



Sónia Filipa Xavier Mendes

LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO EM LENTES DE CONTACTO

Dissertação na área científica de Engenharia Química,
Apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Sónia Filipa Xavier Mendes

LIBERTAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACO EM LENTES DE CONTACTO

Dissertação do Mestrado Integrado em Engenharia Química, sob orientação do Professor Dr. Hermínio José Cipriano de Sousa e da Dra. Mara Elga Medeiros Braga, apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Supervisores:

Prof. Dr. Hermínio José Cipriano de Sousa
Dra. Mara Elga Medeiros Braga

Coimbra
2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

“Somos a memória que temos e a responsabilidade que assumimos.
Sem memória não existimos, sem responsabilidade talvez não mereçamos existir”

José Saramago, in “Cadernos de Lanzarote”

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao Professor Doutor Hermínio Sousa pela sua orientação, apoio, disponibilidade e conhecimento científico partilhado e à Doutora Mara Braga por toda a orientação, paciência, incentivo e disponibilidade para solucionar as dúvidas e problemas que foram surgindo ao longo da execução de todo este trabalho. Agradeço também à Doutora Ana Dias pela ajuda e disponibilidade.

Queria agradecer também aos meus colegas do laboratório, em especial ao António Rosa e ao Rui Churro, por toda a ajuda e companheirismo durante o trabalho experimental.

Aos meus amigos que me acompanharam ao longo de todo o meu percurso académico: Ana Côrte-Real, Cátia Correia, João Costa, Mafalda Cardoso, Marta Coelho, Marta Moura, Ricardo Santos, Samuel Pedro, Sérgio Miranda e Tiago Henriques por terem acolhido a menina “caçula”, por todo o apoio, incentivo, verdadeira amizade, por todos os momentos que passamos juntos e pelo sentido que deram à minha vida académica em Coimbra. Serão certamente amigos que levarei para a vida.

Aos meus amigos de longa data, Patrícia Pina e Rui Almeida, que me aturam há mais de dez anos e que, apesar da distância, estiveram sempre presentes partilhando sorrisos, gargalhadas, alegrias, tristezas, segredos, afetos, palavras de apoio, sinónimos de uma grande e verdadeira amizade.

Por ser, acima de tudo, um amigo, agradeço ao Nuno que me acompanhou de forma incondicional ao longo de toda esta *batalha* pelo incentivo, esforço, dedicação, paciência, companheirismo e por todos os conhecimentos e auxílio na realização desta dissertação.

Para último deixo o agradecimento mais importante: à minha família. À minha irmã e aos meus avós pela sua presença ativa, força, ajuda e pelas palavras amigas. Agradeço do fundo do coração aos meus pais que sempre me apoiaram e ajudaram a acreditar que conseguia alcançar todos os meus objetivos, mesmo nos momentos mais difíceis, pelo esforço, pela paciência, pela educação, pela compreensão, pelo carinho e por tudo aquilo que sou hoje. Sem vocês não teria sido possível!

A todos aqueles que de certa forma contribuíram para a realização deste trabalho e que não foram acima mencionados, obrigada.

RESUMO

Este trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento e aprimoramento da técnica de impregnação/deposição de fármaco em lentes de contacto utilizando dióxido de carbono supercrítico (scCO₂), com o intuito de estudar uma alternativa viável e mais eficiente que as formas farmacêuticas para administração ocular já existente no mercado. Com este propósito pretende-se a obtenção e caracterização de lentes de libertação farmacológica com perfis de libertação controlada e localizada para o tratamento de patologias oculares.

O estudo do efeito de diferentes condições de pressão e temperatura no processo de impregnação para avaliar a sua eficiência tem em conta dois pontos cruciais: a quantidade de fármaco impregnado em cada lente e a ausência de alterações significativas nas propriedades físicas e químicas das lentes de contacto.

Os fármacos utilizados ao longo destes meses de trabalho laboratorial foram o Ácido *all-trans*-Retinóico (ATRA) para o tratamento da síndrome do olho seco e da doença macular degenerativa (DMRI) e a Norfloxacin (NFLX) para o tratamento de infeções oculares. Como matriz polimérica foram utilizadas lentes de contacto comerciais: a Balafilcon A e a Hilafilcon B, que constituem o veículo para o fármaco e conferem a estrutura ao sistema de libertação controlada.

O primeiro sistema estudado foi o ATRA impregnado na Balafilcon A, verificando que se conseguiu impregnar uma quantidade de fármaco que varia entre os 329 e 900 µg em cada lente, dependendo das condições que foram utilizadas. A condição que permitiu impregnar maior quantidade de fármaco foi a de 200 bar à temperatura de 55°C. Os perfis de libertação *in vitro* do fármaco foram traçados com base num período de 6 dias e demonstraram que mais de 89 % do fármaco foi libertado nas primeiras 24 horas do ensaio.

Relativamente à NFLX impregnada na Balafilcon A, concluiu-se que foi possível impregnar cerca de 38 a 170 µg de fármaco em cada lente, tendo-se igualmente verificado que o máximo de impregnação foi para a condição de 200 bar a 55°C. O perfil de libertação obtido durante 8 horas revelou que ao fim de 6 horas de libertação o fármaco presente na matriz já se tinha libertado na totalidade.

O sistema que permitiu alcançar o melhor perfil de libertação controlada foi o do ATRA impregnado na Balafilcon A, uma vez que a libertação do fármaco decorreu ao longo de um período mais elevado quando comparado com os outros sistemas.

Além dos ensaios de libertação *in vitro*, foram realizados estudos de caracterização físico-química e morfológica das lentes de contacto impregnadas recorrendo: à análise de

espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), para verificar a presença do fármaco na superfície do polímero; à avaliação dos ângulos de contacto e da transmitância onde se confirmou que o processo de impregnação/deposição usando scCO₂ não provocou alterações significativas nas propriedades das lentes; e à microscopia eletrónica de varrimento (SEM) onde foi possível afirmar a presença e localização dos fármacos na superfície e no interior da matriz polimérica.

Os resultados obtidos indicam que as lentes de contacto têm um enorme potencial para serem utilizadas enquanto sistemas de libertação farmacológica controlada, em específico na superfície ocular. O trabalho desenvolvido permite a obtenção de conclusões significativas que poderão ser utilizadas como bases sólidas para a continuação do trabalho no sentido de aprimorar o desenvolvimento dos sistemas de libertação propostos recorrendo a esta técnica de impregnação por recurso ao scCO₂.

ABSTRACT

This work had as main aim the development and improvement of the impregnation/deposition technique of drugs in contact lenses using supercritical carbon dioxide (scCO₂), in order to study a viable and more efficient alternative than the ophthalmic drug dosage forms already on the market. With this purpose in mind, we intend to obtain and characterize drug release lenses inside controlled release profile and localized delivery to treat ocular pathologies.

The study of different conditions of pressure and temperature in the impregnation process to evaluate their efficiency takes into account two critical points: the amount of permeated drug in each lens and the absence of significant changes in physical and chemical properties of contact lenses.

The drugs used during these months of laboratory work were *all-trans*-retinoic acid (ATRA) to treat dry eye syndrome and age-related macular degeneration (AMD) and norfloxacin (NFLX) for ocular infections. The drug is transported by the commercial contact lenses, namely the Hilafilcon B and the Balafilcon A, which characterize the way the controlled release system works.

