



Emprego dos Polihidroxicanoatos em Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos

Françoise CARMIGNAN, Juliana BIDONE & Elenara LEMOS-SENNA*

Laboratório de Farmacotécnica, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Trindade, Florianópolis, SC, Brasil. CEP 88040-900

RESUMO. Os polihidroxicanoatos são poliésteres de hidroxiácidos sintetizados por inúmeras bactérias, como compostos que servem como fonte de carbono intracelular e energia, sendo acumulados na forma de grânulos no citoplasma das células. Estes polímeros têm representado um imenso potencial para aplicação farmacêutica, na área de liberação controlada de fármacos, em virtude de suas características de biodegradabilidade e biocompatibilidade. Neste trabalho são abordados os conhecimentos adquiridos sobre estes polímeros, sobretudo aqueles de interesse para sua utilização no desenvolvimento de novos medicamentos. Estudos sobre a utilização em sistemas de liberação prolongada são relatados, especialmente na área de microencapsulação, dando ênfase aos fatores que têm demonstrado afetar a velocidade de liberação de fármacos.

SUMMARY. "Use of Polyhydroxyalkanoates in Drug Delivery Systems". Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are polyesters of 3-hydroxyacids synthesized by numerous bacteria species as intracellular carbon and energy storage compounds and accumulated as granules in the cytoplasm of cells. These polymers have shown great potential for pharmaceutical application due to their biodegradation and biocompatibility characteristics. In this paper, the properties of these polymers are described, mainly those that are crucial for the development of new drug dosage forms. Studies concerning the preparation of prolonged release dosage forms from these polymers are mentioned, in particular those regarding the microencapsulation approach, emphasizing the factors affecting the rate of drug release.

INTRODUÇÃO E REVISÃO HISTÓRICA

O contínuo crescimento da área de medicamentos tem levado ao desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos, principalmente os sistemas de liberação prolongada. Estes novos sistemas oferecem inúmeras vantagens de emprego, quando comparados com as formas farmacêuticas convencionais, as quais incluem a melhoria na eficácia, redução da toxicidade, melhoria do conforto e adesão do paciente ao tratamento. Vários polímeros têm sido empregados na preparação de sistemas de liberação prolongada. Entre eles pode-se citar os poliésteres alifáticos, os copolímeros do ácido metacrílico e dos ésteres acrilatos, além de diferentes polissacarídeos, tais como a celulose e seus derivados, os alginatos e as quitosanas¹.

Para a administração parenteral, polímeros biodegradáveis são claramente os materiais de escolha. Além disso, os requisitos de segurança, biocompatibilidade e baixa toxicidade do polímero e de seus produtos de degradação devem ser considerados no desenvolvimento das formulações².

Poliésteres alifáticos biodegradáveis, tais como poli(ácido lático) (PLA) e seu copolímero poli(ácido lático-co-glicólico) (PLAGA), são frequentemente usados na preparação de nano- e micropartículas. Estes polímeros sofrem hidrólise química ou enzimática de suas ligações ésteres no meio aquoso dos fluidos biológicos, formando produtos de degradação que são metabolizados à dióxido de carbono e água, via ciclo de Krebs, ou que são excretados pelos rins. Fa-

PALAVRAS CHAVE: Microencapsulação, Polihidroxicanoatos, Sistemas de liberação de fármacos.

KEY WORDS: Drug delivery systems, Microencapsulation, Polyhydroxyalkanoates.

* Autor a quem correspondência deve ser enviada: *Email:* lemos@ccs.ufsc.br

tores como configuração da cadeia polimérica, teor de ácido glicólico no copolímero e massa molar, podem ser alterados com o objetivo de modular a velocidade de biodegradação desses polímeros e, conseqüentemente, a velocidade de liberação do fármaco ³.

Uma outra classe de polímeros genericamente conhecida como polihidroxialcanoatos (PHAs) tem representado imenso potencial para aplicação farmacêutica, uma vez que oferecem uma alternativa como matéria prima para a obtenção de sistemas de liberação para a via parenteral. Estes polímeros são poliésteres de hidroxíácidos (HAs) estereoregulares opticamente ativos, não sendo produzidos por síntese química, mas biossinteticamente por bactérias a partir de matérias primas naturais, podendo ser prontamente degradados por microorganismos em diferentes condições. O mais comum dos PHAs, é o homopolímero poli (3-hidroxibutirato) (P(3HB)) e seu copolímero com hidroxivalerato [P(3HB-co-3HV)] ^{4,5}.

Os polihidroxialcanoatos são estocados na forma de grânulos por bactérias. A observação microscópica destes grânulos em bactérias, como corpos refratários, remonta a Beijerinck em 1888. Entretanto, a primeira determinação da composição de um PHA aconteceu somente em meados de 1927, com o trabalho de Lemoigne. A degradação anaeróbica de um material não conhecido levou a excreção de ácido 3-hidroxibutírico pelo bacilo *Bacillus megaterium*. Lemoigne identificou este material como sendo o homopolímero do 3-hidroxibutirato, ou poli-3-hidroxibutirato [P(3HB)], e descreveu-o como um provável material de reserva. Durante os trinta anos seguintes, o interesse no P(3HB) ficou restrito à descrição de métodos de detecção e determinação do teor nas células e das condições de cultura que levasse a sua síntese e degradação pelo bacilo ⁶.

Uma convincente hipótese sobre a funcionalidade do P(3HB) foi descrita por Macrae & Wilkinson em 1958. Estes pesquisadores observaram que *B. megaterium* estocava o homopolímero especialmente quando as reservas de glicose e nitrogênio no meio de cultivo eram altas, e que a subsequente degradação pelo *Bacillus aureus* e *B. megaterium* ocorria rapidamente na ausência de carbono exógeno e de fonte de energia. Concluíram, então, que P(3HB) era um material de reserva para a obtenção de carbono e energia e sua síntese ocorria com o envolvimento dos complexos acetato e coenzima A. A partir destes resultados, o interesse no estudo

do P(3HB) aumentou drasticamente, ocorrendo importantes avanços no conhecimento sobre a ocorrência disseminada deste polímero em outros microorganismos, características físico-químicas, métodos de extração, detecção ou quantificação, metabolismo e regulação, e degradação ⁶.

O campo dos PHAs estava, então, bem desenvolvido, mas o interesse nos biopolímeros permaneceu direcionado somente a sua significância fisiológica, como substância de origem microbiológica. O interesse na utilização do P(3HB) como um tipo alternativo de material plástico surgiu somente na década de 70, em decorrência do aumento do preço e da escassez do petróleo, não somente porque poderia ser sintetizado a partir de fontes renováveis, mas também devido à semelhança das suas propriedades com o polipropileno. Outras características, particularmente de biodegradabilidade e biocompatibilidade, sustentaram o interesse da utilização do P(3HB), mesmo após a crise do petróleo ter passado ^{6,7}.

Em 1974, Wallen & Rodwedder relataram o isolamento de um poliéster contendo unidades de ácido 3-hidroxivalérico (3HV) e 3-hidroxibutírico (3HB) como principais componentes, além de unidades de ácido 3-hidroxihexanóico e 3-hidroxihexanoico em menor quantidade. O interesse nestes polímeros, em particular nos copolímeros do 3HB e 3HV, formando o poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) [P(3HB-co-3HV)], deve-se ao fato de apresentarem ponto de fusão mais baixo e serem menos cristalinos. Isto torna-os menos densos e mais maleáveis quando comparados ao P(3HB), tornando-os materiais mais promissores para sua aplicação em diversas áreas. Atualmente, uma variedade de P(3HB-co-3HV)s com diferentes teores de 3HV são produzidos a partir da bactéria *Ralstonia eutropha*, anteriormente denominada de *Alcaligenes eutrophus* ⁶.

