

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS CARREADOS COM
FÁRMACO PARA O TRATAMENTO DE CÂNCER**

RAQUEL DE SOUZA RIBEIRO

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**DESENVOLVIMENTO DE DISPOSITIVOS CARREADOS COM
FÁRMACO PARA O TRATAMENTO DE CÂNCER**

RAQUEL DE SOUZA RIBEIRO

Sob a Orientação da Professora Dr^a.

Roberta Helena Mendonça

e Coorientação da Professora Dr^a.

Sonia Letichevsky

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Engenharia
Química, Área de concentração em Tecnologia
Química.

Seropédica, RJ

Dezembro de

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO
DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAQUEL DE SOUZA RIBEIRO

Dissertação/Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, área de Concentração em Tecnologia Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 27 DE DEZEMBRO DE 2024.

Documento assinado digitalmente

 ROBERTA HELENA MENDONCA
Data: 18/04/2025 07:19:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Roberta Helena Mendonça (Departamento de Engenharia Química/IT/UFRJ) (Orientadora)

Documento assinado digitalmente

 SONIA LETICHEVSKY
Data: 17/04/2025 15:48:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a. Sonia Letichevsky
(Departamento de Engenharia Química e de Materiais/PUC-Rio)
(Coorientadora)

Documento assinado digitalmente

 ANTONIO RENATO BIGANSOLLI
Data: 30/04/2025 09:09:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Antonio Renato Bigansolli
(Departamento de Engenharia Química/IT/UFRJ)

Documento assinado digitalmente

 CRISTIANE EVELISE RIBEIRO DA SILVA
Data: 29/04/2025 11:31:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Cristiane Evelise Ribeiro da Silva
(Coordenação de Negócios/INT)

Documento assinado digitalmente

 DANIELE CRUZ BASTOS
Data: 29/04/2025 16:46:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dr^a. Daniele Cruz Bastos
(Centro de Tecnologia e Ciências, Faculdade de Ciências Exatas de Engenharias-FCEE /UERJ)

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca
Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R484d

Ribeiro, Raquel de Souza, 1995-
Desenvolvimento de dispositivos carreados com fármaco para
o tratamento de câncer / Raquel de Souza Ribeiro. - Rio de
Janeiro, 2024.
116 f.: il.

Orientadora: Roberta Helena Mendonça. Coorientadora: Sonia
Letichevsky.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química,
2024.

1. manufatura aditiva. 2. sistemas de liberação responsivos.
3. 6-mercaptopurina. 4. câncer. I. Helena Mendonça, Roberta,
1980-, orient. II. Letichevsky, Sonia, -, coorient. III
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

*"Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de
compreender mais para temer menos."*

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Primeiro, agradeço a Deus, que me direcionou e me sustentou em toda esta jornada. A Ele toda honra e toda glória, sempre.

Agradeço aos meus pais, Ricardo e Sandra, por serem o melhor porto seguro que qualquer pessoa poderia desejar. Obrigada pelos ensinamentos, pela paciência, por me lembrarem quem eu sou, por todas as vezes que secaram minhas lágrimas e comemoraram minhas vitórias. Obrigada por serem exemplos e fontes de inspiração. Minha maior conquista sempre será deixá-los orgulhosos, e espero um dia poder retribuir um pouco de tudo o que fazem por mim. Amo vocês!

Agradeço às professoras doutoras Roberta e Sonia por todo o apoio, orientação e conhecimento compartilhado. Obrigada por terem acreditado no projeto desde o início.

Agradeço à minha família e aos meus tios e tias do coração. Sou extremamente abençoada por tê-los na minha vida. Nunca vou me cansar de agradecer todas as orações, o cuidado e o amor que transbordam sobre mim. Obrigada, especialmente à Marília, por me permitir ser sua TiPri e por ter orgulho em dizer que sou cientista como a Marie Curie. Se eu puder te mostrar que você pode ser o que quiser nesta vida, já terá valido a pena.

Agradeço à minha irmã de alma, Stephany, por ser simplesmente uma das melhores pessoas que eu conheço. Obrigada por transformar quilômetros de distância em centímetros e por acreditar mais nos meus sonhos do que eu mesma. Obrigada por ser minha PR, cheerleader, conselheira acadêmica, psicóloga e influenciadora pessoal. Cada RPGdia é um presente para mim!

Agradeço à minha Turma A, Jamila e Marcus, por não me deixarem cair. Agradeço por todas as sessões de estudo, todos os cafés, todos os desesperos compartilhados e todos os risos. Sem vocês, não teria sido a mesma coisa! Graças a Deus, vamos também partilhar a temporada “Doutorado”!

Agradeço aos meus amigos que tornaram esses anos mais leves. Obrigada ao meu clube dos cinco, Arthur e Dahn, por serem minha família escolhida. Agradeço às

minhas meninas, Bruna, Paola e Viviane, por tanto amor e apoio. Agradeço aos meus eternos nucleanos, Matheus e Ariane, por me darem a honra de ser "Matheus e família" com vocês. Agradeço à Fúvia, por ser a melhor rommie de todos os tempos. Agradeço à Nathalia pela amizade e por ser um abraço em forma de pessoa. Agradeço ao Lucas (Luquino), por ser mais que um cunhado de coração, sempre me escutando e me apoiando. Agradeço ao André por todo carinho e cuidado, especialmente quando eu esquecia até de comer.

Sou grata à equipe LADEMAT (Cristiano, Ester, Luciara, Rodrigo, Tiago e Vitor) por me acolherem, abraçarem esse projeto e tornarem o dia a dia mais feliz. Espero estar fazendo jus a todo esforço de vocês. Esta pesquisa é nossa! Foi um privilégio e um prazer ser mestranda e amiga de vocês. Contem comigo para sempre.

Agradeço à minha amiga Tayna, à minha prima Gabriela e à minha psicóloga Carla, por terem enxergado antes de mim que o mestrado seria o próximo passo ideal para a minha vida. Obrigada por incentivarem e facilitarem todo o processo de entrada.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e aos professores do curso, pela oportunidade e ensino.

Existe um hino ruralino que diz: "Não permita Deus que eu morra, sem que eu volte pra Rural" e sou grata a essa universidade linda por me formar como engenheira e agora, como mestre. Obrigada por ser minha casa e proporcionar 7 anos incríveis. Serei ruralina para sempre, com muito orgulho, não importa onde eu esteja.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. "This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001".

RESUMO

Atualmente, o câncer é uma das principais causas de mortes globais. No entanto, os tratamentos dessa enfermidade, apesar de eficazes, apresentam baixa seletividade e provocam efeitos colaterais adversos aos pacientes. Diante deste cenário, este trabalho tem por objetivo desenvolver um dispositivo polimérico multicamada responsivo à pH, visando potencializar a entrega do fármaco quimioterápico 6-mercaptopurina (6-MP) nas imediações do tumor. Para tal, um suporte de poli(ácido láctico) (PLA) formado por duas peças (uma porosa – parte A e uma barreira difusional – parte B) foi impresso pela técnica de deposição de material fundido (FDM). Posteriormente, cerca de 0,13 mL de uma solução de 2% (p/v) de quitosana (QUI), 0,3% (p/v) de 6-MP e ácido acético diluído, foi adicionada ao sistema impresso para formar um fino filme de QUI/6-MP entre camadas de PLA, empregando-se a metodologia de evaporação de solvente. Os compostos puros (filamento de PLA, pó de QUI e pó de 6-MP), bem como os elementos produzidos (filmes de QUI e QUI/6-MP, e os dispositivos, vazio – DISPPLA, de única camada – DISP6MP e de dupla camada – DISP26MP), foram caracterizados pelos métodos de Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Difração de Raios-X (DRX), para avaliação química, estrutural e morfológica desses materiais. Além disso, foram realizados ensaios de liberação, em triplicata, dos sistemas de única camada (DISP6MP) em soluções tampão de fosfato de diferentes pHs (7,2, 6,4, 6,0 e 5,0), sob temperatura de 37°C, agitação de 70 rpm e durante 24 horas. Esses dados experimentais foram comparados com os modelos matemáticos de ordem zero, Higuchi, Ritger-Peppas e Peppas-Sahlin. Ademais, realizou-se um ensaio de permeabilidade com solução de azul de metileno e aparato próprio, visando verificar o funcionamento da barreira criada. Para mais, foi possível comprovar a presença do medicamento na camada interna dos dispositivos, verificando-se também um possível encapsulamento da droga. Para os ensaios de liberação, os valores acumulados obtidos foram de 60,4% (pH = 7,2), 80,1% (pH = 6,4), 56,3% (pH = 6,0) e 92,3% (pH = 5,0), corroborando para a hipótese do dispositivo fabricado ser responsivo à pH, possivelmente pelo comportamento da quitosana em meios ácidos. Ainda neste contexto, o modelo mais ajustado para todos os ensaios foi o de Ritger-Peppas, com coeficientes de correlação próximos a 0,99 em sua maioria. Esse resultado indica que a liberação do fármaco foi controlada tanto pela difusão quanto pelo inchamento das cadeias poliméricas. O ensaio de permeabilidade comprovou a eficácia da barreira difusional e assim, colabora para a confirmação da liberação unidirecional do sistema criado. Desta forma, o dispositivo de liberação fabricado neste estudo, torna-se uma opção promissora no tratamento de tumores sólidos pelo seu caráter responsivo e direcional.

Palavras-chave: manufatura aditiva, sistemas de liberação responsivos e 6-mercaptopurina

ABSTRACT

Cancer has become one of the major causes of death worldwide. While the available treatments can be effective, they often lack selectivity and can cause side effects. In this context, this study aims to develop a pH-responsive polymeric multilayer device to improve the delivery of 6-mercaptopurine (6-MP) directly at tumor environment. A poly (acid lactic) (PLA) support, composed of two parts (a porous section - part A, and a diffusion barrier - part B), was fabricated using the Fused Deposition Model (FDM) method. Approximately 0.13 mL of a solution containing 2% (w/v) of chitosan (QUI), 0.3% (w/v) 6-MP, and diluted acid acetic was applied between PLA layers to form a thin CHI/6-MP film. The raw materials (PLA filament, chitosan powder, and 6-MP powder) as well as the manufactured components (chitosan and chitosan/6-MP films, and the drug delivery systems: empty DISPPLA, single-layer DISP6MP, and double-layer DISP6MP) were characterized using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray Diffraction (XRD) to assess their chemical, morphological and structural characteristics of these components. Additionally, release assays were conducted on the DISP6MP devices in phosphate buffer solutions at different pH values (pH of 7.2, 6.4, 6.0, and 5.0) at 37°C and 70 rpm over a 24-hour period. The data were analyzed using zero-order, Higuchi, Ritger-Peppas, and Peppas-Sahlin models for comparison. Furthermore, a permeability assay was carried out using a custom-built apparatus with methylene blue to investigate the barrier performance. The presence of the drug in the inner layer of the devices was confirmed, and possible encapsulation was suggested. The release results presented accumulated values of 60.4% (pH = 7.2), 80.1% (pH = 6.4), 56.3% (pH = 6.0), and 92.3% (pH = 5.0), supporting the conclusion that the devices are pH-responsive, likely due to the behavior of chitosan in acidic environments. Additionally, The Ritger-Peppas model provided the best fit for all four assays, with correlation coefficients around 0.99 for most cases. These findings suggest that the release of the drug was influenced by both diffusion and the swelling of the polymer chains. The permeability tests demonstrated the effectiveness of the diffusion barrier, confirming the unidirectional release capability of the developed system. These results indicate that the proposed drug delivery system, characterized by its responsiveness and directional release properties, holds promise as a potential option for the treatment of solid tumors.

Keywords: additive manufacturing, drug delivery system, and 6-mercaptopurine

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Número absolutos de mortalidade para ambos os sexos em 2022 no Brasil 20
- Figura 2:** Esquema dos diferentes estágios da progressão do tumor 21
- Figura 3:** Seção histológica de metástase de um câncer de mama no fígado 23
- Figura 4:** Esquema da vida celular com a indicação da atuação da 6-MP 26
- Figura 5:** Exemplos de fenômenos norteadores da liberação de fármacos 28
- Figura 6:** Gliadel wafer 29
- Figura 7:** Esquema com exemplos de geometrias básicas de sistemas de liberação controlados pela difusão. 30
- Figura 8:** Variação do expoente m com a proporção $2al$, na qual $2a$ é o diâmetro e l é a espessura/altura do dispositivo. 37
- Figura 9:** Esquema do processo de pesquisa no StArt. 42
- Figura 10:** Funil de resultados da etapa de seleção. 44
- Figura 11:** Funil de resultados da etapa de Extração e prioridade de leitura. 44
- Figura 12:** Nuvem de palavras da ferramenta StArt antes das etapas de seleção e extração. 45
- Figura 13:** Mapa de palavras realizado na ferramenta Vosviewer antes das etapas de seleção e extração. 45
- Figura 14:** HME e FDM em um processo contínuo. 48
- Figura 15:** Representação esquemática dos componentes de uma impressora FDM. 50
- Figura 16:** Moléculas distintas de PLA: a) poli (D-ácido lático), b) poli (L-ácido lático) e c) poli (D,L-ácido lático). 51
- Figura 17:** Estruturas químicas A) quitina e B) quitosana; C) grupos funcionais da quitosana e D) conversão química da quitina para quitosana. 53
- Figura 18:** Exemplos de aplicações biomédicas da quitosana. 53
- Figura 19:** Motivação na escolha dos polímeros. 55
- Figura 20:** Visão geral dos procedimentos realizados. 57
- Figura 21:** Modelo de dispositivo quadrado. 58
- Figura 22:** Modelo de dispositivo circular. 59
- Figura 23:** Impressora 3D Sethi3D S4X. 61
- Figura 24:** Dispositivo DISPPLAT desenhado e impresso. 62
- Figura 25:** Fluxograma do processo de produção da solução de 6-MP/QUI/AA. 63
- Figura 26:** Processo de produção do dispositivo. 64
- Figura 27:** Microscopia Eletrônica de Varredura (A) FEI - modelo Helios NanoLab G3 CX, INT/RJ e (B) esquema da caracterização. 66

- Figura 28:** Esquema de funcionamento do DRX. 67
- Figura 29:** Ensaio preliminar de permeabilidade. 70
- Figura 30:** MEV do pó de 6-mercaptopurina (A) 250x e (B) 2000x. 72
- Figura 31:** Espectro de EDS da 6-mercaptopurina. 73
- Figura 32:** Mapa de EDS da 6-mercaptopurina. 73
- Figura 33:** FTIR da 6-mercaptopurina. 74
- Figura 34:** Difratograma da 6-mercaptopurina (6-MP). 75
- Figura 35:** Difratograma da mercaptopurina (azul), ajuste (vermelho) e resíduo de ajuste (cinza). 76
- Figura 36:** MEV do pó de quitosana (A) 600x e (B) 5000x 76
- Figura 37:** Espectro de EDS da quitosana 77
- Figura 38:** FTIR da quitosana. 77
- Figura 39:** Difratograma da quitosana (QUI). 78
- Figura 40:** MEV do filamento de PLA (A) 71x e (B) 200x (C) 110x. 79
- Figura 41:** Espectro de EDS do filamento de PLA 79
- Figura 42:** FTIR do filamento de PLA. 80
- Figura 43:** Difratograma do filamento de PLA (FPLA) 81
- Figura 44:** Dispositivo quadrado impresso. 82
- Figura 45:** Dispositivo circular impresso. 83
- Figura 46:** FTIR do DISPPLA em comparação com o espectro do filamento de PLA. 83
- Figura 47:** Difratogramas do filamento de PLA (FPLA) e do DISPPLA 84
- Figura 48:** Dispositivos produzidos. 85
- Figura 49:** Filmes fabricados. 86
- Figura 50:** MEV dos filmes de (A) quitosana e (B) quitosana e 6-mercaptopurina (F2Q6MP) em 600 x. 87
- Figura 51:** Espectro de EDS do filme de quitosana. 87
- Figura 52:** Mapa de EDS do filme de 6-MP/QUI. 88
- Figura 53:** FTIR dos filmes de quitosana e quitosana/6-mercaptopurina em comparação com FTIR dos materiais puros. 89
- Figura 54:** Difratogramas da quitosana (QUI), 6-mercaptopurina (6-MP) e filme de 6-MP/QUI (F2Q6-MP). 90
- Figura 55:** MEV dos dispositivos (A) DISPPLA, (B) DISP6MP e (C) DISP26MP em 200x. 91
- Figura 56:** Espectros de EDS dos dispositivos (A) DISP6MP e (B) DISP26MP. 91
- Figura 57:** FTIR dos dispositivos (DISP6MP e DISP26MP) em comparação com o espectro do fármaco puro. 92

Figura 58: Difratogramas da quitosana (QUI), 6-mercaptopurina (6-MP), DISPPLA, DISP6MP e DISP26MP. 93

Figura 59: Varredura da solução de 6-mercaptopurina (6-MP/PBS72). 94

Figura 60: Comparativo das derivadas das varreduras de quitosana (1×10^{-4} g/mL) e 6-mercaptopurina (4×10^{-6} g/mL). 95

Figura 61: Curva analítica da 6-mercaptopurina em solução tampão fosfato (pH = 7,2) 95

Figura 62: Varredura e derivada da curva da solução de azul de metileno (0,00003 g/mL). 97

Figura 63: Varredura do lado B em diferentes tempos (2,4 e 24 horas) e em comparação com as curvas da 6-mercaptopurina e da solução de azul de metileno (0,00003 g/mL). 97

Figura 64: Perfis de liberação da 6-mercaptopurina em PBS (pH iguais a 7,2 6,4, 6,0 e 5,0). 98

Figura 65: Ajustes para o modelo de Ritger-Peppas dos ensaios (A) pH = 7,2, (B) pH = 6,4, (C) pH = 6,0 e (D) pH = 5,0. 102

Figura 66: Esquema dos fenômenos de liberação. 103

Figura 67: MEV e imagens dos dispositivos pós ensaios (A) pH = 7,2, (B) pH = 6,4, (C) pH = 6,0 e (D) pH = 5,0. 104

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	CÂNCER	20
2.1.1	Microambiente tumoral	21
2.1.2	Tratamentos do câncer	23
2.2	6-MERCAPTOPURINA (6-MP)	25
2.3	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO	27
2.3.1	Modelos matemáticos de sistemas poliméricos de liberação	29
2.3.1.1	Modelo de ordem zero	33
2.3.1.2	Modelo de Higuchi	33
2.3.1.3	Modelo de Ritger-Peppas	34
2.3.1.4	Modelo de Peppas-Sahlin	36
2.3.1.5	Modelo de Narasimhan e Peppas	38
2.3.1.6	Modelos Matemáticos de Erosão	39
2.3.2	Panorama dos modelos matemáticos	41
2.4	ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA	41
2.5	MANUFATURA ADITIVA	46
2.5.1	Fused Deposition Model (FDM)	47
2.6	POLI (ÁCIDO LÁTICO) (PLA)	50
2.7	QUITOSANA (QUI)	52
2.8	QUITOSANA, POLI(ÁCIDO LÁTICO) E 6-MERCAPTOPURINA	55
3	MATERIAIS E MÉTODOS	57

3.1	PRODUÇÃO DO SUPORTE DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) POR IMPRESSÃO 3D	57
3.2	PRODUÇÃO DA SOLUÇÃO DE QUITOSANA/6-MERCAPTOPURINA/ÁCIDO ACÉTICO	62
3.3	MONTAGEM DO DISPOSITIVO.....	64
3.4	CARACTERIZAÇÕES.....	65
3.4.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)	65
3.4.2	Difração de raios X (DRX).....	67
3.4.3	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	68
3.5	ANÁLISES DO PERFIL DE LIBERAÇÃO DOS DISPOSITIVOS	68
3.5.1	Curva de calibração da 6-mercaptopurina	68
3.5.2	Ensaio de preliminar de permeabilidade.....	69
3.5.3	Estudo da liberação em diferentes meios	71
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	72
4.1	CARACTERIZAÇÕES DOS MATERIAIS PUROS	72
4.1.1	6-mercaptopurina	72
4.1.2	Quitosana.....	76
4.1.3	Poli(ácido lático).....	79
4.2	PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÕES DOS DISPOSITIVOS.....	81
4.2.1	Produção dos suportes de poli(ácido lático)	81
4.2.2	Caracterizações dos suportes de poli(ácido lático)	83
4.2.3	Produção dos dispositivos multicamadas	84
4.2.4	Caracterizações da camada interna.....	86
4.2.5	Caracterizações dos dispositivos multicamadas	90

4.3	ESTUDO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO	93
4.3.1	Curva de calibração da 6-mercaptopurina	93
4.3.2	Ensaio preliminar de permeabilidade	96
4.3.3	Ensaios de liberação em diferentes meios	98
4.3.3.1	Modelagem matemática	101
5	CONCLUSÕES	105
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	106
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
	APÊNDICE A - AJUSTES PARA O MODELO DE ORDEM ZERO DOS ENSAIOS (A)	
	PH = 7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0	114
	APÊNDICE B - AJUSTES PARA O MODELO DE HIGUCHI DOS ENSAIOS (A) PH =	
	7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0	115
	APÊNDICE C - AJUSTES PARA O MODELO DE PEPPAS-SAHLIN DOS ENSAIOS	
	(A) PH = 7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0	116

1 INTRODUÇÃO

Câncer é o termo geral utilizado para um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo. Atualmente, o câncer é uma das principais causas de morte em âmbito global. Em 2020, quase 10 milhões de pessoas morreram pela enfermidade, o que equivale a aproximadamente uma em cada seis mortes (CANCER, 2022; DATAVIZ, 2022; DERIDDER, *et al.*, 2022).

Os tratamentos do câncer podem seguir duas linhas, a eliminação dos tumores existentes e/ou controlar o crescimento das células cancerígenas ou metástase. Dentre os tratamentos destacam-se a cirurgia, a radioterapia, a imunoterapia e a quimioterapia. Nessa última prática encontram-se os medicamentos quimioterápicos, como, por exemplo, a 6-mercaptopurina, que é amplamente empregada no tratamento da leucemia linfoblástica aguda, do linfoma não-Hodgkin e de distúrbios reumatológicos. Estes fármacos têm o objetivo de alvejar e interromper os processos biológicos que ocorrem no microambiente tumoral. No entanto, apesar do tratamento ser eficaz em diferentes casos, essas drogas podem também afetar células saudáveis. Além disso, dependendo da biodisponibilidade do medicamento, os pacientes podem receber dosagens de fármaco excessivas ou abaixo do necessário. Assim, se faz imperativo o uso de novas tecnologias, como os sistemas de liberação controladas, visando aprimorar e reduzir os danos desse tipo de tratamento (DELCASSIAN e PATEL, 2020; DERIDDER, *et al.*, 2022; KRUKIEWICZ e ZAK, 2016).

Os dispositivos de liberação, no tratamento do câncer, podem ser empregados de diversas formas para diferentes rotas de entrega, tais como, por via oral, por meio de inalação, adesivos transdérmicos e por aplicações de injeções e implantes no tumor. Vale salientar que essa última alternativa envolve a implantação de um material sólido nas proximidades do tumor, criando a oportunidade de promover a liberação controlada, com dosagens periódicas e de maneira direcionada. Essa abordagem possibilita a diminuição dos efeitos colaterais gerados pelos agentes terapêuticos, ao mesmo tempo que potencializa sua eficácia (DELCASSIAN e PATEL, 2020; KRUKIEWICZ e ZAK, 2016). Nesse cenário, atenção tem sido dada a utilização de polímeros biodegradáveis como o poli (ácido lático) (PLA) e a quitosana (QUI).

Diante desse contexto, dentre as fabricações relevantes e atuais de sistemas de liberação de fármacos está a manufatura aditiva. Essa metodologia compreende um conjunto de tecnologias de produção que são aplicadas na transformação de materiais em objetos tridimensionais através de sucessivas deposições de camadas. As vantagens abrangem a possibilidade de desenvolver geometrias complexas, personalização, dosagens individualizadas e perfis de liberação personalizáveis. Dentre as tecnologias possíveis, evidencia-se a impressão por filamentos, também conhecida por *Fused Deposition Modeling* (FDM), a qual primeiramente fabrica um fílamento contendo o material almejado e depois a extrusão dele na impressora. Ademais o fármaco pode ser incorporado no fílamento ou impregnado diretamente no dispositivo impresso (DAVOODI, *et al.*, 2018; LI, *et al.*, 2020; SANDLER e PREIS, 2016).

A 6-mercaptopurina é um antimetabólito antagonista da purina com propriedades antitumorais, anti-inflamatórias e imunossupressoras, ao reduzir crescimento celular, atrapalhando o processo de replicação e transcrição do DNA. A administração usual desse medicamento é realizada oralmente de 2 a 3 anos, sendo aplicada para casos de leucemia linfoblástica aguda, doenças inflamatórias, doenças imunológicas e no tratamento pós transplante de órgãos. Assim, as características desse fármaco incluem a baixa solubilidade em meio aquoso (0,22 mg/mL), baixa biodisponibilidade (16%-50%) e meia vida curta em citoplasma (0,5-1,5 horas). Os efeitos colaterais abrangem desde reações alérgicas, hepatotoxicidade até mielossupressão (DELCASSIAN e PATEL, 2020; FAID, *et al.*, 2022; JAMAL, *et al.*, 2022; SALIM, *et al.*, 2022; TALIB e MOHAMMED, 2021; ZOU, *et al.*, 2021).

Dada a relevância do tema, a comunidade acadêmica tem desenvolvido pesquisas científicas de elevado padrão a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Desse modo, a etapa inicial deste trabalho envolveu a análise bibliométrica fazendo uso da ferramenta StArt, a qual é indicada para a realização de pesquisa por evidências na literatura científica com etapas bem definidas conforme protocolo previamente elaborado (StArt, 2013). A análise visou buscar informações relevantes sobre a 6-mercaptopurina (6-MP), e seu uso em sistemas de liberação. Os bancos de dados utilizados foram: Springer, PubMed, Science Direct e Scopus. Ademais, ao

empregar as palavras-chaves escolhidas (*6-mercaptopurine, Cancer treatment e Drug delivery system*) foram encontrados 428 trabalhos. Desses, 59 artigos, ou capítulos de livros, foram selecionados para embasamento da pesquisa ao final do processo, respaldados pelos critérios de inclusão: emprego da 6-MP, utilizar ou apresentar informações sobre os materiais poliméricos de interesse (PLA ou policaprolactona e QUI) e tratar-se de sistemas de liberação responsivos.

O poli (ácido lático) é um dos polímeros termoplásticos mais utilizados na técnica de FDM e é amplamente empregado na biomedicina. Isso explica-se pelas características mecânicas, reológicas e aderentes que os filamentos desse composto apresentam, além de apresentar propriedade atóxica, excelente biocompatibilidade e ser biodegradável. Vale destacar também que a taxa de degradação do PLA depende do seu grau de cristalinidade. Esse polímero é moldável, permitindo diversas possibilidades para o seu emprego além da forma de filamento, tais como: *scaffolds*, cápsulas, filmes, nanopartículas, micelas e micro agulhas (EBRAHIMI e DANA, 2022; FARAH, ANDERSON e LANGER, 2016; DUMPA, et al., 2021; LEE, YUN e PARK, 2016; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018; SIPARSKY, VOORHEES e MIAO (1998); TYLER, et al., 2016; ZHOU, et al., 2024).

A quitosana (QUI) é um polissacarídeo produzido através da desacetilação da quitina, biopolímero abundante nas cascas de crustáceos, insetos e exoesqueletos de invertebrados. Esse polímero é um excelente floculante, não tóxico, antibacteriano, antifúngico, antitumoral, analgésico, além de biodegradável e biocompatível. Diversos estudos empregam a quitosana na área biomédica, por exemplo, o trabalho de Kumar et al. (2015) que desenvolveram nanopartículas de óxido de ferro magnetita, revestidas com quitosana e 6-mercaptopurina, a partir de irradiação ultrassônica, com o objetivo de futuramente serem utilizadas no tratamento oral do câncer (CALIXTO, et al., 2019; SHARIATINIA, 2021; ZAIKI, ISKANDAR e WONG, 2023).

Após a análise, foi possível observar que a maioria dos trabalhos envolvendo o fármaco 6-MP são voltados para desenvolvimento de nano sistemas de liberação, os quais acoplam outros tipos de terapia, como fototerapia ou imunoterapia, e visam o tratamento do câncer pela via oral. Isso deve-se ao intento de provocar o fenômeno conhecido como efeito aprimorado de permeabilidade e retenção (EPR), que para

ocorrer necessita da circulação prolongada da droga no microambiente tumoral com o objetivo de promover o seu acúmulo no tumor. No entanto, é válido frisar que poucos estudos foram encontrados sobre o desenvolvimento de dispositivos responsivos a pH, em formas de implantes locais, que abrangem simultaneamente os polímeros PLA e quitosana, e o fármaco 6-Mercaptopurina. (DAVOODI, *et al.*, 2018; NAVYA, *et al.*, 2019).

Para mais, uma vez que a liberação pode depender da taxa de concentração da droga, tamanho do sistema, formato, porosidade, hidrofobicidade e hidrofilicidade da matriz polimérica, ou até mesmo pelo controle da técnica de fabricação desse dispositivo, é essencial o emprego de modelos matemáticos para descrever a liberação de fármacos. Isto justifica-se não apenas para a previsão da cinética de liberação, mas também para a medição de parâmetros norteadores. Como exemplos, destacam-se os modelos de difusão empíricos de Higuchi, Ritger-Peppas e Peppas-Sahlin (BRUSCHI, 2015; DAVOODI, *et al.*, 2018; FU, KAO, 2010; NAVYA, *et al.*, 2019).

Logo, esta pesquisa tem por objetivo produzir um dispositivo multicamadas de liberação controlada contendo PLA, 6-MP e QUI, para tratamento quimioterápico, com a finalidade de alcançar a liberação direcional através da utilização de camadas com diferentes polaridades e porosidades, construídas pela técnica de FDM. A liberação direcional tem como foco atingir o tumor e delimitar, fisicamente, a difusão do fármaco para tecidos saudáveis, visando a melhoria da seletividade na entrega do fármaco.

Os objetivos específicos da pesquisa iniciam-se pela caracterização dos materiais puros (PLA, 6-MP e QUI). Depois, deseja-se arquitetar e imprimir pela metodologia de FDM camadas com diferentes porosidades e interconectáveis, e simultaneamente produzir matrizes hidrofílicas contendo o fármaco. Uma vez realizadas as produções, pretende-se sobrepor e caracterizar matrizes e camadas. Além disso, efetuar a curva de calibração da 6-MP para que seja possível estudar e modelar a liberação de 6-MP dos dispositivos fabricados em meios de diferentes pH.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CÂNCER

No Brasil, aproximadamente 278 mil pessoas morreram de câncer em 2022, sendo os casos mais frequentes, o câncer de pulmão. Em termos de gênero, os mais frequentes foram o câncer de próstata, para os homens, e o câncer de mama, para as mulheres. Na Figura 1 é possível observar a mortalidade dos tipos desta doença para ambos os sexos no ano citado (CANCER, 2022; DATAVIZ, 2022).

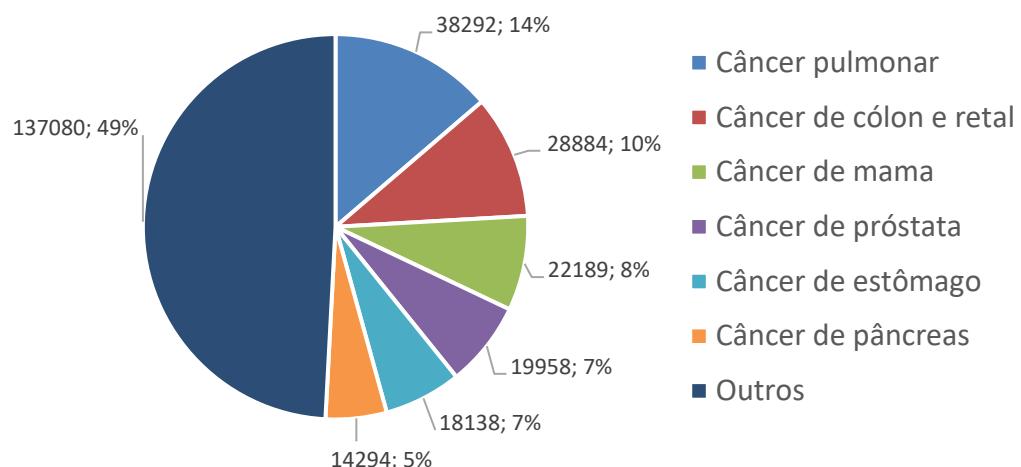


Figura 1: Número absolutos de mortalidade para ambos os sexos em 2022 no Brasil

Fonte: Adaptado de Dataviz (2022).

