UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

RICARDO NEVES MARRETO

**Estudo da técnica de leito de jorro convencional para secagem de
microcápsulas de caseína e pectina**

Ribeirão Preto

2006

RICARDO NEVES MARRETO

**Estudo da técnica de leito de jorro convencional para secagem de
microcápsulas de caseína e pectina**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Luís Alexandre Pedro de Freitas

Ribeirão Preto

2006

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO OU PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Marreto, Ricardo Neves

Estudo da técnica de leito de jorro convencional para secagem de microcápsulas de caseína e pectina. Ribeirão Preto, 2006.
198 f.: il; 30 cm

Tese (Doutorado), apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Freitas, Luís Alexandre Pedro.

1. Leito de jorro. 2. Spray drying. 3. Microcápsulas. 4. Tempo de residência. 5. Atividade biológica. 6. Interações fármaco-excipiente.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ricardo Neves Marreto

Estudo da técnica de leito de jorro convencional para secagem de microcápsulas de caseína e pectina

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor.

Área de Concentração: Medicamentos e

Cosméticos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho a minha família, em especial aos meus pais, José Ricardo e Maria Ângela, pelo apoio incondicional em todos os momentos desta e de outras jornadas.

É um privilégio poder contar com vocês.

*À Maria Paula, por ser minha
companheira, minha alegria, por
muitas vezes a firmeza sob meus
pés. Eu não poderia sem você.*

*À Mônica, pelo apoio
inenarrável, pela amizade
incomparável, por ser minha
melhor amiga.*

Agradecimentos

Ao professor Luis Alexandre, por ter me acolhido em um momento difícil e pelo convívio leve e proveitoso de todos os dias. Agradeço especialmente à você.

Às minhas avós, Olgarina e Alayde (*in memorian*) e aos meus avôs Francisco e José Marreto pela compreensão e carinho.

Às minhas irmãs queridas, Juliana e Rafaela, por existirem e tornarem minha vida muito mais feliz.

Aos meus grandes amigos Eduardo, Alex, Evandro, Tiago, José Henrique e Barbosa.

À Dra. Maria da Graça Henriques e a Elaine Cruz, do Instituto de Tecnologia de Fármacos da Fundação Osvaldo Cruz (RJ), pela valiosa contribuição a este trabalho na forma da realização dos experimentos de atividade *in vivo*.

À Maria “Tuca” Dolores Ferreira e ao Sr. José Augusto Maulin, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento Farmacotécnico (FCFRP-USP), Mônica, Alessandra, Camila, Camila Areda, Marcos, Arony, Flávia, Alexandre, Priscila, Vânia, Renata, Marcela e Edmilson.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Processos Industriais Farmacêuticos, Maria Paula, Giovanna, Luciana, Camila, Cristiane, Viviane, Tony, Rodrigo e Guilherme.

Aos colegas e amigos da FCFRP-USP, Armando, Otávio, Juliana Siqueira, Juliana, Rogéria, Josinete, Josiele e Kawano, Daniel (Snurba) e Maurício.

Aos amigos e técnicos de laboratório, Paulo Carvalho, José Maria Puga, Franklin Thomazini, Flávia, Valtinho, Mário, Eduardo, Zé Orestes.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	26
2.1 LEITO DE JORRO.....	27
2.1.1 Generalidades e descrição do regime.....	27
2.1.2 Características fluidodinâmicas do regime de jorro	29
2.1.3 Aplicações da técnica.....	31
2.1.4 Modificações do leito de jorro convencional.....	32
2.1.5 Secagem de pastas por leito de jorro.....	37
2.2 <i>SPRAY DRYING</i>	43
2.2.1 Definição e modo de operação.....	43
2.2.2 Secagem de produtos farmacêuticos por <i>spray drying</i>	46
2.3 COACERVADOS E SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS BASEADOS NA PECTINA.....	48
3 OBJETIVO.....	52
3.1 OBJETIVO GERAL.....	53
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	53
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
4.1 MATERIAIS.....	56
4.2 MÉTODOS.....	56
4.2.1 Obtenção das microcápsulas e micropartículas.....	56
4.2.1.1 Preparo das microcápsulas inertes.....	56
4.2.1.2 Preparo das microcápsulas carregadas.....	57
4.2.1.3 Preparo de micropartículas de caseína e pectina carregadas com indometacina.....	57

4.2.2 Estudos de secagem.....	58
4.2.2.1 Determinação da capacidade máxima de evaporação de água (CMEA) dos secadores tipo leito de jorro e <i>spray dryer</i>	58
4.2.2.2 Secagem das microcápsulas pelo método de <i>spray drying</i>	59
4.2.2.3 Secagem das microcápsulas pelo método de leito de jorro convencional com inertes.....	61
4.2.2.4 Secagem das micropartículas de caseína e pectina por leito de jorro e <i>spray drying</i>	63
4.2.2.5 Determinação das distribuições de tempo de residência (DTR's) das microcápsulas durante a secagem em leito de jorro com inertes: Estudo da influência das variáveis do método de estímulo-resposta sobre os valores de tempo médio de residência (T) e sobre a forma das distribuições.....	63
4.2.2.6 Determinação das distribuições de tempo de residência das microcápsulas durante a secagem em leito de jorro com inertes: Otimização do método de estímulo-resposta.....	66
4.2.3 Avaliações morfológicas e de tamanho de partícula das microcápsulas.....	67
4.2.3.1 Avaliação da morfologia externa por microscopia óptica convencional.....	67
4.2.3.2 Avaliação da morfologia externa por microscopia eletrônica de varredura.....	68
4.2.3.3 Análise granulométrica.....	68
4.2.4 Estudos de recuperação dos fármacos.....	68
4.2.4.1 Recuperação dos fármacos modelo a partir das microcápsulas de caseína-pectina.....	68
4.2.4.1.1 Obtenção das curvas analíticas para o método espectrofotométrico.....	68
4.2.4.1.2 Recuperação da indometacina (Baracat, 2004).....	69
4.2.4.1.3 Recuperação do paracetamol.....	70
4.2.4.2 Recuperação da indometacina a partir das micropartículas de caseína pectina.....	70
4.2.4.2.1 Recuperação da indometacina a partir das micropartículas de caseína através do uso de enzimas proteolíticas e agente tensoativo.....	70
4.2.4.2.1.1 Digestão das micropartículas de caseína.....	70
4.2.4.2.1.2 Reação com lauril sulfato de sódio (SDS).....	71

4.2.5 Avaliação da ocorrência de segregação da indometacina na secagem das microcápsulas por leito de jorro.....	72
4.2.6 Caracterização físico-química das microcápsulas/micropartículas inertes e carregadas com indometacina após secagem por leito de jorro e <i>spray drying</i>.....	72
4.2.6.1 Avaliação da temperatura e entalpia de fusão da indometacina livre e incorporada em micropartículas de caseína por Calorimetria Exploratória Diferencial (CED).....	73
4.2.6.2 Avaliação da cristalinidade das microcápsulas por difratometria de raios X de pó (DRXP)	73
4.2.6.3 Avaliação da ocorrência de interações fármaco-polímero por espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	74
4.2.7 Investigação da influência das variáveis operacionais do método de leito de jorro sobre a interação indometacina-caseína e sobre o tempo médio de residência das microcápsulas.....	74
4.2.8 Avaliação comparativa da funcionalidade das microcápsulas de caseína-pectina após a secagem por leito de jorro e <i>spray drying</i>.....	75
4.2.8.1 Estudos de liberação <i>in vitro</i>	75
4.2.8.2 Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina <i>in vivo</i> pelo emprego do modelo de pleurisia induzida por carragenina.....	76
4.2.8.2.1 <i>Animais</i>	76
4.2.8.2.2 <i>Tratamento com as Amostras</i>	77
4.2.8.2.3 <i>Avaliação Antiinflamatória</i>	77
4.2.8.2.4 <i>Quantificação do extravasamento protéico</i>	78
4.2.8.2.5 <i>Contagem Total e Diferencial dos Leucócitos</i>	78
4.2.8.2.6 <i>Tratamento Estatístico</i>	79
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	80
5.1 PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA “IN NATURA” DE MICROCÁPSULAS DE CASEÍNA-PECTINA.....	81
5.2 ESTUDOS DE SECAGEM.....	85
5.2.1 Capacidade máxima de evaporação de pasta (CMEP) e de água (CMEA)..	85
5.2.2 Avaliação da eficiência térmica dos processos.....	91

5.2.3 Determinação das DTR's das microcápsulas durante a secagem em leite de jorro com inertes: Avaliação da metodologia de estímulo-resposta.....	94
5.2.4 Determinação das DTR's das microcápsulas durante a secagem em leite de jorro com inertes: Otimização da metodologia de estímulo-resposta.....	101
5.2.4.1 Avaliação das condições ótimas de injeção frente a mudanças nas condições operacionais do leite.....	104
5.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E GRANULOMÉTRICAS DOS PRODUTOS OBTIDOS POR LEITO DE JORRO E SPRAY DRYING.....	107
5.3.1 Avaliação morfológica das microcápsulas por microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.)	107
5.3.2 Distribuição de tamanho das partículas.....	122
5.4 AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE INDOMETACINA E DO PARACETAMOL A PARTIR DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR SPRAY DRYING E LEITO DE JORRO.....	125
5.5 AVALIAÇÃO DA NATUREZA DO FENÔMENO RESPONSÁVEL PELA REDUZIDA RECUPERAÇÃO DA INDOMETACINA A PARTIR DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO.....	127
5.5.1 Avaliação da ocorrência de segregação da indometacina na secagem das microcápsulas por leite de jorro.....	128
5.5.2 Determinação da contribuição individual da caseína e da pectina sobre a reduzida recuperação da indometacina após secagem por leite de jorro: Avaliação do teor de fármaco extraído a partir das micropartículas de caseína e de pectina.....	130
5.5.3 Avaliação da ocorrência de retenção física da indometacina na matriz de caseína após a secagem das micropartículas por leite de jorro, pelo emprego de um procedimento de digestão protéica <i>in vitro</i>.....	131
5.5.4 Investigação da ocorrência de interações físico-químicas entre a indometacina e a caseína.....	133
5.5.4.1 Avaliação da ocorrência de interações eletrostáticas entre a caseína e a indometacina pelo emprego de uma reação entre a caseína e o SDS.....	134
5.5.4.2. Caracterização térmica, espectroscópica e difratométrica das microcápsulas e micropartículas contendo indometacina, após secagem por leite de jorro e por <i>spray drying</i>	135
5.5.4.2.1 Estudos de Análise Térmica.....	137

5.5.4.2.2 <i>Avaliação da cristalinidade das amostras por difratometria de raios X de pó (DRXP)</i>	143
5.5.4.2.3 <i>Avaliação das interações entre fármaco e polímero por espectroscopia na região do infravermelho</i>	148
5.6 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS OPERACIONAIS DA TÉCNICA DE LEITO DE JORRO SOBRE O TEMPO MÉDIO DE RESIDÊNCIA E SOBRE A INTERAÇÃO INDOMETACINA-CASEÍNA.....	156
5.7 AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO E SPRAY DRYING: ESTUDOS DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	160
5.7.1 Estudo de dissolução das microcápsulas contendo indometacina.....	161
5.7.2 Estudo de dissolução das microcápsulas contendo paracetamol.....	172
5.8 AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO E SPRAY DRYING: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA <i>IN VIVO</i> DA INDOMETACINA INCORPORADA EM MICROCÁPSULAS NÃO RETICULADAS.....	175
6 CONCLUSÕES.....	184
7 REFERÊNCIAS.....	189

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático do regime de jorro em um equipamento cone-cilíndrico.....	28
Figura 2. Diagrama esquemático de um leito de jorro bidimensional fendado.....	33
Figura 3. Diagrama esquemático de um leito de jorro com aeração complementar..	35
Figura 4. Diagrama esquemático de um equipamento de suspensão a ar do tipo Wurster.....	36
Figura 5. Leito de jorro fendado Glatt.....	37
Figura 6. Diagrama esquemático dos componentes de um secador do tipo spray dryer.....	46
Figura 7. Diagrama esquemático do secador tipo leito de jorro.....	61
Figura 8. Fotomicrografias óticas das microcápsulas de caseína-pectina “in natura” (aumento de 400x).....	82
Figura 9. Fotomicrografias óticas de microcápsulas de caseína-pectina carregadas (pH 3,5).....	84
Figura 10. Valores de CMEA e VCMEA para equipamentos de leito de jorro e <i>spray dryer</i> nas condições da Tabela 8.....	88
Figura 11. Gráfico de superfície de resposta do tempo médio de residência em função do volume e concentração da solução de corante aplicada durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional.....	96
Figura 12. Gráfico de superfície de resposta dos valores de distorção em função do volume e concentração da solução de corante aplicada, durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional.....	97
Figura 13. Gráfico de superfície de resposta dos valores de curtose em função do volume e concentração da solução de corante aplicada, durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional.....	98
Figura 14. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (experimento 8, Tabela 4).....	98
Figura 15. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (experimento 1, Tabela 4).....	99
Figura 16. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (19 mL e 10,0 mg/mL; H/Hmax = 0,44).....	101

Figura 17. Tempo médio de residência em função do volume e concentração de corante aplicado ao leito durante a secagem da solução de cloreto de sódio ($H/H_{máx} = 0,44$).....	102
Figura 18. Distribuição de tempo de residência típica para as condições de injeção da Tabela 10 (cloreto de sódio).....	103
Figura 19 Distribuição de tempo de residência obtida na secagem da dispersão de microcápsulas de caseína-pectina, sob as condições de injeção da Tabela 10.....	107
Figura 20. Fotomicrografias obtidas por M.E.V. das microcápsulas de caseína-pectina inertes, reticuladas e não reticuladas e secas pelo método de <i>spray drying</i> ..	109
Figura 21. Fotomicrografias obtidas por M.E.V das microcápsulas inertes, reticuladas e secas por leito de jorro.....	110
Figura 22. Fotomicrografia dos cristais de indometacina não processados, obtidas por M.E.V.....	111
Figura 23. Fotomicrografia eletrônica da indometacina livre submetida ao procedimento de preparo de microcápsulas, e após secagem por <i>spray drying</i>	112
Figura 24. Fotomicrografia eletrônica dos cristais de indometacina não encapsulados e secos por leito de jorro.....	114
Figura 25. Fotomicrografia eletrônica das microcápsulas carregadas com indometacina, secas por <i>spray drying</i>	116
Figura 26. Fotomicrografias eletrônicas do paracetamol (A) (500x) e das microcápsulas de caseína –pectina carregadas com paracetamol, após secagem por <i>spray drying</i>	118
Figura 27. Microcápsulas de caseína-pectina carregadas com indometacina (A), (B) e paracetamol (C), após a secagem por leito de jorro convencional.....	121
Figura 28. Fotomicrografias ópticas de microcápsulas de caseína-pectina vazias e secas por (A) <i>spray drying</i> e (B) leito de jorro	124
Figura 29. Curva CED das amostras de indometacina não processada (azul), seca por <i>spray drying</i> (preta) e por leito de jorro (vermelha).....	138
Figura 30. Curva CED das micropartículas de caseína-indometacina.....	141
Figura 31. Difratoograma de raio-X das amostras de microcápsulas vazias secas por <i>spray drying</i>	144
Figura 32: Difratoogramas de raios-X de amostras de indometacina não processada (A) e da mistura física indometacina não processada:microcápsulas vazias secas por <i>spray drying</i> (B).....	145
Figura 33: Difratoogramas de raio-X das amostras de microcápsulas carregadas e secas por <i>spray drying</i> (A) e por leito de jorro (B).....	146

Figura 34. Espectros de absorção no infravermelho da indometacina. (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.....	150
Figura 35. Estrutura molecular da indometacina.....	151
Figura 36. Espectros no infravermelho da mistura física caseína-indometacina (2:1) (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.....	151
Figura 37. Espectros no infravermelho das micropartículas caseína-indometacina após secagem por <i>spray drying</i> . (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.....	152
Figura 38. Espectros no infravermelho das micropartículas caseína-indometacina após secagem por leito de jorro (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.....	154
Figura 39. Espectros no infravermelho da caseína (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.....	155
Figura 40. Gráfico de superfície de resposta da porcentagem de indometacina recuperada em função da temperatura e vazão de ar na secagem de microcápsulas de caseína-pectina em leito de jorro convencional.....	160
Figura 41. Perfil de dissolução da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas.....	163
Figura 42. Fotomicrografias ópticas das microcápsulas de caseína-pectina reticuladas após o ensaio de dissolução <i>in vitro</i> . (a) leito de jorro, em aumento de 100x; (b) <i>spray drying</i> ., em aumento de 400x.....	164
Figura 43. Curvas de dissolução da indometacina a partir das microcápsulas reticuladas e secas por <i>spray drying</i> e leito de jorro, após linearização pelos modelos de primeira ordem e de Higuchi.....	166
Figura 44. Perfil de dissolução da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas.....	167
Figura 45. Curvas de dissolução da indometacina a partir das microcápsulas não reticuladas linearizadas pelos modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi...	171
Figura 46. Perfil de dissolução do paracetamol livre e incorporado em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas.....	173
Figura 47. Perfil de dissolução do paracetamol livre e incorporado em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas.....	174
Figura 48. Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leito de jorro e <i>spray drying</i> , após administração das mesmas por via oral uma hora antes do estímulo com carragenina.....	178

Figura 49. Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leito de jorro e *spray drying*, após administração das mesmas por via oral 24 horas antes do estímulo com carragenina..... 183

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações de microcápsulas e micropartículas de caseína e pectina...	58
Tabela 2 - Condições operacionais empregadas durante a secagem das microcápsulas de caseína-pectina pelo método de <i>spray drying</i> e leite de jorro.....	60
Tabela 3 - Características do leite de jorro e das partículas inertes empregadas nos estudos de avaliação e otimização da metodologia de estímulo-resposta.....	64
Tabela 4 - Matriz do planejamento fatorial proposto no estudo da metodologia de estímulo-resposta (2^3).....	65
Tabela 5 - Variáveis estudadas e seus níveis no planejamento fatorial 2^3	65
Tabela 6 - Matriz do planejamento experimental $2^2 + 2$ empregada nos estudos de otimização da metodologia de estímulo-resposta.....	67
Tabela 7 - Matriz do planejamento experimental $2^2 + 1$ empregada na avaliação da influência das condições operacionais do secador tipo leite de jorro sobre o grau de interação indometacina-caseína e sobre os valores de T da dispersão de microcápsulas.....	75
Tabela 8 - Condições operacionais empregadas na avaliação inicial da CMEA em secadores tipo leite de jorro e <i>spray drier</i>	87
Tabela 9 - Resumo dos dados de T, S_k and F_t . (planejamento experimental tipo 2^3).....	95
Tabela 10 - Valores de T, S_k e F_t obtidos nos estudos de otimização da metodologia de estímulo resposta	103
Tabela 11 - Valores de T, S_k e F_t obtidos na secagem de diferentes pastas sob diferentes condições operacionais, através do emprego das condições de injeção do planejamento $2^2 + 2$	105
Tabela 12 - Diâmetro médio das diferentes formulações de microcápsulas secas por leite de jorro e <i>spray drying</i> , e dos cristais não encapsulados de indometacina e paracetamol, processados ou não por <i>spray drying</i>	122
Tabela 13 - Porcentagem de indometacina recuperada a partir de microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e não reticuladas após secagem por leite de jorro e por <i>spray drying</i>	126
Tabela 14 - Recuperação de indometacina a partir de microcápsulas de caseína-pectina amostradas em diferentes regiões do equipamento de leite de jorro.....	130
Tabela 15 - Temperatura e entalpia de fusão de materiais secos pela técnica de leite de jorro e <i>spray drying</i>	139

Tabela 16 - Dados referentes ao nível de recuperação de indometacina e tempo médio de residência na secagem das microcápsulas sob diferentes condições operacionais em leito de jorro convencional.....	156
Tabela 17 - Valores de velocidade de dissolução da indometacina encapsulada em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e secas por leito de jorro e por <i>spray drying</i> , e seus respectivos coeficientes de correlação obtidos segundo os modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi.....	165
Tabela 18 - Valores de velocidade de dissolução da indometacina incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leito de jorro e <i>spray drying</i> , e seus respectivos coeficientes de correlação obtidos segundo os modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi.....	170

RESUMO

MARRETO, R. N. **Estudo da técnica de leito de jorro convencional para a secagem de microcápsulas de caseína e pectina.** 2006, 198 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

A aplicação da técnica de leito de jorro na secagem de pastas têm sido objeto de inúmeras investigações nos últimos anos, devido a possibilidade de obtenção de produtos de alta qualidade em uma operação de reduzido custo. No presente trabalho, avaliou-se a influência dessa técnica sobre as características e o desempenho de liberação de microcápsulas contendo diferentes fármacos modelo. Microcápsulas de caseína-pectina contendo indometacina e paracetamol foram preparadas por coacervação e posteriormente secas por leito de jorro e por *spray drying*. Após a secagem por leito de jorro, verificou-se uma redução na quantidade de indometacina recuperada a partir das microcápsulas. Não se observou segregação do fármaco durante a operação de secagem por leito de jorro, indicando que a reduzida recuperação do mesmo foi resultado do estabelecimento uma interação fármaco-polímero, a qual ocorre especificamente entre a caseína e a indometacina. A avaliação físico-química desses materiais indicou que a interação proposta possui natureza covalente e os estudos *in vivo* de atividade antiinflamatória das microcápsulas contendo indometacina mostraram a irreversibilidade dessa ligação em ambiente biológico. A metodologia de estímulo resposta foi avaliada e otimizada para a determinação do tempo de residência das microcápsulas em leito de jorro. Apesar de confiáveis, os valores de tempo de residência obtidos não puderam ser correlacionados à formação da interação fármaco-polímero, por se apresentarem estáveis quando da variação das condições operacionais do secador. Por outro lado, a vazão e a temperatura do ar de secagem mostraram influência significativa sobre a formação da referida interação. Posteriormente à investigação da interação indometacina-caseína, foi avaliada a funcionalidade das microcápsulas obtidas por leito de jorro e por *spray drying*. Para tanto, foram realizados estudos de liberação *in vitro*, os quais mostraram a similaridade entre os perfis de dissolução da indometacina do paracetamol independentemente do método de secagem empregado. Uma exceção está na formulação não reticulada contendo indometacina, que apresentou um elevado nível de ruptura após a secagem por leito de jorro. Os dados obtidos na avaliação da funcionalidade dos sistemas juntamente com a constatação experimental do maior aproveitamento energético na secagem por leito de jorro, permitem considerar que a utilização dessa técnica na secagem de microcápsulas é promissora, visto que a interação fármaco-polímero discutida nesse trabalho é específica e dependente do tipo de fármaco encapsulado.

Palavras-chave: leito de jorro, *spray drying*, microcápsulas, tempo de residência, atividade biológica, interação fármaco-polímero.

ABSTRACT

MARRETO, R.N. **Study of conventional spouted bed on casein and pectin microcapsule drying.** 2006. 198 p. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

The use of spouted bed technique in the drying of paste has been subject to many researches in the past years due to the possibility of obtaining high quality products at low cost. In present work the influence of this technique on microcapsule drug delivery systems performance was evaluated. Casein-pectin microcapsules with entrapped indomethacin and acetaminophen were prepared using the complex coacervation method. Thereafter the coacervates were dried using the spouted bed and spray drying techniques. After spouted bed drying an interaction between indomethacin and casein was observed, with reduction of drug recovery from microcapsules. The mass balance studies showed the absence of indomethacin segregation during spouted bed drying, which indicates drug-polymer interaction. This interaction was not observed for acetaminophen. The physico-chemical evaluation suggests that the indomethacin interaction had covalent nature and *in vivo* studies showed its stability under enzymatic biological conditions. The microcapsule residence time during spouted bed drying was determined using a validated and optimized stimulus response method. Despite the reliable results obtained it was not possible to determine the influence of residence times on drug-polymer interaction due to the stability of those values with operational conditions. On the other hand air temperature and air flow rate during spouted bed drying affected significantly the degree of drug polymer interaction. In order to evaluate the spouted bed and spray dried microcapsule's performance a dissolution study was performed. The results showed very similar drug release, with exception for the non-crosslinked formulations dried in spouted bed. These microcapsules were ruptured by spouted bed mechanical stresses. The results obtained on the microcapsules performance evaluation and the characteristics of thermal efficiency and high evaporative capacity of spouted bed demonstrate the potential application of casein-pectin spouted bed drying.

Key words: spouted bed; spray drying, microcapsule, residence time, biological activity, physico-chemical evaluation.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

As operações de secagem possuem grande importância no âmbito da indústria farmacêutica. Além dos procedimentos de secagem propriamente ditos, esse tipo de operação é imprescindível em inúmeros processos envolvidos na obtenção de medicamentos, como no caso dos processos de revestimento de comprimidos e de granulação por via úmida (GUERRERO et al., 2003).

O processamento na indústria farmacêutica tem como características gerais a obtenção de produtos de alto valor agregado em escalas produtivas relativamente reduzidas. Além disso, a preocupação com a qualidade do produto final nesse tipo de indústria é imperativa (PAKOWSKI; MUJUMDAR, 1995). Nesse sentido, a escolha correta do tipo de secador para o processamento de um determinado material, assim como a otimização de suas condições operacionais é de fundamental importância (GUERRERO et al., 2003).

Além das questões de qualidade, como em qualquer processo industrial, as preocupações referentes ao consumo energético e conseqüentemente aos custos da operação, devem ser levadas em consideração na escolha da técnica de secagem na indústria farmacêutica (PAKOWSKI; MUJUMDAR, 1995).

Independentemente do tipo de indústria, as operações de secagem devem apresentar custos operacionais reduzidos e capacidade produtiva elevada, resultando em produtos secos de qualidade aceitável (BACELOS et al., 2005). Além disso, é desejável o uso de equipamentos compactos que permitam um melhor aproveitamento da planta industrial.

As dispersões ou pastas representam, dentre os inúmeros tipos de materiais processados na indústria farmacêutica, um desafio para os técnicos e cientistas da área, em termos de suas operações de secagem. Os principais motivos da elevada complexidade desses procedimentos são a natureza termossensível e a diversidade nas propriedades desses materiais, não existindo, segundo Freire (1992), um secador recomendado universalmente

para a secagem desse tipo de material, sendo sua escolha relacionada às propriedades observadas para cada pasta e esperadas para a aplicação do produto seco obtido.

Por sua vez, as microcápsulas representam um tipo de sistema disperso que apresenta importância crescente no campo da tecnologia farmacêutica. A tecnologia de microencapsulação consiste na aplicação de um revestimento relativamente fino a pequenas partículas de sólidos ou gotículas líquidas (na faixa de 1 a 1000 microns) (LI et al.1988; THIES, 1996). O emprego desses sistemas possibilita o mascaramento dos sabores e dos odores indesejáveis eventualmente apresentados pelo princípio ativo, podendo também protegê-lo de fatores ambientais ou mesmo proteger o ambiente dos riscos proporcionados pelo material encapsulado. Além disso, uma aplicação de grande importância das microcápsulas na área farmacêutica consiste na modulação da liberação dos princípios ativos, que pode proporcionar ao medicamento uma liberação prolongada ou sítio-específica, com inúmeras vantagens terapêuticas e econômicas (LI et al., 1988).

As dispersões de microcápsulas são normalmente secas pela técnica de *spray drying* (MUJUMDAR;MENON, 1995; WENDEL;ÇELIK, 1997). O emprego dessa técnica possibilita o controle preciso das características do produto final, em operação aplicável a produtos termossensíveis, com elevada produtividade e fácil escalonamento (MASTERS, 1985).

No entanto, os elevados custos de operação e de instalação, e a considerável área ocupada pelo equipamento na planta industrial (WENDEL;ÇELIK, 1997; MASTERS, 1985), têm estimulado a pesquisa de técnicas alternativas de secagem, não só na indústria farmacêutica, mas também em outros segmentos industriais.

O desenvolvimento de novas técnicas de secagem e a adaptação das já existentes possuem grande importância econômica e mercadológica, por introduzir no meio industrial

alternativas economicamente mais viáveis, além de possibilitar, em certos casos, a obtenção de produtos com características diferenciadas e aplicações potencialmente inovadoras.

Por outro lado, em alguns casos, as alterações nas propriedades dos sistemas secos, decorrentes das operações de secagem, não são desejáveis e denotam perda da qualidade do produto. Dessa forma, uma avaliação minuciosa das interações da qualidade do material seco deve ser realizada sempre que uma nova técnica de secagem for considerada.

Apesar da necessidade de avaliação da qualidade pós-processamento dos materiais, pouco se têm relatado na literatura, até o presente momento, a respeito da ocorrência de incompatibilidades entre componentes de uma formulação, catalisadas pelo emprego de operações de secagem. A literatura científica traz inúmeros relatos cuja preocupação principal é diagnosticar possíveis interações fármaco-excipiente em um nível de pré-formulação, além de determinar comparativamente o valor das diferentes técnicas físico-químicas empregadas para esse tipo de avaliação (MARINI et al., 2003; VENKATARAM; KHOHLOKWANE; WALLIS, 1995; DURIG; FASSIHI, 1993).

Em alguns poucos trabalhos, os autores propõem a avaliação do efeito de algumas operações unitárias sobre o estabelecimento de interações fármaco-polímero, como no caso do trabalho de Mura et al. (1998). Entretanto, esse tipo de avaliação ainda é relativamente escasso na literatura.

De acordo com o acima descrito, e em face da grande demanda pela adaptação de novas técnicas de secagem na área farmacêutica, Baracat et al. (2004) propuseram e avaliaram a viabilidade da secagem de dispersões de microcápsulas coacervadas, pela técnica de leito de jorro convencional. Essa técnica têm sido extensivamente estudada na secagem de diversos tipos de materiais, como matérias-primas alimentícias e produtos medicinais de origem natural (RUNHA et al., 2001; SHUHAMA et al., 2003; MARKOWSKI, 1993; LIMA, 1992; CORDEIRO; OLIVEIRA, 2005). Muitos desses trabalhos demonstraram a qualidade

comparável entre os produtos obtidos pela referida técnica frente àqueles obtidos por *spray drying*. Entretanto, Baracat et al. (2004), verificaram uma importante retenção do fármaco modelo empregado – a indometacina - a partir de microcápsulas constituídas de pectina e caseína, após sua secagem por leito de jorro.

Dessa forma, este trabalho objetiva avaliar a aplicabilidade do emprego da técnica de leito de jorro na secagem de microcápsulas de caseína-pectina carregadas com dois fármacos modelo: a indometacina, como modelo de fármaco pouco hidrossolúvel, e um fármaco modelo mais hidrossolúvel, o paracetamol. Adicionalmente, pretende-se investigar as causas da retenção de indometacina descrita na literatura e estudar a influência das variáveis do processo de leito de jorro sobre esse fenômeno, com foco na determinação do tempo de residência do material no secador.

Por fim, objetiva-se contribuir com a literatura da área, estabelecendo uma comparação entre as técnicas de leito de jorro e *spray drying*, do ponto de vista do desempenho produtivo e energético, de forma a possibilitar uma visão mais abrangente das potencialidades da técnica de secagem de microcápsulas por leito de jorro convencional.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A escrita das informações apresentadas nessa seção aspira fornecer subsídios para um melhor entendimento do apresentado na parte de desenvolvimento do presente trabalho, não pretendendo, portanto, englobar todas as informações da literatura referentes a cada tópico, como seria esperado pela definição do termo revisão bibliográfica.

2.1 LEITO DE JORRO

2.1.1 Generalidades e descrição do regime

O secador do tipo leito de jorro foi desenvolvido, no ano de 1954, por Gishler e Mathur. Esse equipamento foi inicialmente projetado para a secagem de grãos de trigo em um processo que permite a aplicação de maiores quantidades de calor sem a ocorrência de perda da qualidade do material. Em seguida, os pesquisadores em questão, prevendo o grande potencial de aplicação da nova técnica, iniciaram um estudo mais profundo sobre o regime fluidodinâmico de jorro e concluíram que: “O mecanismo de fluxo dos sólidos assim como de fluxo do ar no leito de jorro é diferente ao observado para a fluidização, entretanto, o leito de jorro possui as mesmas aplicações do leito fluidizado, só que para partículas de dimensões mais elevadas” (MATHUR; EPSTEIN, 1974).

O leito de jorro convencional, como o empregado por Gishler e Mathur, é constituído por uma câmara de secagem cilíndrica conectada a uma base cônica, a qual possui em sua extremidade inferior um orifício de reduzida dimensão, através do qual o fluido de jorro é alimentado ao sistema (PALLAI; SZENTMARJAY; MUJUMDAR, 1995). Configurações totalmente cônicas, cilíndricas ou retangulares também podem ser empregadas (EPSTEIN; GRACE, 1997).

