardiology*, [s.l], v.30, n.4, p.1039-1045, 1997.
- DURAN, J. E. R. **Biofísica. Conceitos e aplicações**, Pearson, 2003.
- GUYTON, A. C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**, Elsevier, 2011.
- GUAZZI M.; ARENA, R. **Endothelial dysfunction and pathophysiological correlates in atrial fibrillation.** *Heart*, v.95, n.2, p.102-106, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/2008/piramide/piramide.shtm. Acesso em 09/3/2016.
- KOCHIADAKIS, G.E. et al. **Effect of acute atrial fibrillation on phasic coronary blood flow pattern and flow reserve in humans.** *European Heart Journal*, [s.l], v.23, n.9, p.734-741, 2002.
- KAMATH, S.; BLANN, A.D.; LIP.G.Y.H. **Platelets and atrial fibrillation.** *European Heart Journal*, v.22, n.24, p.2233-2242, 2001.
- KAMATH, S et al. **A study of platelet activation in atrial fibrillation and the effects of antithrombotic therapy.** *European Heart Journal*, v.23, n.22, p.1788-1795, 2002.
- KRUMHOLZ, H.M.; CHEN.YT.; RADFORD.M.J. **Aspirin® and the treatment of heart failure in the elderly.** *Archives of internal medicine*, [s.l], v.161, n.4, p.577-582, 2001.

- LIMA e COSTA, M.F.; GUERRA, H.L.; BARRETO.S.M; GUIMARÃES. R.M. **Diagnóstico da situação de saúde da população idosa brasileira.** *Informe epidemiológico do SUS*, [s.l], v.9, n.1, p.23-41, 2000.
- LAUPACIS, A. et al. **Antithrombotic therapy in atrial fibrillation.** *CHEST Journal*, v.108, n.4, p.352S-359S, 1995.
- LAVITOLA, P.L et al. **Varfarina ou Aspirina® na prevenção de fenômenos embólicos na valvopatia mitral com fibrilação atrial.** *Arq. Bras.Cardiol*, São Paulo, v.95, n.6, p.473-755, 2010.
- NASRI, F. **O envelhecimento populacional do Brasil.** *Einstein*, Porto Alegre, v.6, n.1, p.S4-S6, 2008.
- PAGANINI-HILL, A. et al. **Aspirin® use and chronic diseases: a cohort study of the elderly.** *BMJ*, [s.l], v.299, n.6710, p.1247-1250, 1989.
- PILOTTO, A. et al. **NSAID and Aspirin® use by the elderly in general practice.** *Drugs and Aging*, [s.l], v.20, n.89, p.701-710, 2003.
- PIUVEZAM, G. et.al. **Mortalidade em idosos por doenças cardiovasculares: Análise Comparativa de dois quinquênios.** *Arq.Bras.Cariol*, Natal, 2003.
- STERN, S.; BEHAR, S.; GOTTLIEB, S. **Aging and diseases of the heart.** *Circulation*, [s.l], v.108, n.14, p.e99-e101, 2003.
- STEIN, S. P.; SABBAAH, H.N. **Turbulent blood flow in the ascending aorta of humans with normal and diseased aortic valves.** *Circulation Research*, v.39, n.1, p.58-65, 1976.
- TAKAHASHI, N. et al. **Atrial fibrillation impairs endothelial function of forearm vessels in humans.** *Journal of Cardiac Failure*, [s.l], v.7, n.1, p.45-54, 2001.
- WILLOUGHBY, S.R. et al. **Atrial platelet reactivity in patients with atrial fibrillation.** *Heart Rhythm*, v.7, n.9, p.1178-1183, 2010.
- WONG, L.R; CARVALHO, J.A. **O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas.** *Rev.Bras.Estud.Popul*, São Paulo, v.23, n.1, p.5-26, 2006.
- ZASLAVSKY, C.; GUS.I. **Idoso. Doença cardíaca e comorbidades.** *Arq. Bras.Cardiol*, Porto Alegre, v.79, n.6, p.635-369, 2002.

O PAPEL DA ARRITMIA NO PROCESSO DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA

Os mecanismos de adesão plaquetária e coagulação sanguínea estão relacionados com a ocorrência e consequentemente com tratamento de arritmias cardíacas. Estes processos e sua relação com as arritmias cardíacas, bem como o entendimento do mecanismo relacionado ao processo de inibição da ação plaquetária pela ação da Aspirina® serão discutidos neste capítulo, e também as características estruturais e funcionais das plaquetas neste processo. Uma breve revisão acerca dos dispositivos de liberação de fármacos, em especial os dendrímeros, também será apresentada como base teórica para a parte experimental deste trabalho.

2

Aspectos Estruturais e
Biofuncionais das Plaquetas
Sanguíneas

Mecanismo de Adesão Plaquetária
na Arritmia Cardíaca

Mecanismo da Aspirina no Processo
de Ativação Plaquetária

Dispositivos de Liberação
Controlada de Aspirina®

2.1 Aspectos estruturais e biofuncionais das plaquetas sanguíneas

Conforme informado por Oliveira (2012), as plaquetas sanguíneas são elementos-chaves na hemostasia, inflamação e no reparo tecidual. São os primeiros componentes celulares que se acumulam em regiões onde há dano tecidual da parede vascular, e por esta razão quando estimuladas e ativadas, iniciam eventos como agregação, exocitose de constituintes presentes em grânulos, expressão de proteínas de adesão e secreção de citocinas e mediadores. Ainda relata que as plaquetas ainda exercem papel importante em processos inflamatórios e de resposta imune, observado pela liberação direta de plaquetas ativadas com células endoteliais e células do sistema imunológico, respondendo assim a patógenos, fato que é favorecido pela localização nos sítios de entrada de microrganismos patogênicos. Castro et.al (2006) complementa informando que as plaquetas estão diretamente envolvidas em diversas patologias importantes, como síndromes e trombose arterial.

Oliveira (2012) informa que aproximadamente 10^{12} plaquetas estão presentes na circulação sanguínea de um adulto humano, sendo que setenta por cento deste total estão presentes na circulação e os trinta por cento restantes estão localizados no baço (CASTRO et.al, 2006) e que seu tempo de vida varia entre 8 e 10 dias, desta forma, todos os dias, o número de 10^{11} novas plaquetas deve ser produzido para que o número de referência de plaquetas (400×10^9 plaquetas/litro de sangue) seja mantido. Castro et.al (2006) relata que a origem das plaquetas se dá na medula óssea, a partir dos megacariócitos. Oliveira (2012) complementa, informando que os megacariócitos sofrem endomitose e se tornam poliploides. Após este processo ocorre o estágio de maturação, onde o citoplasma é preenchido por organelas e então adquire características específicas que incluem o desenvolvimento do sistema de demarcação de membranas, tubular denso e de formação de grânulos.

Com relação à sua morfologia, Oliveira (2012) relata que as plaquetas são células pequenas, anucleadas com tamanho que varia entre 2 a $5\mu\text{m}$ de diâmetro, possuem aparência rugosa na forma discoide, em razão da presença de microtúbulos, que permitem alterações de membrana e por consequência de sua morfologia quando ativadas. Castro et.al (2006) relata que sua estrutura interna pode ser dividida em 4 partes:

Zona Periférica: Região que inclui as membranas externa e interna, e estruturas estreitamente associadas, como o sistema de canais conectados à superfície, sistema canicular aberto (SCA). A membrana da plaqueta é rica em glicoproteínas e na sua zona periférica é

possível encontrar os fosfolípidos de membrana, responsáveis por proporcionar a superfície sobre a qual os seus fatores são ativados.

Zona sol-gel: Localizada abaixo da zona periférica. Composta por: citoesqueleto, que parece adequar a centralização dos grânulos para liberação do conteúdo através do sistema canicular aberto na zona periférica e sistema contrátil, que sob o processo de ativação permite a mudança da forma discoide, prolongamento dos pseudópodos, a contração interna e a liberação dos constituintes granulares.

Zona de organelas: Região constituída basicamente de: grânulos alfa, grânulos densos, e componentes celulares, tais como lisossomos e mitocôndrias, além de conter ATP e ADP.

Sistema membranar: Inclui o sistema tubular denso, que armazena o cálcio, importante para o desencadeamento dos eventos contráteis, e os sistemas enzimáticos, envolvidos na produção de síntese de prostaglandinas. A Figura 6 é uma representação de uma plaqueta sanguínea.

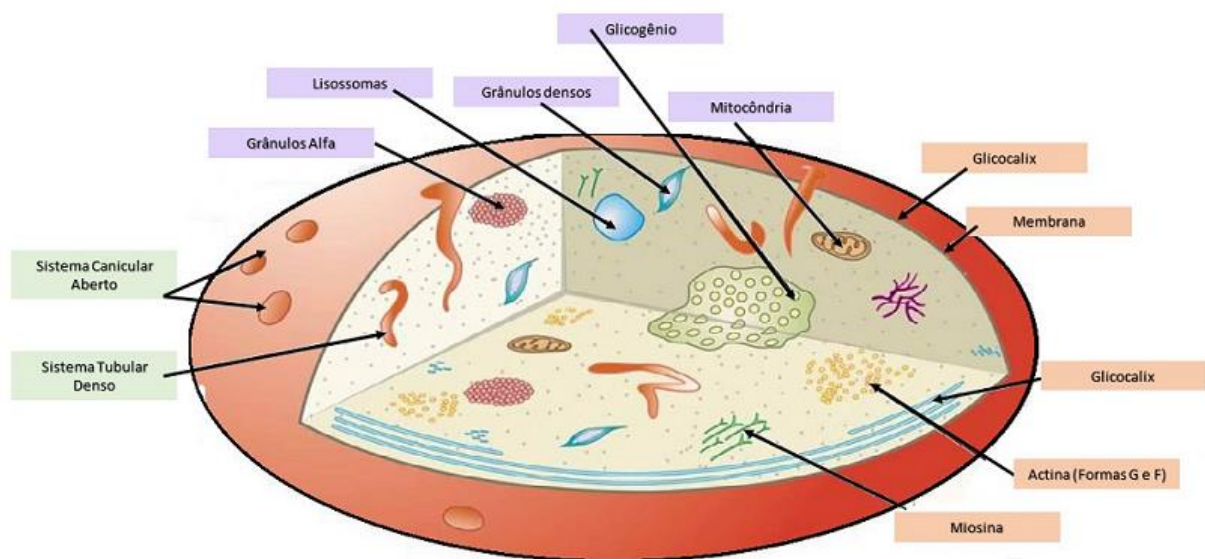


Figura 6: Morfologia das Plaquetas.

Fonte: Adaptado de <http://passtheclassandnotfail.blogspot.com/2013/03/primary-hemostasis.html>. Acesso em 13/09/2016.

As plaquetas têm como função principal participar dos processos de hemostasia e coagulação do sangue. Oliveira (2012) informa que a adesão e ativação das plaquetas são mediadas através das interações entre os receptores GPIb-IX-V com o vWF e GPVI com o colágeno subendotelial, desta forma, quando o endotélio vascular é danificado, sítios de colágeno são expostos facilitando a adesão de plaquetas nestes sítios específicos. Gorbet e Sefton (2004) complementam que o processo de ativação das plaquetas se inicia pela interação

entre um estímulo extracelular à superfície das plaquetas. Esta interação envolve a interação do agonista com receptores específicos da membrana plasmática das plaquetas. As plaquetas se aderem às moléculas presentes nos tecidos subendoteliais no local da lesão, iniciando a chamada cascata de coagulação. Berger, Silva, Santi e Guimarães (2014) explicam que no contato das plaquetas com o local lesionado, as plaquetas mudam drasticamente de sua forma discoide para uma forma mais esférica, com a emissão de inúmeros pseudópodes. Este processo acaba por induzir a adesão progressiva de outras plaquetas que se estendem pela região do vaso lesionado.

2.2 Mecanismo de adesão plaquetária na arritmia cardíaca

Oliveira (2012) complementa e informa que o processo de coagulação sanguínea ocorre em três estágios, sendo o primeiro o chamado de iniciação, o segundo chamado de ampliação de fase e o terceiro chamado de fase de propagação. A fase de iniciação ocorre com a exposição de células subendoteliais e monócitos ativados resultando na produção do complexo tenase intrínseco, formação de trombina FXa e FIXa. Esta fase é controlada pelo inibidor TFPI por intermédio da ligação do FXa formado no início do processo com o TFPI, resultando na inibição do complexo TF/FVIIa. Monroe, Hoffman e Roberts (2002) relatam que na fase de ampliação, a pequena quantidade de trombina formada na etapa de iniciação se liga às plaquetas aderidas à região de exposição tecido lesionado, por meio da adesão dos fatores de Willebrand ao colágeno presente nas matrizes proteicas. Esta adesão ativa parcialmente as plaquetas que acabam de se aglomerar em sítios próximos à região de tecido lesionada. Em paralelo a isso, a trombina melhora a ativação plaquetária via ativação dos mecanismos do receptor protease. A ativação plaquetária por intermédio da trombina resulta na desgranulação que libera os cofatores FV e FVIII dos grânulos alfa presente nas plaquetas, permitindo assim a amplificação de geração da trombina. Assim, o FXa constituinte do complexo protrombinase é protegido da inibição por antitrombina. Na fase de propagação, grandes quantidades de trombina são geradas na superfície da plaqueta ativada, onde a exposição dos fosfolípidios aniônicos, especialmente fosfatidilserina, é essencial para a formação dos complexos FIXa/FVIIIa/FX e FXa/FVa/protombina. Níveis mais altos de trombina levam à ativação de FXI, disponível no plasma e também liberado dos grânulos alfa de plaquetas. A superfície da plaqueta ativada protege ainda o FXIa da inibição por inibidores plasmáticos. O FXIa pode

ainda induzir a formação de trombina através da ativação mais eficiente de FIX na superfície da plaqueta ativada.