O primeiro registro dessa enfermidade data de 1600 A.C., no qual Edwin Smith descreve o procedimento utilizado na época. No entanto, a palavra “câncer” é introduzida apenas no século IV A.C., quando ocorre a primeira discussão sobre o tratamento da doença, no encontro entre Médicos Hipocráticos (DERIDDER, *et al.*, 2022; KRUKIEWICZ e ZAK, 2016).

Em síntese, os tumores podem ser malignos ou benignos. Neoplasmas benignos são aqueles em que permanecem no local original de sua transformação e são cercados por uma cápsula fibrosa. Além disso, células benignas são muito parecidas, estruturalmente e funcionalmente, com as células normais do organismo.

Tumores benignos são apenas considerados perigosos quando apresentam grande volume ou portam uma quantidade excessiva de alguma substância ativa, como hormônios (PIRCALABIORU, *et al.*, 2019 *apud* MIHAESCU e CHIFIRIUC, 2015).

Em contraponto, os tumores conhecidos como malignos são desorganizados, raramente delimitados por cápsulas fibrosas e invasivos. Esses neoplasmas além de invadir e destruir a arquitetura normal dos tecidos vizinhos, também podem migrar para outros locais do corpo, iniciando novos centros de proliferação, ação conhecida como metástase. Desta forma, esses tumores são considerados diretamente fatais e a compreensão dos mecanismos para a progressão tumoral e do microambiente tumoral (MAT) são essenciais para propor formas de tratamento (SAHU, *et al.*, 2022 *apud* Ahn *et al.*, 2017; TANAKA, *et al.* 1988).

2.1.1 Microambiente tumoral

O microambiente tumoral (MAT) é composto por diversos componentes celulares e não celulares, por exemplo, vasos sanguíneos, células imunológicas, fibroblastos, células-tronco cancerígenas e a matriz extracelular, como pode ser observado na Figura 2 (SAHU, *et al.*, 2022 *apud* Ahn *et al.*, 2017).

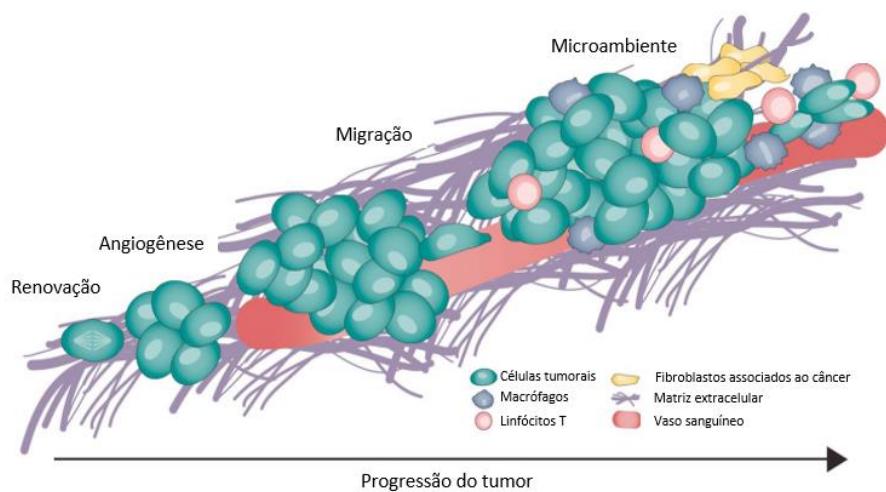


Figura 2: Esquema dos diferentes estágios da progressão do tumor

Fonte: Adaptado de SAHU, *et al.* (2022).

As células tumorais inicialmente obtêm os nutrientes por difusão passiva até que ocorre a angionêse, fenômeno no qual novos vasos sanguíneos são gerados com o objetivo de transportar nutrientes para essa massa tumoral em expansão. Contudo, os tumores malignos, que são desorganizados e possuem deformidades na membrana basal, sofrem irregularidades nesse processo. Esse fato promove áreas pouco vascularizadas, com necrose como consequência, aumentando a permeabilidade desses locais. Com isso, resulta-se no efeito aprimorado de permeabilidade e retenção (EAPR) que é o mecanismo baseado na fisiologia da aglomeração de grandes moléculas e pequenas partículas em tumores. Para promover tal efeito, o medicamento necessita manter-se em circulação em torno da massa tumoral e possuir características (tamanho, natureza hidrofóbica e carga elétrica) ideais para romper a barreira sangue-tumor, para então, ocorrer o seu acúmulo dentro da massa tumoral (DELCASTIAN e PATEL, 2020; SAHU, *et al.*, 2022).

Outras particularidades do microambiente tumoral podem ser citadas, como o seu potencial redox, a hipoxia (por consequência da rede linfática irregular e a proliferação acelerada das células cancerígenas) e, ainda, a temperatura, maior do que o ambiente fisiológico. Ademais, o MAT apresenta uma quantidade elevada de glutationa, um tiol não proteico presente nos tecidos saudáveis, mas que nesse ambiente pode chegar em níveis de 100 até 1000 vezes mais, o que ocasiona o potencial natural redox desse local (PIRCALABIORU, *et al.*, 2019; SAHU, *et al.*, 2022; WANG, *et al.*, 2013).

Ainda neste tópico, vale ressaltar o pH ácido deste meio, decorrente da formação excessiva de ácido lático e alteração do metabolismo celular. Todas essas características podem ser utilizadas para obter-se uma liberação de fármaco direcionada e controlada, como modo de terapia (PIRCALABIORU, *et al.*, 2019; SAHU, *et al.*, 2022).

2.1.2 Tratamentos do câncer

Vale pontuar que em alguns casos não é possível eliminar os tecidos cancerígenos e assim o recurso terapêutico incorpora outras abordagens, como aliviar os sintomas e prolongar a vida destas pessoas (DELCASSIAN e PATEL, 2020; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

Para definir qual ou quais são os tratamentos mais adequados para o paciente, é necessário avaliar fatores tais como, tipo de tumor, localização, grau da doença (características TNM – tamanho, número de gânglios linfáticos e metástase, mostrado na Figura 3) e condições pré-existentes (DELCASSIAN e PATEL, 2020; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

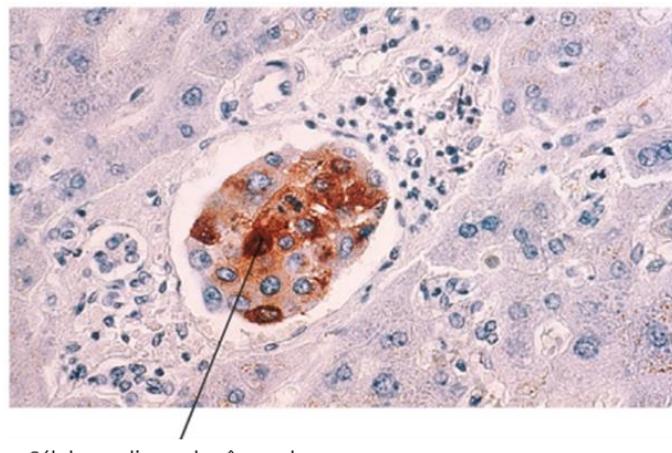


Figura 3: Seção histológica de metástase de um câncer de mama no fígado

Fonte: Adaptado de DELCASSIAN e PATEL (2020).

As terapias do câncer podem ser agrupadas em 4 grandes frentes: cirurgia, radioterapia, imunoterapia e quimioterapia. O método mais antigo de tratamento, e ainda muito utilizado atualmente, é a cirurgia. Com exceção de neoplasias difusivas, como a leucemia, a diminuição de massas tumorais sólidas, presentes principalmente nos estágios iniciais dos cânceres de mama, pulmão, cólon e próstata, é essencial no princípio de qualquer modalidade de tratamento. Caso todo o tumor primário seja

removido e o câncer não desenvolva metástase, a neoplasia é considerada curada (DERIDDER, *et al.*, 2022; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

Em um segundo momento, o câncer é submetido a sessões de radioterapia e quimioterapia. A radioterapia foi desenvolvida logo após a tecnologia do raios-X, em 1895, e tem como princípio o uso da radiação ionizante para interferir no DNA celular, causando danos diretos ou indiretamente, com objetivo de danificar ou reduzir o tumor. Essa terapia é mais indicada para tecidos moles e pode ser administrada externamente, alvejando o tumor, ou internamente, com o emprego de partículas metálicas, contendo radioisótopos, nas imediações da massa tumoral (DELCASSIAN e PATEL, 2020; DERIDDER, *et al.*, 2022; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

A imunoterapia abrange o conceito de redirecionar o sistema imunológico do paciente para compreender e almejar melhor os tecidos cancerígenos. As estratégias dessa metodologia incluem: imunização ativa, que consiste em entregar pequenas moléculas de agentes com o potencial de ativar as células imunológicas locais, ou até mesmo anticorpos para bloquear os receptores contidos na superfície celular; transferência de células, na qual as próprias células do paciente são extraídas, potencializadas, expandidas e reinfundidas, além de células T que podem ser retiradas e geneticamente modificadas para transformar-se em um receptor antígeno quimérico; e aplicação local de uma vacina, que visa treinar o sistema imunológico para reconhecer e responder aos抗ígenos específicos do câncer (DELCASSIAN e PATEL, 2020; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

Por último, a quimioterapia é um dos mecanismos mais utilizados para o tratamento do câncer. Essa terapia faz uso de drogas citotóxicas, as quais têm por objetivo atuar seletivamente nas células malignas, diferenciando-as pelo seu acelerado crescimento e divisão, traço comum dessas células. Para tal, esses medicamentos interrompem o ciclo celular, podendo interferir em processos distintos, os quais ocorrem em cada uma das fases da divisão celular. Assim, existem cinco tipos principais de agentes quimioterápicos: agentes alquilantes (ciclofosfamida, cisplatina e carboplatina), inibidores enzimáticos, antibióticos antitumorais, agentes antimicrotúbulos e antimetabólitos, como a 6-mercaptopurina, fármaco de interesse

deste estudo (DELCASSIAN e PATEL, 2020; DERIDDER, *et al.*, 2022; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

Entretanto, a quimioterapia possui efeitos colaterais principalmente por não atacar apenas as células cancerígenas, mas também danificar células normais que se proliferam rapidamente, como células presentes na medula óssea, na mucosa oral e nos folículos capilares. Por consequência, efeitos adversos, como náusea, vômito, diarreia, fadiga, queda de cabelo, disfunções性uais, problemas de sono, ansiedade, problemas no paladar e olfato, são comuns. Além disso, questões mais graves, por exemplo, toxicidade hepática e nefrótica, decorrem por causa do acúmulo desses fármacos no fígado e rins. Assim, faz-se necessárias alternativas para aprimorar a entrega desses medicamentos e minimizar os danos aos pacientes (KRUKEWICZ e ZAK, 2016; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019).

2.2 6-MERCAPTOPURINA (6-MP)

A 6-mercaptopurina é um agente quimioterápico parte do grupo dos antimetabólitos que tem por objetivo inibir a síntese de um novo DNA. Na Figura 4 é possível observar a fase na qual a droga opera. Esses medicamentos dispõem de moléculas ligeiramente diferentes das substâncias endógenas usadas no organismo para construir o DNA, desta forma, essas moléculas atuam para substituí-las e causar a morte celular. No caso da 6-MP, o fármaco é um antagonista da purina e é metabolizado até transformar-se nos seus nucleotídeos ativos, 6-tioguanina, o agente de inserção no DNA (DELCASSIAN e PATEL, 2020; JAMAL, *et al.*, 2022; PIRCALABIORU, *et al.*, 2019; SALIM, *et al.*, 2021; ZOU, *et al.*, 2021).

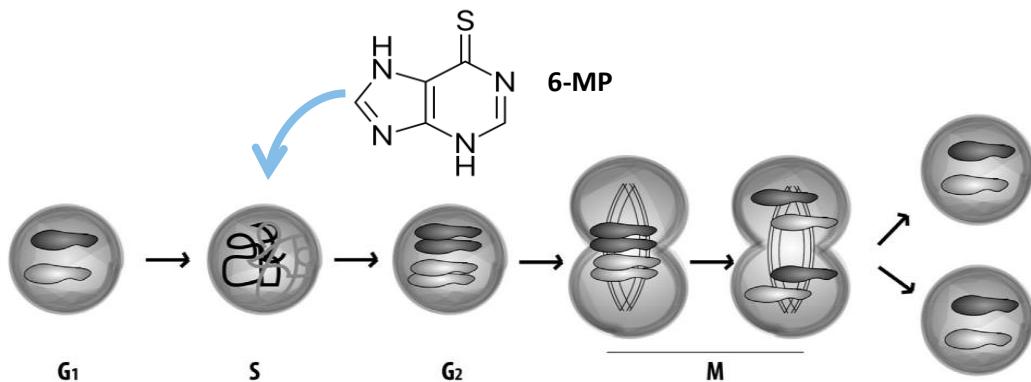


Figura 4: Esquema da vida celular com a indicação da atuação da 6-MP

Fonte: Adaptado de DELCASSIAN e PATEL (2020).

Com propriedades antitumorais, imunossupressoras e anti-inflamatórias, a 6-mercaptopurina é uma das drogas citotóxicas mais utilizadas e mais eficientes. Ademais, é amplamente utilizada para o tratamento da leucemia linfoblástica aguda, doenças inflamatórias (como linfoma não-Hodgkin), distúrbios reumatológicos e como forma de prevenção à rejeição pós-transplante. Para além, cabe ressaltar ainda que esse composto demonstrou atividades antitumorais também em tumores sólidos dos cânceres de colón e mama (FAID, *et al.*, 2022; FAID, *et al.*, 2023; ZOU, *et al.*, 2021).

Este medicamento é usualmente administrado via oral, com dose indicada de até 75 mg/m² (área de superfície corporal) por dia, durante um período de dois a três anos. A partir desse meio de aplicação, a 6-MP apresenta características como: baixa solubilidade em meio aquoso (0,22 mg/mL), que por consequência gera uma baixa biodisponibilidade (16% – 50%), e por fim, possui meia vida de citoplasma curta (0,5 – 1,5 horas), dificultando a ocorrência do efeito EAPR. Além disso, pode-se citar infecções, reações alérgicas, pancreatite, hepatotoxicidade e mielossupressão, como exemplos de efeitos colaterais da droga. Portanto, é interessante propor diferentes formas de encapsulamento e transporte para esse medicamento visando a melhoria da seletividade, eficiência e aumento de meia-vida (JAMAL, *et al.*, 2022; PHARMA, 2021; SALIM, *et al.*, 2021; ZOU, *et al.*, 2021).

2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO

Sistemas de liberação são dispositivos (macro, micro ou nano) de materiais biodegradáveis e biocompatíveis pelos quais agentes terapêuticos são introduzidos no corpo do paciente. Os objetivos dessa metodologia de entrega são confinar, direcionar e distribuir de maneira que o medicamento seja concentrado especificamente no ponto de mira, ou seja, no tecido ou célula doente. Desta forma, utilizando-se da engenharia, novas tecnologias e diferentes materiais, esses dispositivos crescem em complexidade e funções (ADEPU e RAMAKRISHNA, 2022; DAVOODI, *et al.*, 2018; FU e KAO, 2010; SUNG e KIM, 2020).

Vários tipos de materiais foram estudados e explorados para aplicação na manufatura destes transportes. Dentre eles é possível citar a sílica mesoporosa, os hidrogéis, as micelas, os açúcares, os amidos e os polímeros. Nesse contexto, sistemas de liberação poliméricos são amplamente utilizados, pois permitem a entrega de medicamentos hidrofílicos ou hidrofóbicos, distribuindo-os no local por longos períodos. Esses dispositivos podem ser divididos em: matrizes, nos quais a droga está dissolvida ou dispersa no sistema; reservatórios, que diferentemente das matrizes, possuem a droga em um núcleo enclausurado por uma membrana polimérica livre do medicamento; e sistemas conjugados, os quais consistem em nanopartículas poliméricas que sequestram e conjugam-se covalentemente com as partículas do medicamento (BORANDEH, *et al.*, 2021; DAVOODI, *et al.*, 2018; TONG, *et al.*, 2020).

Ainda neste âmbito, outra maneira de caracterizar estes sistemas é separá-los de acordo com o tipo de liberação, programada ou não programada (Figura 5). Na primeira categoria, a liberação é controlada a partir da interação entre materiais inteligentes, responsivos, e mudanças no ambiente, as quais podem ser externas (temperatura, força magnética, intensidade de luz, frequência e magnitude de ultrassom, entre outros) ou internas, do próprio meio (pH, oxidação, potencial redox e concentrações enzimáticas). Vale pontuar que os avanços tecnológicos possibilitam perfis de liberação cada vez mais personalizados (DAVOODI, *et al.*, 2018).

Em contrapartida, liberações não controladas, ou não programadas, são aquelas que dependem principalmente das propriedades físico-químicas dos

materiais utilizados nos dispositivos. No caso dos sistemas poliméricos, a liberação pode ser controlada por fenômenos como difusão, erosão, inchamento, entre outros (BORANDEH, *et al.*, 2021; DAVOODI, *et al.*, 2018; NAVYA, *et al.*, 2019).

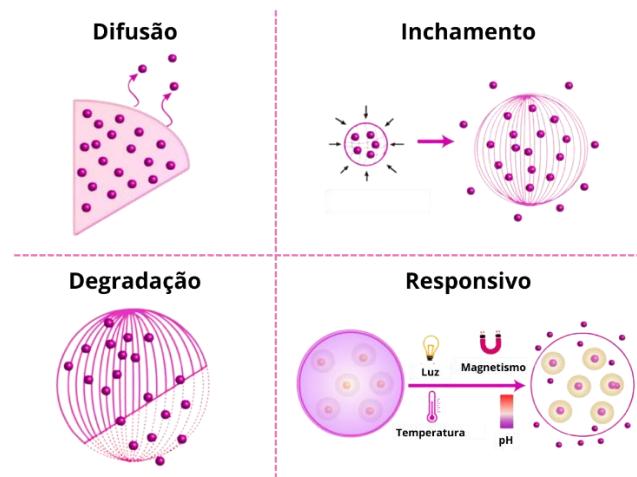


Figura 5: Exemplos de fenômenos norteadores da liberação de fármacos

Fonte: Adaptado de NAVYA, *et al.*(2019)

Ao analisar o tema especificamente para o tratamento do câncer, ainda é possível diferenciar os mecanismos de liberação pelo tipo de direcionamento e entrega. Com relação ao direcionamento, esse pode ser classificado como: passivo, ou seja, quando o objetivo é acumular o medicamento nas imediações do tumor para promover o efeito EAPR e para tal, os estudos mostram que o tamanho ideal da partícula da droga deve ser menor do que 50nm; ou ativo, o qual é baseado em afinidade, retenção e absorção e consiste em modificar a superfície do dispositivo com um ligante específico (proteínas, anticorpos, ácidos nucleicos, peptídeos, carboidratos, entre outros) das células-alvo (KHAN, *et al.*, 2018; NAVYA, *et al.*, 2019).

Ademais, sobre as rotas de transportes, as possibilidades abrangem via oral, inalação, adesivos transdérmicos, injeção local e implantes, que têm como exemplo o Gliadel, que é um wafer biodegradável o qual visa concentrar o agente quimioterápico carmustina no local de tumores cerebrais (Figura 6) (DELCASSIAN e PATEL, 2020; KRUKIEWICZ, *et al.*, 2016).



Figura 6: Gliadel wafer

Fonte: Storage and Handling (2018)

Ainda neste contexto, é possível encontrar outros trabalhos que propõem sistemas de liberação para o tratamento de enfermidades. Ranganthant e colaboradores (2016) projetaram, produziram e patentearam um implante anatômico poroso, por impressão 3D, para a entrega de agentes terapêuticos em superfícies ósseas. Ademais, Faid, *et al.* (2023) desenvolveram nanopartículas de ouro com quitosana e carreadas de 6-mercaptopurina e atingiram bons resultados para o tratamento seletivo do câncer de maneira citotóxica e fototermal.

Visto que a liberação dos medicamentos é o objetivo principal destes sistemas, é importante compreender e buscar prever o perfil da cinética dessa distribuição. Isso é possível através de modelos matemáticos.

2.3.1 Modelos matemáticos de sistemas poliméricos de liberação

A modelagem matemática na análise da cinética de liberação permite o desenvolvimento de melhores dispositivos. O objetivo de utilizar modelos matemáticos é buscar um entendimento maior sobre os mecanismos envolvidos no transporte de massa do soluto (medicamento) para o meio desejado. Em geral, os fenômenos principais que ocorrem nas matrizes poliméricas são a difusão e a degradação, que engloba os mecanismos de dissolução e erosão. Além disso, a composição e concentração do medicamento, forma, tamanho e meio de produção dos dispositivos

influenciam no perfil de liberação da droga, tornando esses sistemas ainda mais personalizáveis (DAVOODI, et al., 2018; FU e KAO, 2010).

A difusão é um processo pelo qual a transferência de massa é controlada pelo gradiente de concentração. Assim, em sistemas que são norteados por esse fenômeno, a pós-solubilização do medicamento é a etapa limitante. Em diversos casos, a difusão é a etapa predominante, no entanto, também pode ser apenas um dos mecanismos no perfil de liberação, em situações que também ocorre inchamento ou erosão nas matrizes (BORANDEH, et al., 2021; SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

Os dispositivos que são controlados pela difusão apresentam a droga dispersa ou dissolvida, em uma matriz polimérica (sistema monolítico), ou em um núcleo cercado por uma membrana polimérica (reservatório). Na Figura 7 é possível visualizar os diferentes tipos dos sistemas citados. Vale ressaltar que fatores como mudança de temperatura, composição da matriz, tamanho das partículas, presença de água nas moléculas, permeabilidade da matriz, geometria do dispositivo, entre outros, afetam a cinética de difusão (BORANDEH, et al., 2021; SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

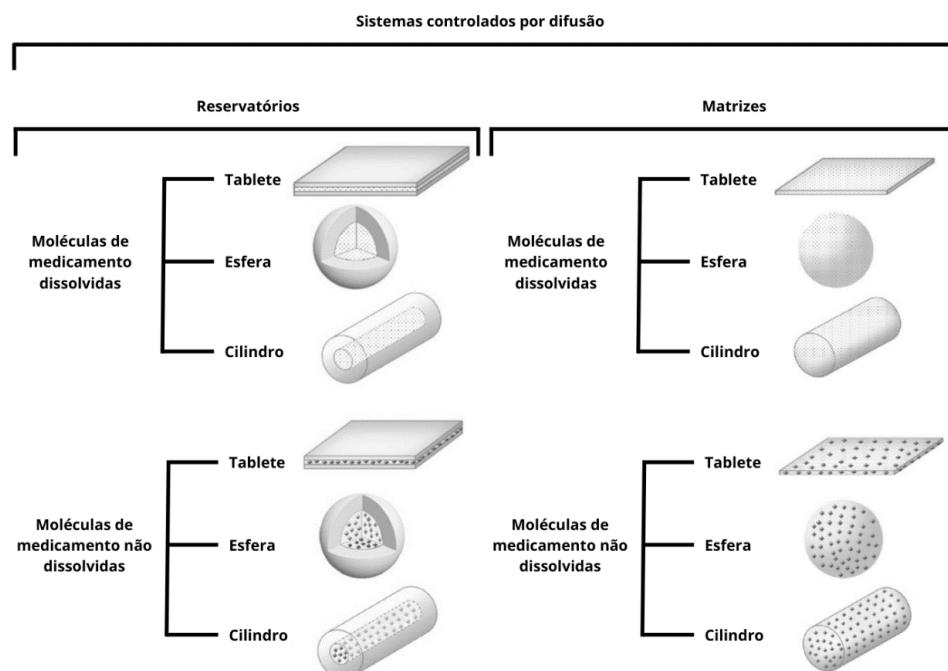


Figura 7: Esquema com exemplos de geometrias básicas de sistemas de liberação controlados pela difusão.

Fonte: Adaptado de SIEPMANN, SIEPMANN (2012).

Para quantificar e avaliar o transporte de massa por difusão é possível utilizar a Primeira Lei de Fick (Equação 1), na qual a massa varia com espaço (SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

$$F = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (1)$$

Nesta primeira lei, F é dado como o fluxo de transferência de massa por área, c é a concentração da espécie desejada, ou seja, o medicamento, e D é o coeficiente de difusão, ou difusividade mássica (SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

A Segunda Lei de Fick (Equação 2) é derivada da primeira e de considerações feitas no balanço de massa, além de demonstrar a concentração também variando com o tempo (SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} \right) \quad (2)$$

Na Equação 2, c é a concentração do fármaco, t é referente ao tempo, D é o coeficiente de difusão e x, y e z são as três coordenadas cartesianas espaciais. Vale pontuar que antes da utilização desse modelo é necessário considerar as condições iniciais e as condições de limite. A primeira situação refere-se a como a droga está dispersa no sistema, se é de forma homogênea ou não. Por outro lado, as condições de limite indicam se as fronteiras do dispositivo são móveis ou constantes em relação ao tempo. No último caso, considera-se que não ocorre inchamento, dissolução ou erosão significantes, o que torna o sistema dito como estacionário. Outra questão a ser levada em consideração na Segunda Lei de Fick é se o coeficiente de difusão é constante. Nas situações em que a difusividade não é constante, é necessário utilizar soluções numéricas para o cálculo da equação com o emprego de softwares ou programas (SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

Por outro lado, o fenômeno de dissolução refere-se ao processo de uma substância sendo liberada em um ambiente quando encontra-se na presença de um fluido termodinamicamente compatível. Visto que esse mecanismo é cinético, a taxa de dissolução influencia a quantidade de soluto que é dissolvida durante determinado período (BRUSCHI, 2015; FU e KAO, 2010). A taxa pode ser descrita como:

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS}{l} (C_s - C) \quad (3),$$

onde dM/dt é a massa dissolvida no tempo (M é a massa, t é tempo), D é o coeficiente de difusão do soluto na solução, S é a área de superfície do soluto, l é a espessura da camada de difusão, C_s é a solubilidade do sólido e C é a concentração do soluto na solução no tempo t . Vale pontuar que a camada de difusão, ou o filme líquido estático, baseia-se na teoria do transporte de massa e se encontra acima da superfície que está se dissolvendo (BRUSCHI, 2015).

Baseadas nestas importantes equações, podem-se obter modelos ditos como empíricos, os quais são comumente utilizados e de fácil aplicação. No entanto, esses métodos não são capazes de descrever mecanismos mais complexos. Nesse âmbito, serão citados os modelos matemáticos de cinética de liberação de ordem zero, Higuchi, Ritger-Peppas e Peppas-Sahlin. Além disso, serão abordados modelos mais complexos como o de Narashimhan e Peppas, aplicados para casos de dissolução da matriz polimérica, e os de Hopfenberg e Katzhendler et al., para cenários de erosão (BRUSCHI, 2015; FU e KAO, 2010; SIEPMANN, SIEPMANN, 2012).

Contudo, cabe pontuar que o dispositivo projetado pela presente pesquisa é complexo, pois não atua somente como um reservatório por dispor de barreiras difusionais, conferindo assim, possivelmente, um caráter misto ao seu perfil de liberação. Ademais, na literatura, matrizes de quitosana são conhecidas por demonstrarem cinéticas de liberação de medicamentos de ordem zero ou de primeira ordem (PUTTIPIPATKHACHORN, et al., 2001).

Por fim, destaca-se que além de compreender o sistema de liberação e analisar as considerações que o modelo estabelece, é possível determinar a correlação entre

modelo e dados experimentais a fim de encontrar o mais adequado, a partir do coeficiente de determinação (R^2). O modelo que demonstrar maior linearidade, $R^2=1$ ou próximo a 1, será o mais ajustado (AHMED, et al., 2019).

2.3.1.1 Modelo de ordem zero

A Equação 4 representa um modelo linear, no qual o medicamento é liberado apenas em função do tempo e ocorre a uma taxa constante, independente da concentração do soluto, durante toda a vida útil do dispositivo. Podem-se citar alguns exemplos de sistemas que são descritos por este modelo, como comprimidos revestidos, sistemas controlados por osmose, dispositivos em formato de placa e alguns modelos transdérmicos (BRUSCHI, 2015; LARACUENTE, YU e MCHUGH, 2020).

$$C_t = C_0 + K_0 t \quad (4)$$

Na Equação 4, C_t representa a quantidade de droga liberada durante o tempo t , C_0 é a concentração inicial do fármaco liberado, que no geral é igual a zero, e K_0 é a constante de ordem zero (BRUSCHI, 2015).

2.3.1.2 Modelo de Higuchi

O modelo matemático de Higuchi é provavelmente o modelo mais utilizado e mais famoso para descrever a liberação de sistemas em forma de matriz. A partir do ano de 1961 até 1963, Higuchi desenvolveu modelos teóricos para representar a liberação de fármacos pouco solúveis e muito solúveis, contidos em matrizes sólidas ou semissólidas (BRUSCHI, 2015).

É preciso destacar que algumas considerações são assumidas ao empregar o modelo de Higuchi. São elas:

- A matriz contém uma concentração inicial do fármaco muito maior do que a solubilidade dele;

- A difusão é unidirecional, uma vez que os efeitos das fronteiras são desconsiderados;
- A espessura do dispositivo é muito maior do que o tamanho das moléculas do ativo;
- Não ocorrem, ou são insignificantes, os efeitos de inchamento e dissolução da matriz;
- A difusividade da droga é constante;
- As condições de submersão são perfeitas no ambiente onde acontece a liberação (BRUSCHI, 2015).

O modelo Higuchi é apresentado na Equação 5:

$$Q = K_H t^{\frac{1}{2}} \quad (5),$$

onde Q corresponde a quantidade de fármaco liberado no tempo t e K_H é a constante de liberação de Higuchi (BRUSCHI, 2015 *apud* HIGUCHI, 1963).

2.3.1.3 Modelo de Ritger-Peppas

A lei de potência (Equação 6) é uma equação abrangente semi-empírica utilizada para descrever a liberação de medicamentos de sistemas poliméricos. Além disso, esse modelo foi desenvolvido especificamente para o estudo de liberação de hidrogéis, no entanto, é muito útil para quando não se conhece o mecanismo ou existem mais de um fenômeno que controlam a liberação (BRUSCHI, 2015 *apud* RITGER, PEPPAS, 1987).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (6)$$

Na Equação 6, $\frac{M_t}{M_\infty}$ representa a quantidade da droga liberada, sendo M_t a quantidade liberada durante o tempo t e M_∞ a quantidade de medicamento no equilíbrio de estado (que muitas vezes é aproximadamente a quantidade de

medicamento contida no início do processo), K é a constante de velocidade da liberação e o expoente n refere-se ao mecanismo de liberação em função do tempo t (BRUSCHI, 2015).

Como citado anteriormente, o expoente n representa os diferentes mecanismos que podem controlar a liberação, pois dependendo do melhor ajuste ao comportamento observado, indica-se uma classificação: modelos Fickinianos ou modelos não-Fickinianos (BRUSCHI, 2015).

Quando $n = 0,5$, o modelo é regido pelas leis de Fick, ou seja, a cinética da liberação é caracterizada pela difusão. Nesse caso, a taxa de transporte do solvente, ou de difusão, é muito maior do que o processo de relaxamento das cadeias poliméricas. Assim, o equilíbrio de absorção, o qual ocorre na superfície do sistema, acontece rapidamente, levando a condições dependentes do tempo (BRUSCHI, 2015).

Na situação em que $n = 1$, o modelo é dito como não-Fickiniano de Caso II, então a liberação corresponde a cinética de ordem zero e o mecanismo que a controla é o inchamento ou o relaxamento das cadeias poliméricas. Pode-se concluir que a difusão do solvente através do sistema é muito rápida comparada com o processo de relaxamento/inchamento da superfície do dispositivo (BRUSCHI, 2015).

Vale pontuar que o inchamento ocorre quando a matriz polimérica é cercada por um solvente adequado, o qual penetra a rede polimérica e induz a mudança na matriz. Esse fenômeno faz com que se sucedam mudanças nas forças entrópicas, nas interações hidrofílicas/hidrofóbicas, eletrostáticas/iônicas e no estresse osmótico, que por consequência, influenciam a difusão do solvente na rede polimérica e ocasionam a solvatação e desembaraço da cadeia, enquanto incham o polímero. Ao expandir o volume do material, formam-se lacunas entre as cadeias poliméricas o que provoca um aumento constante do fluxo de massa do solvente e a difusividade do medicamento. Desta maneira, a taxa de liberação desses dispositivos depende da área de superfície e grau de inchamento (BORANDEH, *et al.*, 2021).