The first system studied was the ATRA impregnated in Balafilcon A, incorporating an amount of drug between 329 and 900 µg in each lens, depending on the conditions used. The condition which allowed the greater amount of drug impregnated was 200 bar at 55°C. *In vitro* release profiles were based on a period of 6 days and showed that over 89% of the drug was released within the first 24 hours of the test.

Regarding NFLX impregnated in Balafilcon A, it was concluded that it was possible to impregnate about 38 to 170 µg of drug in each lens, and the maximum impregnation also occurred in the condition of 200 bar at 55°C. The release profile obtained for 8 hours showed that after the first 6 hours the drug in the matrix had already been totally released.

The system that allowed to achieve the best controlled release profile was the ATRA impregnated in Balafilcon A, as the drug release took place over a higher period when compared with the other systems.

Beside *in vitro* release experiments, physico-chemical and morphological characterization studies were performed about the impregnated contact lenses using: an analysis of spectral Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR) to verify the presence of drug on the polymer; evaluation of the contact angles and transmittance confirming that the process of

impregnation/deposition using the scCO₂ did not cause significant changes in the properties of the lenses; and scanning electron microscope (SEM) making it possible to attest the presence and localization of the drugs on the surface and inside the polymer matrix.

The results indicate that the contact lenses have enormous potential to be used as controlled drug delivery systems, in particular on ocular surface. Taking into account the work results, it can be used as a solid foundation for further preparatory work and development of the proposed delivery systems using this impregnation technique by scCO₂ use.

ÍNDICE

OBJETIVO E MOTIVAÇÃO	1
1. INTRODUÇÃO.....	5
1.1. Lentes de Contacto.....	6
1.2. Sistemas de Libertação Controlada.....	12
1.3. Processo de Impregnação/Deposição de Fármaco usando Dióxido de Carbono Supercrítico.....	16
1.4. Doenças Oftalmológicas	19
1.5. Fármacos Aplicados à Oftalmologia.....	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1. Quantificação de Fármacos.....	33
3.2. Modelos Matemáticos da Libertação Controlada	44
3.3. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	46
3.4. Transmitância.....	48
3.5. Ângulos de Contacto.....	49
3.6. Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM).....	50
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	53
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de material utilizado.....	25
Tabela 2 – Lentes de contacto utilizadas.....	25
Tabela 3 – Condições de operação utilizadas no decurso da atividade experimental e respetiva densidade do CO ₂ e solubilidade de cada fármaco em CO ₂	27
Tabela 4 – Parâmetros cinéticos da libertação do ATRA e da NFLX impregnado na Balafilcon A.....	44
Tabela 5 – Coeficientes de difusão da libertação dos fármacos impregnados na Balafilcon A.....	45
Tabela 6 – Grupos funcionais e respetivos comprimentos de onda (cm ⁻¹) dos fármacos e dos polímeros para análise do FTIR (Launer, 1987; Holler <i>et al.</i> , 2009).....	46
Tabela 7 – Valores de transmitância para as lentes impregnadas para todas as condições de operação.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Composição dos monómeros do material da lente de contacto Balafilcon A (Karlgaard <i>et al.</i> , 2004).....	10
Figura 2 – Composição dos monómeros do material da lente de contacto Hilafilcon B (Yañez <i>et al.</i> , 2011).....	11
Figura 3 – Concentração de fármaco na corrente sanguínea para as várias formas de administração de fármaco (adaptada de Coelho <i>et al.</i> , 2010).....	13
Figura 4 – Interações entre o fármaco, o polímero e o solvente na tecnologia de impregnação utilizando scCO ₂	17
Figura 5 – Anatomia do olho (adaptada de Wikipedia, 2015a).....	19
Figura 6 – Principais causas da síndrome do olho seco (adaptada de Michael <i>et al.</i> , 2007).....	21
Figura 7 – Estrutura química do ATRA (Rosa <i>et al.</i> , 2015).....	23
Figura 8 – Estrutura química da Norfloxacin (Chim <i>et al.</i> , 2012).....	24
Figura 9 – Esquema do procedimento experimental.....	25
Figura 10 – Representação esquemática da célula de impregnação.....	26
Figura 11 – Diagrama experimental do equipamento. Garrafa de CO ₂ ; V – Válvula; C – Compressor; CT – Controlador de Temperatura, BA – Banho de Água; TP – Transdutor de Pressão; CAP – Célula de Alta Pressão; VM – Válvula Macrométrica; Vm – Válvula micrométrica; AM – Agitador Magnético (adaptada de Rosa, 2013).....	27
Figura 12 – Massa de ATRA ao fim de 24h de libertação. Ensaio a 35°C (□) e a 55°C (■).....	33
Figura 13 – Coeficiente de partição (▲) e solubilidade (×) em função da densidade do CO ₂ . A) a 35°C; B) a 55°C.....	34
Figura 14 – Coeficiente de partição (▲) e sorção (×) em função da densidade do CO ₂ . A) a 35°C; B) a 55°C.....	35

Figura 15 – Percentagem de Libertação do ATRA impregnado na lente Balafilcon A durante 6 dias para as várias densidades: 869 kg/m ³ (◇), 929 kg/m ³ (□), 764 kg/m ³ (●) e 852 kg/m ³ (▲).....	37
Figura 16 – Massa de ATRA na Hilafilcon B ao fim de 8h de libertação. Ensaio a 35°C (□) e a 55°C (■).....	37
Figura 17 – Coeficiente de partição ◆ 35°C , ▲ 55°C em função da densidade de CO ₂ . A) Solubilidade do ATRA em CO ₂ : × a 35°C. + a 55°C, B) Sorção da Hilafilcon B em CO ₂ × a 35°C. + a 55°C.....	38
Figura 18 – Percentagem de Libertação do ATRA impregnada na lente Hilafilcon B durante 8h para as densidades estudadas: 869 kg/m ³ (●) e 852 kg/m ³ (▲).....	39
Figura 19 – Massa de NFLX ao fim de 8h de libertação. Ensaio a 45°C (□) e a 55°C (■).....	40
Figura 20 – Coeficiente de partição (▲) e solubilidade (×) em função da densidade em CO ₂ . A) a 45°C; B) a 55°C.....	41
Figura 21 – Coeficiente de partição (▲) e sorção (×) em função da densidade do CO ₂ . A) a 45°C; B) a 55°C.....	42
Figura 22 – Percentagem de Libertação da Norfloxacin impregnada na lente Balafilcon A durante 8h para as várias densidades: 815 kg/m ³ (◇), 892 kg/m ³ (□), 785 kg/m ³ (●) e 870 kg/m ³ (▲).....	43
Figura 23 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com ATRA (—); do ATRA (—); e da Lente Balafilcon A (—).....	47
Figura 24 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com ATRA (—); do ATRA (—); e da Lente Hilafilcon B (—).....	47
Figura 25 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com NFLX (—); da NFLX (—); e da Lente Balafilcon A (—).....	48
Figura 26 – Imagens de SEM da lente Balafilcon A impregnada com ATRA. A) Imagem da superfície da lente de contacto, 1000 X. B) Imagem do corte transversal da lente de contacto, 500 X.....	51
Figura 27 – Imagens de SEM da lente Balafilcon A impregnada com NFLX. A) Imagem da superfície da lente de contacto, 500 X. B) Imagem do corte transversal da lente de contacto, 1000 X.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E NOMENCLATURAS