No Brasil, o desenvolvimento da tecnologia para a produção de PHAs como plásticos biodegradáveis e biocompatíveis teve início em meados da década de 90, usando carboidratos como material de partida, em especial derivados da cana-de-açúcar. Duas estratégias de busca do microorganismo ideal foram adotadas. A primeira visava a utilização de uma linhagem de coleção de culturas capazes de produzir o P(3HB) a partir de glicose e frutose. O melhoramento genético da bactéria foi então realizado de modo a torná-la capaz de acumular o polímero utilizando a sacarose. Simultaneamente, um pro-

grama de isolamento e seleção de bactérias de solo capazes de utilizar a sacarose e produzir o P(3HB) com alta eficiência foi iniciado ⁸. Devido ao seu melhor desempenho e por não ser patogênica, uma linhagem denominada IPT 101 e posteriormente designada *Burkholderia saccharii*, justamente por ter sido isolada a partir de solo de canavial, foi selecionada ⁹. Como resultado, ao final da década de 90, obteve-se um processo de produção de poli-3-hidroxi-butarato P(3HB) e seu copolímero poli-3-hidroxi-butarato-co-3-hidroxi-valerato P(3HB-co-3HV) utilizando como fonte de carbono principal o açúcar da cana. Atualmente a produção é realizada em tanques agitados e aerados em condições controladas de pH, temperatura, oxigênio dissolvido e aporte de matérias-primas. O copolímero é produzido pela adição concomitante de ácido propiônico e açúcar. O processo de separação e purificação do produto garante alta pureza e peso molecular adequados ao processamento do polímero ⁸.

Além de propriedades termoplásticas, que lhes permitem serem moldados ou transformados em filmes para aplicações diversas, os PHAs são também biocompatíveis, tornando-se importantes materiais para a aplicação médica e farmacêutica, principalmente para a utilização como suturas, próteses, suportes de culturas de tecido para implantes, e obtenção de formas farmacêuticas de liberação prolongada. O P(3HB) foi o polímero inicialmente estudado, bem como seu copolímero P(3HB-co-3HV). A utilização destes polímeros representa um custo muito menor, quando comparado aos polímeros sintéticos biodegradáveis convencionais, como o PLGA. Entre as diferentes aplicações dos PHAs na área da saúde, destaca-se a obtenção de formas farmacêuticas de liberação prolongada. O potencial de aplicação destes polímeros para a obtenção de matrizes poliméricas vem sendo extensivamente estudado pelo fato de representarem matérias-primas alternativas para a produção de medicamentos. Este interesse vem ao encontro à pesquisa sobre a melhoria das propriedades biofarmacêuticas de fármacos já existentes, na qual tem gerado novas possibilidades de utilização na terapêutica. Neste artigo, pretendemos descrever os conhecimentos adquiridos sobre estes polímeros, sobretudo aqueles de interesse para a aplicação farmacêutica. Estudos sobre a utilização em sistemas de liberação prolongada são relatados, especialmente na área de microencapsulação, dando ênfase aos fatores que afetam a velocidade de liberação dos fármacos.

BIOSSÍNTESE DOS POLIHIDROXIALCANOATOS

A principal função dos PHAs nos microorganismos é armazenar, dentro da célula, materiais que possam servir de reserva, como fonte de carbono e energia. Os polímeros são sintetizados e acumulados na forma de grânulos intracelulares, geralmente com limitação de um componente essencial ao crescimento, como nitrogênio, fosfato, enxofre, oxigênio ou magnésio, na presença de um excesso de uma fonte de carbono ¹⁰. Os grânulos são esféricos; o número por célula e o tamanho podem variar conforme as diferentes espécies. Geralmente, são formados 8 a 13 grânulos por célula apresentando diâmetro médio de 100-800 nm, os quais encontram-se envolvidos por um tipo de micela monolamelar de aproximadamente 2-4 nm de espessura. Estes grânulos são sólidos e constituídos de 98% de polímero e 2% de proteína. A percentagem de PHAs na bactéria é baixa, cerca de 1 a 30%, mas sob condições de fermentação controlada ocorre uma super produção do polímero, podendo alcançar cerca de 80% de massa celular seca ^{4,11}.

Uma ampla variedade de microorganismos produz PHAs, incluindo bactérias do solo, microflora estuária e algas verdes-azuis ^{4,12}. Dependendo do número de átomos de carbono da cadeia, dois tipos de PHAs podem ser obtidos: (i) cadeia curta (3-5 átomos de carbono) e (ii) cadeia média (6-14 átomos de carbono). Esta diferença ocorre principalmente devido à especificidade frente ao substrato, na síntese do polímero. Por exemplo, na síntese de PHAs, o *Alcaligenes eutrophus* (*R. eutropha*) pode polimerizar 3HAs apresentando de 3 a 5 átomos de carbono, enquanto o *Pseudomonas oleovorans* pode somente aceitar 3HAs com 6 a 14 átomos de carbono ^{7,11}.

A rota biossintética de produção de P(3HB), o principal representante da classe dos PHAs, consiste de três reações enzimáticas catalisadas por três enzimas diferentes (Fig. 1). A primeira reação consiste na condensação de duas moléculas de acetilcoenzima A (acetil-CoA) a acetoacetil-CoA pela β -cetoacil-CoA tiolase (codificada pelo gene *phbA*). A segunda reação consiste na redução da acetoacetil-CoA a (R)-3-hidroxi-butilil-CoA por uma acetoacetil-CoA redutase NADPH-dependente (codificada pelo gene *phbB*). Finalmente, os monômeros (R)-3-hidroxi-butilil-CoA são polimerizados a P(3HB), pela P(3HB) polimerase, codificada pelo gene *phbC* ¹².

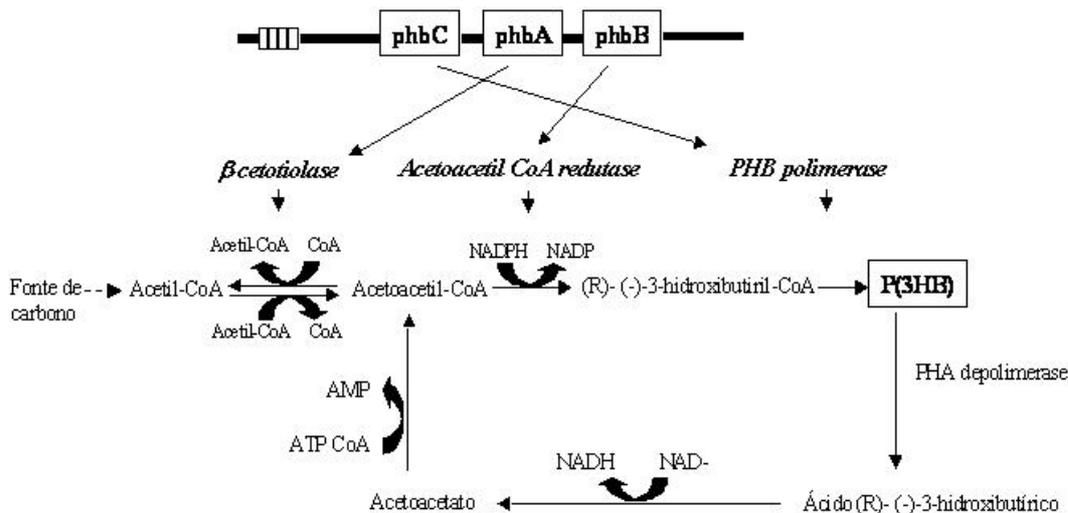


Figura 1. Rota biossintética e de degradação do P(3HB).

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

Os PHAs são poliésteres alifáticos do carbono, oxigênio e hidrogênio. Sua fórmula geral é mostrada na Fig. 2. A composição da cadeia lateral ou átomo R e valor de x identificam conjuntamente uma unidade monomérica. O “R” pode ser um átomo de hidrogênio ou uma cadeia de hidrocarboneto de até 13 carbonos e “x” pode variar de 1 a 3 carbonos. A variação de “x” e “R” afeta a hidrofobicidade, Tg, Tm e grau de cristalinidade do polímero. Para o P(3HB), o mais comum dos PHAs, x = 1. O P(3HB) é constituído de monômeros com um grupamento metila, enquanto as unidades 3HV contêm um grupamento etila na cadeia lateral ⁶. A massa molar desses polímeros varia entre 2 x 10⁵ a 3 x 10⁶ daltons, dependendo do microorganismo, das condições de produção, como tempo de fermentação, velocidade de crescimento e concentração da fonte de carbono, e do método de extração. Entretanto, alguns PHAs, como o homopolímero poli(3-hidroxiacetato) (P(3HV)), apresentam massas molares de 60.000 daltons ou menos ⁷.

