UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIA BARRIONUEVO CENSONI

**Desenvolvimento de biocompósito polimérico à base de ácido polilático e
nanopartículas para liberação controlada de metadona**

JULIA BARRIONUEVO CENSONI

Desenvolvimento de biocompósito polimérico à base de ácido polilático e nanopartículas para liberação controlada de metadona

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de pós-graduação em Biociência Animal.

Área de Concentração: Prevenção, Diagnóstico e Terapias Inovadoras.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B276d Barrionuevo Censoni, Julia
Desenvolvimento de biocompósito polimérico à base
de ácido polilático e nanopartículas para liberação
controlada de metadona / Julia Barrionuevo Censoni
; orientador Adriano Bonfim Carregaro ;
coorientador Elaine Cristina Paris. --
Pirassununga, 2020.
74 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Biociência Animal) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Analgesia. 2. Biodispositivos. 3.
Nanopartículas. 4. Opioides. I. Bonfim Carregaro,
Adriano, orient. II. Paris, Elaine Cristina,
coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos familiares Paulo, Du, Wilma, Camila, Antônio e Natália, pelos conselhos, ensinamentos e carinho, e por terem sempre me apoiado, das mais diversas formas, ao longo do meu caminho. Sem vocês, nada disso teria sido possível.

Ao Rodrigo e à Olívia, por todo o apoio e companheirismo. Também à Vilma e Arthur, pessoas incríveis, e meus queridos amigos-irmãos Felipe e Dany, por estarem sempre presentes, mesmo quando distantes.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro e coorientadora Prof^a. Dr^a. Elaine Cristina Paris, por terem me proporcionado a oportunidade, a orientação, as discussões e sua enorme paciência durante o desenvolvimento deste trabalho.

A todos os membros do grupo de pesquisa da Embrapa, em especial à Bárbara e ao João, pelo apoio, colaboração, paciência e momentos de descontração. Igualmente aos técnicos e funcionários, por todo o auxílio e treinamento em equipamentos para que fosse possível a execução deste projeto.

À equipe do Laboratório de Cerâmicas Ferroelétricas da Universidade Federal de São Carlos, especialmente à professora Ducinei e à técnica Laís, por todo o apoio, e a todos os que participaram dos bons momentos do cafezinho da tarde.

A toda a equipe do Núcleo de Anestesiologia Veterinária, NAVE, pelo companheirismo, troca de conhecimentos, discussões, risadas e abraços. Também à Patrícia, Thamy, Leticia e Mayara, cujas amizades tornaram esse período inesquecível.

Aos membros da banca, por sua disponibilidade e contribuição.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da FZEA-USP, à Embrapa Instrumentação/LNNA e ao Grupo de Materiais Ferroelétricos da UFSCar pela viabilização conjunta deste trabalho; e à CAPES, pelo apoio financeiro.

E a todos aqueles que não há como mencionar aqui, mas que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

CENSONI, J. B. **Desenvolvimento de biocompósito polimérico à base de ácido polilático e nanopartículas para liberação controlada de metadona**. 2020, 74 f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

O controle da dor moderada a severa em animais é muitas vezes limitado devido ao controle rigoroso de alguns medicamentos e à dificuldade de se realizar o tratamento analgésico adequado em ambiente extra-hospitalar. Nesse sentido, a via transdérmica constitui uma alternativa de interesse para a administração de opioides, uma vez que apresenta potencial para promover analgesia prolongada e reduz a ocorrência de efeitos adversos. A metadona é um opioide com capacidade de ação na dor aguda, crônica e neuropática e possui características físico-químicas que a tornam adequada para administração transdérmica. O presente estudo teve por objetivo a obtenção e caracterização de nanocompósitos poliméricos baseados em fibras de ácido polilático (PLA) com nanopartículas de sílica mesoporosa para liberação controlada de metadona. Para comparação do efeito da concentração de fármaco e sílica nas fibras de PLA, foram obtidas matrizes poliméricas com diferentes composições por meio da técnica de eletrofiação. Estas foram avaliadas com relação ao teor de cloridrato de metadona, propriedades térmicas, composição, distribuição do diâmetro das fibras poliméricas e das nanopartículas. Adicionalmente, foi realizado um ensaio de liberação *in vitro* em solução tampão-fosfato (PBS) de pH 5,5 e $32\pm 1^{\circ}\text{C}$, condições semelhantes às da superfície da pele. Nas análises térmicas observou-se interação entre o fármaco e as fibras poliméricas. A presença do fármaco melhorou a estabilidade do processo de eletrofiação, resultando em fibras poliméricas de melhor conformação. A presença da metadona e nanopartículas de sílica nos compósitos contribuíram para um aumento discreto na hidrofiliabilidade dos materiais, o que pode ser positivo em um dispositivo de liberação transdérmica. Em todos os materiais, ocorreu uma rápida liberação inicial e uma liberação sustentada até cerca de 8 h. A variação na concentração do cloridrato de metadona, assim como a adição das nanopartículas de sílica nas fibras, não modificou o comportamento de liberação no material em PBS, provavelmente devido às baixas concentrações utilizadas. Concluiu-se que os materiais obtidos possuem capacidade para liberação lenta do fármaco *in vitro* por até 8 horas, tempo que pode ser potencialmente estendido pelo aumento da espessura da manta polimérica.

Palavras-chave: Analgesia, Biodispositivos, Nanopartículas, Opioides.

ABSTRACT

CENSONI, J. B. **Development of a polymeric biocomposite based on polylactic acid and nanoparticles for the controlled release of methadone**. 2020, 74 p. M.Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

The control of moderate to severe pain in animals is often limited by the strict control on some medications and the difficulty in performing adequate analgesic treatment outside the hospital. In this sense, the transdermal route provides an alternative for the administration of opioids due to its ease of application, prolonged analgesia and reduced adverse effects. The effectiveness of methadone against acute, chronic, and neuropathic pain, along with its physicochemical characteristics, make it a suitable opioid for transdermal administration. The present study aimed to obtain and characterize polymeric nanocomposites based on fibers of polylactic acid (PLA) with mesoporous silica nanoparticles for the controlled release of methadone. To compare the effects of the drug and silica concentration in the PLA fibers, polymeric matrices with different compositions were obtained by the electrospinning technique and evaluated for drug content, thermal properties, composition, fiber diameter distribution, and drug adsorption efficiency on silica nanoparticles. In addition, an in vitro release essay was performed in conditions similar to the skin surface. In the thermal analysis, interaction between the drug and the polymeric fibers was observed. The presence of the drug improved the stability of the electrospinning process, resulting in better conformation of the polymeric fibers. The methadone and silica nanoparticles contributed to a slight increase in the hydrophilicity of the composites, a desirable feature to a transdermal delivery device. In all materials, there was a rapid initial release followed by a sustained release lasting up to 8 h. Varying the concentrations of the silica nanoparticles and methadone hydrochloride did not affect release behavior, probably due to the low concentrations used. The results indicate that the materials have the potential for up to 8 hours of sustained drug release, and this period may be extended by increasing the thickness of the polymeric matrices.

Key-words: Analgesia, Biodevices, Nanoparticles, Opioid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sequência metodológica.....	23
Figura 2. Curvas de calibração obtidas no espectrofotômetro UV-Vis para o cloridrato de metadona em solução tamponada (PBS).	24
Figura 3. Esquema da metodologia utilizada nos ensaios de adsorção do cloridrato de metadona nas nanopartículas de sílica mesoporosa.....	30
Figura 4. Dados de análise termogravimétrica para a perda de massa % e taxa de perda de massa (dTGA) do cloridrato de metadona liofilizado (MTD), das fibras poliméricas de PLA e dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.....	33
Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e distribuição dos diâmetros médios (gráficos) das fibras poliméricas de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.....	35
Figura 6. Diâmetro médio e distribuição dos diâmetros das fibras poliméricas dos materiais PLA, PLA:MTD 2,5% e 5%.....	36
Figura 7. Número de formações esféricas ou <i>beads</i> por mm ² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.....	37
Figura 8. Micrografias das fibras de PLA e dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.....	38
Figura 9. Micrografias das fibras de PLA:MTD 5% mostrando presença de grãos facetados entre as fibras.....	38
Figura 10. Liberação acumulada de cloridrato de metadona em PBS ao longo de 24h a partir dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.....	39
Figura 11. Dados de análise termogravimétrica para a perda de massa % e taxa de perda de massa (dTGA) do cloridrato de metadona liofilizado (MTD), das fibras poliméricas PLA e dos compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD.....	40
Figura 12. Espectro de FTIR das nanopartículas de sílica (Si), cloridrato de metadona (MTD), fibras poliméricas de ácido polilático (PLA) e dos compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD.....	41
Figura 13. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e distribuição dos diâmetros médios (gráficos) das fibras poliméricas de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.....	43
Figura 14. Diâmetro médio e distribuição dos diâmetros das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.....	44
Figura 15. Número de formações esféricas ou <i>beads</i> por mm ² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5%, PLA:Si e PLA:Si:MTD.....	46

Figura 16. Contagens dos componentes obtidos pela técnica de EDS para os compósitos PLA, PLA Si e PLA Si MTD.....	47
Figura 17. Análises de EDS para os compósitos (a) PLA, (b) PLA:Si e (c) PLA:Si:MTD mostrando a distribuição dos componentes Si e O ₂ na superfície dos materiais.....	48
Figura 18. Medidas de ângulo de contato médias das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.....	49
Figura 19. Variação do ângulo de contato ao longo de um minuto das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.....	50
Figura 20. Representação do efeito de concentração e temperatura sobre a eficiência de adsorção de metadona na sílica mesoporosa.....	52
Figura 21. Liberação acumulada de metadona em solução tamponada (PBS) ao longo de 24h a partir dos compósitos PLA:MTD e PLA:Si:MTD.....	53
Figura 22. Comparação da liberação acumulada de metadona em solução tamponada (PBS) a partir dos compósitos PLA:MTD e PLA:Si:MTD e curva de dissolução da metadona.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições para obtenção das soluções poliméricas na mistura de solventes clorofórmio e dimetilsulfóxido (DMSO) em proporção 3:1.....	25
Tabela 2. Resumo das técnicas e equipamentos a serem utilizados para caracterização das fibras poliméricas e compósitos.....	29
Tabela 3. Picos de perda de massa (dTGA) e resíduos de cloridrato de metadona (MTD), ácido polilático (PLA) e compósitos de PLA:MTD 2,5% e 5% obtidos por análise termogravimétrica.....	34
Tabela 4. Comparação entre as distribuições dos diâmetros pelo teste de Wilcoxon. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.....	36
Tabela 5. Número de formações esféricas ou <i>beads</i> por mm ² nas fibras de PLA (ácido polilático e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.....	37
Tabela 6. Picos de perda de massa (dTGA) e resíduos das fibras de ácido polilático (PLA) e compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD obtidos por análise termogravimétrica.....	41
Tabela 7. Comparação entre as distribuições dos diâmetros das fibras de ácido polilático (PLA) e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si pelo teste de Wilcoxon. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.....	45
Tabela 8. Comparação entre o número de formações esféricas ou <i>beads</i> por mm ² nas fibras de ácido polilático (PLA) e compósitos PLA:MTD 2,5%, PLA:Si e PLA:Si:MTD. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.....	46
Tabela 9. Medidas de ângulo de contato médias das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.....	50
Tabela 10. Valores obtidos para a eficiência de adsorção entre os ensaios, considerando variação de concentração de nanopartículas de sílica e temperatura...50	50

LISTA DE SIGLAS

cm	Centímetros
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio padrão
dTGA	Derivada da curva da análise termogravimétrica
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva de raios X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramas
h	Horas
m	Metros
mEA	Eficiência de adsorção
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mg	Miligramas
mg kg ⁻¹	Miligramas por quilograma
mL	Mililitros
mm	Milímetros
min	Minutos
MTD	Metadona
nm	Nanômetros
NMDA	N-metil-D-aspartato
PBS	Solução tampão fosfato-salino
PCL	Policaprolactona
PGA	Ácido poliglicólico
pH	Potencial hidrogeniônico
PLA	Polylactic Acid (ácido polilático)
Rpm	Rotações por minuto
Si / SiO ₂	Nanopartículas de sílica mesoporosa
TGA	Análise Termogravimétrica
T°C	Temperatura

U.I. Unidades internacionais

UV-Vis Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS.....	14
2.1.	Geral	14
2.2.	Específicos.....	14
3.	REVISÃO DE LITERATURA	15
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1.	Processamento do cloridrato de metadona	23
4.2.	Preparação e caracterização da matriz polimérica e dos compósitos	24
4.2.1.	Eletrofiação	24
4.2.2.	Caracterização dos sistemas	26
4.2.2.1.	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)</i>	26
4.2.2.2.	<i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	27
4.2.2.3.	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier</i>	27
4.2.2.4.	<i>Determinação do Ângulo de Contato (θ)</i>	28
4.2.2.5.	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível</i>	28
4.3.	Interação do cloridrato de metadona com as nanopartículas de sílica mesoporosa.....	29
4.3.1.	Síntese das nanopartículas	29
4.3.2.	Ensaio de adsorção.....	30
4.3.3.	Avaliação da eficiência de adsorção	31
4.4.	Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	31
4.5.	Análise Estatística.....	32
5.	RESULTADOS.....	33
5.1.	Determinação do teor de fármaco a ser adicionado aos materiais	33
5.2.	Obtenção e caracterização dos compósitos	39
6.	DISCUSSÃO.....	55
6.1.	Análises térmicas	55
6.2.	Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier	56
6.3.	Características estruturais das fibras poliméricas.....	57
6.4.	Espectroscopia de energia dispersiva	58
6.5.	Medidas do ângulo de contato	59
6.6.	Interação da metadona com as nanopartículas de sílica	61
6.7.	Ensaio de liberação	62
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

A metadona, opioide agonista de receptores μ , atua também como antagonista em receptores N-metil-D-aspartato, o que a torna uma escolha singular no tratamento da dor aguda, crônica e neuropática (INTURRISI, 2005; MANFREDI; HOUDE, 2003). Assim como outros opioides, seu uso é frequentemente acompanhado de efeitos adversos, que podem ser reduzidos pela utilização de vias alternativas de administração.

Com esse intuito, a via transdérmica, normalmente sob a forma de um sistema de liberação lenta ou patch, constitui opção interessante para a terapia analgésica, permitindo controlar a liberação de um ativo na pele até que seja atingida a concentração plasmática efetiva. Tal via apresenta diversas vantagens terapêuticas, como analgesia prolongada, redução dos efeitos indesejáveis e possibilidade da rápida interrupção do tratamento (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2015).