O regime de jorro é estabelecido pela entrada de um jato de fluido em um leito de sólidos particulados. O menor diâmetro dos sólidos recomendável para garantir o estabelecimento de um regime fluidodinâmico estável é de 1 mm. Após a entrada do fluido, normalmente constituído por ar, observa-se a aceleração ascendente das partículas sólidas com a formação de um canal central diluído, onde as mesmas apresentam elevada velocidade. Essa região é denominada de região de jorro. Ao redor do canal central, verifica-se a presença de um leito denso de partículas, que se deslocam contra o fluxo ascendente de ar, traçando uma trajetória parabólica em relação à região central do equipamento. A região que compreende esse leito deslizante de partículas recebe a denominação de ânulo ou região anular (MATHUR,1971)

A desaceleração das partículas provenientes da região de jorro ocorre após as mesmas atingirem a superfície do leito (região de fonte), e resulta em sua queda sobre a região anular. Por fim, essas partículas descreverão uma trajetória anular de volta para a região de jorro, seja após atingirem a base do leito (próximo ao orifício de entrada do ar) seja através de fluxo cruzado (na interface jorro-ânulo). A Figura 1 ilustra esquematicamente a movimentação cíclica e ordenada das partículas em um leito de jorro convencional.

Figura 1. Diagrama esquemático do regime de jorro em um equipamento cone-cilíndrico

2.1.2 Características fluidodinâmicas do regime de jorro

A breve discussão realizada aqui sobre a fluidodinâmica dos regimes de jorro está baseada principalmente nos textos de Mathur e Epstein (1974) e Mathur (1971).

Os parâmetros fluidodinâmicos de maior importância no estudo dos regimes de jorro são: a velocidade mínima de jorro (V_{mj}), a altura máxima de jorro estável (H_{max}), e a perda de carga em função da velocidade do ar (ΔP).

A velocidade mínima do fluido necessária para manutenção do regime jorro (V_{mj}) é função das propriedades dos sólidos, da geometria do leito e do próprio fluido. Para um determinado material, por exemplo, os valores de V_{mj} diminuem com o aumento do diâmetro da câmara de secagem e com a diminuição da altura do leito fixo de sólidos (MATHUR; EPSTEIN, 1974).

Similarmente, a velocidade de jorro incipiente (V_{ji}) representa a velocidade de fluido necessária, não para manter, mais para iniciar o regime. Os valores de V_{ji} são sempre mais elevados em relação aos de V_{mj} , devido à demanda energética adicional para dar início ao regime de jorro. O conhecimento da velocidade incipiente de jorro para um dado conjunto fluido-sólido-geometria do leito e para uma determinada altura de partículas, é de grande importância para o projeto dos sopradores de ar empregados em um aparato do tipo leito de jorro (MATHUR; EPSTEIN, 1974; MATHUR, 1971).

No outro extremo, existe um limite superior ou um valor máximo da velocidade mínima de jorro (V_{max}), para o qual o leito de sólidos sofre a transição do regime de jorro para regimes de fluidização, como os de leito borbulhante ou pistonado (MATHUR; EPSTEIN, 1974).

De forma similar ao discutido para a V_{mj} , quando se considera um determinado conjunto fluido-sólido-geometria do leito, observa-se a existência de uma altura máxima de partículas inertes, acima da qual não é possível observar a ocorrência do regime de jorro e sim

uma fluidização de má qualidade. Essa altura, como já descrito, é denominada de altura máxima de jorro estável (H_{max}) (MATHUR; EPSTEIN, 1974).

A transição na H_{max} , entre o regime de jorro e o de leito fluidizado, pode ocorrer tanto por fluidização das partículas no topo da região anular quanto pela degeneração da cavidade de jorro (canal central), com formação subsequente de regimes de leito pistonado ou borbulhante. O mecanismo de término do jorro depende das dimensões da coluna e das propriedades do conjunto fluido-sólido. A equação de Morgan e Littman (PASSOS et al., 1997) é empregada para defini-lo, através do estabelecimento de um parâmetro adimensional A , que representa a relação entre a energia mínima para formar o jorro frente àquela necessária para mantê-lo.

Os valores de A se apresentam reduzidos ($A < 0,014$), quando a energia necessária para manter o regime é elevada. Nesse caso, o término do mesmo se dá pela degeneração da cavidade do jorro (formação de regime borbulhante). Na situação oposta ($A > 0,02$), a energia para formar o regime é mais elevada e o término do mesmo se dá por fluidização das partículas no topo da região anular. O conjunto de condições que determinam valores de A superiores a 0,014 e inferiores a 0,02 definem a região de transição entre os dois mecanismos de término de jorro já descritos (PASSOS et al., 1997).

Um outro parâmetro fluidodinâmico de grande importância no estudo dos regimes de jorro é a perda de carga ou queda de pressão no leito em função da velocidade do ar (ΔP). De forma similar ao verificado para a velocidade superficial do ar, existe um pico máximo de queda de pressão (ΔP_{max}), gerado pela elevada demanda energética necessária para estabelecer o regime de jorro. Esse valor é de grande importância para o projeto de sopradores de ar em uma unidade de jorro. Outro parâmetro que deve ser considerado é a queda de pressão no jorro estável (ΔP_j) (MATHUR; EPSTEIN, 1974).

2.1.3 Aplicações da técnica

O regime fluidodinâmico único, observado em equipamentos do tipo leito de jorro, propicia inúmeras vantagens durante suas aplicações. Características, como a excelente mistura de sólidos e o intenso contato fluido-sólido, permitem uma secagem segura e eficiente de materiais termossensíveis. Por outro lado, as elevadas velocidades alcançadas pelo fluido de jorro são a base para vários processos na área de engenharia química, como àqueles referentes à purificação de gases e ao craqueamento do petróleo (EPSTEIN; GRACE, 1997).

Outras características do regime fluidodinâmico que implicam em grandes vantagens na aplicação dos leitos de jorro são: (1) a ocorrência de uma movimentação cíclica e de alta regularidade dos sólidos, a qual constitui a base para a obtenção de produtos com uniformidade adequada a partir de operações de granulação e revestimento de sólidos farmacêuticos; (2) a existência de um nível considerável de atrito entre os sólidos, que viabiliza as operações anteriormente citadas por reduzir a aglomeração do material no interior do leito, além de permitir a secagem de materiais líquidos nesse tipo de equipamento (com auxílio de sólidos inertes) (EPSTEIN; GRACE, 1997).

Dentre as aplicações acima citadas, a secagem de pastas (soluções, emulsões, suspensões, tortas) têm recebido considerável atenção dos pesquisadores (SCHNEIDER; BRIDGWATER, 1993). Para produção em pequena escala, o diâmetro máximo da câmara de secagem para uma operação estável em leito de jorro é de 1 metro, a técnica em questão têm sido considerada promissora na secagem de pastas, podendo ser aplicada com vantagem em relação à secagem por *spray drying*, por apresentar menor custo operacional, elevada capacidade de secagem e possibilitar a obtenção de produtos pulverulentos de alta qualidade (BACELOS et al., 2005).

No entanto, desenvolvimentos adicionais são necessários para contornar algumas desvantagens já reconhecidas nesse tipo de aplicação. As freqüentes instabilidades do regime

fluidodinâmico geradas pela alimentação de pastas, a ocorrência de fenômenos de aglomeração das partículas e o elevado acúmulo de pó no interior da câmara de secagem prejudicam, senão inviabilizam, o emprego industrial da técnica de leito de jorro convencional (PASSOS et al., 1997). Nesse sentido, é necessário um melhor entendimento sobre o comportamento fluidodinâmico do leito na presença de pastas, visando o estabelecimento de condições operacionais ótimas para a secagem de um determinado produto (BACELOS et al., 2005). Uma descrição detalhada desse assunto está apresentada na seção 2.1.5.

2.1.4 Modificações do leito de jorro convencional

Na tentativa de superar as limitações apresentadas pela configuração convencional, vários pesquisadores têm proposto novas configurações e diferentes regimes de leito de jorro. As modificações mais importantes serão brevemente discutidas aqui com base na revisão de Epstein e Grace (1997).

Dispositivos que permitem a formação de múltiplos canais de jorro foram desenvolvidos para superar o limite prático do diâmetro máximo da câmara de secagem, e com isso possibilitar níveis de produtividade superiores aos apresentados pela configuração convencional. Os leitos de jorro múltiplos possuem alguns orifícios de entrada de ar posicionados paralelamente em uma câmara de configuração cônica ou cilíndrica. Esses equipamentos são freqüentemente equipados com defletores para reduzir a interferência entre fontes de células de jorro adjacentes, ou placas, para reduzir o fluxo lateral de ar entre as células, melhorando, em ambos os casos, a estabilidade do regime fluidodinâmico (EPSTEIN; GRACE, 1997).

Romankov e Rashkovskaya (1968 apud EPSTEIN;GRACE, 1997), foram os primeiros a descrever um equipamento de leito de jorro com configuração bidimensional

fendada. Esse dispositivo, desenvolvido para contornar o problema de escalonamento apresentado pela configuração convencional, é equipado por uma câmara retangular com a entrada de ar na forma de fenda. Dessa forma, o ar de jorro penetra por toda a extensão da câmara e supostamente permite a operação em dispositivos de grandes dimensões sem a ocorrência de elevadas perdas de carga. A Figura 2 ilustra esquematicamente um equipamento de leito de jorro bidimensional fendado.

Entretanto, problemas de instabilidade ocasionados pelo aumento na largura da fenda de entrada de ar ainda não têm solução e inviabilizam os projetos de escalonamento desse tipo de equipamento.

Além disso, Freitas et al. (2000) estudaram a ampliação da espessura da coluna de um leito retangular fendado, mantendo-se a largura da fenda e da própria coluna inalterados, e verificaram o aparecimento de efeitos tridimensionais sobre o regime, como a formação de múltiplos canais de jorro. Seus achados demonstram a dificuldade em realizar o processo de escalonamento dessa configuração, como acima discutido.

Figura 2. Diagrama esquemático de um leito de jorro bidimensional fendado

Entre as modificações mais importantes realizadas sobre a configuração convencional está a inserção de um tubo interno na interface jorro-ânulo (tubo *draft*). Esse

tubo pode ser impermeável, poroso ou parcialmente poroso, cilíndrico ou levemente achatado e é inserido apenas alguns centímetros acima da saída de ar, podendo assumir diâmetro equivalente ou superior a esta (EPSTEIN;GRACE, 1997).

A inserção do tubo interno interrompe o fluxo cruzado de sólidos e fluido, entre as regiões anular e de jorro, permitindo que a operação ocorra acima do valor de H_{max} determinado para o conjunto sólido-fluido-geometria do leito. Adicionalmente, observa-se um melhor controle da circulação de sólidos e uma menor perda de carga durante a operação. Essa modificação permite também estabelecer regimes de jorro estáveis para partículas de reduzida dimensão (EPSTEIN;GRACE, 1997).

Entretanto, o emprego de tubos internos ocasiona uma redução considerável na troca de calor e massa na região anular do leito, que é resultado direto da diminuição no fluxo de ar nessa região. Em outras palavras, observa-se uma redução drástica do contato sólido-fluido com conseqüente diminuição na eficiência térmica do regime. O emprego de tubos porosos ameniza apenas parcialmente essa situação (GUBULIN, 1992).

Por outro lado, o estabelecimento de aeração complementar na base da região anular (Figura 3), como proposto por Yang e Keairns (1983 apud GUBULIN, 1992), permite a obtenção de coeficientes de transferência de calor e massa superiores aos observados na configuração convencional. Quando essa modificação é aplicada a um leito de jorro com tubo interno, observa-se uma tendência de aumento nas reduzidas taxas de circulação de sólidos com coeficientes de transferência comparáveis aos verificados na configuração convencional.

Aparte às modificações na estrutura dos equipamentos de leito de jorro, é possível, através do acerto apropriado das condições operacionais, operar sob regimes fluidodinâmicos alternativos.

Figura 3. Diagrama esquemático de um leito de jorro com aeração complementar

A combinação entre uma reduzida carga de partículas e elevadas velocidades de ar de jorro permite a obtenção de um regime de jorro diluído (*jet spouted bed*). A característica que diferencia este regime em relação ao convencional é a porosidade da região anular, que no regime diluído chega a 0,9 contra 0,4 do regime convencional. Nas operações em regime diluído, o tempo de residência dos materiais é menor (o que pode ser uma vantagem adicional na secagem de produtos termolábeis) e a velocidade relativa fluido-sólido é maior (e por consequência observam-se maiores coeficientes de transferência de calor) (EPSTEIN;GRACE, 1997).

As características únicas do regime diluído fazem com que sua aplicação na secagem de pastas possua desempenho superior frente ao observado na secagem por leito de jorro convencional. Entretanto, na secagem de células vivas (MARKOWSKI, 1993) e possivelmente na secagem de sistemas estruturados (como as microcápsulas), o elevado grau de atrito interparticular é ou pode ser uma característica desfavorável na aplicação desse regime.

Outra alteração no regime fluidodinâmico de jorro é o chamado regime de jorro-fluidizado. Em equipamentos de leito de jorro com aeração complementar, é possível, após

um ajuste na velocidade do ar complementar para um valor superior ao da velocidade mínima de fluidização, observar o aparecimento do referido regime (EPSTEIN;GRACE, 1997).

A Figura 4 mostra o sistema de suspensão a ar desenvolvido por Dale E.Wurster (1953), muito empregado no revestimento de comprimidos na indústria farmacêutica e comumente classificado como uma técnica de fluidização de sólidos. No entanto, esse sistema possui uma configuração muito próxima à observada em equipamentos do tipo leito de jorro-fluidizado com tubo interno e aeração complementar. O leito “tipo Wurster” opera em um regime cíclico de movimentação dos sólidos que claramente se constitui em um regime de jorro devido a sua elevada regularidade. Muitos autores estão de acordo com estas considerações (EPSTEIN; GRACE,1997; JONO et al., 2000). O sistema Wurster pode ser considerado como o exemplo mais bem sucedido da aplicação industrial do regime de jorro.

Figura 4. Diagrama esquemático de um equipamento de suspensão a ar do tipo Wurster

Outro exemplo recente do avanço da técnica de leito de jorro na indústria farmacêutica está na disponibilização, por uma grande empresa na área de desenvolvimento

de equipamentos, de um novo secador de leite de jorro com entrada de ar fendada, voltado para operações de granulação, secagem e revestimento de sólidos com baixo gasto energético.

A Figura 5 mostra o equipamento em questão.

Figura 5. Leito de jorro fendado Glatt (www.glatt.com/e/01_technologien/01_02_05.htm)

2.1.5 Secagem de pastas por leito de jorro

Weltman (1960) definiu o termo “pasta” como sendo um sistema onde partículas sólidas microscópicas ou coloidais estão dispersas em um meio líquido, podendo se apresentar sob diversas formas físicas, tais como soluções, suspensões e tortas de filtração (OLIVEIRA; FREIRE, 1998).

A secagem de pastas pelo emprego da técnica de leito de jorro envolve necessariamente a utilização de um leito de partículas inertes, e resulta na obtenção de um pó finamente disperso (< 10 microns) até partículas com 5 milímetros ou mais de diâmetro (FREIRE, 1992).

A operação se inicia com a alimentação da pasta ao leito, por nebulização ou gotejamento da mesma. Em seguida, observa-se o espalhamento do material sobre a superfície

das partículas inertes com a conseqüente formação de um filme líquido sobre as mesmas. No decorrer de sua movimentação cíclica no interior do leito, as partículas entram em contato com a fonte gasosa aquecida e os fenômenos de transferência de calor e massa ocorrem, levando à secagem e a formação de um filme seco. Por fim, após atingir um certo grau de umidade residual, determinado pelas propriedades mecânicas da pasta, e devido a ocorrência de colisões entre as partículas, o filme seco formado é removido da superfície inerte e transportado pelo ar para fora da câmara de secagem, sendo posteriormente coletado por um dispositivo apropriado (PASSOS et al., 1997; FREIRE, 1992).

De acordo com a descrição acima, constata-se que a operação de secagem de pastas em leito de jorro com inertes é governada pelas cinéticas de espalhamento e secagem do material, além daquela referente à remoção do filme seco formado (FREIRE, 1992).

Apesar da elevada mistura dos sólidos no leito permitir, de forma geral, a secagem de materiais termossensíveis, cada material em particular possui uma determinada resistência térmica que é função da temperatura, da taxa de aquecimento e do tempo de residência permitido para a sua secagem. Essa resistência é definida pelas propriedades estruturais e físico-químicas de cada material (FREIRE, 1992).

Dentre os fatores que influem sobre a resistência térmica das pastas, o tempo de residência das mesmas no secador possui elevada importância. Distribuição de tempo de residência (DTR) é um conceito da área de engenharia química introduzido por Danckwerts em 1953, sendo desde então extensivamente estudado e aplicado em vários processos industriais (CLAUDEL et al., 2000). Define-se tempo de residência como o período de tempo transcorrido entre a entrada e a saída de uma molécula do material a ser seco, no interior da câmara de secagem.

Esse conceito possui importância inquestionável dentro da tecnologia de secagem, pois determina em grande parte a relação entre a degradação dos materiais com as condições

operacionais dos secadores, sendo amplamente aceito que a intensidade da degradação observada em uma determinada operação, não é somente dependente da temperatura a qual os materiais são expostos, mas também depende do tempo de exposição à fonte calorífica (STRUMILLO; ADAMIEC, 1991, ADAMIEC et al., 1995). Por sua vez, o tempo de exposição ao calor é determinado pelas cinéticas de espalhamento e secagem da pasta, além daquela relacionada à remoção do material seco a partir da superfície das partículas inertes.

A metodologia de estímulo-resposta é amplamente empregada na determinação das DTR's (PEIXOTO; MONTEIRO; FREITAS, 2004), e consiste na aplicação de um marcador químico, usualmente um corante, ao secador (estímulo), e sua posterior quantificação no produto seco em função do tempo (resposta). Apesar de sua considerável aplicação, não existem, até o presente momento, estudos que elucidem a influência do *modus operandi* dessa técnica sobre os resultados por ela fornecidos durante a secagem de pastas em equipamentos do tipo leito de jorro.

As diferenças descritas na literatura entre os tempos médios de residência (T) dos secadores do tipo *spray dryer* e leito de jorro é considerável. Durante a secagem pelo método de *spray drying*, o material permanece exposto ao calor por períodos de tempo muito curtos, da ordem de algumas dezenas de segundos (MASTERS, 1985; KIEVET; KERHOF, 1995; TAYLOR, 1998), o que limita os fenômenos de termodegradação nesse tipo de operação.

Por sua vez, a literatura relata (BERNI; FREITAS, 2005; PEIXOTO; MONTEIRO; FREITAS, 2004) tempos médios de residência da ordem de minutos para secadores do tipo leito de jorro convencional. Peixoto, Monteiro e Freitas (2004) e Berni e Freitas (2005), estudaram o tempo de residência de pastas na secagem por leito de jorro convencional, e encontraram valores na faixa de 10,32 a 16,81 e 10,8 a 13,9 minutos, para pastas orgânicas e inorgânicas, respectivamente. Os valores encontrados se sobrepõem àqueles determinados na secagem de pastas por leito fluidizado mecanicamente agitado (REYES; DIAZ, 2000), que

por sua vez, são muito superiores aos relatados na secagem pelo método de *spray drying* (TAYLOR, 1998; KIEVIET; KERKHOF, 1995). A comparação entre os resultados desses estudos sugere a necessidade de avaliar cuidadosamente as condições operacionais dos secadores do tipo leito de jorro na secagem de pastas por esse método, no intuito de garantir a qualidade dos produtos secos obtidos.

Apesar do acima discutido, inúmeros trabalhos na literatura relataram a secagem com sucesso de diferentes tipos de pastas por leito de jorro. Vários autores relataram a qualidade comercial e/ou similar dos produtos secos pela referida técnica em relação à obtida quando da secagem pelo método mais comumente empregado, o *spray drying* (MARKOWSKI, 1993; SHUHAMA et al. 2003; CORDEIRO; OLIVEIRA, 2005; PHAM, 1993, entre outros). Na maioria dos trabalhos os autores sugeriram que a técnica de leito de jorro pode ser considerada como uma alternativa à de *spray drying*, tanto pela qualidade comparável dos produtos obtidos quanto pelo reduzido custo operacional envolvido na utilização desta técnica.

No entanto, como anteriormente discutido, existem inúmeras limitações para o emprego dessa tecnologia em nível industrial, mesmo quando se refere a linhas de produção em escalas reduzidas. O entendimento das características fluidodinâmicas do leito durante a alimentação de pastas é fundamental para contornar esses problemas. Nesse sentido, vários trabalhos têm sido realizados e conclusões por vezes opostas têm sido relatadas.

Os resultados obtidos por Reyes (1993 apud PASSOS et al., 1997), na secagem de água e de uma suspensão de alumina em leito de jorro cônico, e por Passos e Mujumdar (2000), após a adição de glicerol a um leito de jorro bidimensional, mostraram um aumento nos valores de V_{mj} com a adição de líquido, até o colapso do regime. Esse fenômeno se deve ao estabelecimento de pontes líquidas ou semi-sólidas entre os filmes formados na superfície

das partículas inertes, com conseqüente aumento das forças coesivas no interior do leito, até um nível onde o regime não pode se manter.

Contrariamente ao observado no trabalho realizado por Passos e Mujumdar (2000), Schneider e Bridgwater (1993), Patel et al. (1986) e Bacelos et al. (2005) verificaram uma redução nos valores de V_{mj} com alimentação de glicerol ao leito. Bacelos et al. (2005) discutiram que essa diferença era resultado da geometria do equipamento empregado por Passos e Mujumdar (2005), que ao invés de cilíndrica era bidimensional.

No entanto, a geometria não é o único fator capaz de ocasionar mudanças no comportamento dos valores de V_{mj} com adição de pastas. As propriedades da pasta também podem influir nesse sentido. Bacelos et al. (2005) verificaram que, ao secar uma pasta de ovo homogeneizada, os valores de V_{mj} apresentaram uma elevação, diferentemente ao discutido acima para a alimentação de glicerol. Os autores justificaram essa tendência conflitante pela natureza das pontes formadas entre as partículas inertes, que no caso da pasta de ovo era semi-sólida (ocorre evaporação), ao invés de líquida, como no caso do glicerol. Esse raciocínio está de acordo com os dados de Reyes (1993 apud PASSOS et al., 1997) para a evaporação de uma suspensão de alumina.

No entanto, mesmo quando a operação envolve evaporação e formação de pontes semi-sólidas, tendências discrepantes nos valores de V_{mj} ainda podem ser observadas. Dessa forma, Lima (1992), na secagem de polpa de umbu por leito de jorro, verificou uma redução nos valores desse parâmetro fluidodinâmico com alimentação da referida pasta. O autor discutiu que, nesse caso, a movimentação anular se torna maior com a adição de pasta, devido a um efeito de deslizamento entre as partículas inertes, causado por um suposto efeito lubrificante da polpa de umbu, que se sobrepõe ao aumento das forças coesivas causado pela formação de pontes semi-sólidas entre as partículas, com conseqüente aumento na estabilidade do regime frente a adição de pasta.

Por outro lado, no que se refere aos valores de ΔP_j , as tendências apresentadas na literatura são quase sempre reprodutíveis. Reyes (1993 apud PASSOS et al., 1997), verificou que, durante a secagem de água em leito de jorro, os valores de ΔP_j se mantêm praticamente constantes, independentemente da quantidade de líquido adicionada. Por outro lado, observou-se uma redução nos valores de ΔP_j após a adição de glicerol (PASSOS; MUJUMDAR, 2000).

Bacelos et al. (2005), em testes com glicerol, relataram que o comportamento dos valores de ΔP_j era similar, em linhas gerais, ao discutido no trabalho de Passos e Mujumdar (2000). Os autores discutiram que a redução observada nos valores de ΔP_j era resultado da diminuição na mobilidade das partículas na região anular, que proporcionava uma redução na quantidade de partículas que entravam na região de jorro, com conseqüente favorecimento da passagem de ar pelo canal central. Outros autores também verificaram o mesmo comportamento para esse parâmetro fluidodinâmico (PATEL et al., 1986; SCHNEIDER; BRIDGWATER, 1993).

Uma vez mais, o trabalho de Lima (1992) mostrou resultados discrepantes em relação às tendências observadas na literatura. O autor relatou um aumento na ΔP_j com a alimentação da polpa de umbu. De forma similar ao discutido para a V_{mj} , os valores de ΔP_j aumentaram em função das características lubrificantes da pasta, que proporcionaram uma elevação na mobilidade anular das partículas, que por sua vez, gerava a entrada de um maior número destas na região de jorro, com conseqüente aumento na perda de carga do sistema.

Os estudos relatados acima contribuem para o melhor entendimento da fluidodinâmica do processo e com isso fornecem ferramentas para a otimização das condições operacionais de jorro para a secagem de um determinado produto, que como anteriormente discutido, é de grande importância para a viabilização da aplicação industrial dessa técnica.

2.2 *SPRAY DRYING*

2.2.1 Definição e modo de operação

A secagem pelo método de *spray drying* envolve a formação de um material sólido particulado através da atomização de um líquido, que pode apresentar características físicas diversas (solução, suspensão), no interior de uma câmara de secagem, na qual também é inserida uma corrente gasosa aquecida. A operação de secagem por *spray drying* pode ser dividida em quatro etapas distintas: (1) nebulização ou atomização do líquido; (2) mistura do *spray* formado com o meio gasoso aquecido; (3) secagem do material; (4) separação do produto seco a partir do gás (MASTERS, 1985).

A atomização do material líquido (divisão em pequenas gotículas) consiste em uma etapa de grande importância na secagem por *spray drying*, pois seu ajuste define as condições ótimas de evaporação para a obtenção de um produto seco com as características de qualidade desejadas (MASTERS, 1985). Além disso, as propriedades do *spray* formado determinam o design dos outros componentes do equipamento (OAKLEY, 1997).

Empregam-se, para a atomização dos materiais líquidos, atomizadores rotatórios ou bicos de atomização. No primeiro caso, o líquido é introduzido no centro de um disco com perfurações periféricas, que gira em alta velocidade. A energia centrífuga gerada pela alta rotação do dispositivo, é a responsável pela formação do *spray*. A operação por esse tipo de dispositivo ocorre sob reduzida pressão e permite que o equipamento opere sob elevadas taxas de alimentação (MASTERS, 1985).

No caso dos atomizadores do tipo bico, a energia necessária para a divisão do líquido pode ser cinética (bico tipo duplo fluido), sônica (pouco utilizada) ou oriunda do aumento de pressão no interior do dispositivo (bico pressurizado). No primeiro caso, a atomização ocorre através do emprego de um gás que percorre grande parte da extensão do bico sem estabelecer

contato com o líquido, encontrando o mesmo próximo (mistura interna) ou na saída do dispositivo (mistura externa). Por outro lado, a atomização realizada pelo emprego de bicos pressurizados, se dá pelo estreitamento do canal interno de transporte do líquido, próximo ao orifício de saída do mesmo, com conseqüente conversão da energia bática em energia cinética (MASTERS, 1985).

Os dispositivos do tipo bico produzem partículas secas com diâmetro maior em relação aos atomizadores rotatórios e operam em vazões de alimentação mais reduzidas em relação a estes. O bico tipo duplo fluido, em especial, só é aplicável a equipamentos em escala piloto ou laboratorial, devido aos elevados custos de manutenção do sistema gerador da corrente de ar de atomização, a qual precisa ser fornecido em alta velocidade (OAKLEY, 1997).

A segunda etapa da secagem pelo método de *spray drying*, consiste na mistura entre o líquido atomizado e o meio gasoso aquecido. Essa mistura pode ser realizada no modo co-corrente, contra-corrente ou misto. Apenas o primeiro é recomendado para materiais termossensíveis, visto que líquido e gás são conjuntamente introduzidos na parte superior da câmara, e a temperatura no local do contato será a menor possível, devido ao efeito da rápida evaporação do líquido. Adicionalmente, o tempo de residência das partículas na câmara de secagem é mais reduzido quando se emprega esse modo de mistura. No modo contra-corrente o arranjo é oposto ao descrito acima, e as gotículas atomizadas entram em contato com o ar mais aquecido quando as mesmas apresentam um nível de umidade mais reduzido. Além disso, o tempo de residência do material é mais elevado nesse caso. Apesar de não ser indicado para a secagem de materiais termossensíveis, esse processo é superior em relação à mistura co-corrente do ponto de vista energético e econômico (OAKLEY, 1997, MASTERS, 1985; BROADHEAD; ROUAN; RHODES, 1992).

Por sua vez, o modo de mistura misto envolve a entrada de ar na parte superior do equipamento e a atomização do líquido a partir do meio da câmara. A aplicação dessa configuração possui vantagens quando da secagem de gotículas de tamanho relativamente elevado em pequenas câmaras de secagem (OAKLEY, 1997, MASTERS, 1985).

A terceira etapa do processo de secagem por *spray drying* é a evaporação do líquido a partir das gotículas em contato com a fonte gasosa aquecida. Essa evaporação se dá rapidamente, devido ao considerável aumento na área superficial do material após o processo de atomização, e pode ser dividida em dois períodos distintos. No primeiro, denominado de período de taxa constante, a superfície da gotícula se mantém saturada com líquido, pois a difusão do mesmo a partir do interior da estrutura é suficiente para mantê-la nesse estado. Num segundo momento, denominado de período de queda na taxa, a superfície não está saturada e observa-se a formação de um revestimento sólido. A taxa de secagem depende então da difusão do líquido através da parede sólida e diminui progressivamente com o tempo. As constantes de velocidade envolvidas em ambos os períodos determinam, juntamente com as propriedades do material, as características finais do produto seco, tais como sua forma e tamanho de partícula (OAKLEY, 1997; MASTERS, 1985).

A última etapa do processamento por *spray drying* é a separação do produto seco a partir do ar de secagem. Essa separação pode ocorrer tanto a partir da base da câmara de secagem quanto pelo emprego de dispositivos projetados para esse fim, como os ciclones. A etapa de separação pode influenciar as características do produto seco, devido às forças mecânicas envolvidas no processo (MASTERS, 1985).

A Figura 6 mostra um diagrama esquemático de um secador do tipo *spray dryer* indicando as quatro etapas do processamento por esse método, discutidas anteriormente.

Figura 6. Diagrama esquemático dos componentes de um secador do tipo spray dryer

2.2.2 Secagem de produtos farmacêuticos por *spray drying*

A técnica de *spray drying* encontra inúmeras aplicações em diversos segmentos industriais, inclusive no farmacêutico (WENDEL;ÇELIK, 1997). A utilização dessa técnica na indústria farmacêutica data do início da década de 1940. Inúmeros processos podem ser realizados pela utilização da técnica de *spray drying*, tais como a secagem, microencapsulação, formação de complexos e reações de polimerização (BROADHEAD; ROUAN; RHODES, 1992).

A secagem pela técnica de *spray drying* pode resultar na obtenção de materiais com características vantajosas em relação aos obtidos pela utilização de outros métodos. Um exemplo clássico da afirmação acima está na produção da lactose seca por *spray*, que pode ser

diretamente compactada, devido a formação de material amorfo referente a fração solúvel do açúcar presente em uma solução supersaturada do mesmo. A presença desse tipo de material, além de permitir a compressão direta da formulação, confere uma maior resistência aos comprimidos, devido aos seus efeitos aglutinantes sobre a fração cristalina (BROADHEAD; ROUAN; RHODES, 1992). Apesar desse tipo de aplicação diferenciada, a secagem de produtos farmacêuticos pela referida técnica é frequentemente empregada por possibilitar a obtenção de pós com características pré-determinadas (BROADHEAD; ROUAN; RHODES, 1992).

As desvantagens na aplicação industrial da técnica de *spray drying* são o seu elevado custo de instalação e operação, e a elevada área ocupada pelo equipamento na planta industrial (MASTERS, 1985).

Embora a técnica de *spray drying* seja normalmente empregada para a desidratação de materiais, ela também possui aplicação como método de encapsulação, com a vantagem, em relação aos outros métodos disponíveis para esse fim, de possibilitar a produção de microcápsulas em uma operação contínua relativamente simples. Entretanto, a aplicação dessa técnica geralmente resulta na formação de microcápsulas matriciais, também chamadas de microesferas, ao invés de um sistema núcleo-parede bem definido, denominado de microcápsula (RÉ, 1998).

Por outro lado, a aplicação de outros métodos, como os de coacervação, resulta na obtenção de sistemas núcleo-parede, os quais são normalmente submetidos a uma operação de secagem. Em muitos casos a técnica de *spray drying* é empregada para essa finalidade, pois possibilita a rápida evaporação de solvente, em uma operação onde o tempo de contato das partículas secas com a fonte calorífica é muito reduzido (ver seção Introdução), sem, portanto, resultar em um aquecimento excessivo do material. Essas características favorecem a escolha

dessa técnica e justificam seu amplo uso na secagem tanto de dispersões de microcápsulas quanto de outros tipos de materiais.

2.3 COACERVADOS E SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS BASEADOS NA PECTINA

O desenvolvimento de sistemas de liberação modificada de fármacos vem causando um enorme impacto nos sistemas de saúde (VASIR; TAMBWEKAR; GARG, 2003), pois seu emprego resulta na otimização da resposta terapêutica, observada pelo menor índice de efeitos adversos notificados e pela maior eficácia e aderência ao tratamento, quando comparado aos sistemas convencionais de liberação de fármacos.

Dentre os sistemas de liberação modificada, aqueles projetados para a liberação cólon-específica apresentam um grande potencial para a veiculação de fármacos de natureza peptídica, assim como para os empregados no tratamento das condições patológicas específicas do cólon, como a doença inflamatória intestinal, a doença de Cronh e a colite ulcerativa (YANG; CHU; FIX, 2002).