No estado sólido, o P(3HB) apresenta-se na forma de uma hélice com duas unidades monoméricas completando uma volta. As forças envolvidas nesta conformação são principalmente interações do tipo Van der Waals entre os

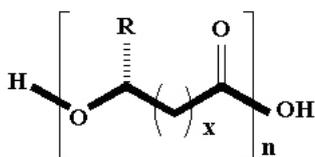


Figura 2. Estrutura geral dos polihidroxiacetatos.

oxigênios dos grupamentos carbonílicos e metílicos. A estereoregularidade do P(3HB) torna-o um material altamente cristalino. É opticamente ativo, com o carbono quiral apresentando-se sempre na configuração R, quando obtido biologicamente. O P(3HB) tem várias propriedades úteis tais como resistência à umidade, pureza óptica e piezoelectricidade. Porém, apresenta duas grandes limitações. Primeiro, o P(3HB) apresenta baixa estabilidade frente à fusão, pois se decompõe em aproximadamente 200 °C, ou seja, numa temperatura próxima a temperatura de fusão. Segundo, o P(3HB) torna-se quebradiço em alguns dias sob certas condições de armazenamento ⁷.

O grau de cristalinidade é o parâmetro básico mais importante na caracterização de polímeros semicristalinos. A cristalinidade afeta várias propriedades dos polímeros incluindo as mecânicas, físicas, termodinâmicas e ópticas. Na perspectiva farmacêutica, a cristalinidade dos materiais poliméricos afeta as propriedades de degradação e liberação do fármaco ^{4,7}. A estrutura cristal do copolímero P(3HB-co-3HV) é semelhante a do P(3HB). Entretanto, alguns autores constataram que a cristalinidade do copolímero diminui com o aumento da fração molar das unidades 3HV. As características de menor cristalinidade e mais baixas temperaturas de transição vítrea conferem aos P(3HB-co-3HV) melhores propriedades mecânicas, como menor dureza, tornando-os termoplásticos mais interessantes que o P(3HB) puro.

O homopolímero P(3HB) é solúvel em vários solventes orgânicos. Como esperado, a solubilidade é dependente da massa molar do polímero e da temperatura. Clorofórmio e diclorometano são os solventes mais comumente empregados

para o P(3HB) e P(3HB-co-3HV). A solubilização completa de concentrações modestas, como 2% (p/v), necessita de refluxo com o solvente a aproximadamente 62 °C por 24 h⁴.

Estudos de calorimetria exploratória diferencial têm demonstrado que a faixa de fusão do P(3HB) varia entre 160-180 °C, dependendo do peso molecular e história térmica da amostra. A temperatura de fusão decresce com o aumento da fração de 3HV, podendo alcançar até 80 °C, sem afetar a temperatura de degradação. A temperatura de transição vítrea do P(3HB) e do copolímero P(3HB-co-3HV) varia de aproximadamente -5 a +20 °C. As propriedades dos materiais poliméricos podem ser controladas ajustando a fração de 3HV durante a fermentação^{4,7,13}.

DEGRADAÇÃO DOS POLIHIDROXIALCANOATOS

O planejamento e desenvolvimento de micropartículas contendo agentes bioativos, para aplicação na terapêutica, requer o entendimento do fenômeno de biodegradação, bem como das respostas teciduais e celulares que determinam a sua biocompatibilidade. O conhecimento físico-químico do processo de degradação e erosão polimérica é a chave para a compreensão de possíveis problemas decorrentes da administração destes sistemas e talvez, também, para a busca de soluções. No processo de degradação ocorre a deterioração das propriedades do polímero pela clivagem das cadeias poliméricas para formar oligômeros e, posteriormente, monômeros. Existem diferentes tipos de degradação polimérica, dependendo do processo de iniciação, tais como fotoquímica, térmica, mecânica e por meio de ataque químico, sendo este último o mais importante¹⁴.

Estudos de degradação química dos PHAs têm sido realizados, utilizando filmes preparados a partir destes materiais. A degradação *in vitro* de P(3HB) tem demonstrado ser relativamente lenta quando comparada à degradação do PLAGA. Estudos de degradação sugerem que a perda de massa de filmes finos (85 µm) a 37 °C e pH 7,4 ocorre com uma meia vida de aproximadamente 152 semanas. Entretanto, a degradação de filmes constituídos do copolímero P(3HB-co-3HV) demonstrou ser mais rápida do que a do homopolímero. A penetração da água dentro do polímero foi muito pequena para ser analisada precisamente, o que levou aos autores concluir que o mecanismo de degradação *in vitro* do P(3HB-co-3HV) procedeu através do processo de erosão superficial⁴.

O desenvolvimento de materiais absorvíveis a partir do P(3HB) (PM ~600.000 daltons), para o reparo de lesões gastrintestinais, foi estudado por Freier *et al.*¹⁵. Com o intuito de verificar o efeito da utilização de blendas sobre a velocidade de degradação, vários filmes foram preparados contendo P(3HB)s de diferentes pesos moleculares ou plastificantes. Os filmes preparados a partir do P(3HB) puro tiveram o peso molecular reduzido à metade após um ano, em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C. A redução do peso molecular foi maior quando blendas de P(3HB) com P(3HB) atático foram utilizadas, enquanto nenhuma influência foi verificada quando P(3HB) de baixo peso molecular foi empregado na blenda. A velocidade de degradação do P(3HB) foi acelerada ou reduzida com adição de plastificantes. Neste caso, a utilização de compostos hidrossolúveis levou a um leve aumento da degradabilidade, enquanto compostos hidrofóbicos conduziram à desaceleração da degradação.

Estudos realizados com o P(3HB-co-3HV) evidenciaram que a composição do copolímero, massa molar, técnica de fabricação, pH, temperatura, e a presença de constituintes do plasma afetam a velocidade de degradação *in vitro*⁵. Desta maneira, é possível esperar que a velocidade de degradação das microesferas preparadas a partir desses polímeros, assim como, a velocidade de liberação de fármacos encapsulados, seja passível de ser modulada.

Desde que os PHAs são polímeros de elevada massa molar e incapazes de serem transportados através da parede celular, vários microorganismos excretam PHB-depolimerases extracelulares que os hidrolisam em monômeros e oligômeros solúveis em água (Fig. 1), que são posteriormente utilizados como nutrientes¹³. O efeito da estrutura química e das características do estado sólido sobre a degradação enzimática do P[(R)-3HB] e seus copolímeros foi investigada por diversos autores. A velocidade de hidrólise enzimática foi fortemente dependente da estrutura química da segunda e terceira unidade monomérica da cadeia do polímero, diminuindo à medida que o comprimento da cadeia lateral aumentava¹⁶. A velocidade de degradação enzimática também diminuiu com o aumento da cristalinidade do polímero. A PHB-depolimerase hidrolisa inicialmente cadeias de poliésteres amorfas na superfície e subsequenteemente provoca a erosão das cadeias poliméricas no estado cristalino¹⁶⁻¹⁸.

TOXICIDADE E BIOCAMPATIBILIDADE DOS POLIHIDROXIALCANOATOS

A biodegradação é um processo natural pelo qual composto orgânico é convertido a moléculas mais simples em um ambiente biológico. O termo biocompatibilidade se refere à aceitabilidade mútua entre o polímero e seu ambiente fisiológico, envolvendo tanto a influência do meio biológico sobre a degradação do polímero, quanto a resposta tecidual provocada pela presença do mesmo ^{4,19}.

A degradação do P(3HB) *in vitro* leva à formação do monômero ácido D-(-)-3-hidroxi-bútrico. Este ácido é um constituinte normal do sangue e, em comum com acetoacetato e acetona, é uma das três cetonas corporais produzidas endogenamente por um processo conhecido como cetogênese ^{4,5,20,21}. Além disso, PHAs de baixo peso molecular complexados com outras macromoléculas encontram-se amplamente distribuídos nas células biológicas. A complexação modifica as suas propriedades físicas e químicas, permitindo que ele atravesse regiões tanto aquosas quanto lipídicas, fazendo com que ele seja encontrado no citoplasma e fluidos intracelulares, bem como nas membranas e lipoproteínas ^{15,21}. Com estas descobertas, têm-se admitido que o P(3HB), seus oligômeros e monômeros não sejam tóxicos às células.