Além disso, o uso da metadona por via oral é inviável em diversas espécies, como cães e gatos, devido à baixa biodisponibilidade secundária ao efeito de primeira passagem (KUKANICH et al., 2005). Ela possui potência analgésica ligeiramente superior à da morfina (MIRANDA et al., 2014), no entanto, com lipofilicidade mais alta, o que permite sua passagem pelo extrato córneo da pele (INTURRISI, 2005; PRAUSNITZ; LANGER, 2008). Seu tempo de meia-vida em cães, ao contrário de humanos, é curta e com alta taxa de depuração (KUKANICH et al., 2005), semelhante ao fentanil, o que torna o estudo das vias alternativas ainda mais desejável.

Comercialmente, encontram-se disponíveis dispositivos de liberação de fentanil e buprenorfina (DURAGESIC® e RESTIVA®). A eficácia analgésica dos opioides administrados por essa via foi observada em diversas espécies, quando comparada às vias tradicionais de administração, com redução ou ausência de efeitos adversos (DAVIDSON; PETTIFER, GLENN; HENRY, 2004; GILBERTO; MOTZEL; DAS, 2003; MOLL et al., 2011).

Algumas formulações para a aplicação transdérmica de metadona já foram estudadas (BRACHER, 1999a; CALDWELL et al., 2005; GHOSH; BAGHERIAN, 2017; KOLESNIKOV; SÖRITSA, 2008; LOVE; BOURGEOIS, 2014; MUÑOZ et al., 2017). Acredita-se que a metadona, quando incorporada em matrizes poliméricas como o

ácido polilático e materiais nanoestruturados, como a sílica mesoporosa, apresenta potencial para constituir um sistema diferenciado de liberação controlada por tempo prolongado com característica biodegradável e biocompatível, desenvolvido em território nacional.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Desenvolver e caracterizar nanocompósitos poliméricos baseados em fibras de ácido polilático (PLA), nanopartículas de sílica mesoporosa e cloridrato de metadona, avaliando seu potencial de liberação controlada de metadona.

2.2. Específicos

Avaliar a interferência da variação de concentração do cloridrato de metadona sobre as fibras de PLA e seu comportamento no ensaio de liberação;

Processar e caracterizar as matrizes poliméricas na forma de fibras de PLA, associadas ou não às nanopartículas de sílica mesoporosa e metadona;

Estudar a interação da metadona com as nanopartículas de sílica em função da variação de concentração e temperatura;

Comparar os diferentes compósitos e avaliar seu comportamento no ensaio de liberação ao longo do tempo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

O controle da dor aguda pós-operatória é um problema de grande expressividade na medicina humana e também na veterinária. Pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos frequentemente apresentam dor ou desconforto pós-operatório, que podem persistir por um período de até três dias em 70% dos casos (MØINICHE et al., 1997; APFELBAUM et al., 2003). A prevenção do sofrimento permite atenuar as alterações fisiológicas e metabólicas associadas à dor. Desta maneira, a terapia analgésica melhora a qualidade da recuperação e reduz o potencial para problemas secundários, como imunossupressão (KEHLET; HOLTE, 2001; SHAVIT; FRIDEL; BEILIN, 2006).

Opioides são fármacos que atuam em receptores presentes em diversos tecidos e constituem na principal forma terapêutica para o controle da dor moderada a severa, uma vez que são altamente efetivos, relativamente seguros e dispõem de fármacos reversores (CLUTTON, 2010; HELLYER et al., 2007; ROBERTSON; TAYLOR, 2004). No sistema nervoso, resultam na inibição da liberação de neurotransmissores excitatórios, reduzindo a dor relacionada a estímulos nociceptivos (PASCOE, 2000). Seu uso, no entanto, é frequentemente acompanhado de efeitos adversos como salivação, sedação, êmese, depressão respiratória, redução da motilidade gastrointestinal, liberação de histamina e excitação (PASCOE, 2000), a depender do fármaco, dose, espécie e via utilizada.

A utilização de diferentes modalidades e vias alternativas na administração de opioides pode resultar na redução dos efeitos adversos para o paciente. Na medicina veterinária é possível citar principalmente a infusão intravenosa contínua e as vias epidural, oral, transmucosa bucal, intranasal, transretal, intra-articular e transdérmica como técnicas utilizadas em terapia analgésica (BARNHART et al., 2000; CARREGARO et al., 2014; DAY et al., 1995; DOHOO; TASKER, 1997; GUEDES et al., 2007; KROTSCHKE et al., 2010; KUKANICH; SPADE, 2013; MICIELI et al., 2017; ORSINI et al., 2006; STREISAND et al., 1995). Várias destas modalidades proporcionaram redução na intensidade de alterações fisiológicas e comportamentais, além de efeito analgésico prolongado. Entretanto, há falta de estudos quantitativos relativos às vias alternativas de administração para mensurar a absorção, permeação e cinética nas diferentes espécies.

Apesar da variedade de opções disponíveis para analgesia, complicações práticas estão frequentemente presentes na veterinária, especialmente considerando-se a rotina clínica de pequenos animais. Diversas técnicas dependem exclusivamente da utilização de dispositivos invasivos, como cateteres peridurais ou medicamentos controlados de administração parenteral, requerendo regime de internação e assistência constante de um médico veterinário. Isso gera aumento de custos para o tutor, que muitas vezes opta por realizar a recuperação do animal em casa, limitando as opções analgésicas que podem ser utilizadas. Por esse motivo, as medicações prescritas para o período pós-operatório comumente restringem-se ao tramadol e anti-inflamatórios não esteroides que, embora efetivos no controle de dor leve e moderada quando em associação, apresentam eficácia limitada em animais que apresentam dor severa (DAVILA; THOMAS, 2013; KÖGEL; TERLINDEN; SCHNEIDER, 2014).

Nesse contexto, a via transdérmica pode representar uma alternativa por meio de sistemas de liberação lenta, ou “*patch*” transdérmico. A absorção transcutânea de fármacos faz-se possível pela imobilização e liberação destes por um reservatório, como uma matriz polimérica, que pode ou não ser associado a uma membrana. Esse sistema tem como função controlar a liberação de um ativo para a pele até que seja atingida a concentração plasmática efetiva (WILLIAMS; BARRY, 2012; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2015; DERMATECH LIMITED, SOLOMON; TOCILI; SOLOMON, BILJANA, 2000). A taxa inicial de absorção dos sistemas transdérmicos é frequentemente lenta, necessitando de um intervalo de 6 a 24 horas para que se alcance a concentração plasmática desejada, a depender do fármaco e da espécie (EGGER et al., 1998; KYLES; PAPICH; HARDIE, 1996). Entretanto, uma vez atingida, esta tende a permanecer relativamente constante até que o reservatório se esgote ou o sistema seja removido do contato com a pele.

Tais características acarretam diversas vantagens terapêuticas, como a entrega de doses diárias com uma única aplicação; a possibilidade da rápida interrupção de seus efeitos e a redução dos efeitos adversos sistêmicos; e, uma vez que o fármaco administrado por essa via não sofre o efeito de primeira passagem, observa-se alta biodisponibilidade e evitam-se picos de concentração plasmática (ALEXANDER et al., 2012; WOLFF et al., 2012; ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2015).

Diversos estudos demonstraram a efetividade dessa modalidade de administração no controle de dor pós-operatória e na redução de efeitos adversos

(GOURLAY et al., 1990; KYLES et al., 1998; PRIYADARSINI et al., 2019; ROBINSON et al., 1999; SMYTH; HAUPT; GREGOIRE, 2019). O sistema de liberação transdérmica é considerado um método pouco invasivo e relativamente seguro, no entanto, apesar das vantagens supracitadas, não é desprovido de riscos. Alguns fatores, como lesões de pele, danos à membrana de permeação e alteração em temperatura podem alterar a velocidade de liberação do fármaco ou a permeabilidade da pele. Adicionalmente, a ingestão ou contato com o *patch* pelo animal ou terceiros pode resultar em acidentes importantes (LOVECCHIO; FRANK; RAMOS, 2011; STOECKER et al., 2016), o que faz necessária sua prescrição com cautela.

A forma mais comum desse sistema para opioides está disponível comercialmente na forma de adesivos de buprenorfina (RESTIVA®, Lohmann Therapie Systeme, Alemanha) (MOLL et al., 2011; PIEPER et al., 2011) e fentanil (DURAGESIC®, Janssen Pharmaceutical, Titusville, NJ). Este último é constituído por um reservatório de hidroxietilcelulose e uma membrana do copolímero etileno-acetato de vinila que controla a taxa de liberação de fentanil para a pele. Apesar de ser utilizado na veterinária (FRANKS et al., 2000; GILBERTO; MOTZEL; DAS, 2003; MAXWELL et al., 2003), esse sistema foi desenvolvido para o uso humano em tratamento analgésico para câncer e por isso não possui indicação oficial para uso em animais. Uma solução de absorção transdérmica de fentanil com ação prolongada de 4 a 7 dias, liberada para uso em cães (RECUVYRA®, Elanco Animal Health, IN, USA), está disponível no mercado internacional. No entanto, oferece risco de intoxicação humana pelo contato com a pele do animal e seus efeitos só podem ser interrompidos rapidamente pela aplicação de um antagonista de receptores opioides.

Estudos sugerem que opioides administrados pela via transdérmica promovem analgesia prolongada e redução nos efeitos indesejáveis, facilitando o manejo e melhorando o conforto dos pacientes. O fentanil, quando administrado por via intravenosa em equinos, pode causar agitação, taquicardia e fasciculação muscular (SANCHEZ et al., 2007). Já pela via transdérmica, os efeitos adversos foram raramente observados e considerados irrelevantes (MAXWELL et al., 2003; ORSINI et al., 2006; EBERSPÄCHER et al., 2008). Em gatos, o uso de adesivo transdérmico de fentanil em período pós-operatório produziu melhor recuperação e analgesia e menor efeito sedativo quando comparado a outras vias de administração (FRANKS et al., 2000; DAVIDSON; PETTIFER, GLENN; HENRY, 2004). Em cães, o uso do

adesivo transdérmico de fentanil também apresentou efeitos analgésicos positivos durante até 72 horas após sua aplicação, sendo raramente observados efeitos indesejáveis (KYLES; PAPICH; HARDIE, 1996; GILBERTO; MOTZEL; DAS, 2003). Em relação à buprenorfina, observou-se que a analgesia proporcionada pela via transdérmica no pós operatório de cães foi análoga à administração por vias convencionais, sem a ocorrência de efeitos adversos (MOLL et al., 2011).

A metadona é um opioide que foi inicialmente introduzido na medicina como tratamento a toxicodependentes de heroína e outros opioides, mas demonstrou efeitos analgésicos de grande interesse. Hoje, compõe a terapia antálgica para dores agudas, crônicas, oncológicas e neuropáticas, sendo utilizada frequentemente no tratamento dessas condições (INTURRISI, 2005; MANFREDI; HOUDE, 2003) e na analgesia multimodal pós-cirúrgica (POGATZKI-ZAHN; ZAHN; BRENNAN, 2007). Por ser excretada pela via renal na forma de metabólitos inativos, é preferida para uso em pacientes com insuficiência renal ou biliar (PRICE et al., 2014; SÄWE, 1986). Assim como o fentanil, possui ação agonista em receptores opioides μ (WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004), mas age adicionalmente como antagonista em receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), inibindo a recaptação de serotonina e norepinefrina no sistema nervoso central, combinação que potencializa seu poder analgésico (BRUNTON; KNOLLMANN; HILAL-DANDAN, 2017; KAPUR et al., 2011).

Atualmente, a metadona é comercializada como uma mistura racêmica de dois enantiômeros: o primeiro (R), com maior afinidade por receptores opioides μ , e o segundo (S), responsável pela ação em receptores NMDA (INTURRISI, 2005). Apesar de apresentar potência ligeiramente mais alta que a da morfina (MIRANDA et al., 2014) e menos efeitos indesejados, como náusea e êmese, há outros efeitos descritos associados à sua administração por vias convencionais, como depressão respiratória, liberação de cortisol e vasopressina, redução na motilidade intestinal e excitação, de forma dose e espécie-dependente (CROSIGNANI et al., 2017; INGVAST-LARSSON et al., 2010; MONTEIRO et al., 2008; ROBERTSON; TAYLOR, 2004).

Em humanos, a metadona possui alta biodisponibilidade quando administrada por via oral e uma meia-vida longa quando comparada a outros opioides (DALE et al., 2002). Em cães, no entanto, a biodisponibilidade oral da metadona é baixa (KUKANICH et al., 2005), pois possui depuração de 89% pela circulação hepática do metabolismo de primeira passagem, ao contrário do observado em humanos

(MERESAAR et al., 1981), fazendo com que a administração de cápsulas não seja uma opção viável. Considerando as vias intravenosa e subcutânea, a meia-vida varia entre 1,75 a 4 horas e 2 a 12 horas, respectivamente (INGVAST-LARSSON et al., 2010; KUKANICH et al., 2005) o que sugere vantagens da administração desse fármaco pela via transdérmica.

Outro aspecto importante a ser considerado são as características físico-químicas, como solubilidade e permeabilidade, que influenciam a eficiência de absorção cutânea de um fármaco. Sua difusão através da pele é determinada não somente pelo coeficiente de difusão, mas é também proporcional à superfície de pele exposta ao sistema de liberação lenta. Uma vez que a área de exposição é relativamente pequena, a potência do fármaco será determinante à sua possibilidade de utilização. Este, portanto, necessita ser suficientemente lipofílico para que possa penetrar o extrato córneo da pele, permitindo sua difusão e absorção sistêmica, além de possuir massa molar inferior a 500 g mol^{-1} , ponto de fusão menor que 200°C e dose terapêutica inferior a 10 mg (PRAUSNITZ; LANGER, 2008), parâmetros esses apresentados pela metadona (BARBOSA NETO; GARCIA; GARCIA, 2015; GARRIDO; TROCÓNIZ, 1999).

Uma vez que a permeabilidade cutânea do fármaco seja possível, sua administração por essa via exige que seja associado a um material que permita liberação por determinado período de tempo. O processo de liberação pode ocorrer de forma rápida ou lenta, a depender do tipo de interação entre a matriz e o ativo. O sistema controlado possui a vantagem de permitir a disponibilidade do fármaco em uma faixa de concentração constante, mantendo-a dentro da janela terapêutica e abaixo dos níveis de toxicidade (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2015). Dessa maneira, faz-se necessário escolher o material adequado para promover a liberação do fármaco, sendo que, por meio das técnicas de caracterização dos compósitos poliméricos, torna-se possível otimizar os materiais mantendo em vista sua utilização para fins terapêuticos.