Em contrapartida, quando n está entre 0,5 e 1 ($0,5 < n < 1$), o modelo é dado como não-Fickiniano ou sob transporte anômalo, e, assim, a liberação é controlada tanto pela difusão quanto pelo inchamento, sendo ambas as taxas comparáveis. Desta

forma, o rearranjo das cadeias poliméricas ocorre lentamente enquanto o processo de difusão causa, simultaneamente, efeitos anômalos dependentes do tempo (BRUSCHI, 2015).

No caso de $n > 1$, tem-se o Super Caso II, no qual durante o processo de sorção ocorre tensão e quebra do polímero (fissuras causadas pelo solvente). Essa situação é dita como um meio extremo de transporte de massa e é observada quando o solvente demonstra grande afinidade com a matriz (BRUSCHI, 2015).

Por fim, na Tabela 1 é possível visualizar de forma simplificada essas diferentes classificações.

Tabela 1: Interpretação dos modelos de liberação de fármacos em matrizes poliméricas de diferentes geometrias.

Mecanismo de liberação	Geometria	Expoente de liberação (n)
	Finos filmes	0,50
Difusão Fickiniana	Cilindros	0,45
	Esferas	0,43
Transporte anômalo (não-Fickiniano)	Finos filmes	$0,50 < n < 1,0$
	Cilindros	$0,45 < n < 0,89$
	Esferas	$0,43 < n < 0,85$
Caso I de transporte (não-Fickiniano)	Finos filmes	1,0
	Cilindros	0,89
	Esferas	0,85
Super Caso II de transporte (não-Fickiniano)	Finos filmes	$n > 1,0$
	Cilindros	$n > 0,89$
	Esferas	$n > 0,89$

Fonte: Adaptado de BRUSCHI (2015).

2.3.1.4 Modelo de Peppas-Sahlin

Este modelo surge como a consequência do entendimento que se pode calcular aproximadamente a contribuição dos mecanismos de difusão e relaxamento das cadeias poliméricas em processos anômalos de liberação de medicamentos. Então, a equação de Peppas-Sahlin pode ser escrita como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m} \quad (7),$$

na qual K_1, K_2 e m são constantes, t representa o tempo e M_t/M_∞ representa a quantidade da droga liberada (BRUSCHI, 2015 *apud* PEPPAS, SAHLIN, 1989).

Vale pontuar que, no lado direito da Equação 7, o primeiro termo refere-se à contribuição difusiva Fickiniana, enquanto o segundo termo representa o Caso II da contribuição do relaxamento das cadeias poliméricas. Além disso, o expoente m representa puramente a difusão de Fick, que é igual ao coeficiente n da Equação 6 e é válido para qualquer geometria de dispositivo, incluindo filmes, cilindros e esferas (BRUSCHI, 2015; PEPPAS, SAHLIN, 1989).

Na Figura 8 é possível observar a variação do coeficiente m em relação ao diâmetro e espessura do sistema (BRUSCHI, 2015).

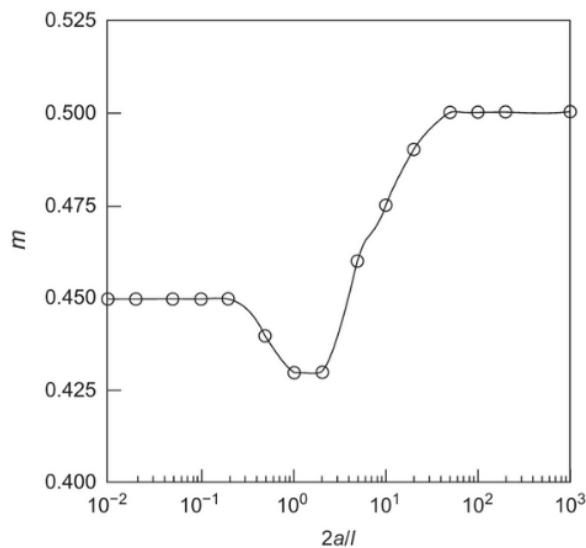


Figura 8: Variação do expoente m com o a proporção $2a/l$, na qual $2a$ é o diâmetro e l é a espessura/altura do dispositivo.

Fonte: Adaptado de BRUSCHI (2015)

Por fim, Peppas e Sahlin propuseram a seguinte metodologia para analisar a liberação de sistemas que possuem os mecanismos de difusão e relaxamento:

- 1) Calcular a proporção $2a/l$ do sistema;

- 2) Determinar o expoente m a partir dos valores determinados na Tabela 1 ou pela Figura 8;
- 3) Plotar gráfico com os dados experimentais da liberação e adequar os primeiros 60% na Equação 7;
- 4) Calcular K_1 e K_2 ;
- 5) Utilizar a Equação 7 para determinar a porcentagem da participação dos mecanismos de difusão e relaxamento (BRUSCHI, 2015 *apud* PEPPAS, SAHLIN, 1989).

2.3.1.5 Modelo de Narasimhan e Peppas

O modelo de Narasimhan e Peppas tem por objetivo descrever a liberação por meio da dissolução da matriz polimérica baseado no mecanismo molecular. Vale ressaltar que liberações de matrizes poliméricas que sofrem dissolução também podem ser controladas por difusão, simultaneamente ou não. O modelo é descrito na Equação 8, a espessura, ($S - R$), é dada pela Equação 9 e os parâmetros A e B são expressos nas equações 10 e 11, respectivamente. Além disso, a Tabela 2 mostra o significado dos elementos contidos nas equações (FU e KAO, 2010 *apud* NARASIMHAN, PEPPAS, 1997).

$$\frac{M_d}{M_{d,\infty}} = \frac{(v_{d,eq} + v_d^*)}{2l} \times (\sqrt{2At} + Bt) \quad (8)$$

$$-\frac{(S-R)}{B} - \frac{A}{B^2} \ln \left\{ 1 - \frac{B}{A} (S - R) \right\} = t \quad (9)$$

$$A = D(v_{1,eq} - v_1^*) \left(\frac{v_{1,eq}}{v_{1,eq} + v_{d,eq}} + \frac{1}{v_1^* + v_d^*} \right) + D_d(v_d^* - v_{d,eq}) \times \left(\frac{v_{d,eq}}{v_{1,eq} + v_{d,eq}} + \frac{1}{v_1^* + v_d^*} \right) \quad (10)$$

$$B = \frac{k_d}{(v_{1,eq} + v_{d,eq})} \quad (11)$$

Tabela 2: Elementos das Equações 8, 9, 10 e 11

Elementos	Significado
l	Metade da espessura do dispositivo
D	Coeficiente de difusão do solvente
D_d	Coeficiente de difusão da droga
v_1^*	Concentração do solvente
v_d^*	Concentração da droga
$v_{1,eq}$	Concentração do solvente no equilíbrio
$v_{1,d}$	Concentração da droga no equilíbrio
k_d	Taxa de desembaraço das cadeias poliméricas

Fonte: FU e KAO (2010).

Com o objetivo de investigar o efeito dos parâmetros no comportamento da liberação do fármaco, foi simulada uma liberação normalizada em função do tempo utilizando drogas de diversos tamanhos de partículas. Baseado nesse estudo, conclui-se que quanto maior o coeficiente de difusão, maior é a liberação. Para mais, esse modelo demonstrou-se capaz de representar comportamentos Fickianos, caso II de transporte e o estado de transição entre essas situações (FU e KAO, 2010).

2.3.1.6 Modelos Matemáticos de Erosão

As moléculas do medicamento que estão em um dispositivo, o qual sofre erosão, são liberadas por meio da degradação da matriz polimérica. Essa degradação pode ocorrer de maneira superficial ou no volume, que sucede quando o solvente penetra a matriz e induz a degradação e colapso dentro do sistema (BORANDEH, *et al.*, 2021).

A erosão é um fenômeno preferível para implantes com liberação controlada de fármaco, uma vez que elimina a matriz após a liberação. Ademais, dispositivos que são erodidos possuem a capacidade de entregar biomacromoléculas contidas no implante. No entanto, esse mecanismo levanta questões como a reabsoribilidade e toxicidade do material a ser degradado (BORANDEH, *et al.*, 2021).

Neste âmbito, Hopfenberg desenvolveu um modelo para explicar a liberação de drogas em polímeros passíveis de erosões superficiais, em que o desprendimento do medicamento é de ordem zero e é a taxa limitante dessa etapa. O modelo é exposto na Equação 12 e é válido para esferas, cilindros e filmes (BRUSCHI, 2015; FU e KAO, 2010).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_0 t}{c_0 a}\right)^n \quad (12)$$

Nela, M_t é a quantidade do fármaco liberada no tempo t , M_∞ é a quantidade liberada no tempo infinito, M_t/M_∞ é a fração da droga dissolvida, k_0 é a constante do grau de erosão, c_0 é a concentração inicial do medicamento na matriz e a_0 é o raio inicial da esfera/cilindro ou metade da espessura do filme. O expoente n varia de acordo com a geometria do sistema de liberação, ou seja, representa o formato esférico ($n = 3$), cilíndrico ($n = 2$) ou planar (fino filme) ($n = 1$) do dispositivo (BRUSCHI, 2015; FU e KAO, 2010).

Por fim, diferentemente da equação anterior, o modelo matemático de Katzhendler *et al.* considera que a erosão na matriz polimérica decorre tanto de maneira axial quanto radial. O modelo é demonstrado na Equação 13 (FU e KAO, 2010 *apud* KATZHENDLER *et al.*, 1997).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_a t}{c_0 a_0}\right)^2 \left(1 - \frac{2k_b t}{c_0 b_0}\right) \quad (13)$$

Na Equação 13, k_a é a constante de erosão no sentido radial, k_b é a constante de erosão no sentido axial, a_0 é o raio inicial e b_0 é a espessura inicial do sistema de liberação (FU e KAO, 2010).

2.3.2 Panorama dos modelos matemáticos

Dado os diferentes modelos expostos e suas restrições, a Tabela 3 tem como intuito simplificar a escolha do modelo mais apropriado para a análise da cinética de liberação do dispositivo de interesse. Nela, são evidenciados os modelos matemáticos e os sistemas poliméricos correspondentes mais recorrentes na literatura.

Tabela 3: Modelos Matemáticos citados

Modelos	Equação	Aplicações
Ordem zero	$C_t = C_0 + K_0 t$	Comprimidos revestidos, sistemas controlados por osmose, dispositivos em formato de placa e alguns sistemas transdérmicos;
Higuchi	$Q = K_H t^{\frac{1}{2}}$	Sistemas em forma de matriz controlados apenas pela difusão;
Ritger- Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n$	Hidrogéis ou para dispositivos em que não se conhece o mecanismo;
Peppas- Sahlin	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_1 t^m + K_2 t^{2m}$	Hidrogéis com qualquer geometria e dispositivos em que se deseja considerar os dois fenômenos (difusão e relaxamento de cadeia);
Narasimhan e Peppas	$\frac{M_d}{M_{d,\infty}} = \frac{(v_{d,eq} + v_d^*)}{2l} \times (\sqrt{2At} + Bt)$	Matrizes que sofrem dissolução;
Hopfenberg	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_0 t}{c_0 a}\right)^n$	Dispositivos de qualquer geometria passível de erosões superficiais;
Katzhendler et al.	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(1 - \frac{k_a t}{c_0 a_0}\right)^2 \left(1 - \frac{2k_b t}{c_0 b_0}\right)$	Matrizes passível de erosões axiais e radiais;

Fontes: BRUSCHI (2015); FU e KAO (2010); HIGUCHI (1963); KATZHENDLER *et al.* (1997); NARASIMHAN e PEPPAS (1997); PEPPAS e SAHLIN (1989); RITGER e PEPPAS (1987).

2.4 ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA

Visto que a 6-mercaptopurina possui desvantagens e compreendidos conceito e benefícios dos sistemas de liberação, é válido levantar a hipótese de que o tratamento com esse fármaco se beneficiaria com essa metodologia. Assim, é essencial buscar na literatura acadêmica estudos sobre a convergência desses temas.

Para tal, utilizou-se a ferramenta StArt, desenvolvida pela UFSCar. Esse software tem como objetivo sistematizar a realização da pesquisa por evidências na literatura científica, propondo etapas bem definidas, de acordo com um protocolo previamente elaborado pelo pesquisador (StArt, 2013).

Na Figura 9 é possível visualizar os estágios principais da ferramenta StArt e os subtópicos mais relevantes empregados na análise. A pesquisa foi realizada na língua inglesa para obter o maior número de resultados. Assim, no primeiro passo estabeleceu-se o objetivo do estudo, as perguntas essenciais, as palavras-chaves (que seriam utilizadas nos bancos de dados), os bancos de dados, os critérios de inclusão e exclusão para avaliação dos artigos, itens para avaliação da qualidade do artigo e dados de interesse a serem extraídos.

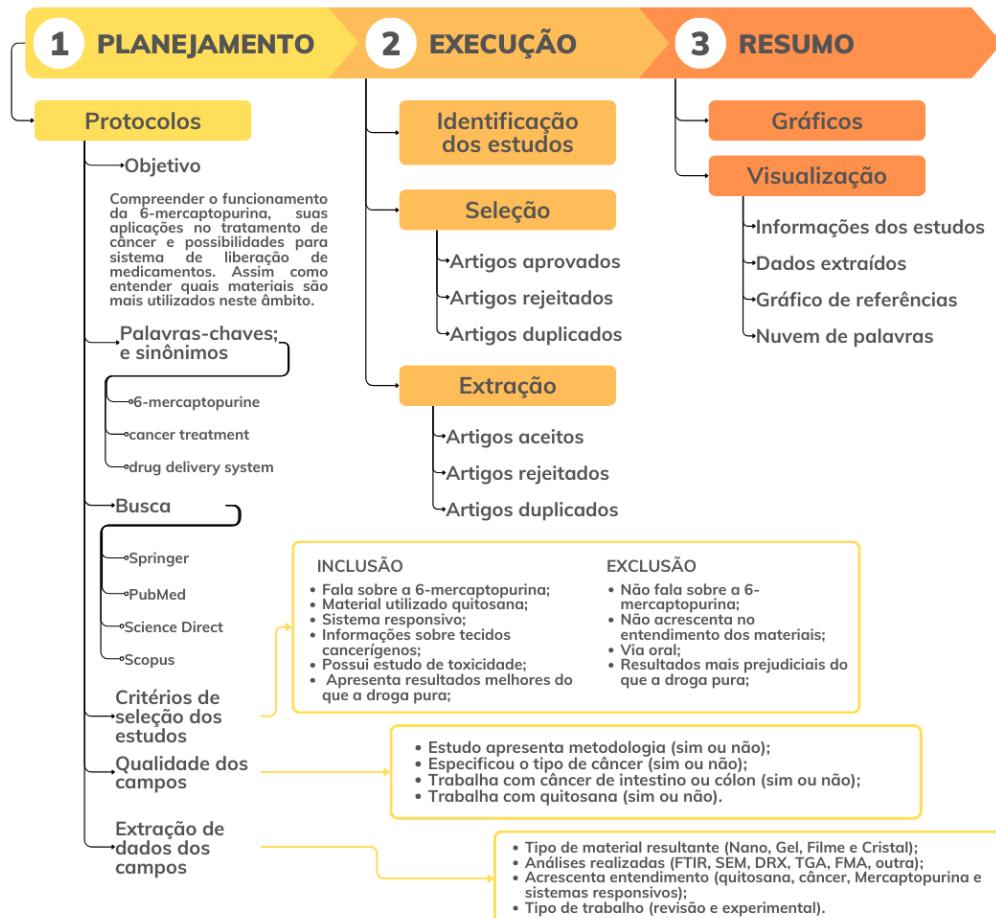


Figura 9: Esquema do processo de pesquisa no StArt.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Em um segundo momento, na fase de execução, os artigos são alimentados na plataforma de forma manual, ou através de arquivos no formato de *bib* ou *ris*, em seus bancos de dados correspondentes. A Tabela 4 apresenta a quantidade obtida de cada fonte científica, ou de artigos acrescentados manualmente, e o total de estudos encontrados a partir das palavras-chaves.

Tabela 4: Quantidade de artigos alimentados na ferramenta.

Fonte	Quantidade	Porcentagem
Springer	65	15%
PubMed	49	11%
Science Direct	261	61%
Scopus	35	8%
Manual	18	4%
Total	428	-

Fonte: Autoria Própria (2024).

Ainda neste estágio, segue-se para a seleção, na qual os critérios de inclusão ou exclusão serão utilizados para determinar se o artigo é pertinente para a pesquisa ou não. Cabe ressaltar que de todos os critérios, o mais importante era o critério de exclusão “não fala sobre a 6-mercaptopurina”, o qual descartaria o artigo imediatamente. Os outros critérios serviram como uma balança, caso a literatura possuísse mais critérios de inclusão do que critérios de exclusão, era classificado como aceito. Ademais, é possível assinalar os pontos de qualidade que contam nos estudos. A Figura 10 apresenta o resultado obtido após esta análise.

ETAPA DE SELEÇÃO

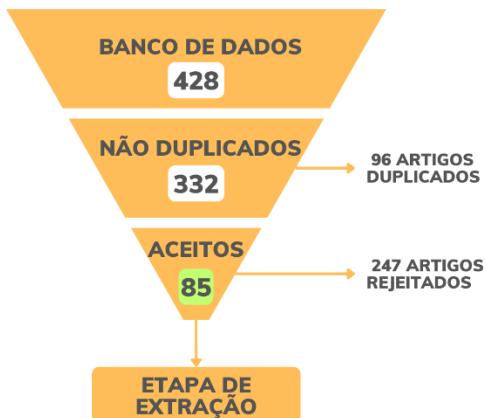


Figura 10: Funil de resultados da etapa de seleção.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Após a fase de seleção, o software avança para etapa de Extração, na qual os artigos aprovados no estágio anterior são revisitados para uma avaliação aprofundada. Além de rever os itens de critérios, é viável preencher o campo de “*data extraction*” para cada artigo, auxiliando na decisão da prioridade de leitura. A Figura 11 demonstra os resultados deste tópico.

ETAPA DE EXTRAÇÃO

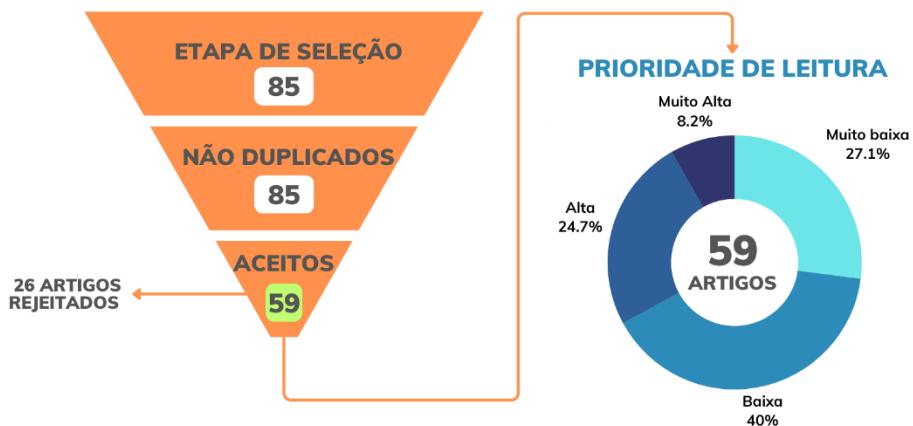


Figura 11: Funil de resultados da etapa de Extração e prioridade de leitura.

Fonte: Autoria Própria (2024)

Com os artigos selecionados e lidos, pode-se inferir que a estratégia de empregar sistemas de liberação na entrega 6-mercaptopurina é válida e debatida na literatura científica. Outrossim, a partir da Figura 12 e da Figura 13 é possível observar quais palavras foram citadas e com que frequência, respectivamente. Desta forma, apresentam-se as tendências da pesquisa neste campo.



Figura 12: Nuvem de palavras da ferramenta StArt antes das etapas de seleção e extração.

Fonte: Autoria Própria (2024).

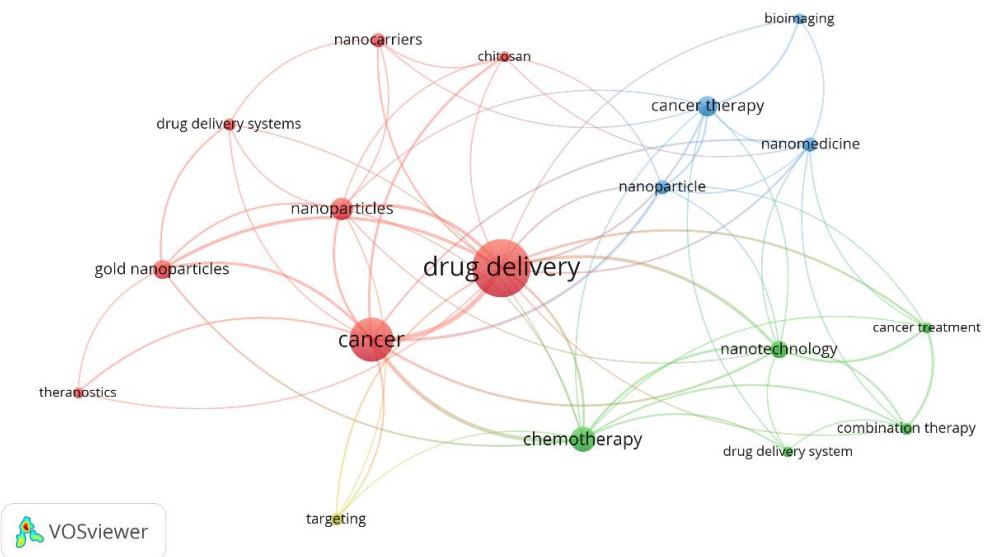


Figura 13: Mapa de palavras realizado na ferramenta *Vosviewer* antes das etapas de seleção e extração.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Além de mostrar as palavras-chaves utilizadas para a realização da busca, estes resultados revelam que a nanotecnologia é uma metodologia muito empregada na manufatura de dispositivos de liberação de 6-mercaptopurina. Neste contexto, Mosavi e Zare-Dorabei (2022) desenvolveram um nanocarreador metálico revestido com quitosana para liberação de 6-mercaptopurina e obtiveram melhores efeitos do que o medicamento puro em células tumorais de mama. Outro exemplo, nesse âmbito, é o estudo de Nezhad-Mokhtari, Ghorbani e Mahmoodzadeh (2019), que produziram um nanogel polimérico responsivo (a pH, temperatura e redox) através de polimerizações e copolimerizações para a co-entrega intercelular de metotretaxo e 6-MP para o tratamento de câncer de mama.

Vale pontuar igualmente a propensão das pesquisas de combinar terapias. Isso está relacionado ao sistema ser carreado por dois ou mais agentes quimioterápicos, como citado acima, e a intenção de atuar não apenas de maneira quimioterápica, incorporando outros tipos de terapia (como a fototerapia) ou auxiliando no diagnóstico. Lu e colaboradores (2023) construíram um sistema de liberação com nanopartículas de mesoporos de carbono, ácidos graxos e 6-MP, o qual demonstrou bons resultados quimio-fototérmicos nos ensaios celulares. Nori, *et al.* (2023) também desenvolveram um nanocarreador para ser empregado possivelmente em terapias multimodais de magneto-dendrímero com grupos tiol, revestido de partículas de ouro e redox responsivo, para liberação de 6-MP.

Por fim, a quitosana e as nanopartículas de ouro foram os materiais mais citados nos estudos desta análise. Os estudos que abordam a quitosana como meio para a entrega de 6-MP serão mencionados no item referente a esse polímero.

2.5 MANUFATURA ADITIVA

A Manufatura Aditiva (MA) surgiu no começo da década de 1980 por Charles Hull. Essa metodologia consiste em um conjunto de tecnologias de produção, de sucessivas deposições de camadas, que são aplicadas na transformação de materiais

em objetos tridimensionais a partir de modelos digitais (BORANDEH, *et al.*, 2021; LI, *et al.*, 2020; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

A principal vantagem destas técnicas de fabricação é a rápida produção de produtos personalizáveis com geometrias complexas. Assim, a MA tornou-se uma tendência na engenharia biomédica logo após o seu desenvolvimento, justamente por possibilitar a confecção com customização em massa, sob baixo custo, fornecimento a partir de demanda, dosagens individualizadas e flexibilidade para combinação de fármacos. A aplicação desse método abrange desde dispositivos de liberação, implantes, próteses até medicamentos. Os sistemas de liberação, particularmente, podem ser fabricados com diversos tamanhos, formatos, materiais e combinação de drogas (BORANDEH, *et al.*, 2021; LI, *et al.*, 2020; SANDLER e PREIS, 2016; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

No setor biomédico, existem diferentes metodologias que são utilizadas e são caracterizadas como parte da manufatura aditiva. Dentre elas, destacam-se: jateamento de ligante; sinterização seletiva a laser (SLS); estereolitografia (SLA); impressão 3D a jato de tinta; pressão assistida por micro seringas (PAM) e *fused deposition model* (FDM), ou fabricação com filamento fundido (FFF). Essa última, como o nome sugere, necessita de filamentos que podem ser produzidos pela técnica de *hot-melting extrusion* (HME) (BORANDEH, *et al.*, 2021; LI, *et al.*, 2020; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

2.5.1 Fused Deposition Model (FDM)

A modelagem por deposição de material fundido (FDM) é uma técnica da manufatura aditiva de baixo custo e fácil acesso, por ter código aberto. O mecanismo do FDM consiste em extrusar um filamento de polímero termoplástico, depositando-o camada a camada, através de um bico aquecido, que é capaz de se mover nas direções x e y. Esta tecnologia atraiu a atenção das áreas médica e farmacêutica pela sua capacidade de personalização e flexibilidade de combinação de medicamentos e cinéticas de liberação, sendo superior aos métodos convencionais (BORANDEH, *et al.*, 2021; DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

O procedimento básico da impressão por filamento compõe-se dos estágios de *design* digital do sistema, conversão do arquivo para a configuração da impressora, ajuste dos parâmetros de impressão, formulação e fabricação do filamento (HME) e por fim, a impressão e avaliação do produto. Na Figura 14 é possível visualizar de forma resumida o processo de FDM, incluindo a metodologia de HME na produção do material. (BORANDEH, *et al.*, 2021; DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

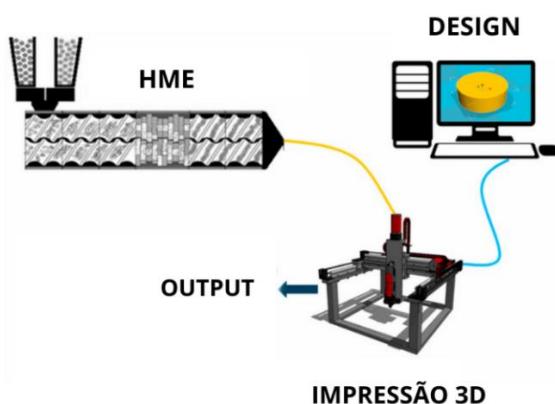


Figura 14: HME e FDM em um processo contínuo.

Fonte: Adaptado de TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI (2018).

A primeira etapa é crítica para estruturar as propriedades do dispositivo. Nesta fase, com o auxílio de softwares (CAD, Microsoft 3D builder, Tinkercard, entre outros) é possível projetar dispositivos com diferentes níveis de porosidade e formatos (cápsulas, filmes, implantes e outras formas complexas). Após este ponto, converte-se o projeto para o formato STL, utilizado pelas impressoras desta categoria (DUMPA, *et al.*, 2021).

No ajuste de parâmetros, é necessário traçar os comandos que serão seguidos na deposição camada a camada pela impressora. Dado a importância dessa etapa, Cardoso e colaboradores (2020) utilizaram a técnica de interpolação de spline de placa fina para otimização desses critérios e propriedades do PLA.

As condições principais a serem destacadas são: temperatura de extrusão, que visa evitar degradação e proporcionar a melhor circunstância para manter um fluxo

ideal; temperatura da base, essencial para manter a aderência e promover construção de camadas; velocidade de impressão, relacionada à qualidade da impressão (quanto maior a velocidade de impressão menor é a qualidade); desenhos de padronagem de impressão e enchimentos; espessura das camadas internas e externas, e altura das camadas. Vale pontuar que o objetivo é que as camadas do material fundido sejam quase imediatamente solidificadas e depositadas de forma a aderir às camadas já resfriadas, repetindo este ciclo até o objeto desejado ser formado (BORANDEH, *et al.*, 2021; DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

Os materiais mais empregados como filamentos são a acrilonitrila butadieno estireno (ABS) e o poli (ácido lático) (PLA), pois apresentam boas propriedades mecânicas e altas temperaturas de *melting*. Além disso, em algumas aplicações, são preteríveis aos metais, por serem fortes e leves. Nos filamentos alimentados também existe a possibilidade de esses serem impregnados com fármacos no processo de HME (BORANDEH, *et al.*, 2021; DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

Como citado anteriormente, a fase final de impressão consiste na formação de um objeto a partir de um filamento fundido atravessando o bico que se movimenta nas direções x e y. É válido frisar que a altura da plataforma e o local do bocal na direção z são parâmetros que auxiliam na deposição das camadas subsequentes. A Figura 15 apresenta o esquema simplificado de uma impressora FDM (BORANDEH, *et al.*, 2021; DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

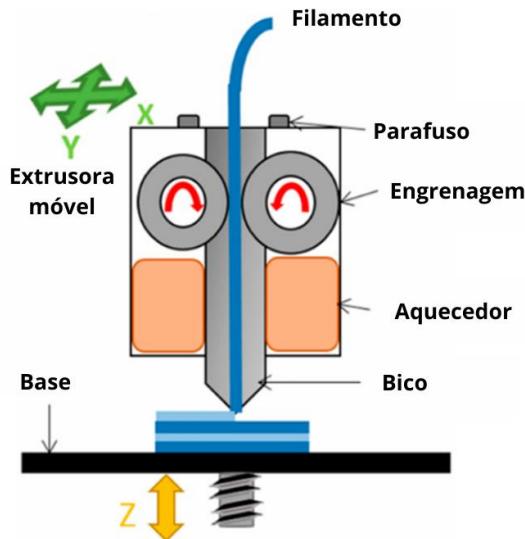


Figura 15: Representação esquemática dos componentes de uma impressora FDM.

Fonte: Adaptado de TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI (2018).

2.6 POLI (ÁCIDO LÁTICO) (PLA)

Conforme mencionado acima, o poli (ácido lático) é um dos polímeros termoplásticos mais utilizados na técnica de FDM. Isso explica-se pelas características mecânicas, reológicas e aderentes que os filamentos desse composto apresentam, tornando-os ideais até mesmo para o material ser referência para prever a adequação de polímeros na indústria farmacêutica para impressão (DUMPA, *et al.*, 2021; TAN, MANIRUZZAMAN e NOKHODCHI, 2018).

O PLA é um poliéster alifático e hidrofóbico que foi descoberto por um químico sueco em meados de 1700. A primeira aplicação biomédica desse material foi no reparo de fraturas nas mandíbulas de cachorro, demonstrando a alta resistência que esse polímero possui. Logo, o PLA é amplamente empregado na biomedicina, pois, além de apresentar ótimas propriedades mecânicas, é não tóxico, demonstra excelente biocompatibilidade e é biodegradável (LEE, YUN e PARK, 2016; TYLER, *et al.*, 2016; ZHOU, *et al.*, 2024).

Este termoplástico é produzido através da fermentação e polimerização de amidos derivados e por esse motivo é acessível e de baixo custo. Além disso, esse polímero dispõe de dois isômeros ópticos, *D*-ácido lático e *L*-ácido lático, o que

possibilita quatro formas do PLA: poli (*L*-ácido lático) (PLLA), poli (*D*-ácido lático) (PDLA), poli (*D,L*-ácido lático) (PDLLA) e o *meso*-poli (ácido lático). A Figura 16 ilustra os três primeiros. Na síntese, as propriedades físicas e de biodegradabilidade podem ser reguladas, pois é possível manufaturar esse composto com diferentes pesos moleculares e diferentes proporções de *L*:*D*. (BORANDEH, *et al.*, 2021; TYLER, *et al.*, 2016, ZHOU, *et al.*, 2024).