Estudos demonstram que propriedades nutricionais ou terapêuticas são obtidas pelo aumento dos níveis das cetonas corporais, na forma de oligômeros lineares ou cíclicos e/ou derivados de 3-hidroxiácidos, particularmente aqueles constituídos de 3-hidroxi-bútrato, 3-hidroxi-valerato, 3-hidroxi-hexanoato e 3-hidroxi-heptanoato. Administrados oralmente, na forma de suplementos alimentares, ou por via parenteral, estes compostos são úteis no controle dos ataques epiléticos, doenças metabólicas, redução do catabolismo das proteínas, tratamento do diabetes, aumento da eficiência cardíaca e em desordens neurodegenerativas. Igualmente, oligômeros poli-4-hidroxi-bútratos e o monômero 4-hidroxi-bútrico têm sido propostos para o tratamento de numerosas doenças. Portanto, além dos PHAs não serem tóxicos, eles podem ainda fornecer alguns benefícios nutricionais e terapêuticos ²¹.

A biocompatibilidade do P(3HB) e P(3HB-co-3HV) foi avaliada por meio do monitoramento da resposta inflamatória, após a injeção intramuscular de microesferas poliméricas (20-40 µm) em ratas. Neste estudo, a inflamação aguda e crônica foi monitorada empregando-se a fosfa-

tase ácida e alcalina, respectivamente. Embora uma resposta inflamatória aguda tenha sido observada, ela poderia ser atribuída ao trauma inicial da injeção. A inflamação crônica não foi detectada pelo método enzimático ⁴. A resposta tecidual e a estabilidade molecular *in vivo* do P(3HB) e P(3HB-co-3HV)(5-22 mol% HV) foram avaliados após o implante subcutâneo dos polímeros em camundongos. Todos os polímeros demonstraram ser bem tolerados pelo tecido, sem qualquer verificação de inflamação aguda, formação de abscesso ou necrose. Igualmente, a reatividade tecidual ou mobilização celular não foram observadas. A degradação dos polímeros foi acompanhada por um aumento na deposição de colágeno. A resposta inflamatória, após um mês de implantação, aumentou com o aumento de unidades HV na cadeia polimérica. Entretanto, mesmo após 6 meses, a extensão da reação tecidual foi comparável àquela produzida pelo PLA. Por outro lado, o P(3HB) e P(3HB-co-3HV) degradaram cerca de 15 a 43% menos que os polilactídeos; a velocidade de degradação aumentou com o teor de HV. A perda de peso dos polímeros, durante a implantação, variou entre 0-50% para os polilactídeos e entre 0-1,6% para os polihidroxi-alcanoatos ²².

A biocompatibilidade dos polímeros também foi avaliada em cultura de células. O efeito do P(3HB-co-3HV) sobre o crescimento das células de ovário de hamster chinês foi monitorado durante 60 h. O polímero, na forma de filme, não inibiu o crescimento das células neste período, sugerindo boas características de compatibilidade ⁴. Em um outro estudo, Choi *et al.* ²³ avaliaram a biocompatibilidade do P(3HB-co-3HV) contendo 17 a 60 mol% de 3HV por meio do crescimento de células de ovário de hamster chinês, bem como pela adsorção de proteínas sanguíneas e plaquetas na superfície do filme. O número de células que aderiram e cresceram nestes filmes aumentou com o aumento do teor de 3HV no copolímero. Em contrapartida, a tendência de proteínas sanguíneas e plaquetas se aderirem à superfície do copoliéster decresceu significativamente com o aumento do teor de 3HV. A avaliação da morfologia dos filmes, usando microscópio de força atômica, revelou que a rugosidade foi um fator importante na determinação da biocompatibilidade deste copoliéster. Os resultados obtidos neste estudo sugeriram que o P(3HB-co-3HV) com mais que 30 mol% de 3HV, pode ser útil para aplicação biomédica.

EMPREGO DOS POLIHIDROXIALCANOATOS NO DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

Micro- e nanoencapsulação de fármacos

A maior parte dos estudos realizados com os PHAs na área de liberação de fármacos refere-se à obtenção de micropartículas de liberação prolongada. Devido a suas características de solubilidade, as micropartículas são preparadas por meio de técnicas que envolvem a emulsificação de uma solução orgânica do polímero, seguida da evaporação do solvente. O controle da liberação é uma característica desejável e esperada, mas são muitos os fatores que a afetam, envolvendo a estrutura da matriz onde o fármaco está inserido e as propriedades físicas e químicas de ambos polímero e fármaco²⁴. Assim, diversos estudos têm sido realizados na tentativa de compreender quais dos fatores são passíveis de se-

rem alterados na busca da modulação da velocidade de liberação de fármacos a partir de matrizes de PHAs. A Tabela 1 apresenta um resumo destes fatores.

Um dos primeiros estudos relatados sobre a utilização dos PHAs para a obtenção de microesferas foi realizado por Juni *et al.*²⁵. Microesferas de P(3HB) contendo aclarubicina, um antitumoral antracíclico, foram preparadas pelo método da emulsão/evaporação do solvente. A velocidade de liberação do fármaco demonstrou ser muito lenta, ou seja, unicamente 10% do fármaco foi liberado em 120 h, mas pôde ser modulada pela adição de ácidos graxos e seus ésteres formando blendas para compor a matriz. Particularmente, os ésteres etila e butila de ácidos graxos com mais de 12 e 10 carbonos na cadeia acila, respectivamente, aumentaram a velocidade de liberação da aclarubicina.

Fator	Fármaco	Polímero	Referência
<i>Emprego de blendas</i>	Aclarubicina	P(3HB) e ácidos graxos e seus ésteres	25
	Ftalocianinas	P(3HB-co-3HV) (9,8 mol% de 3HV) e PCL	45
	Indometacina	P(3HB-co-3HV) e PCL	46
	Diclofenaco de Sodio		
	Ibuprofeno	P(3HB) e ésteres de glicerila	49
<i>Porosidade</i>	Progesterona	P(3HB) ; P(3HB-co-3HV)	26
	Progesterona	P(3HB-co-3HV)	27
	Albumina sérica bovina	P(3HB-co-3HV) (330kD; 10,8 mol% HV)	28
<i>Grau de lipofilia do fármaco</i>	Pró-fármacos do 2'-3'-diacil-5-fluoro-2'-deoxiuridina	P(3HB) (65, 135 e 450 kD)	32
<i>Peso molecular do polímero</i>	Pró-fármacos do 2'-3'-diacil-5-fluoro-2'-deoxiuridina	P(3HB) (65, 135 e 450 kD)	32
<i>Método de preparação</i>	5-Fluorouracila	P(3HB-co-3HV) (15 mol% HV)	33
	Diazepam	P(3HB-co-3HV) (21 mol% HV, 630 kD)	34
	Levonorgestrol	P(3HB) (230kD)	37
<i>Velocidade de remoção do volume da fase interna</i>	Piroxicam	P(3HB)	38
<i>Teor de HV no copolímero</i>	Tetraciclina	P(3HB-co-3HV) (7, 14 e 22% HV) 400 a 750 kD	40
<i>Emprego de Compósitos</i>	Gentamicina	P(3HB-co-3HV) (3mol% HV; 300 kD) e volastonita	43
	Gentamicina	P(3HB-co-3HV) (3mol% HV; 300 kD) e hidroxiapatita	44
<i>Cristalinidade</i>	Ibuprofeno	P(3HB) (300 kD) P(3HB-co-3HV) (680 kD, 5 mol% de 3HV)	47

Tabela 1. Fatores que demonstraram afetar a velocidade de liberação de fármacos a partir de micropartículas de PHAs, preparadas pela técnica de emulsão evaporação do solvente.

A progesterona também foi encapsulada em microesferas de P(3HB) e P(3HB-co-3HV) usando a técnica de emulsão/evaporação do solvente ²⁶. Segundo os autores, a menor velocidade de liberação do fármaco foi obtida com a utilização do copolímero apresentando 9% de HV, e este resultado foi relacionado com a obtenção de partículas menos porosas. A elevada porosidade das microesferas de P(3HB-co-3HV) também foi responsável pela rápida liberação da progesterona, na qual alcançou 90% nas duas primeiras horas de ensaio ²⁷.