Várias abordagens são empregadas para a obtenção de sistemas de liberação cólon-específica, dentre elas a mais promissora é a que consiste no desenvolvimento de dispositivos de liberação ativados especificamente pela ação da microbiota anaeróbia do cólon. Esses sistemas se baseiam na degradação sítio-específica de alguns polissacarídeos não-amídicos, como a pectina (YANG; CHU; FIX, 2002).

As pectinas são polímeros formados por unidades de ácido D-galacturônico, geralmente encontrados como constituintes estruturais de plantas superiores (LIU et al., 2003). Esses polímeros apresentam comportamento diferencial dependendo da região do trato gastrointestinal (TGI). Na porção superior do TGI, caracterizada por valores de pH abaixo da

neutralidade e pela ampla atividade de amidases e proteases, as pectinas se mantêm na forma de agregados macromoleculares resistentes a degradação enzimática, ao contrário do observado na região colônica, onde o pH neutro ocasiona a dissociação e expansão dos agregados anteriormente formados, que sofrem adicionalmente hidrólise por ação das pectinases secretadas especificamente pela microbiota da região, liberando, portanto, os fármacos incorporados no sistema (LIU et al., 2003).

No entanto, os sistemas de liberação compostos exclusivamente pelas pectinas possuem sérias limitações em termos da eficiência da liberação cólon-específica, resultado da considerável solubilidade aquosa desse material, que é responsável pela liberação de quantidades não desejáveis dos fármacos antes que o sistema atinja a região colônica (WAKERLY et al., 1997). Portanto, e no intuito de melhorar a eficiência da liberação cólon-específica desses sistemas, diversos autores obtiveram misturas das pectinas com vários outros polímeros, naturais ou sintéticos (LIU et al., 2003).

Fernandez-Hervas e Fell (1998), trabalharam nesse sentido e obtiveram comprimidos contendo paracetamol ou indometacina, revestidos com pectina ou com uma mistura física de pectina:chitosano (5:1). Como esperado, a liberação observada a partir dos comprimidos preparados apenas com pectina, foi superior aquela verificada para aqueles revestidos com pectina:chitosano. Da mesma forma, os autores observaram uma taxa de liberação muito superior quando da dissolução dos comprimidos contendo paracetamol, quando comparada à obtida a partir dos sistemas carregados com indometacina. Esta diferença é atribuída a acentuada hidrossolubilidade do paracetamol, e esse exemplo é representativo do sucesso parcial obtido, em diversos outros trabalhos, quando do desenvolvimento de sistemas matriciais de liberação cólon-específica, contendo misturas entre as pectinas e diversos outros polímeros, os quais, de maneira geral, conferem uma liberação sítio-específica de baixa

eficiência para fármacos hidrossolúveis, ao contrário do observado para aqueles com reduzido coeficiente de solubilidade aquosa, como a indometacina (LIU et al., 2003).

De forma similar, Munjeri, Collet e Fell (1997), avaliaram a liberação cólon-específica da indometacina e do sulfametoxazol – este último considerado como um modelo de fármaco relativamente hidrossolúvel – incorporados em sistemas multiparticulados preparados a partir da pectina amidada complexada com quitosano. Uma vez mais, observou-se o efeito protetor frente à penetração de água conferido pela adição de um segundo material polimérico ao sistema contendo pectina. Entretanto, e de acordo com o relatado anteriormente, a eficiência de liberação sítio-específica para o sulfametoxazol não se mostrou aceitável. Os autores discutem a necessidade de um desenvolvimento adicional dos sistemas matriciais de liberação cólon-específica com base nas pectinas, no intuito de viabilizar a veiculação de fármacos hidrossolúveis, recomendando que tal desenvolvimento seja realizado focando os sistemas multiparticulados, visto que estes possuem maior mobilidade nas válvulas do trato gastrointestinal, não possuindo, portanto, problemas adicionais relacionados a liberação não cólon-específica, ocasionada pelo possível atraso na chegada ao cólon quando do uso de sistemas do tipo monolítico (única unidade).

De acordo com a problemática observada, esforços contínuos vêm sendo realizados, no sentido de obter derivados da pectina que possuam ainda maior resistência a água e que permaneçam susceptíveis a degradação enzimática (LIU et al., 2003).

Nesse sentido, Baracat (2004), desenvolveu um novo material para a proposta de liberação cólon-específica ou prolongada. Trata-se de um conjugado entre a pectina e a caseína (sendo a última uma glicofosfoproteína encontrada no leite), no qual, supõem-se, os compostos de origem se encontram unidos por ligações do tipo covalente. Os autores observaram que o novo material é capaz de formar microcápsulas em condições brandas e limpas, pelo emprego de um procedimento de coacervação.

Dentre os inúmeros métodos empregados para a obtenção de microcápsulas, a coacervação é um dos mais promissores por possibilitar a obtenção de sistemas com níveis de encapsulação de até 99%. Nesse processo, observa-se a separação de fase de um ou mais hidrocolóides a partir da solução inicial, e a subsequente deposição destes sobre o princípio ativo suspenso ou emulsionado no meio, dando origem a uma nova fase, dita coacervada (GOUIN, 2004).

Os métodos de coacervação podem ser divididos em duas categorias (LI et al., 1988). A coacervação complexa se baseia na interação em ambiente aquoso de polímeros hidrossolúveis que apresentam cargas opostas (THIES, 1996). Esse processo é primariamente dependente do pH do meio, sendo a natureza ácida ou básica deste manipulada para a obtenção de microcápsulas (LI et al., 1988). Nos processos de coacervação complexa, normalmente se observa a presença de mais de um hidrocolóide. O sistema gelatina – goma acácia é o mais estudado, e por isso os princípios químicos e físicos envolvidos na formação desse tipo de coacervado são bem descritos e compreendidos (GOUIN, 2004).

Por outro lado, a coacervação simples se baseia na adição de uma substância altamente hidrossolúvel em uma solução contendo um hidrocolóide. A produção da microcápsula ocorre devido a insuficiência de água no meio para manter o polímero disperso, com conseqüente formação de uma nova fase (LI et al., 1988).

Apesar das características únicas dos produtos coacervados e das vantagens intrínsecas desse processo, sua aplicação industrial possui custo elevado. Acredita-se que a etapa final da coacervação, constituída por operações de isolamento e secagem da pasta (dispersão), agrega a maior parte dos custos do processo (GOUIN, 2004). Portanto, a definição correta e a otimização dos processos envolvidos nessa etapa podem contribuir para a viabilização da comercialização dos produtos coacervados.

Objetivos

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo principal caracterizar e investigar a funcionalidade de microcápsulas de caseína-pectina, após a secagem das mesmas pela técnica de leito de jorro convencional, avaliando a potencialidade da utilização dessa técnica frente ao método mais comumente empregado na secagem de microcápsulas, o *spray drying*. Em especial, objetiva-se investigar as causas da elevada retenção da indometacina a partir dessas microcápsulas, após seu processamento por leito de jorro, avaliando se esse fenômeno proporciona maior eficiência de liberação da indometacina.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

As etapas específicas propostas para o desenvolvimento deste estudo são as seguintes:

- Obtenção de diferentes formulações de microcápsulas de caseína-pectina, reticuladas ou não, e contendo paracetamol ou indometacina, pelo emprego do método de coacervação complexa;
- Caracterização morfológica e granulométrica das microcápsulas *in natura*;
- Secagem das dispersões coacervadas e estudo comparativo do desempenho dos métodos empregados, em termos de sua capacidade evaporativa e eficiência térmica;
- Avaliação comparativa das características morfológicas e da distribuição do tamanho das partículas secas;
- Investigação da retenção de indometacina nas microcápsulas secas por leito de jorro: Avaliação da segregação do fármaco durante o processo de secagem;
- Investigação da retenção de indometacina nas microcápsulas secas por leito de jorro: Avaliação da participação dos componentes individuais do conjugado caseína-pectina no estabelecimento da interação fármaco-polímero;

- Investigação da retenção de indometacina nas microcápsulas secas por leito de jorro: Caracterização físico-química dos materiais;
- Avaliação das características da operação de secagem por leito de jorro: Otimização da metodologia de estímulo-resposta, e determinação do tempo de residência da dispersão de microcápsulas;
- Avaliação das características da operação de secagem por leito de jorro: Avaliação da influência das variáveis vazão e temperatura do ar de secagem, sobre a retenção de indometacina e tempo médio de residência das microcápsulas;
- Avaliação comparativa da funcionalidade das diferentes formulações de microcápsulas carregadas com indometacina e paracetamol, após secagem por leito de jorro e *spray drying*, através do estudo de liberação *in vitro* dos materiais;
- Avaliação comparativa da funcionalidade das microcápsulas carregadas com indometacina, através da execução de testes de atividade antiinflamatória *in vivo*.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Foram utilizadas, durante o desenvolvimento do presente trabalho, amostras de pectina cítrica GENU[®] tipo USP (ref. 13596) que possui grau de esterificação de 68 % e peso molecular médio maior que 10^5 (CP Kelco Brasil S/A). Adicionalmente, foram empregados nos processos de obtenção das microcápsulas e micropartículas, a caseína bovina (Katuffmann & Co, Alemanha), ácido cítrico P.A. (Merck S/A.), glutaraldeído a 25 % (Fluka Chemica), lauril sulfato de sódio (Fluka Chemica), hidróxido de sódio P.A. (Merck S/A) e indometacina e paracetamol (Henrifarma Prod. Quim. Farm. LTDA).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção das microcápsulas e micropartículas

4.2.1.1 Preparo das microcápsulas inertes

As microcápsulas de caseína-pectina foram obtidas pelo emprego do método de coacervação complexa, segundo Baracat (2004). Quatro por cento de pectina e outros quatro por cento de caseína bovina foram dispersos separadamente em água destilada, sob constante agitação mecânica em agitador Heidolph RZR1 a 800 r.p.m. . A dispersão de caseína foi então vertida sobre a pectina dispersa, e o pH da mistura foi ajustado para $8,0 \pm 0,1$ pela adição de quantidade apropriada de uma solução de hidróxido de sódio a 15% (p/v). A mistura foi mantida sob agitação (800 r.p.m.) por 12 horas em temperatura ambiente, após o que, um novo ajuste de pH foi realizado pelo acréscimo de quantidade apropriada de uma solução

aquosa de ácido cítrico 1M (pH $3,5 \pm 0,1$). No caso dos materiais reticulados, foi adicionado glutaraldeído às dispersões de microcápsulas em pH 3,5, sempre na concentração de 50 $\mu\text{L/g}$ de polímero, sendo o produto final submetido à agitação mecânica por mais 30 minutos.

4.2.1.2 Preparo das microcápsulas carregadas

Uma solução supersaturada de indometacina em água, contendo 0,02% de lauril sulfato de sódio (p/v), foi submetida a cisalhamento em turax (a 8000 r.p.m. por 20 minutos) e adicionada às dispersões de microcápsulas (obtidas segundo procedimento descrito acima) após a décima segunda hora de agitação em pH 8,0. A mistura resultante foi mantida sob agitação por 30 minutos, antes que os passos de redução no pH e reticulação fossem realizados. A proporção indometacina:polímero empregada foi de 1:2 para um teor de sólidos final de 12% (p/v).

Os procedimentos de preparo das microcápsulas carregadas com paracetamol foram idênticos aos utilizados no preparo da formulação contendo indometacina, exceto pela composição da solução supersaturada de paracetamol, a qual não continha nenhum agente tensoativo.

4.2.1.3 Preparo de micropartículas de caseína e pectina carregadas com indometacina

Dispersões individuais de caseína e pectina carregadas com indometacina foram preparadas como descrito nos itens 4.2.1.1 e 4.2.1.2 e a composição de todas as formulações preparadas no presente trabalho está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1- Formulações de microcápsulas e micropartículas de caseína e pectina

Formulação	Componente				Glutaraldeído (µL/g de polímero)
	(% p/p, em relação aos sólidos totais)				
	Caseína	Pectina	Indometacina	Paracetamol	
1	50,00	50,00	----	-----	50
2	50,00	50,00	----	-----	----
3	33,33	33,33	33,33	----	50
4	33,33	33,33	33,33	----	----
5	33,33	33,33	-----	33,33	50
6	33,33	33,33	-----	33,33	----
7*	66,66	-----	33,33	-----	----
8*	-----	66,66	33,33	-----	----

* Micropartículas

4.2.2 Estudos de secagem

4.2.2.1 Determinação da capacidade máxima de evaporação de água (CMEA) dos secadores tipo leito de jorro e *spray dryer*

Visando trabalhar com condições operacionais que permitam a melhor comparação possível entre os dois métodos de secagem em questão, optou-se por determinar o conjunto de condições nas quais os valores de CMEA se apresentassem equivalentes, respeitando a manutenção da temperatura de saída no mesmo patamar para ambos os secadores.

Empregou-se, no caso do secador do tipo *spray dryer*, o grau de saturação do ar de saída e o acúmulo de água na câmara de secagem como parâmetros para o estabelecimento da CMEA. Por outro lado, os critérios escolhidos para a mesma avaliação em leito de jorro,

foram a estabilidade do regime fluidodinâmico (término do jorro) e o grau de saturação do ar de saída.

Adicionalmente, optou-se por calcular a capacidade volumétrica máxima de evaporação de água (VCMEA), no intuito de estabelecer uma relação mais fidedigna para a comparação entre o desempenho dos equipamentos em termos de suas capacidades de secagem.

É importante ressaltar, que no caso do secador tipo leito de jorro, o cálculo do volume do equipamento foi realizado considerando apenas a área que efetivamente está envolvida na secagem, ou seja, a área compreendida entre o fundo da seção cônica e o limite superior da fonte de partículas inertes.

4.2.2.2 Secagem das microcápsulas pelo método de *spray drying*

Os coacervados aquosos obtidos foram submetidos à secagem em um equipamento mini *spray dryer* LM-MSD 1.0 (Labmaq do Brasil), que opera em modo co-corrente, e é equipado com uma câmara de secagem cilíndrica de 500 mm de altura e 150 mm de diâmetro, isolada termicamente por uma camada de lã de vidro. O sistema de atomização empregado foi constituído por um bico do tipo duplo fluido com orifício de saída de 1,2 mm.

A vazão do ar de secagem empregada no processamento foi calculada através da utilização de um tubo de Pitot acoplado a um manômetro de água, através da equação:

$$Vo = A \sqrt{2g \frac{(\rho_m - \rho) \Delta h}{\rho}} \quad (1)$$

sendo:

V_o - vazão volumétrica do ar (m^3/s)

ρ - densidade do ar a 220°C (Kg/m^3)

ρ_m – densidade do fluido manométrico (Kg/m^3)

Δh – Variação da pressão (0,019431 mH_2O)

g – aceleração da gravidade (m/s^2)

A – área (0,0003925 m^2)

As condições operacionais empregadas na secagem das dispersões de microcápsulas por *spray drying* e por leito de jorro estão descritas na Tabela 2. O cálculo referente a eficiência térmica do processo durante a secagem das dispersões de microcápsulas está descrito no item 4.2.2.3.

Tabela 2 - Condições operacionais empregadas durante a secagem das microcápsulas de caseína-pectina pelo método de *spray drying* e leito de jorro

PARÂMETRO	<i>Spray drying</i>	Leito de jorro
Temperatura de entrada, $^\circ\text{C}$	220	110
Temperatura de saída, $^\circ\text{C}$	95	95
Vazão volumétrica do ar de secagem *1 , m^3/h	77,34	20,32
Capacidade máxima de evaporação de água, L/h	1,62	1,62
Vazão de alimentação da dispersão, L/h	0,870	0,168
Eficiência Térmica, η	0,4120	0,9084
$H/H_{\text{máx}}$ (%) *2	-----	50
V/V_{mj} *3	-----	1,3

*1 A vazão calculada para o spray dryer é a somatória da vazão fornecida pelo soprador com aquela fornecida pelo sistema de atomização (95 pés cúbicos/h) *2 $H/H_{\text{máx}}$ - Relação entre a altura utilizada (14 cm) e a altura máxima de jorro estável determinada (28 cm) *3 V/V_{mj} – Relação entre a velocidade empregada e a velocidade mínima de jorro.

4.2.2.3 Secagem das microcápsulas pelo método de leito de jorro convencional com inertes

O secador tipo leito de jorro empregado é composto por uma coluna cilíndrica de 140 mm de diâmetro e 830 mm de altura, acoplada a uma base cônica com ângulo interno de 60° e altura de 95 mm. Todo o conjunto foi isolado termicamente pela aplicação de uma cobertura de lã de vidro. O diâmetro do orifício de entrada do ar é de 22 mm e a dispersão de microcápsulas foi aplicada ao sistema através de gotejamento controlado por uma bomba peristáltica LS (Masterflex, USA). Um compressor da marca Wayne (Brasil), com capacidade de 120 scfm, foi empregado como sistema de fornecimento de ar. A temperatura do ar foi medida e controlada por um controlador digital PID modelo HW2000 (Coel Ltd., Brasil). Detalhes da montagem do equipamento podem ser observados na Figura 7, que mostra o diagrama esquemático do mesmo.

Esferas de vidro de 2,6 mm de diâmetro foram empregadas como material inerte, estando os dados oriundos de sua caracterização descritos na Tabela 3. A altura máxima de jorro estável e a velocidade mínima de jorro foram estabelecidas através do emprego dos métodos clássicos (MATHUR; EPSTEIN, 1974). As condições operacionais empregadas são encontradas na Tabela 2.

Figura 7. Diagrama esquemático do secador tipo leito de jorro

A vazão do ar de secagem utilizada foi calculada através do emprego de uma placa de orifício conectada a um tubo em U contendo mercúrio como fluido manométrico, segundo a equação 2:

$$V_o = A \cdot Ca \sqrt{\frac{2(\rho_m \cdot g \cdot h)}{\rho \cdot (1 - \beta^4)}} \quad (2)$$

sendo:

V_o = Vazão volumétrica do ar (m^3/s)

A = Área do orifício ($0,00005102 \text{ m}^2$)

Ca = Coeficiente de calibração (0,61)

ρ = Densidade do ar (Kg/m^3)

ρ_m = Densidade do fluido manométrico (Kg/m^3)

g = aceleração da gravidade (m/s^2)

h = altura da coluna de mercúrio (0,144 m)

β = Relação entre o diâmetro do orifício e do tubo (0,40625)

Por sua vez, as eficiências térmicas de ambas as operações de secagem foram calculadas através da equação 3:

$$\eta = \frac{m \cdot \lambda}{\omega \cdot c_p \cdot \Delta p} \quad (3)$$

sendo:

η - eficiência térmica

m - vazão da fração líquida na dispersão de microcápsulas (Kg/s)

λ - Calor latente de vaporização da água (J/Kg)

ω - Vazão mássica do ar de secagem (Kg/s)

c_p - Calor específico do ar úmido (J/Kg/°C)

Δp - Variação entre as temperaturas de entrada e saída

4.2.2.4 Secagem das micropartículas de caseína e pectina por leito de jorro e *spray drying*

As micropartículas de caseína e pectina contendo indometacina foram submetidas à secagem em *spray drying* e leito de jorro através do emprego das condições operacionais descritas na Tabela 2.

4.2.2.5 Determinação das distribuições de tempo de residência (DTR's) das microcápsulas durante a secagem em leito de jorro com inertes: Estudo da influência das variáveis do método de estímulo-resposta sobre os valores de tempo médio de residência (T) e sobre a forma das distribuições.

A avaliação da influência de diferentes níveis de volume, concentração e do modo de aplicação do marcador químico (corante) sobre os valores de T e sobre a forma das DTR's, foi realizada através do emprego de um planejamento experimental tipo 2^3 , durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio a 10% (p/v), em leito de jorro convencional.

A Tabela 3 mostra as condições operacionais empregadas nessa etapa do estudo, e adicionalmente, informa sobre as condições utilizadas no estudo de otimização do método de estímulo-resposta, descrito no item 4.2.2.6.

Tabela 3 - Características do leito de jorro e das partículas inertes empregadas nos estudos de avaliação e otimização da metodologia de estímulo-resposta

PASTA	LEITO DE JORRO						
	Dc (cm)	Hmax (m)	H/Hmax (-)	Vmj (m ³ /min)	Ti (°C)	CMEA (mL/min)	Vp/CMEA (-)
Solução de NaCl	9,3	0,28	0,44 0,66	0,57 0,72	130 130	31,0 39,0	0,3
Dispersão de microcápsulas	9,3	0,28	0,50	0,64	110	27,0	0,3

*Partículas inertes: Esferas de vidro, $d_p=2.6$ mm, $\rho=2.50\text{g/cm}^3$, $\rho_b=1.59\text{ g/cm}^3$, $\varepsilon_{mf}=0.387$, $V_{mf}=117,1\text{ cm}^3/\text{s}$

A Tabela 4, mostra a matriz do planejamento fatorial proposto, estando a codificação das variáveis empregadas descrita na Tabela 5.

O marcador químico escolhido para a execução da metodologia de estímulo-resposta foi o azul de metileno, diluído a partir de uma solução comercial a 1% (Cinética Química, Ltda), utilizando como diluente a própria solução de cloreto de sódio. Tal procedimento resultou, inicialmente, na obtenção de soluções com duas diferentes concentrações de marcador (1,0 e 5,0 mg/mL), injetadas no leito na forma de “pulso” (injeção rápida, realizada por tubulação independente daquela utilizada para a alimentação da pasta, e concomitantemente a esta) ou “mistura” (através da bomba peristáltica e na mesma vazão da pasta). Os volumes aplicados foram de 1,0 ou 3,0 mililitros. O intervalo de coleta empregado em todos os experimentos foi de 02 minutos, para um tempo total de 40 minutos (20 frascos).

Tabela 4 – Matriz do planejamento fatorial proposto no estudo da metodologia de estímulo-resposta (2^3)

Experimento	X1	X2	X3
1	+1	+1	+1
2	+1	+1	-1
3	+1	-1	+1
4	+1	-1	-1
5	-1	+1	+1
6	-1	+1	-1
7	-1	-1	+1
8	-1	-1	-1
9 *	+1	-1	+1
10 **	-1	+1	-1

* replicata do exp. 3 **replicata do exp. 6

Tabela 5 -Variáveis estudadas e seus níveis no planejamento fatorial 2^3

VARIÁVEIS	NÍVEIS	
	+1	-1
V_T	3,0	1,0
C_T	5,0	1,0
Modo de injeção	Pulso	Mixtura

A determinação da concentração do marcador no produto seco, em cada intervalo de tempo, foi realizada através de análise espectrofotométrica do material, depois de reconstituído em água destilada ($\lambda=657$ nm), sendo os resultados obtidos empregados para o cálculo do tempo médio de residência, T, usando os valores de C_1 e t_1 , e a Equação 4:

$$T = \frac{\sum C_i t_i \Delta t_i}{\sum C_i \Delta t_i} \quad (4)$$

A análise de variância dos valores de T obtidos foi realizada através do emprego do *software* Statistica® 5.5, versão 99.

Por sua vez, as distribuições de tempo de residência foram obtidas através da plotagem da concentração percentual de marcador, normalizada em termos da massa total recuperada, em função do tempo de coleta. A análise das mesmas foi realizada por comparação visual e através do cálculo e avaliação comparativa dos valores de distorção (Sk) e curtose (Ft), referentes a cada distribuição obtida. Os cálculos dos referidos momentos estatísticos foram realizados com o auxílio do *software* Origin® 5.0. A análise de variância dos valores de Sk e Ft obtidos foi realizada pelo emprego do *software* Statistica® 5.5, versão 99.

Em um segundo momento, foram preparadas soluções de azul de metileno em concentrações de 6,25, 7,50 e 10,00 mg/mL, as quais foram injetadas no leito em volumes de 5,5, 8,0 e 19,0 mL, respectivamente. Essa segunda etapa de experimentação teve como objetivo avaliar se a resposta analisada (tempo médio de residência) apresentaria uma tendência assintótica em função das variáveis significantes.

4.2.2.6 Determinação das distribuições de tempo de residência das microcápsulas durante a secagem em leito de jorro com inertes: Otimização do método de estímulo-resposta.

A Tabela 6 mostra a matriz do planejamento fatorial tipo $2^2 + 2$ empregado na etapa de otimização da metodologia de estímulo-resposta. O planejamento em questão foi empregado para a determinação da faixa ótima de injeção após alimentação da solução de cloreto de sódio em duas diferentes condições operacionais: $H/H_{\max} = 0,44$ e $H/H_{\max} = 0,66$. Adicionalmente, empregou-se o referido planejamento para a determinação da faixa

ótima, quando da alimentação de uma pasta orgânica (microcápsulas de caseína-pectina) (Tabela 3)

Tabela 6 - Matriz do planejamento experimental $2^2 + 2$ empregada nos estudos de otimização da metodologia de estímulo-resposta

EXPERIMENTO	X1	X2	C _T (mg/mL)	V _T (mL)
1	+1	-1	7,50	3,0
2	-1	-1	5,00	8,0
3	+1	+1	7,50	8,0
4	-1	+1	5,00	5,5
5	0	0	6,25	5,5
6*	0	0	6,25	5,5

* réplica do experimento 5

4.2.3 Avaliações morfológicas e de tamanho de partícula das microcápsulas

4.2.3.1 Avaliação da morfologia externa por microscopia óptica convencional

As microcápsulas de caseína-pectina inertes e carregadas, “in natura” e processadas por ambos os métodos de secagem, foram submetidas à análise microscópica em um equipamento da marca Leica DMLB, munido de câmara fotográfica Leica MPS 30, em aumento de 100 e 400 vezes.

4.2.3.2 Avaliação da morfologia externa por microscopia eletrônica de varredura

As microcápsulas reticuladas e não reticuladas secas por *spray drying* e por leito de jorro (inertes e carregadas) foram submetidas ao processo revestimento à vácuo por ouro em equipamento Bal Tec SCD-050, para então serem obtidas fotomicrografias eletrônicas em um microscópio Jeol JSM-5200. Os fármacos livres não processados e submetidos à secagem foram submetidos aos mesmos procedimentos.

4.2.3.3 Análise granulométrica

A análise granulométrica das microcápsulas foi realizada por microscopia óptica com luz incidente (Olympus, U-LBD-2, Japão), após a dispersão das mesmas sobre uma lâmina de vidro. O cálculo do diâmetro médio das partículas (área projetada) foi realizado através do emprego do programa Image J (National Institute of Health, versão 1.31v, 2004).

4.2.4 Estudos de recuperação dos fármacos

4.2.4.1 Recuperação dos fármacos modelo a partir das microcápsulas de caseína-pectina

4.2.4.1.1 *Obtenção das curvas analíticas para o método espectrofotométrico*

As curvas analíticas foram obtidas através da diluição apropriada da indometacina em metanol PA, e em uma mistura de metanol PA:tampão fosfato de sódio dibásico 0,1M, na proporção de 1:1. No caso do paracetamol as diluições foram preparadas a partir de uma mistura etanol PA:tampão fosfato de sódio dibásico 0,1 M (1:1).

Curvas analíticas de ambos os fármacos diluídos em solução de ácido clorídrico a 0,1 M e tampão fosfato de sódio tribásico:HCl 0,1M (pH 6,8 e 7,4) foram adicionalmente obtidas e empregadas nos estudos de dissolução das microcápsulas de caseína-pectina.

As absorbâncias das diluições obtidas foram determinadas em espectrofotômetro DU[®] 640, Beckman Instruments Inc., a 318 nm (indometacina) e 243 nm (paracetamol). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.4.1.2 *Recuperação da indometacina (Baracat, 2004)*

A quantidade de indometacina encapsulada nas microcápsulas reticuladas e não reticuladas, secas pelos métodos em questão, foi determinada através da execução do procedimento de extração proposto por Joseph e Venkataram (1995), posteriormente modificado por Baracat (2004). O fármaco contido em 40 miligramas de amostra foi exaustivamente extraído em metanol PA, sob condições ótimas de velocidade específica de transporte (4mL/15minutos por extração, para um total de cinco extrações). Os produtos da extração foram posteriormente analisados em espectrofotômetro contra o produto da extração de microcápsulas inertes submetidas ao mesmo procedimento. A somatória do material recuperado nas extrações individuais foi considerada como a indometacina total recuperada na amostra. As análises foram realizadas em triplicata.

A recuperação da indometacina foi adicionalmente realizada pelo emprego do mesmo procedimento descrito acima, substituindo-se o metanol por uma mistura entre esse solvente e uma solução tampão de fosfato de sódio dibásico 0,1M (pH 8,0) na proporção de 1:1.

4.2.4.1.3 *Recuperação do paracetamol*

A recuperação de paracetamol a partir das microcápsulas foi realizada somente pelo uso do sistema solvente constituído por etanol PA: tampão fosfato de sódio dibásico 0,1M (1:1). O procedimento empregado foi idêntico ao descrito no item 4.2.4.1.2.

4.2.4.2 Recuperação da indometacina a partir das micropartículas de caseína e pectina

Os procedimentos empregados para a recuperação da indometacina a partir das micropartículas foram idênticos aos descritos no item 4.2.4.1.2. No entanto, somente o sistema solvente composto pela mistura metanol:tampão fosfato foi empregado nessa etapa do trabalho.

4.2.4.2.1 *Recuperação da indometacina a partir das micropartículas de caseína através do uso de enzimas proteolíticas e agente tensoativo*

4.2.4.2.1.1 *Digestão das micropartículas de caseína*

O ensaio de digestão da caseína foi realizado segundo Lazo, Romaine e Reigh (1998 apud MUKAI-CORREA et al., 2005). Quantidades apropriadas das micropartículas de caseína carregadas com indometacina foram precisamente pesadas e dispersas em água destilada. Em seguida elevou-se o pH da dispersão a 8,0 pela adição de uma solução de hidróxido de sódio 0,1M, sempre sob agitação magnética e em béquer encamisado, com circulação de água a $37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Posteriormente, procedeu-se a adição de uma mistura de enzimas proteolíticas (Proteomix[®]) previamente dispersa em água a pH 8,0, na mesma proporção substrato

protéico: enzima descrita por Mukai-Correa et al. (2005), para a digestão de caseína por tripsina.

A reação foi mantida por 15 minutos, e após esse período o pH da dispersão foi novamente medido.

Uma alíquota de 02 mL da dispersão processada foi adicionada a igual volume de metanol PA, agitada em vórtex, centrifugada e diluída apropriadamente para a leitura espectrofotométrica. Os mesmos procedimentos foram aplicados a uma dispersão de caseína sem fármaco. Os ensaios de digestibilidade foram realizados em duplicata e as leituras espectrofotométricas em triplicata. É válido ressaltar, que o produto da simples dispersão aquosa das micropartículas em pH 8,0 foi aliqotado, misturado com metanol PA, diluído e quantificado, a fim de comparar a porcentagem de indometacina recuperada com àquela obtida empregando o mesmo procedimento incluindo o tratamento enzimático.

4.2.4.2.1.2 *Reação com lauril sulfato de sódio (SDS)*

Uma dispersão aquosa de micropartículas de caseína em pH 8,0 foi submetida à reação com SDS empregando a relação SDS: proteína de 1,4g:1,0g, conforme Silva Junior (2001). A mistura foi então aquecida à fervura por 10 minutos, resfriada e misturada com metanol PA na proporção de 1:1. Posteriormente, o material foi diluído apropriadamente e submetido à leitura espectrofotométrica a 318 nm, empregando o sistema metanol:tampão fosfato (1:1). Micropartículas de caseína sem indometacina foram processadas segundo o procedimento descrito acima, e utilizadas como branco na etapa de quantificação. O experimento foi realizado em triplicata.

4.2.5 Avaliação da ocorrência de segregação da indometacina na secagem das microcápsulas por leito de jorro

A avaliação da possibilidade de segregação da indometacina sobre a superfície das partículas inertes, durante a secagem de microcápsulas, foi realizada pela lavagem de amostras de 200 gramas de inertes com quantidade apropriada de uma solução de metanol:tampão fosfato de sódio dibásico 0,1 M pH 8,0 (1:1), até o esgotamento da droga no material, verificado através das dosagens espectrofotométricas das soluções de lavagem.

Posteriormente, foram realizadas lavagens dos inertes com água destilada, visando a completa remoção dos resíduos do tampão utilizado, seguida da secagem do material em estufa a 95 °C por duas horas.

Após o resfriamento das partículas inertes lavadas e secas, procedeu-se à sua pesagem, sendo a determinação da massa de microcápsulas realizada pela diferença entre a massa inicial e final da amostra.

A percentagem de indometacina encontrada nos inertes (relativa ao valor teórico total) foi comparada àquela encontrada no material proveniente do frasco coletor, obtido na mesma operação.

Amostras de microcápsulas secas foram, adicionalmente, recolhidas a partir da parede da câmara de secagem (na altura da fonte de partículas inertes) e a partir de um filtro posicionado na saída do secador, sendo posteriormente diluídas e quantificadas por espectrofotometria. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6 Caracterização físico-química das microcápsulas / micropartículas inertes e carregadas com indometacina após secagem por leito de jorro e *spray drying*

4.2.6.1 Avaliação da temperatura e entalpia de fusão da indometacina livre e incorporada em micropartículas de caseína por Calorimetria Exploratória Diferencial (CED)

A obtenção das curvas CED da indometacina, das micropartículas de caseína e da mistura física indometacina:caseína foi realizada através do emprego de um Calorímetro Exploratório Diferencial Shimadzu DSC-50. Amostras de aproximadamente 4,5 mg foram pesadas em cadinhos de alumínio, que posteriormente foram selados e submetidos à análise, empregando-se nitrogênio como atmosfera dinâmica a 50 mL/minuto. A razão de aquecimento empregada foi de 10 °C/minuto, iniciando-se a corrida em temperatura ambiente e submetendo o material ao aquecimento até a temperatura de 200 °C.