A utilização tópica e a permeação cutânea da metadona foram estudadas previamente *in vitro* e *ex vivo* em peles suína (KUNG et al., 2019; MUÑOZ et al., 2017), murina (KOLESNIKOV; SÕRITSA, 2008) e humana (GHOSH; BAGHERIAN, 2017) e testes clínicos em humanos (HEXAL AG, BRACHER, 1997; CALDWELL GALER INC, 2005; GALLAGHER; ARNDT; HUNT, 2005; LOVE; BOURGEOIS, 2014; SYLVESTER et al., 2011). É possível encontrar estudos sobre a sua utilização tópica por meio de emulsões e surfactantes poliméricos como Pluronic® Lecithin Organogel (SYLVESTER et al., 2011) ou Lipoderm® (LOVE; BOURGEOIS, 2014), em forma de pó com Stomahesive® (GALLAGHER; ARNDT; HUNT, 2005) e por sistemas de liberação transdérmica matriciais, em que a matriz é composta por borrachas sintéticas (CALDWELL et al., 2005), poliacrilato ou similares e associada a promotores de permeação (GHOSH; BAGHERIAN, 2017; MUÑOZ et al., 2017). Sistemas poliméricos contendo metadona também foram idealizados nas formas de microesferas e implantes subdérmicos de ácido polilático (PLA), sendo que tais dispositivos apresentaram liberação *in vivo* superior a 99% (CHA; PITT, 1988; DELGADO; EVORA; LLABRES, 1996; DELGADO; EVORA, 1998; NEGRÍN et al., 2001; NEGRÍN et al., 2004).

O PLA é um polímero biodegradável e biocompatível com propriedades térmicas e mecânicas que permitem diversas aplicações, como formação de filmes e fibras, além de propriedades físicas que admitem a incorporação de diferentes fármacos para liberação controlada (ZHANG et al., 2017), tendo sido aprovado pela *Food and Drug Administration* como material de base para aplicação na entrega de fármacos (LIU et al., 2013). Walter e Xu (2015) demonstraram que o carregamento de fármacos em micro e nanofibras poliméricas gera um sistema estável e com alta eficiência na encapsulação de substâncias quando comparado a outras formas de administração de fármacos. Essa abordagem, no entanto, permanece pouco explorada, embora vários polímeros sintéticos como o PLA, o ácido poliglicólico (PGA) e a policaprolactona (PCL) tenham sido amplamente utilizados na produção de biocompósitos para aplicação em engenharia biomédica e também como suporte para liberação de ativos (AGARWAL; WENDORFF; GREINER, 2008; GUNN; ZHANG, 2010; MALAFATTI et al., 2020).

Adicionalmente, a imobilização de nanopartículas como material de reforço nas fibras poliméricas favorece as características do sistema, sendo que a elevada área

de superfície das nanopartículas favorece a adsorção do princípio ativo e a liberação pode ocorrer pelos dois componentes (ZHOU et al., 2006; PARREIRA; EUGENIO, 2011). Nanopartículas de sílica mesoporosa (SiO_2) vêm sendo utilizadas para esse fim por serem biocompatíveis, apresentarem elevada área de superfície específica e porosidade, o que providencia numerosos sítios de ligação eletrostática para o composto ativo e permite sua aplicação na adsorção de fármacos (KRESGE et al., 1992; WU; RAJA, 2011; ZHAO et al., 2004).

Para a imobilização das nanopartículas e do fármaco ativo em fibras poliméricas, pode-se utilizar uma técnica de alta versatilidade denominada eletrofiação, que consiste na aplicação de um potencial elétrico a uma gota pendente de solução polimérica, que age como um dos eletrodos. Isso causa a deformação da gota para um formato cônico e a projeção acelerada de um jato carregado em direção ao eletrodo contrário, formando fibras contínuas que aderem a um cilindro coletor. Durante o processo, o solvente evapora na totalidade e a solução polimérica é organizada na forma de fibras finas cujo diâmetro pode se estender de micrômetros a nanômetros, e cuja elevada área superficial e porosidade permitem sua utilização para liberação de ativos (AGARWAL; WENDORFF; GREINER, 2008; GUNN; ZHANG, 2010; ZHANG et al., 2017).

Após a obtenção e caracterização dos compósitos contendo o fármaco, é necessário verificar a capacidade de liberação deste pelos materiais poliméricos por meio de testes de liberação *in vitro*. Replicando-se condições que se assemelham às da superfície da pele e mensurando a concentração acumulada de fármaco na solução ao longo do tempo por meio de ensaios de liberação, torna-se possível avaliar o potencial de aplicação terapêutica do material (SIEWERT et al., 2003; MUÑOZ et al., 2017).

Embora o estudo das vias alternativas de administração de opioides tenha trazido à luz novas possibilidades, a via transdérmica permanece pouco explorada na medicina veterinária. Por outro lado, a metadona, com sua característica singular como antagonista de receptores NMDA e agonista de receptores opioides μ , sugere uma alternativa efetiva para o controle das dores crônicas ou refratárias ao tratamento com anti-inflamatórios não esteroides. Assim, a associação da metadona a sistemas de liberação nanoestruturados, como a sílica, imobilizada em fibras de um polímero

biodegradável e biocompatível (PLA), apresenta grande potencial para constituir um sistema diferenciado de liberação controlada de opioide desenvolvido em território nacional.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção descreve a metodologia utilizada nesse trabalho, dividida resumidamente em etapas que compreendem: o processamento e quantificação do cloridrato de metadona; a preparação e caracterização da matriz polimérica e compósitos; o estudo da interação do cloridrato de metadona com as nanopartículas de sílica; e os ensaios de liberação *in vitro* e a análise estatística (Figura 1). As técnicas de síntese e caracterização foram realizadas no Laboratório de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação, com exceção da espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível, realizada no Laboratório de Cerâmicas Ferroelétricas, Departamento de Física, Universidade Federal de São Carlos.

Figura 1. Sequência metodológica.

Legenda: PLA: ácido polilático; SiO₂: nanopartículas de sílica mesoporosa.

4.1. Processamento do cloridrato de metadona

O fármaco utilizado foi obtido a partir da solução injetável de cloridrato de metadona 1% (Mytedom®, Cristália, SP), submetido a um processo de secagem através do método de liofilização (Edwards SuperModulyo Freeze Dryer, Reino Unido), quando necessária sua utilização em forma seca para incorporação à solução polimérica e caracterizações. A composição do fármaco foi verificada por meio de análises térmicas e microscopia eletrônica de varredura (MEV) com espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS), e sua concentração em solução nas diferentes análises desse trabalho foi avaliada pelo método de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) (Figura 2).

Figura 2. Curvas de calibração obtidas no espectrofotômetro UV-Vis para o cloridrato de metadona em solução tamponada (PBS).

Fonte: própria autoria.

4.2. Preparação e caracterização da matriz polimérica e dos compósitos

4.2.1. Eletrofiação

O método de eletrofiação foi empregado segundo procedimento experimental otimizado pelo grupo de pesquisa da Profa. Dra. Elaine Paris (MALAFATTI et al., 2020; MASCARENHAS; TAVARES; PARIS, 2020)(BECARO et al., 2016; MALAFATTI et al., 2020; SÁ et al., 2017; SANTOS; TAVARES; PARIS, 2017), para a obtenção das fibras e imobilização do fármaco e das nanopartículas em matriz polimérica. Para isso, inicialmente, *pellets* de PLA (peso molecular $66.000 \text{ g mol}^{-1}$) foram solubilizados em clorofórmio e submetidos a agitação constante durante 2 h em temperatura ambiente, até a completa homogeneização da solução polimérica, sendo então adicionado dimetilsulfóxido (DMSO) e continuada a homogeneização durante mais 1 h. A concentração do polímero foi de 10% de PLA em relação à massa seca final para uma relação dos solventes de 3:1 de clorofórmio:DMSO.

Inicialmente, foram sintetizados dois compósitos de PLA contendo duas concentrações de cloridrato de metadona (MTD), indicados como PLA:MTD 2,5% e 5%, para que fossem observados os efeitos do fármaco sobre as fibras de PLA, optando-se pela concentração de 2,5% após a caracterização. Uma vez determinada a concentração do cloridrato de metadona a ser adicionado às fibras de PLA, foram sintetizados mais quatro compósitos, sendo eles: PLA (fibras de ácido polilático 10%), PLA:MTD (fibras de ácido polilático 10% e cloridrato de metadona 2,5%), PLA:Si

(Fibras de ácido polilático 10% e nanopartículas de sílica 2,5%) e PLA:Si:MTD (Fibras de ácido polilático 10%, nanopartículas de sílica 2,5% e cloridrato de metadona 2,5%), para a avaliação da estrutura das fibras e comportamento de liberação de fármaco nas diferentes composições. As condições usadas na preparação das soluções poliméricas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições para obtenção das soluções poliméricas na mistura de solventes clorofórmio e dimetilsulfóxido (DMSO) em proporção 3:1.

Amostra	PLA	Sílica	Metadona
PLA	10%	-	-
PLA:MTD	10%	-	2,5%
PLA:MTD	10%	-	5%
PLA:Si	10%	2,5%	-
PLA:Si:MTD	10%	2,5%	2,5%

Fonte: própria autoria.

Visando a incorporação do fármaco às fibras de PLA, foi realizada a dispersão do cloridrato de metadona liofilizado em DMSO, sendo a homogeneização realizada por agitação magnética em temperatura ambiente durante 1 h. Após esta etapa, a solução de MTD:DMSO preparada anteriormente foi adicionada à solução PLA:clorofórmio, preparada como descrito anteriormente. No caso das nanopartículas de sílica, estas foram adicionadas após a solubilização do PLA em clorofórmio e anteriormente à inserção do fármaco, garantindo que se encontrassem dispersas para a adição do cloridrato de metadona. Sequencialmente, a solução polimérica contendo o fármaco e/ou as nanopartículas foi submetida ao processo de eletrofiação para obtenção dos compósitos.

Cada solução obtida foi transferida para uma seringa de vidro e submetida à eletrofiação sob os seguintes parâmetros: vazão de 1,5 mL h⁻¹, distância de trabalho de 10 cm e tensão elétrica variando de 13 a 20 kV, com rotação do cilindro coletor de 180 rpm. O sistema de eletrofiação é composto de uma fonte de alta tensão (Glassman High Voltage, modelo PS/FC60P02.0-22), uma bomba ejetora (KVS, modelo 100) e do conjunto de seringa de vidro (Art Glass) de 20 mL com agulha de 40 x 1,2 mm.

4.2.2. Caracterização dos sistemas

Diferentes técnicas de caracterização foram utilizadas para avaliar as características básicas dos sistemas desenvolvidos, como composição, estrutura e morfologia. Para isso, foram utilizados os seguintes métodos: espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (MEV-EDS), análise termogravimétrica (TGA), determinação do ângulo de contato (θ) e espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), listados na Tabela 2. Os resultados obtidos pela caracterização deverão auxiliar na seleção dos melhores compósitos, que poderão ser potencialmente avaliados quanto à liberação *in vitro* com célula de difusão vertical e em estudos farmacocinéticos futuros.

4.2.2.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A caracterização da superfície dos compósitos poliméricos foi realizada pelas técnicas de MEV e EDS. Com a técnica de microscopia eletrônica de varredura foram obtidas imagens das formas e diâmetro das fibras de PLA nas diferentes composições. Essa técnica produz imagens de alta resolução e magnificação por uma varredura por feixe de elétrons, que são refletidos e captados por um sensor para formação da imagem. Posteriormente, com o auxílio do *software* de processamento e análise de imagens *Image J* (*National Institute of Mental Health*, Bethesda, EUA), foi possível mensurar e comparar os diâmetros médios das fibras para cada amostra.

A espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) foi utilizada para obter informação sobre os materiais compósitos, como a composição química, e confirmar a presença das nanopartículas de sílica, assim como sua distribuição e homogeneidade nas fibras de PLA. Nessa técnica, um feixe de elétrons de alta energia incide sobre o material, produzindo fótons de raios x com comprimento de onda característico para cada elemento, permitindo sua identificação (CHINAGLIA; CORREA, 1997).

Para a análise, pequenos fragmentos dos compósitos foram recortados, mantendo-se a base de alumínio para evitar alterações estruturais. Os fragmentos foram então fixados em porta-amostras de latão por meio de uma camada dupla de fita adesiva de carbono, reduzindo assim a interferência do material da base na leitura

e evitando o acúmulo de carga elétrica na amostra. Em seguida, foram recobertos com uma camada de ouro (MEV) ou carbono (EDS).

4.2.2.2. *Análise Termogravimétrica (TGA)*

A análise termogravimétrica acompanha a variação de massa de uma determinada amostra em relação a uma variação programada de temperatura. Nesse estudo, a TGA foi utilizada para quantificar a porcentagem de nanopartículas de sílica presentes na amostra, assim como avaliar comportamento térmico dos compósitos na presença da sílica e da metadona. Para a TGA, amostras de 5 a 10 mg foram colocadas em um cadinho de platina e submetidas ao aquecimento de 25 até 500°C, a uma taxa de 10°C min⁻¹ em vazão de 40 a 60 mL⁻¹ min e fluxo de nitrogênio.

4.2.2.3. *Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)*

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier foi empregada para a confirmação das espécies adsorvidas na superfície da amostra, como as nanopartículas de sílica e metadona, bem como a pureza dos compósitos e a ocorrência de possíveis modificações estruturais entre os compósitos. As bandas obtidas em um espectro de FTIR são provenientes da vibração molecular dos átomos devido à absorção da radiação infravermelha, sendo que a análise de um espectro de FTIR permite a identificação das bandas de absorção características de uma determinada espécie (JONES; ATKINS, 2012; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Para a obtenção dos espectros, foi utilizado um equipamento FT-IR VERTEX 70v (Bruker Optics, Alemanha) no modo de refletância ATR, na região espectral de 4000 a 400 cm⁻¹, com resolução espectral de 4 cm⁻¹ e 200 varreduras.