ATRA – Ácido *all-trans* Retinóico

CAS – *Chemical Abstracts Service number*

CO₂ – Dióxido de Carbono

D – Difusão do Oxigénio no Material

D.k – Permeabilidade ao Oxigénio do Material

D.k/l – Transmissibilidade ao Oxigénio

D₁ – Coeficiente de Difusão – Primeiros 60% de Libertação

D₂ – Coeficiente de Difusão – Últimos 40% de Libertação

DMRI – Doença Degenerativa Macular Relacionada à Idade

EGDMA – Etileno Glicol Dimetacrilato

FDA – *Food and Drug Administration*

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

HEMA – Hidroxietil Metacrilato

K – Constante Cinética de Libertação

k – Solubilidade do Oxigénio no Material

l – Espessura (mm)

M_∞ – Massa de Fármaco Libertado num tempo infinito

MAA – Ácido Metacrílico

M_t – Massa de Fármaco Libertado num tempo *t*

n – Expoente de Libertação

NCVE N – Carboxivinil Ester

NFLX – Norfloxacina

NVP – N-Vinilpirrolidona

P – Pressão (bar)

PBVC – Poli (Polidimetilsiloxano) di(Bilil butanol) bis(Carbamato de Vinil)

scCO₂ – Dióxido de Carbono Supercrítico

SEM – Microscopia Eletrónica de Varrimento

SLC – Sistemas de Libertação Controlada

T – Temperatura (°C)

t – Tempo (h)

TPVC – Propil Vinil Carbamato tris(trimetil Siloxano Silil)

OBJETIVO E MOTIVAÇÃO

Com este trabalho, pretende-se desenvolver e aprimorar o método de impregnação/deposição de fármacos em lentes de contacto utilizando $scCO_2$, com o objetivo de obter um perfil de libertação controlada e localizada para o tratamento de patologias oculares, bem como entender o efeito das diversas condições de processamento na eficiência da impregnação de fármaco.

A investigação científica, com particular enfoque no setor da saúde, é uma área em que a evolução e a busca incessante de novas soluções que melhorem a qualidade de vida dos pacientes são uma constante, na qual se pode integrar o desenvolvimento de sistemas transportadores de fármaco que sejam capazes de armazenar e proteger e de garantir uma libertação controlada no local de ação pretendida.

Colocando o foco nos fármacos cuja via de administração é a tópica ocular, através de colírios e pomadas oftalmológicas, as desvantagens prendem-se, essencialmente, com a elevada concentração de fármaco no momento da administração, a baixa biodisponibilidade, posologia complexa e suscetível de esquecimento (menor *compliance* terapêutica) e maior propensão a efeitos secundários. Tendo em conta estas desvantagens, é necessário procurar e avaliar novas alternativas para colmatar tais inconvenientes. O desenvolvimento de sistemas de libertação controlada favorece o aumento da biodisponibilidade do fármaco, promove a diminuição da probabilidade de ocorrência de efeitos secundários, permite manter a concentração do fármaco dentro da margem terapêutica, reduzindo os riscos de sob e/ou sobredosagem, facilitam a sua administração e posologia, facultando desta forma maior adesão à terapêutica por parte do paciente, o que resulta diretamente num aumento da taxa de sucesso do tratamento.

A grande motivação deste trabalho é poder contribuir para o tratamento de doenças oculares muito comuns na sociedade através do desenvolvimento de uma terapia inovadora e potencialmente mais eficiente que aquelas às que já se encontram no mercado. A Norfloxacin (NFLX) é um fármaco já usado em infeções oculares através de colírios, mas devido às desvantagens da forma de administração, a sua impregnação em lentes de contacto pode tornar-se bastante útil devido ao incremento na sua biodisponibilidade e, desta forma, possibilitar um tratamento mais célere. O ácido *all-trans* retinóico (ATRA) tem sido alvo de estudo por diversos cientistas para o tratamento da síndrome do olho seco e da degeneração macular e, deste modo, torna-se pertinente a realização de estudos de impregnação deste fármaco em lentes de contacto, considerando igualmente as razões acima expressas. As lentes de contacto foram utilizadas como sistema transportador e de libertação do fármaco e consistem numa combinação de materiais poliméricos reticulados compostos por vários monómeros. Atualmente, as lentes

de contacto são amplamente utilizadas em todo o mundo essencialmente para casos de correção ocular e para a vertente puramente estética. No entanto, a sua aplicação no tratamento de patologias oculares através de libertação farmacológica poderá ser uma mais-valia, pois facultava vantagens notórias em termos de adequação da dosagem e regularidade da libertação do princípio ativo (devido à capacidade de modelação, por parte do material polimérico, da quantidade de fármaco que é libertada por unidade de tempo).

Assim, com o presente trabalho, pretendeu-se efetuar a impregnação destes dois fármacos em lentes de contacto recorrendo à tecnologia de impregnação usando scCO₂, uma vez que é um processo que possibilita a incorporação de fármacos hidrofóbicos, propriedade que caracteriza tanto a NFLX como o ATRA. Para que esta técnica de impregnação seja concluída com sucesso é fundamental que não provoque alteração das propriedades físicas, químicas e mecânicas, quer do polímero, quer do fármaco e que a quantidade de fármaco impregnada seja suficiente para estabelecer um mecanismo de libertação controlada no globo ocular e resultar num tratamento seguro e eficaz. Este procedimento é muito vantajoso uma vez que o solvente utilizado (CO₂) não deixa resíduos no material após o seu processamento, evitando desta forma o risco de contaminação do olho e não comprometendo a segurança do produto. A variação das condições de operação permite controlar a quantidade de fármaco a impregnar.

A realização de ensaios de libertação *in vitro* em água para posterior quantificação, recorrendo à espectrofotometria UV/Vis, foi efetuada para avaliar a capacidade/rendimento do processo de impregnação. Outros estudos de caracterização neste tipo de sistemas de libertação controlada (SLC) foram desenvolvidos com o intuito de verificar se este procedimento provocou alterações nas propriedades físico-químicas e morfológicas das lentes de contacto.

Descrição da estrutura da tese

A dissertação encontra-se organizada em quatro capítulos principais compostos por subcapítulos que descrevem os diversos aspetos e conteúdos abordados.

No Capítulo 1, intitulado de **Introdução**, é apresentada a revisão bibliográfica, onde é feito um enquadramento geral relacionado com a temática central deste trabalho e com a apresentação dos conceitos subjacentes. Inicialmente, é relatada uma abordagem geral das lentes de contacto, dando particular ênfase às lentes de contacto terapêuticas. De seguida, são abordados os conceitos inerentes aos sistemas de libertação controlada de fármacos e, posteriormente, é descrito o processo de impregnação/deposição usando dióxido de carbono supercrítico (scCO₂).

Este capítulo descreve também os fármacos utilizados, assim como as doenças oculares que se pretendem tratar.

Nos **Materiais e Métodos**, que compõem o Capítulo 2, são descritos os instrumentos e técnicas utilizadas durante o desenvolvimento deste trabalho experimental nomeadamente a técnica de impregnação propriamente dita e as técnicas de caracterização das lentes de contacto impregnadas.

No Capítulo 3 são apresentados os **Resultados e Discussão**, designadamente o estudo do processo de impregnação e dos sistemas seleccionados e as caracterizações respetivas.

Por fim, no Capítulo 4 enumeram-se as principais **Conclusões e Perspetivas Futuras** com a indicação de sugestões importantes para trabalhos futuros nesta área que se encontra em crescente evolução.