O grau de desordem do estado sólido das amostras de indometacina não processada e seca por leito de jorro e *spray drying* foi calculado com base no conceito de entropia de processamento (DUDDU; GRANT, 1995), empregando-se os dados de entalpia de fusão dessas amostras obtidos por CED e calculados através do uso do *software Thermal Analysis* (Shimadzu).

Os procedimentos de correção da linha base e calibração de temperatura e entalpia de fusão foram executados de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. A calibração da temperatura foi realizada pelo emprego dos padrões de referência Índio (156,78 °C) e Zinco (419,73 °C). Por sua vez, a calibração de entalpia foi realizada apenas pela utilização do primeiro. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6.2 Avaliação da cristalinidade das microcápsulas por difratometria de raios X de pó (DRXP)

Os padrões de difração de pó das amostras de indometacina, microcápsulas inertes e carregadas, e da misturas física fármaco-microcápsulas (1:2) foram obtidos através do

emprego de um Difratorômetro de Raios X Siemens D5005. A varredura das amostras foi realizada na faixa de $2-50^\circ 2\theta$ a $0,02^\circ/\text{segundo}$.

4.2.6.3 Avaliação da ocorrência de interações indometacina-caseína por espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de indometacina, de caseína, de micropartículas carregadas, e da mistura física indometacina:caseína (1:2), foram obtidos em um espectrômetro Perkin Elmer, modelo Spectrum RXIFP-IR. Quantidades apropriadas das amostras foram comprimidas com brometo de potássio até a obtenção de pastilhas translúcidas, as quais foram subsequentemente analisadas na faixa de 400cm^{-1} - 4000cm^{-1} .

4.2.7 Investigação da influência das variáveis operacionais do método de leito de jorro sobre a interação indometacina-caseína e sobre o tempo médio de residência das microcápsulas

A análise da influência das variáveis vazão de ar de secagem (V/V_{mj} 1,3 e 1,6) e temperatura de entrada do ar (65 e 110°C) sobre a ocorrência e intensidade da interação fármaco:proteína foi realizada através do emprego de um planejamento fatorial do tipo 2^2 com um ponto central. A resposta estudada foi a porcentagem de recuperação da indometacina frente ao teórico total esperado. Adicionalmente, verificou-se a influência das variáveis supracitadas sobre o tempo médio de residência do material no secador (T). A matriz do planejamento experimental empregado está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 - Matriz do planejamento experimental $2^2 + 1$ empregada na avaliação da influência das condições operacionais do secador tipo leito de jorro sobre o grau de interação indometacina-caseína e sobre os valores de T da dispersão de microcápsulas

EXPERIMENTO	X1	X2	Temperatura (°C)	Vazão de ar (V/Vmj)
1	-1	-1	65	1,3
2	-1	+1	65	1,6
3	+1	-1	110	1,3
4	+1	+1	110	1,6
5*	+1	-1	110	1,3

*replicata do experimento 3

4.2.8 Avaliação comparativa da funcionalidade das microcápsulas de caseína-pectina após a secagem por leito de jorro e *spray drying*

4.2.8.1 Estudos de liberação *in vitro*

Os testes de dissolução *in vitro* foram realizados em equipamento SOTAX modelo AT7. Amostras de microcápsulas inertes e carregadas com indometacina e paracetamol reticuladas e não reticuladas foram precisamente pesadas (100 e 300 mg, respectivamente), em cestas de polietileno recobertas com tecido sintético (nylon), preparadas nas mesmas dimensões das cestas oficiais preconizadas pela Farmacopéia Norte-Americana 23° ed. O aparato foi fixado à haste do equipamento após a temperatura do banho termostaticado atingir $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$, sendo então mantido sob agitação a 50 r.p.m.

Nas primeiras duas horas de experimento o meio de dissolução foi composto por uma solução de ácido clorídrico 0,1 M pH $1,2 \pm 0,05$. O volume total do meio nesse momento era de 375 mL, e alíquotas de 5 mL foram retiradas em intervalos de 30 minutos, sendo que após cada coleta um volume idêntico do meio de dissolução foi repostado à cuba.

Após a segunda hora, acrescentou-se 125 mL de uma solução de tampão fosfato de sódio tribásico 0,2M para um pH final de $6,8 \pm 0,05$. Alíquotas de 5 mL foram retiradas de 30 em 30 minutos nas duas primeiras horas, e de 60 em 60 minutos nas duas horas subseqüentes.

Após a sexta hora, acrescentou-se mais 15 mL do mesmo tampão para obter um meio com pH final de $7,4 \pm 0,05$. Paralelamente, adicionou-se a cada cuba 1 mL de uma mistura de enzimas pectinolíticas (Pectinex[®] Ultra SP-L, Novozymes S/A).

Alíquotas de 5 mL foram retiradas a cada 30 minutos nas duas horas subseqüentes a essa última adição, e em intervalos de 60 minutos nas últimas duas horas, totalizando um tempo total de ensaio de 600 minutos. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, respeitando-se as *sink conditions*, ou seja, mantendo-se o volume do meio em um nível pelo menos 10 vezes superior ao necessário para garantir a solubilização completa da massa de fármaco adicionada à cuba.

A obtenção do perfil de dissolução de ambos os fármacos foi realizada através da quantificação espectrofotométrica de cada uma das 16 alíquotas/cuba/amostra retiradas durante o ensaio, empregando as curvas analíticas preparadas conforme descrito no item 4.2.4.1.1. Os dados de concentração foram transformados em porcentagem liberada (normalizada frente ao total recuperado para cada sistema) e essas foram plotadas frente ao tempo de ensaio.

4.2.8.2 Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina *in vivo* pelo emprego do modelo de pleurisia induzida por carragenina

4.2.8.2.1 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss, machos, pesando entre 18 e 25 gramas e fornecidos pelo Biotério Central da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-MS, RJ), sendo

mantidos no biotério do Departamento de Farmacologia Aplicada (Far-Manguinhos) até o momento do uso.

Os animais foram mantidos em períodos de claro e escuro, alternados de 12 em 12 horas, em condição controlada de temperatura e livre acesso à água e ração. Três dias antes do início da experimentação, os animais foram tratados com vermífugo (Mebendazol, 20 mg/1000 mL de água por 3 dias). Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o Comitê de Ética de Experimentação Animal da Fundação Oswaldo Cruz, RJ.

4.2.8.2.2 *Tratamento com as Amostras*

Microcápsulas secas por leito de jorro e *spray drying*, vazias e carregadas com indometacina (formulações não reticuladas) foram dispersas em água potável (200µL) e administradas por via oral na dose de 10mg/Kg de fármaco (KIM ET AL, 2001), 01 ou 24 horas antes do estímulo com carragenina.

Como controle e fármaco padrão foi empregado a indometacina não encapsulada (grau farmacêutico), com mesma origem e mesmo lote utilizado no preparo das microcápsulas. A administração do fármaco não encapsulado foi realizada nas mesmas condições descritas anteriormente.

4.2.8.2.3 *Avaliação Antiinflamatória*

A pleurisia foi induzida pela técnica de Spector (1956) com modificações para camundongo realizadas por Henriques (1993). Uma agulha adaptada (13 x 5 gauge) foi inserida cuidadosamente por 1mm no lado direito da cavidade torácica do camundongo, permitindo a injeção de uma quantidade suficiente de carragenina (300 µg/cavidade) em um volume de 100µL.

Vinte e quatro horas antes da injeção intratorácica de carragenina (Sigma), foi injetada uma solução de azul de Evans (Sigma) na dose de 25 mg / Kg por via endovenosa, visando sua ligação à albumina plasmática, possibilitando assim, a quantificação colorimétrica do extravasamento protéico para a cavidade pleural.

Um grupo experimental (n=7) foi administrado com salina estéril *i.t.* (intratorácica), ao invés de carragenina, para fins de controle. A injeção de azul de Evans, também foi aplicada para esse grupo.

Após 4 horas (a partir da administração de salina ou carragenina), os animais foram sacrificados por asfixia em ambiente de dióxido de carbono, e suas cavidades lavadas com 1mL de PBS heparinizado (40UI/mL). O volume recolhido foi medido com auxílio de pipeta automática.

4.2.8.2.4 *Quantificação do extravasamento protéico*

O fluido recolhido da cavidade pleural de camundongos inoculados com carragenina e previamente injetados com azul de Evans, foi centrifugado à 2500 r.p.m. durante 10 minutos. Foram recolhidos 200µL do sobrenadante e colocados em um poço de uma placa de cultura de 96 poços, de maneira que cada um destes correspondesse ao lavado pleural de um camundongo. Em seguida a placa foi levada para leitura da absorbância das amostras a 600 nm em um leitor de microplacas (SOFTmax PRO 190; Molecular Devices).

4.2.8.2.5 *Contagem Total e Diferencial dos Leucócitos*

A contagem do número total de leucócitos na cavidade foi realizada em uma câmara de Neubauer, sob um microscópio óptico, após diluição de uma alíquota do lavado pleural em Líquido de Türk (2% de ácido acético) (1:100). A contagem diferencial de leucócitos foi

realizada através de citoesfregaços, preparados em citocentrífuga (Shandon), corados pelo método de May-Grunwald-Giemsa e avaliados em objetiva de imersão em óleo (aumento de 1000X). Nas lâminas foram contados e diferenciados 3 tipos celulares: neutrófilos, mononucleares e eosinófilos. Os resultados foram expressos como número de leucócitos ($\times 10^6$) por cavidade.

4.2.8.2.6 *Tratamento Estatístico*

Para os experimentos *in vivo* a significância estatística utilizada foi de $P < 0,05$. Os dados foram analisados por ANOVA seguidos pelo teste New-Mankeeu's Student e os resultados foram expressos como $\pm$ erro padrão da média (EPM).

Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARAÇÃO E AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA “IN NATURA” DE MICROCÁPSULAS DE CASEÍNA-PECTINA

No presente trabalho, observou-se que o emprego da metodologia proposta por Baracat (2004) resultou, como esperado, na formação de microcápsulas de caseína-pectina esféricas e com distribuição de tamanho aparentemente regular, conforme mostram as fotomicrografias apresentadas na Figura 8. A Figura 8a mostra as microcápsulas *in natura*, após 12 horas de agitação em pH 8,0. Nota-se claramente a diferença no tamanho das partículas deste material quando comparado àquele apresentado na Figura 8B, que mostra a morfologia do mesmo sistema após redução no pH da dispersão para 3,5. Baracat (2004), discutiu que essa diferença é ocasionada pela maior interação de cargas entre a proteína e o carboidrato quando o pH do meio está em uma faixa intermediária entre o pI do carboidrato ($pI_{car} \sim 3,0$) e o pI da proteína ($pI_{prot} \sim 4,55$). Nessa situação, verifica-se visualmente uma diminuição de tamanho e espessamento da parede das microcápsulas, como mostra a Figura 8.

O sistema polimérico em questão apresenta característica dinâmica em pH alcalino, com formação e desestruturação constante das partículas, constatável por microscopia ótica. Esse comportamento torna propícia a incorporação do fármaco à dispersão nesse momento, pois o mesmo fenômeno não é observado após a redução no pH da dispersão.

Por outro lado, a incorporação de fármacos com diferentes coeficientes de solubilidade aquosa ao sistema, ocasiona mudanças morfológicas perceptíveis sobre o mesmo. As Figuras 9A e 9B mostram as diferenças morfológicas entre as microcápsulas carregadas com paracetamol e indometacina, respectivamente.

Figura 8. Fotomicrografias óticas das microcápsulas de caseína-pectina “in natura” (aumento de 400x). 8(A) Material disperso em pH 8,0. 8(B) Material disperso em pH 3,5

Observou-se claramente, pela análise da Figura 9, o aumento relativo na irregularidade da forma das microcápsulas carregadas com indometacina, que é provavelmente resultado do menor grau de solubilidade aquosa do fármaco, que resultou na presença de uma fração cristalina mais abundante e com tamanho mais pronunciado. A sugestão da relação entre os coeficientes de solubilidade aquosa e a alteração na forma das microcápsulas foi realizada com base nos valores do diâmetro médio dos cristais de ambos os fármacos livres, que serão discutidos na seção 5.3.2. A análise granulométrica mostra que as partículas de paracetamol possuem diâmetro maior em relação às de indometacina, entretanto, supõe-se que durante o processo de coacervação complexa as primeiras sofram alterações dimensionais e de forma mais intensas devido a sua maior solubilidade aquosa.

A análise da Figura 9 não possibilita, obviamente, qualquer conclusão quantitativa sobre o nível de sucesso do procedimento de encapsulação dos fármacos, contudo, uma análise mais minuciosa das fotomicrografias em questão, em particular da Figura 9C, sugere que os cristais de indometacina se encontram em grande parte envolvidos pela parede polimérica, e que a forma das microcápsulas se altera em função da forma dos cristais.

Infelizmente, não existe até o presente momento, um procedimento que permita a avaliação quantitativa do fármaco encapsulado em sistemas com as características apresentadas pelo conjugado caseína-pectina. Portanto, algumas das considerações nesse sentido são de natureza qualitativa e provém de técnicas microscópicas. Outras considerações complementares foram retiradas indiretamente de ensaios quantitativos, como àqueles referentes aos estudos de dissolução dos fármacos.

Figura 9. Fotomicrografias ópticas de microcápsulas de caseína-pectina carregadas (pH 3,5). (A) Paracetamol 400 X; (B) indometacina 400X; (C) indometacina 1000X.

5.2 ESTUDOS DE SECAGEM

Os resultados apresentados nessa seção se referem à avaliação comparativa do desempenho energético e da capacidade evaporativa dos secadores tipo leito de jorro e *spray dryer*. Essas características são, como discutido anteriormente, de grande importância na escolha da técnica de secagem em qualquer segmento industrial, e sua avaliação fornece subsídios para uma comparação mais completa entre o potencial das técnicas de secagem avaliadas no presente trabalho.

Adicionalmente, serão discutidos os dados obtidos na avaliação e otimização da metodologia de estímulo-resposta, empregada na determinação do tempo de residência de pastas em leito de jorro convencional. O estímulo a realização desse estudo se encontrou na grande relevância desse parâmetro de secagem para a determinação da qualidade dos produtos submetidos a esse tipo de operação unitária.

5.2.1 Capacidade máxima de evaporação de pasta (CMEP) e de água (CMEA)

A literatura da área de Engenharia Química mostra diversos trabalhos referentes a comparação do desempenho apresentado por diferentes tipos de secadores de pastas, tanto em escala laboratorial quanto em escala piloto, englobando a comparação da capacidade máxima de evaporação dos mesmos (MARKOWSKI, 1993; OSÓRIO-REVILLA; ELIAS-SERRANO; GALLARDO-VELÁZQUEZ, 2004; HADZISMAJLOVIC et al., 1989; REYES; DIAZ; BLASCO, 1998).

No presente trabalho, optou-se por comparar a qualidade dos produtos secos obtidos por *spray drying* e por leito de jorro, através do estabelecimento de condições operacionais que resultassem em um mesmo nível de capacidade máxima de evaporação de pasta (CMEP), em equipamentos com volume da câmara de secagem aproximadamente igual, mantendo-se,

adicionalmente, a temperatura de saída do ar em um mesmo patamar para uma determinada vazão de líquido.

No entanto, a elevada aderência da pasta à câmara de secagem do *spray dryer*, impossibilitou a determinação visual da CMEP pelo emprego do critério de acúmulo de material líquido no interior da câmara de secagem.

Da mesma forma, a saturação do ar exaurido pelos sistemas também não pôde ser empregada como parâmetro de avaliação da CMEP ou mesmo da CMEA, em quaisquer das operações de secagem, pois o teor de umidade do ar se apresentou reduzido nas condições de capacidade máxima, sempre na faixa de 50 a 65 %, quando esta foi definida pelos critérios de instabilidade do regime de jorro ou acúmulo de líquido no *spray dryer*. Esse comportamento é esperado, visto que, como relatado por Masters (1985), somente em raríssimos casos, nos quais produtos secos com alto teor de umidade são obtidos, pode-se observar a quase saturação do ar exaurido pelo sistema. A ausência da saturação do ar verificada no presente trabalho, também demonstra que em ambos os secadores, jorro e *spray*, a operação ocorre com excesso de ar, o que é normal nas operações de secagem.

Em virtude das dificuldades metodológicas acima discutidas, optou-se por realizar o acerto das condições operacionais dos equipamentos em função da temperatura de saída atingida e do valor de capacidade máxima de evaporação de água (CMEA), que pode ser avaliado por critérios visuais em ambos os equipamentos.

Dessa forma, vários conjuntos de condições operacionais foram testados visando a comparação entre os métodos de secagem segundo os critérios escolhidos. A Tabela 8 mostra um desses conjuntos de condições estabelecidos preliminarmente. Os valores de CMEA para as referidas condições se mostraram muito próximos para ambos os equipamentos (Figura 10a), sendo ligeiramente superiores na operação de secagem por *spray drying*. No entanto, deve-se levar em consideração as expressivas diferenças em relação ao volume de ar aplicado

a ambos os sistemas, sendo aproximadamente três vezes superior no caso da secagem por *spray drying*.

Por outro lado, quando o parâmetro de comparação é a capacidade máxima de evaporação volumétrica de água (VCMEA) (parâmetro que leva em consideração o volume dos secadores), a vantagem do leito de jorro tornou-se evidente, sendo o valor encontrado 3,36 vezes maior em relação ao calculado para o *spray dryer* (Figura 10a).

Em concordância com a tendência verificada no presente trabalho, Markowski (1993), mostrou que a capacidade evaporativa volumétrica de um secador tipo leito de jorro em regime diluído, é de 15 a 18 vezes superior à apresentada na secagem de uma suspensão de bacitracina por *spray drying*, empregando temperaturas de entrada e saída similares para ambos os processos.

É válido ressaltar que, o parâmetro escolhido por Markowski (1993) para a comparação entre os dois métodos de secagem foi a CMEP e não a CMEA, como empregado no presente trabalho. Além disso, o regime de leito de jorro avaliado pelo referido pesquisador foi diferente em relação ao por nós empregado. Todos esses pontos podem justificar as diferenças na magnitude da relação $VCME_{\text{jorro}}/VCME_{\text{spray}}$ observadas entre os dois trabalhos.

Tabela 8 - Condições operacionais empregadas na avaliação inicial da CMEA em secadores tipo leito de jorro e *spray dryer*.

PARÂMETRO	<i>Spray dryer</i>	Leito de jorro
Temperatura de entrada, °C	130	130
Vazão volumétrica do ar de secagem, m ³ /h*	25,14	7,12
Material inerte	-----	Esfera de vidro de 1,55mm
H/Hmáx	-----	0,4
V/Vmj	-----	1,2

*¹ A vazão calculada para o *spray dryer* é a somatória da vazão fornecida pelo soprador com aquela fornecida pelo sistema de atomização (60 pés cúbicos/h)

Figura 10. Valores de CMEA e VCMEA para equipamentos de leito de jorro e *spray dryer* nas condições da Tabela 8 (preliminares) (A) e da Tabela 2 (definitivas) (B).

De forma similar ao observado no presente trabalho e no trabalho de Markowski (1993), Osório-Revilla, Elias-Serrano e Gallardo-Velázquez. (2004), mostraram que as capacidades evaporativas volumétricas apresentadas por um leito de jorro convencional e por uma variante deste, o leito de jorro-fluidizado com tubo interno, são da ordem de 56 e 59 vezes superior, respectivamente, em relação ao secador do tipo *spray dryer*. Os dados foram obtidos durante a secagem de uma dispersão de maltodextrina sob temperaturas de entrada e saída idênticas em todos os equipamentos. Os autores relatam adicionalmente, diferenças ainda maiores quando o líquido alimentado aos diferentes secadores foi a água, sendo a razão entre as capacidades volumétricas jorro/spray de 106,5 para a configuração de leito convencional. No entanto, a capacidade máxima de evaporação não-volumétrica apresentada pelo *spray dryer* foi sempre superior às observadas nos regimes de jorro estudados, em qualquer condição utilizada, devido é claro, ao volume muito superior apresentado por este secador.

Uma vez mais, as diferenças entre a magnitude da relação $VCME_{\text{jorro}}/VCME_{\text{spray}}$ apresentada nos diferentes trabalhos, pode ser justificada pelo relatado acima quando da comparação entre o presente trabalho frente àquele realizado por Markowski (1993), juntamente com as prováveis diferenças entre os volumes dos secadores empregados.

Aparte das diferenças numéricas, os resultados apresentados no presente trabalho mostraram uma tendência similar à observada na literatura (MARKOWSKI, 1993; OSÓRIO-REVILLA; ELIAS-SERRANO; GALLARDO-VELÁZQUEZ, 2004), na qual o secador do tipo leito de jorro apresenta uma capacidade máxima de evaporação volumétrica superior ao secador do tipo *spray dryer*, mesmo sob condições de menor vazão de ar de secagem.

Uma vez que as condições de operação de ambos os secadores foram acertadas para permitir a comparação entre eles com base nos critérios de igualdade na CMEA e manutenção da temperatura de saída do ar (condições descritas na Tabela 8 e na Figura 10A), partiu-se para a secagem das dispersões de microcápsulas por ambos os métodos. Entretanto, a ocorrência de problemas de estabilidade no regime de jorro após a alimentação da pasta, acabaram por inviabilizar o emprego das referidas condições, mesmo para vazões de pasta muito reduzidas.

Schneider e Bridgwater (1993), discutiram que nos processos de secagem de pastas em leito de jorro, há a formação de um filme semi-sólido sobre as partículas inertes, o qual exerce forças coesivas ou viscosas sobre o leito de partículas inertes, que em determinadas vazões de alimentação da pasta, se sobrepõem às forças inerciais das partículas, instabilizando o regime. A explicação fornecida pelos autores supracitados pode ser utilizada para justificar o fato, observado no presente trabalho, de que o secador do tipo leito de jorro, apesar de apresentar valores de VCMEA superiores aos verificados para o *spray dryer*, não apresentou desempenho adequado para a secagem das dispersões de microcápsulas, quando as condições da Tabela 8 foram empregadas.

Portanto, foram testadas, posteriormente, novas condições operacionais de jorro que permitissem a obtenção de um regime de fluidodinâmico mais estável, capaz de processar satisfatoriamente a dispersão de microcápsulas de caseína-pectina, respeitando a manutenção dos valores de CMEA e de temperatura de saída do ar em um mesmo patamar para ambos os métodos. O resultado final desse trabalho está apresentado na Tabela 2 (seção Materiais e Métodos).

É importante notar que, o diâmetro das partículas inertes empregadas na condição inicial (Tabela 8) é menor em relação àquele empregado no processamento realizado sob as condições da Tabela 2. Essa alteração se fundamentou na discussão realizada por Passos et al. (1997), os quais afirmaram que a utilização de partículas de maior diâmetro confere uma maior estabilidade ao regime fluidodinâmico, devido ao menor número de pontos de contato entre as partículas, e conseqüentemente ao menor estabelecimento de forças coesivas no leito.

Além das alterações nas condições operacionais e no diâmetro das partículas inertes, a dispersão de microcápsulas precisou ser diluída para viabilizar sua secagem em leito de jorro, sob condições que ainda permitissem a comparação com o secador do tipo *spray dryer*.

Para qualquer das condições empregadas na secagem por leito de jorro, inclusive para àquelas descritas na Tabela 2, não foi possível obter, em condição correspondente de temperatura de entrada do ar, valores de CMEA similares no secador tipo *spray dryer*. Dessa forma, novos acertos nas condições operacionais do *spray dryer* também foram realizados, e o resultado dessa abordagem também se encontra descrito na Tabela 2.

A análise dos valores de VCMEA nas condições definitivas escolhidas para a secagem das dispersões de caseína-pectina por ambos os métodos em questão, mostra uma diferença ainda maior, e favorável ao leito de jorro, em relação às condições inicialmente estudadas (Figura 10B). A razão $VCMEA_{\text{Jorro/Spray}}$, para as condições da Tabela 2, chega a

3,69, apesar da temperatura de entrada do ar no *spray* ser o dobro da apresentada pelo secador tipo leito de jorro.

No entanto, e como anteriormente discutido, quando a comparação é realizada em termos dos valores de CMEP, a desvantagem dos equipamentos tipo leito de jorro é evidente, devido a problemas severos de instabilidade do regime fluidodinâmico. Na literatura consultada (OSÓRIO-REVILLA; ELIAS-SERRANO; GALLARDO-VELÁZQUEZ, 2004), nota-se que a relação $VCMEP_{\text{jorro}} / VCMEP_{\text{spray}}$ é consideravelmente elevada, e não encontra paralelo com o observado no presente trabalho. A razão para tal se encontra provavelmente nas características reológicas e de adesividade da pasta de caseína-pectina e seu impacto na fluidodinâmica do regime de jorro.

De acordo com o exposto acima, é necessária a otimização das condições operacionais na secagem por leito de jorro convencional, a fim de reduzir o distúrbio fluidodinâmico e o acúmulo de material no leito, conseqüentemente melhorando o nível de produtividade do equipamento. Dessa forma, o grande potencial de evaporação volumétrica desse tipo de equipamento poderá ser aproveitado em sua plenitude nas operações de secagem de materiais compostos por caseína e pectina.

5.2.2 Avaliação da eficiência térmica dos processos

O cálculo da eficiência térmica dos processos, realizado de acordo com a equação 3 (seção Materiais e Métodos), mostrou que o secador tipo leito de jorro apresenta mais que o dobro de aproveitamento de energia em relação ao *spray dryer* (Tabela 2), nas condições operacionais determinadas para a secagem da dispersão de caseína-pectina, as quais também constam da Tabela 2. O secador tipo *spray dryer* apresenta, nessas condições, uma diferença entre as temperaturas de entrada e saída do ar de secagem, superior à apresentada na secagem

por leito de jorro. Além disso, a vazão de pasta alimentada ao *spray* também é muito superior a observada na secagem por leito de jorro. Esses fatores supostamente favoreceriam um maior aproveitamento energético na operação de secagem por *spray*, o que, no entanto, não se verdadeiro.

Masters (1985), relatou que reduzidos níveis de eficiência térmica são normalmente encontrados nas operações de secagem por *spray drying*, o que constitui uma das grandes desvantagens na aplicação industrial desse tipo de secador. As razões para tal se encontram na necessidade de aplicar ao sistema um grande excesso de ar, e adicionalmente, mantê-lo em uma temperatura tal que impeça a condensação de líquido na saída do equipamento. Esses fatores combinados geram um grande desperdício energético nesse tipo de operação.

É importante ressaltar, que os teores de umidade residual das microcápsulas obtidas por ambos os processos são equivalentes para uma dada formulação (~ 9% para as microcápsulas inertes), ou seja, a quantidade de água evaporada é praticamente idêntica em ambas as operações, e esse parâmetro, que reconhecidamente influi sobre os valores de eficiência térmica calculados, deve ser desconsiderado nesse caso.

Osório-Revilla, Elias-Serrano e Gallardo-Velázquez (2004) relataram um teor de umidade residual inferior nos materiais secos por leito de jorro em relação aos secos por *spray drying*. Os autores discutiram que a diferença constatada se deve ao maior tempo de residência dos materiais na câmara de secagem, típico dos secadores tipo leito de jorro. No entanto, tal tendência não foi verificada no presente trabalho.

Segundo Masters (1985), nos processos de escalonamento das operações de secagem, as condições operacionais dos secadores e algumas características das pastas devem ser alteradas, no intuito de melhorar a eficiência térmica das operações. O *spray drying* é considerado como sendo um método de evaporação dispendioso, e para atingir uma redução em seus custos operacionais pela elevação de sua eficiência térmica, é necessário, entre outras

medidas, processar pastas que apresentem um teor de sólidos o mais alto quanto for possível, levando-se em consideração o limite de bombeamento das mesmas. No entanto, para alguns hidrocolóides, como o conjugado caseína-pectina, a elevação no teor de sólidos é acompanhada por acréscimos elevados na viscosidade da dispersão resultante, que inviabilizam o bombeamento do material em concentrações de sólidos muito abaixo da mínima esperada para um processamento aceitável em *spray dryer*. Esse comportamento dificulta o acerto de condições que permitam uma secagem mais eficiente desse tipo de produto, do ponto de vista do aproveitamento energético da operação.

No caso do leito de jorro, como discutido anteriormente, os problemas relacionados às características da pasta também se mostram muito intensos em termos do desempenho da operação como um todo. Porém, os dados obtidos nesse trabalho sugeriram, que uma operação de secagem com elevada eficiência energética pode ser viabilizada pelo uso de secadores tipo leito de jorro, com possível aproveitamento industrial, se, e somente se, um processo de escalonamento adequado com base em condições operacionais ótimas for implementado. É válido lembrar, que apesar da problemática relacionada ao escalonamento de equipamentos de leito de jorro, as escalas de produção farmacêutica são reduzidas, o que torna mais factível o acima discutido.

No entanto, a característica mais importante para a escolha de determinada operação de secagem na área farmacêutica é, sem dúvida, a manutenção da qualidade do produto seco obtido.

Quando da comparação entre dois diferentes métodos de secagem, em condições similares de temperatura de saída do ar, uma das características da operação com potencial para alterar a qualidade do produto final é o tempo no qual o produto permanece exposto ao calor no interior da câmara. Portanto, visando relacionar a qualidade do produto final com as propriedades das operações de secagem aqui estudadas, optou-se não só por determinar o

tempo de exposição da pasta ao calor, no método de leite de jorro, mas estudar e padronizar a metodologia para sua avaliação. Esse estudo é apresentado na seção abaixo. Nas seções seguintes o foco estará na avaliação comparativa da qualidade dos produtos secos obtidos por *spray drying* e por leite de jorro.

5.2.3 Determinação das DTR's das microcápsulas durante a secagem em leite de jorro com inertes: Avaliação da metodologia de estímulo-resposta

A avaliação da influência de diferentes níveis de volume, concentração e do modo de aplicação da solução do marcador sobre a forma das DTR's e sobre os valores de T obtidos na utilização da metodologia de estímulo-resposta, foi realizada visando estabelecer condições que permitissem a obtenção de valores de T verossímeis durante a secagem da dispersão de caseína-pectina. No entanto, dada a dificuldade de obtenção de grandes quantidades da dispersão de microcápsulas necessárias para a realização desse estudo, optou-se por utilizar uma pasta modelo. O modelo escolhido foi uma solução de cloreto de sódio a 10 % (p/v), como utilizado por Berni e Freitas (2005), o qual foi estudado através do emprego da matriz de planejamento fatorial apresentada na Tabela 4, seção Materiais e Métodos. Os valores de T e os parâmetros estatísticos relacionados à forma das DTR's (distorção e curtose, Sk e Ft, respectivamente) se encontram descritos na Tabela 9.

Observa-se, pela análise dos dados da Tabela 9, que o tempo médio de residência apresentou valores na faixa de 11,48 a 15,75 minutos, próximos aos encontrados por Peixoto, Monteiro e Freitas (2004) na secagem de uma preparação vegetal por leite de jorro convencional (10,32 a 16,81 minutos).

Tabela 9 - Resumo dos dados de T, S_k and F_t. (planejamento experimental tipo 2³)

EXPERIMENTO	C _T (mg/mL)	V _T (mL)	Modo de injeção	T (minutos)	S _k (-)	F _t (-)
1	05	03	Pulso	11,48	1,72	2,40
2	05	03	Mistura	13,05	1,44	1,40
3	05	01	Pulso	13,75	2,37	6,72
4	05	01	Mistura	12,13	2,59	7,33
5	01	03	Pulso	12,04	2,89	9,06
6	01	03	Mistura	12,58	2,79	8,81
7	01	01	Pulso	15,75	2,62	7,62
8	01	01	Mistura	13,30	3,45	13,00
9*	05	01	Pulso	13,61	2,41	6,50
10**	01	03	Mistura	13,27	3,00	10,24

* replicata do exp. 3 **replicata do exp. 6

O tratamento estatístico dos dados da Tabela 9, por ANOVA, mostrou que as variáveis volume e concentração são significativas em um nível de 1 e 5%, respectivamente, quando a resposta analisada são os valores de T.

Por sua vez, a análise estatística dos valores de distorção e curtose mostra que as variáveis volume e concentração de marcador possuem significância em níveis de 1%, para os valores de distorção, e 1 e 5%, respectivamente, para os valores de curtose. Dessa forma, verificou-se que as variáveis em questão afetam não somente o tempo médio de residência do material, mas também alteram significativamente a forma das distribuições obtidas.

Por outro lado, não foi verificado qualquer nível de significância estatística para quaisquer das respostas estudadas, quando a variável testada foi o modo de aplicação do corante ao leito.

A Figura 11 mostra graficamente a clara tendência de aumento dos valores de T, com a redução na concentração e volume de corante aplicado ao sistema. O significado das alterações nos valores de T, de apelo prático, é óbvio. Por outro lado, o significado do aumento ou da redução nos valores de distorção e curtose merece uma breve discussão.

Uma distribuição normal (perfeitamente simétrica), apresenta valores de distorção e curtose iguais a 0, e desvios a partir desse valor (tanto positivos quanto negativos) denotam diminuição da simetria das distribuições correspondentes.