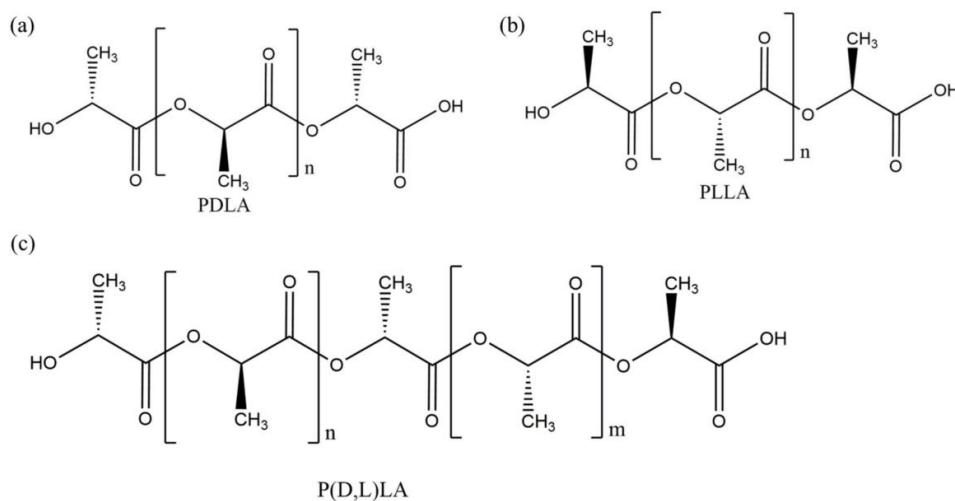


Figura 16: Moléculas distintas de PLA: a) poli (*D*-ácido lático), b) poli (*L*-ácido lático) e c) poli (*D,L*-ácido lático).

Fonte: GROSVENOR, *et al.* (2022).

Dentre as variações, o PLLA e o PDLLA são os mais estudados para emprego no setor farmacêutico. O primeiro é semicristalino, transparente e duro, pode ser obtido a partir do *L*-láctico e tem ponto de *melting* (T_m) igual a 175°C, temperatura de transição vítreia (T_g) entre 60-65°C e resistência de 4,8 GPa. Em contrapartida, o PDLLA é um polímero amorfó, sem ponto de *melting*, bem menos resistente à tensão do que o PLLA (1,9 GPa) e T_g na faixa de 55-60°C (BORANDEH, *et al.*, 2021; TYLER, *et al.*, 2016). Ainda no contexto de propriedades, a Tabela 5 apresenta algumas características do PLA.

Tabela 5: Propriedades do PLA.

Propriedade	Unidade	Valor
-------------	---------	-------

T_g	°C	57-60
T_m	°C	160
Índice de fluxo de <i>melt</i>	g/ 10 min	10
Densidade em solução	Cal ^{0,5} .cm ^{-1,5}	10,25 ± 0,16
pka	-	3,1
Módulo de Young	MPa	≈ 1280
Resistência	MPa	≈ 59

Fonte: Adaptado de EBRAHIMI e DANA (2022); FARAH, ANDERSON e LANGER (2016); SIPARSKY, VOORHEES e MIAO (1998).

Vale destacar também que a taxa de degradação do PLA depende do seu grau de cristalinidade. Ademais, esse polímero é moldável permitindo diversas possibilidades para o seu emprego, além da forma de filamento, tais como: *scaffolds*, cápsulas, filmes, nanopartículas, micelas e micro agulhas (LEE, YUN e PARK, 2016; TYLER, et al., 2016).

Por fim, no âmbito da impressão 3D, cabe citar o estudo de Mei et al. (2021) que desenvolveram um *scaffold* através de FDM a partir de um filamento de PLA com metotrexato (MTX), agente quimioterápico, incorporado. A pesquisa conclui que os *scaffolds* produziram foram capazes de suprimir o crescimento tumoral e não mostraram claros efeitos colaterais aos demais órgãos (MEI, et al., 2021).

2.7 QUITOSANA (QUI)

A quitosana é um biopolímero natural que pode ser encontrada nas paredes celulares dos fungos da classe *Zygomycetes*. No entanto, o meio mais comum de obter-se esse polissacarídeo é através da desacetilação da quitina, o segundo biopolímero mais abundante, e é extraído das cascas de crustáceos, insetos e dos exoesqueletos de invertebrados (SHARIATINIA, 2021; ZAIKI, ISKANDAR, WONG, 2023). A Figura 17 expõe as substâncias citadas e a transformação da quitina em quitosana.

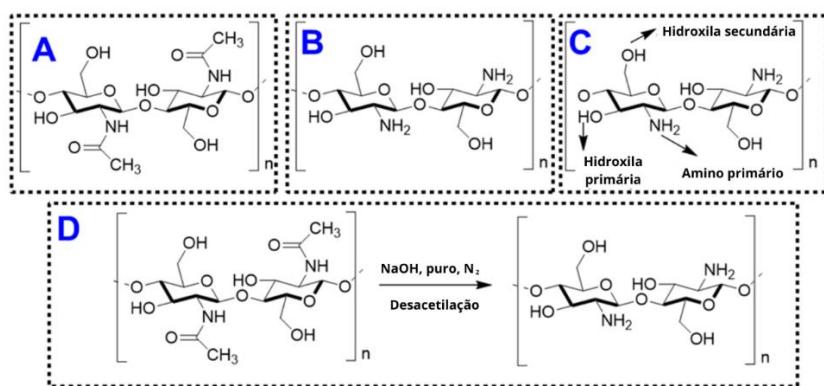


Figura 17: Estruturas químicas A) quitina e B) quitosana; C) grupos funcionais da quitosana e D) conversão química da quitina para quitosana.

Fonte: Adaptado de SAHDEV, *et al.* (2022).

As aplicações da quitosana são amplas e abrangem as indústrias alimentícia (usada como aditivo alimentar), de higiene e cuidados pessoais, cosmética, agrícola, agroquímica, têxtil e papeleira, além de ser empregada também na área biomédica. Neste último campo, a atenção volta-se para as áreas: farmacêutica, engenharia tecidual, cicatrização de feridas, biossensores, impressão 3D e sistemas de liberação. Na Figura 18 pode-se visualizar alguma dessas aplicações (CALIXTO, *et al.*, 2019; SAHDEV, *et al.*, 2022; ZAIKI, ISKANDAR, WONG, 2023).



Figura 18: Exemplos de aplicações biomédicas da quitosana.

Fonte: Adaptado de ZAIKI, ISKANDAR, WONG (2023).

Estas diversas utilidades devem-se às características vantajosas que este polímero possui, tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade e sensibilidade a mudanças no pH. A quitosana apresenta propriedades: hemostática, antibacteriana, antioxidante e antifúngica. Além disso, esse polissacarídeo também é capaz de aumentar o tempo de contato com o local de absorção, pois demonstra qualidade adesiva, e é considerado um material analgésico. Vale salientar que por consequência do seu grupo amino carregado positivamente, e em função do seu peso molecular e grau de desacetilação, com mínima toxicidade em direção às células não cancerígenas, a quitosana é conhecida por exercer atividade antitumoral (CALIXTO, *et al.*, 2019; SHARIATINIA, 2021; ZAIKI, ISKANDAR, WONG, 2023).

Ainda neste contexto, este polímero natural detém de pKa igual a 6,5, sendo então solúvel na maioria das soluções aquosas ácidas, por exemplo: ácido acético, ácido fórmico, ácido lático e ácido cítrico, e em solventes como o dimetilsulfóxido e o ácido p-toluenossulfônico. Cabe pontuar também que a quitosana apresenta degradação térmica na faixa de 230°C - 400°C (ZAIKI, ISKANDAR, WONG, 2023; ZAWADZKI, KACZMAREK, 2010).

Os tipos mais comuns de sistemas de liberação que são produzidos a partir deste polissacarídeo são as microesferas, nanopartículas, hidrogéis, nanogéis e filmes. A quitosana é capaz de formar de maneira excelente filmes, os quais podem ser utilizados em diversas aplicações como transporte de diferentes agentes, desde macromoléculas (por exemplo proteínas e ácidos nucléicos) até pequenas moléculas (como antibióticos). No geral, a metodologia mais empregada para a produção desses filmes é a de *solvent casting*. Este método é, provavelmente, o mais simples para a produção de substratos de quitosana simples e estruturados. Nesta técnica, é realizada uma solução, com o polímero natural e o solvente adequado, para então ser vertida no molde desejado. Depois, aguarda-se até que todo solvente seja evaporado do filme e assim, esse poderá ser removido do molde (CALIXTO, *et al.*, 2019; SAHDEV, *et al.*, 2022; DE MASI, *et al.*, 2019).

Alguns estudos que empregam a quitosana em dispositivos de liberação de 6-MP podem ser citados. Kumar *et al.* (2015) prepararam nanopartículas de quitosana

anfifílicas modificadas com 6-MP a partir de troca iônica para entrega intracelular e tratamento quimioterápico. Enquanto, Dorniani *et al.* (2013) desenvolveram nanopartículas de óxido de ferro na forma de magnetita revestidas com quitosana e 6-mercaptopurina preparadas pelo método de irradiação ultrassônica para tratamento de câncer por meio oral.

2.8 QUITOSANA, POLI(ÁCIDO LÁTICO) E 6-MERCAPTOPURINA

A combinação destes elementos tem por objetivo o desenvolvimento de um sistema de liberação resistente, responsivo e eficaz para a 6-mercaptopurina. O poli (ácido lático) por apresentar boas propriedades mecânicas, hidrofobicidade e ser amplamente utilizado na técnica de FDM, torna-se uma alternativa promissora para atuar como suporte e barreira difusional do sistema a ser produzido.

Além disso, a quitosana, que é considerada hidrofílica e antitumoral, propicia o aumento da solubilidade da 6-MP. Para mais, por protonar seu grupo amino em meios ácidos, a quitosana tende a solubilizar mais no microambiente tumoral e do que no meio fisiológico (pH = 7,2), conferindo característica responsiva ao sistema de liberação. A Figura 19 resume a importância dos polímeros na construção do dispositivo de liberação responsivo.

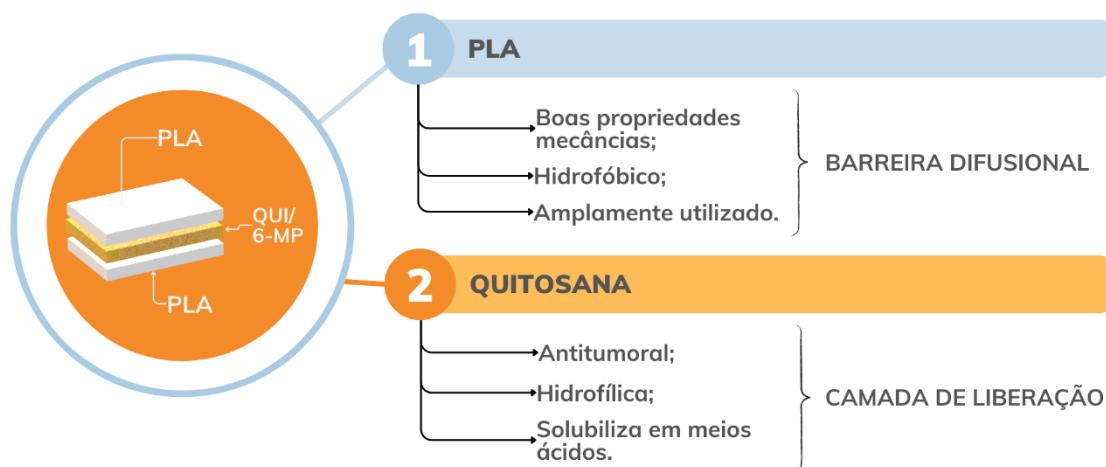


Figura 19: Motivação na escolha dos polímeros.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Por fim, é válido mencionar que pesquisas as quais trabalhavam com os três componentes de interesse deste estudo não foram encontradas na literatura. Pode-se citar, no entanto, o estudo de Liu e colaboradores (2019) que produziram diferentes camadas de fibras, por *eletrospinning*, para a liberação de 3 drogas citotóxicas (fluorouracil, doxorrubicina e paclitaxel) simultaneamente. Duas dessas camadas eram compósitos de PLA/quitosana e os resultados mostraram uma liberação sincronizada dos medicamentos promissora para a combinação de terapias (LIU, *et al.*, 2019).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste tópico serão abordados os materiais, os equipamentos e a metodologia realizada neste trabalho. A Figura 20 apresenta os passos da produção e análise do dispositivo de liberação de PLA/QUI/6-MP.



Figura 20: Visão geral dos procedimentos realizados.

Fonte: Autoria Própria (2024).

3.1 PRODUÇÃO DO SUPORTE DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) POR IMPRESSÃO 3D

Com o objetivo de projetar um dispositivo de liberação que dispõe de peças com porosidades distintas, selecionou-se a técnica de fabricação por deposição de material fundido (FDM) para fabricação dos suportes desse sistema. Assim, como mencionado anteriormente, a fim de realizar a fabricação, inicialmente é necessário modelar o formato desejado em um *software*. No estudo atual o programa Tinkercard foi utilizado.

Os objetivos para o design do sistema foram: projetar uma peça vazada (Parte A) que deve atuar como camada superior; delinear uma base (Parte B) para o

dispositivo, a qual necessitava ser sólida, para funcionar como barreira difusional, e com uma cavidade para acomodar a solução contendo o fármaco posteriormente; projetar de maneira que ambas as partes são acopladas por encaixe, sem necessidade de temperatura ou prensa.

Desta forma, diferentes *designs* foram projetados com o objetivo de alcançar uma liberação unidirecional com perfil personalizável através de poros. Inicialmente, modelou-se no software *Tinkercad* um dispositivo quadrado 40 x 40 mm com parte inferior de espessura de 3 mm e depressão de 1,75 mm de profundidade, e a parte superior dispõe de dimensões de 32 x 32 mm, espessura de 1,75 mm e 25 poros nas medidas de 4 x 4 mm, como mostrado na Figura 21.

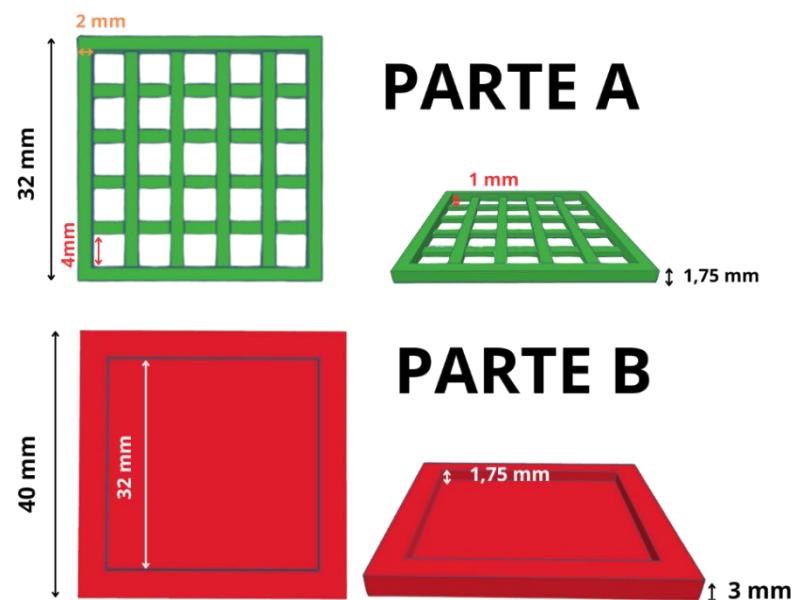


Figura 21: Modelo de dispositivo quadrado.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Em contrapartida, o modelo escolhido consistiu em um sistema circular com diâmetro de 25 mm. A parte B possui espessura externa de 1,10 mm e interna de 1,0 mm, enquanto a peça superior apresenta diâmetro de 20 mm, espessura de 0,75 mm e 16 fendas quadradas nas medidas aproximadas de 2,7 x 2,7 mm, como exposto na Figura 22.

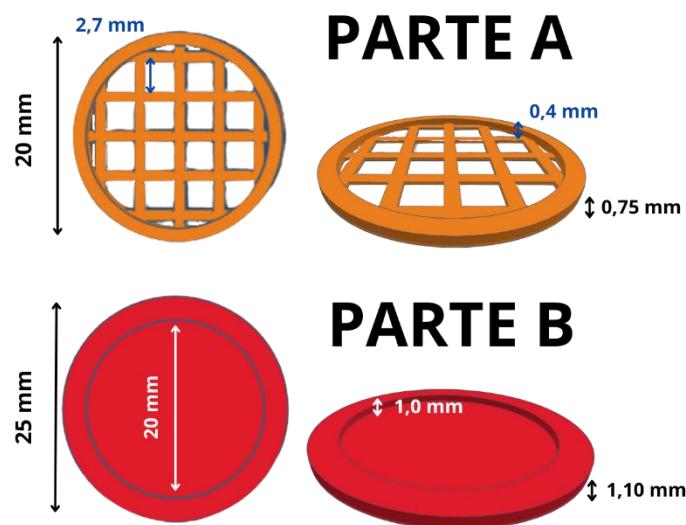


Figura 22: Modelo de dispositivo circular.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Uma vez com os *designs* delineados, utilizou-se o software *Simplify 3D* para transformar o arquivo de *.gcode* para *.STL*, formato de arquivo aceito pela impressora. Além disso, esse estágio permite que sejam inseridos os parâmetros de operação de impressão, tais como: temperatura da base, temperatura de extrusão, porcentagem de deposição e tamanho da primeira camada, qualidade/espessura das camadas e resfriamento. Nesse processo se estabeleceram diferentes parâmetros para cada parte do dispositivo para atender melhor as particularidades de cada peça, visto que a parte A (face de liberação) deve ser o mais fina possível e a parte B necessita ser robusta o suficiente para acomodar a solução e agir como barreira difusional no sistema de liberação final. A Tabela 6 mostra as especificações empregadas na pesquisa para ambas as peças impressas.

Tabela 6: Parâmetros estabelecidos para a impressão.

Parâmetros	Especificações Parte A	Especificações Parte B
Temperatura da base	55°C	60°C
Temperatura da extrusora	210°C	220°C

Parâmetros	Especificações Parte A	Especificações Parte B
Porcentagem de deposição da primeira camada	600%	800%
Tamanho da primeira camada	100%	110%
Espressura das camadas	0,05 mm (alta resolução)	0,05 mm (alta resolução)
Resfriamento com ventoinha	A cada 7 camadas, 60% da velocidade	A cada 7 camadas, 60% da velocidade

Fonte: Autoria Própria (2024).

Essas premissas também influenciaram na temperatura da base da impressora e da extrusão do filamento, dado que em decorrência da parte B dispor de mais camadas, foi necessário aumentar as temperaturas para possibilitar a impressão com alta qualidade. Em contrapartida, notou-se que as temperaturas elevadas deformavam a peça A. A Tabela 7 apresenta os tamanhos finais das peças, quantidade de camadas e tempo para impressão. As peças produzidas foram acopladas, armazenadas e nomeadas como DISPPLA.

Tabela 7: Informações das peças impressas.

Dados	Parte A	Parte B
Espessura da primeira camada	0,3 mm	0,4 mm
Tamanho da primeira camada	20 mm	27,5 mm
Quantidade de camadas necessárias para impressão	9	15
Tempo de impressão	1 minuto	2 minutos
Tamanho externo projetado	20 mm de diâmetro e 0,75 mm de espessura	25 mm de diâmetro e 1,10 mm de espessura
Tamanho externo final impresso	20 mm de diâmetro e 1,05 mm de espessura	27,5 mm de diâmetro e 1,5 mm de espessura (sendo 1,1 mm de 25 mm de diâmetro)

Fonte: Autoria Própria (2024).

Ao converter o desenho para arquivo de impressão, utilizando o software Simplify 3D e os parâmetros sugeridos pela ferramenta, seguiu-se a produção das peças. Assim, como mencionado em tópicos anteriores, a metodologia FDM em diversos casos é agrupada ao método de HME. Na presente pesquisa, entretanto, utilizou-se o filamento de poli (ácido lático) natural transparente da empresa 3D Fila. O filamento utilizado, de origem natural (como amido de milho, beterraba, café, entre outras matérias-primas), tem diâmetro aproximado de 1,75 mm e densidade de 1,23 g/cm³ (3DFILA, 2024).

A partir do filamento e especificações determinadas é possível imprimir as partes superior e inferior do sistema de liberação. A impressora adotada foi o modelo Sethi3D S4X, da Sethi3D, presente no Laboratório de Desenvolvimento de Materiais (LADEMAT), Seropédica, Rio de Janeiro. A Figura 23 apresenta essa impressora 3D. Vale pontuar que após a impressão esperou-se alguns minutos, aproximadamente 10 minutos, para que fosse possível retirar o objeto impresso sem causar danos, com o auxílio de uma espátula.



Figura 23: Impressora 3D Sethi3D S4X.

Fonte: Adaptado de SETHI3D (2024).

Por fim, também se produziu peças similares ao sistema DISPPLA, mas adaptadas para o ensaio preliminar de permeabilidade, como apresentado na Figura 24. Os parâmetros de impressão foram os mesmos empregados na metodologia anterior (Tabela 6), visando resguardar ao máximo a semelhança entre os sistemas. Os dispositivos para esses experimentos foram nomeados de DISPPLAT.

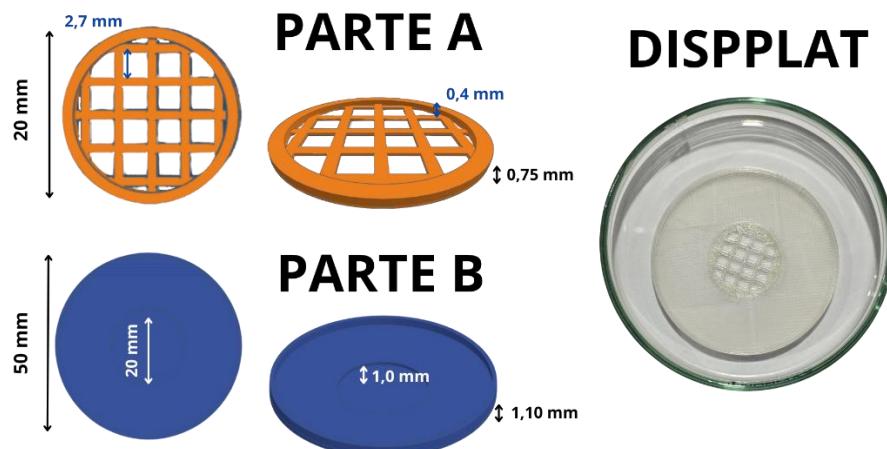


Figura 24: Dispositivo DISPLAT desenhado e impresso.

Fonte: Autoria Própria (2024).

3.2 PRODUÇÃO DA SOLUÇÃO DE MERCAPTOPURINA/ÁCIDO ACÉTICO

Este procedimento corresponde a primeira etapa da técnica amplamente utilizada de solvent casting, na qual o polímero e o medicamento são solubilizados em um solvente volátil, ou água, para então obter-se uma solução estável. Essa solução, por sua vez, necessita ter certa viscosidade e é vertida em um suporte para que ocorra a evaporação total do solvente e assim a formação do filme homogêneo (BORBOLLA-JIMÉNEZ, PEÑA-CORONA, *et al.*, 1914; SIEMANN, 2005). Desta forma, o processo de fabricação da solução de quitosana/6-mercaptopurina pode ser observado na Figura 25, efetuada na ferramenta Bizagi Modeler. Essa metodologia inicia-se com a separação de todas as matérias-primas que serão utilizadas: 6-mercaptopurina (6-mercaptopurina hidratada 99%, Sigma-Aldrich, 852678-5G-A), quitosana (alto peso molecular, Sigma-Aldrich, 419419-50G) e ácido acético (ácido acético glacial, Vetec, V000141-1L) na proporção de 1% (v/v), diluído em água destilada. Para produzir a solução de ácido acético 1% (v/v) adicionou-se 5mL de ácido acético glacial 1mol/L, com uma pipeta de vidro volumétrica, em um balão volumétrico de 500 mL. Depois

completou-se com água destilada até o menisco e agitou-se para garantir a homogeneidade da solução.

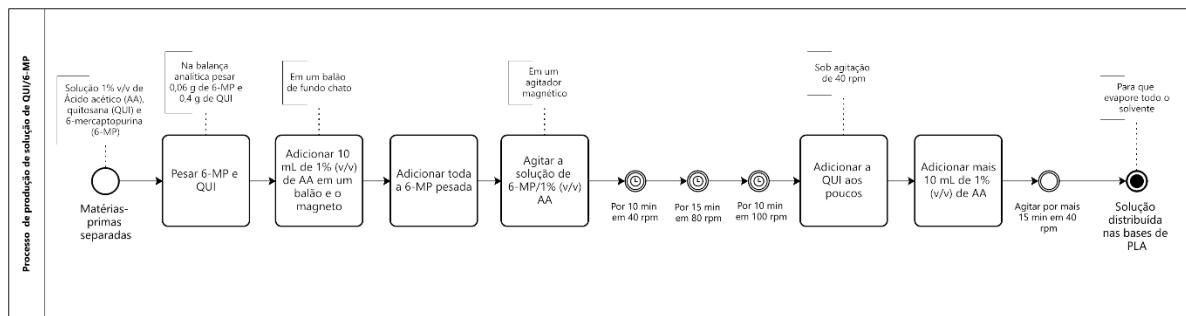


Figura 25: Fluxograma do processo de produção da solução de 6-MP/QUI/AA.

Fonte: Autoria Própria (2024).

O próximo estágio consistiu na pesagem em balança analítica de 0,06 g de 6-mercaptopurina, próximo a dosagem de um comprimido de 6-mercaptopurina (50 mg), e 0,4 g de quitosana, visando produzir uma solução 2%(p/v) conhecida na literatura como a proporção suficiente para a solubilização e obtenção de uma matriz resistente (DE MASI, *et al.*, 2019; IOELOVICH, 2014; RINAUDO, 2006). Com os materiais pesados, seguiu-se para a manufatura da solução em um balão de fundo chato, com um magneto, posicionado em um agitador magnético. No balão foi acrescido 10 mL da solução de 1% (v/v) de ácido acético, usando uma pipeta volumétrica, e toda a 6-MP pesada. Esse líquido foi agitado por 35 minutos sob crescente rpm, até torna-se uma solução uniforme.

Na etapa seguinte, adicionou-se aos poucos a quitosana sob agitação de 40 rpm e então acrescentou-se mais 10 mL da solução de ácido acético para propiciar um fluido mais líquido. Esse produto foi agitado por mais 15 minutos em 40 rpm para, posteriormente, ser despejado nas bases (Parte B) de PLA produzidas por impressão 3D.

Paralelamente, visando investigar melhor a matriz de 6-MP/QUI, preparou-se filmes de 6-MP/QUI (F26MP) e quitosana (F2QUI) fora dos sistemas de liberação por técnicas similares as estabelecidas. Com o propósito de produzir os filmes, 3 mL do fluido de 6-MP/QUI/AA, bem como 3 mL de uma solução de 2% (p/v) de quitosana e

ácido acético a 1% (v/v), foram despejados, separadamente, em formas de silicone e aguardou-se os 7 dias necessários para evaporação do solvente.

3.3 MONTAGEM DO DISPOSITIVO

Com todos os elementos do dispositivo preparados foi possível realizar a fase final de produção. Para tal, as peças impressas, Parte A e Parte B, foram encaixadas, e, então, a solução de 6-MP/QUI/AA foi inserida, processo representado pela Figura 26.

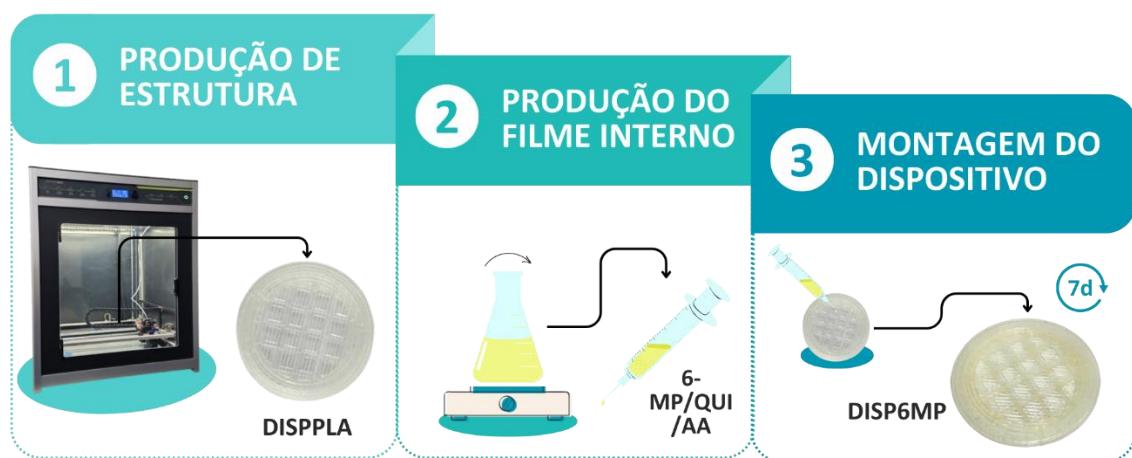


Figura 26: Processo de produção do dispositivo.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Em vista de assegurar a padronização do processo, foi realizada a pesagem da massa depositada em cada matriz, aproximadamente 0,21 g, que correspondente a cerca de 0,13 mL de solução por suporte de PLA.

O fluido foi vertido com o auxílio de uma seringa estéril descartável de 3mL e agulha de 7 mm de diâmetro, garantindo que uma camada uniforme fosse formada abaixo da parte superior do sistema e moldada pela parte inferior. Por fim, aguardou-se até que todo o solvente fosse evaporado (período de 7 dias) o que ocasionou a disposição de um filme de 6-MP/QUI sobre a superfície de PLA, sistema nomeado de DISP6MP. O dispositivo DISP6MP também foi preenchido com a solução de 6-

MP/QUI/AA pela metodologia citada, fabricando uma camada de 6-MP/QUI no sistema (nomeado posteriormente de DISPLAT6MP).

Ademais, produziu-se dispositivos com uma segunda camada de 6-MP/QUI com o objetivo de analisar a possibilidade de aumentar a dose contida nos sistemas. Para tal, após os 7 dias do método anterior, adicionou-se mais 0,21 g da solução de 6-MP/QUI/AA no DISP6MP, novamente com auxílio de uma seringa. Em seguida, o dispositivo fabricado passou pelo intervalo de 7 dias de secagem, formando-se assim, ao final, o segundo filme de 6-MP/QUI. Esse sistema de liberação foi nomeado de DISP26MP.

3.4 CARACTERIZAÇÕES

Neste tópico serão abordadas as análises efetuadas nos materiais puros (quitosana, 6-mercaptopurina e filamento de PLA) e nos materiais produzidos (dispositivos QUI/6-MP/PLA e filmes de QUI e QUI/6-MP) a fim de avaliar a morfologia, cristalinidade e as ligações químicas desses elementos.

3.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)

Para avaliar a morfologia dos materiais puros (quitosana e 6-MP em forma de pó e filamento de PLA), do suporte de PLA (DISPPLA), das matrizes de QUI e QUI/6-MP e dos dispositivos QUI/6-MP/PLA (antes e após os ensaios de liberação), amostras desses elementos foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura (FEI, modelo Helios NanoLab G3 CX, no Centro de Caracterização de Nanotecnologia – Instituto Nacional de Tecnologia - INT, Rio de Janeiro) mostrado na Figura 27. Também foram realizadas análises de MEV no Núcleo Multusuário de Microscopia (TESCAN, modelo VEGA3), localizado na COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro.

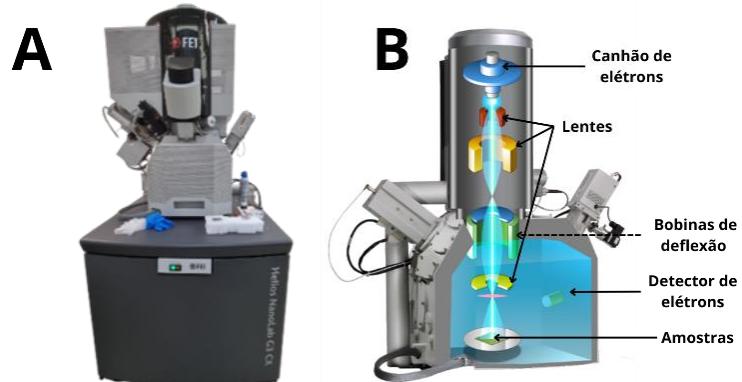


Figura 27: Microscopia Eletrônica de Varredura (A) FEI - modelo Helios NanoLab G3 CX, INT/RJ e (B) esquema da caracterização.