1. INTRODUÇÃO

O olho é caracterizado pela sua estrutura complexa e elevada resistência a substâncias estranhas, nas quais se incluem os fármacos, fazendo da libertação de fármaco na superfície ocular, um dos maiores desafios na área da investigação científica responsável pelo estudo de sistemas de libertação de fármaco. Atualmente, mais de 90% dos fármacos oftálmicos que estão disponíveis no mercado encontram-se sob a forma de soluções e suspensões (Guzman *et al.*, 2013). Este tipo de formulações oftálmicas convencionais apresenta baixa biodisponibilidade ocular devido a vários fatores, tais como os reflexos de lacrimejamento e de pestanejar, absorção não-productiva, drenagem nasolacrimal, degradação metabólica e união a proteínas do fluido lacrimal, além da relativa impermeabilidade da membrana epitelial da córnea (Ghate e Edelhauser, 2006).

Como consequência destas restrições anatómicas e fisiológicas, apenas uma pequena fração da dose de administração é efetivamente absorvida. Com o intuito de ultrapassar esta baixa biodisponibilidade são administradas doses frequentes de fármaco em concentrações elevadas para atingir os efeitos terapêuticos desejados. Esta dosagem descontínua resulta em oscilações nos níveis de fármaco no globo ocular, podendo uma porção significativa da solução aplicada ser absorvida na conjuntiva ou então ser recolhida pelo sistema nasolacrimal e, desta forma ser absorvida pela corrente sanguínea através da cavidade nasal. Este aspeto compromete a segurança do medicamento, uma vez que a presença de fármaco na corrente sanguínea pode induzir efeitos adversos sistémicos indesejados. O timolol, por exemplo, que é um bloqueador dos recetores beta-adrenérgicos utilizado no tratamento do glaucoma, pode provocar um efeito negativo no coração (Guzman *et al.*, 2013). Neste tipo de aplicações, a dose real efetivamente administrada é dependente da técnica de aplicação e da *compliance* do paciente pelo que podem ser observadas variações significativas na concentração do fármaco presente no olho durante o tratamento, existindo fortes possibilidades de ocorrência de sob ou sobredosagens (Sktubalova *et al.*, 2005; Sktubalova *et al.*, 2006).

Os problemas relatados levaram à investigação de alternativas viáveis para a entrega de fármacos oftálmicos. Um sistema de libertação de fármaco ideal deve aumentar o tempo de residência do fármaco no olho e evitar grandes oscilações na sua concentração, bem como reduzir ao máximo a ocorrência de efeitos adversos sistémicos. Tendo em conta este pressuposto, as lentes de contacto afiguram-se como um veículo para entrega de fármaco na superfície ocular capaz de cumprir estes requisitos, conduzindo ao aumento da biodisponibilidade do fármaco. Assim, este aumento na biodisponibilidade corneal leva à diminuição da ocorrência de efeitos adversos (Li e Chauhan, 2006).

Por conseguinte, a investigação relacionada com técnicas que permitam modelar e controlar a taxa de libertação e a capacidade de incorporação de fármaco a partir de lentes de contacto, assume particular relevância nesta área. Com efeito, a técnica de impregnação/deposição de fármaco em lentes através de dióxido de carbono supercrítico merece particular atenção, dado o seu elevado potencial para auxiliar no tratamento de vários distúrbios oculares.

1.1. Lentes de Contacto

Aquando da seleção de um biomaterial deve ter-se em conta a aplicação a que se destina, uma vez que é preponderante que as propriedades físicas, químicas e mecânicas sejam adequadas: resistência, taxa de permeação, rugosidade, bioatividade, (bio)estabilidade, entre outras (Brant, 2008). Para exercerem a sua função de forma apropriada, estes têm que ser obrigatoriamente biocompatíveis para evitar qualquer reação adversa e/ou eventual rejeição por parte do organismo humano (Bergmann, 2013).

O desenvolvimento das lentes está intimamente relacionado com a ideia de se obter, simultaneamente, uma melhor acuidade visual e o máximo de conforto, com o menor número de complicações possíveis, tais como: redução da oxigenação da córnea, secura ocular, estimulação de respostas alérgicas e inflamatórias, infeção e sensibilização ao trauma mecânico causado pelas próprias lentes de contacto.

Existem dois tipos de lentes, as flexíveis e as rígidas (hidrogéis e hidrogéis de silicone, respetivamente) que podem ter características especiais, como é o caso das lentes corretivas, coloridas/estéticas e terapêuticas. As lentes de contacto tratam-se de moléculas de elevado peso molecular, formadas por unidades moleculares que se repetem designadas por monómeros.

1.1.1. Lentes de Contacto Terapêuticas

As lentes de contacto terapêuticas foram desenvolvidas para o tratamento de doenças da superfície ocular, nomeadamente: reduzir a dor causada por abrasões, erosões e úlceras corneais, proteger a córnea que apresenta ceratite filamentar, facilitar e manter a cicatrização epitelial, permitir a libertação de fármacos na superfície ocular e reduzir o desconforto ocular após sutura da córnea, cirurgia ou transplante (Christie, 1999).

Existe uma grande variedade de lentes de contacto terapêuticas que podem ter por base um hidrogel ou um hidrogel de silicone e a sua escolha dependerá sempre da doença a ser tratada, do tempo de uso e das necessidades fisiológicas do olho do paciente.

As lentes de hidrogel de silicone são compostas por um material flexível e apresentam uma transmissibilidade ao oxigênio superior às lentes de hidrogel. Estas lentes tornaram-se a melhor opção para o uso na terapêutica de patologias oculares, já que o objetivo é proteger e recuperar o epitélio corneal (Christie, 1999; Coral-Ghanem *et al.*, 2009). Estudos com lentes terapêuticas de hidrogel de silicone comprovaram a recuperação de alterações na córnea em 74% a 91% dos casos e 78% a 94% dos pacientes relataram alívio da dor (Montero *et al.*, 2003; Ambroziak *et al.*, 2004).

Para que um polímero de hidrogel e de hidrogel de silicone seja funcional, deve possuir características físicas muito importantes, tais como: ser ópticamente transparente, ter um índice de refração semelhante ao da córnea, 1,3375 (Blasiak *et al.*, 2014), ser suficientemente permeável ao oxigênio, possuir propriedades mecânicas adequadas e ser biocompatível com o olho (Maldonado e Efron 2003).

Existem várias estratégias para criar sistemas de libertação de fármacos a partir de lentes de contacto que diferem entre si pela complexidade do processo, pela facilidade de monitorizar as condições de operação, de modo a controlar a quantidade de fármaco que é possível incorporar e/ou retardar/aumentar o tempo de libertação de fármacos, pela capacidade de incorporar fármacos hidrofílicos e/ou hidrofóbico e pelo rendimento inerente ao processo (Hu, 2011):

- Impressão molecular, através da criação de sítios ativos específicos na estrutura da matriz para o fármaco.
- Sorção das lentes de contacto numa solução que contém o fármaco que se pretende incorporar.
- Encapsulamento de fármaco em sistemas coloidais que funcionam como sistemas transportadores dispersos nas lentes e atuam como reservatórios de fármaco;
- Modificação da superfície das lentes de contacto, encapsulando fármaco em lipossomas e promovendo a sua ligação à superfície côncava e convexa da lente;
- Sobreposição de camadas alternadas entre polímero e fármaco, o que permite uma libertação gradual à medida que o meio atinge cada uma das camadas de fármaco;
- Afinidade entre a lente de contacto e o fármaco, adicionando-se copolímeros hidrofílicos/ hidrofóbicos durante a síntese e considerando as suas proporções;
- Não efetuar qualquer alteração na lente, utilizando apenas a técnica de impregnação de fármaco usando dióxido de carbono supercrítico (scCO₂) e, caso seja necessário, associar um co-solvente.