Distribuições com valores de curtose positivos são denominadas leptocúrticas, e são caracterizadas pela observação de um pico de concentração mais acentuado em relação à distribuição normal. Ao contrário, distribuições negativas são ditas platicúrticas, e apresentam um pico mais “suave” em relação à distribuição normal.

Já os valores de distorção denotam o grau de assimetria de uma distribuição em termos do deslocamento de sua média à esquerda ou à direita. No caso da distribuição normal, o centro de gravidade coincide com o valor de sua média. Valores de distorção positivos denotam um deslocamento do centro de gravidade para a direita, ao passo que, valores negativos refletem o deslocamento para a esquerda.

Figura 11. Gráfico de superfície de resposta do tempo médio de residência em função do volume e concentração da solução de corante aplicada durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional

No presente trabalho, observou-se, assim como para os valores de T, uma tendência de aumento nos valores de distorção e curtose das distribuições em função da diminuição no volume e concentração de corante aplicado ao secador. Essa tendência pode ser visualizada nas Figuras 12 (distorção) e 13 (curtose) e denota a diminuição da simetria das distribuições quando da aplicação de reduzidos níveis das variáveis supracitadas.

Exemplos de distribuições sobre as quais foram calculadas todas as respostas estudadas aqui, são mostrados nas Figuras 14 e 15. Na Figura 14, referente ao experimento com a aplicação de menor massa total de corante (experimento 8, Tabela 4), observa-se uma redução na uniformidade do decaimento da concentração de corante em função do tempo, quando comparada ao observado na distribuição da Figura 15 (que corresponde à condição de injeção com maior massa total de corante aplicada, experimento 1, Tabela 4).

Figura 12. Gráfico de superfície de resposta dos valores de distorção em função do volume e concentração da solução de corante aplicada durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional.

Figura 13. Gráfico de superfície de resposta dos valores de curtose em função do volume e concentração da solução de corante aplicada, durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional

Figura 14. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (experimento 8, Tabela 4)

Figura 15. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (experimento 1, Tabela 4)

Sugere-se como causa para a reduzida uniformidade apresentada pela distribuição da Figura 14, a dificuldade de homogeneização do corante no leito de partículas inertes, ocasionada pela pequena quantidade do mesmo aplicada nessa condição.

A relação entre a reduzida homogeneização do marcador, o aumento nos valores de T , e a diminuição na uniformidade das distribuições, quando da aplicação de pequenas quantidades de corante, pode ser explicada pela sugestão da existência de uma espessura mínima de filme seco, necessária para que ocorra a remoção do mesmo a partir da superfície dos inertes. O raciocínio para explicar tal relação está desenvolvido nos parágrafos abaixo.

Nas condições em que o corante é aplicado ao leito de partículas em pequeno volume e reduzida concentração, apenas uma pequena proporção dos inertes recebe uma grande quantidade da solução de marcador. Dessa forma, para essa pequena fração de partículas a espessura da camada de corante é supostamente bastante elevada.

Dessa forma, o material pulverulento removido a partir dessas partículas apresentará um elevado percentual relativo de corante, de acordo com a hipótese da existência de uma espessura mínima para a remoção do filme. A observação do pico de concentração nos primeiros 2 minutos do ensaio é resultado direto da sugestão acima. Esse comportamento é

provavelmente comum às distribuições obtidas em qualquer condição de injeção, porém é mais acentuado quanto menor for a massa de corante aplicada, lembrando que os valores percentuais são normalizados frente a quantidade total recuperada. Exceções a esse comportamento são aquelas condições onde a injeção ocasiona uma perturbação significativa na fluidodinâmica do regime.

No entanto, a partir do segundo ponto da distribuição apresentada na Figura 14, a saída do corante torna-se menor em relação ao observado na Figura 15, a qual corresponde à condição de maior injeção de corante. Essa diferença é supostamente resultado do menor espalhamento da pasta sobre o leito de inertes (reduzida homogeneização), que proporciona a formação de camadas mais finas de corante seco para a grande maioria das partículas, com conseqüente formação de um pó com reduzida percentagem relativa de marcador, quando comparado àquele obtido nos experimentos de maior injeção de massa.

A conseqüência direta do acima sugerido é o aumento irreal nos valores de T calculados a partir de distribuições obtidas com reduzidos níveis de injeção de corante ao leito de partículas.

Similarmente ao observado para os valores de T , a baixa homogeneização do corante na distribuição da Figura 14 altera os valores de S_k e F_t . Dessa forma, observa-se a presença de um pico de concentração mais agudo (distribuição mais leptocúrtica), além de um deslocamento do centro de gravidade da distribuição para à direita, o que denota uma saída mais lenta do marcador.

Por outro lado, e diferentemente ao esperado com base na discussão acima, a injeção de um elevado volume da solução de corante, preparada em alta concentração (19,0 mL e 10 mg/mL, ponto extra ao planejamento fatorial da Tabela 4), resultou em um aumento nos valores de T obtidos. Nesse caso, observa-se uma recuperação de corante muito reduzida nos

primeiros dois minutos, como pode ser verificado na Figura 16, e o pico máximo de concentração somente pode ser observado após o quarto minuto de ensaio.

A explicação para tal comportamento está, provavelmente, no elevado impacto fluidodinâmico imprimido ao leito após a injeção do corante, juntamente com a redução drástica na temperatura no interior da câmara de secagem. A perda da condição de equilíbrio resulta em uma distribuição anômala e em um aumento irreal no valor de T calculado a partir desta.

Figura 16. Distribuição de tempo de residência do azul de metileno durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional (19 mL e 10,0 mg/mL; $H/H_{max} = 0,44$)

5.2.4 Determinação das DTR's das microcápsulas durante a secagem em leito de jorro com inertes: Determinação da faixa ótima de injeção na metodologia de estímulo-resposta

A partir da confirmação da influência das variáveis volume e concentração de marcador sobre os valores de T, Sk e Ft, optou-se por determinar a faixa ótima de injeção de corante durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro.

Para tanto, duas novas condições foram testadas empregando volumes e concentrações de corante, próximos, mas superiores a condição de maior massa do

planejamento fatorial apresentado na Tabela 4. O modo de aplicação escolhido foi o pulso, devido a sua maior praticidade.

Os dois experimentos (6,25 mg/mL e 5,5 mL; 7,5 mg/mL e 8,0 mL) apresentaram valores de tempo médio de residência de 11,08 e 11,48 minutos, respectivamente. A Figura 17 mostra os valores de T em função de algumas combinações volume-concentração da solução de corante, e sua análise permite observar uma faixa estável próxima aos pontos extras apresentados neste parágrafo. A partir dessa zona de estabilidade dos valores de T foi desenhado um novo planejamento fatorial, do tipo 2^2+2 , empregado para avaliação da faixa ótima de injeção. Os valores de T, de distorção e de curtose obtidos a partir dessa nova abordagem, estão apresentados na Tabela 10.

Figura 17. Tempo médio de residência em função do volume e concentração de corante aplicado ao leito durante a secagem da solução de cloreto de sódio ($H/H_{\text{máx}} = 0,44$)

A análise estatística dos dados de T obtidos, não apresentou nenhuma significância para as variáveis estudadas, mostrando que as condições da Tabela 10 podem ser consideradas como ótimas para a avaliação do tempo médio de residência na secagem de pastas inorgânicas por leito de jorro.

Tabela 10 - Valores de T , S_k e F_t obtidos nos estudos de otimização da metodologia de estímulo resposta

C_T (mg/mL)	V_t (mL)	T (min.)	F_t (-)	S_k (-)
7.50	3.0	12.39	1.16	0.13
5.00	3.0	11.48	1.72	2.40
7.50	8.0	11.81	0.92	-0.49
5.00	8.0	11.52	1.17	0.02
6.25	5.5	11.40	1.25	0.42
6.25	5.5	11.08	1.18	0.25

Por outro lado, a análise estatística dos valores de S_k e F_t , mostrou que os mesmos são alterados significativamente pelos diferentes níveis de volume e concentração de corante, incluídos no planejamento da Tabela 10. A razão para tal está no maior impacto fluidodinâmico apresentado nessas condições quando comparadas àquelas pertencentes à Tabela 4. A Figura 18 mostra uma distribuição típica obtida a partir das condições de injeção apresentadas na Tabela 10.

Figura 18. Distribuição de tempo de residência típica para as condições de injeção da Tabela 10 (cloreto de sódio)

Nota-se claramente na Figura 18, que o pico máximo de saída do corante aparece entre 2 e 4 minutos, diferentemente ao observado na Figura 15, que mostra a distribuição

correspondente a maior injeção de massa do planejamento da Tabela 4. É exatamente essa condição, aplicada em ambos os planejamentos, que dá significado estatístico na análise dos valores de Sk e Ft no estudo de otimização, visto que, diferente das demais, a massa de corante aplicada não causa nenhum distúrbio ao leito.

No entanto, por entender que nas condições da Tabela 10, a resposta de importância prática (valores de T) não foi afetada, considerou-se que o grupo de condições em questão foi ótimo para a análise do tempo de residência. O acompanhamento do processo com base na forma das DTR's, possui importância, por fornecer informações sobre o comportamento fluidodinâmico do regime de jorro, o que possibilitou um melhor entendimento dos processos parciais envolvidos na secagem de pastas por esse método.

5.2.4.1 Avaliação das condições ótimas de injeção frente a mudanças nas condições operacionais do leito

Berni e Freitas (2005) estudaram a influência das variáveis altura do leito estático de inertes (H/H_{max}), vazão de ar (V_a) e vazão de pasta alimentada ao sistema (V_p), sobre os valores de T obtidos durante a secagem de uma solução de cloreto de sódio em leito de jorro convencional. Os autores observaram tempos de residência na faixa de 10,81 a 13,93 minutos, e demonstraram que a variável H/H_{max} possuía a mais elevada influência sobre os valores de T obtidos ($p < 0,05$), dentro das condições estudadas. A vazão do ar de secagem também mostrou certa influência ($p < 0,10$) e a vazão de pasta aplicada ao leito apresentou o menor nível de significância entre as variáveis estudadas ($p < 0,15$).

Dessa forma, optou-se por avaliar a validade das condições de injeção de corante apresentadas na Tabela 10, quando da mudança da relação H/H_{max} de 0,44 para 0,66 (para a secagem da mesma solução de cloreto de sódio). Adicionalmente, optou-se por avaliar as

referidas condições de injeção na secagem de uma pasta modelo de natureza orgânica: a dispersão de microcápsulas de caseína-pectina contendo indometacina. A dispersão empregada para essa etapa do estudo foi preparada conforme os procedimentos descritos na seção 4.2.1.2. e processada sob as condições operacionais descritas na Tabela 3.

A Tabela 11 mostra os valores de T , S_k e F_t obtidos a partir dessa nova abordagem. Nenhuma das respostas apresentou significância estatística tanto na secagem da pasta inorgânica quanto no processamento do material orgânico, mostrando que as condições de injeção estudadas possuem validade universal na secagem de pastas em secadores do tipo leito de jorro convencional, que apresentem configuração e dimensões similares às empregadas nesse trabalho.

Tabela 11.-Valores de T , S_k e F_t obtidos na secagem de diferentes pastas sob diferentes condições operacionais, através do emprego das condições de injeção do planejamento $2^2 + 2$

C_T (mg/mL)	V_T (mL)	CONDIÇÃO 1			CONDIÇÃO 2		
		T	S_k	F_t	T	S_k	F_t
		(min.)	(-)	(-)	(min.)	(-)	(-)
7.50	3.0	14.15	0.89	-0.42	16.12	0.80	-0.42
5.00	3.0	13.69	0.99	-0.23	15.17	0.84	-0.54
7.50	8.0	14.36	0.95	0.01	15.68	0.59	-1.13
5.00	8.0	13.59	1.01	-0.24	16.54	0.56	0.99
6.25	5.5	14.24	0.77	-0.72	16.17	0.93	0.07
6.25	5.5	14.81	1.02	0.05	16.80	0.99	0.25

Condição 1: solução de NaCl, $H/H_{max} = 0.66$, $V/V_{ms} = 1.2$; condição 2: dispersão de microcápsulas, $H/H_{max} = 0.50$, $V/V_{ms} = 1.3$.

É válido ressaltar, que quando da comparação entre os valores de T apresentados nas Tabelas 10 e 11 (condição 1), observa-se um aumento do tempo médio de residência do material em função do aumento na carga de partículas inertes.

Segundo Mathur e Epstein (1974), a velocidade de circulação dos sólidos aumenta quando do aumento da relação H/H_{max} . Esse efeito gera uma maior turbulência no leito de

partículas, e supostamente deve acelerar a cinética de remoção do filme seco a partir da superfície destas, reduzindo os valores de T obtidos. Essa relação não está em concordância com os dados obtidos nesse estudo, assim como em relação aos resultados obtidos por Berni e Freitas (2005).

Uma explicação para esse comportamento inesperado pode ser dada com base nos achados de Pallai, Szentmarjay e Szijjártó (2001), que afirmaram que a espessura do filme formado sobre a superfície das partículas inertes depende do tempo de circulação das mesmas. Sugere-se aqui, que uma diminuição nessa espessura ocorra na condição de maior altura de inertes, devido a maior velocidade de circulação das partículas esperada para essa condição. A redução na espessura do filme hipoteticamente reduz a taxa de remoção do mesmo e este efeito pode se sobrepor à maior turbulência do leito na referida condição, conseqüentemente reduzindo sua cinética de remoção e aumentando os valores de T observados.

Por outro lado, os valores de T obtidos na secagem da dispersão de caseína-pectina, da ordem de 16 minutos, são mais elevados em relação aos constatados na secagem da pasta inorgânica, em qualquer condição.

As distribuições obtidas na secagem da dispersão de microcápsulas, mostraram tipicamente um pico de concentração entre 4 e 6 minutos após a injeção do corante, como se observa na Figura 19. Esse comportamento difere em relação ao apresentado pelas distribuições obtidas na secagem da solução de cloreto de sódio, as quais apresentaram um pico de concentração entre 2 e 4 minutos, como mostrado na Figura 18.

Nesse caso, é difícil sugerir se o deslocamento do pico é resultado da maior dificuldade de homogeneização do corante, ocasionada pela mais alta viscosidade da pasta, ou se, por outro lado, é fruto de um maior distúrbio fluidodinâmico quando da aplicação do marcador, resultado da maior instabilidade apresentada pelo regime na secagem do material orgânico.

Figura 19. Distribuição de tempo de residência obtida na secagem da dispersão de microcápsulas de caseína-pectina, sob as condições de injeção da Tabela 10.

Os valores de Sk e Ft , como anteriormente descrito, não foram afetados significativamente pelos diferentes níveis de Ct e Vt apresentados na Tabela 10, após as mudanças nas condições operacionais do secador e no tipo de pasta processado.

O estudo da metodologia de estímulo-resposta, incluindo sua otimização, é fundamental para uma avaliação precisa do tempo médio de residência de pastas durante a secagem por leito de jorro convencional, que por sua vez, é de importância central na determinação da qualidade dos produtos secos por esse método. Os resultados obtidos na secagem das microcápsulas mostraram que o material fica exposto ao calor e ao atrito interparticular por um tempo consideravelmente prolongado, e a influência desse parâmetro sobre a qualidade do produto seco será discutida com mais detalhes na seção 5.7.

5.3 AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E GRANULOMÉTRICAS DOS PRODUTOS OBTIDOS POR LEITO DE JORRO E *SPRAY DRYING*

5.3.1 Avaliação morfológica das microcápsulas por microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.)

As fotomicrografias obtidas por M.E.V. dos fármacos e das microcápsulas secas por *spray drying* e leito de jorro, carregadas e inertes, estão apresentadas nas Figuras 20 a 27.

A Figura 20 mostra as fotomicrografias das microcápsulas inertes reticuladas e não reticuladas, secas por *spray drying*.

A Figura 20a ilustra a forma aproximadamente esférica apresentada pelas partículas não reticuladas. Algumas dessas partículas apresentam depressões ou deformações em sua superfície, provavelmente relacionadas à rápida saída do solvente durante o processo de secagem. A superfície em geral, apresenta um certo grau de rugosidade. A Figura 20b, por sua vez, mostra uma fotomicrografia das microcápsulas inertes reticuladas. Observa-se grande similaridade com a estrutura apresentada na Figura 20a, o que denota a inexistência de diferenças morfológicas ocasionadas pelo processo de reticulação do material.

A Figura 21 mostra as fotomicrografias, obtidas por M.E.V., das microcápsulas inertes, reticuladas e secas por leito de jorro. Na Figura 21a, observa-se uma estrutura típica obtida pela secagem das microcápsulas pelo referido método. Trata-se de uma placa formada pela coalescência das partículas individuais sobre a superfície do material inerte. Este material apresenta dimensões consideravelmente superiores às apresentadas pelas microcápsulas obtidas por *spray drying*.

O perfil lateral de uma das estruturas secas por leito de jorro (21b), ilustra bem o fenômeno da coalescência em questão, por mostrar a delimitação das estruturas esféricas no interior da placa. Mais uma vez, não se constatou diferenças morfológicas entre as partículas inertes reticuladas (Figura 21) e não reticuladas (dados não mostrados).

(A)

(B)

Figura 20. Fotomicrografias obtidas por M.E.V. das microcápsulas de caseína-pectina inertes, reticuladas e não reticuladas e secas pelo método de *spray drying*. (A) Microcápsulas não reticuladas (3500 x); (B) Microcápsulas reticuladas (4500x).

Figura 21. Fotomicrografias obtidas por M.E.V. das microcápsulas inertes, reticuladas e secas por leito de jorro. (a) Aumento de 600 x; (b) Aumento de 2700 x.

A Figura 22 mostra as fotomicrografias obtidas por M.E.V. dos cristais de indometacina não processados. Observa-se através de sua análise, a presença de cristais sem forma definida e em diferentes faixas de tamanho de partícula.

(A)

(B)

Figura 22. Fotomicrografias dos cristais de indometacina não processados, obtidas por M.E.V.(A) aumento de 1500x; (B) aumento de 3500x

Por sua vez, a Figura 23 mostra as fotomicrografias obtidas por M.E.V. dos cristais de indometacina cisalhados em turax e secos pelo processo de *spray drying*.

Figura 23. Fotomicrografia eletrônica da indometacina livre submetida ao procedimento de preparo de microcápsulas, e após secagem por *spray drying*. (A) Aumento de 1100 x; (B) 200 x; (C) 3000 x.

A análise da Figura 23b, permite observar, uma vez mais, a irregularidade de forma e tamanho apresentada pelas partículas do fármaco. Cristais de elevadas dimensões podem ser observados na Figura 23a, assim como partículas reduzidas com aspecto de material amorfo ou microcristalino, podem ser observadas na Figura 23c.

A literatura relata (BRITTAIN; FIESE, 1999, GUILLORY, 1999) que os materiais secos por *spray drying* podem sofrer facilmente o processo de amorfização, devido às elevadas taxas de secagem observadas, as quais impedem a recristalização do material dissolvido. Em alguns casos os materiais submetidos à secagem pela técnica em questão sofrem amorfização diretamente do estado sólido. Esse fenômeno só ocorre quando a água presente nos cristais não está somente no interior de seus canais, mas fortemente ligada às moléculas no arranjo cristalino e sua saída ocasiona o colapso do mesmo.

Entretanto, a análise comparativa da Figura 23(c) frente à Figura 22 (b) não permite concluir se as partículas de indometacina secas por *spray drying* se encontram no estado amorfo, ou se o observado na Figura 23 (c) é na verdade um aglomerado de microcristais depositados sobre um cristal maior. Uma discussão mais aprofundada sobre as propriedades do estado sólido desse material, está apresentada na seção referente à caracterização físico-química do mesmo.

Por sua vez, a Figura 24 mostra as fotomicrografias obtidas por M.E.V. da indometacina não encapsulada após cisalhamento em turax e secagem por leito de jorro. A Figura 24a permitiu observar a presença de uma fração cristalina de reduzida dimensão, não observada na fotomicrografia do fármaco não processado (Figura 22a). No entanto, não é possível observar, na Figura 24, a presença de material semelhante ao visualizado na Figura 23 (c).

Figura 24. Fotomicrografia eletrônica dos cristais de indometacina não encapsulados e secos por leito de jorro.(a) Aumento de 200x; (b) aumento de 1500x.

Se partirmos da hipótese de que o material de reduzidas dimensões, apresentado na Figura 23(c), possui natureza amorfa e é formado devido às elevadas taxas de secagem típicas da operação de secagem por *spray drying*, pode-se explicar sua ausência no material seco por

jorro pelas menores taxas de secagem apresentadas por esse método. Por outro lado, se for considerado que o material em questão é constituído por microcristais formados durante o cisalhamento da dispersão em turax, pode-se supor, que sua ausência após a secagem em leito de jorro, é consequência da formação, durante a operação de secagem, de um filme de material sobre as partículas inertes, com a compactação do material fino sobre a superfície de cristais de maior dimensão. Essa última hipótese ganha força após a análise dos dados de caracterização físico-química dos materiais, discutida no item 5.5.4.2.

A Figura 25 mostra as fotomicrografias das microcápsulas de caseína-pectina carregadas com indometacina e secas por *spray drying*. Pela análise da Figura 25(b), pode-se observar a presença de aglomerados de partículas de reduzida dimensão juntamente com grandes partículas de forma irregular. O perfil geral mostrado é muito semelhante àquele apresentado para o fármaco livre seco pelo mesmo método, como mostrado na Figura 23b.

A Figura 25(a) mostra, em um maior aumento, um grupo das menores estruturas apresentadas na Figura 25(b). Essas estruturas possivelmente correspondem às microcápsulas após sofrerem redução marcante em seu grau de esfericidade (quando comparadas ao material inerte).

Sugere-se que a presença de reduzidas partículas de fármaco, como as mostradas na Figura 23c, no interior das microcápsulas, possa ocasionar a deformação de sua estrutura, com a conseqüente diminuição de sua esfericidade, sugerindo o sucesso do procedimento de encapsulação das partículas de indometacina com dimensões reduzidas.

Por outro lado, torna-se difícil sugerir, pela análise das fotomicrografias eletrônicas, se os cristais de indometacina que apresentam maior dimensão estão ou não envoltos pelo polímero, pois as estruturas observadas nas Figuras 23(a) e 25(c) são estruturalmente muito semelhantes.

Figura 25. Fotomicrografia eletrônica das microcápsulas carregadas com indometacina, secas por *spray drying*. (A) Aumento de 3500x; (B) 600x; (C) 2000x.

No entanto, de acordo com o discutido acima e com o relatado para as fotomicrografias ópticas, sugere-se que mesmo os grandes cristais de fármaco estejam envolvidos pela parede polimérica, em concordância com a hipótese de que o polímero se deposita sobre a estrutura cristalina, adquirindo sua forma.

A despeito da inexistência de um método adequado para avaliar quantitativamente o grau de encapsulação nesse tipo de sistema, o conjunto de achados referentes às análises morfológicas realizadas, permite-nos supor, sob uma perspectiva qualitativa, que o grau de encapsulação da indometacina no processo de coacervação seja bastante elevado, como, segundo Gouin (2004), é esperado para esse tipo de procedimento.

Outros ensaios, apresentados nas próximas seções, fornecerão resultados que nos permitirão inferir com mais segurança a respeito da eficiência do processo de coacervação empregado.

A Figura 26 apresenta as fotomicrografias, obtidas por M.E.V., do paracetamol e das microcápsulas carregadas com esse fármaco, após secagem por *spray drying*. Assim como no caso da indometacina (Figura 23), o fármaco não encapsulado, foi submetido aos mesmos procedimentos adotados na obtenção das microcápsulas.

A Figura 26(a) mostra a fotomicrografia dos cristais de paracetamol. Observa-se a presença de grandes partículas na forma de placas juntamente com pequenas partículas esféricas. É interessante notar, quando da comparação visual entre o diâmetro dos cristais de paracetamol não encapsulados frente ao diâmetro apresentado pelas microcápsulas carregadas (Figura 26 b), que o primeiro é consideravelmente maior. Essa impressão visual foi comprovada pela análise granulométrica descrita no item 5.3.2.

(A)

(B)

(C)

Figura 26. Fotomicrografias eletrônicas do paracetamol (A) (500x) e das microcápsulas de caseína –pectina carregadas com paracetamol, após secagem por *spray drying* (B) Aumento de 650 x; (C) 3700x

Além disso, as microcápsulas carregadas, diferentemente ao observado no caso da indometacina encapsulada, se apresentam mais esféricas, o que já havia sido constatado por microscopia óptica.

A explicação para o apresentado no parágrafo acima, está uma vez mais, no elevado coeficiente de solubilidade aquosa do paracetamol, que deve ocasionar a dissolução parcial de seus cristais, durante o processo de coacervação complexa, resultando na diminuição de seu diâmetro e na uniformização de sua forma.

Entretanto, também é possível observar um ligeiro aumento no diâmetro das partículas carregadas (Figura 26c), quando comparadas as microcápsulas vazias (Figura 20). Esse aumento está melhor demonstrado pela análise do diâmetro médio das partícula desses materiais, apresentados no item 5.3.2, e na ausência de outras propriedades estruturais o mesmo pode servir como indicativo do sucesso do processo de encapsulação, levando-se em conta é claro, os outros resultados obtidos, como discutido anteriormente no caso da indometacina.

Um detalhe importante apresentado na Figura 26 (c), está na fratura da parede de uma das microcápsulas na amostra, a qual permite observar a estrutura não matricial desse sistema, comprovando que realmente se trata de uma microcápsula ao invés de uma microesfera, de acordo com as definições apresentadas na literatura (RÉ, 1998).

As fotomicrografias das microcápsulas carregadas com indometacina e paracetamol, secas por leito de jorro estão apresentadas na Figura 27. Observa-se um padrão estrutural muito similar ao apresentado pelas partículas inertes, como demonstrado na Figura 21. No caso das partículas secas por leito de jorro, não é possível observar a presença de estruturas que se assemelhem a cristais dos fármacos. As Figuras 27(a) e 27(b) mostram o material carregado com indometacina. Por sua vez a Figura 27 (c) mostra o material carregado com paracetamol. A análise dessas fotomicrografias permite observar que não há diferença

estrutural entre as formulações em questão. Observa-se a presença de placas, algumas com a superfície limpa e outras apresentando vários fragmentos, que se assemelham a placas menores depositadas sobre a superfície das partículas maiores. Uma vez mais, não se observam diferenças morfológicas entre as formulações reticuladas e não reticuladas.

As fotomicrografias em questão permitem-nos supor, que a maior parte dos cristais pode estar incluída dentro da matriz polimérica, formada pela coalescência das microcápsulas durante o processo de secagem, no entanto, outros resultados devem ser analisados antes que se possa fazer uma afirmação segura sobre o grau de encapsulação dos fármacos por leito de jorro.

(A)

(B)

(C)

Figura 27. Microcápsulas de caseína-pectina carregadas com indometacina (A), (B) e paracetamol (C), após a secagem por leito de jorro convencional.

5.3.2 Distribuição de tamanho das partículas

A Tabela 12 apresenta os valores de diâmetro médio da área projetada dos cristais de indometacina, paracetamol, processados por *spray drying* ou não, e das microcápsulas vazias *in natura*, ou secas por leito de jorro ou *spray drying*, vazias e carregadas.

Observa-se, como esperado, uma leve diminuição no diâmetro médio das microcápsulas vazias após a secagem por *spray drying*, quando comparadas à mesma formulação *in natura* (Formulações 6 e 5, respectivamente). Essa diminuição é resultado da saída de solvente durante a operação de secagem.

Tabela 12. - Diâmetro médio das diferentes formulações de microcápsulas secas por leito de jorro e *spray drying*, e dos cristais não encapsulados de indometacina e paracetamol, processados ou não por *spray drying*.

FORMULAÇÃO	Dp (Microns)
1	17,7
2	8,99
3	13,90
4	11,64
5	7,39
6	6,39
7	6,18
8	9,91
9	7,33
10	28,21
11	27,37
12	25,38
13	27,51

Fármacos não encapsulados/ Microcápsulas *in natura*: (1) indometacina; (2) indometacina seca por *spray*; (3) paracetamol; (4) paracetamol seco por *spray*; (5) vazias reticuladas *in natura*; **Microcápsulas secas por *spray*:** (6) vazias reticuladas; (7) vazias não reticuladas; (8) reticuladas carregadas com indometacina; (9) reticuladas carregadas com paracetamol. **Microcápsulas secas por leito de jorro:** (10) vazias reticuladas; (11) vazias não reticuladas; (12) reticuladas carregadas com indometacina; (13) reticuladas carregadas com paracetamol.

É importante notar que o procedimento de reticulação não proporciona alterações significativas no diâmetro médio das partículas vazias e secas por *spray drying* ou por leito de

jorro (Formulações 6 e 7 e 10 e 11, respectivamente). Devido a esse fato, os valores referentes às microcápsulas não reticuladas e carregadas estão omitidos da Tabela 12.

Observa-se adicionalmente pela análise da Tabela 12, a grande diferença entre valores de D_p apresentados pelas microcápsulas secas por leito de jorro ($\sim 27,1$ μm) e por *spray drying* ($\sim 7,5$ μm). Essa diferença denota, como discutido na seção anterior, a formação de placas na secagem por leito de jorro, como já está descrito na literatura (BARACAT et al, 2004).

Por outro lado, observa-se pela análise dos valores de D_p das formulações 1 a 4 que o tratamento conferido às dispersões dos fármacos (cisalhamento em agitador tipo turax e secagem em *spray dryer*) é mais eficaz para a indometacina, em termos da redução no tamanho das partículas, do que para o paracetamol. Essa diferença está provavelmente relacionada à forma e tamanho inicial das partículas.

Como anteriormente discutido, nas seções referentes às análises morfológicas dos materiais, as diferenças entre os coeficientes de solubilidade aquosa dos fármacos devem ser as responsáveis pelo menor tamanho apresentado pelas microcápsulas carregadas com paracetamol e secas por *spray drying* (Formulação 9 da Tabela 12) quando comparado ao apresentado pelas microcápsulas carregadas com indometacina e secas pelo mesmo método (Formulação 8 da Tabela 12), apesar do comportamento oposto apresentado pelos cristais não encapsulados e secos por *spray drying* (Formulações 2 e 4 da Tabela 12). Esse fato se deve a maior solubilização dos cristais de paracetamol no processo de coacervação complexa.

A Figura 28 mostra as fotomicrografias ópticas das microcápsulas vazias após a secagem por *spray drying* e leito de jorro (Figuras 28a e 28b, respectivamente). Observa-se claramente a menor uniformidade na distribuição de tamanho das partículas secas por leito de jorro em relação às processadas por *spray drying*.

Figura 28. Fotomicrografias ópticas de microcápsulas de caseína-pectina vazias e secas por (A) *spray drying* ($d_p = 6,39 \mu\text{m}$) e (B) leito de jorro ($d_p = 28,21 \mu\text{m}$)

5.4 AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE INDOMETACINA E DO PARACETAMOL A PARTIR DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR *SPRAY DRYING* E LEITO DE JORRO

O teor de indometacina nas microcápsulas de caseína-pectina foi determinado por espectrofotometria no UV-Vis, através do emprego de curvas analíticas do fármaco em metanol puro e em uma mistura 1:1 entre metanol e tampão fosfato dibásico 0,1 M (pH 8,0). As curvas analíticas em questão apresentaram índices de correlação R^2 satisfatórios, sempre acima de 0,998.

A utilização do sistema solvente metanol:tampão fosfato no procedimento de extração é resultado dos baixos teores apresentados quando da aplicação do solvente proposto por Baracat (2004), quando comparados à extensão total de fármaco liberada no estudo de dissolução (discutido à frente). A aplicação do sistema metanol:tampão fosfato se mostrou relevante no caso das microcápsulas secas por jorro, aumentando sua recuperação total para um nível um pouco superior ao verificado nos estudos de dissolução.

Essa diferença entre os dois procedimentos de recuperação, no caso da secagem por leite de jorro, indica que uma pequena fração de indometacina está interagindo com o polímero de forma íntima, mas reversível, e portanto, necessita para ser extraída do sistema, da dispersão da proteína, intumescimento do carboidrato ou ambos.

A Tabela 13 apresenta os teores de indometacina recuperados a partir dos produtos secos tanto por leite de jorro quanto por *spray drying*, após a extração empregando ambos os sistemas solvente descritos acima.

Tabela 13 - Porcentagem de indometacina recuperada a partir de microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e não reticuladas após secagem por leito de jorro e por *spray drying*

FORMULAÇÃO	% RECUPERADA ($\pm$ DP)			
	Leito de jorro		<i>Spray drying</i>	
	MeOH	MeOH:NaH ₂ PO ₄	MeOH	MeOH:NaH ₂ PO ₄
Reticuladas	40,40 $\pm$ 1,62	52,81 $\pm$ 2,26	94,59 $\pm$ 6,40	95,93 $\pm$ 3,64
Não reticuladas	47,04 $\pm$ 1,24	51,13 $\pm$ 1,60	95,75 $\pm$ 4,28	99,04 $\pm$ 4,30

MeOH – metanol absoluto PA; MeOH:NaH₂PO₄ – metanol PA:tampão fosfato dibásico 0,1M (1:1).