Fonte: Adaptado de SEM Basics (2024).

A Microscopia Eletrônica de Varredura possibilita o estudo da superfície de amostras ao alvejá-las com um feixe de elétrons focalizado. Os elétrons resultantes dessa interação, elétrons secundários (SE) ou elétrons retroespalhados (BSE), são digitalizados e interpretados, para então forma-se uma imagem do material. Os SE, que possuem energias baixas, oferecem alta resolução e contraste topográfico, enquanto os BSE são utilizados para fornecer contraste baseado no núcleo atômico da amostra (THERMOSCIENTIFIC, 2024; URAL, 2021).

A análise de espectroscopia de Energia Dispersiva permite uma investigação qualitativa, ao identificar quais elementos estão presente na amostra, e quantitativa, pois determina a quantidade de cada elemento (MOHAMMED e ABDULLAH, 2018). Visto que apenas o fármaco possui o heteroátomo enxofre (S), se diferenciando dos demais materiais utilizados, esta técnica é fundamental para a confirmação do fármaco nos elementos produzidos.

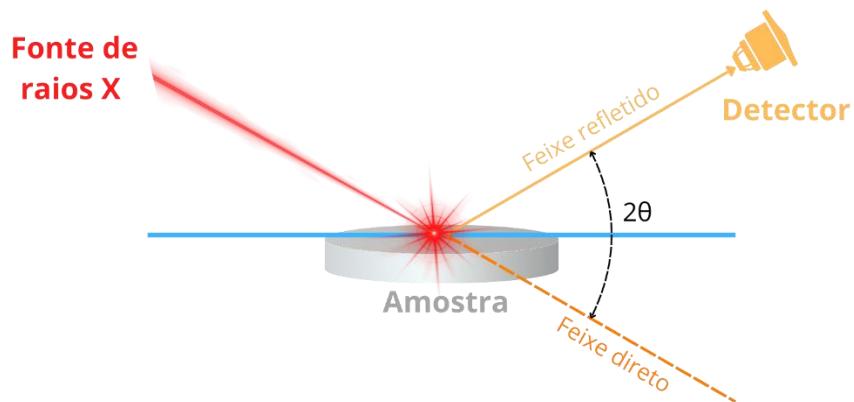
Cabe ressaltar que, para tal estudo, todas as amostras foram previamente recobertas com uma fina camada de platina, aproximadamente 20 nm. A metalização é necessária para tornar as superfícies poliméricas condutoras e permitir que o feixe de elétrons varra toda a amostra. O procedimento durou 4 minutos e foi operado em 20 miliamperes no metalizador Emitech K550X (Centro de Caracterização de Nanotecnologia – INT, Rio de Janeiro). Na UFRJ, o revestimento durou 3 minutos e

elemento utilizado foi o ouro (metalizador Denton Vacuum Desk V, Núcleo Múltiusuário de Microscopia – COPPE, Rio de Janeiro).

3.4.2 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X é uma técnica de caracterização que estima a regularidade da estrutura dos materiais ao medir a difração de raios X dos planos dos átomos presentes na amostra (Figura 28). Portanto, é uma metodologia importante para compreender a cristalinidade dos polímeros antes e depois de procedimentos, além de indicar o polimorfismo do fármaco, o qual influencia na sua biodisponibilidade (CANEVAROLO JUNIOR, 2004; RAZA et al., 2014; ZIELINSKA, et al., 2018 apud XU, RIIKONEN e LEHTO, 2013).

Figura 28: Esquema de funcionamento do DRX.



Fonte: Autoria Própria (2024).

Para tal estudo, amostras dos materiais puros (QUI, 6-MP e filamento de PLA), da matriz impressa de PLA, dos filmes de QUI e QUI/6-MP e dos dispositivos QUI/6-MP/PLA (antes e após os ensaios de liberação), foram analisados no difratômetro de raios X (modelo D8 Discover Bruker, localizado no Departamento de Engenharia Química e de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC-Rio) operado na faixa de 2theta de 5° a 60°, no tempo de 2 s por passo e incremento de 0,02°.

3.4.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A partir da análise de FTIR é possível determinar se ocorrem interações entre o medicamento e o sistema de liberação, e, caso ocorram, quais são essas interações. A técnica de FTIR realiza esse estudo ao receber um espectro infravermelho de absorção ou emissão de um sólido, líquido ou gás, coletando dados em alta resolução espectral em uma ampla faixa. Essas informações são então comparadas com os bancos de dados espectrais de bandas químicas específicas (ASENSIO, MOYA, *et al.*, 2009; ZIELINSKA, *et al.*, 2018 *apud* JARVIS, BARNES e PRESTIDGE, 2011).

Assim, visto a importância dessa técnica, realizou-se a Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier das amostras dos materiais puros (QUI, 6-MP e filamento de PLA), da matriz impressa de PLA, dos filmes de QUI e QUI/6-MP e dos dispositivos QUI/6-MP/PLA no Espectrômetro FT-Raman MultiRAM Bruker, localizado na Central Analítica Multusuário/UFRRJ.

3.5 ANÁLISES DO PERFIL DE LIBERAÇÃO DOS DISPOSITIVOS

Nesta seção serão apresentados os métodos empregados na avaliação do comportamento de liberação dos dispositivos de única camada produzidos (DISP6MP), além das metodologias utilizadas na quantificação da 6-MP liberada em diferentes meios.

3.5.1 Curva de calibração da 6-mercaptopurina

A fim de quantificar a concentração do fármaco (6-MP) liberada nos ensaios, a princípio realizou-se a curva de calibração do medicamento em solução tampão de fosfato de pH igual a 7,2 (PBS72). Assim, uma solução mãe de 0,0002 g/mL 6-MP/PBS foi produzida ao transferir 0,01g de 6-MP para um balão volumétrico de 50 mL, completá-lo com a solução tampão e agitar-se delicadamente. A partir dessa

mistura, fabricou-se as seguintes diluições: 2×10^{-5} , 4×10^{-6} , 2×10^{-6} , 1×10^{-6} , 8×10^{-7} , 4×10^{-7} , 2×10^{-7} e 1×10^{-7} g/mL de 6MP/PBS72. Essas soluções foram analisadas por UV-vis (UV-Vis Spectrophotometer Kasuaki, modelo IL-593-S, Laboratório de Desenvolvimento de Materiais - LADEMAT) com cubetas de quartzo na faixa de 190 – 500 nm.

É válido frisar que a cada diluição era realizada a leitura no UV-vis para assegurar a presença do fármaco. As análises foram feitas em triplicata e todas as amostras retomavam ao respectivo balão volumétrico e eram agitadas novamente, antes de realizar-se a leitura da réplica. Os dados coletados foram tratados no software OriginPro 2024b. Com as varreduras, foi possível identificar o ponto de maior absorvância da 6-mercaptopurina na solução tampão (PBS72).

Como na camada de liberação dos dispositivos existe a presença de dois compostos, quitosana e 6-MP, foi necessário verificar se o pico de maior absorvância da quitosana iria sobrepujar, ou influenciar, o ponto da 6-MP. Para essa finalidade, produziu-se uma solução de 0,00001 g/mL de QUI/PBS72 que foi posteriormente analisada no UV-vis, por técnica similar a citada. A avaliação ocorreu ao aplicar-se a primeira derivada nos espectros de 4×10^{-6} g/mL de 6-MP/PBS72 e da solução de QUI/PBS72. Essa metodologia permite a definição dos picos de maior absorvância (quando y se iguala a zero) mesmo que eles estejam próximos (ROJAS e OJEDA, 2009).

3.5.2 Ensaio de preliminar de permeabilidade

Esta análise tem por objetivo verificar a permeabilidade da parte B (parte inferior do dispositivo), confirmando preliminarmente que o sistema apenas libera o medicamento pela parte A (peça superior). A verificação é justificada pelo propósito da pesquisa em desenvolver um sistema de liberação destinado ao tratamento de tumores sólidos. Assim, se não houver passagem de elementos pela parte B, será mais uma maneira de assegurar que o sistema apenas liberará medicamento no microambiente tumoral, evitando dispersar a droga em ambientes saudáveis.

Para tal estudo, efetuou-se uma varredura no UV-vis (UV-Vis Spectrophotometer Kasuaki, modelo IL-593-S, LADEMAT) da solução de azul de metileno, de 190 a 800 nm, para identificar o ponto de maior absorvância.

Um aparato foi construído para que fluxos percorressem isoladamente cada face do dispositivo DISPPLAT, sendo o único ponto de encontro entre eles o próprio sistema. Logo, utilizou-se 200 mL de água destilada, 200 mL de solução de azul de metileno (0,00003 g/mL) disponibilizada pelo Laboratório de Engenharia Química (UFRRJ, RJ), dois recipientes de vidro, três bêqueres, duas mangueiras de 30 cm de silicone, silicone para aquário, duas bombas de aquário submersas (Sunsun HJ – 111) e duas cubetas de quartzo Kasvi de volume 3,5 mL, modelo K22-135-Q.

Na montagem do aparato, inicialmente, produziram-se os dispositivos adaptados (DISPPLAT6MP), para posteriormente acoplar os recipientes de vidro, já com as mangueiras conectadas, aos dois lados do sistema impresso. A vedação total do invento foi realizada com o auxílio do silicone para garantir o volume constante no procedimento. Cabe salientar que para certificar a separação dos fluxos, cada fluido detinha de seu próprio reservatório e contendo uma bomba. A solução de azul de metileno perpassava a parte A, enquanto a corrente na parte de B era, no primeiro momento, apenas de água destilada. A vazão de ambas as bombas foi de 88 L/hora. O procedimento é apresentado na Figura 29.

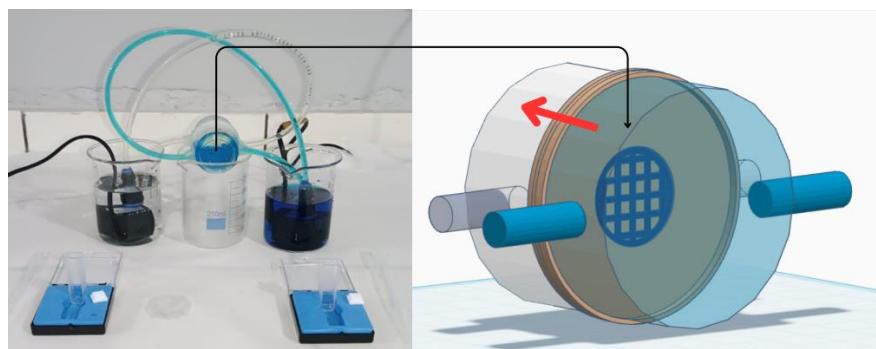


Figura 29: Ensaio preliminar de permeabilidade.

Fonte: Autoria Própria (2024).

O experimento ocorreu por 24 horas durante as quais alíquotas dos dois reservatórios foram analisadas por UV-vis nos tempos de 2, 4 e 24 horas, com o intuito

de averiguar a difusão de 6-MP ou da solução de azul de metíleno para a parte B. Após as análises, as amostras retornavam aos seus respectivos recipientes.

3.5.3 Estudo da liberação em diferentes meios

Os experimentos *in vitro* sucederam em diferentes soluções tampão de fosfato (nos pH: 7,2, 6,0, 6,4 e 5,0), da marca Dinâmica, visando compreender o comportamento dos sistemas de liberação fabricados frente à mudança de pH. Neles, os dispositivos (DISP6MP) foram dispostos em bêqueres de 250 mL, contendo 50 mL da solução tampão de interesse, na incubadora shaker (Incubadora Shaker Ethik, modelo 430-RDBP, LADEMAT-UFRRJ). Ademais, todos os ensaios foram executados em triplicata (e mais um sistema livre de fármaco) e sob temperatura fixada em 37°C e agitação constante de 70 rpm.

Para mais, os testes ocorreram por 24 horas, com análises realizadas nos minutos: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 e 1440. As alíquotas foram retiradas com o auxílio de pipetas de vidro, vertidas em cubetas de quartzo Kasvi de volume 3,5 mL, modelo K22-135-Q, e medidas no espectrofotômetro UV-Vis na faixa de 190 nm a 500 nm. Após as medições, as amostras eram retornadas aos respectivos bêqueres.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na produção dos dispositivos e das caracterizações dos materiais puros, dos sistemas de liberação fabricados (antes e após ensaios de liberação) e dos filmes produzidos de quitosana e QUI/6-MP. Além disso, são discutidos e interpretados os dados coletados nos ensaios de liberação e a capacidade responsiva dos dispositivos elaborados.

4.1 CARACTERIZAÇÕES DOS MATERIAIS PUROS

A caracterização dos materiais puros é essencial para o reconhecimento desses elementos nas amostras fabricadas. Neste contexto, o pó da 6-mercaptopurina, o pó de quitosana e o filamento de PLA foram avaliados por MEV, EDS, FTIR e DRX, e os resultados são relatados a seguir.

4.1.1 6-mercaptopurina

Inicialmente, com o objetivo de caracterizar a sua superfície, o fármaco foi investigado por MEV, em diferentes magnitudes, e EDS. A análise de MEV, apresentada na Figura 30, mostra partículas alongadas de diferentes tamanhos e formatos. Esses resultados são corroborados pelos estudos encontrados na literatura, como os trabalhos de Govindappa, *et al.* (2020) e Sierpe, *et al.* (2017).

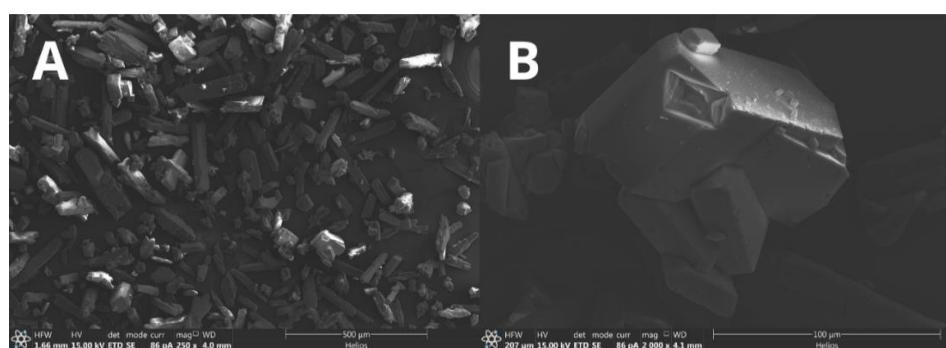


Figura 30: MEV do pó de 6-mercaptopurina (A) 250x e (B) 2000x.

Fonte: Autoria Própria (2024).

As figuras 31 e 32 exibem a análise de EDS realizada no medicamento e destaca a concentração de enxofre contida nas partículas, estando de acordo com a molécula da droga. A confirmação desse elemento químico na amostra é importante para averiguar a presença do fármaco nos materiais produzidos, pois esse é o único composto que contém a substância dentre os demais.

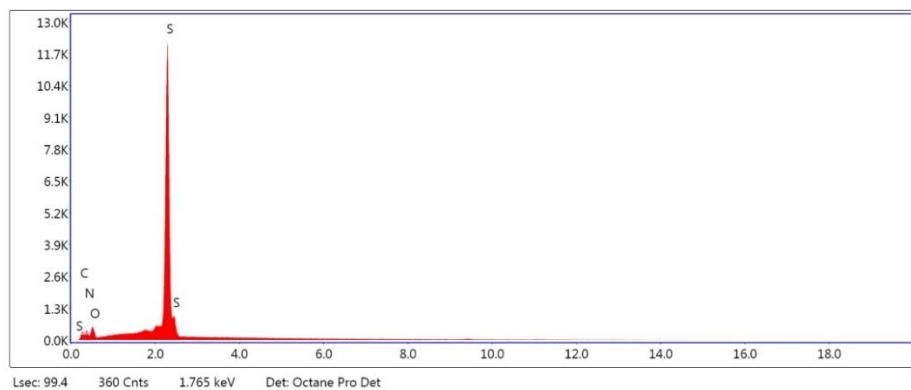


Figura 31: Espectro de EDS da 6-mercaptopurina.

Fonte: Autoria Própria (2024).

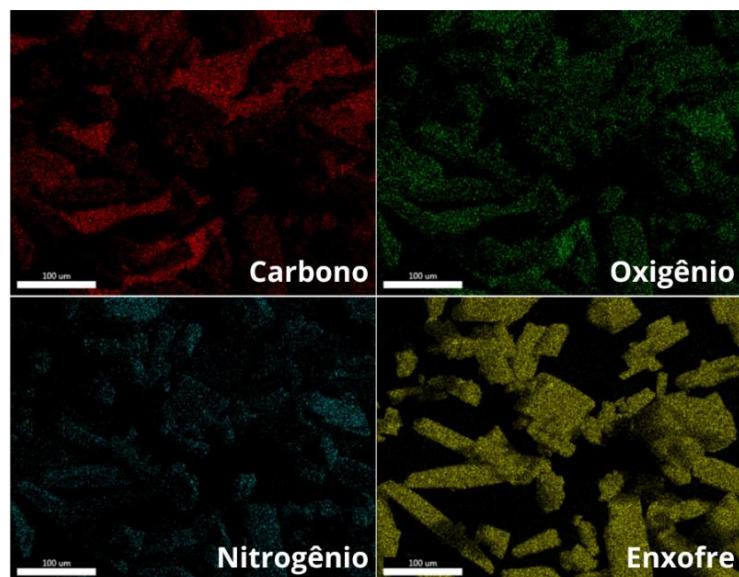


Figura 32: Mapa de EDS da 6-mercaptopurina.

Fonte: Autoria Própria (2024).

O espectro de FTIR (Figura 33) foi capaz detectar as bandas características da 6-mercaptopurina. Cabe pontuar que todas as bandas dispostas na Figura 32 são referentes a 6-MP, no entanto, destacou-se apenas aquelas que também foram observadas por outros autores (Tabela 8). Para o estudo, a observação da banda de 1273 cm^{-1} , especialmente, ressalta a vibração da ligação entre o heteroátomo e o carbono e será utilizada para colaborar na investigação da existência de 6-mercaptopurina nas amostras fabricadas.

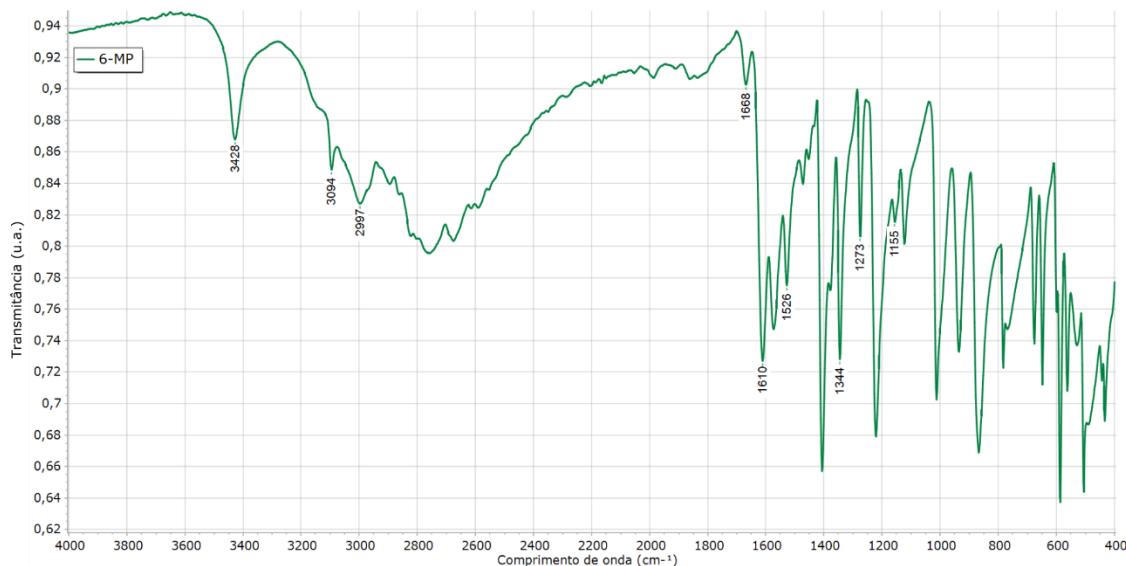


Figura 33: FTIR da 6-mercaptopurina.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 8: Bandas características observadas da 6-mercaptopurina.

Comprimento de onda (cm^{-1})	Atribuição
3428	Vibração do alongamento combinado do NH_2 e grupo OH
3094	$\text{C} - \text{H}$ (alongamento)
2997	$\text{C} - \text{N}$ (vibração do anel)
1668	$\nu\text{C} = \text{S}$ / (vibração do anel)
1610	$\text{C} = \text{C}$ (vibração do anel)
1528	$\text{N} - \text{H}$ (dobra)
1344	$\text{C} = \text{N}$ (vibração do anel)
1273	$\text{C} = \text{S}$ (alongamento)

Comprimento de onda (cm^{-1})	Atribuição
1155	$\nu C = S$ (vibração do anel)

Fonte: Adaptado de Faid, *et al.* (2023).

Com o intuito de verificar a cristalinidade, a Figura 34 mostra o difratograma do medicamento puro. Na imagem notam-se os picos característicos principais do fármaco em 2θ iguais a $11,8^\circ$, $14,6^\circ$, $23,6^\circ$, $25,3^\circ$, $25,9^\circ$, $27,6^\circ$, $29,4^\circ$ e $30,4^\circ$. Novamente, todos os picos apresentados (Figura 33) são do composto, mas somente os pontos citados também foram visualizados na literatura. Tais padrões são retratados em trabalhos que igualmente utilizaram a 6-mercaptopurina monohidratada como os de Kumar e colaboradores (2015) e Dorniani *et al.* (2022). Essa validação é essencial na caracterização de fármacos, dado que diferentes polimorfos de um mesmo ativo apresentam propriedades distintas, tais como solubilidade, ponto de fusão, estabilidade, entre outras (KARPINSKI, 2006).

Para mais, salienta-se que a 6-mercaptopurina não dispõe de nenhuma parte amorfa. Logo, a região entre $5-10^\circ$ justifica-se pela dispersão do ar causada pela distância entre detector e amostra.

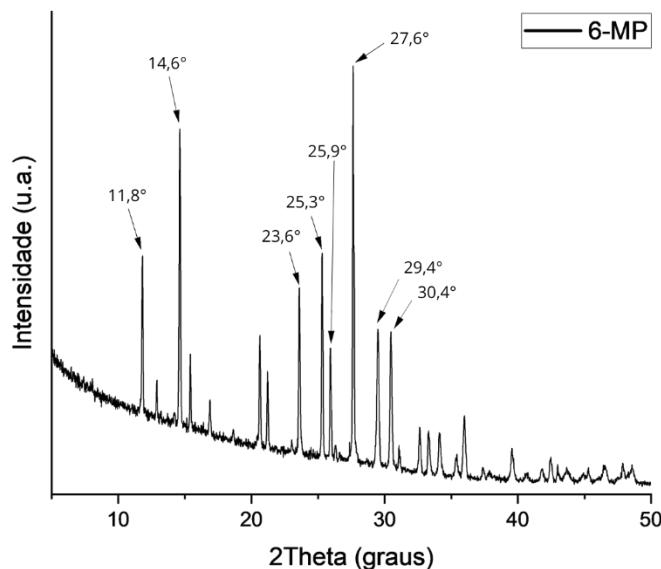


Figura 34: Difratograma da 6-mercaptopurina (6-MP).

Fonte: Autoria Própria (2024).

O programa TOPAS 5.0 foi utilizado para realizar o refinamento de Rietveld da 6-mercaptopurina. Conforme observa-se pela Figura 35, o resultado da 6-MP se ajustou muito bem usando-se o arquivo 5000131 da base de dados da Crystallography Open Database (COD) relativo à mercaptopurina monohidratada.

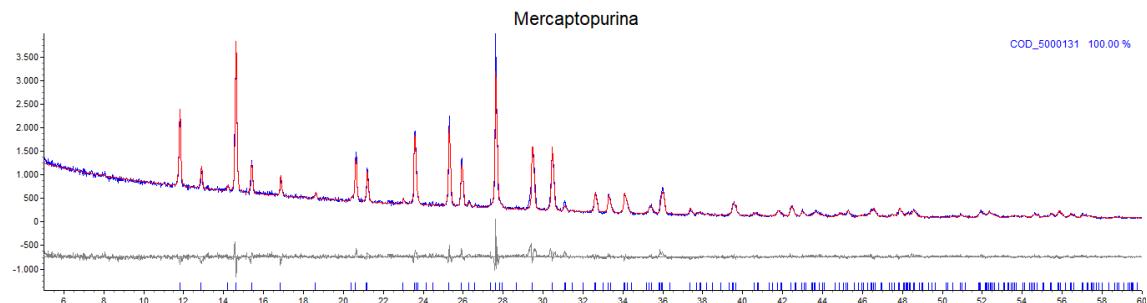


Figura 35: Difratograma da mercaptopurina (azul), ajuste (vermelho) e resíduo de ajuste (cinza).

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.1.2 Quitosana

A morfologia da quitosana, verificada por MEV (Figura 36), também expõe sólidos de diferentes tamanhos e formas. Contudo, as partículas desse polímero dispõem de aspecto mais curvilíneo. Ademais, a análise de EDS da amostra de quitosana (Figura 37) aponta os elementos químicos carbono (C), oxigênio (O) e nitrogênio (N), condizente com a sua molécula. O pico em 2,0 keV é respectivo ao recobrimento de platina realizado na amostra.

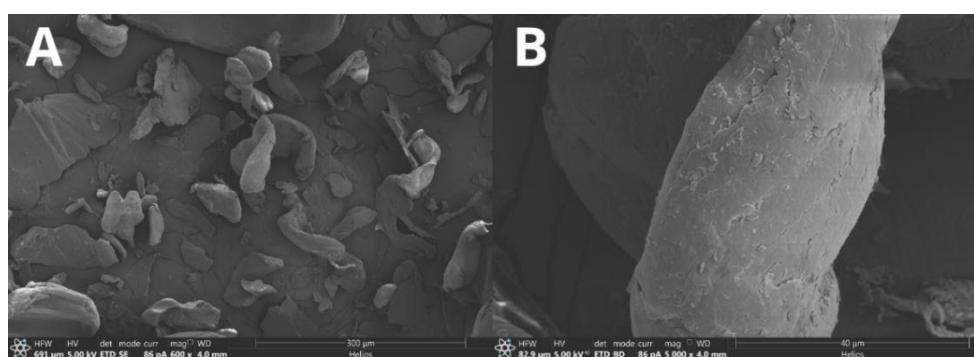


Figura 36: MEV do pó de quitosana (A) 600x e (B) 5000x

Fonte: Autoria Própria (2024).

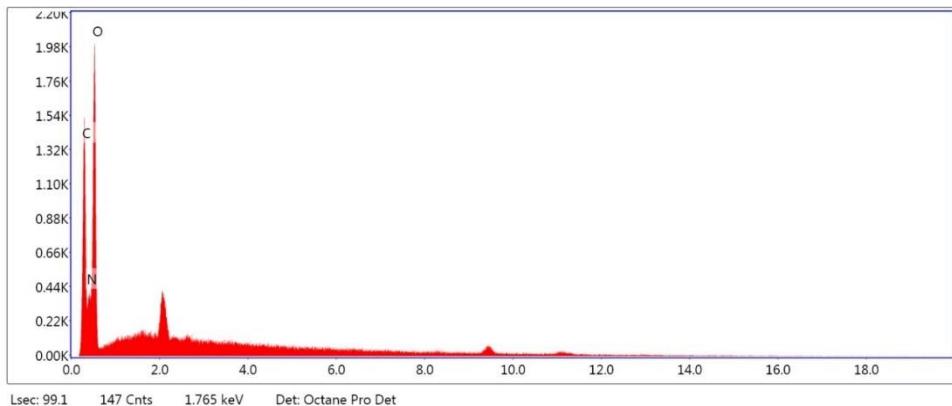


Figura 37: Espectro de EDS da quitosana

Fonte: Autoria Própria (2024).

Na análise de FTIR deste material (Figura 38) foi viável a identificação das suas bandas características, sendo discriminadas na Tabela 9 aquelas que estão de acordo com a literatura. Nesta análise, visto que o poli(ácido lático) não possui ligações químicas com o nitrogênio em sua molécula, enfatiza-se os pontos de 1646 e 1315 cm^{-1} relacionados às vibrações dos grupos amida I e amida II, respectivamente.

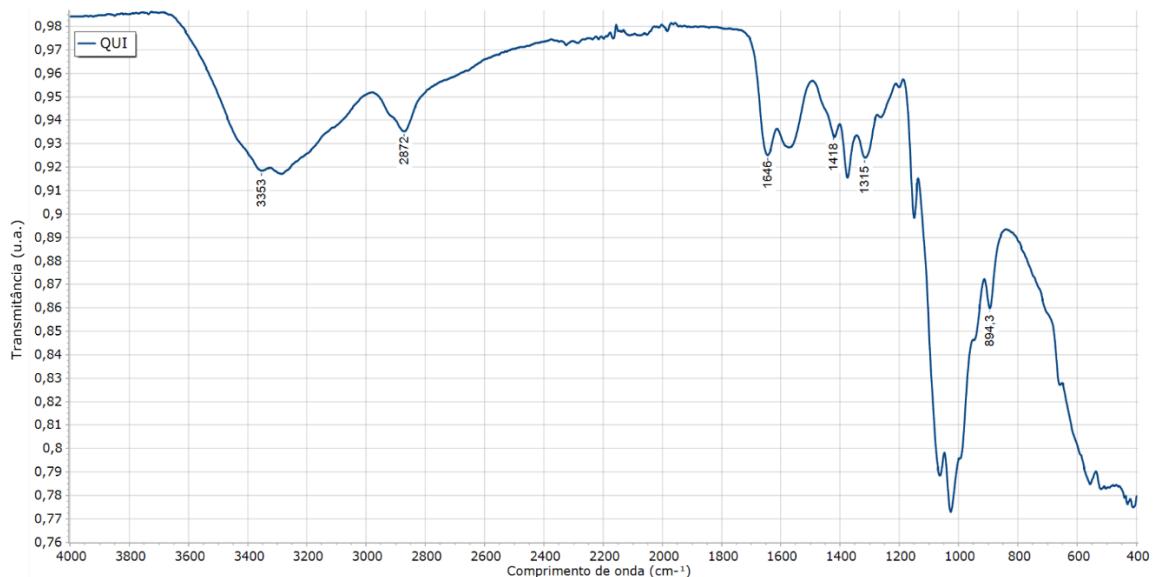


Figura 38: FTIR da quitosana.

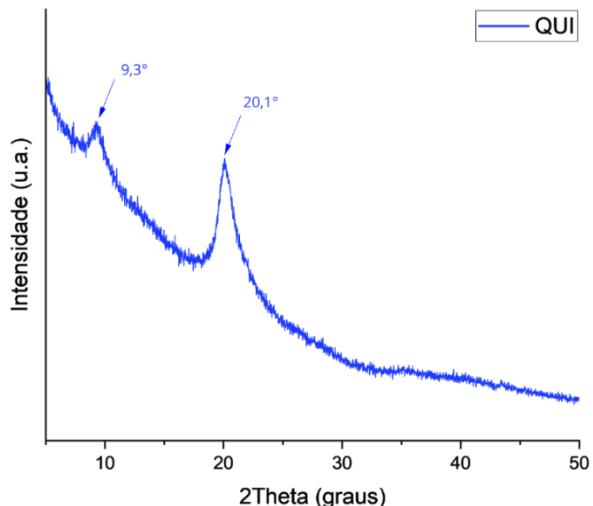
Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 9: Bandas características observadas da quitosana.

Comprimento de onda (cm^{-1})	Atribuição
3353	Grupo OH e grupo amino
2872	$C - H$ (alongamento)
1646	$C = O$ (alongamento) e amida I
1418	$C - H$ (deformação simétrica)
1315	$C - O$ (alongamento) e amida II
894,3	$C - C$ (alongamento e dobramento)

Fonte: Adaptado de Mazloom-Jalali, *et al.* (2020).