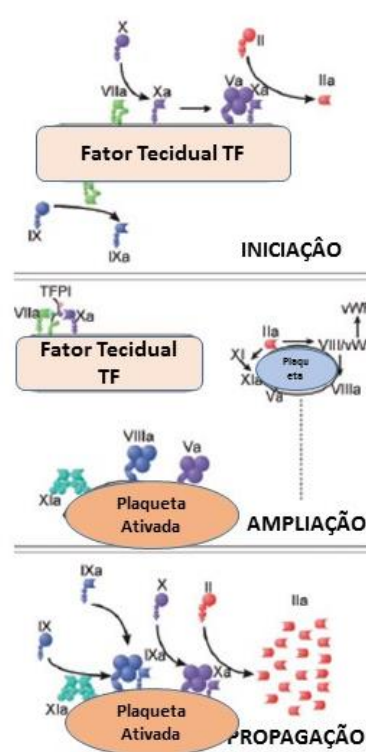


Figura 7: Mecanismo de adesão plaquetária.
Fonte: Adaptado de Monroe, Hoffman e Roberts (2002).

Watson, Shantsila e Lip (2009), informam que a fibrilação atrial é altamente relacionada a ocorrência de AVC e ao tromboembolismo. Esta tendência trombogênica da fibrilação atrial está relacionada com diversos mecanismos patofisiológicos aderentes a tríade de Virchow para ocorrência de trombogênese e estão de acordo com um estado protrombótico e hipercoagulável. No que concerne às plaquetas, Watson, Shantsila e Lip (2009), informam que não existem estudos que consigam demonstrar de forma significativa eventuais anormalidades relacionadas à biologia desta classe de componentes sanguíneos que possam estar relacionadas com a presença da fibrilação atrial, sendo a propensão à trombogênese observada nesta classe de arritmias mais relacionada com outros fatores, como os processos inflamatórios e fatores de crescimento, sobretudo do tecido endotélio vascular. No entanto, alterações relacionadas à adesão plaquetária podem ser observadas em pacientes com fibrilação atrial, sendo potencializada neste grupo de indivíduos em comparação com indivíduos não diagnosticados com FA. Em pacientes diagnosticados com FA é possível observar um aumento no nível de ativação plaquetária e substituição de fibrina, levando ao aumento da adesão das plaquetas. No entanto, esta tendência pode estar mais relacionada a outras condições

cardiovasculares subjacentes a FA do que com o distúrbio do ritmo inerente a doença (CHOUDHURY, CHUNG, BLANN, LIP 2007).

2.3 Mecanismo da Aspirina® no processo de ativação plaquetária

Conforme Grassi e Araújo (2012) os antiagregantes plaquetários são agentes diversos que tem em comum a propriedade de inibir a formação de trombos induzidos predominantemente por plaquetas sem interferir de forma significativa nos demais segmentos da coagulação. Dos agentes antiagregantes plaquetários, a Aspirina® (AAS) é a mais empregada e a mais conhecida de sua classe (OLIVEIRA, 2001).

O mecanismo de ação do AAS em relação a ativação plaquetária é a inibição irreversível da atividade das isoenzimas cicloxigenase COX 1 e COX 2 que propiciam a transformação do ácido aracdônico em PGH₂, precursor imediato da PGD₂, PGE₂, PGF_{2A}, PGI₂ e TXA₂, por fim resultando no bloqueio da produção de tromboxano A₂. Esta inibição é decorrente da acetilação da molécula da serina (OLIVEIRA, 2001). Hoefler (2004) acrescenta mencionando que o efeito de inibição da agregação plaquetária da Aspirina® é irreversível, por esta razão a recuperação da hemostasia normal, após a interrupção do tratamento depende nova plaquetas funcionais. Grassi e Araújo (2012) complementam informando que o dano é irreversível em função das plaquetas não possuem núcleo, por esta razão não podem sintetizar novas moléculas.

É importante mencionar também que as plaquetas produzem PGH₂ que é responsável pela liberação do tromboxano, TXA₂, que tem suas ações contrabalanceadas pela liberação da prostaciclina (PGI₂) das células endoteliais vasculares, produzindo vasodilatação e inibindo a agregação plaquetária. Este é derivado da COX-1 como da COX-2. A Figura 8 ilustra o mecanismo de ação da Aspirina® com relação a inibição da agregação plaquetária.

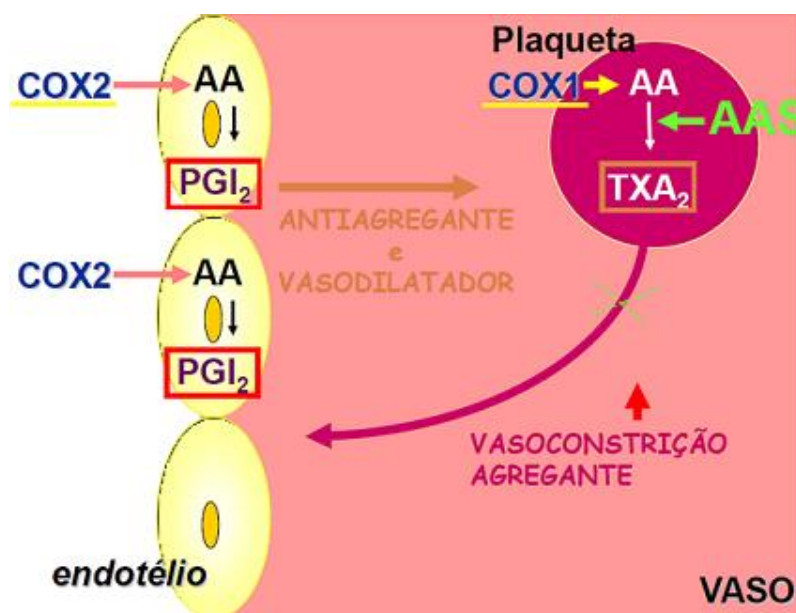


Figura 8: Mecanismo da Aspirina® na agregação plaquetária.

Fonte: Disponível em: www.uff.br/farmacobasica-mfl/sites/default/files/16_antitromboticos.pdf. Acesso em 13/09/2016

O tempo de ação da Aspirina® no organismo gira em torno de dez dias, equivalente ao tempo de meia vida das plaquetas, mas não afeta a adesão plaquetária ao endotélio e a placa aterosclerótica, inibindo parcialmente a agregação induzida pela trombina, colágeno ou ácido araquidônico, bloqueando então a produção de diacilglicerol, ações menos duradouras que a ação da ciclo-oxigenase (OLIVEIRA, 2001) (GRASSI e ARAÚJO, 2012).

Oliveira (2001) relata que por esta razão é possível explicar a manutenção da hemostasia bem como os casos de falha no tratamento antitrombótico, ligado ao emprego de alta dosagem de Aspirina®.

2.4 Dispositivos de liberação controlada de Aspirina®

Conforme citado anteriormente, o tratamento por meio do uso contínuo da Aspirina® pode acarretar diversos problemas gastrointestinais, mesmo seguindo uma posologia com dosagens reduzidas, e no geral requer dosagens elevadas e diárias em função de seu alto pré-metabolismo sistêmico. Os sistemas transdérmicos para veiculação de fármacos oferecem uma alternativa interessante de rota de administração da Aspirina® em que a mesma não passa pelo intestino e, portanto, podem se tornar uma opção segura para a administração da Aspirina®, em especial em tratamentos de longa duração. (AMMAR, GHORAB, EL-NAHHAS e KAMEL, 2006). Conforme mencionado por Chorilli, Brizante, Rodrigues e Salgado (2007), o

desenvolvimento deste tipo de tecnologia tem se intensificado nos últimos anos visando vencer as barreiras da pele, reduzindo eventuais reações adversas e melhorando a liberação de fármacos de alto peso molecular ou de absorção pelo organismo. Lucinda e Evangelista (1999), explicam que os intervalos de administração de determinados fármacos podem ser inconvenientes e ainda, podem ser parcialmente neutralizados ou desativados no estômago, intestino ou fígado antes de atingirem a corrente sanguínea, levando a uma consequente baixa disponibilidade e conduzindo a altas doses de forma a garantir sua eficácia, aumentando os riscos de efeitos colaterais. Em especial, a Aspirina® é rapidamente absorvida no estômago e na parte superior do intestino. A administração oral da Aspirina® oferece uma disponibilidade de aproximadamente 40-50% e requer altas dosagens devido ao fato de sofrer ação de hidrólise pré-sistêmica no intestino e fígado se tornando ácido salicílico, que não apresenta as funções antitrombóticas mencionadas anteriormente. Desta forma, se faz necessária a exposição das plaquetas sanguíneas à ação da Aspirina® por longos períodos de tempo. (AMMAR, GHORAB, EL-NAHHAS e KAMEL, 2006). Todas estas limitações, somadas à eventuais melhorias da adesão do paciente ao tratamento fazem com que o uso de sistemas alternativos para a veiculação de Aspirina®, visando a terapia antitrombótica, se tornem alvo interessante de estudo. Dentre os materiais utilizados como alternativa para liberação controlada de fármacos, os carregadores micrométricos e nanométricos também surgem como alternativa eficaz. Estes são capazes de modular a liberação com alto grau de reprodutibilidade. (VILLANOVA, ORÉFICE, 2010). As chamadas nanopartículas poliméricas – nanocápsulas e nanoesferas, são sistemas que têm se mostrado promissores na vetorização de carcinogênicos, proteínas, peptídeos, entre outros. De maneira geral, os polímeros utilizados na preparação de nanocarregadores são os naturais modificados, derivados da albumina, colágeno, ácido hialurônico, gelatina, quitosana e alginato, além de polímeros sintéticos como PHEMA, PVA, PAA, PEVA e PEG. (VILLANOVA, ORÉFICE, 2010). Dentre os vetores nanoestruturados baseados em polímeros na atualidade, os dendrímeros merecem destaque. Gillies e Fréchet (2005) definem os dendrímeros como macromoléculas altamente ramificadas com diversos braços que emanam de um núcleo central. Villanova e Oréfice (2010) complementam informando que eles possuem estrutura globular bem definida, massa molar controlada, baixa polidispersividade, valências múltiplas e alto grau de ramificação e funcionalização superficial. A Figura 8 ilustra uma representação esquemática de um dendrímero:

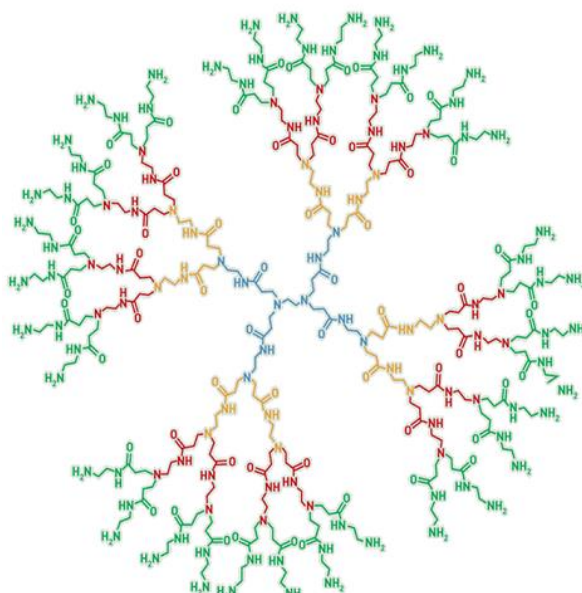


Figura 9: Dendrímtero de PAMAM de terceira geração.

Fonte: Disponível em <http://cen.acs.org/articles/83/i24/DENDRIMERS-BRANCH.html>. Acesso em 13/09/2016.

Silva (2008) informa que os fármacos podem estar dispersos dentro na nanopartícula polimérica ou conjugado com a estrutura do polímero. No primeiro caso, o fármaco é encapsulado e liberado por difusão. No segundo caso, uma erosão da superfície ou degradação da matriz podem exercer o papel da liberação do fármaco e taxa de liberação pode ser pré-determinada por diversas técnicas.

Os dendrímeros apresentam diversas vantagens em relação aos polímeros lineares em relação ao transporte de fármacos, entre elas sua multivalência controlada que pode ser utilizada para anexar diversas moléculas de fármaco, sua baixa polidispersão que oferece alta reprodutibilidade farmacocinética e por fim, a estrutura globular dos dendrímeros podem apresentar diversas reações biológicas no organismo, levando a descobertas interessantes com relação ao comportamento destas macromoléculas.