A porosidade de matrizes esféricas compostas de P(3HB-co-3HV) (330 kD; 10,8 mol% de 3HV) e 20% de PCL também foi o fator predominante que afetou a duração da liberação *in vitro* da albumina sérica bovina (BSA) ²⁸. No entanto, estudos demonstraram que a porosidade das micropartículas de P(3HB) e P(3HB-co-3HV), preparadas pela técnica de dupla emulsão, pode ser controlada pela alteração das condições de preparação tal como massa molar do polímero, teor de HV, temperatura de evaporação do solvente e adição de policaprolactona para a formação de blendas, bem como pela quantidade de fármaco encapsulada ²⁹⁻³¹.

A velocidade de liberação também tem demonstrado ser afetada pelo grau de lipofilia do fármaco e pela massa molar do polímero, conforme estudos de encapsulação dos pró-fármacos 2'-3'-diacil-5-fluoro-2'-deoxiuridina em microesferas de P(3HB) de diferentes massas molares (65, 135 e 450 kD). Pró-fármacos apresentando diferentes propriedades físico-químicas foram obtidos por meio da esterificação da 5-fluoro-2'-deoxiuridina com os ácidos propiônico, n-butírico e n-pentanóico. A velocidade de liberação do pró-fármaco decresceu com o aumento da cadeia alifática do éster, independentemente do polímero empregado, mas foi mais rápida com o emprego do polímero de baixa massa molar, para o mesmo fármaco ³².

O efeito do método de preparação de microesferas de P(3HB-co-3HV) (15 mol% 3HV) sobre a eficiência de encapsulação e velocidade de liberação da 5-fluorouracila foi avaliado por Khang *et al.* ³³. A preparação das microesferas foi realizada pelas técnicas de emulsão/evaporação do solvente óleo em água (o/a) e óleo em óleo (o/o), e a técnica de dupla emulsão (a/o/a). A eficiência de encapsulação da fluouracila foi maior que 80% quando a técnica o/o foi empregada, sendo significativamente superior aos 7% obtidos para as microesferas preparadas pela técnica o/a e ao 1% obtido para as

microesferas preparadas pela técnica de dupla emulsão. Por outro lado, o perfil de liberação mais desejável foi alcançado quando a técnica o/a foi usada.

Diferentes variantes da técnica de emulsão/evaporação do solvente também foram testadas para a encapsulação do diazepam em microesferas de P(3HB-co-3HV) (21 mol% de HV). Quando uma emulsão simples o/a foi utilizada, o diazepam foi liberado das partículas seguindo um perfil trifásico, sendo que a quantidade liberada acumulada aumentou com o aumento do teor de fármaco. A gelatina foi usada como estratégia para modular o perfil de liberação do diazepam. Para isto, uma dispersão do fármaco em gelatina foi usada na preparação de microesferas de P(3HB-co-3HV) pela técnica de dupla emulsão (a/o/a). Este procedimento levou à redução do efeito *burst* de 40% para 25%, mas o perfil de liberação do fármaco foi igualmente trifásico. Um outro método empregando uma emulsão o/a/o foi igualmente testado para a obtenção de microcápsulas, mas, neste caso, as partículas foram recobertas com uma camada de gelatina reticulada com glutaraldeído. A camada de gelatina permitiu o controle do efeito *burst*, levando à obtenção de uma cinética de liberação de ordem zero por um período de 30 dias ³⁴.

O processo de encapsulação modifica algumas das propriedades do P(3HB), e este efeito foi mais pronunciado quando a técnica de emulsão a/o/a foi empregada. A morfologia interna das partículas foi mais irregular quando a dupla emulsão foi usada na preparação das microesferas, em comparação ao emprego da emulsão simples o/a. Entretanto, a aparência externa rugosa das micropartículas foi originada pela elevada cristalinidade do polímero e, em menor extensão, pelos parâmetros de processamento ³⁵, embora a concentração de tensoativo tenha demonstrado afetar o tamanho das partículas ³⁶. Por outro lado, a encapsulação do hormônio folículo estimulante nas microesferas de P(3HB) foi obtida com sucesso, quando a técnica de emulsão a/o/a foi usada, mesmo na ausência de um tensoativo comercial, visto que o peptídeo age também reduzindo a tensão interfacial da emulsão primária ³⁵.

Uma técnica denominada secagem em líquido (*in-liquid drying method*) foi empregada para encapsular o contraceptivo levonorgestrol em microesferas de PHB. A técnica consistiu na obtenção de uma emulsão o/a, seguida da sua diluição em um grande volume de água com a finalidade de acelerar a remoção do solvente

orgânico volátil da fase interna. O procedimento foi empregado com o intuito de evitar a formação de cristais de fármaco na superfície das partículas, os quais têm sido considerados responsáveis pelo pronunciado efeito *burst*, durante a liberação. A liberação do levonorgestrol foi então prolongada em 1,8 vezes em relação ao fármaco livre, aumentando o tempo de contração em camundongos em até 60 dias ³⁷.

A administração de antiinflamatórios não esteroidais (AINES) pela via intraarticular têm sido estudada como forma alternativa à utilização de corticosteróides no tratamento localizado da artrite, os quais são responsáveis por inúmeros efeitos adversos indesejáveis. O prolongamento da liberação e a manutenção das concentrações terapêuticas no local de ação poderiam ser obtidos mediante a incorporação do fármaco em matrizes poliméricas biodegradáveis, conduzindo à redução dos efeitos colaterais sistêmicos e à adesão ao tratamento e melhoria da qualidade de vida do paciente. Com este propósito, o piroxicam foi encapsulado em microesferas de P(3HB) pela técnica de emulsão o/a seguida da evaporação do solvente, usando diferentes variáveis de formulação. Enquanto a redução do volume da fase interna levou à formação de partículas de formato irregular e liberação total do fármaco em 7 h, a adição de álcool isopropílico a emulsão formada permitiu a rápida remoção do solvente da fase interna e obtenção de partículas esféricas cuja liberação total do fármaco ocorreu em 54 h ³⁸.

O tramadol é um analgésico que atua no sistema nervoso central que apresenta curta duração de ação, necessitando da administração de doses repetidas ou infusão contínua para obtenção de um efeito prolongado. Assim, Salman *et al.* ³⁹ propuseram a encapsulação do tramadol em microesferas de P(3HB) como forma de controlar a sua liberação, após administração pela via epidural. A liberação *in vitro* do tramadol, em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C, foi observada por mais de 6 dias, entretanto, cerca de 12,8% e 58% do tramadol encapsulado foi liberado na primeira hora e após 24 h, respectivamente. A atividade analgésica *in vivo* das microesferas foi avaliada usando ensaio de reatividade ao estímulo térmico, pela medida da retirada rápida da cauda (*tail-flick*) da água a 52,5 °C, antes e até 30 h após a injeção. Embora o estudo *in vitro* tenha demonstrado a liberação do fármaco por mais de uma semana, a atividade *in vivo* não ocorreu em um período similar devido à redução da velocidade de liberação com o

tempo, não permitindo a manutenção da concentração plasmática em níveis terapêuticos. Entretanto, o efeito analgésico das microesferas de P(3HB) contendo tramadol foi observado por 21 h, enquanto uma dose equivalente de tramadol livre foi efetiva por menos de 5 h. Os autores consideraram que a administração das microesferas pode ser uma forma alternativa para a administração do tramadol, particularmente no tratamento da dor pós-operatória. Por outro lado, a eliminação do polímero do espaço epidural e o aparecimento de possíveis efeitos, tal como a formação de adesão tecidual, permaneceram desconhecidos pelos autores ³⁹.

Alguns dos estudos realizados com os PHAs enfocam a liberação de antibióticos no local da infecção, uma vez que ainda ela é considerada um dos problemas mais graves na cirurgia de implantes. A utilização de sistemas carreadores de antibióticos em procedimentos cirúrgicos ofereceria, além dos benefícios terapêuticos, a redução da utilização da antibioticoterapia sistêmica. Neste contexto, a preparação de microcápsulas de tetraciclina a partir do P(3HB-co-3HV) contendo diferentes teores de 3HV (7, 14 e 22%, PM 400- 750 kD) foi realizada, visando o implante em bolsas periodontais, para o tratamento localizado da gengivite e periodontite. As microcápsulas foram preparadas por meio da técnica da dupla emulsão a/o/a e caracterizadas quanto à eficiência de encapsulação, perfil de liberação e morfologia. Fatores, como tipo de emulsificante e forma química do fármaco, afetaram a eficiência de encapsulação. Após 100 h, a liberação de tetraciclina foi cerca de 90%, 42% e 50% para as microesferas preparadas a partir do P(3HB-co-3HV) contendo 22%, 14% e 7% de HV, respectivamente. Os dados de liberação foram mais bem expressos pela equação de Higuchi, indicando que o fármaco é liberado por um mecanismo de difusão. A liberação foi total antes que sinais de degradação do polímero tivessem sido observados ⁴⁰.