O estudo de DRX executado para a quitosana é exibido na Figura 39. Nele, constatam-se dois picos de difração, em 2θ de $9,3^\circ$ e $20,1^\circ$. Em pesquisas diversas identificaram-se também dois padrões, sendo esses variando em 2θ de $9,4^\circ$ a $11,7^\circ$ e $19,5^\circ$ a $20,5^\circ$ (FACCHINATTO, *et al.*, 2020; IOELOVICH, 2014; GOVINDAN, *et al.*, 2012).

**Figura 39:** Difratograma da quitosana (QUI).

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.1.3 Poli(ácido lático)

O filamento de PLA mostra uma superfície predominantemente lisa nos resultados de microscopia (Figura 40). Além disso, com o auxílio da escala disponibilizada pela análise, confirma-se o diâmetro do filamento em cerca de 1,75 mm, tamanho ideal para a impressão 3D. O espectro de EDS (Figura 41) do material exibe os elementos químicos concordantes com a sua molécula. A presença de ouro no estudo, em 2 e próximo a 10 keV, é referente ao emprego desse composto na etapa de metalização realizada no Núcleo de Multusuário de Microscopia (COPPE/UFRRJ).

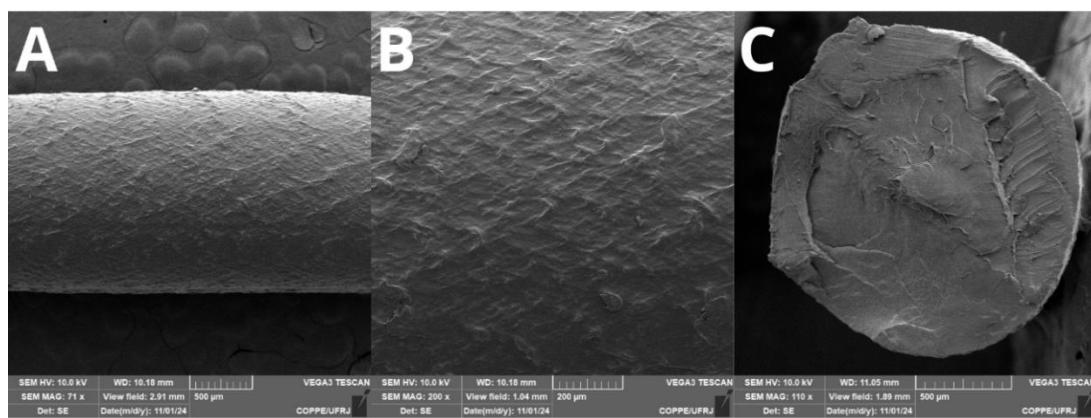


Figura 40: MEV do filamento de PLA (A) 71x e (B) 200x (C) 110x.

Fonte: Autoria Própria (2024).

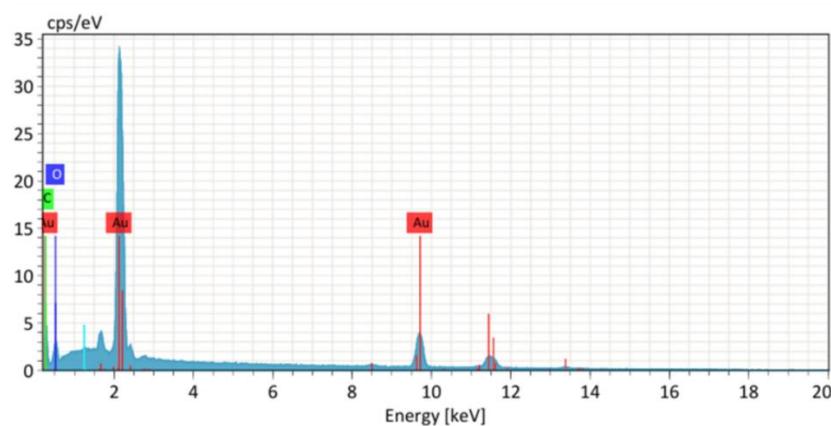


Figura 41: Espectro de EDS do filamento de PLA

Fonte: Autoria Própria (2024).

O espectro de FTIR obtido para a amostra de PLA pode ser visualizado na Figura 42 e as atribuições notadas estão listadas na Tabela 10 em comparação com a literatura.

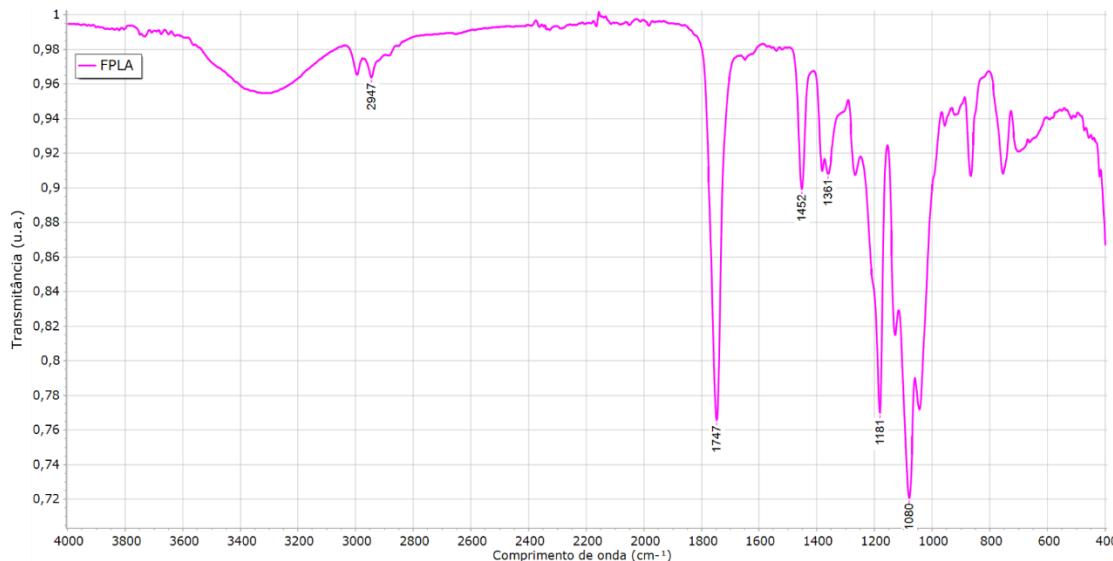


Figura 42: FTIR do filamento de PLA.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 10: Bandas características observadas do filamento de PLA.

Comprimento de onda (cm^{-1})	Atribuição
2947	$C - H$ (alongamento)
1747	$C = O$ (alongamento)
1452	$C - H$ (flexão)
1361	$C - C$ (alongamento)
1181	$O - C - C$ (deformação axial assimétrica) e $C - C$ (alongamento)
1080	$O - C - C$ (deformação axial assimétrica)

Fonte: Adaptado de Balau, *et al.* (2004) e Matos, *et al.* (2019).

O poli (ácido lático) é um polímero termoplástico semi-cristalino e assim, é importante avaliar possíveis alterações na sua cristalinidade antes e depois do processo de FDM. Na Figura 43, referente ao difratograma do filamento de PLA

empregado na presente pesquisa, não são observados picos. Esse fator pode estar associado a baixa taxa de cristalização do PLA (ALIOTTA, *et al.*, 2017).

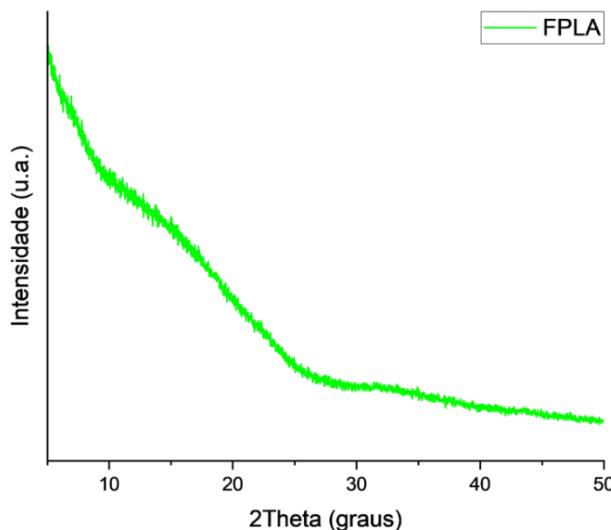


Figura 43: Difratograma do filamento de PLA (FPLA)

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.2 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÕES DOS DISPOSITIVOS

Neste tópico são discutidos os resultados alcançados na produção e otimização do sistema de liberação proposto, além de discorrer sobre as caracterizações (MEV, EDS, FTIR e DRX) das suas camadas.

4.2.1 Produção dos suportes de poli(ácido lático)

Considerando a diferença de polaridade dos compostos utilizados neste estudo, a inovação da pesquisa consistiu em contornar esse obstáculo por meio do aprisionamento do filme de QUI/6-MP em um suporte de PLA, impresso pela técnica de FDM, resultando na manufatura de um dispositivo de liberação multicamada. Como

mencionado anteriormente, diferentes modelos foram testados para alcançar o formato mais otimizado.

O design quadrado exibiu bons resultados de impressão, mantendo o formato estabelecido e demonstrando capacidade de reprodução com qualidade. Ademais, o modelo possibilitou a união das partes por encaixe, sem necessidade de acrescentar mais uma etapa na metodologia, como, por exemplo, fazer uso de temperatura e pressão, e sem expor folgas aparentes, conforme exposto na Figura 44.

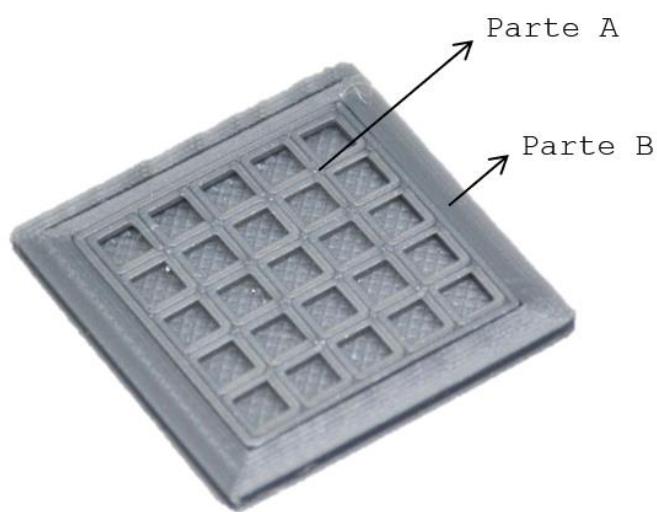


Figura 44: Dispositivo quadrado impresso.

Fonte: Autoria Própria (2024).

No entanto, visto que desejava-se otimizar o projeto e ainda que a pretensão da pesquisa é a fabricação de um implante para ser posicionado nas imediações do tumor, o estudo evoluiu para a diminuição das dimensões do sistema impresso. Nesse contexto, ao reduzir as medidas do projeto em 25% e 50% observaram-se problemas ao acoplar as peças resultantes. Após testes e avaliações, constatou-se que por causa do formato quadrado do dispositivo, em proporções menores, geravam-se pontos de tensão nos cantos, impossibilitando o encaixe ideal. Para mitigar as complicações citadas, decidiu-se por alterar o formato do dispositivo, selecionando o modelo circular para otimizar tamanho, configuração e acoplamento das partes (Figura 45).

DISPPLA

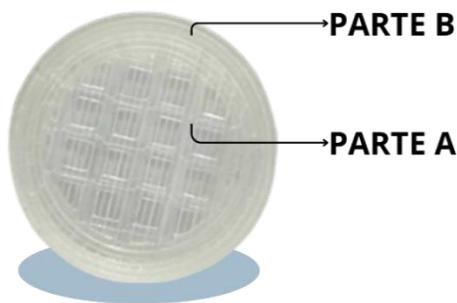


Figura 45: Dispositivo circular impresso.

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.2.2 Caracterizações dos suportes de poli(ácido lático)

Com o objetivo de investigar se o PLA sofreu alguma mudança nas suas bandas após a metodologia de FDM, comparou-se o espectro realizado do DISPPLA com o material puro (F2PLA), e o resultado é apresentado na Figura 46. Nessa verificação, confirmou-se que o tratamento térmico não alterou as propriedades químicas do elemento puro, uma vez que as bandas características destacadas do filamento de PLA (Tabela 10) também se encontram no FTIR da amostra DISPPLA.

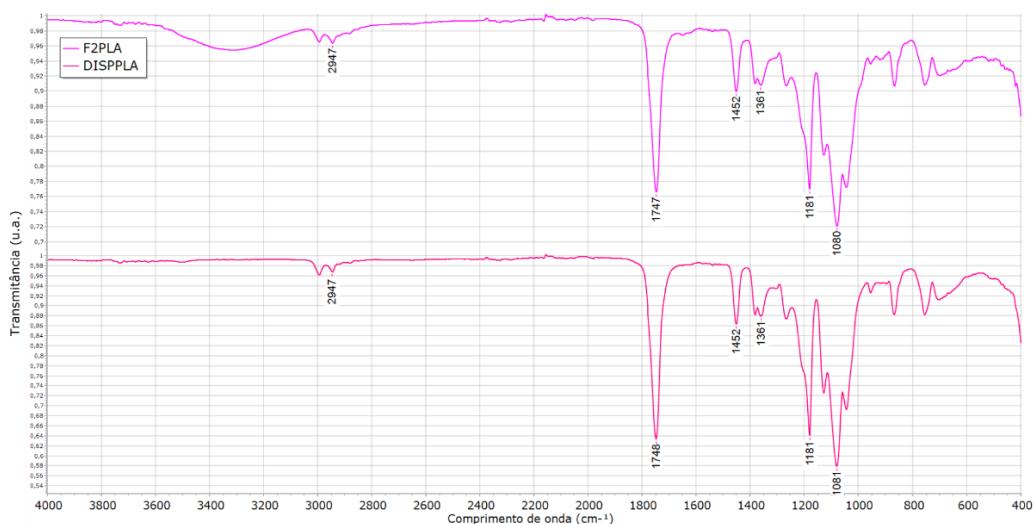


Figura 46: FTIR do DISPPLA em comparação com o espectro do filamento de PLA.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Em contrapartida, na análise comparativa de DRX (Figura 47) a qual mostra os estudos de DRX do filamento (FPLA) e do dispositivo impresso (DISPPLA), diferentemente do difratograma do componente puro, nota-se um halo amorfó expressivo, centralizado em aproximadamente 16,5°, no difratograma da amostra produzida. Esse comportamento foi igualmente observado em filamentos transparentes de PLA natural (WITTBRODT e PEARCE, 2015) e materiais fabricados pela metodologia de FDM (ALAM, VARADARAJAN, e KUMAR, 2020; CARDOSO, *et al.*, 2020).

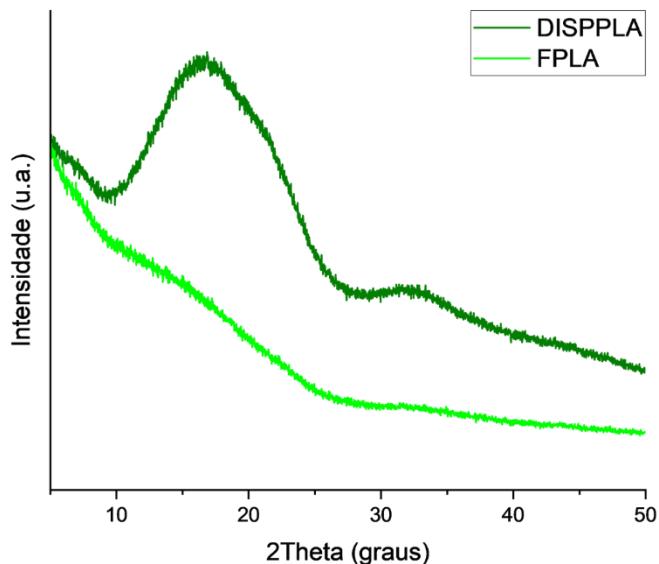


Figura 47: Difratogramas do filamento de PLA (FPLA) e do DISPPLA

Fonte: Autoria Própria (2024).

O estudo morfológico efetuado nos suportes impressos será comentado juntamente com as microscopias dos sistemas de liberação fabricados a fim de promover a melhor comparação entre os dispositivos vazios e preenchidos.

4.2.3 Produção dos dispositivos multicamadas

Simultaneamente à fabricação dos suportes impressos, a produção da solução de 6-MP/QUI/AA ocorreu conforme o descrito no capítulo de materiais e métodos. É

válido pontuar que era imperativo a agitação desse fluido antes de depositá-lo na seringa de 3 mL, pois o líquido parado apresentava uma concentração do medicamento no fundo do balão. Com o auxílio da balança analítica, depositou-se 0,21 g da solução de 6-MP/QUI/AA no DISPPLA, completando o espaço vazio entre parte A e parte B quando unidas. Após 7 dias em temperatura ambiente, formou-se o fino filme desejado de 6-MP/QUI, produzindo-se, assim, os dispositivos nomeados como DISP6MP.

Outro ponto importante a ser destacado é de que no procedimento da confecção da segunda camada para o DISP26MP, constatou-se a geração de fissuras no primeiro filme de 6-MP/QUI. Esse fato levanta a hipótese de que quando o fluido entrou em contato com o filme já fabricado ocorreu a protonação da quitosana contida no mesmo, fazendo com que pequenas fendas surgissem nessa matriz. No entanto, efetuou-se a sobreposição de camadas e foi obtido o dispositivo nomeado como DISP26MP, o qual acomoda duas camadas de 6-MP/QUI. A Figura 48 exibe as amostras citadas.

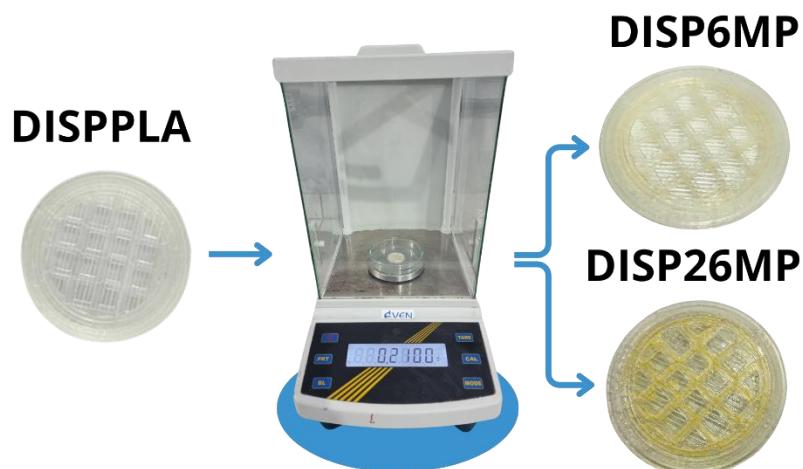


Figura 48: Dispositivos produzidos.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Ademais, filmes de quitosana e quitosana/6-mercaptopurina foram fabricados para a diferenciação e investigação da eficácia do método de preparação. Na Figura 49 é possível notar a clara diferença de coloração entre os filmes produzidos. Isto

inicialmente atesta a presença de 6-mercaptopurina, que detém de tonalidade amarelada no seu estado puro. Por fim, a Tabela 11 apresenta todas as amostras manufaturadas no presente trabalho.

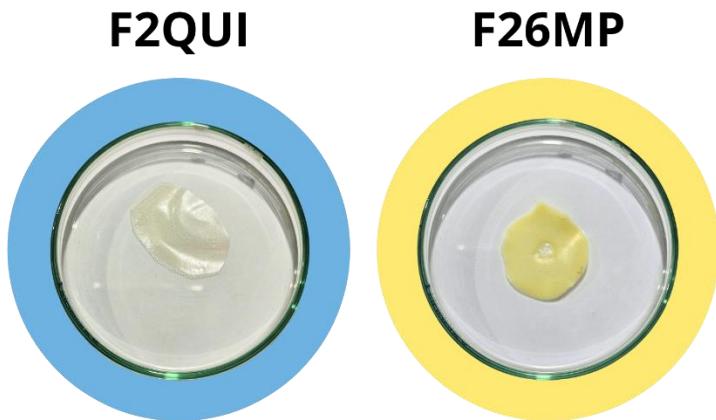


Figura 49: Filmes fabricados.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 11: Amostras produzidas.

Nomenclatura	Elementos contidos	Quantidade fabricada
DISPPLA	PLA	120
DISPPLAT6MP	PLA, QUI e 6-MP	10
DISP6MP	PLA, QUI e 6-MP	90
DISP26MP	PLA, QUI e 6-MP (duas camadas)	30
F26MP	QUI e 6-MP	9
F2QUI	QUI	9

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.2.4 Caracterizações da camada interna

Para observar suas morfologias e averiguar a incorporação do fármaco, os filmes de quitosana (F2QUI) e 6-MP/QUI (F2Q6MP) foram analisados por MEV e EDS. Na Figura 50 é possível observar a diferença entre as superfícies dos filmes. Enquanto a Figura 50A apresenta uma superfície majoritariamente lisa, com exceção de

pequenos conglomerados, a Figura 50B exibe micropartículas dispersas pelo filme. Em destaque na Figura 50B estão algumas medidas, validando que os sólidos estão na ordem de micrômetros.

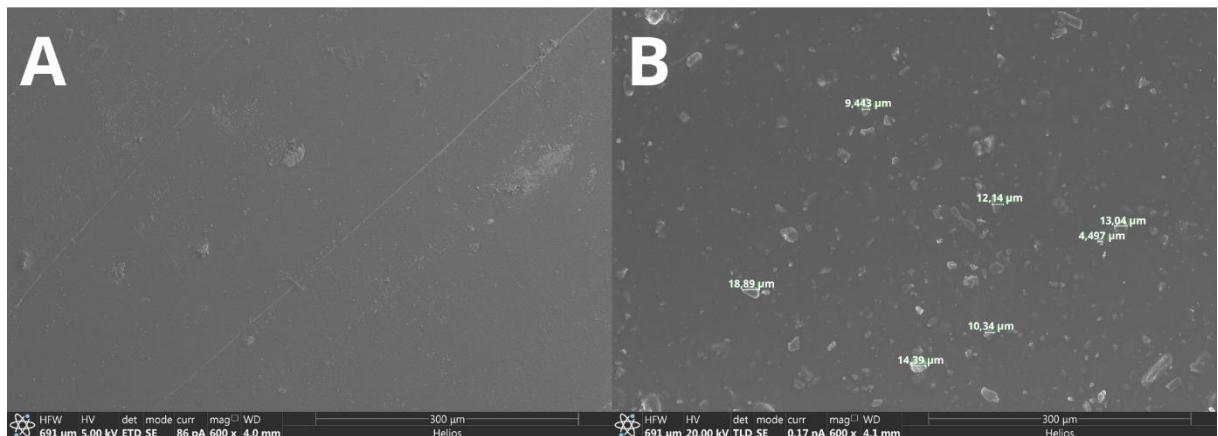


Figura 50: MEV dos filmes de (A) quitosana e (B) quitosana e 6-mercaptopurina (F2Q6MP) em 600 x.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tendo em vista que o fármaco é o único componente que contém o heteroátomo enxofre, as análises de EDS apresentadas nas figuras 51 e 52 distinguem as amostras entre si. Desta forma, com a Figura 52, pode-se concluir que os sólidos presentes na Figura 50B são a 6-mercaptopurina e que a metodologia de evaporação de solvente foi capaz de dispersar o fármaco na matriz produzida.

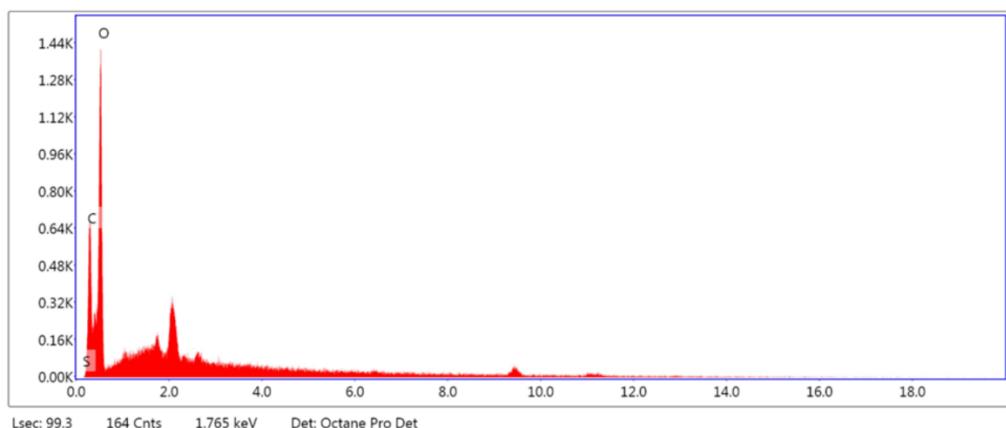


Figura 51: Espectro de EDS do filme de quitosana.

Fonte: Autoria Própria (2024).

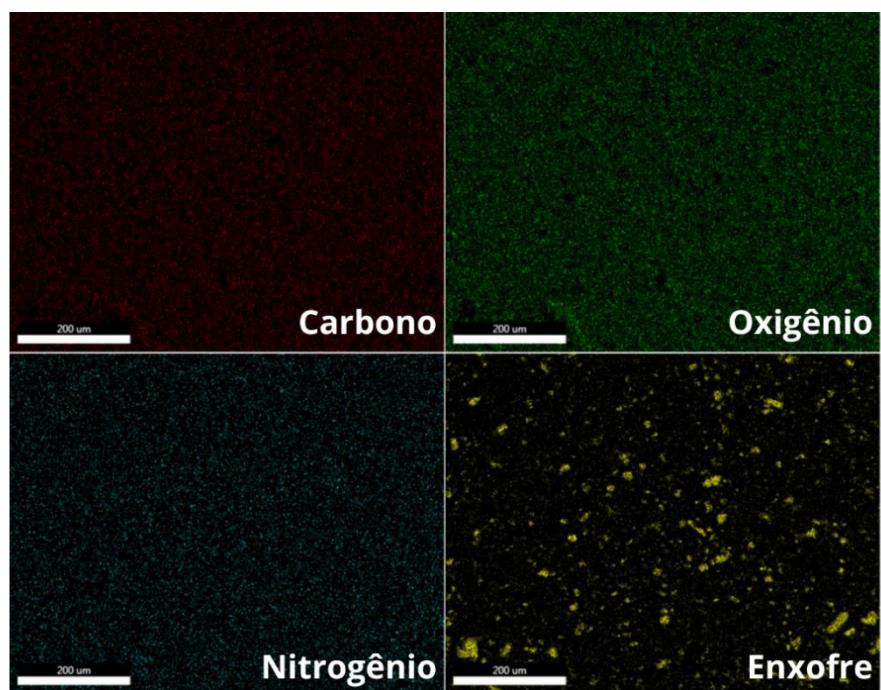


Figura 52: Mapa de EDS do filme de 6-MP/QUI.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Com os espectros dos materiais puros, também se tornou viável comparar os espectros das amostras dos filmes de quitosana (F2QUI) e quitosana/6-mercaptopurina (F2Q6MP) com os resultados de FTIR da quitosana e da 6-mercaptopurina puras (QUI e 6MP), como apresentado na Figura 53. Nesse estudo, em relação ao filme de quitosana, observou-se que as bandas características da amida I e da amida II, respectivamente 1646 cm^{-1} e 1315 cm^{-1} visualizadas no FTIR da quitosana, estão também presentes no espectro do filme produzido (destaque na imagem em azul). Tais resultados igualmente foram percebidos em trabalhos similares com esse material, como a pesquisa de Balau, et al. (2004), que relata as propriedades físico-químicas de filmes de quitosana, e Cardenas e Miranda (2004), pesquisa que reporta as características químicas e térmicas de filmes compostos de quitosana.

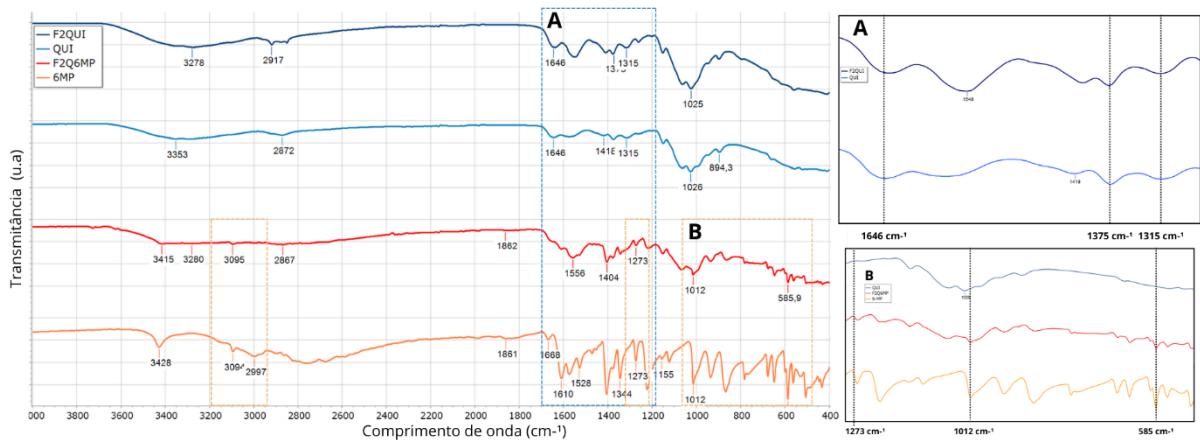


Figura 53: FTIR dos filmes de quitosana e quitosana/6-mercaptopurina em comparação com FTIR dos materiais puros.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Ainda referente a Figura 52, é possível notar que o FTIR do filme de quitosana e 6-mercaptopurina demonstra semelhança com o espectro do fármaco puro, principalmente nas bandas de 3095 cm^{-1} (associada ao alongamento da ligação $C - H$) e 1273 cm^{-1} (referente a vibração do alongamento da ligação $C = S$), e na faixa de 1000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} . Essas observações foram destacadas na cor laranja na imagem citada para melhor visualização e colaboraram para a confirmação da existência de 6-mercaptopurina no filme fabricado (F26MP).

Nesse contexto, no entanto, também foi observado deslocamento ou alterações na intensidade das bandas características da 6-MP no espectro da matriz de 6-MP/QUI. Esse fato foi identificado similarmente nos estudos de Govindappa, *et al.* (2020) e Kumar *et al.* (2015), os quais produziram nanopartículas de quitosana carreadas de 6-mercaptopurina a partir de uma suspensão de 1% (p/v) de ácido acético, 6-MP/dimetilformamida e *Tween* 80. Ambas as pesquisas propuseram a hipótese de que as modificações mencionadas são indicativas da encapsulação do medicamento, que, por consequência, aprimoraram as propriedades de dissolução do composto formado.

No difratograma do filme de 6-mercaptopurina/quitosana (F2Q6MP) verificou-se apenas alguns picos característicos do medicamento, ligeiramente deslocados e em menor intensidade, comprovando novamente a presença do fármaco no filme

produzido e corroborando a hipótese de encapsulamento (Figura 54). Esta menor intensidade também pode ser explicada pela baixa concentração de fármaco no filme. Além disso, não foram observados os picos largos de difração da quitosana na matriz 6-MP/QUI, apenas um halo bem amplo entre 17 e 24°, mesma região do 2º pico da quitosana.

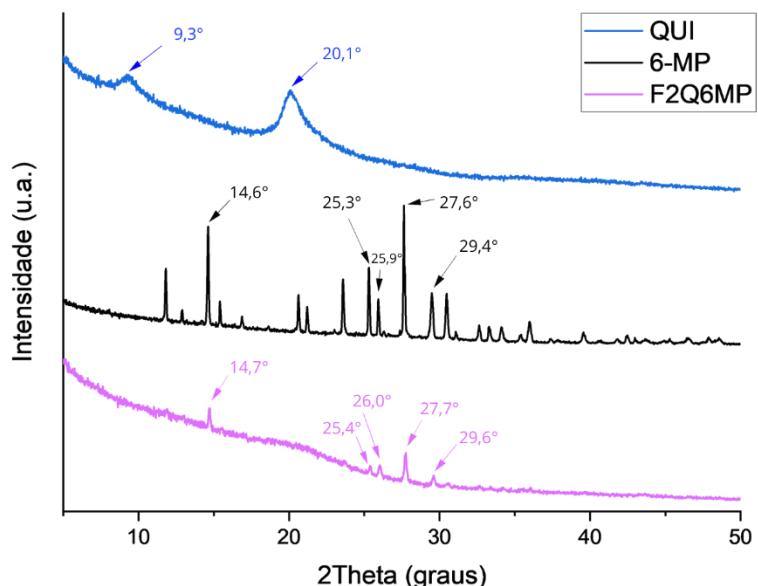


Figura 54: Difratogramas da quitosana (QUI), 6-mercaptopurina (6-MP) e filme de 6-MP/QUI (F2Q6-MP).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Em suma, a partir das análises de MEV, EDS, FTIR e DRX, conclui-se que a técnica para a fabricação da camada de QUI/6-MP é eficaz na inclusão do fármaco. Ademais, apesar da baixa concentração, foi viável inferir que o medicamento está encapsulado na matriz.