Conforme informado por Fernandes et.al (2006), o dendrímero de poliglicerol (PGLD) é um polímero solúvel em água que contém grupos hidroxilas e ligações éter. Sua baixa citotoxicidade e aprovação pelo FDA em aplicações farmacêuticas e alimentícias fazem com que estes polímeros sejam de grande interesse para as aplicações biomédicas. Arelado a isso, sua baixa temperatura de transição vítrea e alta densidade de grupos hidroxila podem ser explorados para a imobilização de compostos bioativos. O PGLD é obtido seguindo a metodologia de síntese divergente, em função do alto grau de controle fornecido por essa técnica.

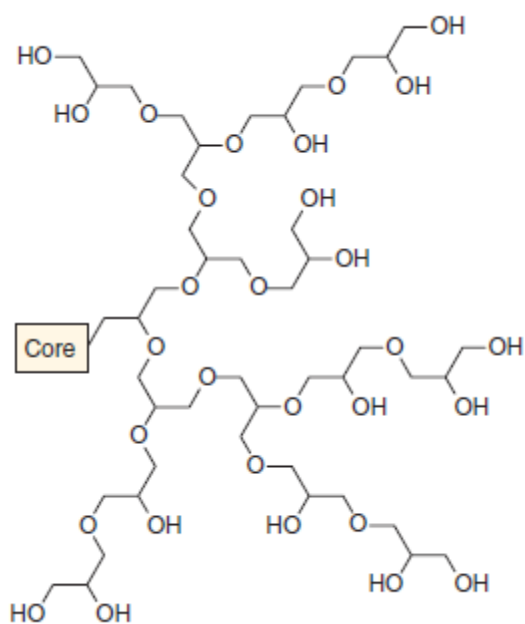


Figura 10: Dendrímero de poliglicerol (PGLD).
Fonte: Adaptado de Guillies e Fréchet (2005).

A necessidade da utilização diária de Aspirina® diariamente por longos intervalos de tempo visando o tratamento antitrombótico oferece riscos, conforme mencionado anteriormente. Desta forma, uma alternativa para veiculação da Aspirina® neste tratamento é de grande interesse e os dendrímeros oferecem alternativas eficazes para liberação do medicamento em locais e quantidades determinados. O PGLD possui características interessantes no que concerne a disponibilidade para a imobilização do fármaco e biocompatibilidade, fazendo com que o estudo deste material como alternativa de veiculação da Aspirina® para a terapia antitrombótica seja de interesse e alvo do presente estudo.

Referências Bibliográficas

- AMMAR, H.O.; GHORAB, M.; EL-NAHHAS, S.A.; KAMEL, R. **Design of a transdermal delivery system for aspirin as an antithrombotic drug.** *International Journal of Pharmaceutics*, v.327, n.1, p.81-88, 2006.
- BERGER, M.; DA SILVA, W.B.; SANTI, L; GUIMARÃES, J.A. **Hemostasia, uma breve revisão,** *Caderno Pedagógico*, Lajeado, v.11, n.1, p.140-148, 2014.
- CHORILLI, M.; BRIZANTE, C.A.; RODRIGUES.C.A.; SALGADO, H.R.N. **Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de fármacos.** *Ver.Bras.Farm*, v.88, n.1, p.7-13, 2007.
- CHOUDHURY, A.; CHUNG, I.; BLANN,A.; LIP, G.Y.H. **Platelet adhesion in atrial fibrillation .** *Journal of Thrombosis Research*,v.88, n.1, p.7-13, 2007.
- CASTRO, H.C et al. **Plaquetas: ainda um alvo terapêutico.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, v.120, n.4, p.623-629, 2007.
- HOEFLER, R. **Ácido acetilsalicílico como antiagregante plaquetário: qual a conduta ideal?** *Boletim Farmacoterapêutica*, Brasília, ano 09, v.4, p.43-46, 2004.
- GILLIES, R. E.; FRÉCHET, M.J. **Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery** *Drug Discovery Today*, [s.l], v.10, n.1, p.35-43, 2005.
- GORBET, M. B.; SEFTON, M.V. **Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complemento, platelets and leukocytes.** *Biomaterials*, [s.l.s.n], v.25, p.5681-5703, 2004.
- GRASSI, E.A; ARAÚJO, M.C. **Antiagregantes plaquetários, ampliando o conhecimento.** *Disc Scientia*, Santa Maria, v.13, n.1, p.131-143, 2012.
- MONROE, M.M.; HOFFMAN, M.; ROBERTS, R.H. **Platelets and Thrombin Generation.** *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, v.22, n.9, p.1381-1389, 2002.
- OLIVEIRA, G.M. **Antiagregantes plaquetários.** *Revista Brasileira de Cardiologia*, Rio de Janeiro, v.14, n.1, p.21-27, 2001.
- OLIVEIRA, D.B. **Estudo das alterações morfológicas e funcionais das plaquetas na infecção pelo vírus dengue.** 2012. 101 f. Monografia – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.2012.
- PAWAR,D; SHAHANIS; MAROLIS. **Aspirin-the novel antiplatelet drug** *Hong Kong Medical Journal*, Hong Kong, v.4, n.4, p.415-418, 1998.
- SILVA, A.R.P. **Estudo das propriedades bioquímicas de sistemas poliméricos arborecentes PLGD-AAS para o tratamento de câncer.** 2008. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2008.

VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L. **Aplicações farmacêuticas de polímeros.** *Polímeros, Ciência e Tecnologia*, v.20, n.1, p.51-64, 2010.

WATSON, T.; SHANTSILA, E.; LIP, G.Y.H. **Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited.** *Lancet*, v.373, n.9658, p.155-166, 2009.

OBJETIVOS DO TRABALHO

Neste capítulo serão apresentados os objetivos, gerais e específicos que norteiam este trabalho.

3

Objetivos gerais

Objetivos específicos

3.1 Objetivos Gerais

O objetivo geral deste trabalho é a utilização de microesferas de poliglicerol dendrítico como sistemas transportadores de Aspirina®.

3.2 Objetivos Específicos

Os seguintes objetivos específicos foram delineados para esse trabalho:

- (a) Obtenção fotoquímica de microesferas de poliglicerol dendrítico (PGLD) e sua caracterização físico-química.
- (b) Preparo de microesferas de PGLD (MPGLD) contendo Aspirina® com direcionamento para o tratamento de comorbidades relacionadas ao quadro de arritmia cardíaca em idosos.
- (c) Caracterizar MPGLD físico-quimicamente através da avaliação do percentual de encapsulamento e análise morfológica.
- (d) Avaliar o perfil de liberação in vitro da MPGLD contendo aspirina®.
- (e) Analisar o perfil de liberação in vitro da MPGLD contendo aspirina® através do uso de modelo teórico de cinética de liberação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentadas as informações relacionadas aos materiais utilizados no presente trabalho, bem como os equipamentos e métodos adotados para caracterização da Aspirina®, para a síntese das microesferas de PGLD-AAS e no estudo da liberação do AAS no sistema PGLD-AAS.

4

Materiais e Equipamentos

Método de caracterização da Aspirina® e PGLD-AAS

Método de obtenção e caracterização das microesferas de PGA-AAS

Estudo de liberação do ASS no sistema PGA-AAS

4.1 Materiais

4.1.1 Aspirina®

A Aspirina® foi adquirida no comercio local da cidade de Itajubá/MG, sob número do lote ARI915 informado pelo fabricante na embalagem (Blister de 500 mg/comprimido).

4.1.2 Poliglicerol dendrítico contendo AAS

No presente trabalho foi utilizado o gel de poliglicerol salicilado de estrutura dendrítica de quarta geração (G4) previamente obtido pela rota da síntese divergente de acordo com os trabalhos de Silva (2008) e Moura (2011).

4.2 Equipamentos

Foram utilizados durante a realização dos experimentos uma balança analítica Marte AY220, um agitador magnético com aquecimento Cientec, modelo 103, um agitador magnético com aquecimento IKA®, modelo C-MAG hs7, um termômetro digital LEXIANG, modelo JR-1, um dispersador IKA®, modelo ULTRA TURRAX T50, uma bomba peristáltica monocanal SIGMA ALDRICH®, um reator fotoquímico “home made” e um banho maria com agitação SOLAB modelo SL- 155/22.

As curvas de DSC foram obtidas em um equipamento com fluxo de calor modelo DSC 60 Plus (Shimadzu Corporation) e as curvas TG/DTG foram obtidas em uma termobalança TGA 50 (Shimadzu Corporation).



Figura 11: DSC 60 Plus – Shimadzu Corporation.

Fonte: (Autor).



Figura 12: Termobalança TGA 50 – Shimadzu Corporation.

Fonte: (Autor).

Para morfologia e distribuição de tamanho das microesferas de PGLD-AAS foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV) Superscan SS-550 (Shimadzu Corporation). A metalização das amostras foi realizada utilizando um evaporador (metalizador) IonCoater CC-50 (Shimadzu Corporation).



Figura 13: Microscópio Eletrônico de Varredura SUPERSCAN SS-50 – Shimadzu Corporation.

Fonte: (Autor).



Figura 14: Metalizador IONCOATER IC-50 – Shimadzu Corporation.

Fonte: (Autor).

As curvas de calibração e absorvância para o estudo de liberação da Aspirina® no complexo PGLD-AAS foram realizadas no espectrofotômetro UV-VIS CARY 50 (Varian Inc./Agilent Technologies).



Figura 15: Espectrofotômetro UV-VIS CARY 50 – Varian Inc./Agilent Technologies.

Fonte: (Autor).

Os espectros de absorção na região do infravermelho médio foram obtidos com o espectrômetro eletrônico IRT-Tracer 100 (Shimadzu Corporation) equipado com acessório de reflectância total atenuada.



Figura 16: Espectrômetro IRT Tracer 100 equipado com atenuador de reflexão – Shimadzu Corporation.

Fonte: (Autor).

4.3 Métodos

Para caracterização dos precursores PGLD-AAS e Aspirina®, foram utilizadas as técnicas analíticas TG e FT-IR. As curvas TG/DTG foram obtidas utilizando aproximadamente 15 mg de PGLD-AAS, 13 mg da Aspirina® acondicionadas em cadinhos de alumínio aquecidos até 1000°C sob atmosfera inerte de nitrogênio ($25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Os espectros de absorção no infravermelho médio com transformada de Fourier foi registrado no intervalo de 4000 a 600 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} utilizando pó da amostra de Aspirina® e amostra do gel de PGLD-AAS depositados diretamente sobre o cristal do acessório atenuador de reflectância acoplado ao espectrômetro.

Para caracterização das microesferas de PGLD-AAS foram empregadas as técnicas TG, FT-IR, DSC e Microscopia Eletrônica de Varredura. As curvas TG/DTG foram obtidas utilizando aproximadamente 19 mg de material, acondicionados em cadinho de alumínio aquecidos até 1000°C sob atmosfera inerte de nitrogênio ($25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Os espectros de absorção no infravermelho médio com transformada de Fourier foi registrado no intervalo de 4000 a 600 cm^{-1} com resolução de 2 cm^{-1} através da deposição

das microesferas diretamente sobre o cristal do equipamento atenuador de reflexão acoplado ao espectrômetro. Para obtenção das curvas DSC, uma amostra do material foi cuidadosamente pesada na balança de precisão do equipamento TGA 50 (aproximadamente 7,0 mg) acondicionada em cadinho de alumínio fechado e aquecida no intervalo de temperatura de 25 a 250°C com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹ sob atmosfera inerte de nitrogênio (50 mL.min⁻¹). Para complementar a caracterização das microesferas, a análise cíclica de DSC foi realizada, de forma a aquecer o material, resfriar até a temperatura inicial e aquecer novamente à mesma taxa de aquecimento realizada anteriormente.

Para síntese das microesferas, inicialmente, 0,500 g de aspirina® e 2,0 g de PGLD funcionalizado com metacrilato de glicidila (funcionalização = 20% m/m) foram dispersos em 100 mL de polietileno glicol 200 (PEG 200) contendo 0,090 g de monooleato de sorbitan (SPAN 80). Em seguida, a dispersão orgânica PGLD/AAS foi adicionada gota a gota a uma fase aquosa contendo monooleato de sorbitan etoxilado (TWEN 80) sob agitação constante de pelo menos 1.100 rpm à temperatura constante (25°C). Após a adição da fase orgânica a agitação foi mantida por 30 minutos.