Microesferas de P(3HB) contendo rifampicina foram preparadas pela técnica de emulsão/evaporação do solvente, com o objetivo de obter agentes para a quimioembolização. A rápida liberação do fármaco foi observada, atingindo cerca de 90% nas primeiras 24 h. Entretanto, tamanho de partícula e teor de fármaco demonstraram ser fatores passíveis de otimização, permitindo o controle da velocidade de liberação. Angiogramas renais e análises histopatológicas, obtidas após administração das microesferas em cães, demonstraram a viabilidade

de utilização destes sistemas como agentes de quimioembolização ^{41,42}.

Formulações de microesferas constituídas de compósitos de P(3HB-co-3HV) (3 mol% 3HV, PM 300,000) e volastonita foram propostas para a liberação da gentamicina durante o processo de reparo ósseo, não somente para promover o crescimento tecidual, mas também para minimizar o risco de infecções. As microesferas foram preparadas por meio da formação de uma dispersão sólida em óleo em água (s/o/a) seguida da evaporação do solvente, e a gentamicina foi incorporada por imersão das partículas numa solução do fármaco em tampão fosfato pH 7,4. A análise morfológica das partículas e os estudos de liberação em tampão fosfato e meio fisiológico simulado revelaram a formação de uma camada microporosa de apatita na superfície das microesferas, na qual permitiu o controle da liberação da gentamicina durante em 22 dias, um período cerca de três vezes maior quando as microesferas foram preparadas unicamente a partir do poliéster biodegradável ⁴³. Com a mesma finalidade terapêutica, a técnica de dispersão sólida em óleo em água (s/o/a) foi igualmente empregada para encapsular a gentamicina em microesferas constituídas de compósitos de P(3HB-co-3HV) e hidroxiapatita (HA), esta última na forma de nanopartículas contendo o fármaco. Neste caso, a liberação do fármaco ocorreu num período de 10 semanas por um mecanismo de difusão, expressa pelo modelo matemático de Higuchi ⁴⁴.

Recentemente, blendas de P(3HB-co-3HV) (9,8% 3HV) e policaprolactona (PCL) foram testadas na preparação de microesferas, com o intuito de encapsular um fármaco da classe das ftalocianinas, para uso na terapia fotodinâmica, no tratamento do câncer. Tais fármacos, quando ativados por uma luz visível de comprimento de onda apropriado, produzem espécies reativas de oxigênio que levam à destruição irreversível dos tecidos tratados. Neste caso, o controle da liberação, a partir de um sistema de liberação, é indispensável para maximizar a ação do fármaco. Assim, para determinar a composição polimérica e peso molecular do PCL ideais, diferentes blendas foram empregadas na preparação das microesferas e a cinética de liberação do fármaco foi então avaliada em plasma humano. O menor efeito *burst* foi obtido com a utilização de PCL de menor peso molecular. Entretanto, com a utilização de PCL de mesmo peso molecular, o aumento da proporção deste polímero na blenda conduziu a obtenção de perfis de liberação mais

aceitáveis, alcançando o máximo em 24 h ⁴⁵. O emprego de blendas de P(3HB-co-3HV) (9,8% 3HV) e PCL também conduziu à alteração da morfologia das micropartículas. Neste estudo, a velocidade de liberação da indometacina e diclofenaco de sódio foi aumentada com o aumento da proporção de PCL na blenda e os resultados foram relacionados com a tortuosidade do sistema ⁴⁶.

Por outro lado, apesar de as partículas de PHB e P(3HB)-co-(3HV) serem mais rugosas e porosas do que partículas de PLAGA (Fig. 3), preparadas nas mesmas condições, outros fatores têm sido relacionados à rápida liberação do fármaco encapsulado. A maneira pela qual o fármaco encontra-se distribuído nas microesfe-

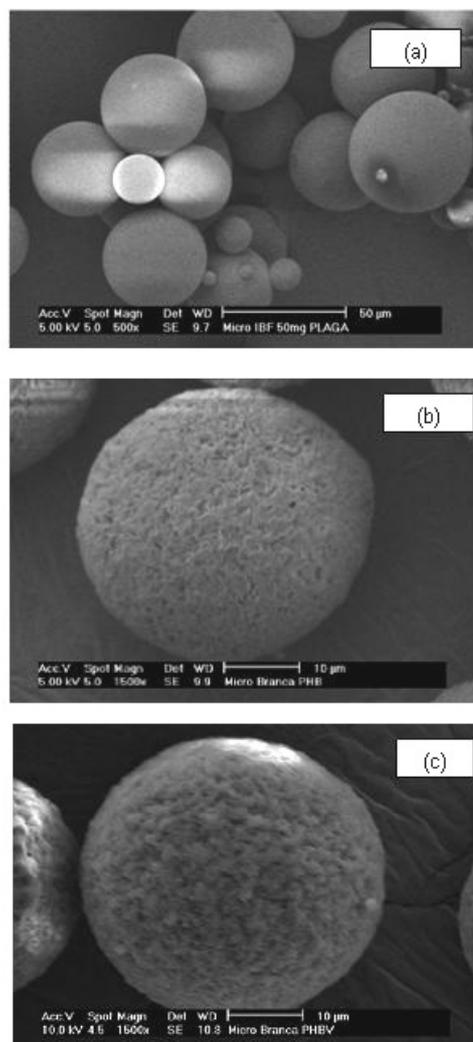


Figura 3. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microesferas de (a) PLAGA, (b) P(3HB) e (c) P(3HB-co-3HV), preparadas pela técnica de emulsão/evaporação do solvente ⁴⁷.

ras também tem demonstrado afetar o perfil de liberação. A localização preferencial do fármaco na superfície ou nas camadas mais externas das partículas tem conduzido à obtenção de velocidades de liberação muito rápidas, podendo ser associado à elevada cristalinidade das microesferas obtidas a partir destes polímeros. De modo geral partículas amorfas liberam o fármaco mais lentamente que partículas cristalinas, devido à melhor dispersão do fármaco no sistema e a maior interação fármaco-polímero^{47,48}. Assim, uma estratégia empregada para alterar a morfologia e as propriedades físico-químicas das microesferas consistiu em obter blendas de P(3HB) com trimiristato de glicerila. Entretanto, apesar da porosidade das partículas ter sido significativamente reduzida com o emprego da blenda (Fig. 4), a liberação do fármaco igualmente rápida, atingindo cerca de 80% na primeira hora. Um aspecto importante que foi considerado neste resultado foi a imiscibilidade dos materiais nas blendas testadas⁴⁹.

Poucos estudos relatam a utilização dos poli(hidroxi)alcanoatos na preparação de nanopartículas. Enzimas, precisamente a L-asparaginase, a catalase e a glicose oxidase, e a albumina sérica bovina foram incorporadas em nanocápsulas de P(3HB-co-3HV) (8 mol% de HV) pela técnica de dupla emulsão a/o/a, com ou sem o tratamento prévio do polímero com borohidreto de sódio, para a redução do seu peso molecular. Embora a quantidade de proteína encapsulada não tenha aumentado, o tamanho da partícula diminuiu e a atividade enzimática aumentou com o uso de um P(3HB-co-3HV) de baixo peso molecular, indicando que estas nanocápsulas apresentam uma maior permeabilidade, em decorrência da diminuição da barreira polimérica difusional⁵⁰. Com o intuito de preparar conjugados de nanopartículas e fármacos e obter sistemas de liberação sítio-específicos, copolímeros do poli(3-hidroxi)octanoato) contendo grupamentos carboxílicos nas cadeias carbonadas laterais foram preparados por modificação química. Igualmente, copolímeros de PHAs de cadeia média, ligados covalentemente com unidades de PEG e PLA, foram sintetizados. Em ambos casos, as nanopartículas foram obtidas pela técnica de deslocamento do solvente, com e sem a adição de estabilizantes. A presença dos grupamentos carboxílicos, assim como de unidades de PEG na superfície das partículas proporcionou melhorias na estabilidade das mesmas frente à agregação⁵¹⁻⁵³.