4.2.2.4. *Determinação do Ângulo de Contato (θ)*

Medidas do ângulo de contato foram empregadas para avaliação da molhabilidade da superfície dos compósitos. Em materiais hidrofílicos ($\theta < 90^\circ$), ocorre o molhamento do sólido e o líquido se espalha, resultando em ângulos de valor menor, enquanto em materiais hidrofóbicos ($\theta > 90^\circ$) ocorre a repulsão do líquido e não é observado molhamento, resultando em ângulos maiores (LUZ; RIBEIRO; PANDOLFELLI, 2008).

Para a medida, um fragmento de 0,5 x 5 cm foi adquirido a partir dos compósitos, sem que fossem retirados da base de alumínio, evitando danos estruturais. Em seguida, uma gota de água destilada foi depositada na superfície dos materiais e as respectivas imagens capturadas por um sistema óptico para a determinação do ângulo de contato. As imagens foram capturadas durante 60 segundos após a deposição da gota na superfície para determinar a molhabilidade em função do tempo.

4.2.2.5. *Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)*

A concentração da metadona em solução nas diferentes análises desse estudo foi estimada pelo método indireto de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) ao comprimento de onda de 192 nm, baseados nas curvas de calibração obtidas em diversas concentrações de metadona em solução tampão fosfato-salino (PBS) de pH 5,5 ou água. Essa técnica foi utilizada nos ensaios de adsorção das nanopartículas para quantificar o fármaco não adsorvido presente no líquido sobrenadante, nos ensaios de liberação para quantificação da concentração acumulada de fármaco na solução e nos ensaios de dissolução e degradação de metadona.

Tabela 2. Resumo das técnicas e equipamentos a serem utilizados para caracterização das fibras poliméricas e compósitos.

Técnica	Função	Equipamento
<i>FTIR</i>	Determinar as espécies presentes nos compósitos, como a metadona e a sílica.	Bruker VERTEX FT-IR no modo de refletância, 4000 a 400 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} , 200 varreduras.
<i>MEV</i> <i>MEV-EDS</i>	Determinar a forma, tamanho e distribuição das nanopartículas e fibras poliméricas, além dos elementos químicos constituintes.	Microscópio eletrônico de varredura com fonte de emissão de campo JEOL, modelo 6701F.
<i>TGA</i>	Avaliar comportamento térmico das amostras e incorporação do fármaco.	TA Instruments, modelo Q500.
<i>Ângulo de contato</i>	Avaliar a molhabilidade da superfície das fibras e compósito.	KSV, modelo CAM 101.
<i>UV-Vis</i>	Mensurar a concentração de metadona em solução (água ou PBS).	Espectrofotômetro Shimadzu UV-1700, EUA e Shimadzu UV-2600, JP

4.3. Interação do cloridrato de metadona com as nanopartículas de sílica mesoporosa

O estudo de interação do cloridrato de metadona com as nanopartículas de sílica foi realizado sob a premissa de se entender e prever o comportamento dos materiais ao serem dispersos em conjunto na solução polimérica e imobilizados nas fibras dos compósitos. Para isso, avaliou-se o efeito da concentração e temperatura sobre a eficiência de adsorção do fármaco nas nanopartículas.

4.3.1. Síntese das nanopartículas

As nanopartículas de sílica mesoporosa foram sintetizadas pelo método sol-gel, baseado na metodologia de Stöber, Fink e Bohn (1968) e otimizado por Santos, Tavares e Paris (2017). Por meio das condições de síntese descritas a seguir, foi possível a obtenção de nanopartículas de sílica com diâmetro de 5 nm e área superficial de 536 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, com grande potencial para aplicação em processos de adsorção (TAVARES, 2017).

Foi empregado tetraetilortossilicato (TEOS) como fonte de silício (7,5 mL), assim como etanol (100 mL), água ultrapura Milli-Q® (150 mL) e hidróxido de amônio (8 mL). Esses componentes foram mantidos sob agitação constante à temperatura ambiente por aproximadamente 1 h, seguida de aquecimento a 70°C em agitador magnético para evaporação parcial dos solventes até a obtenção de uma estrutura gelatinosa e então em estufa a 50°C durante 24 h para finalização do processo de secagem. O material resultante foi desaglomerado em almofariz e então submetido à calcinação em forno de mufla a 350°C durante 180 min e 400°C durante 120 min, a uma velocidade de 10°C min⁻¹. Esse processo produz em torno de 2 g de SiO₂.

4.3.2. Ensaio de adsorção

Foram realizados três ensaios de adsorção nas temperaturas de 12°C, 25°C e 40°C, cada um contendo amostras em triplicatas de três diferentes concentrações de sílica, sendo essas 0,06, 0,12 e 0,25 mg mL⁻¹ (Figura 3). A sílica foi dispersa em uma solução aquosa de cloridrato de metadona na concentração de 6 mg L⁻¹, sendo a concentração inicial de fármaco na solução confirmada utilizando-se o espectrofotômetro UV-Vis. As suspensões foram agitadas mecanicamente a 150 rpm por meio de agitador magnético do tipo incubadora (incubadora com agitação orbital Tecnal TE-4200, BR) durante 24 h para a intercalação das moléculas. Ao final desse período, os pós foram separados por centrifugação (8.000 rpm por 12 min a 10°C), sendo o fármaco não incorporado quantificado pela análise espectral UV-Vis do sobrenadante.

Figura 3. Esquema da metodologia utilizada nos ensaios de adsorção do cloridrato de metadona nas nanopartículas de sílica mesoporosa (SiO₂).

Fonte: própria autoria.

4.3.3. Avaliação da eficiência de adsorção

As nanopartículas tiveram a eficiência de adsorção calculada empregando-se a seguinte equação:

$$\% \text{ eficiência} = \frac{M_t}{M_o} \times 100\% \quad (1)$$

onde m_t é a massa total de metadona adsorvida e m_o é a massa inicial de metadona.

4.4. Ensaio de liberação *in vitro*

Para o ensaio de liberação que determina a quantidade liberada do fármaco para a solução em função do tempo, frações dos compósitos contendo metadona foram submergidas em solução tampão fosfato sódico (PBS). Para isso, os fragmentos foram medidos e pesados em balança analítica para padronização entre as triplicatas, sendo mantidos em um suporte de alumínio para prevenir danos estruturais por manipulação. Isso resulta na exposição de somente um dos lados da membrana, assemelhando-se a um dispositivo de liberação transdérmica. Estas foram então submergidas em PBS com pH 5,5 e temperatura constante de $33 \pm 1^\circ\text{C}$ (SIEWERT et al., 2003; MUÑOZ et al., 2017), sendo mantidas em agitador mecânico (50 rpm) com controle de temperatura tipo incubadora.

Após a imersão dos fragmentos, amostras de 3,5 mL do sobrenadante foram coletadas e analisadas por espectroscopia UV-Vis nos tempos 0,5 h, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h e 24 h, sendo o mesmo volume repostado em PBS e a concentração final das amostras corrigida matematicamente (KUNG et al., 2019). Adicionalmente, três amostras de recipientes contendo uma solução de cloridrato de metadona e PBS foram mantidas em temperatura ambiente e três outras nas mesmas condições de agitação e temperatura descritas, para fins de comparação. Diferenças na leitura do espectro no UV-Vis entre essas amostras podem indicar alterações na estrutura do fármaco secundárias às condições experimentais.

Com a intenção de comparar o comportamento de dissolução do cloridrato de metadona na forma seca em PBS com aquele observado nos compósitos, adicionou-se PBS ao fármaco seco nas mesmas condições dos ensaios de liberação, sendo amostras retiradas em intervalos de tempo definidos e analisadas por UV-Vis.

4.5. Análise Estatística

A análise dos dados de eficiência de adsorção da metadona nas nanopartículas de sílica em função da variação de concentração e temperatura foi realizada através de ajuste de modelo de regressão Beta, utilizada para modelar variáveis contínuas no intervalo (0,1), com função de ligação Logito. Efeitos lineares, quadráticos e de interação foram testados. Os dados do ângulo de contato, assim como aqueles relativos à contagem de estruturas esféricas (*beads*) das fibras poliméricas e compósitos, foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), a fim de constatar a ocorrência de diferença significativa entre os materiais, seguida pelo teste de Duncan de comparação de médias para definir quais tratamentos diferiram entre si. Os ensaios de liberação também foram analisados por meio de ANOVA, verificando se houve diferença de comportamento entre os materiais em relação à liberação inicial, velocidade de liberação do fármaco e total de fármaco liberado no ponto de 24 horas. Por fim, a análise dos dados relativos à distribuição dos diâmetros das fibras poliméricas, de natureza não paramétrica, foi realizada por meio da aplicação do teste de Mann-Whitney. Por meio do teste, a igualdade das medianas foi testada após sua ordenação, comparando o padrão de distribuição dos diâmetros entre os diferentes materiais. O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Determinação do teor de fármaco a ser adicionado aos materiais

Esta seção aborda os resultados referentes aos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%, obtidos com a intenção de verificar a influência da variação da concentração do fármaco sobre as fibras de PLA e determinar o teor deste a ser utilizado. Inicialmente, foram realizadas análises termogravimétricas do cloridrato de metadona, de fibras de PLA e dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%. As curvas obtidas por TGA, bem com sua derivada (dTGA) podem ser observadas na Figura 4.

Figura 4. Dados de análise termogravimétrica para a perda de massa % e taxa de perda de massa (dTGA) do cloridrato de metadona liofilizado, das fibras poliméricas de ácido polilático e dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona. Fonte: própria autoria.

Nesta análise, observa-se que o cloridrato de metadona proveniente das ampolas utilizadas apresentou discreta perda de massa (2%) anterior a 100°C, seguida por grande perda de massa a 234°C e resíduo de 35%. As fibras de PLA apresentaram grande perda de massa a 342°C, enquanto os compósitos apresentaram perda de massa em temperaturas mais baixas (330°C e 328,8°C),

aparentemente proporcional à concentração de fármaco presente na formulação. A porcentagem de resíduo presente (Tabela 3) também sofreu aumento em relação à concentração de metadona adicionada. No compósito PLA:MTD 5%, foi possível observar um pequeno pico de perda de massa a 260°C, sendo o mesmo não detectado no compósito PLA:MTD 2,5%. As temperaturas de degradação e resíduo das amostras estão exemplificadas na Tabela 4. Com relação ao teor de fármaco, não foi possível detectar a curva de degradação da metadona em todos os compósitos. No entanto, com base na porcentagem de resíduos presentes na amostra de fármaco liofilizada (35%) e no polímero (1%), foi possível estimar que o teor de fármaco presente nas amostras utilizadas na análise termogravimétrica foi de $2,7\pm 1\%$ para o PLA:MTD 2,5% e $4,0\pm 1\%$ para o PLA:MTD 5%.

Tabela 3. Picos de perda de massa (dTGA) e resíduos de cloridrato de metadona, ácido polilático e compósitos de PLA:MTD 2,5% e 5% obtidos por análise termogravimétrica.

	Picos de perda de massa	Resíduo
Cloridrato de metadona	56°C / 234°C	35%
PLA puro	342°C	1%
PLA:MTD 2,5%	330°C	5%
PLA:MTD 5%	260°C / 328,8°C	7%

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona. Fonte: própria autoria.

Em seguida, foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura para verificar a influência do fármaco sobre o processo de formação das fibras na eletrofiação (Figura 5).

Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e distribuição dos diâmetros médios (gráficos) das fibras poliméricas de ácido polilático e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Por meio das imagens obtidas, foi possível observar que a presença do fármaco alterou significativamente o diâmetro médio e a distribuição de diâmetro das fibras poliméricas, sendo que aquelas contendo metadona apresentaram-se ligeiramente mais finas (Figura 6). A distribuição do diâmetro, no entanto, foi menos homogênea para os dois compósitos, não tendo sido observada diferença entre eles (Tabela 4).

Figura 6. Diâmetro médio e distribuição dos diâmetros das fibras poliméricas dos materiais PLA, PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Tabela 4. Comparação entre as distribuições dos diâmetros pelo teste de Wilcoxon. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.

Materiais	PLA	PLA:MTD 2,5%	PLA:MTD 5%
PLA:MTD 2,5%	0. 00076	-	-
PLA:MTD 5%	1. 9e-05	1. 00000	-
PLA		a	
PLA:MTD 2,5%		b	
PLA:MTD 5%		b	

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Apesar de mais homogêneo, o PLA puro apresentou maior ocorrência de formações esféricas ou *beads*, observadas em menor frequência nos dois compósitos contendo metadona (Figura 7). O número de *beads* foi estatisticamente semelhante entre os dois compósitos (Tabela 5).

Figura 7. Número de formações esféricas ou *beads* por mm² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Tabela 5. Número de formações esféricas ou *beads* por mm² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.

Compósito	<i>n</i> ° beads / mm ² (Média ± DP)	Grupo
PLA	18,5 ± 3,7	a
PLA:MTD 2,5%	5,5 ± 0,6	b
PLA:MTD 5%	1,1 ± 0,2	b

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Em observação das micrografias para os três materiais, as fibras apresentaram-se rugosas e com poucos poros, sendo que não foi detectada alteração de rugosidade ou porosidade entre eles (Figura 8).

Figura 8. Micrografias das fibras de PLA e dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Também se notaram algumas microestruturas com presença de material de morfologia diferente da fibra, como grãos de facetas bem definidas, podendo representar cristais de cloridrato de metadona ou sais residuais (Figura 9), provavelmente devido à utilização do fármaco injetável liofilizado para a incorporação. Essas estruturas encontraram-se presentes em maior quantidade no compósito contendo a maior concentração de fármaco, PLA:MTD 5% e, portanto, a maior concentração de sais.

Figura 9. Micrografias das fibras de PLA:MTD 5% mostrando presença de grãos facetados entre as fibras

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona.

Com relação ao ensaio de liberação realizado para os compósitos PLA:MTD 2,5% e PLA:MTD 5%, não houve diferença de comportamento entre os materiais, seja em relação à velocidade de liberação do fármaco ou ao total de fármaco liberado no ponto de 24 horas (considerando porcentagem). Em ambos os materiais, foi possível observar um pico de liberação entre a submersão das fibras em PBS e os primeiros

30 minutos, sendo que a fibra contendo 5% de cloridrato de metadona liberou uma quantidade maior de fármaco nesse estágio. O fármaco completou sua liberação em cerca de 8 horas (Figura 10).

Figura 10. Liberação acumulada de cloridrato de metadona em PBS ao longo de 24h a partir dos compósitos PLA:MTD 2,5% e 5%.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; PBS: solução tampão-fosfato.