A emulsão O/A obtida foi bombeada para um reator fotoquímico “home made” na velocidade de 20 µL/min com o auxílio da bomba peristáltica monocanal. As microesferas obtidas foram centrifugadas, lavadas com solução de PBS pH 7,4 e liofilizadas. A Figura 17 ilustra o procedimento experimental utilizado para obtenção das microesferas MPGLD-AAS:

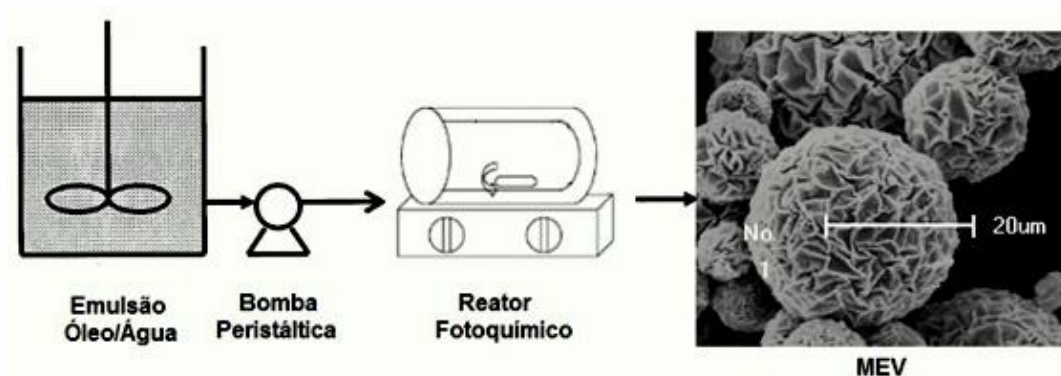


Figura 17: Ilustração do procedimento experimental para obtenção de microesferas de PGLD-AAS.

Fonte: (Autor).

A morfologia e distribuição de tamanho das microesferas de PGLD-AAS foi obtida através de análise no microscópio de varredura. As microesferas foram depositadas em uma fita de carbono e em seguida metalizadas utilizando-se o evaporador. A deposição de ouro foi realizada até se obter pressão de vácuo de 9 Pa.

Para análise da liberação de AAS pelas microesferas de PGLD, foi realizada uma curva de calibração pela leitura de absorbância no espectro UV-VIS em diversas soluções de AAS dissolvidos em etanol. Para obtenção do comprimento de onda de máxima absorção, foi preparada uma solução de AAS em Etanol na concentração de 100 µg/mL. A leitura foi realizada a partir de uma solução de 10 mL obtida a partir da solução mãe. Para realização da curva, as soluções e respectivas concentrações foram preparadas conforme Tabela 2:

Tabela 2: Concentrações de ASS utilizadas para elaboração da curva de calibração.

Solução	Volume de Etanol (mL)	Volume de AAS (mL)	Concentração de AAS (mol L ⁻¹)
1 (Branco)	10,00	0	0
2	9,00	1,00	9,9913E ⁻⁵
3	8,00	2,00	1,9983E ⁻⁴
4	7,00	3,00	2,9974E ⁻⁴
5	6,00	4,00	3,9965E ⁻⁴
6	4,00	6,00	5,9948E ⁻⁴
7	2,00	8,00	7,9930E ⁻⁴
8	0	10,00	9,9913E ⁻⁴

Fonte: Autor.

As soluções foram obtidas a partir de uma solução de concentração de 500 µg/L. Após a dissolução da massa de AAS em etanol, as soluções foram preparadas conforme tabela 2 supracitada e transferidas para balões volumétricos de 10 mL e realizada a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de máxima absorção obtida na solução de 100 µg/mL, zerando o equipamento com a solução de referência (branco).

Foram preparadas duas amostras de 500 mg de microesferas de PGLD contendo AAS, MPGLD₁₀ e MPGLD₂₀₀, onde os índices 10 e 200 correspondem ao tempo de exposição à luz UV da emulsão O/A em minutos. As amostras foram acondicionadas em saquinhos permeáveis para análise da liberação do fármaco. Os saquinhos foram imersos em 500 mL de solução buffer fosfato-salina (PBS), pH 7,4. A solução buffer foi estabilizada via agitador magnético com controle de temperatura sob baixa agitação à temperatura de 37°C. Foi utilizado o comprimento de onda de 277 nm, valor máximo obtido na curva na curva de calibração, para mensuração da quantidade de Aspirina® liberada pelas microesferas ao longo do tempo.

Durante a primeira hora do estudo de liberação, as leituras foram realizadas no intervalo de dez minutos. Após a primeira hora, os intervalos de tempo para leitura dos valores de absorvância foram de trinta minutos. O tempo total de estudo de liberação do sistema foi de 4 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentadas as informações obtidas e os comentários relevantes sobre a síntese e caracterização físico-química das microesferas de PGLD-AAS, bem como sobre a caracterização físico-química dos precursores, AAS e PGLD-AAS e ainda informações e comentários pertinentes ao estudo da liberação do AAS do sistema PGLD-AAS. Com relação a caracterização físico-química das microesferas de PGLD-AAS e dos precursores, foram exploradas as técnicas de espectroscopia vibracional (FTIR), e a técnica termoanalítica TGA. Para caracterização das microesferas, também foi utilizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura.

5

Caracterização físico-química dos precursores AAS e PGLD-AAS

Caracterização físico-química das microesferas de PGLD-AAS

Caracterização morfológica das microesferas de PGLD-AAS

Estudo da liberação do AAS do sistema PGLD-AAS

5.1. Caracterização físico-química dos precursores AAS e PGLD-AAS

5.1.1. Análise de espectroscopia vibracional (FTIR/ATR)

A análise de espectroscopia vibracional (FTIR/ATR) de amostra de Aspirina® e PGLD AAS está ilustrada na Figura 20. O AAS é obtido industrialmente pela reação de esterificação do ácido salicílico com anidrido acético em presença de ácido sulfúrico, que atua como catalisador. A reação é ilustrada na Figura 18 (RAINSFORD,2004):

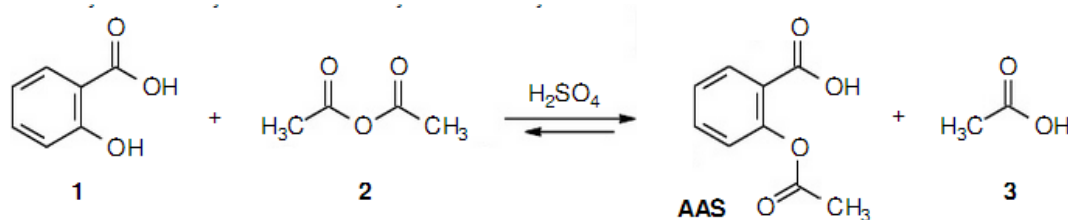


Figura 18: Reação de obtenção do ácido acetilsalicílico.

Fonte: (Rainsford,2004).

Com base na estrutura do ácido acetilsalicílico ilustrada na Figura 18 e nos espectros de absorção retratados na Figura 20, é possível concluir que os picos 3010 cm⁻¹ e 2701 cm⁻¹ são decorrentes do estiramento O-H de ácido carboxílico sobreposto ao estiramento C-H, o pico 1750 cm⁻¹ é proveniente do estiramento C=O ácido, o pico 1680 cm⁻¹ é proveniente do estiramento C=O éster, em 1606 cm⁻¹ referente ao C=C aromático caracterizando a presença do princípio ativo ácido acetilsalicílico na amostra em análise. A vibração do estiramento C-O-H da função ácido ocorreu em 1310 cm⁻¹, a banda de 1181 cm⁻¹ pode ser atribuída ao estiramento da ligação C-O do grupo acetato. A banda de absorção de 916 cm⁻¹ pode ser atribuída a um dímero de ácido carboxílico. As frequências vibracionais observadas nesse trabalho estão em boa concordância com a literatura (SEMALTY et.al, 2010) e (MORAIS, 2011).

Em referência a análise de espectroscopia vibracional (FTIR) do poliglicerol salicilado (PGLD-AAS). Com base nos estudos de Moura (2011), Silva (2008) e Militão (2013), a estrutura do poliglicerol de estrutura dendrítica pode ser referenciada para interpretação de seu espectro de absorção. Sua estrutura é ilustrada na Figura 19:

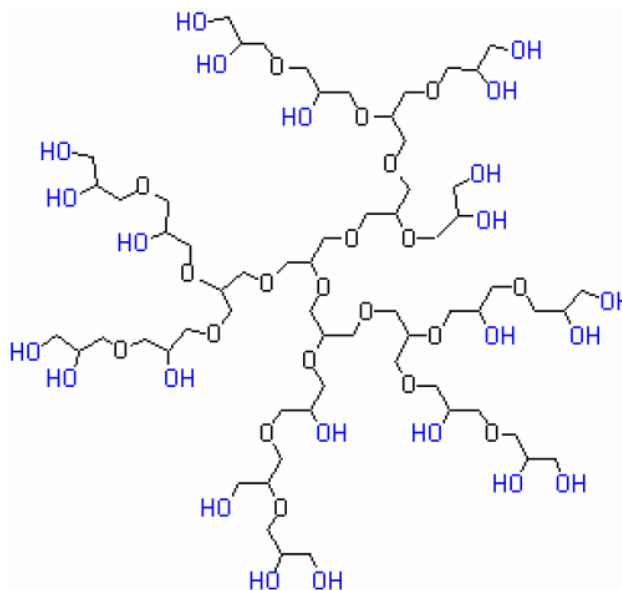


Figura 19: Dendrímero de poliglicerol.

Fonte: Moura (2011).

O dendrímero de poliglicerol tem como característica a presença de grupos hidroxilas e ligações éter. Sendo assim, pode-se afirmar que o pico de 3312 cm^{-1} no espectro é referente a deformação axial das ligações O-H. A banda é larga e forte, resultado da associação polimérica característica (SILVERSTEIN, 1994). Banda de absorção de 2931 cm^{-1} e 2877 cm^{-1} referentes a vibração assimétrica dos grupos CH_3CH_2 , deformação angular do grupo CH_2 é representada pela banda de absorção em 1412 cm^{-1} , estiramento e deformação axial C-O representado pelas bandas de absorção 1328 cm^{-1} e 1237 cm^{-1} . Com relação ao pico de 1032 cm^{-1} , este é associado a deformação axial inerente as ligações éter (SILVERSTEIN, 1994). Os resultados estão em boa concordância com o trabalho de Militão (2013).

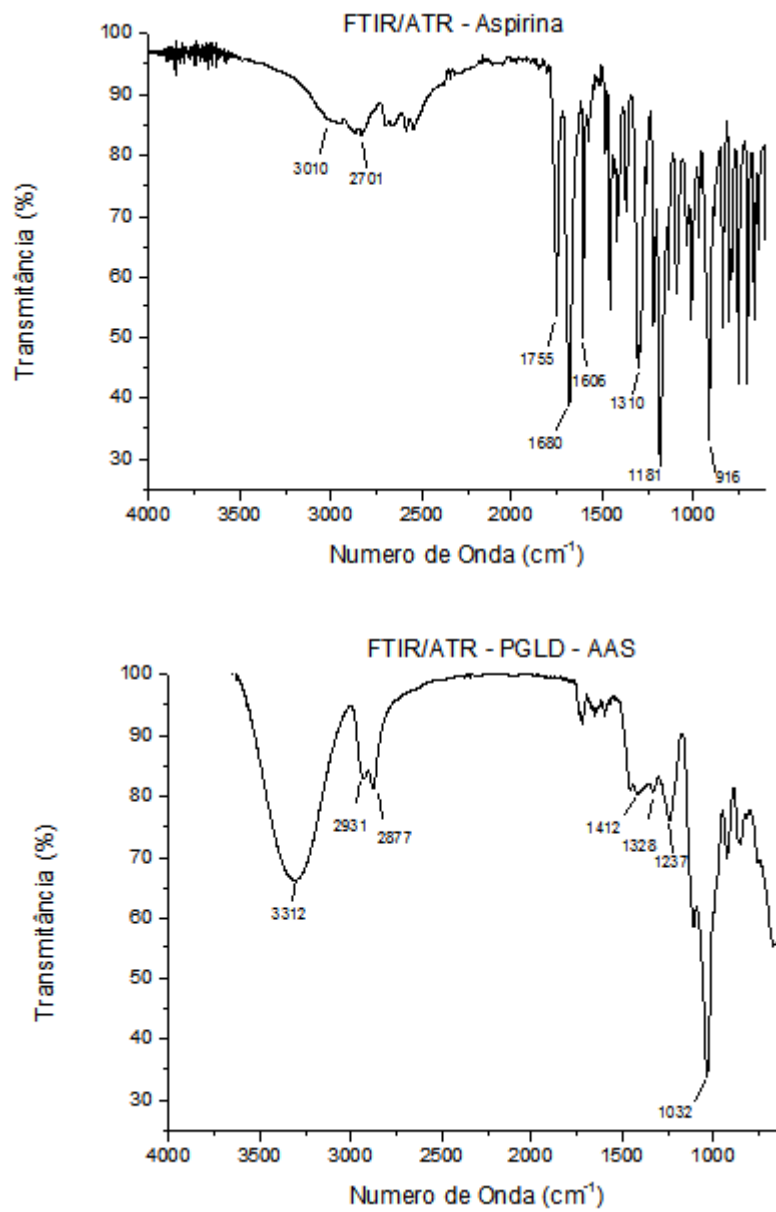


Figura 20: Espectros de absorção no infravermelho para a Aspirina® e gel de PGLD-AAS.

Fonte: Autor.

5.1.2. Análise termogravimétrica

De acordo com a Figura 21, as curvas termogravimétricas TG/DTG da amostra de Aspirina® apresentam um intervalo de decomposição 167 e 408°C. É possível observar também as duas principais etapas de decomposição para a amostra. A primeira etapa ocorreu no intervalo de 167 a 216°C, com pico máximo de 195°C, e a segunda etapa ocorreu de 345 a 408°C, com pico máximo de 397°C.