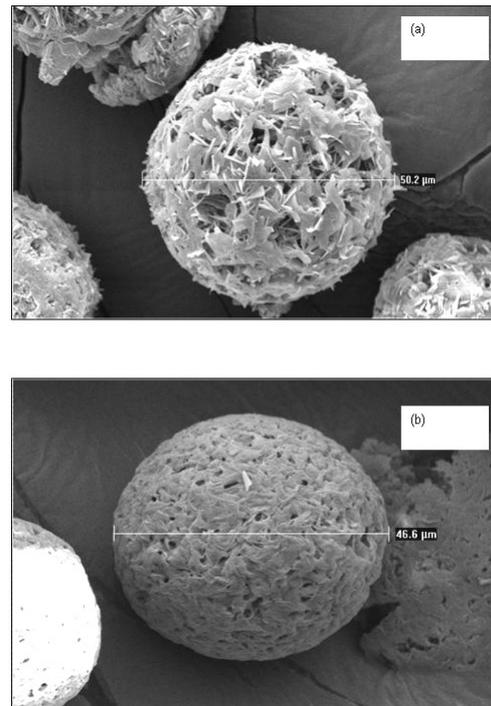


Figura 4. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das microesferas preparadas pela técnica de emulsão/evaporação do solvente, a partir de blendas de P(3HB) e trimiristato de glicerila. (a) P(3HB) puro, (b) P(3HB) e trimiristato de glicerila 1:1⁴⁹.

Outros sistemas de liberação de fármacos

Outros tipos de sistemas carreadores de fármacos têm sido preparados empregando os PHAs. Visando o tratamento da osteomielite, implantes de Sulperazone® (sulfabactama e cefoperazona, 1:1, Pfizer) foram preparados a partir do P(3HB-co-3HV) apresentando diferentes proporções de 3HV (7, 14 e 22 mol%). A liberação do fármaco a partir das microesferas foi significativamente maior quando o copolímero contendo 22 mol% de 3HV foi empregado. Este resultado foi relacionado com a redução da cristalinidade do polímero contendo maior teor de 3HV que permitiu a mais rápida penetração de água na partícula, aumentando a velocidade de dissolução dos cristais de fármaco e, conseqüentemente, a velocidade de liberação do mesmo a partir da matriz polimérica. Por outro lado, a matriz polimérica permaneceu intacta no período testado, indicando que a liberação ocorre essencialmente por um mecanismo de difusão⁵⁴. O carreador constituído de P(3HB-co-3HV) (22 mol% HV) contendo os fármacos foi implantado no sítio da infecção, previamente induzida pela inoculação de *Staphylococcus aureus* na tíbia de

coelhos. A efetividade do sistema foi verificada por métodos macroscópicos, radiográficos, bacteriológicos e histológicos. A infecção subsidiu e a remissão foi completa com o tratamento empregado, indicando que o sistema biodegradável desenvolvido pode ser usado com sucesso no tratamento de infecções ósseas severas ^{55,56}.

Como meio de prevenir a adesão de bactérias, discos ortopédicos revestidos com um complexo de gentamicina e P(3HB-co-3HV) (8 ou 12mol% de 3HV) foram implantados em pacientes com articulações comprometidas. O aumento do teor de 3HV levou ao aumento da velocidade de liberação da gentamicina. A redução significativa do número de *S. aureus* aderido aos discos, após 48 h de exposição em cultura de células, demonstrou a eficácia deste sistema. Além disso, a alteração da hemodinâmica de amostras de sangue não foi observada, confirmando a biocompatibilidade dos implantes ⁵⁷.

Recentes estudos têm demonstrado o interesse da utilização de PHAs na obtenção de sistemas de liberação transdérmicos. Adesivos transdérmicos preparados a partir de PHAs de cadeia média (8 mol% de 3-hidroxihexanoato e 92 mol% de 3-hidroxi octanoato) foram testados *in vitro*, usando a tansulosina como fármaco modelo. O cloridrato de tansulosina é uma sulfonamida que apresenta atividade antagonista α -adrenoceptora, atualmente usada na clínica para o alívio dos sinais e sintomas da obstrução uretral causada pela hiperplasia prostática benigna. Sua característica de apresentar carga impede sua permeação através do estrato córneo. Por esta razão, o efeito promotor de absorção do fármaco pelo tratamento prévio da pele com dendrímeros foi avaliado pelos autores. Por meio da utilização de dendrímeros, a matriz de PHA proporcionou a permeação de quantidades clinicamente requeridas de tansulosina. Em decorrência destes resultados promissores, adesivos transdérmicos a base de PHAs também foram testados na liberação de clonidina e cetoprofeno. O conjunto dos resultados indicou que estes biopolímeros ainda são aplicáveis para a liberação transdérmica de fármacos ^{58,59}.

Finalmente, um sistema de liberação controlada foi obtido pela técnica de compressão, usando P(3HB) como material de revestimento ⁶⁰. O revestimento dos núcleos contendo o fármaco com uma matriz de P(3HB) e um agente de formação de canais, tal como o cloreto de sódio, nitrato de potássio ou lactose, conduziu à obtenção de cinéticas de liberação de ordem zero. Tais sistemas poderiam ser aplicáveis tanto

para a administração oral como parenteral. Além disso, complexos formados entre P(3HB) e PEG demonstraram modificar o perfil de dissolução da teofilina a partir de comprimidos, retardando a liberação do fármaco com o aumento do teor de PEG 4000 no complexo ⁶¹.

CONCLUSÕES

Os estudos relatados acima demonstram o grande potencial de utilização de PHAs na elaboração de sistemas de liberação controlada de fármacos, tanto para a via oral como parenteral. Entretanto, estudos sobre a liberação de fármacos a partir destes sistemas são muitas vezes contraditórios, provavelmente devido à grande variabilidade das características físico-químicas dos polímeros empregados, como peso molecular e teor de HV no copolímero. Os estudos realizados até o momento demonstram a viabilidade de preparação de microesferas de PHAs, mas geralmente apresentando superfícies muito porosas. O efeito da porosidade sobre o perfil de liberação do fármaco e degradação das partículas, ainda não está bem elucidado. Embora a liberação de fármacos a partir das microesferas de PHAs tenha demonstrado ser rápida, em alguns estudos a velocidade pôde ser controlada. Adicionalmente, a elevada cristalinidade do polímero é outro fator que tem sido relacionado à lenta velocidade de degradação das partículas, fazendo com a liberação ocorra totalmente por meio de mecanismos de difusão e/ou desorção, antes que qualquer perda de massa seja observada. Portanto, estratégias de síntese e/ou formulação ainda precisam ser adotadas para tornar estes polímeros aplicáveis à obtenção de formas farmacêuticas de liberação prolongada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Linhardt, R. (1988) "Biodegradable polymers for controlled release of drugs", en *"Controlled Release of Drugs: polymers and aggregate systems"*, (Rosoff, M., ed.), VCH Publisher Inc, New York, págs. 53-85.
2. Whateley, T.L. (1993) "Biodegradable microspheres for controlled drug delivery", en *"Encapsulation and Controlled Release"*, (Karsa, D.R & R.A. Stephenson, R.A.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, págs. 52-65.
3. Anderson, J.M & M.S. Shive (1997) *Adv. Drug Del. Rev.* **28**: 5-24.
4. Pouton, C.W. & S. Akhtar (1996) *Adv. Drug Deliv. Rev.* **18**:133-62.
5. Zinn, M., B. Witholt, & T. Egli, T. (2001) *Adv. Drug Deliv. Rev.* **53**: 5-21.
6. Braunegg, G., G. Lefevre & K.F. Genser (1998) *J. Biotech.* **65**: 127-61.
7. Lee, S.Y. (1996) *Biotech. Bioengi.* **49**: 1-14.
8. Silva, L., Rodrigues M. & J. Gomes (2001)