5.2. Obtenção e caracterização dos compósitos

Nessa sessão são apresentados os resultados relativos às fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5%, PLA:Si e PLA:Si:MTD, obtidos com a intenção de verificar a influência dos diferentes componentes sobre as fibras de PLA e o comportamento de liberação do fármaco. Inicialmente, foram realizadas análises termogravimétricas dos materiais, sendo que as curvas obtidas por TGA, bem com sua derivada (dTGA) podem ser observadas na Figura 11.

Figura 11. Dados de análise termogravimétrica para a perda de massa % e taxa de perda de massa (dTGA) do cloridrato de metadona liofilizado, fibras de PLA e dos compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Nessa análise observa-se que, dos compósitos contendo metadona, PLA:MTD apresentou grande perda de massa a 330°C e 3% de resíduo, semelhante ao observado na síntese anterior do mesmo material, enquanto o compósito PLA:Si:MTD apresentou perda de massa a 327°C e 4% de resíduo. O compósito contendo somente PLA e sílica apresentou grande perda de massa a 335°C e 1,6% de resíduo, temperatura mais baixa que as fibras de PLA puro, porém, mais alta em comparação aos outros materiais. As temperaturas de degradação e resíduo das amostras estão exemplificadas na Tabela 6.

Tabela 6. Picos de perda de massa (dTGA) e resíduos das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD obtidos por análise termogravimétrica.

	Picos de perda de massa	Resíduo
PLA puro	342°C	1%
PLA:MTD	330°C	3%
PLA:Si	335°C	1,6%
PLA:Si:MTD	327°C	4%

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Em relação aos espectros de FTIR obtidos, observa-se uma forte banda de absorção, que aparece em torno de 1750 cm^{-1} , no espectro dos materiais contendo PLA. No espectro da sílica, observa-se duas bandas em torno de 463 cm^{-1} e 1090 cm^{-1} e uma banda larga em torno de 3435 cm^{-1} . No cloridrato de metadona, foi observada uma banda larga em torno de 2399 cm^{-1} . Não foi possível observar alterações entre os compósitos e as fibras de PLA puro (Figura 12).

Figura 12. Espectro de FTIR das nanopartículas de sílica (Si), cloridrato de metadona (MTD), fibras poliméricas de ácido polilático (PLA) e dos compósitos PLA:MTD, PLA:Si e PLA:Si:MTD.

Em seguida, foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de varredura para verificar a influência do fármaco e das nanopartículas de sílica mesoporosa sobre o processo de formação das fibras na eletrofiação. Ao observar as micrografias dos compósitos obtidos por MEV nas diferentes composições, é possível notar diferenças em suas distribuições, assim como em seus diâmetros (Figura 13).

Figura 13. Imagens de microscopia eletrônica de varredura e distribuição dos diâmetros médios (gráficos) das fibras poliméricas de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

O compósito no qual foram adicionadas nanopartículas de sílica (PLA:Si) apresentou menor diâmetro médio e distribuição mais homogênea dos diâmetros em relação aos outros materiais. Em seguida, as fibras de PLA e o compósito PLA:MTD apresentaram diâmetro médio semelhante, não apresentando diferença estatística na distribuição do diâmetro médio das fibras, ao contrário do observado na síntese anterior do compósito PLA:MTD 2,5% (Tabela 8). O compósito contendo PLA, fármaco e sílica (PLA:Si:MTD), por sua vez, gerou as fibras de maior diâmetro, assim como a distribuição mais heterogênea, como fica evidente na Figura 14.

Figura 14. Diâmetro médio e distribuição dos diâmetros das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Tabela 7. Comparação entre as distribuições dos diâmetros das fibras PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si pelo teste de Wilcoxon. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.

Materiais	PLA	PLA:MTD	PLA:Si
PLA:MTD	1. 00000	-	-
PLA:Si	4. 4e-14	5. 9e-07	-
PLA:Si:MTD	0. 03028	0. 00833	< 2e-16
PLA:Si		a	
PLA:MTD		b	
PLA		b	
PLA:Si:MTD		c	

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Embora o compósito PLA:Si tenha exibido menor diâmetro médio e distribuição de diâmetros mais homogênea, nota-se que também apresentou um número muito elevado de *beads* em relação aos outros materiais, seguido pelas fibras de PLA puro (Tabela 8). Ambos os compósitos contendo metadona apresentaram números reduzidos de *beads*, apesar do maior diâmetro e distribuição mais heterogênea (Figura 15).

Figura 15. Número de formações esféricas ou *beads* por mm² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5%, PLA:Si e PLA:Si:MTD.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Tabela 8. Comparação entre o número de formações esféricas ou *beads* por mm² nas fibras de PLA e compósitos PLA:MTD 2,5%, PLA:Si e PLA:Si:MTD. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.

	<i>Beads/mm²</i> (Média ± DP)	Grupo
PLA:Si	78,4 ± 7	a
PLA	18,5 ± 3,7	b
PLA:MTD 2,5%	2,3 ± 0,6	c
PLA:Si:MTD	1,6 ± 0,4	c

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Pela técnica de EDS foi possível observar os constituintes de uma amostra e sua distribuição. O principal componente detectado nas fibras de PLA puro foi carbono (C), embora em quantidade ligeiramente mais baixa que nos outros materiais. Os compósitos PLA:Si e PLA:Si:MTD apresentaram altas concentrações de silício (Si) e oxigênio (O) em relação ao PLA, semelhantes entre si, além de traços de cálcio (Ca) e de enxofre (S). Adicionalmente, o compósito PLA:Si:MTD apresentou altas concentrações de sódio (Na) e cloro (Cl). Todos os compósitos apresentaram traços de íons cobre (Cu), alumínio (Al) e tálio (Ta), relativo aos constituintes do porta-amostras de latão (Figura 16).

Figura 16. Contagens dos componentes obtidos pela técnica de EDS para os compósitos PLA, PLA:Si e PLA:Si:MTD.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: sílica / silício; Na: sódio; C: Carbono; Cl: cloro; K: potássio; O: oxigênio; Ca: cálcio.

Em relação à distribuição das nanopartículas de sílica mesoporosa nos materiais, representados por silício e oxigênio, os mapeamentos sugerem que o material particulado apresenta uma melhor distribuição no compósito PLA:Si:MTD em relação a PLA:Si, com um padrão de aglomerados mais finos (Figura 17).

Figura 17. Análises de EDS para os compósitos (a) PLA, (b) PLA:Si e (c) PLA:Si:MTD mostrando a distribuição dos componentes Si e O₂ na superfície dos materiais.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Com a intenção de avaliar as alterações na molhabilidade das fibras de PLA após adição de metadona e nanopartículas de sílica mesoporosa na solução polimérica, foram realizadas medidas do ângulo de contato das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.

As fibras contendo somente PLA puro apresentaram ângulo de $133,5^\circ \pm 2,4$. Ambas as fibras contendo o fármaco ou a sílica sofreram redução no ângulo de contato em relação ao PLA, mas não apresentaram diferenças entre si. A combinação do PLA, fármaco e nanopartículas, no entanto, produziu um ângulo de contato menor do que os anteriores. Os resultados das médias dos ângulos de contato dos materiais e da análise estatística podem ser observados na Figura 18 e Tabela 9.

Figura 18. Medidas de ângulo de contato médias das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Tabela 9. Medidas de ângulo de contato médias das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si. Letras diferentes indicam diferença para um valor de significância de 0,05.

Compósito	Ângulo de contato (média $\pm$ DP)	Grupos
PLA	133,5° $\pm$ 2,4	a
PLA MTD	127,3° $\pm$ 1,0	b
PLA Si	125,3° $\pm$ 1,3	b
PLA Si MTD	121,1° $\pm$ 0,2	c

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Embora tenha havido uma ligeira alteração no ângulo de contato dos materiais ao longo de um minuto, esta não foi estatisticamente relevante. A variação na molhabilidade em função do tempo pode ser observada na Figura 19.

Figura 19. Variação do ângulo de contato ao longo de um minuto das fibras de PLA e compósitos PLA:MTD, PLA:Si:MTD e PLA:Si.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Referindo-se ao estudo de interação da metadona com as nanopartículas de sílica e considerando os ensaios realizados nas diferentes condições de concentração e temperatura, observou-se os valores expressos na Tabela 10 para a eficiência de adsorção.

Tabela 10. Valores obtidos para a eficiência de adsorção (mEA) entre os ensaios, considerando variação de concentração de nanopartículas de sílica (SiO_2) e temperatura.

Ensaio	T(°C)	[] SiO_2 (mg mL ⁻¹)	mEA $\pm$ Desvio padrão (%)
1	12	0,06	2,1 $\pm$ 0,9
		0,12	3,1 $\pm$ 1,0
		0,25	5,1 $\pm$ 0,6
2	25	0,06	3,3 $\pm$ 0,4
		0,12	3,8 $\pm$ 0,1
		0,25	5,9 $\pm$ 0,4
3	40	0,06	5,3 $\pm$ 0,3
		0,12	4,6 $\pm$ 1,9
		0,25	7,4 $\pm$ 0,7

Fonte: própria autoria.

Em relação aos efeitos lineares, quadráticos e de interação testados, houve efeito da concentração de sílica, temperatura e interação destes na eficiência de adsorção de metadona nas nanopartículas de sílica, ou seja, a eficiência de adsorção aumentou de maneira diretamente proporcional à temperatura. A interação entre os parâmetros foi fraca ao nível de significância de 0,05, enquanto os outros efeitos foram importantes até em valores de significância de 0,001. Os valores do teste z e uma representação gráfica dos dois efeitos podem ser observados na Tabela 11 e Figura 20, respectivamente.

Figura 20. Representação do efeito de concentração e temperatura sobre a eficiência de adsorção de metadona na sílica mesoporosa.

Fonte: própria autoria.

Tabela 11. Efeitos lineares, quadráticos e de interação sobre a eficiência de adsorção de metadona na sílica mesoporosa, onde * representa valores significativos para um nível de significância de 0,05 pelo teste z.

	Estimativa	Erro padrão	Valor de z	Pr(> z)
Intercepto	-4.452313	0.252182	-17.655	< 2e-16*
Temperatura	0.032552	0.008216	3.962	7.44e-05*
Massa	141.076212	33.695165	4.187	2.83e-05*
Temperatura:Massa	-2.097403	1.119064	-1.874	0.0609*

Fonte: própria autoria.

Quanto ao ensaio de liberação realizado para os compósitos PLA:MTD e PLA:Si:MTD, foi possível observar que ambos geraram um pico de liberação entre a submersão das fibras em PBS e os primeiros 30 minutos, sendo que o fármaco completou sua liberação em torno de 8 horas. Não houve diferença de comportamento entre os materiais, seja em relação à velocidade de liberação do fármaco ou ao total

de fármaco liberado no ponto de 24 horas (considerando porcentagem). Em relação à curva de dissolução da metadona, observou-se que a concentração de fármaco na solução aumentou rapidamente, tornando-se completamente disponível dentro de 15 minutos da adição de PBS à forma seca. As amostras mantidas sob as mesmas condições para verificação de alterações na leitura ocasionadas pela degradação do fármaco não apresentaram diferença em relação ao controle externo. As curvas de concentração acumulada de fármaco a partir dos compósitos podem ser observadas na Figura 21, enquanto a comparação das curvas com a dissolução do cloridrato de metadona, na figura 22.

Figura 21. Liberação acumulada de metadona em solução tamponada (PBS) ao longo de 24h a partir dos compósitos PLA:MTD e PLA:Si:MTD.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

Figura 22. Comparação da liberação acumulada de metadona em solução tamponada (PBS) a partir dos compostos PLA:MTD e PLA:Si:MTD e curva de dissolução da metadona.

Legenda: PLA: ácido polilático; MTD: cloridrato de metadona; Si: Nanopartículas de sílica.

6. DISCUSSÃO

6.1. Análises térmicas

Em relação aos resultados da TGA, foi possível verificar que o cloridrato de metadona (forma liofilizada) sofreu perda de massa (2%) em torno dos 56°C correspondente à evaporação da fração líquida, provavelmente água residual ao processo de liofilização ou por absorção da umidade ambiente (Figura 4). Em seguida, ocorreu grande perda de massa a 234°C, atribuída à degradação do fármaco (KUNG et al., 2019). O resíduo dessa amostra foi de 35%, correspondente aos sais constituintes da solução injetável utilizada nesse estudo, como o cloreto de sódio.

O PLA sofreu um único evento de perda de massa (99%) a 342°C, temperatura correspondente à degradação do ácido polilático (SIGNORI; COLTELLI; BRONCO, 2009), sugerindo a ausência de contaminantes na amostra. As fibras do compósito PLA:MTD 2,5% sofreram grande perda de massa (95%) em torno de 330°C, apresentando 5% de resíduo, enquanto as fibras do PLA:MTD 5% degradaram à temperatura de 328,8°C (93% de perda de massa), apresentando cerca de 7% de resíduo. A variação em resíduo entre os compósitos provavelmente se deve à porcentagem de fármaco liofilizado adicionado à solução polimérica proveniente da mesma solução injetável citada anteriormente, que contém cerca de 35% de sais. Adicionalmente, o compósito com o maior teor de fármaco apresentou uma segunda curva na dTGA em torno de 260°C, relativo à degradação da metadona presente no material. A ausência dessa curva no compósito com 2,5% de metadona provavelmente se deve ao baixo teor de fármaco, inferior aos níveis de detecção do equipamento. Por esse comportamento, sugere-se também que exista excesso de metadona em PLA:MTD 5%, que, ao permanecer saturada na superfície das fibras, degrada com maior facilidade em relação àquela presente entre elas.

Em relação aos materiais obtidos em momento posterior (Figura 11), as fibras do compósito PLA:MTD sofreram grande perda de massa (97%) em torno de 330°C, apresentando 3% de resíduo, resultante dos sais presentes na solução do cloridrato de metadona. As fibras do PLA:Si degradaram à temperatura de 335°C (98,4% de perda de massa), apresentando cerca de 1,6% de resíduo, o que corresponde à massa de sílica presente na amostra. O compósito PLA:Si:MTD, por sua vez, sofreu

degradação (96% de perda de massa) à temperatura de 327°C, com 4% de resíduo, este resultante da combinação dos sais do cloridrato de metadona com a sílica, condizentes com as porcentagens adicionadas de cada componente à solução polimérica.