Conforme relatado por Mamede (2007) e Morais (2011), a primeira etapa de degradação é atribuída à eliminação do ácido acético. A amostra de Aspirina® teve uma perda de massa correspondente a 28%, próximo do referencial teórico, enquanto que na segunda etapa, atribuída à eliminação do ácido salicílico, a perda foi de 62%. Mamede (2007), informa que o referencial teórico para o percentual de perda de massa inerente a esta etapa de degradação é de 70%.

Em relação à análise termogravimétrica do PGLD-AAS, as curvas TG/DTG apresentam um intervalo de decomposição entre 193 e 400°C para o PGLD salicilado utilizado neste trabalho. O perfil da curva DTG sugere a ocorrência de reações de decomposição sobrepostas, sendo a primeira ocorrendo entre 193 e 275°C, com pico de 242°C e a segunda ocorrendo entre 275 e 400°C, com pico de 310°C. As curvas termogravimétricas obtidas estão em concordância com os resultados de Silva (2008), Leite (2008) e Moura (2011).

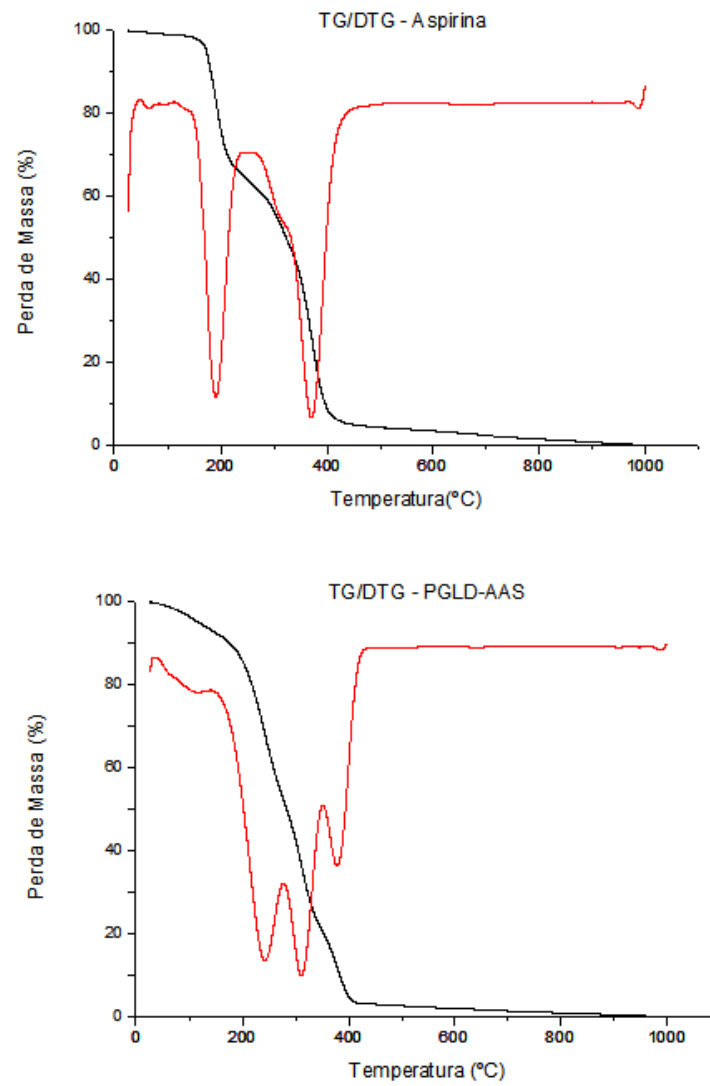


Figura 21: Curvas termogravimétricas dos precursores Aspirina® e PGLD-AAS.

Fonte: Autor.

5.2. Caracterização físico-química das microesferas de PGLD-AAS

5.2.1. Análise de espectroscopia vibracional (FTIR/ATR)

O espectro de absorção no infravermelho das microesferas de PGLD-AAS está ilustrado na Figura 22. Os picos de absorção no espectro estão em boa concordância com os do precursor PGLD-AAS ilustrado anteriormente (Figura 20). Como não foi possível observar resíduos e/ou subprodutos no espectro de absorção das microesferas e considerando os estudos anteriores de Silva (2008), Leite (2008) e Moura (2011) pode-se afirmar que análises adicionais de biocompatibilidade do material em estudo não são necessárias para posteriores análises in vivo.

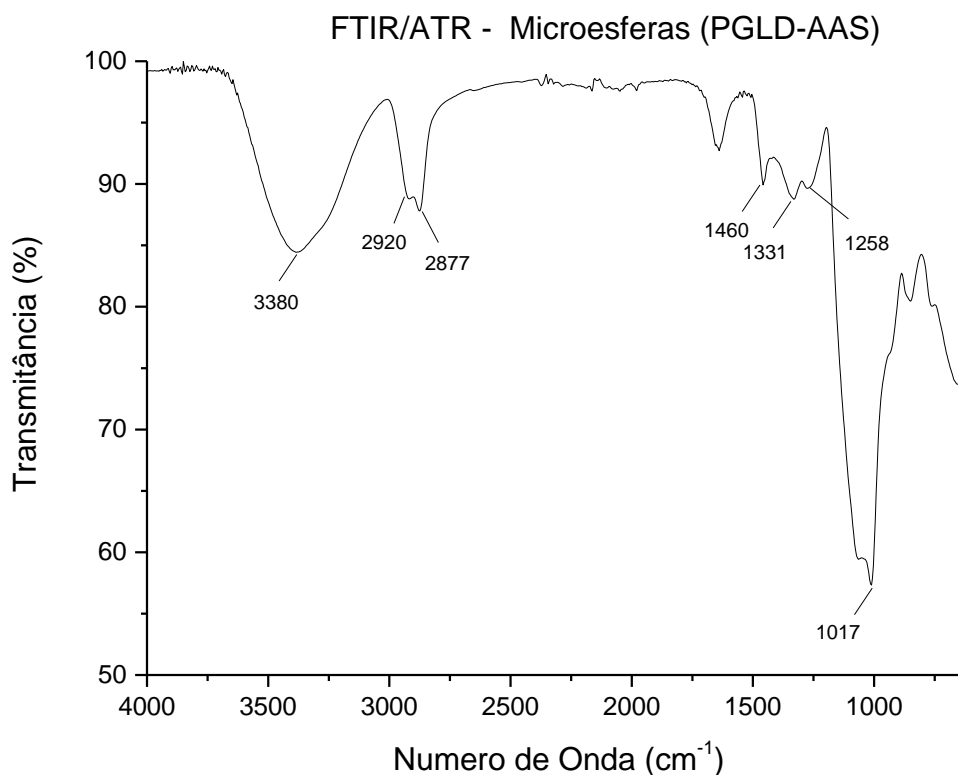


Figura 22: Espectro de absorção no infravermelho das microesferas de PGLD-AAS.

Fonte: (Autor).

5.2.2. Análise termogravimétrica e de calorimetria exploratória diferencial

As Figuras 23 e 24 ilustram as curvas TG/DTG e DSC referentes as microesferas de PGLD-AAS obtidas no presente trabalho. A amostra analisada apresentou um intervalo de decomposição entre 303 e 432°C, com pico máximo de 362°C. A perda de massa que ocorre até os 88°C pode ser atribuída a perda de umidade do material. O perfil da curva de degradação da amostra está aderente à curva obtida para o precursor PLGD, no entanto, é possível observar pequenas alterações nas faixas de temperatura entre as amostras de microesferas e gel de PGLD-AAS. Conforme relatado por Ionashiro (2004), é possível que existam diferenças entre as curvas termogravimétricas de um mesmo material se as amostras utilizadas em cada análise possuírem características diferentes. Desta forma, acredita-se que as diferenças encontradas entre as análises sejam decorrentes do processo de reticulação promovido pelo metacrilato de glicidila incorporado ao PGLD.

O equipamento DSC utilizado no presente trabalho é do tipo que utiliza a modalidade de compensação de fluxo de calor. Neste caso, a amostra e a referência são acondicionadas em cadinhos idênticos e aquecidos sobre uma fonte única de calor. O fluxo de calor diferencial entre amostra e referência é controlado por termopares conectados abaixo dos cadinhos, desta forma, a diferença de fluxo de calor da amostra e da referência é diretamente proporcional à diferença de potência das junções dos dois termopares. Para a apresentação de resultados no DSC de compensação de potência é adotada a convenção termodinâmica com eventos endotérmicos ($\Delta H > 0$ para variações entálpicas menores que zero) sendo representados por picos ascendentes na curva DSC e exotérmicos ($\Delta H < 0$ para variações entálpicas maiores que zero) sendo representados por picos descendentes na curva DSC.

A amostra foi aquecida e resfriada de forma eliminar a memória térmica do material para que seja levada em consideração apenas a segunda corrida térmica. Não foram observados eventos endotérmicos ou exotérmicos associados a fenômenos de cristalização ou fusão, indicado que o PGLD G4 utilizado no presente trabalho é essencialmente amorfo. Dendrímeros possuem estruturas extremamente ramificadas, o que impossibilita a formação de cristalitos, desta forma, eventos como fusão e cristalização não são comumente observados em polímeros com esta característica. Os resultados observados apresentam boa concordância com os resultados obtidos anteriormente no estudo de Militão (2013). Santos (2011) relata que a ausência de cristalinidade em dispositivos de liberação controlada de fármacos é importante,

em função da maior taxa de degradação que previne a permanência de fragmentos cristalinos e reações inflamatórias no organismo do paciente.

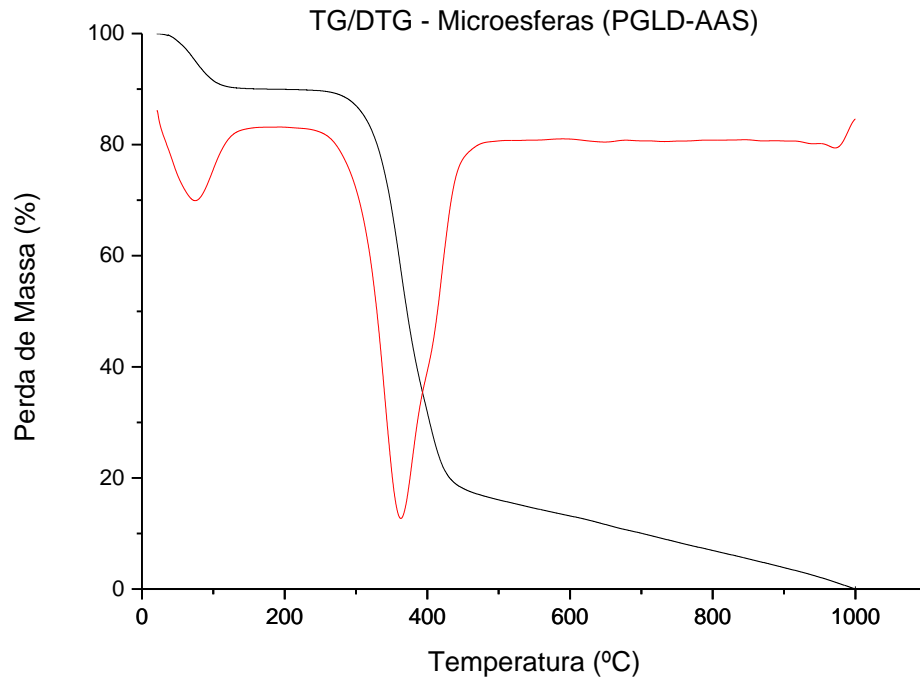


Figura 23: Curva termogravimétrica das microesferas de PGLD-AAS

Fonte: (Autor)

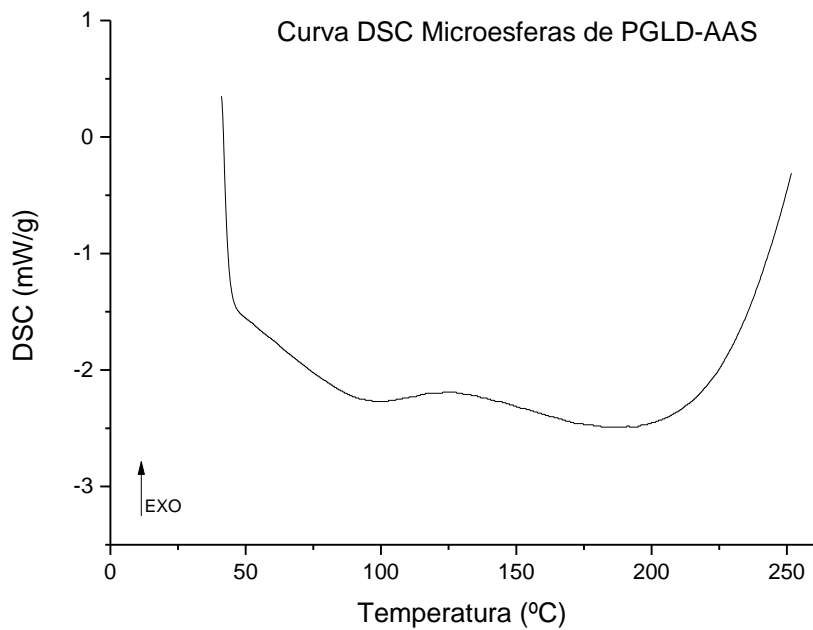


Figura 24: Curva DSC das microesferas de PGLD-AAS.