- ComCiência **21** Disponível em <http://www.comciencia.br/Reportagens/Biodiversidade/bio15.htm>.
9. Bramer, C.O., P. Vandamme, L.F. Silva, J.C. Gomez & A. Steinbüchel (2001) *Int. J. Syst. Evol. Microb.* **51**: 1709-13.
 10. Salehizadeh H. & M.C.M. Loodsrecht (2004) *Biotech. Adv.* **22**: 261-79.
 11. Khanna, S. & A.K. Shivastava (2005) *Proc. Biochem.* **40**: 607-10.
 12. Reddy, C.D.K., R. Ghai, Ramishi & V.C. Kalia (2003) *Bioresource Tech.* **87**: 137-46.
 13. Sudesh, K., H. Abe & Y. Doi. (2000) *Prog. Polymer Sci.* **25**: 1503-55.
 14. Gopferich, A. (1996) *Biomaterials* **17**: 103-14.
 15. Freier, T., C. Kunze, C. Nischan, S. Kramer, K. Sternberg, M. Sab, U.T. Hopt & K.P. Schmitz (2002) *Biomaterials* **23**: 2649-57.
 16. Abe, H. & Y. Doi (1999) *Int. J. Biol. Macromol.* **25**: 185-92.
 17. Kusaka, S., T. Iwata, Y. Doi (1999) *Int. J. Biol. Macromol.* **25**: 87-94.
 18. Choi, G.G., H.W. Kim & Y.H. Rhee (2004) *J. Microbiol.* **42**: 346-52.
 19. Chandra, R. & R. Rustgi (1998) *Prog. Polym. Sci.* **23**: 1273-335.
 20. Reush, R. N. (2000) *Biochem. Engl. Trans.* **65**: 280-95.
 21. Chen, L.X.L. & J. Yu (2005) *Macromol. Symp.* **224**: 35-46.
 22. Gogolewski, S., M. Jovanovic, S.M. Perren, J.G. Pillon, M.K. Hughes (1993) *J. Biom. Mat. Res.* **27**(9):1135-48.
 23. Choi, G.G., Kim, H.W., Kim, Y.B. & Y.H. Rhee (2005) *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **10**: 540-5.
 24. Donnell, P.B. & J.W. McGinity (1997) *Adv. Drug Del. Rev.* **28**: 25-42.
 25. Juni, K., M. Nakano & M. Kubita (1986) *J. Control. Rel.* **4**: 25-32.
 26. Grangade, N. & J.C. Price (1991) *J. Microencap.* **8**: 185-202.
 27. Penna, L.M.R., N.N. Pereira & M.I. Re (2005) *Braz. J. Pharm. Sci.* **41**: 438.
 28. Atkins, T.W. & S.J. Peacock (1997) *J. Microencap.* **14**: 35-49.
 29. Embleton, J.K. & B.J. Tighe (1992) *J. Microencap.* **9**: 73-87.
 30. Embleton, J.K. & B.J. Tighe (1993) *J. Microencap.* **10**: 341-52.
 31. Embleton, J.K. & B.J. Tighe (2002) *J. Microencap.* **19**: 737-52.
 32. Kawagushi, T., A. Tsugane, K. Higashide, H. Endoh, T. Hasegawa, H. Kanno, T. Seki, K. Juni, S. Fukushima & M. Nakano (1992) *J. Pharm. Sci.* **81**: 508-12.
 33. Khang, G., S.W., Kim, J.C. Cho, J.M Rhee, S.C Yoon & H.B Lee (2001) *Biomed. Mater. Eng.* **11**: 89-103.
 34. Chen, J. & S.S. Davis (2002) *J. Microencap.* **19**: 191-201.
 35. Martin, M. A., Miguens, F. C., Rieumont, J. & R. Sanchez (2000) *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces.* **17**: 111-6.
 36. Maia, J.L., Santana, M.H.A. & M.I. Re (2004) *Braz. J. Chem. Eng.* **21**: 1-21.
 37. Lu, B., Wang, Z.R. & H. Yang (2001) *J. Microencap.* **18**: 55-64.
 38. Bazzo, G., Lemos-Senna, E. & A.T.N. Pires (2005) *Proceed. e-Book of First French-Brazilian Meeting on Polymers.* p004.
 39. Salman, M.A., A. Sahin, M.A. Onur, K. Oge, A. Kassab & U. Aypar (2003) *Acta Anaesthesiol Scand.* **47**: 1006-12
 40. Sendil, D., I. Gursel, D.L. Wise & V. Hasirci (1999) *J. Control. Rel.* **59**: 207-17.
 41. Kassab, A.C., K. Xu, E.B. Denkbaz, Y. Dou, S. Zhao & E. Piskin (1997) *J. Biomater. Sci. Polym.* **8**: 947-61.
 42. Kassab, A.C., E. Peiakein, S. Beilgeiasc, E.B Denkbaz & K Xu (1999) *J. Bioactive Comp. Polymers.* **14**: 291-303.
 43. Li, H. & J. Chang (2005) *J. Control. Rel.* **107**: 463-73.
 44. Wang, Y., Wang, X., Wei, K., Zhao, N., Zhang, S. & J. Chen (2007) *Mat. Lett.* **61**: 1071-6.
 45. Vaccari, C., Simoni, A.R., M.I. Re & A.C. Tedesco (2005) *Proceed. e-Book of First French-Brazilian Meeting on Polymers.*
 46. Poletto, F., Jager, E., Ré, M.I., Guterres, S.S. & A. R. Pohlmann (2005) *Proceed. e-Book of First French-Brazilian Meeting on Polymers.*
 47. Carmignan, F. (2006) "Desenvolvimento de microesferas de ibuprofeno a partir dos biopolímeros polihidroxialcanoatos. Estudo da influência das características físico-químicas das microesferas sobre o perfil de liberação do fármaco e degradação das partículas."Dissertação de mestrado em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 148p.
 48. Freiberg, S. & X.X. Zhu (2004) *Int. J. Pharm.* **292**: 1-18.
 49. Bidone, J. & E. Lemos-Senna (2007) *Proceed. e-Book of XI International Macromolecular Colloquium and 6th International Symposium on Natural Polymers and Composites.* P27.
 50. Baran, E.T, N. Ozer & V. Hasirch (2002) *J. Microencap.* **19**: 363-76.
 51. Kurth, N., E. Renard, F. Brachet, D. Robic, P. Guerin & R. Bourbouze (2002) *Polymer* **43**: 1095-101.
 52. Renard, E., P.Y. Tanguy, E. Samain & P. Guerin (2003) *Macromol. Symp.* **197**: 11-8.
 53. Renard, E., Ternat, C., Langlois, V & P. Guerin (2003) *Macromol. Biosci.* **3**: 248-52.
 54. Gursel, I., Yagmurlu, F., Korkusuz, F. & V. Hasirci (2002) *J. Microencap.* **19**: 153-64.
 55. Yagmurlu, M.F., F. Korkusuz, I. Gursel, P. Korkusuz, U. Ors & V. Hasirci (1999) *J. Biomed. Mater. Res.* **46**: 494-503.
 56. Gursel, I., Korkusuz, F., Türesin, F., Alaeddinoglu, N.G. & V. Hasirci (2001) *Biomaterials* **22**: 73-80.
 57. Rossi, S., A.O. Azghani & A. Omri (2004) *J. Antimicrob. Chem.* **54**: 1013-8.
 58. Wang, Z., Y. Itoh, T. Hosaka, I. Kobayashi, Y. Nakano, I. Maeda, J. Yamakawa, M. Nishimine, T. Suenobu, S. Fukuzumi, M. Kawase & K. Yagi (2003) *J. Biosci. Bioeng.* **95**: 541-3.
 59. Wang, Z., Y. Itoh, T. Hosaka, I. Kobayashi, Y. Nakano, I. Maeda, J. Yamakawa, M. Nishimine, T. Suenobu, S. Fukuzumi, M. Kawase & K. Yagi (2003) *J. Biosci. Bioeng.* **96**: 537-40.
 60. Korsatto-Wabnegg, B. (1990) *Pharmazie* **45**: 842-4.
 61. Rodrigues, K.M.S., Parra, D., Oliveira, J.A, Issa, M.G., Ferraz, H.G. & A.B. Lugão (2007) *Proceed. e-Book of XI International Macromolecular Colloquium and 6th International Symposium on Natural Polymers and Composites.* p012.