Outro aspecto verificado foi a variação na temperatura de degradação, sendo que o PLA puro degradou a uma temperatura mais alta que os compósitos, sofrendo redução de maneira proporcional ao aumento do teor de fármaco, o que sugere que o fármaco tenha influenciado a propriedade de degradação térmica das fibras. O mesmo comportamento foi observado nos materiais da etapa posterior, em que o compósito contendo somente sílica degradou a 335°C, seguido pelos dois compósitos contendo metadona.

A variação na temperatura de degradação proporcionada pela adição dos outros componentes indica a compatibilidade entre os materiais (BHATIA et al., 2007). Isso fica evidente pelo fato de se comportarem de maneira diferente quando em associação, em contraste a apresentarem dois picos de degradação distintos iguais aos materiais puros. Isso demonstra que não se trata de uma mistura puramente física de cada componente, mas revela a presença de interação entre eles, o que pode influenciar o perfil de liberação do fármaco ao longo do tempo (MUÑOZ et al., 2017).

6.2. Espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier

Em relação às bandas vibracionais de FTIR (Figura 12), os espectros observados nos materiais poliméricos aparentam ser referentes somente às bandas dos modos vibracionais característicos do PLA. Uma forte banda de absorção, que aparece em torno de 1750 cm^{-1} no espectro dos materiais contendo PLA, é relativa à vibração de estiramento de ligação C=O (carbonila) (JEZIOŃSKA et al., 2018).

No espectro da sílica pura, observa-se duas fortes bandas em torno de 463 e 1090 cm^{-1} , atribuída aos grupos Si-O da sílica e um pico largo em torno de 3435 cm^{-1} , correspondente às hidroxilas de superfície (JEZIOŃSKA et al., 2012). No cloridrato de metadona, foram observados os picos característicos e a presença de uma banda larga em torno de 2399 cm^{-1} , atribuída ao estiramento do grupo amida (KUNG et al., 2019).

Pela análise das bandas vibracionais e espectros de FTIR nas fibras poliméricas de PLA e compósitos, é possível concluir que não houve presença de contaminantes ou solventes residuais (clorofórmio ou DMSO), fato que seria indesejável devido à possibilidade de interação destes com os tecidos biológicos. Não foram detectados picos relativos ao fármaco e sílica nos compósitos, pois estes estavam presentes em quantidades muito baixas (2,5%) ou podem ter sido encobertos pelas bandas do PLA, fato também observado em outros estudos (JEZIORSKA et al., 2018; JEZIORSKA et al., 2012).

6.3. Características estruturais das fibras poliméricas

Em relação às imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura (Figuras 5,6, 13 e 14), os achados sugerem que as soluções poliméricas contendo metadona mantiveram-se mais estáveis durante a eletrofiação, em função de uma combinação do aumento da força viscoelástica e presença de sais, o que melhora a condutividade elétrica.

Variações morfológicas nas fibras poliméricas obtidas por eletrofiação podem ser o resultado de variações na viscosidade da solução polimérica, assim como na concentração de sais dissolvidos e condutividade elétrica (GUERRINI et al., 2006; SUNTHORNVARABHAS et al., 2011). Enquanto a condutividade favorece diâmetros preferenciais menores (GUERRINI et al., 2006), formações esféricas são normalmente observadas nas fibras obtidas a partir de soluções em que ocorre baixo grau de emaranhamento das cadeias poliméricas durante a eletrofiação, o que gera instabilidade na extremidade do jato e promove o espalhamento eletrostático (GUERRINI et al., 2006). No entanto, diante da formação de fibras com maior diâmetro, verifica-se o aumento da viscosidade e nas forças viscoelásticas, o que reduz o alongamento do jato durante o estiramento e favorece o emaranhamento das cadeias, melhorando a estabilidade e reduzindo a formação de *beads* (CASASOLA et al., 2014; SUNTHORNVARABHAS et al., 2011; YU et al., 2017).

A distribuição do diâmetro médio e o diâmetro médio preferencial são parâmetros importantes na liberação de fármacos, pois estão diretamente relacionadas à área superficial das fibras e, assim, à cinética de liberação. Nossos dados são corroborados pelo estudo de Chen et al., (2012), os quais observaram que

as fibras de PLA contendo fármaco apresentaram diâmetros ligeiramente maiores e de distribuição menos homogênea. No entanto, diâmetros menores favoreceram o acúmulo de fármaco na superfície e o comportamento de *burst release*, enquanto diâmetros ligeiramente maiores foram capazes de manter a liberação mais estável.

Isso é o que provavelmente observamos no compósito PLA:Si:MTD, que apresentou o maior diâmetro e a distribuição de diâmetro mais heterogênea, resultantes da adição do fármaco e sílica à mesma concentração de PLA e solventes. As alterações observadas, embora estatisticamente relevantes, não foram consideradas impeditivas na utilização do material, uma vez que foram discretas e não impediram a formação das fibras poliméricas, inclusive apresentando potencial para um melhor perfil de liberação.

6.4. Espectroscopia de energia dispersiva

Pela técnica de espectroscopia de energia dispersiva (Figuras 16 e 17), a presença das nanopartículas nos materiais pode ser constatada pela alta concentração dos elementos silício e oxigênio, constituintes da sílica mesoporosa, em relação às fibras de PLA puro. Já nos compósitos contendo metadona foi possível observar maior concentração dos constituintes sódio e cloro, relativos à presença do cloreto de sódio proveniente da formulação do cloridrato de metadona injetável.

A boa dispersão de nanopartículas em compósitos poliméricos melhora suas propriedades mecânicas, como resistência e elasticidade (JEZIÓRSKA et al., 2012). Com base na distribuição dos componentes silício e oxigênio nas imagens, foi possível perceber que o compósito PLA:Si:MTD gerou melhores condições para sua distribuição que o compósito PLA:Si, apresentando um padrão de aglomerados mais finos. No entanto, por meio da comparação das imagens do EDS com aquelas obtidas por MEV, é possível notar que os aglomerados parecem ser correspondentes à posição e frequência dos *beads*, sendo que sua redução parece ter favorecido a homogeneidade, uma vez que as estruturas esféricas resultam em aglomerados maiores. Portanto, é possível concluir que, além de favorecer a estabilidade da técnica de eletrofiação, a adição de metadona à solução polimérica também ocasiona em melhor padrão de distribuição das nanopartículas de sílica mesoporosa no material.

6.5. Medidas do ângulo de contato

Medidas de ângulo de contato (Figuras 18 e 19, Tabela 9) foram empregadas para avaliar a molhabilidade da superfície dos materiais estudados. Em materiais hidrofílicos, ocorre molhamento do sólido e o líquido se espalha rapidamente; já em materiais de natureza hidrofóbica, ocorre repulsão da água, não sendo observado molhamento do sólido (KULKARNI; OGALE; VIJAYAMOHANAN, 2008). Essas características são fundamentais na compreensão da interação de um material com a superfície da pele, uma vez que o grau de hidrofobicidade pode influenciar na aderência do material na superfície da pele, na corrosão e, também, no seu comportamento de liberação de fármacos (SHABBIR et al., 2017).

Todas as fibras apresentaram ângulo de contato $>90^\circ$, caracterizando sua natureza hidrofóbica (KULKARNI; OGALE; VIJAYAMOHANAN, 2008), compatível com a matriz polimérica de PLA. No entanto, os resultados sugerem que tanto a adição de cloridrato de metadona quanto das nanopartículas levou ao aumento da molhabilidade do material, uma vez que o ângulo foi menor em relação às fibras puras de PLA. O compósito contendo os três componentes, por sua vez, apresentou ângulo ainda menor que os compósitos anteriores, sugerindo que a combinação de PLA, nanopartículas de sílica e cloridrato de metadona favorecem a molhabilidade das fibras em relação às fibras de PLA puro.

Isso ocorreu devido às características dos compostos adicionados aos materiais. As partículas de sílica são altamente hidrofílicas por natureza, pois sua superfície carregada com grupos silanóis interagem com as moléculas de água, podendo apresentar ângulos de contato inferiores a 20° (KULKARNI; OGALE; VIJAYAMOHANAN, 2008). O cloridrato de metadona, por sua vez, contém partes hidrofílicas e hidrofóbicas, sendo considerada uma molécula anfipática, muito solúvel em água mas também considerada altamente lipossolúvel, capaz de penetrar em camadas fosfolipídicas (KUNG et al., 2019; REIG et al., 1992).

Materiais hidrofílicos possuem tendência de sofrer hidrólise, dissolvendo-se ou degradando-se mais rapidamente quando em contato com água. Essa característica pode ser desejável, por exemplo, no caso de implantes subdérmicos ou supositórios (SIEWERT et al., 2003), mas não no caso de sistemas transdérmicos para liberação lenta, em que a estrutura necessita ser mantida íntegra durante horas ou dias. Nesse

caso, MUÑOZ et al. (2017) produziram um sistema de liberação transdérmica baseado em metadona e componentes poliméricos hidrofílicos que apresentou 60% de dissolução durante a primeira hora e dissolveu-se completamente ao fim de três horas. Assim, torna-se impossível uma liberação por tempo prolongado. No estudo de NEGRÍN et al. (2004), foram sintetizados implantes subdérmicos de PLA com metadona que liberaram fármaco *in vivo* por até cinco semanas. Adicionalmente, a natureza hidrofóbica de um material garante que sua porcentagem de água seja reduzida (SHABBIR et al., 2017). Em sistemas de liberação transdérmica, a baixa porcentagem de água (2-10%) é desejável, pois pode influenciar a manutenção da estabilidade, uniformidade, integridade e reduzir a susceptibilidade à proliferação microbiana (AMMAR et al., 2009; ARORA; MUKHERJEE, 2002). Nas fibras produzidas em nosso estudo percebemos que o fato de o PLA ser hidrofóbico garante que a integridade estrutural do sistema seja mantida, como também evidenciado pela ausência de alteração no ângulo de contato em função do tempo.

A molhabilidade é um fenômeno que determina o início da liberação do fármaco a partir do sistema e sua taxa de liberação quando em contato com a pele, pois a umidade da pele penetra nas cadeias poliméricas, causando seu espaçamento e tornando-a menos densa, elevando a permeabilidade do filme e causando a solubilização do fármaco (AMMAR et al., 2009). Nesse sentido, o ligeiro aumento da hidrofiliabilidade ocasionado pela adição de metadona e sílica no sistema pode favorecer a cinética de liberação.

Um fator que pode prejudicar a liberação do fármaco na totalidade, no caso do PLA, é a metadona ficar retida no interior das fibras poliméricas hidrofóbicas. Portanto, pode-se considerar tanto a alteração na proporção de solventes quanto o desenvolvimento de blendas poliméricas com características hidrofílicas. Como alternativa para que essa porção seja liberada em um período considerado de interesse clínico, pode ser necessária a adição de um surfactante ao meio de dissolução no teste *in vitro* e, posteriormente, um promotor de permeação ao sistema de liberação transdérmico (SIEWERT et al., 2003).

6.6. Interação da metadona com as nanopartículas de sílica

Apesar de possuir alto módulo de elasticidade e resistência à tração, o PLA é considerado frágil, pois possui baixo valor de alongamento na ruptura. Nesse quesito, a adição de sílica pode ser vantajosa em relação às suas propriedades físicas, uma vez que aumenta significativamente o alongamento na ruptura e a resistência à tração (JEZIORSKA et al., 2018). Adicionalmente, pode ocorrer interação das nanopartículas de sílica com o cloridrato de metadona durante a preparação da solução polimérica, o que pode ser interessante para o sistema, uma vez que nanopartículas de sílica mesoporosa vem sendo extensivamente estudadas para uso como carreadores de fármacos (PORTA et al., 2013).

No presente estudo, o aumento da eficiência de adsorção foi proporcional à temperatura e à concentração de fármaco em relação à sílica (Figura 20), indicando que há presença de interação entre os componentes. No entanto, a máxima adsorção observada foi de 8%. Tal concentração não foi considerada clinicamente relevante para este compósito de PLA contendo 2,5% de sílica.

De modo a resultar em um adsorvente mais promissor e intensificar sua afinidade por compostos orgânicos, é possível realizar a modificação superficial da sílica mesoporosa, o que pode melhorar sua interação com o cloridrato de metadona. Portanto, para que seu uso seja viável como suporte cerâmico para a liberação do fármaco, estudos posteriores são necessários para um melhor entendimento dessa interação.

Embora não tenha sido especificamente avaliado, notou-se que o compósito PLA:MTD apresentou estrutura mais frágil e quebradiça do que PLA:Si:MTD, sendo que, no primeiro, o processo de separação do suporte de alumínio foi muito mais difícil. Essa observação sugere a vantagem estrutural da adição do suporte cerâmico à solução polimérica, que pode ser melhor estudada por técnicas como a análise mecânica dinâmica, que avalia as propriedades mecânicas e viscoelásticas de materiais.

6.7. Ensaios de liberação

No primeiro ensaio de liberação (Figura 10), em que se variou somente a concentração do fármaco adicionado às fibras, não foi verificada diferença de comportamento entre as curvas de liberação, com exceção da primeira hora, em que a fibra contendo 5% de fármaco liberou mais metadona para a solução de PBS. A liberação acentuada ocorreu provavelmente pela baixa interação entre os materiais considerando a proporção dos solventes utilizados, resultando em uma concentração excedente de fármaco em relação à capacidade de assimilação do polímero, sendo este depositado em superfície e rapidamente dissolvido em contato com a solução. Esse foi um dos motivos pelo qual a fibra de PLA:MTD 2,5% foi escolhida em detrimento da segunda. Outros indicativos de que essa fibra conteria excesso de fármaco foram o pico de degradação da metadona observado na técnica de TGA, em que ela se comportou como uma mistura física, e a presença expressiva de estruturas amorfas nas micrografias.

O mesmo comportamento foi observado no estudo de Chen et al. (2012), também realizado com PLA, em que a liberação de fármaco ocorreu em três estágios. No primeiro, ocorreu rápida liberação inicial, denominada *burst release*, relativa à dissolução em PBS dos cristais acumulados na superfície das fibras durante a primeira hora. No segundo estágio, ocorreu liberação mais lenta, relativa à difusão do fármaco pelas fibras por abrasão da superfície polimérica e interação com a água. Nesse caso, as fibras com maior diâmetro apresentaram vantagens, pois foram capazes de estender o processo de liberação. No terceiro estágio, as fibras foram capazes de liberar o fármaco por até 14 dias.