Fonte: (Autor).

5.3 Caracterização e análise morfológica das microesferas de PLGD-AAS

Por meio da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é possível avaliar a morfologia, presença de poros, diâmetro médio e distribuição de tamanho das partículas obtidas por meio do processo ilustrado anteriormente. As micrografias MEV obtidas para ambas amostras de microesferas de PGLD-AAS estão ilustradas na Figura 25. É possível observar que as amostras MPGLD₁₀ possuem uma superfície lisa, regular e praticamente sem poros. As amostras de MPGLD₂₀₀ apresentam superfície regular e porosa.

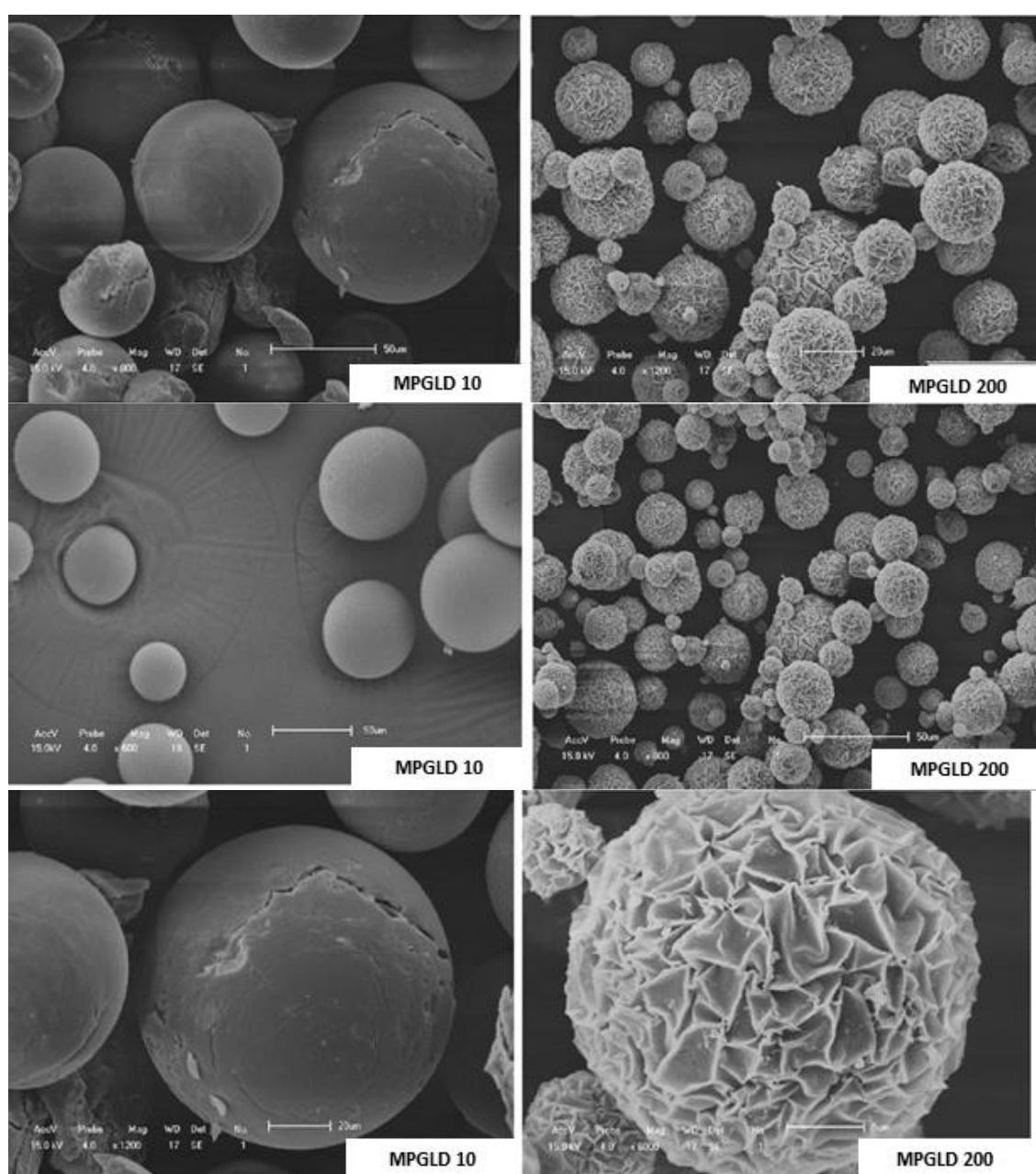


Figura 25: Micrografias MEV das microesferas de PGLD-AAS obtidas no presente trabalho.

Fonte: (Autor).

A distribuição média dos diâmetros das microesferas obtidas no presente trabalho foi calculada por meio de medição o tamanho das esferas através das micrografias MEV. A Figura 26 ilustra as distribuições de tamanhos para as amostras MPGLD₁₀ e MPGLD₂₀₀ baseadas em número. O diâmetro médio obtido para a amostra MPGLD₁₀ foi de 62,93 μm e para a amostra MPGLD₂₀₀ de 17,15 μm . De acordo com a morfologia e distribuição de tamanhos da amostra MPGLD₂₀₀, esta parecer ser a mais indicada para a utilização de liberação controlada de fármacos, sobretudo em função de sua porosidade, que propicia maior facilidade de difusão do meio pelo interior das microesferas, resultando em uma liberação mais acelerada em comparação com esferas de superfície lisa (SANTOS, 2011) e também por ter apresentado boa uniformidade com relação a distribuição de tamanhos. Santos (2011), informa que afim de se obter microesferas para liberação de fármaco apropriadas para liberação prolongada de fármacos, é importante que a distribuição de diâmetros varie entre 20 e 100 μm . Um sistema de liberação de fármacos ideal não deve apresentar microesferas maiores que 250 μm , preferencialmente devem conter microesferas menores que 125 μm . (JAIN, 2000). A Tabela 03 ilustra os dados obtidos para cada amostra de microesferas:

Tabela 03: Distribuição de tamanhos para amostras de microesferas.

Amostra	Diâmetro Mínimo (μm)	Diâmetro Médio (μm)	Diâmetro Máximo (μm)
MPGLD ₁₀	27,04	62,93	90,07
MPGLD ₂₀₀	5,60	17,15	34,11

Fonte: (Autor).

Para posterior análise da dispersão do coeficiente de difusão do sistema para as amostras de microesferas em análise, podemos computar os valores para o primeiro e terceiro quartis, além da mediana, a partir dos dados obtidos pela análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os dados estão ilustrados na Tabela 04:

Tabela 04: Quartis para distribuição de tamanho das amostras de microesferas.

Amostra	Q1	Q2	Q3
MPGLD ₁₀	52,33	63,27	73,27
MPGLD ₂₀₀	11,70	15,26	22,99

Fonte: (Autor).

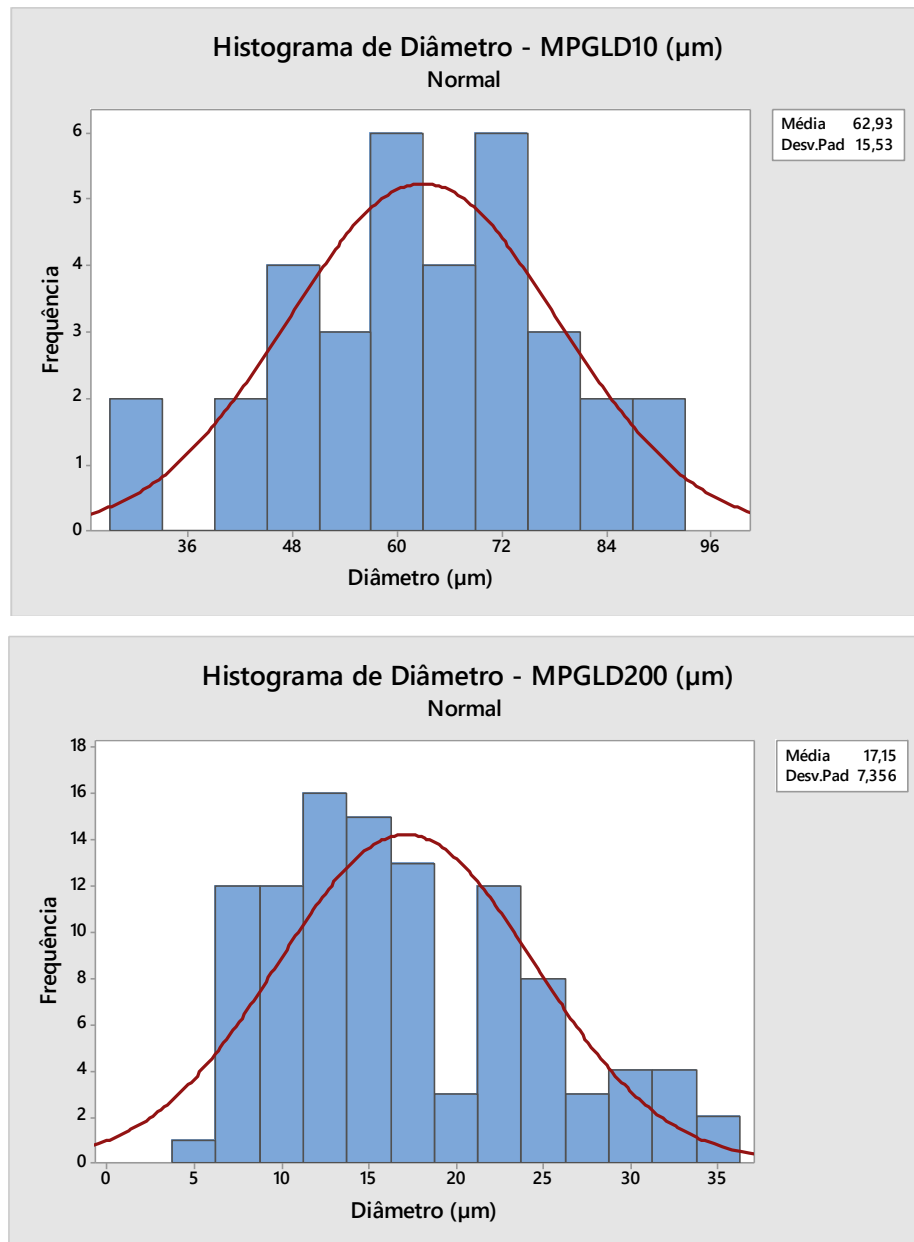


Figura 26 Distribuição de tamanhos das microesferas de PGLD-AAS obtidas a partir de micrografia MEV

Fonte: (Autor).

O percentual de AAS incorporado nas microesferas (PI) e a eficiência global do processo (EP) foram determinados analisando-se a quantidade de AAS no sobrenadante, de acordo com o procedimento de análise da Aspirina® por espectrofotometria de UV-Vis. As variáveis PI e EP do processo de obtenção das microesferas foram calculados através das Equações 2 e 3:

$$PI(\%) = \frac{M_{me}}{M_T} \cdot 100 \quad (2) \quad EP(\%) = \frac{M_m}{M_o + M_{PGLD}} \cdot 100 \quad (3)$$

Sendo M_{me} , M_T , M_m , M_o e M_{PGLD} as massas de Aspirina® encapsulada (na microesfera), massa total de microesferas no final do processo, massa de microesferas, massa inicial da aspirina e massa inicial do PGLD respectivamente.

Nesse trabalho, a eficiência global do processo de encapsulamento (EP) foi de 89,5% e o percentual de AAS incorporado nas microesferas foi de 63,7%.

5.4 Estudo da Liberação do AAS do sistema PGLD-AAS

A Figura 27 ilustra a curva de calibração obtida para o estudo de liberação do AAS do sistema PGLD-AAS em etanol:

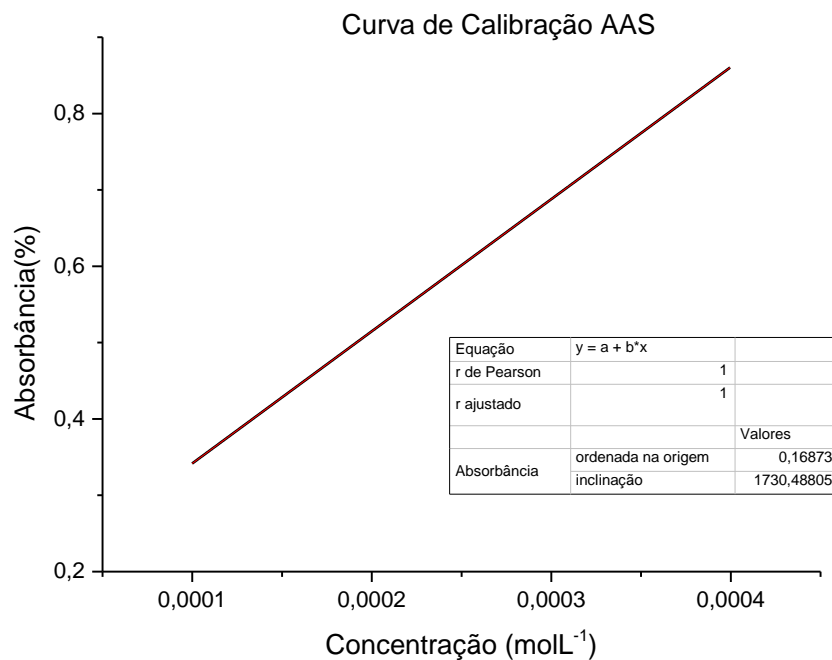


Figura 27: Curva de Calibração para o estudo da liberação do AAS do sistema PGLD-AAS.