4.2.5 Caracterizações dos dispositivos multicamadas

Com o intuito de avaliar os dispositivos produzidos antes dos ensaios de liberação foram analisadas, quimicamente (EDS) e morfológicamente (MEV), as superfícies das amostras DISP6MP e DISP26MP. A Figura 55 mostra o estudo de

microscopia dos dois sistemas e do dispositivo sem camada (DISPPLA), enquanto a Figura 56 apresenta os resultados de EDS.

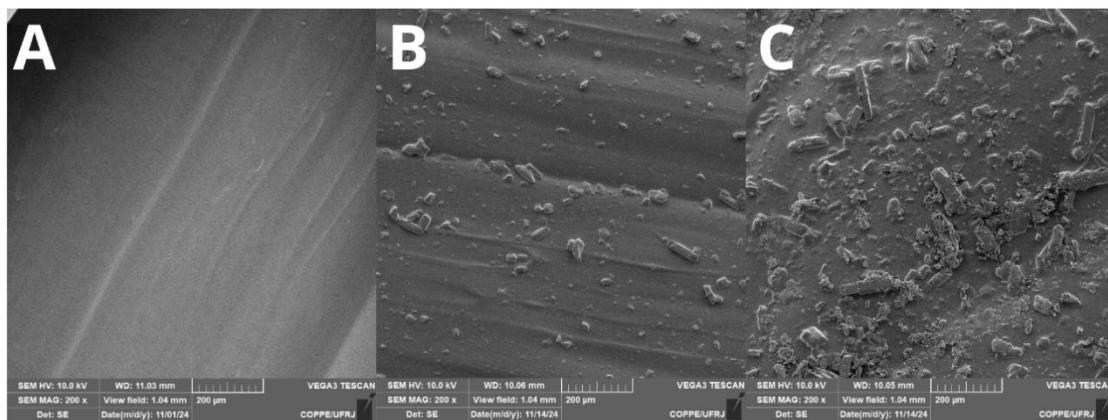


Figura 55: MEV dos dispositivos (A) DISPPLA, (B) DISP6MP e (C) DISP26MP em 200x.

Fonte: Autoria Própria (2024).

DISP6MP

ELEMENTO	ÁTOMOS (%)
C	46,09
O	31,87
N	19,15
S	2,89

DISP26MP

ELEMENTO	ÁTOMOS (%)
C	39,72
O	33,46
N	23,18
S	3,64

Figura 56: Espectros de EDS dos dispositivos (A) DISP6MP e (B) DISP26MP.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Baseado nos estudos efetuados acima é válido deduzir algumas hipóteses. Na Figura 55 pode-se observar que existe uma maior aglomeração de sólidos no DISP26MP, sistema que contém duas camadas de 6-MP/QUI. Além disso, também se nota que ao fundo da imagem 55C, aparenta-se ter mais partículas aglomeradas embaixo da superfície. Essa conjectura é corroborada pelas análises de EDS exibidas na Figura 56, a qual expõe um aumento na porcentagem de átomos de enxofre presentes nas amostras DISP6MP e DISP26MP. Sendo assim, é factível supor que ocorreu uma construção de camadas e que essas são semelhantes entre si, uma vez

que o resultado do filme mais externo é similar ao da matriz formada no sistema DISP6MP.

Os sistemas fabricados, DISP6MP e DISP26MP, também foram estudados quimicamente através da caracterização de FTIR. Na Figura 57 pode-se observar que as bandas dos dispositivos não diferenciaram significativamente do espectro do DISPPPLA. Considerando que o espectro de FTIR do filme de QUI/6-MP confirmou a presença do fármaco e que a camada interna foi produzida por uma metodologia similar, é plausível supor que, devido à baixa concentração de 6-MP e à configuração das camadas, a técnica de espectroscopia não foi capaz de penetrar a região em que o medicamento estava presente.

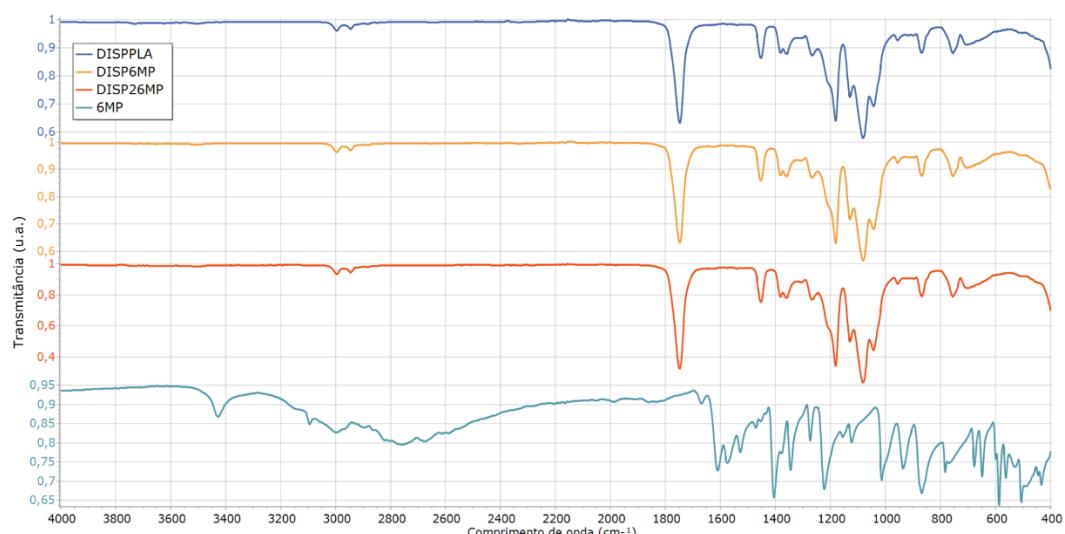


Figura 57: FTIR dos dispositivos (DISP6MP e DISP26MP) em comparação com o espectro do fármaco puro.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Por fim, os dispositivos foram avaliados quanto a sua cristalinidade (Figura 58). Como esperado, as amostras DISP6MP e DISP26MP demonstraram o comportamento amorfo similar ao sistema impresso DISPPPLA, diferenciando-se, contudo, ao apresentar picos característicos da 6-mercaptopurina em 2θ iguais a $11,8^\circ$, $14,6^\circ$, $23,6^\circ$, $25,3^\circ$, $27,6^\circ$, $29,4^\circ$ e $30,4^\circ$. Tais picos intensificaram-se ao

aumentar a concentração da droga, ou seja, quando se adicionou mais uma camada de QUI/6-MP.

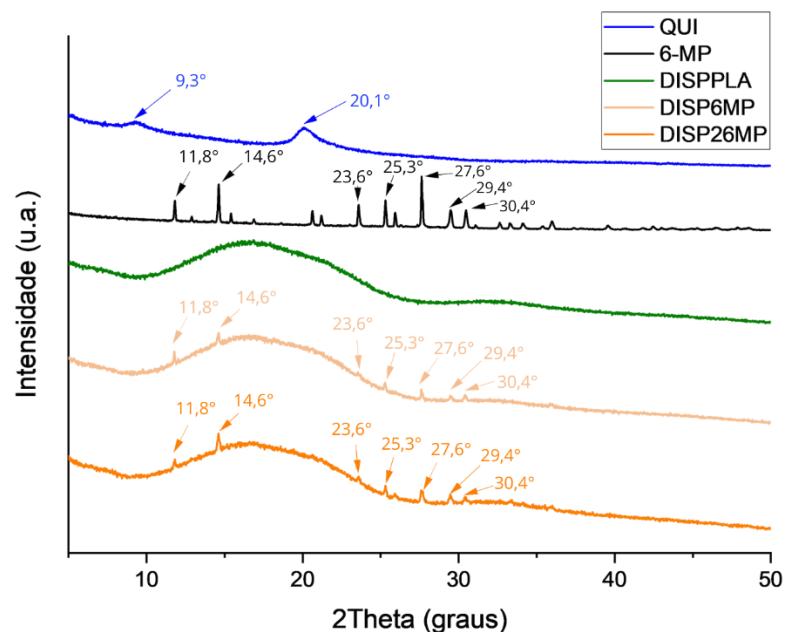


Figura 58: Difratogramas da quitosana (QUI), 6-mercaptopurina (6-MP), DISPPLA, DISP6MP e DISP26MP.

Fonte: Autoria Própria (2024).

4.3 ESTUDO DO PERFIL DE LIBERAÇÃO

Neste capítulo são discutidos os resultados obtidos no ensaio preliminar de permeabilidade, a curva de calibração do fármaco, os experimentos de liberação de 6-MP dos dispositivos produzidos (DISP6MP e DISP26MP) em diferentes meios (pH iguais a 7,2, 6,4, 6,0 e 5,0), as caracterizações realizadas pós ensaios e a modelagem matemática dos perfis de liberação.

4.3.1 Curva de calibração da 6-mercaptopurina

Para tornar viável a interpretação das informações experimentais coletadas nos ensaios, foi necessária a construção da curva de calibração da 6-mercaptopurina, que correlaciona absorbância com a concentração de medicamento liberada.

Desta forma, inicialmente, varreu-se uma solução de concentração conhecida de 6-MP/solução tampão fosfato (PBS), pH = 7,4, no UV-vis na faixa de 190nm a 500nm para identificar o ponto de maior absorção do fármaco. Essa faixa foi determinada baseada na literatura, a qual aponta que esse pico da 6-MP encontra-se entre 320 – 330 nm (DORNIANI, *et al.*, 2013; LU, *et al.*, 2023; NORI, *et al.*, 2023; TALIB e MOHAMMED, 2023; ZOU, *et al.*, 2021). A Figura 59 exibe o resultado da leitura.

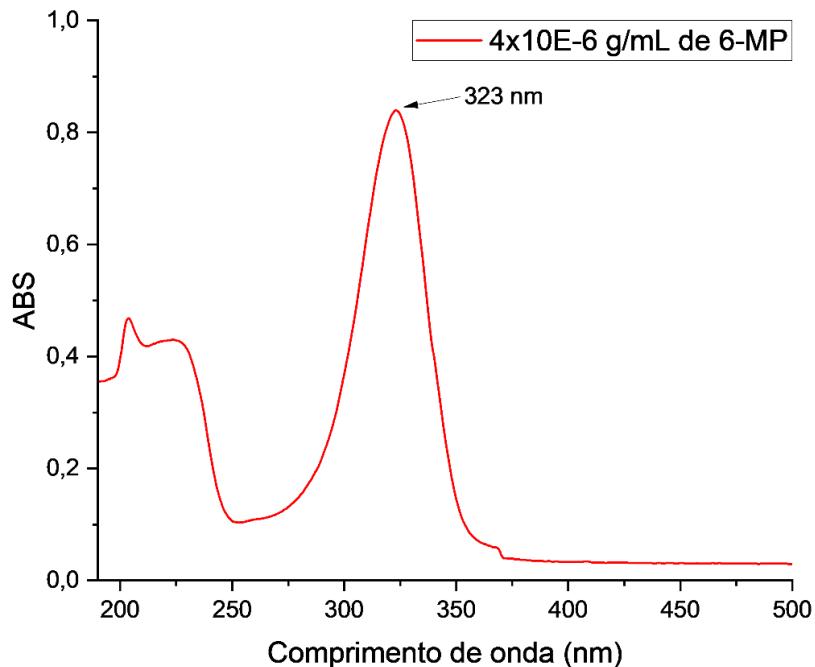


Figura 59: Varredura da solução de 6-mercaptopurina (6-MP/PBS72).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Na varredura da solução de 6-MP/PBS72 citada, notou-se dois picos aparentes espaçados e de distintas magnitudes. Entretanto, sabe-se que é possível identificar o comprimento de onda da máxima absorvância pela análise espectral da derivada (ROJAS e OJEDA, 2009). Além disso, essa verificação também é procedente para assegurar que a quitosana não influenciaria na análise posterior dos dados.

Assim, a partir das derivadas das soluções de quitosana/PBS72 e 6-MP/PBS72 (Figura 60), foi possível confirmar que o pico de máxima absorvância do medicamento

situa-se em 323 nm, enquanto o ponto máximo da quitosana está localizado em 206 nm. Logo, a quitosana não interfere nas medições.

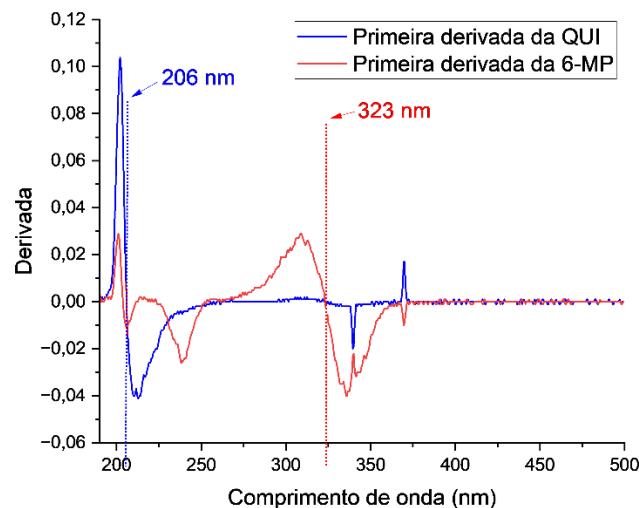


Figura 60: Comparativo das derivadas das varreduras de quitosana (1×10^{-4} g/mL) e 6-mercaptopurina (4×10^{-6} g/mL).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Após esta definição, realizou-se o experimento em triplicata para a determinação da curva padrão da 6-mercaptopurina, exibida na Figura 61, e o modelo linear que a representa (Equação 14).

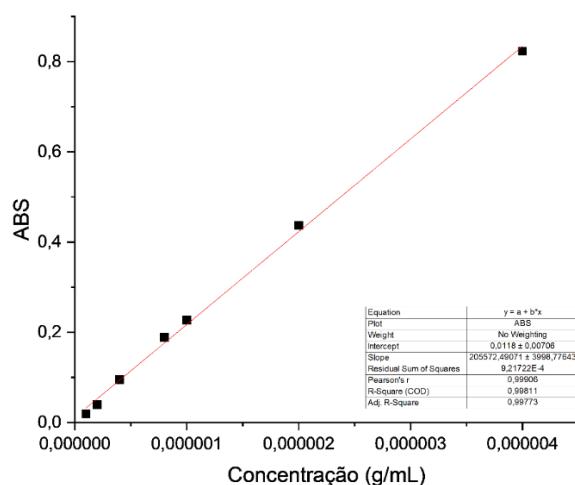


Figura 61: Curva analítica da 6-mercaptopurina em solução tampão fosfato (pH = 7,2)

Fonte: Autoria Própria (2024).

$$y = 205572x + 0,0118 \quad (14)$$

Na equação, x é a concentração de 6-MP em g/mL e y representa a absorbância medida. O coeficiente linear (R^2) resultante da curva foi de 0,99811. Dado que, segundo a literatura, valores de R^2 maiores do que 0,95 indicam um ajuste satisfatório, o coeficiente linear aponta que a curva analítica foi adequada (AHMED, *et al.*, 2019; DASH, *et al.*, 2010).

Por fim, é válido explicitar que também se executou a curva de calibração em solução tampão de fosfato pH = 5,0. Entretanto, além de obter-se um R^2 menor do que a curva anteriormente citada, ao realizar o teste estatístico t de *Student*, concluiu-se que os dados não eram considerados estatisticamente distintos. Portanto, infere-se como pertinente utilizar a curva analítica padrão em PBS pH = 7,2, Figura 61, para as demais soluções.

4.3.2 Ensaio preliminar de permeabilidade

O ensaio de permeabilidade ocorreu como ditava a metodologia apresentada anteriormente. Neste âmbito, identificou-se o pico de máxima absorbância do azul de metileno como 664,5 nm (Figura 62). Esse ponto está de acordo com a literatura, que o detecta na faixa de 660 a 665 nm (DE OLIVEIRA, MARQUES e BRACKMANN, 2017; MARCHI, SOEIRO e HALASZ, 2015).

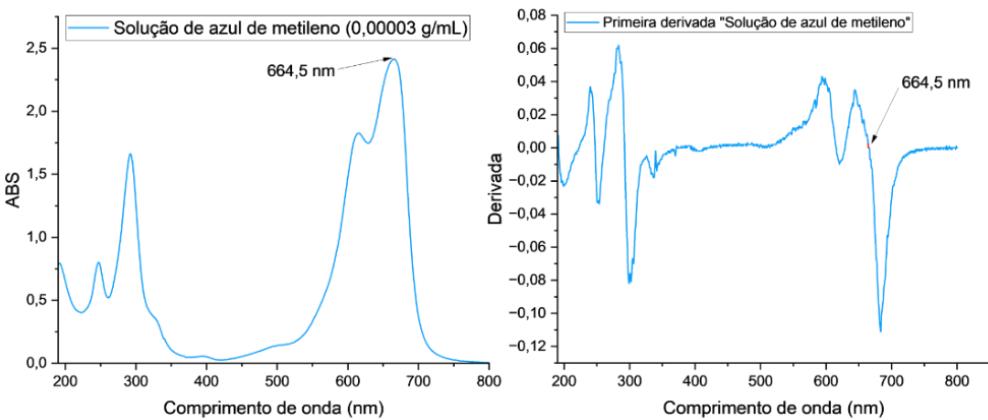


Figura 62: Varredura e derivada da curva da solução de azul de metileno (0,00003 g/mL).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Como esperado, nas medições realizadas em 2, 4 e 24 horas, não se observou os picos de absorvância característicos da 6-mercaptopurina e da solução de azul de metileno nas alíquotas referentes ao Lado B, face que incialmente detinha apenas de água destilada. O resultado é apresentado na Figura 63.

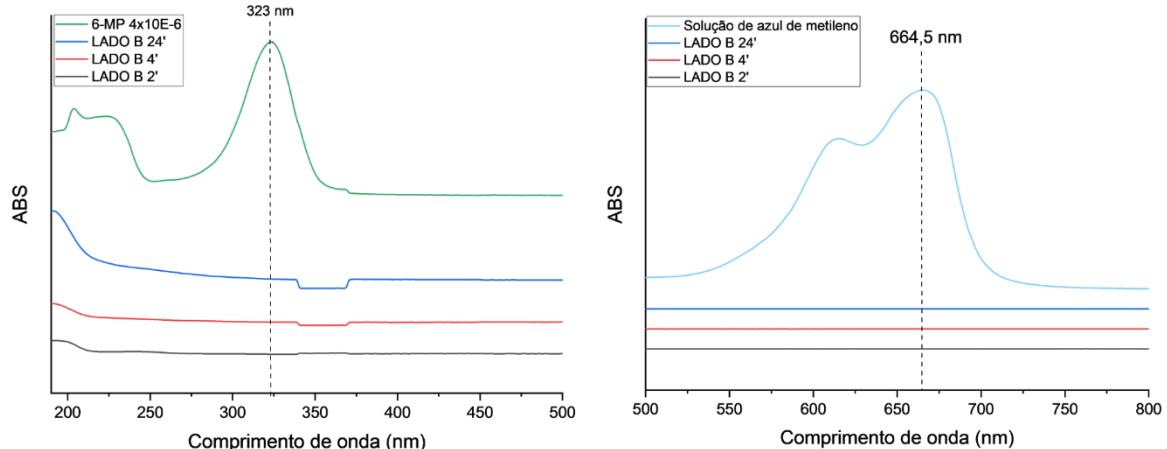


Figura 63: Varredura do lado B em diferentes tempos (2,4 e 24 horas) e em comparação com as curvas da 6-mercaptopurina e da solução de azul de metileno (0,00003 g/mL).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Estes dados corroboram, portanto, com a suposição de que o dispositivo apresenta perfil de liberação unidirecional. Contudo, essa tese é válida apenas para as moléculas do fármaco e de azul de metileno nessas condições de temperatura,

vazão e meio, uma vez que substâncias e ambientes diferentes podem afetar o resultado.

4.3.3 Ensaios de liberação em diferentes meios

Ensaios de liberação de 24 horas, com os dispositivos contendo uma camada de 6-MP/QUI (DISP6MP), nos meios de solução tampão de pH iguais a 7,2, 6,4, 6,0 e 5,0 foram executados e avaliados. Esses estudos foram realizados em triplicata e para melhor interpretação dos dados, os pontos considerados *outliers* foram retirados do cálculo de média, desvio e erro. As concentrações liberadas ao longo das análises foram estimadas matematicamente empregando-se a Equação 14 e a massa inicial aproximada de 6-mercaptopurina presente no dispositivo (0,0003969 g). Os resultados dos ensaios podem ser visualizados na Figura 64 e Tabela 12. Os valores acumulados de liberação da 6-MP foram de 60,4% (pH = 7,2), 80,1% (pH = 6,4), 56,3% (pH = 6,0) e 92,3% (pH = 5,0).

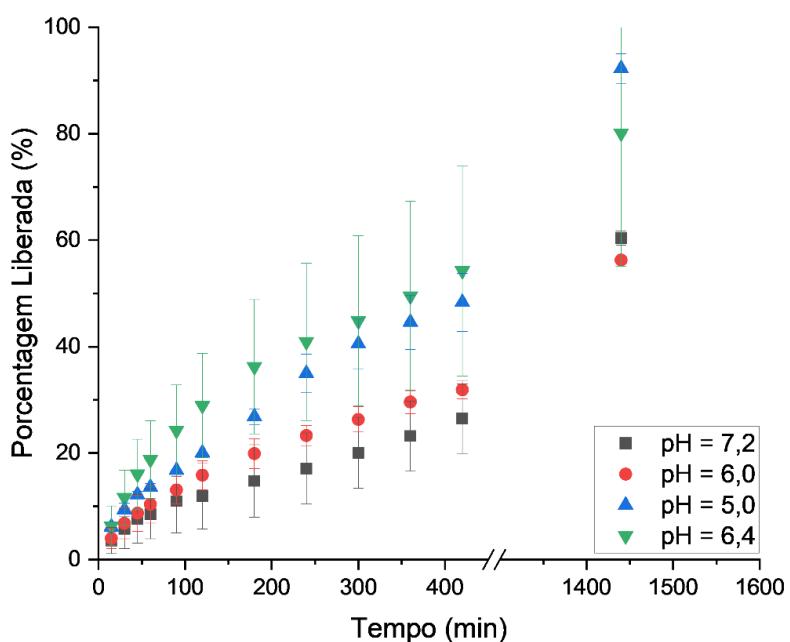


Figura 64: Perfis de liberação da 6-mercaptopurina em PBS (pH iguais a 7,2 6,4, 6,0 e 5,0).

Fonte: Autoria Própria (2024).

Tabela 12: Dados coletados nos ensaios de liberação

Tempo (min)	pH = 7,2 (%)	Erro PBS72 (\pm)	pH = 6,4 (%)	Erro PBS64 (\pm)	pH = 6,0 (%)	Erro PBS60 (\pm)	pH = 5,0 (%)	Erro PBS50 (\pm)
15	3,56654	2,45123	6,32417	3,73812	3,96486	1,93034	6,14033	0,91921
30	5,80328	3,70748	11,62495	5,17822	6,78378	2,91083	9,38821	1,22561
45	7,64171	4,56541	16,03717	6,58768	8,71412	3,43172	12,20712	0,61281
60	8,56092	4,68798	18,7948	7,26177	10,39934	3,52364	13,61658	0,67409
90	10,98151	6,00551	24,24878	8,54866	13,06505	2,57379	16,77253	0,21448
120	11,962	6,25063	28,93676	9,80492	15,85332	2,72699	20,05105	0
180	14,78091	6,80216	36,22917	12,62383	19,89785	2,78827	26,85321	1,47074
240	17,10958	6,6796	40,91714	14,7993	23,29893	1,8997	34,97291	3,6462
300	20,08169	6,64896	44,83911	16,02491	26,33233	2,35931	40,51882	4,65734
360	23,20701	6,58768	49,49644	17,80205	29,61085	2,20611	44,59398	5,11694
420	26,48553	6,55704	54,2457	19,73239	31,90887	1,7465	48,33211	5,42334
480	29,18188	5,76039	58,35151	20,95801	34,81971	2,75763	52,37664	5,79103
1440	60,40441	1,31754	80,10617	25,00254	56,26796	0,18384	92,27039	2,78827

Fonte: Autoria Própria (2024).

Na Figura 64, nota-se, em um primeiro momento, uma porcentagem de liberação maior no pH = 6,4. No entanto, essa afirmação torna-se incerta pela grandeza do erro associado a esse ensaio, atingindo em alguns casos valores de $\pm 25,0$. Diversos fatores podem explicar essa dimensão, desde desbalanceamentos nas condições do equipamento até erros experimentais na produção dos dispositivos. Vale pontuar que os dispositivos usados nesse experimento em específico foram os únicos a serem fabricados em um dia diferente dos demais.

Dito isso, os valores dos ensaios de liberação nos pH 7,2, 6,0 e 5,0 mostraram-se mais consistentes. Dentre eles, a maior porcentagem liberada foi observada na solução tampão fosfato de pH = 5,0. Esse ensaio apresentou aumento médio na taxa de liberação de em média 70% quando comparado com os resultados coletados do ensaio em PBS de pH = 7,2, o qual simula o pH do meio fisiológico. Essa estimativa evidencia que o dispositivo libera mais medicamento em meios com pH na faixa similar ao microambiente tumoral, resultado também encontrado na literatura (NORI, *et al.*,

2023; TALIB e MOHAMMED, 2023). Além disso, a liberação em meio mais ácido indica o encapsulamento do fármaco próximo as cadeias hidrofílicas positivamente carregadas, como pontuado em trabalhos similares (PREM, *et al.*, 2014).

Além disso, o alto valor de porcentagem de liberação atingido no experimento de pH = 5,0, pode ser atribuído ao comportamento da quitosana em tais ambientes, em que a protonação de seus grupos amino afrouxa suas cadeias, permitindo que a droga se difunda livremente. Prem *et al.* (2014) analisaram a liberação de 6-MP a partir de filmes finos de polivinilpirrolidona e quitosana em meios de pH iguais a 3, 4, 6,4 e 7,4. O estudo dos autores observou um aumento inicial na liberação, atingindo cerca de 15% nas primeiras medições.

Na pesquisa de Kumar e colaboradores (2015), nanopartículas de quitosana carregadas com 6-MP foram testadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) em meios de pH iguais a 4,8 e 7,4. De maneira similar ao trabalho anterior, esse estudo demonstrou uma explosão de liberação de 30-35% nas primeiras duas horas em pH 4,8 e 40% após seis horas de teste em pH 7,4.

Este fenômeno não foi observado na presente pesquisa, o que aponta que, em decorrência do design do sistema multicamada, esse dispositivo foi capaz de controlar a liberação da 6-MP. Os resultados mostram o potencial do sistema produzido, responsável ao pH, especialmente no controle da liberação abrupta inicial relatada nos trabalhos mencionados.

Outro ponto interessante a ser discutido, são as porcentagens próximas de liberação do medicamento dos meios de pH iguais a 7,2 e 6,0. Por causa da quitosana apresentar pKa em cerca de 6,5, existe a possibilidade de, por consequência do valor do pH do meio ser adjacente, a solução tampão de fosfato de pH = 6,0 não ter conseguido protonar totalmente o grupo amino da quitosana, justificando os resultados próximos ao ensaio de pH 7,2 (ZAIKI, ISKANDAR, WONG, 2023; ZAWADZKI, KACZMAREK, 2010).

4.3.3.1 Modelagem matemática

Os dados experimentais dos ensaios de liberação foram ajustados no *Origin Pro 8* para os modelos matemáticos de ordem zero, Higuchi, Ritger-Peppas e Peppas-Sahlin. Os resultados de ajuste são apresentados resumidamente na Tabela 13.

Tabela 13: Coeficientes lineares obtidos

Experimento	Ordem	Higuchi	Ritger-Peppas	Peppas-Sahlin
pH = 7,2	0,82739	0,94388	0,99241	0,96241
pH = 6,4	0,07961	0,95307	0,96859	0,89836
pH = 6,0	0,48199	0,99301	0,99304	0,94244
pH = 5,0	0,66639	0,97878	0,99508	0,97189

Fonte: Autoria Própria (2024).

Visto que o modelo mais adequado para os dados coletados é aquele que demonstra coeficiente linear R^2 próximo a 1, a equação matemática que melhor descreveu a cinética de liberação para todos os ensaios foi a de Ritger-Peppas, como é exposto na Figura 65 (AHMED, et al., 2019). Com exceção do ensaio de liberação no pH igual a 6,4, os dados apresentaram uma correlação de R^2 igual a aproximadamente 0,99. Nos apêndices A, B e C estão exibidos os gráficos dos ajustes dos demais modelos.

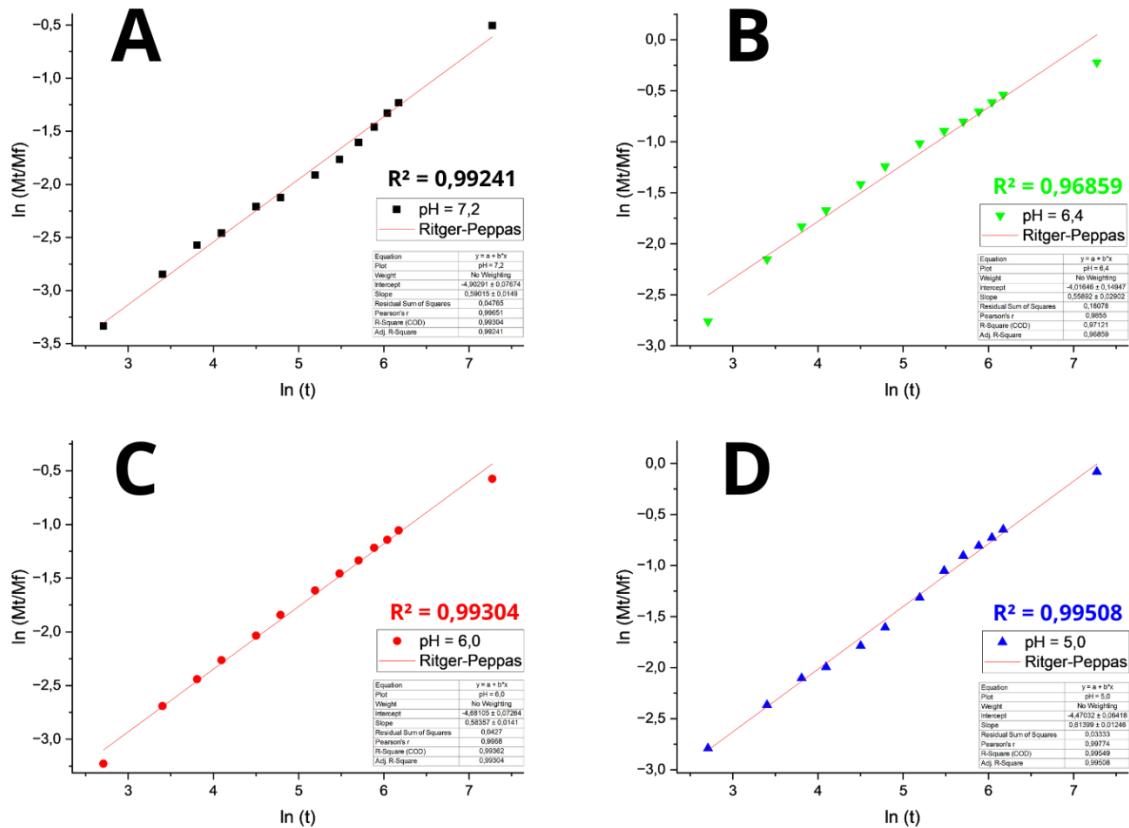


Figura 65: Ajustes para o modelo de Ritger-Peppas dos ensaios (A) pH = 7,2, (B) pH = 6,4, (C) pH = 6,0 e (D) pH = 5,0.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Vale mencionar que o modelo de erosão não foi empregado na pesquisa, pois após a análise da cinética de ordem zero, notou-se que não seria possível assumir que o medicamento se desprende da matriz nessa ordem, como o modelo de Hopfenberg pressupõe (BRUSCHI, 2015; FU e KAO, 2010).