No presente trabalho, a dissolução do cloridrato de metadona em contato com o PBS ocorreu rapidamente (Figura 22), tornando-se completamente disponível dentro de 15 minutos, uma vez que se trata de um composto altamente solúvel em água (BISHARA, 1974; KUNG et al., 2019). Em comparação com o comportamento de todos os compósitos desse trabalho, foi possível constatar que a liberação do fármaco, mesmo em *burst release*, foi mais lenta em relação à dissolução da metadona livre. Isso sugere que, mesmo quando o fármaco fica depositado na superfície das fibras, o grau de emaranhamento destas possui o efeito de retardar sua velocidade de liberação, possivelmente por barrar seu contato imediato com as moléculas de água.

Em seguida, foi observado comportamento de desaceleração na liberação que se prolongou até cerca de 8 h, provavelmente ainda relativa à dissolução do fármaco presente na superfície das fibras, mas protegido pelo emaranhado de cadeias poliméricas. Baseando-se nos estudos de CHEN et al., (2012) e NEGRÍN et al. (2001), é possível antecipar que essa liberação possa se estender por um período ainda mais prolongado com a degradação das fibras poliméricas, o que não foi mensurado nesse estudo.

Anterior à eletrofiação, fármacos podem tornar-se encapsulados por dissolução direta na solução polimérica. A eficiência do encapsulamento do fármaco, sua distribuição dentro das micro/nanofibras e a cinética de liberação são ditadas pela interação entre o fármaco, os solventes e o polímero, devido às suas propriedades físico-químicas. A baixa solubilidade do fármaco pode resultar em distribuição não uniforme, além da migração deste para a superfície, o que leva a uma rápida liberação inicial, ou “*burst release*” (KAIALY et al., 2014). Assim, é importante que o fármaco e o polímero apresentem propriedades de molhabilidade semelhantes para que se obtenha melhor solubilidade e distribuição (ZHANG et al., 2017). Nesse ponto, o caráter hidrofóbico do PLA pode ter contribuído para a falta de interação entre os componentes e a migração do fármaco para a superfície das fibras durante a eletrofiação, causando o comportamento de “*burst release*”.

A ocorrência de *burst release* no desenvolvimento de sistemas de liberação transdérmicos, especialmente quando imersos em solução, é muito comum. Esse comportamento pode ser controlado pela utilização de técnicas como variar a composição polimérica, criando blendas que o tornem mais hidrofílico ou hidrofóbico (ARSHAD et al., 2018; SHABBIR et al., 2017), modificar a forma do fármaco de cloridrato para base-livre para que seja mais ou menos solúvel (NEGRÍN et al., 2004), adicionar promotores de permeação à formulação (ARSHAD et al., 2018; MUÑOZ et al., 2017; SHABBIR et al., 2017), recobrir o material com uma camada polimérica para limitar a velocidade de liberação (NEGRÍN et al., 2004) ou então aumentar a espessura da manta polimérica, fazendo com que a liberação do fármaco aprisionado entre os emaranhados das fibras ocorra por um tempo prolongado.

A obtenção de um material majoritariamente hidrofílico não favorece o perfil de sistemas de liberação lenta, conforme discutido anteriormente. No entanto, é interessante considerar que blendas poliméricas formadas por um polímero

hidrofóbico e um hidrofílico podem melhorar a taxa de incorporação do fármaco nas fibras, em caso de um fármaco hidrofílico e, assim, tornar sua cinética de liberação mais lenta, como observado nos trabalhos de Shabbir et al. (2017) e Arshad et al. (2018). Vale salientar que a utilização de blendas poliméricas para controlar a hidrofilicidade também favorece a manutenção da parte estrutural do sistema, pois essa é garantida pela parte hidrofóbica, enquanto a penetração de água, pela parte hidrofílica, mediante o espaçamento das fibras e solubilização do fármaco (ARSHAD et al., 2018).

Em relação à cinética de liberação, não foi observada diferença entre os materiais. Embora estatisticamente relevante e um fator que potencialmente favorece a liberação lenta (CHEN et al., 2012), a variação no diâmetro médio preferencial das fibras poliméricas parece não ter sido suficiente para produzir variações detectáveis no comportamento de liberação. O mesmo pode ser dito em relação à presença de sílica, pois sua proporção em relação ao polímero foi muito pequena. Adicionalmente, conforme constatado no ensaio de adsorção da metadona na sílica, a eficiência de adsorção do material nessas condições provavelmente não seria suficiente para produzir variações para a sensibilidade da técnica. Na observação direta das curvas, no entanto, o compósito contendo as nanopartículas e maior diâmetro médio (PLA:Si:MTD) aparenta possuir uma curva de liberação ligeiramente mais lenta.

A forma da metadona utilizada nesse estudo foi o cloridrato de metadona. Em um estudo feito por Negrín et al. (2004) foram produzidos implantes subdérmicos com blendas de metadona e PLA, nas formas de cloridrato de metadona e base-livre. Foi observado que o cloridrato apresenta comportamento muito mais solúvel que a base-livre e, portanto, escolheu-se utilizar uma composição de cloridrato / base-livre nos implantes ou somente base-livre, obtendo-se, assim, uma curva de liberação mais lenta. O mesmo foi observado no trabalho de Kung et al. (2019), em que se constatou que a penetração cutânea da base-livre pode ser mais favorável que a do sal. Isso sugere que o estudo da utilização da metadona na forma base-livre ou em composição com o cloridrato de metadona em um sistema de fibras de PLA obtido por eletrofiação pode ser interessante a fim de se verificar se ocorre melhora na interação do fármaco com o polímero e consequente retardamento da velocidade de liberação.

Outro ponto importante é que esse ensaio constitui um estudo preliminar, realizado em condições de imersão total em PBS. Em uma situação real, o material

mantém contato direto com a pele mas não é submerso em solução, sendo umidificado lentamente e, portanto, apresentando comportamento cinético diferente. Para que se possa compreender melhor o comportamento do sistema de liberação a ser utilizado em aplicação clínica, torna-se necessário testá-lo em contato com a pele, como em testes *ex vivo* em sistemas de difusão vertical, pois o extrato córneo constitui uma barreira limitante para a permeação transcutânea, podendo alterar sua velocidade e eficiência de absorção (WILLIAMS; BARRY, 2012).

Conclui-se que os compósitos obtidos possuem potencial para liberação do fármaco *in vitro* por até 12 horas. Para estender seu tempo de liberação, recomenda-se aumentar a espessura da manta polimérica, retardando a difusão do fármaco para a superfície do material. Adicionalmente, novos estudos podem ser realizados para verificar a viabilidade do uso de blendas hidrofílicas com maior afinidade ao fármaco, além da metadona base-livre e funcionalização das nanopartículas de sílica, com a intenção de se reduzir o *burst release* nos primeiros 30 min e proporcionar uma liberação controlada por tempo prolongado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S.; WENDORFF, J. H.; GREINER, A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. **Polymer**, v. 49, n. 26, p. 5603–5621, 2008.

ALEXANDER, A. et al. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 164, n. 1, p. 26–40, 2012.

ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems**. 9th. ed. Baltimore: Lippincot Williams & Wilkins, 2015.

AMMAR, H. O. et al. Polymeric matrix system for prolonged delivery of tramadol hydrochloride, part I: Physicochemical evaluation. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 10, n. 1, p. 7–20, 2009.

ANDRE, R. S. et al. Improving the electrochemical properties of polyamide 6/polyaniline electrospun nanofibers by surface modification with ZnO nanoparticles. **RSC Advances**, v. 5, n. 90, p. 73875–73881, 2015.

APFELBAUM, J. L. et al. Postoperative pain experience: Results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. **Anesthesia and Analgesia**, v. 97, n. 2, p. 534–540, 2003.

ARORA, P.; MUKHERJEE, B. Design, development, physicochemical, and in vitro and in vivo evaluation of transdermal patches containing diclofenac diethylammonium salt. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 9, p. 2076–2089, 2002.

ARSHAD, I. et al. Effect of hydrophilic and hydrophobic polymer on the release of ketoprofen and allopurinol from bilayer matrix transdermal patch. **Advances in Polymer Technology**, v. 37, n. 8, p. 3076–3083, 2018.

BARBOSA NETO, J. O.; GARCIA, M. A.; GARCIA, J. B. S. Revisiting methadone: pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical indication. **Revista Dor**, v. 16, n. 1, p. 60–66, 2015.

BARNHART, M. D. et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and analgesic effects of morphine after rectal, intramuscular, and intravenous administration in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 1, p. 24–28, 2000.

BECARO, A. et al. Nanofibers of getting in the presence of HAPn at different concentrations to release control drugs. In: BRAZIL MRS MEETING - SBPMAT, 15, 2016, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: SBPMat, 2016. p. 500.

BHATIA, A. et al. Compatibility of Biodegradable Poly (lactic acid) (PLA) and Poly (butylene succinate) (PBS) Blends for Packaging Application. **Korea-Australia Rheology Journal**, v. 19, n. 3, p. 125–131, 2007.

BISHARA, R. H. Methadone Hydrochloride. **Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients**, v. 3, n. C, p. 365–439, 1974.

BRUNTON, L. L.; KNOLLMANN, B. C.; HILAL-DANDAN, R. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 13th. ed. New York: McGraw-

Hill Education, 2017.

CALDWELL GALER, INC. (Estados Unidos). Larry J. Caldwell, Bradley S. Galer. **Topical methadone compositions and methods for using the same**. WO nº 110381, 26 abril 2005, 24 nov 2005.

CARREGARO, A. B. et al. Effects of buprenorphine on nociception and spontaneous locomotor activity in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 68, n. 3, p. 246–250, 2007.

CARREGARO, A. B. et al. Evaluation of analgesic and physiologic effects of epidural morphine administered at a thoracic or lumbar level in dogs undergoing thoracotomy. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, n. 2, p. 205–211, 2014a.

CARREGARO, A. B. et al. Physiological and analgesic effects of continuous rate infusion of morphine, butorphanol, tramadol or methadone in horses with lipopolysaccharide (LPS)-induced carpal synovitis. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2014b.

CARREGARO, A. B. et al. Effect of Methadone Combined With Acepromazine or Detomidine on Sedation and Dissociative Anesthesia in Healthy Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 86, p. 102908, 2020.

CASASOLA, R. et al. Electrospun poly lactic acid (PLA) fibres: Effect of different solvent systems on fibre morphology and diameter. **Polymer**, v. 55, n. 18, p. 4728–4737, 2014.

CHA, Y.; PITT, C. G. A One-Week Subdermal Delivery System for L-Methadone Based on Biodegradable Microcapsules. **Journal of Controlled Release**, v. 7, p. 69–78, 1988.

CHEN, S. C. et al. The influence of fiber diameter of electrospun poly(lactic acid) on drug delivery. **Fibers and Polymers**, v. 13, n. 9, p. 1120–1125, 2012.

CHINAGLIA, C. R.; CORREA, C. A. Análise de falhas em materiais através de técnicas avançadas de microscopia. **Polímeros**, v. 7, n. 3, p. 19–23, 1997.

CLUTTON, R. E. Opioid Analgesia in Horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n. 3, p. 493–514, 2010.

CROSIGNANI, N. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the injectable formulation of methadone hydrochloride and methadone in lipid nanocarriers administered orally to horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p. 398–405, 2017.

CRUZ, F. S. F. et al. Sedative and cardiopulmonary effects of buprenorphine and xylazine in horses. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 1, p. 35–41, 2011.

DALE, O. et al. Disposition of nasal, intravenous, and oral methadone in healthy volunteers. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 72, n. 5, p. 536–545, 2002.

DAVIDSON, C. D.; PETTIFER, GLENN, R.; HENRY, J. D. Plasma fentanyl concentrations and analgesic effects during full or partial exposure to transdermal fentanyl patches in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 5, p. 700–705, 2004.

DAVILA, D.; THOMAS, P. Firocoxib and Tramadol Administration in Dogs Undergoing Tibial Plateau Leveling Osteotomy. **Javma**, v. 243, n. 2, p. 225–231, 2013.

DAY, T. K. et al. Comparison of Intra-articular and Epidural Morphine for Analgesia Following Stifle Arthrotomy in Dogs. **Veterinary Surgery**, v. 24, n. 6, p. 522–530, 1995.

DELGADO, A.; EVORA, C. Effect of storage on the stability of DL -PLA microspheres containing methadone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 166, p. 223–225, 1998.

DELGADO, A.; EVORA, C.; LLABRES, M. Optimization of 7-day release (in vitro) from DL-PLA methadone microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 134, p. 203–211, 1996.

DERMATECH LIMITED (Great Britain). Montague Solomon, Biljana Tocili, Charles D. L. Solomon. **Transdermal drug delivery system**. nº WO2000038659, 17 nov. 1999, 06 jul. 2000.

DOHOO, S. E.; TASKER, R. A. Pharmacokinetics of oral morphine sulfate in dogs: a comparison of sustained release and conventional formulations. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 4, p. 251–5, 1997.

EBERSPÄCHER, E. et al. Pharmacokinetics and tolerance of transdermal fentanyl administration in foals. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 3, p. 249–255, 2008.

EGGER, C. M. et al. Comparison of Plasma Fentanyl Concentrations by Using Three Transdermal Fentanyl Patch Sizes in Dogs. **Veterinary Surgery**, v. 27, n. 2, p. 159–166, 1998.

FRANKS, J. N. et al. Evaluation of transdermal fentanyl patches for analgesia in cats undergoing onychectomy. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 7, p. 1013–1020, 2000.

FREITAS, G. C. et al. Analgesia trans e pós-operatória da morfina ou fentanil por via epidural em cães submetidos à biópsia atlanto-axial. **ARS Veterinaria**, v. 24, n. 2, p. 103–109, 2008.

FREITAS, G. C. et al. Epidural analgesia with morphine or buprenorphine in ponies with lipopolysaccharide (LPS)-induced carpal synovitis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 2, p. 141–146, 2011.

GALLAGHER, R. E.; ARNDT, D. R.; HUNT, K. L. Analgesic effects of topical methadone: A report of four cases. **Clinical Journal of Pain**, v. 21, n. 2, p. 190–192, 2005.

GARRIDO, M. J.; TROCÓNIZ, I. F. Methadone: A review of its pharmacokinetic/pharmacodynamic properties. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 42, n. 2, p. 61–66, 1 out. 1999.

GHOSH, T. K.; BAGHERIAN, A. Development of a Transdermal Patch of Methadone : in Vitro Evaluation Across Hairless Mouse and Human Cadaver Skin. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 1, n. 3, p. 1–3, 2017.

GILBERTO, D. B.; MOTZEL, S. L.; DAS, S. R. Postoperative pain management using

fentanyl patches in dogs. **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 42, n. 4, p. 21–26, 2003.