O tema central prende-se com a impregnação/deposição de fármacos usando o scCO₂ como intermediário. Apesar de ser uma estratégia relativamente recente, já existem alguns trabalhos desenvolvidos ao longo dos últimos anos para o tratamento de glaucoma, utilizando maleato de timolol e acetazolamida, e para o tratamento da doença degenerativa macular (DMRI), das cataratas e da retinopatia diabética usando o flurbiprofeno (Costa *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2011a).

O produto que se pretende desenvolver é composto por duas unidades associadas, a lente de contacto e o fármaco. Por essa razão designa-se por Produto Combinado, que consiste na combinação de um dispositivo médico com um fármaco (Lauritsen e Nguyen, 2009). Por dispositivo médico entende-se “qualquer instrumento, aparelho, equipamento, *software*, material ou artigo utilizado isoladamente ou combinado (...) cujo principal efeito pretendido no corpo humano não seja alcançado por meios farmacológicos, imunológicos ou metabólicos, embora a sua função possa ser apoiada por esses meios, destinado pelo fabricante a ser utilizado em seres humanos para fins de: i) diagnóstico, prevenção, controlo, tratamento ou atenuação de uma doença; (...)” (Infarmed, 2015a). Com efeito, as lentes de contacto enquadram-se nesta definição dado o objetivo da sua utilização. Tendo em conta a duração do contacto, o facto de não ser invasivo e, principalmente, a anatomia afetada pela sua utilização (olho), são consideradas dispositivos médicos de classe II a (risco reduzido/médio) (Comissão europeia, 2012).

1.1.2. Polímeros Sob a Forma de Hidrogéis

Os hidrogéis constituem um grupo de materiais poliméricos com propriedades hidrofílicas, apresentando cadeias mais ou menos reticuladas, que interferem diretamente na sua estabilidade física e, capacidade de reter e absorver uma grande quantidade de água, mantendo incondicionalmente a sua estrutura tridimensional. No estado desidratado, a maior parte dos hidrogéis são duros e quebradiços, no entanto, é devido aos grupos hidrofílicos que o polímero incha com a água, tornando-se menos rígido e conferindo-lhe propriedades elásticas. Estas propriedades são semelhantes às dos tecidos vivos, pois apresentam consistência semelhante aos tecidos moles do organismo e baixa tensão superficial com água e fluidos biológicos, conferindo assim biocompatibilidade (Malmonge e Zavaglia, 1997).

A maior parte das lentes de contacto são de hidrogel de *poli*HEMA (poli Hidroxietil Metacrilato) reticuladas com EGDMA (Etileno Glicol Dimetacrilato). Estas lentes são caracterizadas pelo conteúdo em água relativamente elevado para o transporte de oxigénio, pela

boa estabilidade térmica e química e pela menor rigidez do material. No entanto, a água tem uma capacidade limitada para dissolver e transportar o oxigénio, reduzindo a permeabilidade ao oxigénio (Jones, 2012).

A córnea necessita de oxigénio para desempenhar as suas funções metabólicas, mas dado que a córnea é desprovida de vasos sanguíneos, o transporte de oxigénio é feito através da lágrima e do meio ambiente.

A utilização de lentes de contacto acaba por funcionar como um obstáculo à passagem de oxigénio para a córnea, portanto é fundamental que a lente seja permeável ao oxigénio para que a fisiologia corneal se mantenha saudável, evitando efeitos adversos graves como o edema corneal (Guzman *et al.*, 2012).

Este transporte de oxigénio para a córnea depende da permeabilidade do material ($D \times k$) (em que D é a difusão do oxigénio no material e k é a solubilidade do oxigénio no material) e da sua espessura (l), sendo que uma maior permeabilidade oferece maior conforto, uso mais prolongado e melhor saúde ocular. Daqui surge o termo da transmissibilidade ao oxigénio, definido por Dk/l , que evidencia que, quanto mais fina for a lente maior será o transporte de oxigénio para a córnea (Jones, 2012).

As lentes de hidrogel de silicone são polímeros de elevada permeabilidade ao oxigénio. Este tipo de lentes tem na sua constituição cadeias flexíveis de cruzamentos entre silício e oxigénio que, originam o siloxano, principal constituinte do silicone. Esta flexibilidade contribui para facilitar a passagem de mais oxigénio do que a própria água, pelo que a permeabilidade ao oxigénio deixa de estar diretamente relacionada com a quantidade de água que se encontra em cada lente, ao contrário do que como acontece no caso das lentes de hidrogel (Van der Worp *et al.*, 2014).

O hidrogel de silicone possui também radicais hidrófilos e pontes de hidrogénio que se cruzam com moléculas do polímero em malhas tridimensionais que contribuem para a absorção de água no polímero. Combinando os componentes hidrofílicos e hidrofóbicos dos hidrogéis de silicone, originam-se lentes mais confortáveis pela capacidade de hidratação e pela manutenção das propriedades fisiológicas devido à sua alta permeabilidade ao oxigénio (possuindo um Dk elevado). No entanto, o hidrogel de silicone é ligeiramente mais duro devido ao aumento do módulo de elasticidade que confere maior resistência do material à deformação sobre pressão. Como a superfície da lente pode ser hidrofóbica, pode causar algum desconforto (Ngai *et al.*, 2005). Contudo, foram desenvolvidos processos de modificação da superfície da lente para se alterar esse carácter hidrofóbico (Maldonado e Efron, 2003).

As lentes de contacto, dependendo da sua finalidade, apresentam diferentes composições, pois alterando os monómeros envolvidos nas reações de polimerização obtêm-se propriedades diferentes consoante aquilo que se pretende.

Ao longo deste trabalho utilizaram-se dois tipos de lentes de contacto da *Bausch & Lomb*, um deles composto pelo polímero Balafilcon A e outro composto pelo polímero Hilafilcon B. O facto de serem compostas por diferentes polímeros apresentam diferentes propriedades que terão influência direta na quantidade de fármaco que pode ser incorporado por intermédio do sistema de impregnação de alta pressão.

A lente de Balafilcon A pertence à 1ª geração de lentes de hidrogel à base de silicone. É processada através da copolimerização via radical livre e de ligações cruzadas entre os quatro monómeros apresentados na Figura 1: N-Vinilpirrolidona (NVP), Propil Vinil Carbamato tris(Trimetil Siloxano Silil) (TPVC), Poli (Polidimetilsiloxano) di(Silil Butanol) bis(Carbamato de Vinil) (PBVC) e N-Carboxivinil Ester (NCVE).

Este polímero apresenta baixo teor de água, cerca de 36% m/m, o que diminui o transporte de oxigénio para o olho. No entanto, de forma a ultrapassar esta desvantagem e melhorar o conforto do uso da lente por parte do paciente, este tipo de lente possui uma boa estrutura à base de silício que auxilia no transporte do oxigénio para o interior do olho. Além disso, as lentes de Balafilcon A são sujeitas a um tratamento tecnológico designado *Performa*® que modifica a superfície da lente mediante a oxidação de plasma, aumentando a sua hidrofiliidade devido à transformação do silicone da superfície em compostos de silicato hidrofílicos e, conseqüentemente, melhorando a sua capacidade de humedecimento (Braga *et al.*, 2011a).