Fonte: (Autor).

Com base na curva de calibração, é possível obter o perfil de liberação de AAS pelo sistema até o equilíbrio ao longo do tempo. A Figura 28 ilustra as curvas correspondentes à liberação do fármaco pelas microesferas de PGLD referentes às amostras MPGLD10 e MPGLD200, respectivamente:

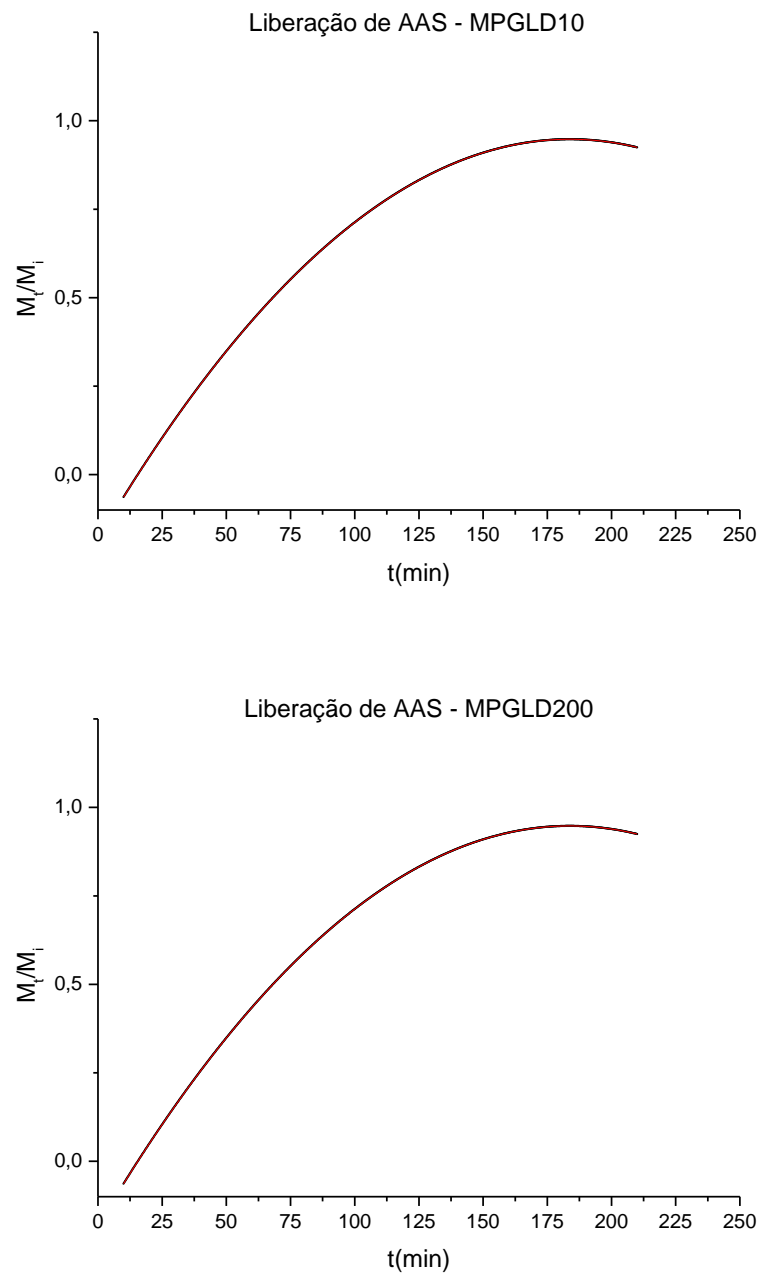


Figura 28: Perfil de liberação do AAS do sistema PGLD-AAS.

Fonte: (Autor).

Com base no perfil das curvas de liberação, pode-se afirmar que as amostras de microesferas de PGLD-AAS analisadas apresentaram perfil cinético de liberação de ordem 1, onde a quantidade de fármaco liberada é dependente da quantidade de fármaco remanescente na formulação. (RODRIGUES et.al, 2006).

De acordo com a primeira lei de Fick, à temperatura constante o fluxo de átomos difundidos num sentido é diretamente proporcional ao gradiente de concentração dos mesmos ao longo desse sentido. Matematicamente,

$$J = -D \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \quad (4)$$

Onde:

J =fluxo de átomos (átomos.m⁻².s⁻¹);

$\frac{\partial C}{\partial x}$ =gradiente de concentração (átomos.m⁻⁴);

D =coeficiente de Fick de difusão (m².s⁻¹).

Isto posto, surge a segunda lei de Fick:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad (5)$$

Que pode ser simplificada para:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (6)$$

Para o caso de D ser independente da posição em x .

É claro que as expressões anteriores tratam da difusão unidimensional, aplicável a membranas, mas não a cilindros e esferas. Assim, convém expressá-las em três dimensões (a seguir).

Primeira lei de Fick:

$$J(x, y, z) = -D \cdot \nabla C(x, y, z) = -D \cdot \left(\frac{\partial C}{\partial x} + \frac{\partial C}{\partial y} + \frac{\partial C}{\partial z} \right) \quad (7)$$

Segunda lei de Fick:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \nabla^2 C(x, y, z) = D \cdot \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) \quad (8)$$

Dado o interesse em solucionar problemas reais, que envolvem a variação da concentração de uma espécie ao longo do tempo e sua difusão através de membranas (e.g. osmometria), cilindros (e.g. vasos sanguíneos) e esferas (e.g. leucócitos), foram desenvolvidas soluções da segunda lei de Fick para uma, duas e três dimensões.

Para membranas, dado que a área da seção transversal é desprezível em relação à área frontal, a segunda lei de Fick toma a forma:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (9)$$

Que possui solução:

$$1 - \frac{M_t}{M_\infty} = \frac{8}{\pi^2} \cdot e^{-D \left[\frac{\pi}{2h} \right]^2 t} \quad (10)$$

Para cilindros, através da transformação cilíndrica ($x = r \cdot \cos \theta$ e $y = r \cdot \sin \theta$), a equação correspondente à segunda lei de Fick se torna:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(rD \frac{\partial C}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\frac{D}{r} \frac{\partial C}{\partial \theta} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(rD \frac{\partial C}{\partial z} \right) \right\} \quad (11)$$

Cuja solução é:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 2 \sqrt{\frac{D}{\pi L^2}} \sqrt{t} \quad (12)$$

E para esferas, através da transformação esférica ($x = r \sin \theta \cos \phi$, $y = r \sin \theta \sin \phi$ e $z = r \cos \theta$), a equação correspondente à segunda lei de Fick se torna:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \left\{ \frac{\partial}{\partial r} \left(Dr^2 \frac{\partial C}{\partial r} \right) + \frac{1}{\sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(D \sin \theta \frac{\partial C}{\partial \theta} \right) + \frac{D}{\sin^2 \theta} \frac{\partial^2 C}{\partial \phi^2} \right\} \quad (13)$$

Cuja solução pode ser encontrada no trabalho de SIGNORETTI (2003):

$$\frac{M(t)}{M_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} e^{-D\left[\frac{\pi}{b}\right]^2 t} \quad (14)$$

Linearizando a equação 14, pode-se obter o coeficiente de difusão D do sistema. A Figura 29 ilustra o gráfico de $\text{Ln}[1-M_t/M_i]$ versus t para as amostras de MPGLD₁₀ e MPGLD₂₀₀, o qual o coeficiente angular da reta ajustada corresponde ao coeficiente de difusão do sistema:

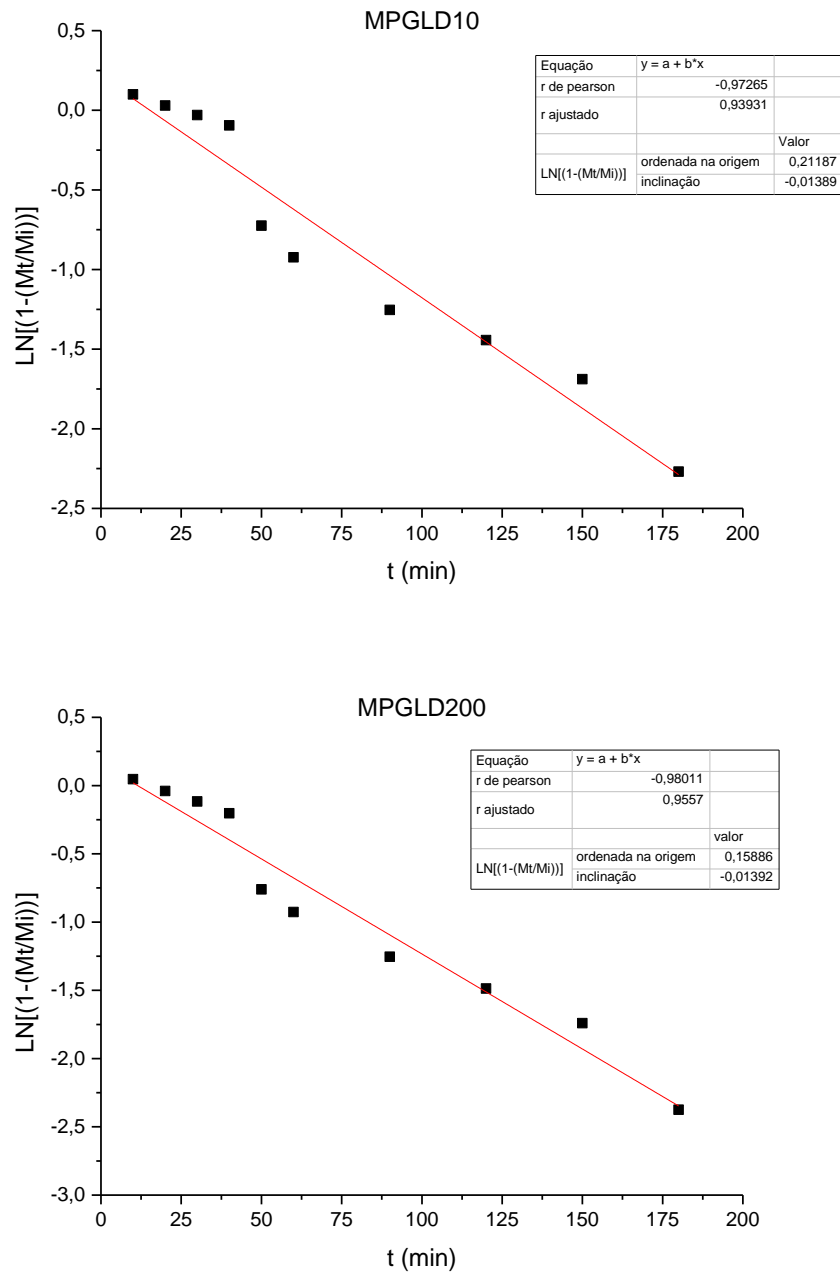


Figura 29: Regressão linear para obtenção do coeficiente de difusão do sistema. MPGLD₁₀ e MPGLD₂₀₀.

Fonte: (Autor).

Considerando os valores encontrados em 5.3 para média de diâmetros de cada amostra é possível computar o coeficiente de difusão considerando:

$$\frac{M(t)}{M_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} e^{-D \left[\frac{\pi}{b} \right]^2 t}$$

Onde D é coeficiente de difusão e b é o raio das esferas.

O tipo de transporte envolvido no sistema pode ser determinado pela relação empírica, que governa a liberação de princípios ativos em matrizes poliméricas (DE PAULA et.al, 2010) e que fornece facilmente o tipo de transporte na matriz polimérica (SIGNORETTI, 2003):

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = Kt^n \quad (15)$$

Sendo M_t/M_{∞} a fração em massa de fármaco liberada das esferas, K uma constante característica do sistema e n o expoente, ou coeficiente, característico do tipo de transporte envolvido. (SIGNORETTI, 2003). Carbinatto (2010) retrata os valores de n para diferentes formas geométricas e os respectivos mecanismos de liberação conforme Tabela 05:

Tabela 05: Expoente n e mecanismo de liberação de fármaco envolvido.

Expoente n			Mecanismo de Liberação
Filme Fino	Cilindro	Esfera	
0,5	0,45	0,43	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transporte Anômalo
1,0	0,89	0,85	Transporte Caso II

Fonte: (Carbinatto, 2010).