GOURLAY, G. K. et al. The efficacy of transdermal fentanyl in the treatment of postoperative pain: a double-blind comparison of fentanyl and placebo systems. **Pain**, v. 40, n. 1, p. 21–8, 1990.

GUEDES, A. G. P. et al. Pharmacokinetics and physiological effects of two intravenous infusion rates of morphine in conscious dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 30, n. 3, p. 224–233, 2007.

GUERRINI, L. M. et al. Eletrofiação do poli(álcool vinílico) via solução aquosa. **Polímeros**, v. 16, n. 4, p. 286–293, out. 2006.

GUNN, J.; ZHANG, M. Polyblend nanofibers for biomedical applications: perspectives and challenges. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 189–197, 2010.

HELLYER, P. et al. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 9, n. 6, p. 466–480, 2007.

HEXAL AG (Estados Unidos). Daniel Bracher. **Transdermal therapeutic system (TTS) containing vitamin E for the treatment of drug dependency**. US nº 5989585A, 14 out. 1996, 01 maio 1997.

INGVAST-LARSSON, C. et al. Clinical pharmacology of methadone in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 37, n. 1, p. 48–56, 2010.

INTURRISI, C. E. Pharmacology of methadone and its isomers. **Minerva Anestesiologica**, v. 71, n. 7–8, p. 435–437, 2005.

JEZIORSKA, R. et al. Characteristics of Biodegradable Polylactide/Thermoplastic Starch/Nanosilica Composites: Effects of Plasticizer and Nanosilica Functionality. **Advances in Materials Science and Engineering**, p. 1–15, 2018.

JEZIORSKA, R. et al. Structure and mechanical properties of low-density polyethylene/spherical silica nanocomposites prepared by melt mixing: The joint action of silica's size, functionality, and compatibilizer. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, n. 6, p. 4326–4337, 2012.

JONES, L.; ATKINS, P. **Chemical Principles: The Quest for Insight**. 5. ed. USA:Freeman, 2012. 1200 p.

KAIALLY, W. et al. Psyllium: A promising polymer for sustained release formulations in combination with HPMC polymers. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, n. 3, p. 269–277, 2014.

KAPUR, B. M. et al. Methadone: A review of drug-drug and pathophysiological interactions. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 48, n. 4, p. 171–195, 2011.

KEHLET, H.; HOLTE, K. Effect of postoperative analgesia on surgical outcome. **British journal of anaesthesia**, v. 87, n. 1, p. 62–72, 2001.

KÖGEL, B.; TERLINDEN, R.; SCHNEIDER, J. Characterisation of tramadol, morphine and tapentadol in an acute pain model in Beagle dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, n. 3, p. 297–304, 2014.

KOLESNIKOV, Y.; SÖRITSA, D. Analgesic synergy between topical opioids and topical non-steroidal anti-inflammatory drugs in the mouse model of thermal pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 579, n. 1–3, p. 126–133, 2008.

KRESGE, C. T. et al. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. **Nature**, v. 359, n. 6397, p. 710–712, 1992.

KROTSCHHECK, U. et al. Pharmacokinetics of buprenorphine in a sodium carboxymethylcellulose gel after buccal transmucosal administration in dogs. **Veterinary therapeutics : research in applied veterinary medicine**, v. 11, n. 3, p. E1-8, 2010.

KUKANICH, B. et al. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 5, p. 461–466, 2005.

KUKANICH, B.; SPADE, J. Pharmacokinetics of hydrocodone and hydromorphone after oral hydrocodone in healthy Greyhound dogs. **The Veterinary Journal**, v. 196, n. 2, p. 266–268, 2013.

KULKARNI, S. A.; OGALE, S. B.; VIJAYAMOHANAN, K. P. Tuning the hydrophobic properties of silica particles by surface silanization using mixed self-assembled monolayers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 318, n. 2, p. 372–379, 2008.

KUNG, C. P. et al. Preparation, characterization and dermal delivery of methadone. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 10, p. 1–14, 2019.

KYLES, A. E. et al. Comparison of transdermal fentanyl and intramuscular oxymorphone on post-operative behaviour after ovariohysterectomy in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 65, n. 3, p. 245–251, 1998.

KYLES, A. E.; PAPICH, M.; HARDIE, E. M. Disposition of transdermally administered fentanyl in dogs. **American journal of veterinary research**, v. 57, n. 5, p. 715–9, 1996.

LIU, H. et al. Electrospinning of nanofibers for tissue engineering applications. **Journal of Nanomaterials**, p. 11, 2013.

LOVE, R.; BOURGEOIS, K. Topical Methadone: An Alternative for Pain Control in End-of-Life Management. **Journal of Palliative Medicine**, v. 17, n. 2, p. 128–128, 2014.

LOVECCHIO, M.; FRANK, D.; RAMOS, L. Case Report Suicide by Duragesic transdermal fentanyl patch toxicity. **American Journal of Emergency Medicine**, v. 29, p. 131–132, 2011.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V. C. Uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v. 54, n. 330, p. 174–183, 2008.

MALAFATTI, J. O. D. et al. Electrospun poly(lactic acid) nanofibers loaded with silver sulfadiazine/[Mg–Al]-layered double hydroxide as an antimicrobial wound dressing. **Polymers for Advanced Technologies**, p. pat.4867, 2020.

MANFREDI, P. L.; HOUDE, R. W. Prescribing methadone, a unique analgesic. **The journal of supportive oncology**, v. 1, n. 3, p. 216–220, 2003.

MANZOLI, A. et al. Layer-by-layer fabrication of AgCl-PANI hybrid nanocomposite films for electronic tongues. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 16, n. 44, p. 24275–24281, 2014.

MASCARENHAS, B. C.; TAVARES, F. A.; PARIS, E. C. Functionalized faujasite zeolite immobilized on poly(lactic acid) composite fibers to remove dyes from aqueous media. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 15, p. 48561, 2020.

MAXWELL, L. K. et al. Pharmacokinetics of fentanyl following intravenous and transdermal administration in horses. **Equine veterinary journal**, v. 35, n. 5, p. 484–90, 2003.

MERESAAR, U. et al. Single dose pharmacokinetics and bioavailability of methadone in man studied with a stable isotope method. **European journal of clinical pharmacology**, v. 20, n. 6, p. 473–8, 1981.

MICIELI, F. et al. Intranasal fentanyl for acute severe pain episodes control in a dog. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n. 6, p. 1400–1401, 2017.

MIRANDA, H. F. et al. Isobolographic analysis of the opioid-opioid interactions in a tonic and a phasic mouse model of induced nociceptive pain. **Journal of Biomedical Science**, v. 21, n. 1, p. 62, 2014.

MØINICHE, S. et al. Time course of subjective pain ratings, and wound and leg tenderness after hysterectomy. **Acta anaesthesiologica Scandinavica**, v. 41, n. 6, p. 785–789, 1997.

MOLL, X. et al. Comparison of subcutaneous and transdermal administration of buprenorphine for pre-emptive analgesia in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 1, p. 124–128, 2011.

MONTEIRO, E. R. et al. Effects of methadone, alone or in combination with acepromazine or xylazine, on sedation and physiologic values in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 6, p. 519–527, 2008.

MUÑOZ, M. D. D. D. et al. Design, development and characterization of transdermal patch of methadone. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 42, n. April, p. 255–260, 2017.

NEGRÍN, C. M. et al. Methadone implants for methadone maintenance treatment. In vitro and in vivo animal studies. **Journal of Controlled Release**, v. 95, n. 3, p. 413–421, 2004.

NEGRÍN, C. M. et al. In vivo-in vitro study of biodegradable methadone delivery systems. **Biomaterials**, v. 22, n. 6, p. 563–570, 2001.

OLIVEIRA, J. E.; MATTOSO, L. H. C.; ORTS, W. J.; MEDEIROS, E. S. Structural and Morphological Characterization of Micro and Nanofibers Produced by Electrospinning and Solution Blow Spinning: A Comparative Study. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2013, n. 1, p. 1–14, 2013.

ORSINI, J. A. et al. Pharmacokinetics of fentanyl delivered transdermally in healthy adult horses - variability among horses and its clinical implications. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 29, n. 6, p. 539–546, 2006.

PARREIRA, D. B.; EUGENIO, J. Nanopartículas para Aplicação Oncológica. **Instituto**

Nacional de Propriedade Intelectual, p. 32, 2011.

PASCOE, P. J. Opioid analgesics. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 30, n. 4, p. 757–72, 2000.

PIEPER, K. et al. Antinociceptive efficacy and plasma concentrations of transdermal buprenorphine in dogs. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 3, p. 335–341, 2011.

POGATZKI-ZAHN, E. M.; ZAHN, P. K.; BRENNAN, T. J. Postoperative pain-clinical implications of basic research. **Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology**, v. 21, n. 1, p. 3–13, 2007.

PORTA, F. et al. Folic Acid-Modified Mesoporous Silica Nanoparticles for Cellular and Nuclear Targeted Drug Delivery. **Advanced Healthcare Materials**, v. 2, n. 2, p. 281–286, 2013.

PRAUSNITZ, M. R.; LANGER, R. Transdermal drug delivery. **Nature biotechnology**, v. 26, n. 11, p. 1261–8, 2008.

PRICE, L. C. et al. Methadone for pain and the risk of adverse cardiac outcomes. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 48, n. 3, p. 333–342, 2014.

PRIYADARSINI, K. I. et al. A Clinical Comparative Study between Transdermal Patches of Fentanyl and Buprenorphine for Post-Operative Pain Relief Following Lower Limb Surgeries. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences**, v. 18, p. 44–49, 2019.

REIG, F. et al. Interaction of opiate molecules with lipid monolayers and liposomes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n. 6, p. 546–550, 1992.

ROBERTSON, S. A.; TAYLOR, P. M. Pain management in cats - Past, present and future. Part 2. Treatment of pain - Clinical pharmacology. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 6, n. 5, p. 321–333, 2004.

ROBINSON, T. M. et al. A comparison of transdermal fentanyl versus epidural morphine for analgesia in dogs undergoing major orthopedic surgery. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, n. 2, p. 95–100, 1999.

SÁ, M. C. et al. Obtenção de nanofibras de amido por eletrofiação. **IX Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**, p. 637–640, 2017.

SANCHEZ, L. C. et al. Effect of fentanyl on visceral and somatic nociception in conscious horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 5, p. 1067–1075, 2007.

SANTOS, E. R.; TAVARES, F. A.; PARIS, E. C. Avaliação e imobilização de diferentes fontes de SiO₂ nanoparticulada para adsorção de fármacos. **IX Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio**, p. 641–644, 2017.

SÄWE, J. High-Dose Morphine and Methadone in Cancer Patients: Clinical Pharmacokinetic Considerations of Oral Treatment. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 11, n. 2, p. 87–106, 1986.

SHABBIR, M. et al. Effect of hydrophilic and hydrophobic polymer on in vitro dissolution and permeation of bisoprolol fumarate through transdermal patch. **Acta Polonae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 74, n. 1, p. 187–197, 2017.

SHAVIT, Y.; FRIDEL, K.; BEILIN, B. Postoperative pain management and proinflammatory cytokines: Animal and human studies. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 1, n. 4, p. 443–451, 2006.

SIEWERT, M. et al. FIP/AAPS guidelines to dissolution/in vitro release testing of novel/special dosage forms. **Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 4, n. 1, p. 43–52, 2003.

SIGNORI, F.; COLTELLI, M. B.; BRONCO, S. Thermal degradation of poly(lactic acid) (PLA) and poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) and their blends upon melt processing. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, n. 1, p. 74–82, 2009.

SILVERSTEIN, R.; WEBSTER, R.; KIEMLE, D. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7a. ed. Editora LTC, 2006.

SMYTH, M.; HAUPT, T. S.; GREGOIRE, M.-C. Retrospective Review of the Use of Transdermal Buprenorphine Patches (Butrans) in a Pediatric Population. **Journal of Palliative Medicine**, p.0381, 2019.

STÖBER, W.; FINK, A.; BOHN, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 26, n. 1, p. 62–69, 1968.

STOECKER, W. V et al. Boys at Risk: Fatal Accidental Fentanyl Ingestions in Children: Analysis of Cases Reported to the FDA 2004-2013. **Missouri medicine**, v. 113, n. 6, p. 476–479, 2016.

STREISAND, J. B. et al. Buccal Absorption of Fentanyl Is pH-Dependent in Dogs. **Anesthesiology**, v. 82, p. 759–764, 1995.

SUNTHORNVARABHAS, J. et al. Electrospun polylactic acid and cassava starch fiber by conjugated solvent technique. **Materials Letters**, v. 65, n. 6, p. 985–987, 31 mar. 2011.

SYLVESTER, R. K. et al. Evaluation of methadone absorption after topical administration to hospice patients. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 41, n. 5, p. 828–835, 2011.

TAVARES, F. A. **Avaliação e Imobilização de diferentes fontes de SiO₂ nanoparticulada para adsorção de poluentes orgânicos**. 2017. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2017.

WALDHOER, M.; BARTLETT, S. E.; WHISTLER, J. L. Opioid Receptors. **Annual Review of Biochemistry**, v. 73, n. 1, p. 953–990, 2004.

WALTER, J. R.; XU, S. Therapeutic transdermal drug innovation from 2000 to 2014: current status and outlook. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 11, p. 1293–1299, 1 nov. 2015.

WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Penetration enhancers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 128–137, 2012.

WOLFF, R. F. et al. Systematic review of adverse events of buprenorphine patch versus fentanyl patch in patients with chronic moderate-to-severe pain. **Pain Management**, v. 2, n. 4, p. 351–362, 2012.

WU, C. L.; RAJA, S. N. Treatment of acute postoperative pain. **The Lancet**, v. 377, n.

9784, p. 2215–2225, 2011.

YU, G. et al. Fabrication of nickel-YSZ cermet nanofibers via electrospinning. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 693, p. 1214–1219, 2017.

ZHANG, Q. et al. Electrospun polymeric micro/nanofibrous scaffolds for long-term drug release and their biomedical applications. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 9, p. 1351–1366, 2017.

ZHAO, X. et al. Bioconjugated Silica Nanoparticles for Bioanalysis. **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 1, n. 1, p. 255–268, 2004.

ZHOU, H. et al. Nanofibers from polylactic acid nanocomposites: Effect of nanoclays on molecular structures. **Polymeric Nanofibers**, v. 918, p. 217–230, 2006.