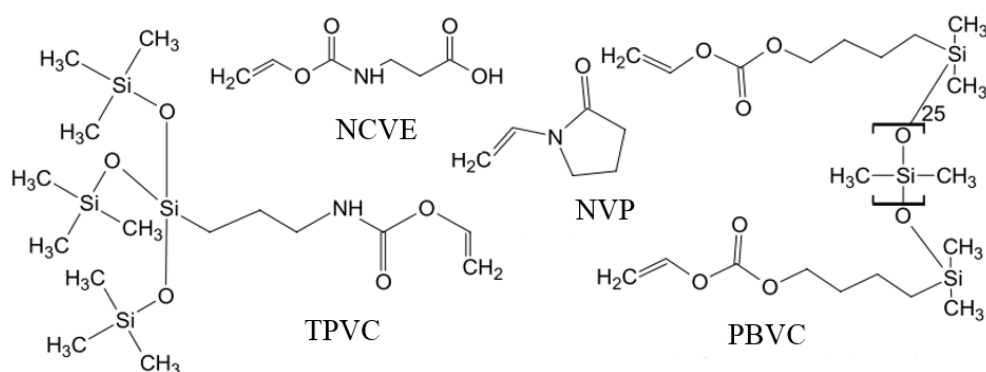


Figura 1 – Composição dos monómeros do material da lente de contacto Balafilcon A (Karlgaard *et al.*, 2004).

O monómero NVP aumenta a hidrofiliidade do polímero devido à amida (N-C=O) que tem carácter polar e o grupo carbonilo possui dois locais onde a água se pode ligar por pontes de hidrogénio. Desta forma, o aumento do conteúdo de NVP melhora a estabilidade dos hidrogéis por aumento da capacidade de hidratação da lente (Garrett *et al.*, 2000). O NCVE, também

possui propriedades hidrofílicas devido ao grupo carboxilo (OH). O PBVC e o TPVC são os pré-monomeros mais hidrofóbicos, com várias ligações de siloxanos. O PBVC assume a função de reticulante, cujo papel principal é aumentar a integridade e a estabilidade do polímero. Este polímero é mais ramificado, conferindo propriedades mecânicas mais rígidas. A lente apresenta uma coloração azulada que está relacionada com o tingimento efetuado com o corante *Reactive Blue Dye 246*, de modo a facilitar o seu manuseamento por parte do paciente (Baush & Lomb, 2008).

A Balafilcon A é uma lente de contacto iónica de baixa hidratação que pertence ao grupo 3 segundo a FDA (*Food and Drug Administration*) (Karlgaard *et al.*, 2004).

A lente Hilafilcon B é um hidrogel e, ao contrário da lente de Balafilcon A, este polímero possui um teor em água mais elevado (cerca de 59% m/m), apresentando uma permeabilidade ao oxigénio limitada. Este tipo de lente também é processado através da copolimerização por via radical livre com os monómeros apresentados na Figura 2: Ácido Metacrílico (MAA), Hidroxietil Metacrilato (HEMA), N-Vinilpirrolidona (NVP) e Etileno Glicol Dimetacrilato (EGDMA).

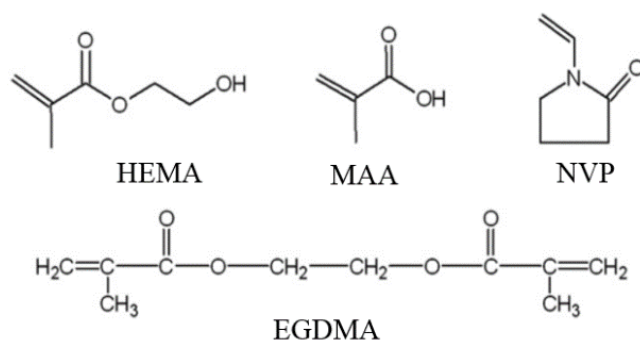


Figura 2 – Composição dos monómeros do material da lente de contacto Hilafilcon B (Yañez *et al.*, 2011).

O comportamento hidrofílico do HEMA deve-se ao grupo hidroxilo (OH) que aumenta a hidratação da lente e o conforto por parte do usuário. Através de ligações por pontes de hidrogénio estabelecidas entre os grupos de hidroxilo e as moléculas de água, estas são difundidas para o interior da matriz polimérica (Maldonado e Efron 2003). O monómero NVP, como supracitado, confere hidrofiliidade ao polímero. O MAA é um dos monómeros mais utilizados em lentes de hidrogel pelo facto de ser extremamente hidrofílico. O EGDMA é um monómero não iónico que funciona como reticulante e apresenta um papel preponderante na integridade e estabilidade das cadeias do polímero (Karlgaard *et al.*, 2004).

A Hilafilcon B pertence ao grupo 2 segundo a FDA, pois é uma lente não-iônica de alta hidratação (Karlgaard *et al.*, 2004) e, tal como a Balafilcon A, também é tingida com *Reactive Blue Dye 246* (Bausch & Lomb, 2003).

1.2. Sistemas de Libertação Controlada

Os SLC de fármaco são normalmente constituídos por uma estrutura polimérica biocompatível, onde se incorporam agentes terapêuticos para o tratamento de determinadas doenças. Incorporando o fármaco numa matriz polimérica, este funciona como sistema transportador de compostos ativos até ao local de ação desejado. Para que um SCL seja funcional é necessário ter em conta vários fatores: o local de ação do fármaco; o tipo de material polimérico onde se vai incorporar o fármaco; as características do próprio fármaco, e as interações entre a matriz polimérica e o fármaco (Chien e Lin, 2007).

A aposta em SLC está em crescimento devido ao facto de apresentar inúmeras vantagens quando comparados com os sistemas de libertação convencional: controlo da concentração de substâncias ativas; manutenção da concentração de fármaco no intervalo compreendido entre a concentração mínima efetiva e a concentração máxima tolerada, que se designa por margem terapêutica (Figura 3); evita a sobredosagem e mantém os períodos efetivos da atuação do fármaco; maximiza a relação dose-eficácia; aumenta a adesão à terapêutica por parte do paciente; reduz os efeitos secundários e o número de administrações.

Este tipo de libertação permite um maior controlo da farmacocinética, que consiste no estudo do percurso que o fármaco segue no organismo, desde o processo de absorção, passando pela distribuição, e metabolização, até à sua eliminação (Vilar *et al.*, 2012). A escolha de um SLC é, seguramente, afetada pelo perfil de libertação que se pretende, sendo necessário ter-se em consideração dois parâmetros muito importantes para a seleção do material mais adequado, nomeadamente, a margem terapêutica e o período de ação que se pretende (Lee *et al.*, 2010).

A formulação de materiais de hidrogel normalmente permitem prolongar o tempo de residência do fármaco no local da absorção, mantendo a libertação do fármaco num período de tempo convencional e com uma maior biodisponibilidade (Dodane e Vilivalam, 1998).

Através da combinação de fatores como o comprimento da cadeia polimérica, o tipo de átomos que entra na sua constituição (carbono, hidrogénio, oxigénio, entre outros) e o arranjo geométrico, é possível formar polímeros com propriedades únicas e distintas, originando um material de uso particular e para determinada função (Maldonado e Efron, 2003).

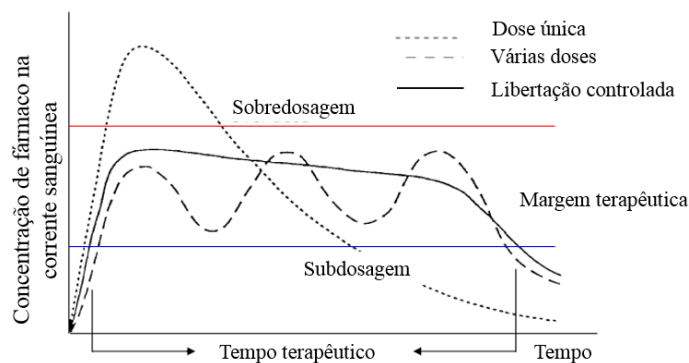


Figura 3 – Concentração de fármaco na corrente sanguínea para as várias formas de administração de fármaco (adaptada de Coelho *et al.*, 2010).