A concentração total de indometacina extraída das microcápsulas reticuladas e não reticuladas após secagem por leito de jorro, foi sempre muito inferior em relação ao obtido a partir dos materiais secos por *spray drying*. Nesse último caso, a recuperação do fármaco é total. Esse fenômeno é condizente com o observado por Baracat et al. (2004), que secaram o mesmo sistema empregando ambos os métodos aqui estudados.

Observa-se, adicionalmente, pela análise dos dados da Tabela 13, que o percentual total extraído a partir das formulações reticuladas e secas por leito de jorro, apresentou-se menor em relação à formulação preparada sem adição de glutaraldeído e seca pelo mesmo método (para o sistema extrator composto por metanol puro). Esse fato sugere alguma influência do processo de reticulação sobre a integridade estrutural do sistema, assim como sugere a influência desta sobre a interação fármaco-polímero aventada acima, visto que a diferença entre as recuperações nas diferentes formulações secas por jorro não foi observada quando o sistema solvente empregado leva a desestruturação do sistema (tampão fosfato:metanol). É válido ressaltar, que o fenômeno que ocasiona as diferenças entre os percentuais extraídos a partir das microcápsulas reticuladas e não reticuladas secas por leito de jorro, não deve ser responsável pelas diferenças observadas quando da comparação entre o percentual de recuperação dos sistemas secos pelos diferentes métodos de secagem em

questão. A investigação da natureza desse último e a verificação da funcionalidade das microcápsulas secas por leito de jorro como sistemas de liberação modificada de fármacos, serão abordadas na sequência desse trabalho.

No que se refere a extração do paracetamol, a análise de seu teor nas microcápsulas foi realizada empregando apenas um sistema solvente, composto por uma mistura 1:1 de etanol:tampão fosfato de sódio dibásico 0,1 M (pH 8,0).

Assim como no caso da indometacina, a curva analítica obtida apresentou um índice de correlação R^2 satisfatório, e a recuperação a partir de todos os sistemas avaliados (microcápsulas reticuladas ou não e secas por leito de jorro e *spray drying*) se mostrou completa.

Os resultados de recuperação dos fármacos, relatados nessa seção, foram empregados na normalização do teor liberado nos ensaios de dissolução discutidos na seção 5.7.

5.5 AVALIAÇÃO DA NATUREZA DO FENÔMENO RESPONSÁVEL PELA REDUZIDA RECUPERAÇÃO DA INDOMETACINA A PARTIR DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO

A recuperação incompleta da indometacina a partir das microcápsulas de caseína-pectina secas por leito de jorro, pode ser ocasionada por fenômenos físicos, tais como a segregação do fármaco durante a operação de secagem ou o aprisionamento do mesmo na malha polimérica. Adicionalmente, a ocorrência de fenômenos físico-químicos, como o estabelecimento de interações de natureza fraca entre o fármaco e o polímero, ou de eventos químicos, também podem ocasionar a retenção do fármaco no sistema.

O resultados e a discussão apresentados nessa seção, se referem a investigação da natureza do fenômeno responsável pela reduzida recuperação da indometacina pós-processamento pela técnica de leito de jorro.

5.5.1 Avaliação da ocorrência de segregação da indometacina na secagem das microcápsulas por leito de jorro

Cory, Field e Wu-Linhares (2004) relataram que as principais causas para a reduzida recuperação de um fármaco a partir de uma formulação sólida são: (1) escolha inapropriada do solvente de extração; (2) segregação dos materiais durante seu processamento e; (3) ocorrência de interações fármaco-excipiente. A primeira hipótese, não se aplicou ao presente estudo, visto que a recuperação a partir dos materiais secos por *spray drying* é total, ou seja, nenhum dos sistemas solvente empregados favoreceu o estabelecimento de interações entre os constituintes da formulação quando em solução. Além disso, a característica exaustiva do processo extrativo, não permitiu supor que as diferenças existentes entre os diâmetros médios das partículas (ver seção 5.3.2) sejam as responsáveis pela reduzida recuperação observada nas microcápsulas secas por leito de jorro.

Dessa forma, optou-se em um primeiro momento, por determinar se a reduzida recuperação de indometacina era resultado da ocorrência de fenômenos de segregação entre o fármaco e o material polimérico durante a secagem das microcápsulas por leito de jorro. Essa segregação pode ocorrer tanto por acúmulo do fármaco no leito de partículas inertes quanto por sua saída desproporcional para o meio ambiente, juntamente com o ar de secagem.

A Tabela 14 mostra os resultados obtidos a partir dessa abordagem. Observa-se que o teor total encontrado nas soluções de lavagem das partículas inertes é muito próximo ao determinado a partir do pó coletado pelo ciclone, estando a diferença dentro do desvio padrão

dos experimentos. Em outras palavras, não houve segregação do fármaco sobre a superfície das partículas inertes empregadas.

É importante notar que, o teor de indometacina apresentado na Tabela 14, referente ao material coletado pelo ciclone, é diferente do apresentado na Tabela 13, pois o material empregado nos experimentos discutidos na presente seção foi processado sob condições operacionais diferentes, descritas na Tabela 16, seção 5.6.

Adicionalmente, procedeu-se à quantificação do fármaco no pó aderido à parede da câmara de secagem, e os resultados dessa análise (Tabela 14) se mostraram surpreendentes. Observou-se que o teor de indometacina nesse material é mais que três vezes superior ao encontrado nas partículas inertes e no frasco coletor, sem, no entanto, ser superior ao total teórico esperado.

A explicação para o fato acima mencionado pode estar no local onde foi realizada a amostragem do pó no interior da câmara. Para a realização do ensaio em questão, as amostras de pó foram retiradas da câmara em uma altura muito próxima a altura apresentada pela fonte de partículas inertes. Logo, é provável que esse material se acumule na parede da câmara devido ao espalhamento da dispersão gerado pelo impacto entre o líquido gotejado e a fonte de partículas inertes. Portanto, esse material não entra em contato íntimo com o leito de sólidos, mas por outro lado, sofre uma exposição similar à energia térmica quando comparado à fração que é normalmente processada e coletada pelo ciclone. Esses dados constituem a primeira evidência do papel secundário do tempo de exposição do material ao calor, sobre o fenômeno causador da elevada retenção de indometacina a partir das microcápsulas. Uma discussão mais profunda nesse sentido será realizada na seção 5.6.

É válido ressaltar, que a quantidade de pó aderido à parede do leito foi muito reduzida. De forma similar, a quantidade de pó coletada pelo filtro na saída do ciclone foi muito baixa, podendo ser considerada como desprezível.

Os resultados apresentados nessa seção mostraram que a reduzida recuperação da indometacina a partir das microcápsulas não foi ocasionada por fenômenos de segregação entre o fármaco e o polímero, durante a secagem por leito de jorro.

Antes de prosseguir com a investigação sobre a causa da diferença entre os percentuais de indometacina recuperados a partir das microcápsulas secas por jorro e por *spray*, optou-se por determinar a contribuição individual dos componentes do conjugado caseína-pectina sobre a mesma. Essa avaliação está apresentada na seção 5.2.2.

Tabela 14 - Recuperação de indometacina a partir de microcápsulas de caseína-pectina amostradas em diferentes regiões do equipamento de leito de jorro.

MATERIAL	% INDOMETACINA ($\pm$ DP)
FCSD	99,04 ($\pm$ 4,30)
FCLJ*	31,71 ($\pm$ 0,28)
ILJ*	31,06 ($\pm$ 4,07)
CSLJ*	94,91 ($\pm$ 6,09)

FCSD – Frasco coletor (*spray drying*); FCLJ – Frasco coletor (leito de jorro); IIL – Partículas inertes (leito de jorro); CSLJ – Parede da câmara de secagem (leito de jorro)

* Condição de secagem descrita na Tabela 16.

5.5.2 Determinação da contribuição individual da caseína e da pectina sobre a reduzida recuperação da indometacina após secagem por leito de jorro: Avaliação do teor de fármaco extraído a partir das micropartículas de caseína e de pectina.

Micropartículas de caseína-indometacina e pectina-indometacina foram preparadas segundo o procedimento adotado para a obtenção das microcápsulas não reticuladas. Após seu preparo, esses materiais foram secos por leito de jorro e por *spray drying*, nas mesmas condições empregadas na secagem das microcápsulas (Tabela 2).

Os dados de recuperação encontrados a partir das micropartículas mostraram que a caseína foi a responsável pela retenção do fármaco no sistema. O teor total recuperado a partir das micropartículas de caseína-indometacina, após secagem em leito de jorro, foi de 29,39%, ao passo que as micropartículas de pectina apresentaram teores de indometacina recuperados acima de 90 % do total teórico esperado. A secagem de ambos os sistemas por *spray drying* resultou em produtos que apresentaram uma recuperação de fármaco sempre superior a 90 %.

Quando da comparação entre os valores recuperados de indometacina a partir das microcápsulas (Tabela 13) e das micropartículas de caseína (~30%), secas por leito de jorro sob condições operacionais idênticas, observou-se que a retenção do fármaco é mais extensa na última, indicando que a pectina interage ou bloqueia alguma porcentagem dos grupos funcionais da proteína envolvidos no estabelecimento da interação desta com o fármaco. Por outro lado, é possível que a maior proporção caseína-fármaco nas micropartículas ocasione um maior aprisionamento do fármaco na malha polimérica, caso seja um fenômeno físico o responsável pela reduzida recuperação do fármaco a partir desses sistemas.

Posteriormente à determinação da participação da caseína sobre a retenção do fármaco no sistema, procedeu-se à investigação da natureza da relação fármaco-proteína em questão. Os resultados obtidos a partir dessa abordagem estão apresentados nas seções seguintes.

5.5.3 Avaliação da ocorrência de retenção física da indometacina na matriz de caseína após a secagem das micropartículas por leito de jorro, pelo emprego de um procedimento de digestão protéica *in vitro*

A adição de uma mistura de enzimas proteolíticas na dispersão de micropartículas de caseína-indometacina preparada em água destilada (pH 8,0), foi realizada a fim de avaliar se a

retenção do fármaco no sistema é causada pelo aprisionamento do mesmo no emaranhado protéico, após a secagem por leito de jorro.

A recuperação da indometacina após a simples dispersão aquosa das micropartículas de caseína foi de apenas 26,79% em relação ao total teórico esperado. Esse percentual é muito próximo ao encontrado no procedimento de recuperação exaustiva com metanol:tampão fosfato, cujos dados foram apresentados na seção 5.5.2.

Por sua vez, no ensaio de digestão, a recuperação ficou em 34,67 % do total teórico esperado. Esse valor é maior do que o observado no procedimento de recuperação exaustiva e sugere, como discutido na seção 5.4, que pelo menos uma pequena fração do fármaco se encontra aprisionada no emaranhado protéico ou retida no sistema por ligações fracas à grupos funcionais da proteína.

É válido ressaltar, que a diferença entre os valores de pH da dispersão de micropartículas, antes e após 15 minutos da adição das enzimas proteolíticas, confirmou o sucesso das condições empregadas no ensaio de digestão da caseína, pois a queda no pH da dispersão ao final do ensaio foi de cerca de uma ordem de magnitude, que segundo Mukai-Correa et al. (2005), denota a ocorrência da reação proteolítica.

Evidentemente, que os resultados apresentados na presente seção excluem o fenômeno puramente físico como agente causador das diferenças de recuperação entre os materiais secos por leito de jorro e por *spray drying*, e dá força a hipótese da ocorrência de interações entre o fármaco e a proteína, após a secagem por leito de jorro.

5.5.4 Investigação da ocorrência de interações físico-químicas entre a indometacina e a caseína

Até o presente momento, não constam quaisquer referências na literatura sobre interações entre proteínas e a indometacina. Por outro lado, existem relatos sobre interações desse fármaco com polivinilpirrolidona (PVP), nicotinamida, dióxido de silício e estearato de magnésio (TAYLOR; ZOGRIFI, 1997; BOGDANOVA et al., 1997; FOSTER; HEMPENSTALL; RADES, 2001; WATANABE et al., 2002; WATANABE et al., 2003; MARINI et al., 2003; TAKEUCHI et al., 2005).

Em alguns desses estudos, a interação foi detectada após o processamento dos materiais por métodos como o de evaporação de solvente e de extrusão de material fundido, usados para o preparo de dispersões sólidas. Na maioria dos casos, entretanto, a avaliação se dá a partir de misturas físicas de sólidos, submetidas ou não a processos de cominuição.

As investigações realizadas por Foster, Hempenstall e Rades (2001) e por Taylor e Zografi (1997), mostraram a natureza não covalente das interações indometacina-PVP, geralmente mediadas por pontes de hidrogênio. Em outros casos, reações químicas foram constatadas, como observado por Watanabe et al. (2002), após cominuição da mistura entre indometacina e dióxido de silício.

A seção 5.5.4.1 mostra os resultados referentes a investigação da ocorrência de interações eletrostáticas entre a indometacina e a caseína, e a seção 5.5.4.2, apresenta um estudo físico-químico mais detalhado realizado no intuito de determinar a natureza da suposta interação.

5.5.4.1 Avaliação da ocorrência de interações eletrostáticas entre a caseína e a indometacina pelo emprego de uma reação entre a caseína e o SDS

Segundo Scopes (1994) e Silva Júnior (2001), a reação de proteínas com o detergente dodecil sulfato de sódio (SDS) normaliza a carga superficial da entidade protéica, tornando-a altamente negativa, e dissolve seus agregados insolúveis, transformando-os em polipeptídeos solúveis.

A indometacina, por possuir grupos carboxílicos com pKa de 4,5, se encontra principalmente não-ionizada em pH 3,5, que corresponde ao pH da dispersão de micropartículas no momento da secagem. De qualquer forma, uma pequena fração molar está negativamente carregada nesse pH e pode teoricamente estabelecer interações eletrostáticas com grupos carregados positivamente na proteína, como os grupos amina das cadeias laterais de aminoácidos básicos, como a lisina. Dessa forma, espera-se observar após a adição de SDS à dispersão, o deslocamento das moléculas do fármaco a partir da superfície protéica, via a formação de interações eletrostáticas entre o SDS e a proteína.

No presente trabalho, observou-se que a porcentagem de indometacina recuperada após a reação da caseína com SDS foi de apenas 32,32% em relação ao total teórico esperado. Essa análise mostrou que a diferença na recuperação dos materiais secos por leito de jorro e *spray drying* não é causada pelo estabelecimento de interações eletrostáticas entre o fármaco e a proteína.

De qualquer forma, esses resultados por si só, não excluem a possibilidade de ocorrência de interações fracas entre a caseína e a indometacina mediadas por outras forças, como, por exemplo, por pontes de hidrogênio. Uma investigação físico-química mais profunda dessa suposta interação está apresentada na seção abaixo.

5.5.4.2. Caracterização térmica, espectroscópica e difratométrica das microcápsulas e micropartículas contendo indometacina, após secagem por leito de jorro e por *spray drying*

A energia fornecida aos sistemas sólidos durante as diferentes operações unitárias empregadas na indústria farmacêutica, pode ocasionar alterações na cristalinidade dos mesmos, tais como transições polimórficas e mudanças no seu grau de solvatação (BRITTAIN; FIESE, 1999). As operações de secagem têm potencial para acarretar esses tipos de alterações.

O processo de secagem por *spray drying* freqüentemente produz materiais amorfos ou acarreta alterações na cristalinidade de fármacos (BRITTAIN; FIESE, 1999; CORRIGAN, 1995). Kawashima, Lin e Takenaka (1983) verificaram que o método em questão era capaz de ocasionar transições polimórficas nos cristais de sulfametoxazol, mesmo quando o fármaco se encontrava encapsulado em um sistema matricial composto por diversos excipientes, sendo que as diferentes formulações testadas pelos autores influenciaram de forma diversa no tipo de alteração observada, ora proporcionando uma diminuição mais acentuada na cristalinidade (produção de material amorfo) ora levando principalmente a formação de polimorfos.

A literatura não relata, até o presente momento, alterações nas propriedades do estado sólido de fármacos, ocasionadas por sua secagem pela técnica de leito de jorro. No entanto, essa é uma possibilidade real, visto que, na secagem por esse método, o tempo de residência do material na câmara de secagem é significativamente superior àquele observado na secagem por *spray drying*, como pode ser verificado pela comparação dos dados experimentais obtidos por Kieviet e Kerkhof (1995) e Peixoto, Monteiro e Freitas (2004). Esse maior tempo de exposição ao calor resulta em um maior fornecimento energético ao material, o qual pode gerar alterações na cristalinidade do mesmo. Além disso, o movimento das partículas inertes na secagem por leito de jorro produz um certo atrito sobre o material

submetido à secagem, e a literatura relata (GUILLORY, 1999) que essa operação (cominuição) pode ocasionar a formação tanto de microcristais quanto de materiais amorfos.

O significado farmacêutico da perda, diminuição ou alteração na cristalinidade de um determinado fármaco, é melhor compreendido pela constatação das diferenças mensuráveis em inúmeras propriedades físicas e físico-químicas do sólido (densidade, solubilidade e dissolução), ocasionadas pelas diferenças energéticas associadas aos diferentes polimorfos, solvatos ou amorfatos (BRITTAIN; FIESE, 1999).

Propriedades cinéticas e de superfície também podem ser alteradas pela ocorrência de mudanças cristalinas em um determinado sólido. A formação de um sólido amorfo ou de um cristal metaestável pode aumentar as taxas de reação do estado sólido e a energia livre de superfície do material (GRANT, 1999).

As características do estado sólido da indometacina foram amplamente estudadas por vários pesquisadores (IMAIZUMI; NAMBU; NAGAI, 1980; OTSUKA; KANENIWA, 1988; FUKUOKA; MAKITA; YAMAMURA, 1986; YOSHIOKA; HANCOCK; ZOGRAFI, 1994; ANDRONIS; YOSHIOKA; ZOGRAFI, 1996).

Borka (1974) (apud TAYLOR; ZOGRAFI, 1997) relatou a existência de dois polimorfos monotrópicos da indometacina, a forma γ (estável) e α (metaestável), vários solvatos e material amorfo.

Transformações da indometacina cristalina (forma γ) para o estado amorfo, foram realizadas tanto por fusão quanto por cominuição da mesma em moinho centrífugo a 4 °C. No entanto, a moagem do material a 37 °C proporcionou a formação do polimorfo α , ao invés da forma amorfa (OTSUKA; KANENIWA, 1988).

Adicionalmente, Carstensen e Morris (1993), demonstraram que a indometacina em sua forma amorfa possui estabilidade química muito próxima à apresentada pelo material fundido, sendo ambos mais instáveis quando comparados à forma cristalina γ .

No presente trabalho, o emprego de métodos físico-químicos de avaliação foi direcionado, como anteriormente discutido, para a investigação da natureza da interação indometacina-caseína. Entretanto, a aplicação desses métodos constitui ferramenta de elevada importância na avaliação das propriedades do estado sólido de fármacos, que, como discutido nos parágrafos acima, fornece dados importantes para o entendimento das causas que levam a ocorrência de interações fármaco-polímero pós-processamento dos materiais. Portanto, a avaliação físico-química dos materiais apresentada nessa seção, não objetiva somente investigar a natureza da interação fármaco-polímero, mas também pretende analisar as alterações no estado sólido da indometacina livre e encapsulada nos sistemas multiparticulados.

5.5.4.2.1 *Estudos de Análise Térmica*

Os diferentes métodos de Análise Térmica vem sendo amplamente empregados na indústria farmacêutica para a determinação da pureza, polimorfismo, grau de solvatação e degradação dos fármacos. Além disso, o emprego desses métodos possibilita a avaliação da compatibilidade entre fármacos e excipientes durante os estudos de pré-formulação de formulações sólidas (BRITAIN, 1999). A utilização das técnicas de Análise Térmica exige o emprego de pequenas quantidades de amostra, em análises rápidas que não necessitam do desenvolvimento prévio de uma metodologia analítica para a quantificação do fármaco (VENKATARAM; KHOHLOKWANE; WALLIS, 1995; DURIG; FASSIHI, 1993).

A Calorimetria Exploratória Diferencial (CED) consiste em uma técnica amplamente empregada na avaliação das propriedades do estado sólido de fármacos (BRITAIN, 1999). Dessa forma procedeu-se, no presente trabalho, a avaliação do comportamento térmico, pelo

emprego da CED, de amostras de indometacina não processada, seca por *spray drying*, e seca por leito de jorro. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 29.

Observa-se, através da análise da Figura 29, que o pico de fusão dos cristais γ da indometacina está presente tanto no material não processado quanto naqueles submetidos a ambas operações de secagem, em uma temperatura muito próxima a descrita na literatura por Marine et al. (2003). Não foi possível verificar, nas condições de análise empregadas, o aparecimento do pico endotérmico anômalo referente a transição vítrea da indometacina amorfa ($\sim 55-57^\circ\text{C}$), assim como nenhum indício do evento de recristalização desse material, que ocorre a aproximadamente 137°C , como descrito por Fukuoka, Makita e Yamamura (1986). Adicionalmente, não se observa o pico de fusão dos cristais α da indometacina que tipicamente ocorre a $\sim 157^\circ\text{C}$. Esses achados indicam a ausência de transformações no estado sólido da indometacina após sua secagem por ambos os métodos em questão.

Figura 29. Curva CED das amostras de indometacina não processada (azul), seca por *spray drying* (preta) e por leito de jorro (vermelha).

De forma similar, a entalpia de fusão dos cristais de indometacina não processados, calculada a partir da curva CED, também se mostrou muito próxima a relatada na literatura para o cristal γ da indometacina (VENTAKARAM; KHOHLOKWANE; WALLIS, 1995).

Por outro lado, as análises dos dados referentes às amostras de indometacina processadas mostraram uma leve alteração na entalpia de fusão de seus cristais. A magnitude dessas alterações está numericamente descrita na Tabela 15, a qual também descreve os valores de temperatura de fusão das amostras. A análise dos dados da referida Tabela indica uma diminuição de até 10% na entalpia de fusão da indometacina após sua secagem por leito de jorro. A importância dessa alteração pode ser melhor compreendida a partir de estudos do grau de desordem da estrutura cristalina.

Tabela 15 - Temperatura e entalpia de fusão de materiais secos pela técnica de leito de jorro e *spray drying*

AMOSTRA	T _f (°C) $\pm$ DP	ΔH_f (J/g) $\pm$ DP	% DO TEÓRICO ESPERADO
INDN	160,53 $\pm$ 0,1	-115,81 $\pm$ 3,2	100,00
INDS	159,96 $\pm$ 0,06	-110,58 $\pm$ 2,23	95,50 $\pm$ 1,92
INDJ	160,27 $\pm$ 0,15	-105,26 $\pm$ 0,18	90,90 $\pm$ 0,15
CASIM	158,83 $\pm$ 0,19	-28,83 $\pm$ 4,96	78,20 $\pm$ 13,4 ^A
CASIS	159,26 $\pm$ 0,31	-28,43 $\pm$ 4,31	77,13 $\pm$ 14,9 ^A
CASIJ	157,58 $\pm$ 0,22	-4,25 $\pm$ 0,11	12,11 $\pm$ 0,38 ^A

INDN – Indometacina não processada; INDS – Indometacina seca por spray; INDJ – Indometacina seca por jorro; CASIM – Mistura física IND:caseína (1:2); CASIS- Caseína/IND seca por spray; CASIJ- Caseína/IND seca por jorro.

A – Em relação à entalpia de fusão teórica esperada para a mistura física preparada com indometacina seca por spray drying.

O grau de desordem de um sólido está intimamente ligado ao nível energético do mesmo e define sua susceptibilidade ao estabelecimento de interações. Grant e York (1986 apud DUDDU; GRANT, 1995), desenvolveram um conceito, denominado de entropia de processamento (ΔS^p), visando comparar quantitativamente o grau de desordem de sólidos após seu processamento, com base em suas entropias de fusão. No presente trabalho, calculou-se, através dos dados obtidos pela utilização da técnica de CED, os valores de ΔS^p

para a indometacina seca por *spray drying* e por leite de jorro, empregando como referência a entropia de fusão calculada para o fármaco não processado.

Valores de ΔS^p da ordem de 10,78 e 23,13 foram encontrados para a indometacina seca por *spray drying* e por leite de jorro, respectivamente. Observa-se que o grau de desordem nos cristais do fármaco seco por leite de jorro foi mais que duas vezes superior ao apresentado pelo material seco por *spray*. Este maior nível energético pode contribuir para o estabelecimento de interações de qualquer natureza entre o fármaco e a caseína após a secagem por leite de jorro, apesar da diferença ser, em termos absolutos, muito reduzida.

A redução na entalpia de fusão e o aumento na entropia de processamento dos cristais de indometacina secos por *spray drying* frente aos cristais não processados, está de acordo com as alterações observadas nas fotomicrografias eletrônicas deste material. No entanto, a análise das curvas CED não confirma a hipótese de amorfização do material, sugerindo a formação de microcristais, provavelmente durante o cisalhamento da dispersão em turax.

Entretanto, o maior nível energético verificado para os cristais secos por leite de jorro não encontrou a mesma correspondência frente a análise microscópica do material. As hipóteses para tal discrepância estão discutidas na seção referente à microscopia eletrônica das microcápsulas.

Evidentemente, não foi possível determinar se realmente existe ou qual seria a contribuição exata das alterações energéticas relatadas acima, sobre a retenção do fármaco a partir das microcápsulas e micropartículas secas por leite de jorro, mas pode-se sugerir que o maior grau energético apresentado pelos cristais pode exercer um papel significativo nesse sentido.

Aparte aos estudos realizados com as amostras de indometacina não encapsuladas, também foi avaliado o comportamento térmico das amostras de micropartículas de caseína-

indometacina, após sua secagem por leito de jorro e por *spray drying*. As curvas CED obtidas a partir dessa abordagem estão apresentadas na Figura 30, e os dados referentes às entalpias de fusão da indometacina incorporada nas micropartículas, se encontram apresentados na Tabela 15.

Figura 30. Curva CED das micropartículas de caseína-indometacina. (A) indometacina não encapsulada; (B) Mistura física indometacina seca por *spray*-caseína (1:2); (C) micropartículas secas por *spray drying*; (D) micropartículas secas por leito de jorro.

A Figura 30c, referente às micropartículas secas por *spray drying*, não mostrou deslocamentos significativos no pico de fusão dos cristais de indometacina. Da mesma forma não se observou o relaxamento entálpico relacionado à transição vítrea do material amorfo, nem qualquer evento relacionável a recristalização desse tipo de material. Em outras palavras, o perfil apresentado por esse material é quase idêntico ao observado para a mistura física

fármaco-proteína, denotando a ausência de interação após a secagem por *spray drying*, o que está de acordo com os dados de recuperação do fármaco a partir desse material (seção 5.5.2).

Por outro lado, e a despeito da inexistência de novos picos, observou-se uma diminuição abrupta na entalpia de fusão do fármaco após a secagem das micropartículas por leito de jorro, conforme visto na Figura 30d e na Tabela 15. Esse fato pode ser explicado pela hipótese da interação entre a caseína e a indometacina levantada anteriormente.

Marini et al. (2003) relataram que um deslocamento (alargamento) no pico de fusão da curva CED juntamente com a diminuição da entalpia correspondente ao evento são esperados quando há interação entre dois compostos. Esse comportamento pode ser explicado pela natureza do processo de fusão, o qual se inicia na superfície do cristal e é, portanto, dependente das interações nessa região. Os autores afirmaram ainda que a técnica de CED foi especialmente sensível para a detecção desse tipo de modificação.

Os autores citados acima relataram uma diminuição de 50% na entalpia de fusão da indometacina após mistura física com PVP, além de um deslocamento de seu pico de fusão da ordem de 26 °C. Taylor e Zografi (1997) descreveram a formação de pontes de hidrogênio entre esses dois materiais.

Apesar da entalpia de fusão da indometacina se mostrar bastante diminuída após a secagem das micropartículas de caseína por leito de jorro, em conformidade com o descrito no parágrafo acima, não se observou pela análise da Figura 30d, alterações significativas na posição do referido pico. A curva térmica em questão indicou o “desaparecimento” do fármaco no sistema, que sugere o estabelecimento de uma interação de natureza forte entre os componentes da formulação.

Os resultados apresentados nessa seção indicaram que as diferentes operações de secagem analisadas, não exerceram influência sobre as propriedades do estado sólido dos cristais de indometacina não encapsulados. Entretanto, o aumento da desordem cristalina,

principalmente após a secagem por leito de jorro, pode possuir importância no estabelecimento da interação fármaco-polímero nessa operação.

Adicionalmente, verificou-se a ocorrência da interação entre o fármaco e a caseína após a secagem por leito de jorro, e a análise da forma das curvas CED sugeriu que essa interação possui natureza covalente.

No entanto, as análises térmicas não possuem natureza confirmatória e outros ensaios devem ser realizados na investigação da interação fármaco-proteína, após a secagem em leito de jorro convencional.

5.5.4.2.2 Avaliação da cristalinidade das amostras por difratometria de raios X de pó (DRXP)

Outro método físico-químico bastante aplicado na avaliação das propriedades do estado sólido de fármacos é a difratometria de raios X de pó, sendo ferramenta confirmatória para estabelecer a identidade polimórfica e o grau de cristalinidade dos materiais (BRITTAIN, 1999).

O perfil difratométrico do conjugado caseína-pectina (microcápsulas vazias) após a secagem por *spray drying* está apresentado na Figura 31. O padrão de difração de raios X apresentado nessa Figura é típico de materiais amorfos e, portanto, confirma a natureza não cristalina do polímero em questão.

O difratograma referente às microcápsulas vazias secas por leito de jorro não será apresentado devido a considerável similaridade em relação ao apresentado na Figura 31.

Figura 31. Difratoograma de raio-X das amostras de microcápsulas vazias secas por *spray drying*

A Figura 32 mostra os difratogramas obtidos a partir da análise do fármaco não encapsulado e da mistura física fármaco não processado:microcápsulas vazias (secas por *spray drying*).

O perfil de difração do fármaco não encapsulado (Figura 32a) confirma as informações obtidas por CED, mostrando que o cristal de indometacina empregado nesse trabalho é do tipo γ .

A Figura 32b mostra o difratograma referente a mistura física fármaco-microcápsula. Observou-se, pela sua análise, uma diminuição (sem deslocamentos) na intensidade dos picos de difração da indometacina quando comparados aos picos do fármaco puro. Essa redução é resultado da diluição do fármaco na matriz polimérica amorfa.

O difratograma referente à mistura física fármaco:microcápsulas vazias (secas por leito de jorro) não foi mostrado, pois seu perfil é essencialmente igual em relação aquele apresentado pela mistura física, apresentado na Figura 32 (b).

Figura 32: Difratomogramas de raios-X de amostras de indometacina não processada (A) e da mistura física indometacina não processada:microcápsulas vazias secas por *spray drying* (B)

A Figura 33 mostra, por sua vez, o perfil de difração de raios X das amostras de microcápsulas secas por *spray drying* (Figura 33 a) e leito de jorro (Figura 33 b).

Figura 33: Difrátogramas de raio-X das amostras de microcápsulas carregadas e secas por *spray drying* (A) e por leito de jorro (B)

O difratograma referente as microcápsulas carregadas e secas pelo método de *spray drying* mostra uma pequena diminuição na intensidade dos picos, quando comparado ao apresentado pela mistura física. Essa diferença, não observada nas análises por CED, é provavelmente resultado da composição da mistura física, que para as análises difratométricas foi preparada com fármaco não processado. Em outras palavras, essa diferença é provavelmente resultado das alterações na estrutura cristalina do fármaco ocasionadas pela operação de cisalhamento do material antes da secagem, e não durante esta.

É válido observar que não ocorre, no difratograma da Figura 33(a), o desaparecimento de nenhum dos picos observados no perfil do fármaco puro. Da mesma forma, não se observa o aparecimento de novos picos. Essas constatações denotam a inexistência de transições polimórficas no material seco pelo método de *spray drying* reforçando o discutido na análise desse material por CED.

Por outro lado, a Figura 33(b), mostra o desaparecimento de alguns picos de difração típicos dos cristais γ , quando da secagem das microcápsulas por leito de jorro. Entretanto, não foi possível observar o aparecimento de novos picos, o que denota a inexistência de transições polimórficas no material.

Os resultados da análise difratométrica apresentados nessa seção estão de acordo com àqueles apresentados nas curvas CED, sendo que quando analisados em conjunto, pode-se supor que o desaparecimento dos picos de difração do fármaco nas amostras secas por leito de jorro, é resultado da reduzida presença de indometacina nas amostras.

5.5.4.2.3 Avaliação das interações entre fármaco e polímero por espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros no infravermelho da indometacina, mistura física fármaco não processado:caseína (1:2), e das micropartículas de caseína carregadas e secas por leito de jorro e *spray drying* estão apresentados nas Figuras 34, 36, e 37 a 39.

O espectro da indometacina apresentado na Figura 34 mostra as vibrações típicas dos seus grupos funcionais. A análise cuidadosa desse espectro, juntamente com àqueles referentes às amostras formuladas em micropartículas secas por ambos os métodos, permitiu investigar a ocorrência de transições polimórficas dos diferentes materiais, pois além de possibilitar a avaliação de interações entre as entidades químicas presentes em uma amostra, a espectroscopia vibracional é, segundo Brittain (1999), uma técnica bem estabelecida para esse tipo de investigação.