Linearizando a Equação 14, obtemos uma reta do tipo $A+bx$ a qual o coeficiente angular corresponde ao valor de n correspondente ao mecanismo de liberação envolvido no sistema. A

Figura 30 ilustra as regressões lineares para os dados obtidos para ambas as amostras de microesferas:

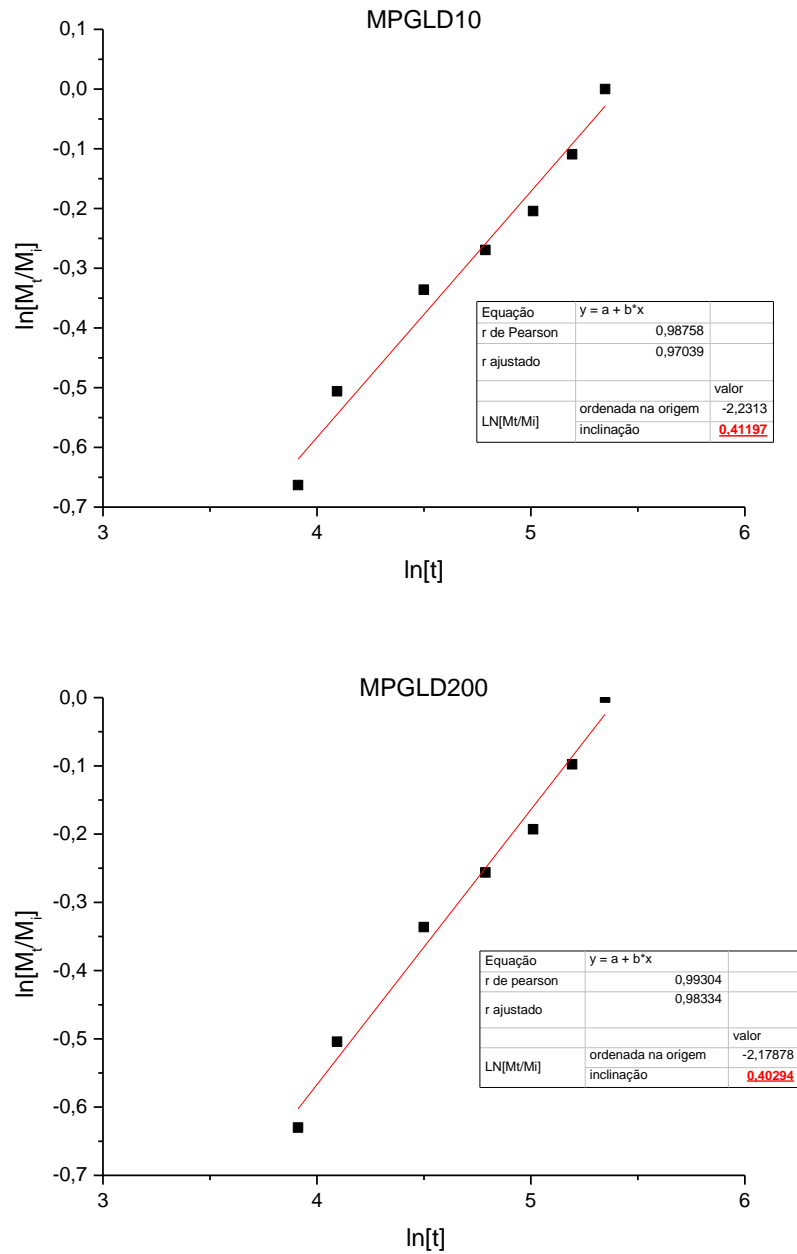


Figura 30: Regressão linear para obtenção do coeficiente de Fick do sistema.

Fonte: (Autor).

Com base nos dados ilustrados na Figura 30 e no exposto por Carbinatto (2010) observa-se que o tipo de transporte envolvido é o fickiano para ambas as amostras, o que corresponde a

dizer que as velocidades de difusão do fármaco e de relaxamento das cadeias do polímero são equivalentes.

A partir dos dados retratados na Tabela 04 e dos coeficientes angulares obtidos com a linearização da equação 14 é possível correlacionar a distribuição de tamanho das amostras com os respectivos coeficientes de difusão. A linearização da equação 14 resulta em:

$$\ln \left[1 - \frac{M(t)}{M_{\infty}} \right] = \ln \frac{6}{\pi^2} - D \left[\frac{\pi}{b} \right]^2 t \quad (16)$$

Que é uma equação de reta a qual o coeficiente angular é $-D \left[\frac{\pi}{b} \right]^2$, sendo D o coeficiente de difusão e b o raio das microesferas de PGLD. A Figura 31 ilustra os valores de difusão encontrados em função da variação do tamanho das partículas:

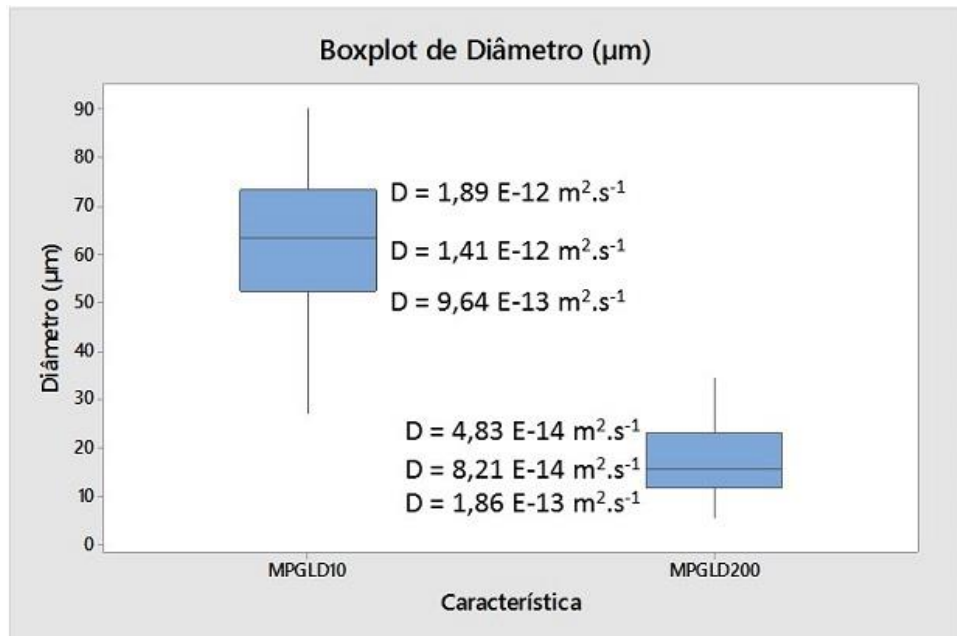


Figura 31: Valores de coeficiente de difusão em relação ao diâmetro médio das amostras de microesferas.

Fonte: (Autor).

Diversos fatores do processo de obtenção de microesferas, como a massa molecular do polímero, o surfactante utilizado e sua concentração, a proporção de fase orgânica e aquosa, o solvente utilizado na dissolução do polímero e sua taxa de evaporação e velocidade de agitação da emulsão interferem no diâmetro das microesferas que será obtido no final do processo (SANTOS, 2011). É possível observar diferenças entre os valores de difusão entre as amostras

de microesferas MPGLD₁₀ e MPGLD₂₀₀. As amostras MPGLD₂₀₀ apresentaram coeficientes e difusão menores devido a sua característica de ser mais fina, isto é, possuir média de diâmetro menor em relação a amostra MPGLD₁₀, indicando que a liberação do fármaco para as amostras MPGLD₂₀₀ tende a ser mais lenta, o que pode ser benéfico para sua aplicação, uma vez que esferas menores tendem a degradar mais rapidamente e liberarem uma quantidade grande de fármaco no início da aplicação (SANTOS, 2011).

Referências Bibliográficas:

- ASAKURA RIBEIRO, Y. et al. **Thermal decomposition of acetylsalicylic acid (aspirin).** *Thermochimica Acta*, [s.l.s.n.], p.177-181, 1995.
- CANEVAROLO, S. V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**, Artliber, 2007.
- CARVALHO, M.A; CEOLATO, T.A. **Esterificação de Glicerina Industrial.** 2014. 42 f. Monografia – Universidade Tecnológica do Paraná, Pato Branco.2014.
- CARBINATTO, F.M. **Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos.** 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho. Araraquara. 2010.
- DE PAULA et al. **Esferas (Beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri pax et hoffm.** *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, [s.l.s.n.], p.112-120, 2010.
- CHAN, A. **Synthesis and Analysis of Acetyl Salicylic Acid**, [s.l.s.n.], 2002. Disponível em: <http://www.file:///E:/Lab%20Three%20Report%20Aspirin.pdf>. Acesso em 15 mar.2016.
- IONASHIRO, M. **Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial / Calorimetria Exploratória Diferencial.** Araraquara: Giz, 2004. 98 p.
- JAIN, R.A. **The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-co-glycolide) (PGLA) devices.** *Biomaterials*, [s.l.], v.21, n.23, p.2475-2490, 2010.
- LEITE, J.F. **Propriedades Hemocompatíveis do Dendrímero Bioativo de Poliglicerol Conjugado com Estreptoquinase.** 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2008.
- MAMEDE et al. **Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos.** *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, São Paulo, v.27, n.2, p.151-155, 2006.
- MILITÃO, L.V. **Análise físico-química e fotodinâmica de clorofila em dendrímeros de poliglicerol.** 2013. 125 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2013.
- MORAIS, F.E. **Estudo Termoanalítico de Medicamentos de Referência, Genérico e Similar.** 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2011.
- MOURA, R.M. **Avaliação do Potencial Cytotóxico e Antitumoral do Dendrímero de Poliglicerol Salicilado em Diferentes Linhagens Celulares.** 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2011.
- RAINSFORD, K. D. **Aspirin and Related Drugs.** 1. Ed. Londres: Taylor and Francis, 2004. 460 p.

- RODRIGUES et al. **Equivalência farmacêutica entre comprimidos de propranolol comercializados no Mercado nacional.** *Infarma*, [s.l], v.18, n.3-4, p.16-21, 2006.
- SANTOS, C.C. **Obtenção e caracterização de microesferas de PLDLA carregadas com sinvastatina.** 2011. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2011.
- SILVA, A.R.P. **Estudo das Propriedades Bioquímicas de Sistemas Poliméricos Dendríticos PGLD-AAS Para o Tratamento do Câncer.** 2008. 169 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2008.
- SEMALTY et al. **Development and characterization of Aspirin-phospholipid acid complex for improved drug delivery.** *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, Srinagar, v.3, n.2, p.940-947, 2010.
- SIGNORETTI, V.T. **Utilização de Polímeros hidrofílicos em processos biotecnológicos.** 2003. 123 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Itajubá, Itajubá. 2003.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, FRANCIS X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 6. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 1994. 774 p.
- SZCEKLIK, A. **The History of Aspirin the Discoveries That Changed Contemporary Medicine.** *Pontifical Academic of Science, Cidade do Vaticano.* p.175-184, 2006.

CONCLUSÕES

Neste capítulo serão apresentadas as conclusões do presente trabalho, levando em consideração os resultados e discussões apresentados nas seções anteriores, bem como os objetivos gerais e específicos propostos anteriormente.



6

6.1 Conclusões

O presente trabalho investigou a viabilidade da utilização do PGLD-AAS para produção de microesferas para posterior utilização na liberação controlada de Aspirina®. Dentro deste escopo e com base nos resultados obtidos, é possível concluir:

- 1) O método Fotoquímico, como descrito neste trabalho, possibilitou com sucesso a obtenção de microesferas de PGLD-AAS;
- 2) A diferença no tempo de exposição à radiação UV da emulsão A/O durante o processo de obtenção das microesferas altera a morfologia e tamanho médio das microesferas resultantes;
- 3) As microesferas obtidas apresentaram morfologia e distribuição de tamanho adequados para a aplicação em liberação controlada de Aspirina®;
- 4) Não foi possível observar alterações significativas na estrutura química das microesferas em relação ao precursor PGLD-AAS;
- 5) A amostra MPGLD₂₀₀, caracterizada por ter sido obtida por meio de maior tempo de exposição à luz UV, apresentou coeficientes de difusão menores em relação a amostra MPGLD₁₀. Este fato parece estar associado à um maior percentual de reticulação.
- 6) O tipo de transporte que rege o processo de liberação é o Fickiano para ambas as amostras.

PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

De forma a incentivar a pesquisa acerca dos itens apresentados neste trabalho, este capítulo lista algumas sugestões de trabalhos futuros que podem contribuir para o desenvolvimento / aprimoramento de microesferas de PGLD-AAS aplicadas ao tratamento de arritmias cardíacas e doenças correlatas.



7

7.1 Perspectivas de Trabalhos Futuros

Dentre as perspectivas de trabalhos futuros acerca do sistema transportador MPGLD e MPGLD-AAS, pode-se destacar:

- 1) Caracterizar o sistema MPGLD-AAS quanto ao potencial zeta;
- 2) Comparar as atividades antitrombótica, anticoagulante e hemorrágica do sistema transportador MPGLD com outros fármacos antitrombóticos, à procura de um antitrombótico ideal;
- 3) Avaliar in vivo a ação antitrombótica do sistema transportador MPGLD-AAS em modelo de experimentação animal usando modelo de trombose venosa profunda induzida por estase e hipercoagulabilidade após a administração por via subcutânea ou oral;
- 4) Avaliar in vivo a ação anticoagulante do sistema transportador MPGLD-AAS em modelo experimental animal após a administração por via subcutânea ou oral;