O perfil de liberação de fármacos é influenciado pelas características do meio de liberação e pelas propriedades físico-químicas do fármaco e do polímero. O grau de reticulação do polímero, a localização do fármaco na matriz polimérica, o tempo de difusão do fármaco no meio de liberação e a capacidade de absorção de água são parâmetros muito importantes na análise do perfil de liberação.

Os SLC de fármacos a partir de materiais poliméricos podem ser classificados em três categorias, consoante o mecanismo que controla a liberação de fármaco: difusão; ativação pelo solvente; ou por ação química. No caso em estudo, a liberação dá-se pelos dois primeiros mecanismos que serão descritos de seguida (Li *et al.*, 2007).

A liberação controlada pela difusão consiste no transporte de moléculas de fármaco para o meio externo através da matriz polimérica e está dividida em dois tipos: sistemas de reservatório e sistemas matriciais. Nos sistemas de reservatório, o fármaco está rodeado por uma membrana polimérica não degradável, através da qual o fármaco se difunde lentamente. No sistema matricial, o fármaco encontra-se disperso uniformemente ou dissolvido numa matriz polimérica onde o fármaco se difunde lentamente para o meio de liberação (Malmonge e Zavaglia, 1997; Li *et al.*, 2007).

A difusão descreve a facilidade com que o fármaco se move através do polímero e pode ser afetado pelas características de ambos. A taxa de liberação é controlada pela taxa de difusão do fármaco através da matriz.

Os sistemas de liberação que são ativados pelo solvente também estão divididos em dois grupos: pela absorção de água (*swelling*) ou pela pressão osmótica. No primeiro caso, o fármaco encontra-se dissolvido/disperso num hidrogel e, neste caso, a taxa de liberação do fármaco é controlada pela taxa de absorção de água da matriz polimérica, havendo uma aumento das cadeias de polímero e, conseqüentemente, a difusão do fármaco. A liberação através da pressão

osmótica é controlada pelas concentrações do fármaco no exterior e no interior de uma membrana semi-permeável, originando um fluxo do fluido do exterior para o interior do dispositivo, forçando a solução saturada que se encontra no interior a sair pelo orifício presente na membrana (Malmonge e Zavaglia, 1997; Li *et al.*, 2007).

No presente trabalho, a libertação controlada de fármaco dá-se por difusão matricial e pela ativação do solvente pela absorção de água.

1.2.1. Formas de Administração de Fármacos na Superfície Ocular

A forma de administração de fármacos na superfície ocular é quase exclusivamente feita através de colírios devido ao baixo custo, simplicidade da formulação e boa aceitação por parte dos pacientes (Braga *et al.*, 2008). No entanto, como referido, apresentam baixa biodisponibilidade. Existem inúmeras alternativas viáveis para a libertação de fármaco no globo ocular que apresentam maior eficiência, tais como inserções, *punctal plugs* e lentes de contacto (Lang, 1995; Hu *et al.*, 2011). Com efeito, há vários estudos que confirmam que as lentes oferecem uma maior biodisponibilidade da substância ativa para a córnea devido à localização da lente no olho.

Dada a maior sensibilidade e biodisponibilidade na superfície ocular, os fármacos podem apresentar alguns efeitos secundários para o organismo quando a concentração é muito alta. Por outro lado, se a concentração for muito baixa não ocorre efeito terapêutico, não sendo possível tratar a patologia (Lang, 1995).

Além disso, o tratamento de problemas oculares pode ser um processo moroso que pode estender-se de vários dias até várias semanas. O tempo de tratamento para ser eficaz deve relacionar a concentração de fármaco e o tempo de residência do fármaco em contacto com a córnea.

A formulação de produtos farmacêuticos tem como propósito inicial na sua conceção a definição da forma como o fármaco é libertado e entregue no local de ação. Com efeito, existem dois tipos de libertação: a forma convencional ou de libertação imediata e a forma de libertação modificada, na qual se insere a libertação controlada de fármacos.

As formas farmacêuticas convencionais exercem uma libertação rápida e indiscriminada do fármaco. Assim, após a administração do medicamento, surge um pico plasmático correspondente à concentração máxima da substância ativa na corrente sanguínea, seguindo-se uma diminuição exponencial da sua concentração. Desta forma, para restabelecer os níveis

terapêuticos, são necessárias várias administrações, de modo a garantir que a concentração plasmática seja superior à concentração mínima eficaz, abaixo da qual a substância ativa não exerce qualquer efeito terapêutico. Como exemplo de libertação convencional tem-se o uso de colírios que apresentam algumas desvantagens significativas no tratamento de doenças oculares. Apenas uma percentagem muito reduzida do fármaco contido nas gotas oftálmicas é eficazmente utilizada, enquanto uma grande parte dos fármacos pode entrar na circulação sistémica, quer por absorção conjuntival quer por drenagem no interior da cavidade nasal (Hu *et al.*, 2011). De forma a contornar este obstáculo, pode optar-se por aumentar a concentração de fármaco na formulação, mas esta alteração pode resultar num grande aumento da concentração inicial no momento da libertação que pode ultrapassar a margem terapêutica aconselhada, resultando em sobredosagem. Além disto, como são necessárias várias administrações ou dosagens maiores, a suscetibilidade à ocorrência de efeitos colaterais aumenta e a adesão à terapêutica por parte do doente pode ficar comprometida.

Existem também pomadas oftálmicas que podem permanecer mais tempo em contacto com a córnea; no entanto, podem afetar a visão e provocar irritação do tecido ocular (Hu *et al.*, 2011).

Tendo em conta o facto de as formas farmacêuticas clássicas apresentarem diversas desvantagens associadas a uma eficácia terapêutica reduzida, tornou-se perentório o desenvolvimento de formas de libertação alternativas. Deste modo, a libertação controlada permite controlar a velocidade de libertação do fármaco, permitindo direcioná-lo para o tecido alvo e mantendo a atividade terapêutica durante o período desejável. A biodisponibilidade da substância ativa através do uso de lentes de contacto impregnadas com fármaco é cerca de 50%, sendo muito superior quando comparada com as soluções de colírio que é de 1 a 5% (Pisella *et al.*, 2002; Baudouin *et al.*, 2010). As lentes de contacto impregnadas com fármaco têm uma maior biodisponibilidade para a córnea porque o fármaco libertado fica aprisionado entre a lente e o filme lacrimal durante cerca de 30 minutos, ao contrário dos 2 a 5 minutos proporcionado pelos colírios (Deshpande e Shirolkar, 1989). O aumento do tempo de residência conduz a uma maior absorção do fármaco pela córnea, reduzindo a dose necessária para um tratamento eficiente e, desta forma, melhorar o perfil de segurança do fármaco no organismo.

Outra vantagem das lentes de contacto impregnadas está relacionada com o aumento da adesão à terapêutica, uma vez que a complexidade de posologia é menor e muitos dos usuários poderão também necessitar de lentes de contacto para correção da visão (Pisella *et al.*, 2002; Baudouin *et al.*, 2010).