Taylor e Zografi (1997) estudaram por espectroscopia no infravermelho, as diferenças espectrais entre as formas γ , α e amorfa da indometacina. Pela análise da região compreendida entre 1750 e 1600 cm^{-1} , os autores observaram os deslocamentos dos picos referentes ao estiramento das carbonilas ácida e amídica presentes na estrutura molecular do fármaco (Figura 35). Os autores supracitados relataram que no espectro dos cristais γ da indometacina, o pico referente ao estiramento da carbonila amídica apareceu em um número de onda elevado (1692 cm^{-1}). Essa alta frequência de absorção não foi observada nas formas α e amorfa do fármaco, sendo visualizada nesses casos em números de onda de 1688 e 1684 cm^{-1} , respectivamente. A explicação para tal diferença está no fenômeno da distribuição dos elétrons livres do átomo de nitrogênio para o anel indol (mesomerismo), que enfraquece a ligação carbonílica, sendo que no caso da forma γ , essa distribuição, apesar de ocorrer, se mostra menos pronunciada, devido a ausência de coplanaridade entre o grupo carbonila e o anel indol dentro do arranjo da cela unitária γ .

Taylor e Zografi (1997) relataram adicionalmente, que outro ponto importante de diferenciação entre as formas γ e α é o pico referente ao estiramento da carbonila ácida, que na primeira aparece a 1717 cm^{-1} , estando ausente na segunda. Segundo os referidos autores, é possível observar também, na forma α , a presença de um “ombro” a 1735 cm^{-1} somado a dois picos a 1680 e 1649 cm^{-1} . Em relação à vibração desse grupo funcional, os espectros da forma γ e amorfa são muito similares, no entanto, a última apresenta o “ombro” a 1735 cm^{-1} .

A análise dos espectros apresentados na Figura 34, baseada nos achados de Taylor e Zografi (1997), confirmou a utilização dos cristais γ da indometacina no presente trabalho. O espectro apresenta um pico forte a 1690 cm^{-1} e a 1717 cm^{-1} , sem a presença do ombro a 1735 cm^{-1} ou de picos adicionais a 1680 ou 1649 cm^{-1} .

A Figura 36 mostra o espectro obtido a partir da simples mistura física indometacina-caseína. É claramente observável a presença dos principais picos de absorção da indometacina, no entanto, a intensidade de absorção foi menor, denotando o efeito de diluição do fármaco na matriz polimérica.

A comparação entre as Figuras 36 e 37, mostrou por sua vez, que o material seco por *spray drying* apresentou picos de absorção muito semelhantes em relação àqueles apresentados pela simples mistura física fármaco-caseína, demonstrando a inexistência de interações fármaco-polímero e a presença da indometacina em sua forma termodinamicamente estável.

Esses resultados estão de acordo com o anteriormente discutido nos ensaios de recuperação, de análise térmica e de difratometria de raios X.

Figura 34. Espectros de absorção no infravermelho da indometacina. (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila

Figura 35: Estrutura molecular da indometacina (www.nichiin.com)

Figura 36. Espectros no infravermelho da mistura física caseína-indometacina (2:1) (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila

Figura 37. Espectros no infravermelho das micropartículas caseína-indometacina após secagem por *spray drying*. (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila

A Figura 38 mostra o espectro referente à análise do material seco por leite de jorro. Nesse caso, observou-se um perfil de absorção diferente aos anteriormente discutidos, sendo muito similar ao apresentado na análise da caseína pura (Figura 39). Dessa forma, a análise do

espectro de absorção apresentado na Figura 38 sugeriu que a indometacina não estava presente nas amostras secas por leito de jorro, pelo menos, dentro do limite de sensibilidade do método, pois seus picos de absorção característicos não puderam ser observados após o referido processamento.

Esse comportamento sugeriu, assim como o discutido para as análises térmicas e difratométricas, a ocorrência de interações de natureza covalente entre o fármaco e a caseína, visto que o estabelecimento de interações fracas gera deslocamentos nos picos de absorção das entidades químicas envolvidas, ao invés do desaparecimento quase total dos picos do fármaco. Entretanto, não foi possível afirmar, pela análise dos espectros de absorção no infravermelho, que a interação fármaco-polímero se trata de uma ligação química, devido a elevada complexidade da matriz protéica envolvida.

Entretanto, os estudos físico-químicos, de recuperação e a avaliação da segregação do fármaco a partir das microcápsulas/micropartículas carregadas com indometacina, forneceram, em conjunto, fortes indícios do estabelecimento de uma ligação covalente entre a caseína e a indometacina. Entretanto, como discutido em todas as seções, não foi possível afirmar que essa hipótese seja verdadeira. A possibilidade da ocorrência de degradação do fármaco, catalisada pela proteína durante a secagem por leito de jorro, é um estímulo para a execução de análises que possuam caráter confirmatório, como por exemplo, as análises de espectrometria de massa.

Seja qual for a natureza da interação, é válido investigar as variáveis da técnica de leito de jorro que possam estar ocasionando a retenção da indometacina no sistema e, portanto, essa abordagem está descrita a seguir.

Figura 38. Espectros no infravermelho das micropartículas caseína-indometacina após secagem por leite de jorro (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila

Figura 39. Espectros no infravermelho da caseína (a) Visão geral; (b) Região de absorção dos grupamentos carbonila.

5.6 INVESTIGAÇÃO DA INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS OPERACIONAIS DA TÉCNICA DE LEITO DE JORRO SOBRE O TEMPO MÉDIO DE RESIDÊNCIA E SOBRE A INTERAÇÃO INDOMETACINA-CASEÍNA

Visando uma melhor compreensão da interação sugerida entre a indometacina e a caseína, optou-se por avaliar a influência de duas importantes variáveis operacionais da técnica de leito de jorro (vazão e temperatura de entrada do ar) sobre o estabelecimento da mesma. Adicionalmente, procurou-se avaliar a influência destas variáveis sobre o tempo médio de residência do material no secador, na tentativa de verificar indiretamente o efeito deste sobre a formação da referida interação. Os resultados experimentais obtidos a partir da aplicação da matriz do planejamento fatorial tipo 2^2 com um ponto central (Tabela 7), estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Dados referentes ao nível de recuperação de indometacina e tempo médio de residência na secagem das microcápsulas sob diferentes condições operacionais em leito de jorro convencional

TEMPERATURA (°C)	VAZÃO DE AR (V/Vmj)	T (min.)	% INDOMETACINA RECUPERADA
65	1,3	15,47	31,71
65	1,6	15,60	32,04
110	1,3	16,80	52,78
110	1,6	15,16	27,18
110	1,3	16,17	51,13

É válido lembrar, que a avaliação da segregação da indometacina na secagem das microcápsulas por leito de jorro, forneceu indícios de que o tempo de exposição dos materiais à energia térmica não influi decisivamente sobre a formação da interação indometacina-caseína. A confirmação dessa suposição foi obtida pela secagem das microcápsulas em estufa com ar circulante a 95°C, com coleta de material realizada em intervalos de tempo variando

de 5 a 60 minutos. Em todas as amostras analisadas a partir dessa abordagem, o teor de indometacina se manteve no mesmo nível em relação à amostra padrão (não submetida ao tratamento térmico) (dados não mostrados).

Entretanto, a opção por avaliar o efeito da magnitude dos valores de T obtidos sobre a interação fármaco-polímero se baseou em outra importante característica do regime de jorro: a ocorrência de atrito entre as partículas inertes durante o processamento. A literatura relata (WATANABE et al., 2001) a ocorrência de uma interação mecanoquímica entre a indometacina e a sílica coloidal, após a cominuição de ambas em um moinho de bolas equipado com esferas de zircônio de 10 mm de diâmetro, sendo que os autores verificaram a dependência da interação frente ao tempo de cominuição empregado. De acordo com esses dados, considerou-se importante no presente trabalho, avaliar a influência do tempo médio de residência do material sobre a formação da interação fármaco-proteína, apesar dos resultados obtidos no estudo cinético em estufa de ar circulante, acima discutidos.

A análise estatística dos dados da Tabela 16, por ANOVA, mostrou a ausência de significância de ambas as variáveis operacionais testadas em relação ao tempo médio de residência das microcápsulas.

Segundo Mathur e Epstein (1974), quando do aumento da vazão de ar no leito, se esperaria observar maiores taxas de circulação de sólidos, que deveriam, por sua vez, levar a um maior nível de atrito entre as partículas inertes. Como consequência dessa relação vazão-atrito, também seria esperado um aumento na constante da cinética de remoção do filme seco a partir da superfície dos inertes, e, por conseguinte, uma diminuição no tempo médio de residência do material.

No entanto, essa tendência não foi observada a partir dos dados da Tabela 16. A explicação para esse fato pode estar, como anteriormente discutido (seção 5.2.3), no suposto efeito preponderante da espessura do filme seco sobre a cinética de remoção do mesmo,

levando em consideração a relação inversa entre a taxa de circulação e a espessura do filme formado. Dessa forma, com maiores vazões de ar ($V/V_{mj}=1,6$) esperar-se-ia que a espessura do filme fosse menor e que esse efeito se contraporia ao aumento da turbulência nessa condição, mantendo, como observado no presente trabalho, os valores de T estáveis.

O raciocínio desenvolvido no parágrafo acima já havia sido aplicado no presente trabalho para explicar o aumento nos valores de T resultante do aumento na relação H/H_{max} , durante a secagem de cloreto de sódio em leito de jorro. A tendência de aumento nos valores de T, nessa situação em particular, está de acordo com os dados de Berni e Freitas (2005) que secaram o mesmo material pela referida técnica.

No entanto, os autores acima citados verificaram uma diminuição nos valores de T com o aumento na vazão de ar fornecida ao sistema, ao passo que, no presente trabalho, observou-se uma estabilização desses valores. Como nesse caso, a principal diferença entre os trabalhos está na natureza da pasta, foi sugerido que o efeito da mesma sobre a remoção do filme é o responsável pela estabilização dos valores de T observada, ao invés da diminuição esperada.

De forma similar ao discutido acima, verificou-se que o aumento da temperatura do leito não exerceu influência significativa sobre os valores de T observados, o que sugeriu a preponderância da cinética de remoção em relação à de secagem, na determinação do tempo médio de residência desse material em leito de jorro convencional.

A manutenção de valores de T estáveis após a aplicação de diferentes níveis das variáveis operacionais supracitadas, não permitiu o estabelecimento de uma relação causa-efeito entre a resposta T e a ocorrência da interação fármaco-polímero.

Por outro lado, observou-se a influência direta das variáveis operacionais estudadas frente ao estabelecimento da interação. A análise estatística dos dados da Tabela 16, realizada em função da recuperação de indometacina, mostrou que tanto a temperatura de entrada do ar

quanto a vazão do mesmo apresentaram significância em um nível de 10%. A interação dessas variáveis também se apresentou significativa a 10%. A Figura 40 mostra a tendência de aumento no grau de interação fármaco-polímero (redução da recuperação do fármaco) com o aumento na vazão do ar de secagem e com a diminuição da temperatura.

A influência do aumento da vazão de ar (e maior atrito no leito) sobre a porcentagem de indometacina recuperada está de acordo com o apresentado por Watanabe et al. (2001), como discutido no início dessa seção.

Portanto, e de forma preliminar, foi possível sugerir, a partir do conjunto de dados obtidos no presente trabalho, a ocorrência de uma ligação química entre a caseína e a indometacina ocasionada principalmente pelo atrito entre esses materiais durante o processamento pela técnica de leito de jorro convencional. Porém, é evidente que investigações adicionais devem ser realizadas nesse sentido, para confirmar tal hipótese.

Por outro lado, a tendência de aumento no grau da interação indometacina-caseína em função da redução na temperatura de entrada do ar (Figura 40) é inesperada e exige uma investigação adicional.

Após reunir indícios do estabelecimento de uma interação indometacina-caseína de natureza forte e propor a ação “catalisadora” do atrito interparticular na formação desse “novo produto”, por leito de jorro convencional, é necessário avaliar se tal fenômeno compromete ou amplia a funcionalidade desses sistemas frente àqueles obtidos após a secagem por *spray drying*. Dessa forma, o restante desse texto descreve e discute os resultados das abordagens empregadas para responder essa questão.

Figura 40. Gráfico de superfície de resposta da porcentagem de indometacina recuperada em função da temperatura e vazão de ar na secagem de microcápsulas de caseína-pectina em leite de jorro convencional

5.7 AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO E SPRAY DRYING: ESTUDOS DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Um dos ensaios mais importantes na avaliação do desempenho de sistemas de liberação sólidos projetados para administração oral é o estudo do perfil de dissolução *in vitro* dos fármacos incorporados nos mesmos. Desde a década de 1960, a Farmacopéia Norte-Americana adota oficialmente esse tipo de ensaio para a avaliação da qualidade e desempenho de formas sólidas, que é empregado tanto no processo de desenvolvimento de novas formulações quanto no controle de qualidade das já existentes (KHAN, 1996).

No presente trabalho, a realização dos estudos de dissolução têm como objetivo: (1) avaliar a influência das diferentes técnicas de secagem empregadas sobre as características de liberação das microcápsulas de caseína-pectina; (2) avaliar se a interação indometacina-polímero é revertida nas condições do ensaio; (3) avaliar se o processo de reticulação do

material polimérico efetivamente ocorre e se esse procedimento resulta em melhorias no prolongamento da liberação de fármacos com diferentes coeficientes de solubilidade aquosa; (4) avaliar se a labilidade enzimática da pectina é alterada por sua complexação com a caseína e pelo procedimento de reticulação empregado.

5.7.1 Estudo de dissolução das microcápsulas contendo indometacina

Os perfis de liberação da indometacina a partir de microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e não reticuladas, e secas por leito de jorro e por *spray drying* estão apresentados nas Figuras 41 e 44.

A Figura 41 mostra os perfis de liberação referentes as microcápsulas reticuladas e indometacina não encapsulada. É importante observar que os dados de liberação obtidos a partir da microcápsulas secas por leito de jorro estão apresentados em duas diferentes curvas nas Figuras 41 e 44: (1) plotada empregando a porcentagem de fármaco dissolvida corrigida em função dos dados de recuperação e, (2) plotada empregando a porcentagem real dissolvida (valores não corrigidos).

Pela análise da Figura 41 observa-se uma liberação ou dissolução negligenciável da indometacina (livre ou incorporada nas microcápsulas), durante as primeiras duas horas do ensaio (meio ácido, HCL 0,1 M). Esse comportamento é resultado direto da reduzida solubilidade do fármaco nesse meio. Por outro lado, após 60 minutos de contato com o meio tamponado em pH 6,8 (180 minutos de ensaio), verificou-se uma dissolução considerável do fármaco não encapsulado (~70%), sendo que ao final do ensaio essa porcentagem atingiu a totalidade do valor teórico esperado.

Diferentemente ao observado no caso do fármaco livre, as microcápsulas reticuladas e secas por ambos os métodos em questão, apresentaram uma liberação mais gradativa tanto

em pH 6,8 quanto em pH 7,4, atingindo, após 180 minutos de ensaio, porcentagens liberadas de 26 e 37% (corrigidas) para o material seco por *spray drying* e leite de jorro, respectivamente.

Após 360 minutos de ensaio (ponto de mudança do pH do meio de 6,8 para 7,4) as porcentagens liberadas atingiram 60 e 77%, chegando a 85 e 96 % no final do experimento (para microcápsulas secas por *spray* e jorro, respectivamente – dados corrigidos).

Apesar de se observar uma liberação prolongada do fármaco a partir dos sistemas em questão, observa-se que sua eficiência, em termos da liberação cólon-específica, ainda foi reduzida, visto que no intervalo compreendido entre 360 e 600 minutos de ensaio (período no qual o meio de dissolução possui características mais próximas às encontradas na região colônica) a liberação do sistema mais eficiente (seco por *spray drying*) foi de cerca de apenas 25 % do total dissolvido ao final do ensaio.

Adicionalmente, é importante observar que a extensão total de indometacina liberada a partir das microcápsulas secas por leite de jorro (mostrada na curva não corrigida da Figura 41) foi de apenas 50,8 %, sendo muito próxima a quantidade total extraída no ensaio de recuperação, e muito abaixo do observado para o material seco por *spray drying*. Esse fato denota a irreversibilidade da interação fármaco-proteína nas condições empregadas no ensaio de dissolução.

É importante ressaltar, que a adição de enzimas pectinolíticas (após 360 minutos do início do experimento) não causou qualquer modificação no perfil de liberação das microcápsulas reticuladas e secas por qualquer dos métodos aqui estudados. Esse fato se deve provavelmente a resistência da pectina à ação enzimática, conferida pela adição do agente reticulante. Discussão mais detalhada sobre esse assunto está apresentada juntamente com os dados referentes à dissolução das microcápsulas não reticuladas.

A manutenção da integridade estrutural dos sistemas reticulados após o término do ensaio de dissolução, pode ser observada pela análise das fotomicrografias ópticas dos géis formados, apresentadas na Figura 42.

As diferenças entre as inclinações das curvas referentes a indometacina livre e encapsulada sugeriram, assim como outras técnicas utilizadas no presente trabalho, que a eficiência de encapsulação do fármaco no procedimento de coacervação foi elevada.

Figura 41. Perfil de dissolução da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas

Figura 42. Fotomicrografias ópticas das microcápsulas de caseína-pectina reticuladas após o ensaio de dissolução *in vitro*. (a) leito de jorro, em aumento de 100x; (b) *spray drying*., em aumento de 400x.

A Tabela 17 mostra os dados obtidos a partir da linearização das curvas da Figura 41 de acordo com o modelo cinético de primeira ordem e de Higuchi. É válido ressaltar, que para as curvas apresentadas na Figura 41, os dados linearizados correspondem àqueles incluídos na faixa compreendida entre os tempos de ensaio de 150 a 600 minutos, desde que se optou por

não incluir os pontos onde a curva se encontra em estado estacionário, como àqueles referentes às duas primeiras horas de ensaio.

Tabela 17 - Valores de velocidade de dissolução da indometacina encapsulada em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e secas por leite de jorro e por *spray drying*, e seus respectivos coeficientes de correlação obtidos segundo os modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi.

PROCESSO DE SECAGEM	MODELO DE PRIMEIRA ORDEM	MODELO DE HIGUCHI
<i>Spray drying</i>	$R^2=0,8480$ $K=0,0016$	$R^2=0,9806$ $K=5,65$
Leito de jorro	$R^2=0,7979$ $K=0,0016$	$R^2=0,9429$ $K=5,98$

Através da análise da Tabela 17, observa-se que os maiores coeficientes de correlação linear são obtidos quando da linearização de qualquer uma das curvas pelo modelo de Higuchi. A maior linearidade obtida quando da aplicação do referido modelo sugere que a liberação do fármaco se dá principalmente por difusão do mesmo na matriz polimérica.

Adicionalmente, é possível observar a pequena diferença entre as constantes de velocidade calculadas para as microcápsulas secas por leite de jorro e por *spray drying*, o que denota um pequeno grau de ruptura do material seco por leite de jorro, de acordo com o anteriormente relatado na literatura (BARACAT et al., 2004). É claro que se considerarmos que a área exposta ao meio de dissolução, nas microcápsulas secas por leite de jorro, é consideravelmente inferior àquela apresentada pelo material seco por *spray drying* (ver seção 5.3.2), esperaríamos valores de K mais reduzidos no primeiro caso, o que não ocorre. Portanto, apesar da similaridade entre os perfis de dissolução é possível que algum grau de rompimento das microcápsulas aconteça após sua secagem por leite de jorro.

A Figura 43 mostra os gráficos obtidos a partir da linearização das curvas de dissolução (corrigidas) das microcápsulas reticuladas e secas por leite de jorro e por *spray drying*.

Figura 43. Curvas de dissolução da indometacina a partir das microcápsulas reticuladas e secas por *spray drying* e leite de jorro, após linearização pelos modelos de primeira ordem e de Higuchi. (a) *spray drying* – modelo de Higuchi; (b) *spray drying* – modelo de primeira ordem; (c) leite de jorro – modelo de Higuchi; (d) leite de jorro – modelo de primeira ordem.

A Figura 44, por sua vez, mostra o perfil de liberação da indometacina a partir das microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas.

Figura 44. Perfil de dissolução da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas

Assim como observado na Figura 41, não houve liberação do fármaco a partir dos sistemas não reticulados, quando os materiais estão em contato com meio ácido (até 120 minutos de ensaio). No entanto, diferenças substanciais nos perfis de liberação da indometacina foram observadas, quando da comparação entre as formulações não reticuladas secas por leito de jorro e *spray drying*, e entre estas frente às reticuladas e secas pelo mesmo método.

A comparação entre os perfis de liberação das microcápsulas reticuladas e não reticuladas secas por *spray drying* mostrou um comportamento similar somente até os primeiros 180 minutos do ensaio. Nesse ponto, o material não reticulado liberou 31 % de indometacina (contra 26 % da formulação reticulada), sendo que a diferença entre as formulações está dentro do desvio padrão calculado em ambos os experimentos.

Por outro lado, quando se examina a região da curva pós-adição das enzimas pectinolíticas (360 minutos), as diferenças são visivelmente marcantes. No caso da formulação não reticulada observou-se um aumento substancial na liberação do fármaco causado pela degradação enzimática da pectina, que resultou na desestruturação do sistema. Dessa forma, a curva de liberação obtida a partir dessa formulação mostrou um comportamento bifásico, o que não ocorreu quando a reticulação do material foi realizada.

A perda da integridade estrutural das microcápsulas não reticuladas foi confirmada pela inexistência de material estruturado nas análises de microscopia óptica, realizadas ao final do ensaio de dissolução (dados não mostrados).

Os dados relatados acima para as microcápsulas não reticuladas e secas por *spray drying* mostraram que as interações estabelecidas entre a caseína e a pectina, durante o processo de coacervação, não afetaram a susceptibilidade do polissacarídeo à degradação enzimática, e indiretamente confirmam que o processo de reticulação ocorre e impede a desestruturação do sistema após a adição das enzimas pectinolíticas, como discutido anteriormente, no caso das formulações reticuladas.

O comportamento bifásico apresentado pela formulação não reticulada acarretou um ganho em eficiência de liberação cólon-específica. Nesse caso, cerca de 38 % do total de indometacina dissolvida ao final do ensaio, foram liberados a partir de 360 minutos (contra 25 % da formulação reticulada). No entanto, a eficiência ainda pode ser considerada baixa e se deve provavelmente ao reduzido controle da solubilidade aquosa da pectina por parte da caseína.

No caso das microcápsulas secas por leito de jorro não se observou um aumento na liberação do fármaco após a adição das enzimas pectinolíticas, pois a quantidade liberada nesse momento foi praticamente total (ver discussão abaixo). No entanto, a análise por microscopia óptica desse material, realizada após o ensaio de dissolução, não permitiu a

visualização das microcápsulas, o que também confirmou a ação das enzimas pectinolíticas sobre o sistema seco por leite de jorro.

A análise das porcentagens de indometacina liberadas a partir das microcápsulas não reticuladas e secas por leite de jorro, mostrou, diferentemente ao observado para a formulação reticulada, uma liberação muito próxima à apresentada pelo fármaco não encapsulado, atingindo um estado quase estacionário de liberação com apenas 210 minutos de ensaio (correspondentes à 90 minutos de contato com meio pH 6,8). Nesse ponto, os valores liberados (corrigidos) ficaram próximos a 92 % do total teórico esperado. Essa rápida dissolução do fármaco está provavelmente relacionada a ruptura das microcápsulas durante o processamento por leite de jorro, a qual deve ser resultado de alterações nas propriedades mecânicas do revestimento, ocasionadas pela ausência do agente reticulante. É válido ressaltar, que não foi possível constatar a presença de cristais livres do fármaco na análise do material por microscopia eletrônica de varredura.

Uma vez mais, não se observou pela análise da curva não corrigida da Figura 44, a liberação de porcentagens de indometacina em níveis similares aos encontrados no caso do material seco por *spray*.

Os dados obtidos a partir da linearização das curvas da Figura 44, empregando os modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi, estão apresentados na Tabela 18. É importante observar, que a linearização no caso das microcápsulas não reticuladas foi realizada em diferentes segmentos da curva, determinados pela análise visual de cada uma delas (de forma a excluir as faixas estacionárias). Dessa forma, como a curva referente a secagem por *spray drying* se apresenta bifásica, optou-se por linearizá-la nas regiões de 150 a 360 minutos (1º fase da Tabela 18) e entre 360-450 minutos (2º fase da Tabela 18). No caso das microcápsulas secas por leite de jorro optou-se por linearizar a curva na região compreendida entre 150 e 210 minutos (1º fase da Tabela 18)

Tabela 18 - Valores de velocidade de dissolução da indometacina incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leite de jorro e *spray drying*, e seus respectivos coeficientes de correlação obtidos segundo os modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi.

OPERAÇÃO DE SECAGEM/	EQUAÇÃO DE PRIMEIRA ORDEM		EQUAÇÃO DE HIGUCHI	
	1º fase	2º fase	1º fase	2º fase
<i>Spray drying</i>	$R^2=0,7077$ $K=0,0020$	$R^2=0,8790$ $K=0,0014$	$R^2=0,8787$ $K=4,86$	$R^2=0,8988$ $K=7,71$
Leito de jorro	$R^2=0,8122$ $K=0,0046$	-----	$R^2=0,8492$ $K=19,61$	-----

Assim como no caso das microcápsulas reticuladas, os maiores índices de correlação foram obtidos pela aplicação do modelo de Higuchi. As constantes de velocidade (K) apresentadas na Tabela 18, confirmam o discutido na análise visual das curvas, mostrando que a velocidade de liberação da indometacina a partir das microcápsulas secas por leite de jorro, foi mais do que quatro vezes superior à observada por *spray drying*. Adicionalmente, verificou-se que a degradação enzimática da pectina nos sistemas secos por *spray*, ocasionou uma liberação do fármaco, após 360 minutos, em velocidade quase duas vezes superior à observada na primeira parte da curva.

Quando da comparação das constantes de velocidade de liberação de Higuchi, para as microcápsulas reticuladas e não reticuladas (apresentadas nas Tabelas 17 e 18, respectivamente) verificou-se que o processo de reticulação, apesar de contribuir para a manutenção da integridade estrutural das microcápsulas secas por leite de jorro, não influi sobre o desempenho na liberação da indometacina nos sistemas secos por *spray drying*, provavelmente por não reduzir suficientemente a abertura da malha polimérica na parede das microcápsulas.

A Figura 45 mostra as curvas de dissolução das microcápsulas não reticuladas, secas por ambos os métodos em questão, após linearização das mesmas pelos modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi.

Figura 45. Curvas de dissolução da indometacina a partir das microcápsulas não reticuladas linearizadas pelos modelos cinéticos de primeira ordem e de Higuchi. (a) leito de jorro – modelo de primeira ordem; (b) leito de jorro – modelo de Higuchi; (c) *spray drying* – modelo de primeira ordem (150 – 360 minutos); (d) *spray drying* – modelo de Higuchi (150 – 360 minutos); (e) *spray drying* – modelo de primeira ordem (360-480 minutos); (f) *spray drying* – modelo de Higuchi (360-450 minutos).

De acordo com os objetivos relatados no início dessa seção, os dados de liberação *in vitro* da indometacina a partir das microcápsulas de caseína-pectina permitiram concluir que: (1) a complexação da pectina com a caseína não impediu a degradação enzimática do polissacarídeo, diferentemente ao observado quando da reticulação do material; (2) quando o procedimento de reticulação é empregado, não houve diferenças substanciais na velocidade de liberação do fármaco nos sistemas secos por ambos os métodos avaliados; (3) a reticulação influi positivamente na secagem por leite de jorro, mas diminui a eficiência de liberação cólon-específica a partir dos sistemas secos por *spray drying*, (4) não houve reversão da interação indometacina-caseína nas condições do ensaio de dissolução.

5.7.2 Estudo de dissolução das microcápsulas contendo paracetamol

A Figura 46 mostra o perfil de dissolução do paracetamol não encapsulado e incorporado em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas e secas por leite de jorro e *spray drying*.

A análise dos perfis apresentados na Figura 46 mostrou grande similaridade na liberação do paracetamol a partir dos sistemas secos por ambos os métodos em questão. Entretanto, observou-se que, diferentemente ao caso da indometacina, a liberação do fármaco se completou em tempos que variaram de 150 a 210 minutos (dependendo do processo de secagem), o que denotou a reduzida eficiência no prolongamento da liberação a partir das microcápsulas de caseína-pectina, quando da incorporação de fármacos com elevado coeficiente de solubilidade aquosa e tamanho molecular reduzido.

Figura 46. Perfil de dissolução do paracetamol livre e incorporado em microcápsulas de caseína-pectina reticuladas

Por outro lado, verificou-se uma diminuição na inclinação das curvas referentes às microcápsulas quando comparadas a do fármaco não encapsulado, e observou-se que a porcentagem liberada de paracetamol não encapsulado nos primeiros 30 minutos de ensaio chegou a 90 % contra, em média, os 45 % observados a partir das microcápsulas. Esses dados permitiram sugerir uma razoável encapsulação do paracetamol durante o processo de coacervação complexa empregado, em consonância com o discutido na seção referente a microscopia eletrônica das microcápsulas.

É importante lembrar que no caso do paracetamol, a porcentagem de fármaco recuperada nos procedimentos de recuperação, a partir dos sistemas reticulados e não reticulados, foi muito próxima ao total teórico esperado, e esse comportamento foi verificado também nos estudos de dissolução das microcápsulas secas por leite de jorro, nos quais a porcentagem liberada após o término do ensaio foi quase idêntica àquela verificada nos ensaios de recuperação.

O discutido no parágrafo acima denota a inexistência de interações entre o polímero e o paracetamol após a secagem por leito de jorro, e permite afirmar que a interação fármaco-polímero proposta nesse trabalho ocorre especificamente entre a indometacina e a caseína, nas condições de secagem oferecidas pelo método de leito de jorro.

A Figura 47 mostra o perfil de liberação do paracetamol a partir das microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas. As curvas apresentadas são semelhantes entre si e em relação àquelas observadas na Figura 46.

Figura 47. Perfil de dissolução do paracetamol livre e incorporado em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas

Entretanto, quando se compara o perfil de dissolução das microcápsulas não reticuladas e secas por leito de jorro, contendo indometacina e paracetamol, observa-se uma diferença marcante. A curva referente as microcápsulas carregadas com indometacina (Figura 44) mostrou uma liberação muito rápida do fármaco quando comparada as outras formulações contendo o mesmo fármaco. No caso do paracetamol isso não foi observado. A explicação

para tal discrepância pode estar na influência do tamanho dos cristais incorporados, que no caso da indometacina, foram consideravelmente maiores (como discutido em outras seções nesse texto), e podem “catalisar” a ruptura das microcápsulas carregadas com este fármaco, durante a secagem por leito de jorro.

De qualquer forma os perfis apresentados nas Figuras 46 e 47, juntamente com a análise dos dados de velocidade de liberação da indometacina, nos permitiram concluir que o desempenho dos sistemas secos por leito de jorro e por *spray drying*, dentro das condições de secagem aplicadas nesse trabalho, foi muito semelhante (com exceção das microcápsulas não reticuladas e carregadas com indometacina). Esse fato, juntamente com o maior aproveitamento energético e a maior capacidade evaporativa dos equipamentos do tipo leito de jorro, indica que a aplicação dessa técnica na secagem de pastas merece ser estudada com profundidade, visando estabelecer seu emprego para a produção industrial em escalas reduzidas, como às observadas no âmbito da indústria farmacêutica. Entretanto, e como anteriormente discutido, é necessária a realização de estudos de otimização das condições operacionais do secador, de forma a contornar outros problemas produtivos tipicamente observados quando da aplicação da referida técnica na secagem de materiais pastosos.

5.8 AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DAS MICROCÁPSULAS SECAS POR LEITO DE JORRO E SPRAY DRYING: ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA *IN VIVO* DA INDOMETACINA INCORPORADA EM MICROCÁPSULAS NÃO RETICULADAS

Na seqüência da avaliação comparativa do desempenho das microcápsulas de caseína-pectina, após a secagem pelos métodos propostos nesse trabalho, optou-se por utilizar uma metodologia de avaliação *in vivo*, no intuito de verificar se as tendências observadas no

estudo *in vitro* se mantém após a inserção do sistema de liberação em um ambiente de maior complexidade. O modelo animal empregado (roedor) possui uma microflora colônica muito similar à observada nos seres humanos (YANG; CHU; FIX, 2002), sendo a atividade enzimática exercida sobre o sistema muito mais diversificada em relação à simples adição do Pectinex[®] ao meio de dissolução.

Dessa forma, supõe-se que o modelo *in vivo* poderia funcionar como uma ferramenta importante na avaliação da labilidade enzimática da suposta interação covalente estabelecida entre a indometacina e a caseína.

A Figura 48 mostra o grau de extravasamento protéico e de migração leucocitária em grupos de camundongos injetados com salina (controle) ou com carragenina (agente pró-inflamatório). O tratamento foi realizado com indometacina livre ou incorporada nas microcápsulas secas por jorro e *spray*, sempre uma hora antes da injeção de carragenina ou de solução salina.

A Figura 48(a) mostra o efeito dos tratamentos acima descritos sobre o extravasamento protéico induzido pela carragenina. Observou-se uma diminuição significativa da resposta em questão, quando da administração tanto do fármaco livre quanto incorporado nas microcápsulas de caseína-pectina secas por qualquer dos métodos avaliados. Adicionalmente, verificou-se a ausência de inibição no extravasamento protéico quando da administração das microcápsulas de caseína-pectina inertes.