O modelo de Ritger-Peppas é semi-empírico e foi criado para descrever a liberação de medicamentos em sistemas poliméricos que podem sofrer inchamento nas suas cadeias poliméricas, como supõem que ocorre com a matriz de 6-MP/QUI presente no dispositivo. Assim, essa lei da potência pelo seu expoente n , é capaz de identificar qual fenômeno rege a liberação no ensaio analisado (BRUSCHI, 2015).

Na Tabela 14 pode-se visualizar os valores obtidos para os parâmetros e os expoentes n para cada ensaio. Para todos os ensaios, $0,50 < n < 1,0$, apontando que a liberação do dispositivo em diferentes pHs é dado como não-Fickiniano ou sob

transporte anômalo, e, assim, a liberação é controlada tanto pela difusão quanto pelo inchamento. Isto significa que o rearranjo das cadeias poliméricas ocorre lentamente enquanto o processo de difusão causa, simultaneamente, efeitos anômalos dependentes do tempo, como apresentado na Figura 66 (BRUSCHI, 2015).

Tabela 14: Resultados obtidos dos ajustes ao modelo Ritger-Peppas.

Ensaio	K	n
pH = 7,2	0,007	0,59
pH = 6,4	0,018	0,57
pH = 6,0	0,009	0,58
pH = 5,0	0,011	0,61

Fonte: Autoria própria (2024).

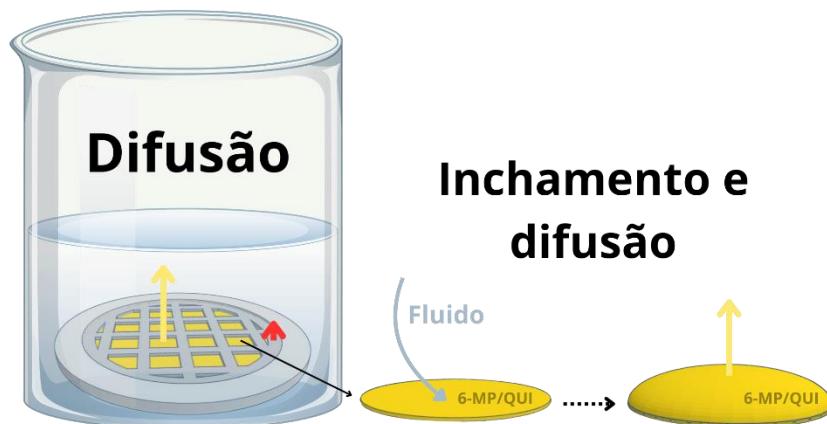


Figura 66: Esquema dos fenômenos de liberação.

Fonte: Autoria Própria (2024).

Com o propósito de corroborar com as possíveis conclusões dessas análises, foram realizadas as microscopias por varredura eletrônica das amostras após ensaios de liberação e esses resultados são apresentados abaixo (Figura 67).

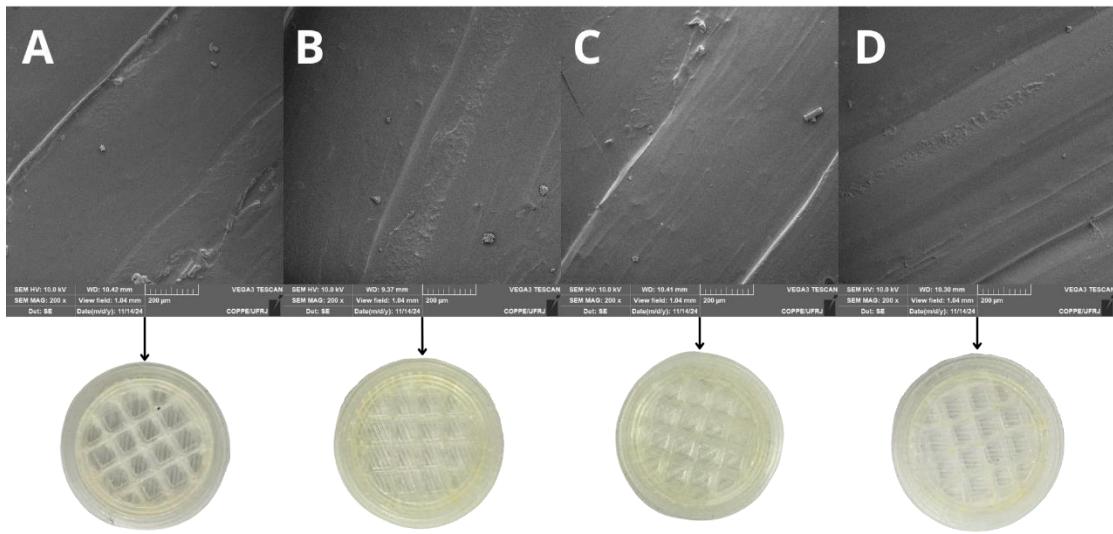


Figura 67: MEV e imagens dos dispositivos pós ensaios (A) pH = 7,2, (B) pH = 6,4, (C) pH = 6,0 e (D) pH = 5,0.

Fonte: Autoria Própria (2024).

A Figura 67 não apresenta diferenças claras nos MEV e nas imagens registradas pós ensaios nas soluções de três maiores pH (7,2, 6,4 e 6,0). Em contrapartida, a análise após o ensaio no meio mais ácido exibe menos partículas na superfície, colaborando com a tese que maior porcentagem do medicamento foi liberado neste experimento.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo desenvolveu dispositivos multicamadas responsivos ao pH usando as metodologias de FDM (Fused Deposition Modeling) e evaporação de solvente. As técnicas de caracterização SEM, EDS, DRX e FTIR foram empregadas para analisar tanto os materiais puros quanto os sistemas produzidos. Estas análises confirmaram a presença do medicamento na camada interna dos dispositivos, demonstrando a eficácia dos métodos de fabricação. Além disso, os resultados apoiam a hipótese de que o fármaco está encapsulado no filme de quitosana, fato que potencialmente aprimora a sua entrega pela característica hidrofílica do polímero.

O teste de permeabilidade validou, preliminarmente, o caráter unidirecional do projeto, pois demonstrou que a barreira de difusão impediu com sucesso que a solução de azul de metileno e a 6-mercaptopurina migrassem para o ambiente em contato com o lado inferior do sistema.

Em termos de estudos de liberação, o maior percentual de liberação do fármaco ocorreu no meio mais ácido, desconsiderando o experimento com maior taxa de erro associado (pH = 6,4). Esse comportamento pode ser explicado pelas características da quitosana, que, quando protonada em condições ácidas, facilita a difusão do fármaco através do inchaço de suas cadeias poliméricas. Para mais, a liberação ocorreu de maneira controlada e prolongada, sem taxas iniciais abruptas, em todos os ambientes testados.

O modelo Ritger-Peppas apresentou-se bem ajustado à cinética de liberação em todos os ensaios realizados, com os expoentes n entre 0,5 e 1,0. Isto sugere que a liberação de 6-MP (6-mercaptopurina) destes dispositivos segue o mecanismo de transporte anômalo. Sendo assim, o perfil de liberação dos sistemas produzidos é influenciado tanto pela difusão como pelo inchaço da cadeia.

Por fim, as propriedades de liberação responsiva desses dispositivos apresentam alternativas promissoras para o tratamento de tumores sólidos, pois permitem a liberação controlada do medicamento que pode ser modulada também pelos níveis de pH.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Dada a relevância do tema e os materiais produzidos, sugere-se realizar os ensaios de liberação nos quatro meios diferentes com os dispositivos de dupla camada para compreender a interferência da segunda deposição na liberação. Para mais, frente ao aparato criado, recomenda-se efetuar experimentos de liberação no aparato para os dispositivos de única e dupla camada. Desta forma, os testes adotariam caráter dinâmico e, simultaneamente, seria possível avaliar a permeabilidade dos sistemas criados.

Também é válido propor a produção e caracterização de dispositivos menores, com diferentes porosidades, com camadas intercaladas de quitosana, quitosana/6-MP e analgésicos, e com suportes impressos de diferentes blendas poliméricas. As alterações nesses parâmetros são sugeridas visando aprimorar a entrega de 6-mercaptopurina, mitigar efeitos colaterais e otimizar o sistema produzido.

Por último, com intuito de analisar a aplicabilidade do sistema, propõe-se a investigação da estabilidade mecânica dos dispositivos responsivos produzidos em condições fisiológicas e o estudo da degradação ao longo do tempo, por um período prolongado ou até total degradação do implante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEPU, S. . & R. S. Controlled drug delivery systems: current status and future directions. **Molecules**, 2021.
- AHMED, L. et al. Study the using of nanoparticles as drug delivery system based on mathematical models for controlled release. **IJLTEMAS**, 2019. 52-56.
- AHN, J. et al. Tumor Microenvironment on a Chip: The Progress and Future Perspective. **Bioengineering**, 2017.
- ALAM, F. .; VARADARAJAN, K. M.; KUMAR, S. 3D printed polylactic acid nanocomposite scaffolds for tissue engineering applications. **Polymer Testing**, 2020.
- ALIOTTA, L. et al. Effect of nucleating agents on crystallinity and properties of poly (lactic acid)(PLA). **European Polymer Journal**, 2017.
- ASENSIO, R. C. et al. Analytical characterization of polymers used in conservation and restoration by ATR-FTIR spectroscopy. **Analytical and bioanalytical chemistry**, 2009.
- BALAU, L. et al. Physico-chemical properties of chitosan films. **Central European Journal of Chemistry**, 2004.
- BORANDEH, S. et al. Polymeric drug delivery systems by additive manufacturing. **Advanced drug delivery reviews**, 2021. 349-373.
- BORBOLLA-JIMÉNEZ, F. V. et al. Films for wound healing fabricated using a solvent casting technique. **Pharmaceutics**, 1914.
- BREITENBACH, J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, 2002. 107-117.
- BRUSCHI, M. L. **Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems**. [S.I.]: Woodhead Publishing, 2015.
- CALIXTO, G. M. F. et al. Chitosan-Based Drug Delivery Systems for Optimization of Photodynamic Therapy: a Review. **AAPS PharmSciTech**, 2019. 1-17.
- CANCER. **World Health Organization**, 2022. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. Acesso em: 6 Novembro 2023.
- CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 2004.
- CARDENAS, G.; MIRANDA, S. P. FTIR and TGA studies of chitosan composite films. **Journal of the Chilean Chemical Society**, 2004.
- CARDOSO, P. H. M. et al. Mechanical and dimensional performance of poly (lactic acid) 3D-printed parts using thin plate spline interpolation. **Journal of Applied Polymer Science**, 2020.

- CHU, B.; HSIAO, B. S. Small-angle X-ray scattering of polymers. **Chemical reviews**, 2001.
- DASH, S. et al. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Pol Pharm**, 2010.
- DATAVIZ. **Cancer Today**, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&types=1&populations=76>. Acesso em: Outubro 2024.
- DAVOODI, P. et al. Drug delivery systems for programmed and on-demand release. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2018. 104-138.
- DAWID-PAC, R. Medicinal plants used in treatment of inflammatory skin diseases. **Postepy Dermatol Alergol**, p. 170-177, Junho 2013.
- DE MASI, A. et al. Chitosan films for regenerative medicine: Fabrication methods and mechanical characterization of nanostructured chitosan films. **Biophysical Reviews**, 2019. 807-815.
- DE OLIVEIRA, D. J. J.; MARQUES, R.; BRACKMANN, R. **DEGRADAÇÃO FOTOCATALÍTICA DO CORANTE AZUL DE METILENO UTILIZANDO COMPOSTOS DE ZINCO**. XII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. São Paulo: [s.n.]. 2017.
- DEEPTHI, S. et al. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, Kochi, n. 93, p. 1338-1353, Março 2016.
- DELCASTIAN, D.; PATEL, A. K. Nanotechnology and drug delivery. In: **Bioengineering Innovative Solutions for Cancer**. [S.I.]: Academic Press, 2020. Cap. 3.1, p. 197-219.
- DERIDDER, L. et al. The past, present, and future of chemotherapy with a focus on individualization of drug dosing. **Journal of Controlled Release**, n. 352, 2022. 840-860.
- DORNIANI, D. et al. Preparation and characterization of 6-mercaptopurine-coated magnetite nanoparticles as a drug delivery system. **Drug Design, Development and Therapy**, 2013.
- DUMPA, N. et al. 3D printing in personalized drug delivery: An overview of hot-melt extrusion-based fused deposition modeling. **International Journal of Pharmaceutics**, 2021. 1-15.
- EBRAHIMIA, F.; DANA, H. R. Poly lactic acid (PLA) polymers: from properties to biomedical applications. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, Aix-en-Provence, 2022. 1-14.
- FACCHINATTO, W. M. et al. Evaluation of chitosan crystallinity: A high-resolution solid-state NMR spectroscopy approach. **Carbohydrate polymers**, 2020.
- FAID, A. H. . H. F. E. Z. . M. E. M. . S. S. A. . B. Y. A. . & S. M. A. Hybrid chitosan gold nanoparticles for photothermal therapy and enhanced cytotoxic action of 6-mercaptopurine on breast cancer cell line. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, 2023.
- FAID, A. H. et al. Gold nanoparticles loaded chitosan encapsulate 6-mercaptopurine as a novel nanocomposite for chemo-photothermal therapy on breast cancer. **BMC Chemistry**, 2022. 1-14.

- FARAH, S.; ANDERSON, D. G.; LANGER, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2016. 1-26.
- FILAMENTO PLA Natural Transparente para Impressora 3D - 3D Fila. **3D Fila**, 2024. Disponível em: <<https://3dfila.com.br/produto/filamento-pla-natural-transparente/>>. Acesso em: Outubro 2024.
- FU, Y.; KAO, W. J. Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. **Expert opinion on drug delivery**, 2010. 429-444.
- GOVINDAN, S. et al. Synthesis and characterization of chitosan–silver nanocomposite. **Applied Nanoscience**, 2012.
- GOVINDAPPA, P. K. et al. Toxicity evaluation of 6-mercaptopurine-Chitosan nanoparticles in rats. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2020.
- GROSVENOR, E. C. et al. On the mechanism of electron beam radiation-induced modification of poly (lactic acid) for applications in biodegradable food packaging. **Applied Sciences**, 2022.
- HIGUCHI, T. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **J. Pharm. Sci**, 1963. 1145-1149.
- IOELOVICH, M. Crystallinity and hydrophility of chitin and chitosan. **J. Chem.**, 2014.
- JAMAL, A. et al. Preparation of 6-Mercaptopurine Loaded Liposomal Formulation for Enhanced Cytotoxic Response in Cancer Cells. **Nanomaterials**, 2022. 1-13.
- JARVIS, K. L.; BARNES, T. J.; PRESTIDGE, C. A. Surface chemical modification to control molecular interactions with porous silicon. **Journal of colloid and interface science**, 2011. 327-333.
- KARPINSKI, P. H. Polymorphism of active pharmaceutical ingredients. **Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology**, 2006.
- KATZHENDLER, I. et al. Modeling of drug release from erodible tablets. **Journal of pharmaceutical sciences**, 1997. 110-115.
- KHAN, J. et al. Exploring the role of polymeric conjugates toward anti-cancer drug delivery: Current trends and future projections. **International journal of pharmaceutics**, 2018. 500-514.
- KRUKIEWICZ, K.; ZAK, J. K. Biomaterial-based regional chemotherapy: Local anticancer drug. **Materials Science and Engineering C**, 2016. 927-942.
- KUMAR, G. P. et al. Anti-cancerous efficacy and pharmacokinetics of 6-mercaptopurine loaded chitosan nanoparticles. **Pharmacological Research**, 2015. 47-57.
- LARACUENTE, M. L.; MARINA, H. Y.; MCHUGH, K. J. Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects. **Journal of Controlled Release**, 2020. 834-856.
- LEE, B. K.; YUN, Y.; PARK, K. PLA micro- and nano-particles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2016. 1-16.
- LI, C. et al. Advances in Medical Applications of Additive Manufacturing. **Engineering**, 2020. 1222-1231.

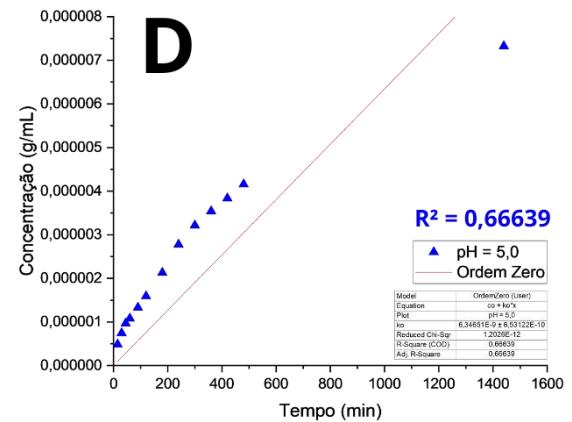
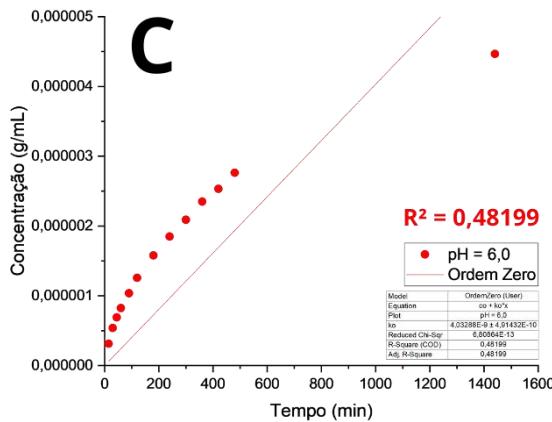
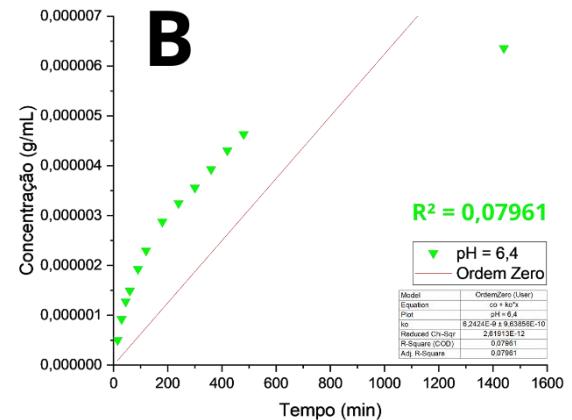
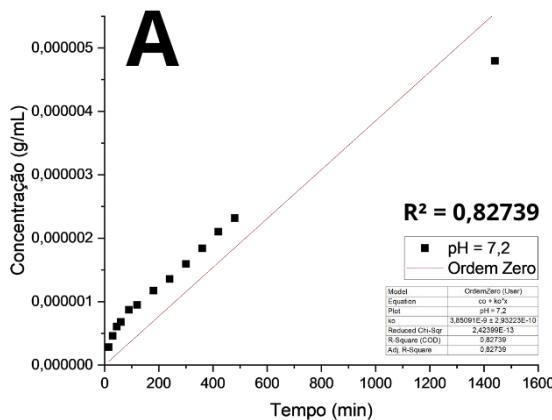
- LI, T.; SENESI, A. J.; LEE, B. Small angle X-ray scattering for nanoparticle research. **Chemical reviews**, 2016.
- LIU, M. et al. Recent advances in electrospun for drug delivery purpose. **Journal of drug targeting**, 2019.
- LU, H. et al. Release kinetics study of fatty acids eutectic mixture gated mesoporous carbon nanoparticles for chemo-photothermal therapy. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2023.
- MARCHI, H. F.; SOEIRO, T. N.; HALASZ, M. R. T. **Estudo da adsorção do corante básico azul de metileno por cascas de Eucalyptus grandis lixiviadas**. XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em iniciação Científica. [S.I.]: [s.n.]. 2015.
- MATOS, B. D. M. et al. Evaluation of commercially available polylactic acid (PLA) filaments for 3D printing applications. **Journal of Thermal Analysis and calorimetry**, 2019.
- MAZLOOM-JALALI, A. et al. Fabrication of chitosan–polyethylene glycol nanocomposite films containing ZIF-8 nanoparticles for application as wound dressing materials. **International journal of biological macromolecules**, 2020.
- MEI, Y. et al. 3D-printed degradable anti-tumor scaffolds for controllable drug delivery. **International Journal of bioprinting**, 2021.
- MIHAESCU, G.; CHIFIRIUC, C. **Imunologie Si Imunopatologie**. [S.I.]: Editura Medicala, 2015.
- MOHAMMED, A.; ABDULLAH, A. **Scanning electron microscopy (SEM)**: A review. Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics—HERVEX. Băile Govora: [s.n.]. 2018.
- MOSAVI, S. H.; ZARE-DORABEI, R. Synthesis of NMOF-5 using microwave and coating with chitosan: a smart biocompatible pH-responsive nanocarrier for 6-mercaptopurine release on MCF-7 cell lines. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, 2022. 2477-2488.
- NARASIMHAN, B.; PEPPAS, N. A. Molecular analysis of drug delivery systems controlled by dissolution of the polymer carrier. **Journal of pharmaceutical sciences**, 1997. 297-304.
- NAVYA, P. N. et al. Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials. **Nano convergence**, 2019. 1-30.
- NEZHAD-MOKHTARI, P.; GHORBANI, M.; MAHMOODZADEH, F. Smart co-delivery of 6-mercaptopurine and methotrexate using disulphide-based PEGylated-nanogels for effective treatment of breast cancer. **New Journal of Chemistry**, 2019.
- NORI, Z. Z. et al. Synthesis and characterization of a new gold-coated magnetic nanoparticle decorated with a thiol-containing dendrimer for targeted drug delivery, hyperthermia treatment and enhancement of MRI contrast agent. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2023.
- PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International journal of pharmaceutics**, 1989. 169-172.

- PHARMA, A. PURINETHOL: Comprimidos. **Aspen Pharma**, 2021. Disponível em: <<https://akuramed.com.br/wp-content/uploads/2021/06/Purinethol-Mercaptopurina-Aspen.pdf>>. Acesso em: Fevereiro 2024.
- PIRCALABIORU, G. G. et al. Nanodrug delivery systems in cancer. In: **Biomedical Applications of Nanoparticles**. [S.l.]: William Andrew Publishing, 2019. p. 31-62.
- PREM, K. G. et al. Preparation, Characterization and In Vitro Drug Release Studies of 6-mercaptopurine Thin Film. **Science, Technology and Arts Research Journal**, 2014.
- PUTTIPIPATKHACHORN, S. et al. Drug physical state and drug–polymer interaction on drug release from chitosan matrix films. **Journal of controlled release**, 2001.
- RANGANATHANT, S. I. et al. **Novel biodegradable and non-biodegradable 3d printed implants as a drug delivery system**. WO2016205361A1, 2016.
- RAZA, K. et al. Polymorphism: The phenomenon affecting the performance of drugs. **SOJ Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, 2014.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in polymer science**, 2006.
- RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of controlled release**, 1987. 23-36.
- ROJAS, F. S.; OJEDA, C. B. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004–2008: A review. **Analytica chimica acta**, 2009.
- SAHDEV, A. K. et al. Update on modified chitosan frameworks and their applications for food, wastewater, toxic heavy metals, dyes treatment and cancer drug delivery. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2022.
- SAHU, B. P. et al. A comprehensive review on different approaches for tumor targeting using nanocarriers and recent developments with special focus on multifunctional approaches. **Pharmaceutical Investigation**, 2022. 539-585.
- SALIM, S. A. et al. Mercaptopurine-Loaded Sandwiched Tri-Layered Composed of Electrospun Polycaprolactone/Poly(Methyl Methacrylate) Nanofibrous Scaffolds as Anticancer Carrier with Antimicrobial and Antibiotic Features: Sandwich Configuration Nanofibers, Release Study []. **International Journal of Nanomedicine**, 2022. 6937–6955.
- SANDLER, N.; PREIS, M. Printed Drug-Delivery Systems for Improved Patient Treatment. **Trends in Pharmacological Sciences**, 2016. 1070-1080.
- SEM Basics. **Myscope.training**, 2024. Disponível em: <https://myscope.training/SEM_SEM_Basics>. Acesso em: Dezembro 2024.
- SETHI3D. **Manual do Usário/ Sethi 3D S4X**. [S.l.]: [s.n.], v. 1, 2024.
- SHARIATINIA, Z. Big family of nano- and microscale drug delivery systems ranging from inorganic materials to polymeric and stimuli-responsive carriers as well as drug-conjugates. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, 2021.

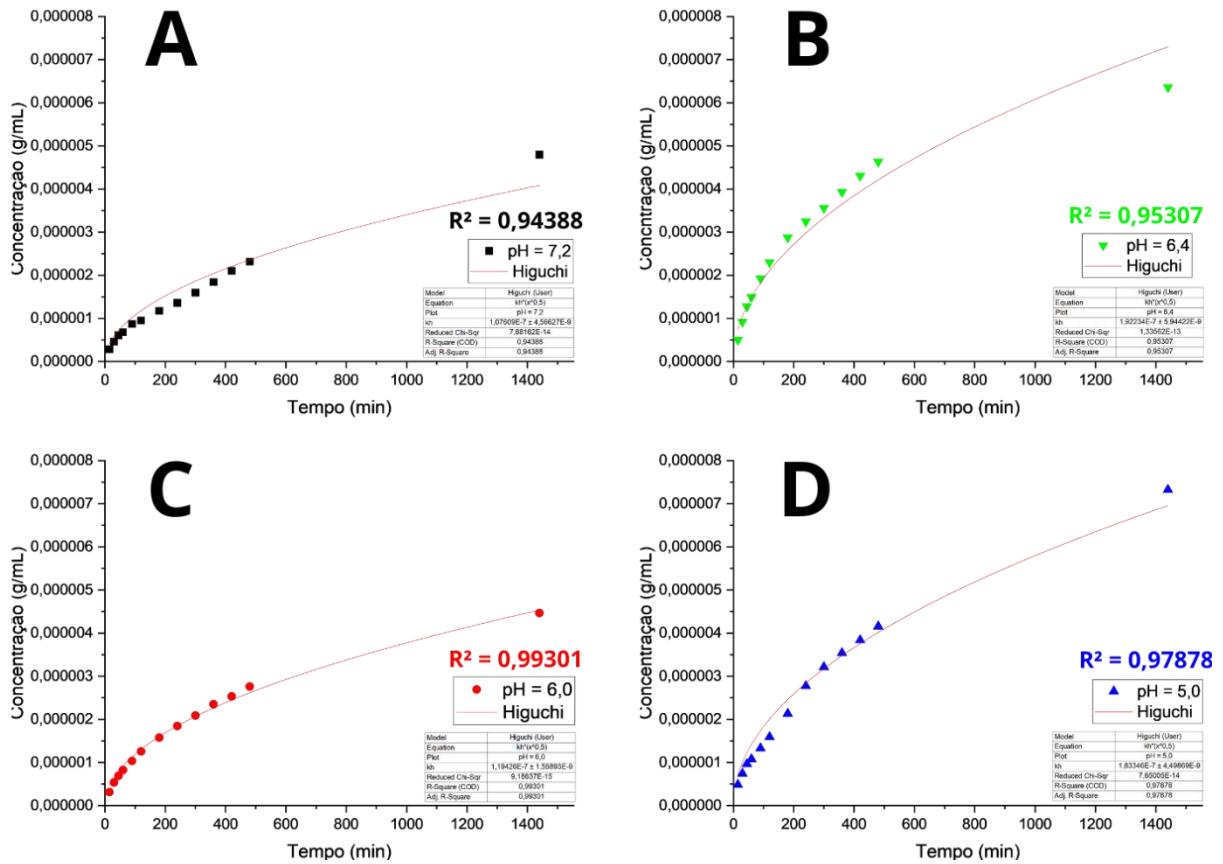
- SIEMANN, U. Solvent cast technology—a versatile tool for thin film production. In: **Scattering methods and the properties of polymer materials**. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2005. p. 1-14.
- SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Modeling of diffusion controlled drug delivery. **Journal of controlled release**, 2012. 351-362.
- SIERPE, R. et al. Construction of 6-thioguanine and 6-mercaptopurine carriers based on β cyclodextrins and gold nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, 2017.
- SIMPLIFY3D. Using the Interface | Simplify3D Software. **Simplify3d.com**, 2024. Disponível em: <<https://www.simplify3d.com/resources/videos/using-the-interface/>>. Acesso em: Outubro 2024.
- SIPARSKY, G. L.; VOORHEES, K. J.; MIAO, F. Hydrolysis of Polylactic Acid (PLA) and Polycaprolactone (PCL) in Aqueous Acetonitrile Solutions: Autocatalysis. **Journal of Environmental Polymer Degradation**, 1998. 1-11.
- START. **Laboratório de Pesquisa em Engenharia de Software**, 2013. Disponível em: <<https://www.lapes.ufscar.br/resources/tools-1/start-1>>. Acesso em: 7 Novembro 2023.
- STORAGE and Handling. **Gliadel**, 2018. Disponível em: <<https://gliadel.com/hcp/storage.php>>. Acesso em: Dezembro 2023.
- SUNG, Y. K.; KIM, S. W. Recent advances in polymeric drug delivery systems. **Biomaterials Research**, 2020.
- TALIB, A. B.; MOHAMMED, H. M. Preparation, characterization and preliminary cytotoxic evaluation of 6-mercaptopurine-coated biotinylated carbon dots nanoparticles as a drug delivery system. **Materials Today**, 2021. 1-7.
- TAN, D. K.; MANIRUZZAMAN, M.; NOKHODCHI, A. Advanced Pharmaceutical Applications of Hot-Melt Extrusion Coupled with Fused Deposition Modelling (FDM) 3D Printing for Personalised Drug Delivery. **Pharmaceutics**, 2018. 1-23.
- TANAKA, K. et al. Role of the major histocompatibility complex class I antigens in tumor growth and metastasis. **Annual review of immunology**, 1988. 359-380.
- TANAKA, R. et al. Characterization of asphaltene aggregates using X-ray diffraction and small-angle X-ray scattering. **Energy & Fuels**, 2004.
- THERMOSCIENTIFIC. **Exploring Uncharted Realms with Electron Microscopy**. [S.l.]: [s.n.], 2024.
- TONG, X. et al. Recent advances in natural polymer-based drug delivery systems. **Reactive and Functional Polymers**, 2020.
- TYLER, B. et al. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2016. 1-13.
- URAL, N. The significance of scanning electron microscopy (SEM) analysis on the microstructure of improved clay: An overview. **Open Geosciences**, 2021.
- WANG, X. et al. Glutathione-triggered “off-on” release of anticancer drugs from dendrimer-encapsulated gold nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, 2013. 9805-9810.

- WITTBRODT, B.; PEARCE, J. M. The effects of PLA color on material properties of 3-D printed components. **Additive Manufacturing**, 2015.
- XU, W.; RIIKONEN, J.; LEHTO, V. P. Mesoporous systems for poorly soluble drugs. **International journal of pharmaceutics**, 2013. 181-197.
- ZAIKI, Y.; ISKANDAR, A.; WONG, T. W. Functionalized chitosan for cancer nano drug delivery. **Biotechnology Advances**, 2023. 1-27.
- ZAWADZKI, J.; KACZMAREK, H. Thermal treatment of chitosan in various conditions. **Carbohydrate Polymers**, 2010. 394-400.
- ZHOU, W. et al. Preparation and evaluation of luteolin-loaded PLA-based shape memory gastroretentive drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, 2024. 1-18.
- ZIELIŃSKA, A. et al. Mesoporous silica nanoparticles as drug delivery systems against melanoma. In: _____ **Design of Nanostructures for Theranostics Applications**. [S.I.]: William Andrew Publishing, 2018. p. 437-466.
- ZOU, Y. et al. Preparation, Characterization, Pharmacokinetic and Therapeutic Potential of Novel 6-Mercaptopurine-Loaded Oral Nanomedicines for Acute Lymphoblastic Leukemia. **International Journal of Nanomedicine**, 2021. 1127–1141.

**APÊNDICE A - AJUSTES PARA O MODELO DE ORDEM ZERO DOS
ENSAIOS (A) PH = 7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0.**



APÊNDICE B - AJUSTES PARA O MODELO DE HIGUCHI DOS ENSAIOS (A) PH = 7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0.



**APÊNDICE C - AJUSTES PARA O MODELO DE PEPPAS-SAHLIN
DOS ENSAIOS (A) PH = 7,2, (B) PH = 6,4, (C) PH = 6,0 E (D) PH = 5,0.**