Por outro lado, a análise da Figura 48 (b), referente ao número de leucócitos totais na cavidade pleural, somente mostrou a existência de efeito inibitório do fármaco nos grupos que recebem a dispersão de indometacina livre e incorporada em microcápsulas secas por leito de jorro. O tratamento com o material seco por *spray drying* não resultou em inibição da migração leucocitária.

Esses dados estão em plena concordância com o perfil de dissolução das microcápsulas não reticuladas (Figura 44), que mostrou uma liberação de indometacina a partir das microcápsulas secas por leito de jorro, em velocidade muito similar à observada para o fármaco livre. É válido ressaltar, que em termos absolutos, a porcentagem de indometacina liberada a partir da microcápsulas secas por leito de jorro (após 5 horas do início do estudo *in vitro*, que consiste em período de tempo idêntico ao observado entre a administração e a obtenção dos resultados *in vivo*) foi muito próxima àquela relativa as microcápsulas secas por *spray drying*. Entretanto, o componente cinético foi, como discutido acima, determinante dos resultados observados na Figura 48 (b).

A Figura 48 (c) mostra o número de neutrófilos por cavidade pleural determinados após 4 horas da aplicação do agente irritante. As tendências de inibição desse tipo celular estão perfeitamente de acordo com o discutido para a Figura 48 (b). Por outro lado, os gráficos referentes à migração de monócitos e eosinófilos na cavidade pleural não foram apresentados nesse texto, pois sua migração não é característica da resposta imediata em quadros inflamatórios agudos (GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 1993). Portanto, a aplicação de carragenina não ocasionou uma migração significativa dessas células em relação ao grupo controle (tratado com solução salina).

Figura 48. Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina livre e incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leito de jorro e *spray drying*, após administração das mesmas por via oral uma hora antes do estímulo com carragenina.

Microcápsulas vazias secas por *spray drying* (VSD); vazias secas por leito de jorro (VLJ); carregadas e secas por *spray drying* (CISD); carregadas e secas por leito de jorro (CILJ); indometacina não encapsulada (indo). * Estatisticamente significativa em relação ao grupo salina $P < 0,05$ # Estatisticamente significativa em relação ao grupo carragenina $P < 0,05$.

Uma possível explicação para as diferenças de comportamento entre as duas respostas estudadas (Figuras 48a e 48b), no que se refere aos grupos tratados com as microcápsulas secas por *spray drying*, pode ser proposta a partir da análise dos resultados de Miyasaka e Mikami (1982).

Os autores supracitados estudaram o efeito inibitório da indometacina sobre o volume de edema e migração leucocitária em ratos, empregando um modelo de edema de pata induzido por carragenina. Seus resultados mostraram que a indometacina administrada por via oral, na dose de 10 mg/Kg (1 hora antes do estímulo inflamatório), inibe significativamente a formação do edema nas primeiras 3 a 6 horas após a injeção de carragenina, mantendo esse efeito até a décima quinta hora pós-injeção do agente irritante. Esse comportamento foi diferente ao observado quando a resposta analisada foi a migração leucocitária, para a qual os autores verificaram uma inibição significativa apenas a partir da nona hora de estudo, que se mantém até a vigésima quarta hora pós-injeção de carragenina.

É importante salientar que, no presente trabalho, a indometacina livre inibe (após a quarta hora da administração da carragenina) qualquer uma das respostas inflamatórias estudadas. Entretanto, deve-se levar em consideração que a resposta estudada aqui (extravasamento protéico) é relacionada, mas não idêntica à estudada pelos pesquisadores japoneses (volume do edema). Nesse ponto, pode residir a discrepância entre os resultados obtidos a partir do tratamento com o fármaco puro. Entretanto, a análise dos resultados de Miyasaka e Mikami (1982) aplicada aos resultados aqui obtidos, sugere que a sensibilidade das repostas inflamatórias em questão frente a inibição pela indometacina, mostra padrões inversos em função do tempo transcorrido a partir da injeção de carragenina. Em outras palavras, é possível que as concentrações plasmáticas de indometacina atingidas nos grupos tratados com as microcápsulas secas por *spray drying*, sejam suficientes para inibir o extravasamento protéico (resposta mais sensível no período inicial do processo inflamatório)

mas insuficientes para reduzir a migração leucocitária para a cavidade pleural (resposta menos sensível).

A Figura 49 mostra os resultados obtidos a partir da aplicação do mesmo protocolo, porém com administração das microcápsulas e do fármaco livre realizada 24 horas antes do estímulo com carragenina. A realização desse protocolo teve como objetivo avaliar se as diferenças nas porcentagens absolutas de indometacina liberada ao final do ensaio *in vitro* (jorro X *spray*) estão correlacionadas com a atividade apresentada pelo fármaco *in vivo*. Além disso, pretendeu-se verificar se a suposta ligação covalente entre a indometacina e a caseína é passível de clivagem nas condições encontradas no trato gastrointestinal dos camundongos.

A análise da Figura 49 (a) mostra que a indometacina não encapsulada apresentou efeito inibitório significativo sobre o extravasamento protéico na pleura de camundongos, tratados 24 horas antes da administração de carragenina. No entanto, os grupos tratados com as microcápsulas carregadas e secas por leito de jorro e por *spray drying* não apresentaram efeito estatisticamente significativo nesse tempo. Por outro lado, as Figuras 49 (b) e (c), referentes a inibição da migração leucocitária, mostraram atividade tanto para a indometacina não encapsulada quanto para a incorporada nas microcápsulas secas por ambos os métodos em questão.

A explicação para as diferenças no comportamento das repostas estudadas após o tratamento de 24 horas com as microcápsulas, pode estar, uma vez mais, na diferenças de sensibilidade das referidas respostas frente a concentração plasmática da indometacina (como discutido acima), associada às diferenças na cinética de liberação das microcápsulas não reticuladas (Figura 44). Em outras palavras, é possível que o tempo de trânsito gastrointestinal juntamente com a liberação prolongada conferida pelas microcápsulas resulte, no caso do material seco por *spray drying*, em uma menor biodisponibilidade da indometacina quando comparada à obtida no grupo tratado com o fármaco livre, o qual é rápido e amplamente

absorvido após administração oral (GILMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 1993). Em outras palavras, as menores concentrações plasmáticas obtidas no caso das microcápsulas secas por *spray* seriam suficientes para causar a inibição da migração leucocitária mas insuficientes para inibir o extravasamento protéico, de forma inversa à relatada para o experimento de 4 horas.

Esperar-se-ia que a mesma explicação fosse apresentada no caso dos grupos tratados com microcápsulas secas por leite de jorro. No entanto, é importante lembrar que a liberação *in vitro* do fármaco a partir desse material segue uma cinética muito semelhante à apresentada pelo fármaco livre. Portanto, o raciocínio acima não pode ser aplicado à formulação seca por leite de jorro, a qual deveria apresentar o mesmo comportamento no ensaio de extravasamento protéico que o fármaco livre apresenta. Dessa forma, é possível sugerir que a interação indometacina-caseína se mantém íntegra no ambiente biológico e indisponibiliza uma boa parte da fração de indometacina na formulação. O efeito levemente menor das microcápsulas secas por leite de jorro sobre a migração leucocitária, mostrado nas Figuras 49 (b) e (c), vem reforçar o sugerido nesse parágrafo.

Entretanto, uma avaliação cinética *in vivo* mais completa deverá ser realizada para confirmar esse comportamento. Além disso, um estudo cinético melhor delineado forneceria mais subsídios para uma avaliação precisa do desempenho das microcápsulas *in vivo*, visto que os parâmetros farmacocinéticos da indometacina em roedores (meia vida terminal de 15 horas (KIM et al., 2001)), tornam difícil, dentro das condições empregadas nesse estudo (tempo de administração), concluir satisfatoriamente sobre os possíveis benefícios terapêuticos da administração das microcápsulas de caseína-pectina contendo indometacina.

O conjunto de achados experimentais apresentado nesse trabalho, permitem-nos afirmar que a secagem de microcápsulas de caseína-pectina carregadas com indometacina pela técnica de leite de jorro, resulta no estabelecimento de uma interação entre o fármaco e a

caseína que provavelmente possui natureza covalente, não sendo revertida nem mesmo sob condições *in vivo*. A confirmação da natureza dessa interação deve ser adicionalmente investigada através do uso de metodologias com caráter resolutivo, como, por exemplo, as análises por espectroscopia de massa.

Por outro lado, a análise comparativa dos perfis de dissolução *in vitro* das microcápsulas secas por leite de jorro, contendo paracetamol ou indometacina, frente ao material seco por *spray drying*, permite inferir que o primeiro método possui potencial na secagem desse tipo de material, por possibilitar a obtenção de sistemas com qualidade semelhante à observada nos produtos secos por *spray*, em uma operação com menor gasto energético realizada em um secador que apresenta elevada capacidade evaporativa.

Figura 49. Avaliação da atividade antiinflamatória da indometacina incorporada em microcápsulas de caseína-pectina não reticuladas e secas por leito de jorro e *spray drying*, após administração das mesmas por via oral 24 horas antes do estímulo com carragenina. Microcápsulas vazias secas por *spray drying* (VSD); vazias secas por leito de jorro (VLJ); carregadas e secas por *spray drying* (CISC); carregadas e secas por leito de jorro (CILJ); indometacina não encapsulada (indo). * Estatisticamente significante em relação ao grupo salina $P < 0,05$ # Estatisticamente significante em relação ao grupo carragenina $P < 0,05$.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

Os dados experimentais obtidos no presente trabalho permitiram a elaboração das seguintes conclusões:

1. O processo de coacervação complexa utilizado possibilitou a obtenção de microcápsulas inertes com forma aproximadamente esférica e distribuição de tamanho homogênea. A incorporação de fármacos com diferentes coeficientes de solubilidade aquosa altera a morfologia e distribuição de tamanho das microcápsulas, sendo que fármacos mais insolúveis as tornam mais irregulares em forma e tamanho. Além disso, os estudos morfológicos sugerem alta eficiência de encapsulação dos fármacos nas microcápsulas durante o processo de coacervação complexa;
2. O secador tipo leito de jorro empregado mostrou uma maior capacidade evaporativa volumétrica para água quando comparado ao secador do tipo *spray dryer*, mas por outro lado, demonstrou forte instabilidade fluidodinâmica na presença de pasta, que resultou na diminuição de sua capacidade produtiva; Adicionalmente, observou-se um aproveitamento energético mais que duas vezes superior na secagem das microcápsulas por leito de jorro, quando comparado ao processamento por *spray drying*;
3. As microcápsulas de caseína-pectina secas por leito de jorro apresentaram diferenças morfológicas e granulométricas marcantes quando comparadas às obtidas por *spray drying*, se apresentando na forma de placas de elevada dimensão formadas pela coalescência das partículas individuais;

4. Os testes de recuperação da indometacina a partir do material seco por leite de jorro mostraram uma elevada retenção do fármaco nesse sistema, confirmando dados existentes na literatura. Esses ensaios indicaram, juntamente com àqueles referentes ao estudo da segregação do fármaco após a secagem por leite de jorro, a ocorrência de uma interação entre fármaco e polímero;
5. A secagem de micropartículas de caseína-indometacina e pectina-indometacina em leite de jorro e *spray dryer* mostrou que a proteína é a responsável pela interação com o fármaco;
6. Os estudos de caracterização físico-química indicaram o estabelecimento de uma ligação covalente entre a indometacina e a caseína após secagem por leite de jorro, além de mostrarem a ausência de alterações nas propriedades do estado sólido do fármaco após seu processamento tanto por *spray drying* quanto por leite de jorro;
7. A avaliação da aplicação do método de estímulo-resposta na secagem de pastas por leite de jorro demonstrou a influência das variáveis volume e concentração de marcador sobre o tempo médio de residência. Uma faixa ótima para as referidas variáveis foi determinada e se mantém válida quando do aumento na carga de partículas inertes e durante a secagem de pastas de qualquer natureza. O tempo médio de residência da dispersão de microcápsulas em leite de jorro ficou em torno de 16 minutos;
8. A modificação nos níveis de temperatura e da vazão do ar de secagem não alterou significativamente o tempo médio de residência da dispersão de microcápsulas na secagem por leite de jorro. Entretanto, essas duas variáveis afetaram o grau da interação indometacina-

caseína, e sugeriu-se a ocorrência de uma reação mecanoquímica entre esses materiais na secagem por leito de jorro;

9. Os estudos de dissolução *in vitro* das microcápsulas carregadas com indometacina mostraram a irreversibilidade da interação fármaco-proteína no material seco por leito de jorro. Adicionalmente, verificou-se nas formulações reticuladas o estabelecimento de uma liberação prolongada do fármaco, com desempenho similar para os materiais secos por ambos os métodos propostos;

10. O processo de reticulação impediu a degradação enzimática e a subsequente desestruturação das microcápsulas de caseína-pectina nos estudos *in vitro*.

11. Após secagem por leito de jorro, as microcápsulas não reticuladas carregadas com indometacina mostraram uma liberação muito similar à apresentada para o fármaco livre, o que sugere a ruptura desse sistema nas condições operacionais estudadas;

12. Após a secagem por *spray drying*, as microcápsulas não reticuladas carregadas com indometacina apresentaram um perfil bifásico, demonstrando a susceptibilidade da pectina à degradação enzimática mesmo quando complexada com a caseína. Na primeira etapa de liberação, a dissolução do fármaco ocorreu em velocidade muito próxima à observada para a formulação reticulada e seca pelo mesmo método, demonstrando que o processo de reticulação não afeta a eficiência de liberação da indometacina a partir das microcápsulas secas por *spray drying*.

13. O perfil bifásico apresentado pelas microcápsulas não reticuladas carregadas com indometacina, não foi verificado no material seco por leito de jorro, devido a elevada liberação do fármaco antes da adição da enzima ao meio. Entretanto, as fotomicrografias ópticas mostraram que esse material sofre igualmente desestruturação por ação enzimática;
14. Os perfis de dissolução *in vitro* do paracetamol foram muito similares quando da comparação entre as microcápsulas secas por leito de jorro e *spray drying* (formulações reticuladas e não reticuladas), no entanto, a liberação desse fármaco mostrou eficiência, em termos de prolongamento da liberação, muito inferior à observada no caso da indometacina;
15. Os dados provenientes da avaliação da atividade antiinflamatória *in vivo* da indometacina, incorporada em microcápsulas não reticuladas mostraram uma excelente correlação frente àqueles obtidos nos estudos *in vitro* desse material. Adicionalmente, observou-se na avaliação *in vivo*, que a ligação indometacina-caseína não sofreu clivagem nas condições fisiológicas apresentadas pelo trato gastrointestinal dos camundongos.

Referências

7 REFERÊNCIAS

ADAMIEC, J.; KAMINSKI, W.; MARKOWSKI, A. S.; STRUMILLO, C. Drying of biotechnological products. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 2º Edição. New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 25, p. 775-808.

ANDRONIS, V.; YOSHIOKA, M.; ZOGRAFI, G. Effects of sorbed water on the crystallization of indomethacin from the amorphous state. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Washington, v. 86, n. 3, p. 346-351.1997.

BACELOS, M. S.; SPITZNER NETO, P. I.; SILVEIRA, A. M.; FREIRE, J.T. Analysis of fluid dynamics behavior of conical spouted bed in presence of pastes. **Drying Technology**, New York, v.23, n.3 , p. 427-453. 2005.

BARACAT, M. M. **Preparação e avaliação de microcápsulas à base de pectina**. 2004. 135 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

BARACAT, M. M.; NAKAGAWA, A. M.; FREITAS, L. A. P.; FREITAS, O. Microcapsule processing in a spouted bed. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v. 82, p. 1-8. 2004.

BERNI, J. P. V.; FREITAS, L. A. P. The Residence time of an inorganic paste during drying in a conventional spouted bed. In: THIRD INTER-AMERICAN DRYING CONFERENCE, 2005, Montreal. **Proceedings of the 3th Inter-American Drying Conference**. Montreal: McGill University, 2005. paper d-12.

BOGDANOVA, S.; SIDZHAKOVA, D.; KARAIIVANOVA, V.; GEORGIEVA, S. Aspects of the interactions between indomethacin and nicotinamide in solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 163, p. 1-10.1998.

BORKA, L. Polymorphism of indomethacin - new modifications, their melting behavior and solubility. **Acta Pharmaceutica Suecica**, Stockholm, v. 11, n. 3, p. 295-303. 1974.

BRITTAİN, H. G.; FIESE, E. F. Effects of pharmaceutical processing on drug polymorphs and solvates. In: BRITTAİN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. 1º Edição. New York: Marcel Dekker, 1999. Cap. 8, p. 331-362.

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

CARSTENSEN, J. T.; MORRIS, T. Chemical stability of indomethacin in the solid amorphous and molten states. **Journal of Pharmaceutical Science**, Washington, v. 82, n. 6, p. 657-659.1993.

CLAUDEL, S.; LECLERE, J. P.; TÉTAR, L.; LINTZ, H.G.; BERNARD, A. Recent extensions of the residence time distribution concept: unsteady state conditions and hydrodynamic model developments. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 17, n. 4-7, p.947-954. 2000.

CORDEIRO, D. S.; OLIVEIRA, W. P. Technical aspects of the production of dried extract of *Maytenus ilicifolia* leaves by jet spouted bed drying. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 299,n.1-2, p.115-126. 2005.

CORRIGAN, O. I. Thermal analysis of spray dried products. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 248, p.245-258.1995.

CORY, W.; FIELD, K.; WU-LINHARES, D. Is it the method or the process-Separating the causes of low recovery. **Drug development and industrial pharmacy**, New York, v. 30, n. 8, p.891-899. 2004.

DANCKWERTS, P. V. Continuous flow systems: Distributions of residence time. **Chemical Engineering Science**, Oxford, v. 2, n. 1, p. 1-13. 1953.

DUDDU, S. P.; GRANT, D. J. W. The use of thermal analysis in the assessment of crystal disruption. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 248, p.131-145.1995.

DURIG, T.; FASSIHI, A. R. Identification of stabilizing and destabilizing effects of excipient-drug interactions in solid dosage form design. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 97, n.1-3, p.161-170. 1993.

EPSTEIN, N.; GRACE J. R. Spouting of particulate solids. In: FAYED, M. E.; OTTEN, L. **Handbook of Powder Science and Technology**. 2º Edição. New York: Chapman and Hall, 1997. Cap. 10, p. 532-567.

FERNANDEZ-HERVAZ, M. J.; FELL J. T. Pectin/Chitosan mixtures as coatings for colon-specific drug delivery: an in vitro evaluation. **International Journal Pharmaceutics**, Amsterdam, v.169, p.115-119, 1998.

FOSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; RADES, T. Characterization of glass solutions of poorly water-soluble drugs produced by melt extrusion with hydrophilic amorphous polymers. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 53, p.303-315. 2001.

FREIRE, J. T. Secagem de pastas em leito de jorro. In: FREIRE, J.T.; SARTORI, D.J.M. **Tópicos Especiais em Secagem**. Vol.1. São Carlos: UFSCar, 1992. cap. 2, p. 43-85.

FREITAS, L. A. P.; DOGAN, O. M.; LIM, C. J.; GRACE, J.R.; LUO, B. Hydrodynamics and stability of slot-rectangular spouted beds. **Chemical Engineering Communication**, New York, v. 181, p.243-258, 2000.

FUKUOKA, E.; MAKITA, M., YAMAMURA, S. Some physicochemical properties of glass indomethacin. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 34, p.4314-4321.1986.

GILMAN, A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **As Bases farmacológicas da terapêutica**. 10º edição. Rio de janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 1993. 1671 f.

GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 15, n.7-8, p. 330-347. 2004.

GRANT, D. J. W. Theory and origin of polymorphism. In: BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. 1º Edição. New York: Marcel Dekker, 1999. Cap. 1, p. 1-34.

GUBULIN, J. C. Secagem em leito de jorro com aeração complementar. In: FREIRE, J.T.; SARTORI, D.J.M. **Tópicos Especiais em Secagem**. Volume 1. São Carlos: UFSCar, 1992. Cap. 4, p. 129-172.

GUERRERO, M.; ALBERT, C.; PALOMER, A.; GUGLIETTA, A. Drying in pharmaceutical and biotechnological industries. **Food Science Technology International**, London, v. 9, n. 3, p. 237-243. 2003.

GUILLORY, J. K. Generation of polymorphs, hydrates, solvates, and amorphous solids. In: BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. 1º Edição. New York: Marcel Dekker, 1999. Cap. 5, p. 183-226.

HADZISMAJLOVIC, Dz. E.; POVRENOVIC, D. S.; GRBAVCIC, Z. B.; VUKOVIC, D. V.; LITTMAN, H. A spout-fluid bed dryer for dilute solutions containing solids. In: 6th International Fluidization Conference, 1989, Banff. **Fluidization VI**. Banff: Fluidization Research Center, 1989. p. 277-284.

HENRIQUES, M. G. M. O. **Estudo da reação inflamatória induzida por carragenina em camundongos**. 1993. 182f. Tese (Doutorado em Farmacologia) –Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1993.

IMAIZUMI, H.; NAMBU, N.; NAGAI, T. Stability and several physical properties of amorphous and crystalline forms of indomethacin. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 9, p. 2565-2569.1980.

JONO, K. ; ICHIKAWA, H.; MIYAMOTO, M.; FUKUMORI, Y. A review of particulate design for pharmaceutical powders and their production by spouted bed coating. **Powder Technology**, Lausanne, v. 113, n. 3, p. 269-277. 2000.

JOSEPH, I.; VENKATARAM, S. Indomethacin sustained release from alginate-gelatin or pectin-gelatin coacervates. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 126, p. 161-168. 1995.

KAWASHIMA, Y.; LIN, S. Y.; TAKENAKA H. Polymorphism and drug release behavior of spray-dried microcapsules of sulfamethoxazole with polysaccharide gum and colloidal silica. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 9, p. 1445-1463. 1983.

KHAN, M. Z. I. Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with in vivo data: challenges and opportunities. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 140, p. 131-143.1996.

KIEVIET, F.; KERKHOF, P. J. A. M. Measurements of particle residence time distributions in a co-current spray dryer. **Drying Technology**, New York, v. 13, n. 5-7, p. 1241-1248. 1995.

KIM, S. Y.; LEE, Y. M.; SHIN, H. J.; KANG, J. S. Indomethacin-loaded methoxy poly(ethylene glycol)/poly (ϵ -caprolactone) diblock copolymeric nanosphere: Pharmacokinetic characteristics of indomethacin in the normal Sprague-dawley rats. **Biomaterials**, Guildford, v. 22, p. 2049-2056. 2001.

LAZO, J.; ROMAIRE, R.; REIGH, R. Evaluation of *in vitro* enzyme assays for estimating protein digestibility in the pacific white shrimp *Peneaus vannamei*. **Journal of Word Aquaculture Society**, v. 29, p. 441-450. 1998.

LI, S. P.; KOWARSKI, C. R.; FELD, K. M.; GRIM, W. M. Recent advances in microencapsulation technology and equipment. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 14, n. 2-3, p.353-376.1988.

LIMA, M. F. M. **Desidratação de polpa de umbu em leito de jorro: Estudos fluidodinâmicos e térmicos**. 1992. 138f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1992.

LIU, L.; FISHMAN, M. L.; KOST, J.; HICKS, K. B. Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. **Biomaterials**, Guildford, v. 24, n.19, p. 3333-3343. 2003.

MARINI A.; BERBENNI, V.; MOIOLI, S.; BRUNI, G.; COFRANCESCO, P.; MARGHERITIS, C.; VILLA, M. Drug-exipient compatibility studies by physico-chemical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, v. 73, p.529-545. 2003.

MARKOWSKI, A. S. Quality interaction in a jet spouted bed dryer for bio-products. **Drying Technology**, New York, v. 11, n. 2, p. 369-387. 1993.

MASTERS, K. **Spray drying handbook**. 4º Edição. London: George Godwin, 1985. 696 p.

MATHUR, K. B. Spouted beds. In: DAVIDSON, J. F.; HARRISON, D. **Fluidization**. 1º Edição. London: Academic Press, 1974. Cap. 17, p. 711-742.

MATHUR, K. B.; EPSTEIN, N. **Spouted beds**. 1º Edição. London: Academic Press, 1974. 303 p.

MIYASAKA, K.; MIKAMI, T. Comparison of the anti-inflammatory effects of dexamethasone, indomethacin and bw755c on carrageenin-induced pleurisy in rats. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 77, n.4, p. 229-236. 1982.

MUJUMDAR, A. S.; MENON, A. S. Drying of Solids: Principles, Classification, and Selection of Dryers. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 2º Edição. New York: Marcel Dekker, 1995. cap.1, p. 1-40.

MUKAI-CORREA, R.; PRATA, A. S.; ALVIM, I. D.; GROSSO, C. Caracterização de microcápsulas contendo caseína e gordura vegetal hidrogenada obtidas por geleificação iônica. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n.1, p.73-80. 2005.

MUNJERI, O.; COLLET, J. H.; FELL, J. T. Hydrogel beds based on amidated pectins for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v.46, n.3, p. 273-278. 1997.

MURA, P.; FAUCCI, M. T.; MANDERIOLI, A.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S. Thermal analysis as a screening technique in preformulation studies of picotamide solid dosage forms. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 24, n. 8, p. 747-756.1998.

OAKLEY, D. E. Produce uniform particles by spray drying. **Chemical Engineering Progress**, New York, v. 93, n. 10, p. 48-54. 1997.

OLIVEIRA, W. P.; FREIRE, J. T. Estudo da secagem de pastas em leito de jorro. In: FREIRE, J. T.; SILVEIRA, A. M. **Tópicos Especiais em Sistemas Multiparticulados**, 1º Edição. São Carlos: UFSCar, 1998. Cap. 3, p. 79-118.

OSÓRIO-REVILLA, G.; ELÍAS-SERRANO, R.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T. Drying of liquid feedstocks in a spouted-fluid-bed with draft-tube submerged in inert solids: Hydrodynamics and drying performance. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v. 82, p. 142-147. 2004.

OTSUKA M.; KANENIWA N. A kinetic study of the crystallization process of noncrystalline indomethacin under isothermal conditions. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 36, n. 10, p. 4026-4032. 1988.

PAKOWSKI, Z.; MUJUMDAR, A. S. Drying of pharmaceutical products. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 2º Edição. New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 24, p. 743-774.

PALLAI, E.; SZENTMARJAY, T.; SZIJJÁRTÓ, E. Effect of partial processes of drying on inert particles on product quality. **Drying Technology**, New York, v. 19, n. 8, p. 2019-2032, 2001.

PALLAI E.; SZENTMARJAY, T.; MUJUMDAR, A. S. Spouted bed drying. In: MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying**. 2º Edição. New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 13, p. 453-488.

PASSOS, M. L.; MUJUMDAR, A. S. Effect of cohesive forces on fluidized and spouted beds of wet particles. **Powder Technology**, Lausanne, v. 110, n.3, p. 222-238. 2000.

PASSOS, M. L.; MASSARANI, G.; FREIRE, J.T.; MUJUMDAR, A. S. Drying of pastes in spouted beds of inert particles: Design criteria and modeling. **Drying Technology**, New York, v. 15, n. 2, p. 605-624. 1997.

PATEL, K.; BRIDGWATER, J.; BAKER, C. G. J.; SCHNEIDER, T. Spouting behavior of wet solids. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 1986, Washington. **Proceedings of the 5th International Drying Symposium**. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1986. p. 183-189.

PEIXOTO, M. P. G.; MONTEIRO, A. P. R.; FREITAS, L.A.P. Determination of residence time of paste during drying of a phytomedicine in a spouted bed. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 2004, São Paulo. **Proceedings of the 14th International Drying Symposium volume A**. São Paulo: Ourograf, 2004. p. 232-238.

PHAM, Q. T. Behavior of a conical spouted bed dryer for animal blood. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v.61, p. 426-434. 1983.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, New York, v. 16, n. 6, p. 1195-1236.1998.

REYES, A. **Secagem de suspensões em leito de jorro cônico**. 1993. 140f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro (Coppe), Rio de Janeiro, 1993.

REYES, A.; DÍAZ, G.; BLASCO, R. Slurry drying in gas-particle contactors: Fluid-dynamics and capacity analysis. **Drying Technology**, New York, v. 16, n. 1-2, p. 217-233.1998.

REYES, A.; DIAZ, G. The Residence Time Distribution of the Suspensions Drying in a Fluidized Bed. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 2000, Noordwijkerhout. **Proceedings of the 12th International Drying Symposium**. Noordwijkerhout: IDS'2000, 2000. paper n. 85.

ROMANKOV, P. G.; RASHKOVSKAYA, N. B. **Drying in a suspended state**. 2^o Edição. Leningrad: Chem. Publ. House, 1968. 616 p.

RUNHA, E. P.; CORDEIRO, D.S.; PEREIRA, C. A. M.; VILEGAS, J.; OLIVEIRA, W. P. Production of dry extracts of medicinal Brazilian plants by spouted bed process: Development of the process and evaluation of thermal degradation during the drying operation. **Transactions of Institute of Chemical Engineers**, New York, v. 79, parte C. 2001.

SCHNEIDER, T.; BRIDGWATER, J. The stability of wet spouted beds. **Drying Technology**, New York, v. 11, n. 2, p. 277-301, 1993.

SCOPES, R. K. **Protein Purification: Principles and practice**. 3ª edição. New York: Springer, 1994. 380 f.

SHUHAMA, I. K.; AGUIAR, M. L.; OLIVEIRA, W. P.; FREITAS, L. A. P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. **Journal of Food Engineering**, London, v. 59, n.1, p. 93-97. 2003.

SILVA JUNIOR, J. G. **Eletroforese de proteínas: Guia prático teórico**. 1ª Edição. Rio de Janeiro: Interciência, 1991. 125p.

SPECTOR, W.G. The mediation of altered capillary permeability in acute inflammation. **Journal of Pathology and Bacteriology**, London, v.72, n. 2, p. 367-380. 1956

STRUMILLO, C.; ADAMIEC, J. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 2004, São Paulo. **Proceedings of the 14th International Drying Symposium volume A**. São Paulo: Ourograf, 1991. p. 232-238.

TAKEUCHI, H.; NAGIRA, S.; YAMAMOTO, H., KAWASHIMA, Y. Solid dispersion particles of amorphous indomethacin with fine porous silica particles by using spray drying method. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 293, p. 155-164. 2005.

TAYLOR, T. Particle residence time distributions in con and counter current spray drying towers. In: INTERNATIONAL DRYING SYMPOSIUM, 1998, Thessaloniki. **Proceedings of the International Drying Symposium'98, volume A**. Thessaloniki: Ziti editions, 1998. p. 533-540.

TAYLOR L. S., ZOGRAFI, G. Spectroscopic characterization of interactions between pvp and indomethacin in amorphous molecular dispersions. **Pharmaceutical Research**, xxx, v. 14, n. 12. 1997.

THIES, C. A survey of microencapsulation process. In: BENITA, S. **Microencapsulation: Methods and Industrial Applications**. 1ª Edição. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 1, p. 1-20.

VASIR, J. K.; TAMBWEKAR, K.; GARG, S. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.225, p. 13-32. 2003.

VENKATARAM, S.; KHOHLOKWANE, M.; WALLIS, S. H. Differential scanning calorimetry as a quick scanning technique for solid state stability studies. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 21, n. 7, p. 847-855. 1995.

WAKERLY Z.; FELL, J. T.; ATTWOOD, D.; PARKINS, D. Studies on drug release from pectin/ethylcellulose film-coated tablets: a potential colonic delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 153, n.2, p. 219-224. 1997.

WATANABE, T.; HASEGAWA, S.; WAKIYAMA, N.; KUSAI, A.; SENNA, M. Comparison between polyvinylpyrrolidone and silica nanoparticles as carriers for indomethacin in a solid state dispersion. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 250, p. 283-286. 2003.

WATANABE, T.; HASEGAWA, S.; WAKIYAMA, N.; USUI, F.; KUSAI, A.; ISOBE, T.; SENNA, M. Solid state radical recombination and charge transfer across the boundary between indomethacin and silica under mechanical stress. **Journal of Solid State Chemistry**, London, v. 164, p. 27-33. 2002.

WATANABE, T.; WAKIYAMA, N.; USUI, F.; IKEDA, M.; ISOBE, T.; SENNA, M. Stability of amorphous indomethacin compounded with silica. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 226, n. 1-2, p. 81-91. 2001.

WELTMAN, R. N. **Rheology**. 1º Edição. New York: Academic Press, 1960. 125p.

WENDEL, S.C.; ÇELIK, M. An overview of spray drying applications. **Pharmaceutical Technology**, London, v. 21, n.10, p. 124-156. 1997.

WURSTER, D. E. **Method for Applying Coating to Tablets**. U.S. 2,648,609. 1953.

YANG, L.; CHU, J. S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 235, n.1-2, p. 1-15. 2002.

YANG, W.C.; KEAIRNS, D. L. Studies on the solid circulation rate and gas bypassing in spouted fluid-bed with a draft tube. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, Ottawa, v. 61, n. 3, p. 349-355. 1983.

YOSHIOKA, M.; HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. Crystallization of indomethacin from the amorphous state below and above its glass transition temperature. **Journal of Pharmaceutical sciences**, Washington, v. 83, n. 12, p. 1700-1705. 1994.