1.3. Processo de Impregnação/Deposição de Fármaco usando Dióxido de Carbono Supercrítico

Neste trabalho utilizou-se como fluido supercrítico o dióxido de carbono (CO_2 com temperatura e pressão acima do seu ponto crítico: -31.1°C e 73.8 bar (Morèrea *et al.*, 2011)) que assume a função de solvente, pois é amplamente utilizado por ser um composto químico abundante e barato, não inflamável, seguro, inerte, muito solúvel em meios aquosos, e apresenta a capacidade de inchar, plastificar e diminuir a temperatura de transição vítrea da maioria dos materiais poliméricos (Braga *et al.*, 2011a). Devido a estas características, este solvente é utilizado em extrações de produtos naturais, impregnação de fármacos em matrizes poliméricas, *foaming* de polímeros, entre outros (Velaga *et al.*, 2002; Braga *et al.*, 2008; Braga *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2014).

Os sistemas de controlo de libertação de fármacos destinados à administração ocular obtidos por impregnação através de scCO_2 possuem inúmeras vantagens. Esta tecnologia é caracterizada por não alterar as propriedades físicas, químicas e mecânicas do polímero e não danificar o fármaco. Para além disso, possibilita a obtenção de matrizes poliméricas previamente preparadas e de dispositivos biomédicos que podem ser posteriormente impregnados com fármacos; proporciona ainda a impregnação de fármacos hidrofóbicos, que não podem ser impregnados por imersão em solução. A estas vantagens acresce o facto de não se usarem solventes tóxicos e após o processamento, o CO_2 não deixa resíduos no material. Trata-se de um processo ajustável, uma vez a que variação das condições de operação (pressão, temperatura, tempo de processamento, taxa de despressurização e a adição do solvente) permite controlar a quantidade de fármaco a impregnar.

Vários estudos foram realizados utilizando scCO_2 para impregnação de fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos em lentes de contacto comerciais. Quando o fármaco possui pouca afinidade com o scCO_2 , é necessária a adição de um co-solvente, como o etanol ou a água, para facilitar a impregnação do fármaco na matriz.

Dada a sensibilidade do material utilizado e as condições supercríticas a que é sujeito, existe um conjunto de interações (Figura 4) entre o fármaco, o polímero e o solvente que requerem um estudo prévio para que a impregnação seja eficiente. Essas interações são: a solubilidade do fármaco no solvente; a afinidade e a solubilidade do fármaco no polímero; e a interação entre o solvente e o polímero, que compreende a solubilidade que o solvente tem no polímero e, desta forma, o inchamento e plastificação que o solvente causa na matriz polimérica.

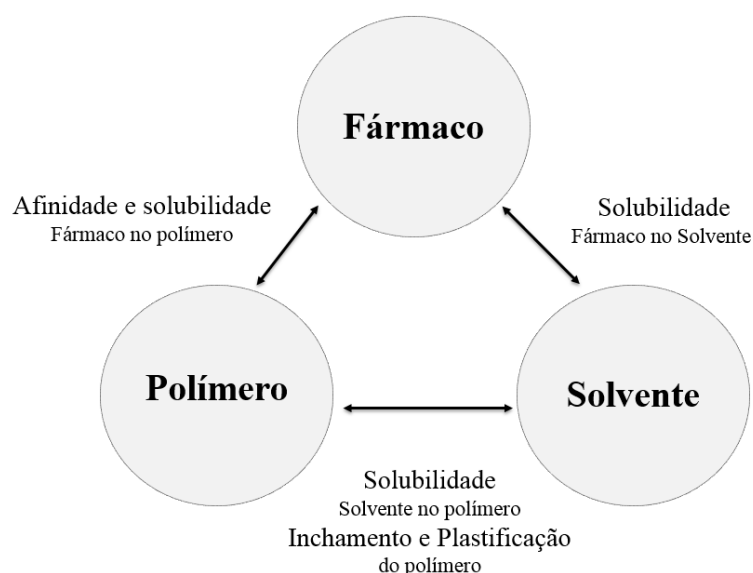


Figura 4 – Interações entre o fármaco, o polímero e o solvente na tecnologia de impregnação utilizando scCO₂.

Esta técnica consiste em três passos sequenciais muito importantes.

Primeiramente, ocorre a dissolução do fármaco no CO₂, à temperatura e pressão pré-estabelecidas (acima da temperatura e pressão críticas). Sequencialmente, coloca-se a mistura fluida resultante do passo anterior em contacto com a matriz sólida (lente de contacto) durante um período de tempo conveniente. Neste passo, a mistura fluida comprimida, irá difundir-se para o interior da matriz dissolvendo-se nela, favorecendo a ocorrência de um efeito plastificante temporário. Por fim, após o tempo de contacto considerado conveniente, procede-se à remoção da mistura fluida comprimida, através da despressurização. No final, recupera-se a lente de contacto impregnada com o fármaco e livre de solventes (Kazarian, 2000, Kikic e Vecchione, 2003; Beckman, 2004).

Em condições supercríticas, o fluido comprimido pode também atuar como fluido de inchamento e de plastificação do polímero, ajudando na difusão do fármaco para o interior da matriz. Isto acontece devido à alta sorção e solubilidade do CO₂ em alguns polímeros, promovendo o inchamento do polímero e alterando temporariamente as suas propriedades mecânicas, promovendo o efeito de plastificação. Este efeito ocorre devido à redução da temperatura de transição vítrea, que é caracterizada pelo aumento da mobilidade dos segmentos dos polímeros e pelo aumento da distância entre as suas cadeias (Kikic e Vecchione, 2003; Fleming e Kazarian, 2005).

No caso da estrutura polimérica ter um carácter mais hidrofóbico e o fármaco também, existirá uma maior afinidade entre ambos e, desta forma, a solubilidade do fármaco no CO₂ irá diminuir, o coeficiente de partição entre o fármaco e o solvente irá aumentar e, conseqüentemente, a massa de fármaco impregnada na matriz será maior.

Por outro lado, se a estrutura polimérica for mais hidrofóbica e o fármaco for hidrofílico, o polímero irá ter menor afinidade com o fármaco. A solubilidade do fármaco no CO₂ irá aumentar, o coeficiente de partição entre o fármaco e o solvente será menor e, como consequência, a massa impregnada de fármaco na matriz será mais baixa.

Para que se possa iniciar o processo de impregnação, é condição imperativa ter conhecimento da solubilidade dos fármacos no scCO₂, que constitui outra interação envolvida no processo. Neste sentido, foram realizadas investigações por Rosa *et al.*, 2015, acerca do estudo da solubilidade do ATRA em scCO₂ e por Chim *et al.*, 2012 sobre o estudo da solubilidade da NFLX em scCO₂.

Outro aspeto também relevante é o máximo de sorção que o scCO₂ tem nas matrizes poliméricas a utilizar. Braga *et al.*, 2011b realizou um estudo relativo à sorção de scCO₂ nas lentes de contacto Balafilcon A e Hilafilcon B. O resultado obtido para o máximo de sorção foi de 14h após o início da impregnação, tendo sido levado em consideração este parâmetro na realização deste trabalho.

Através do estudo realizado por Rosa *et al.*, 2015 concluiu-se que durante o processo de impregnação utilizando scCO₂ a dissolução e a re-precipitação do ATRA no CO₂ levam à redução do tamanho das partículas sólidas do fármaco. Isto indica que esta tecnologia apresenta também um potencial interessante para ser usada na micronização de fármacos sólidos. Esta redução de tamanho leva a uma melhoria no desempenho do processo de dissolução dos fármacos em fluidos biológicos. Verificou-se também que, a taxa de dissolução do fármaco micronizado é cerca de 59% superior quando comparada com a do fármaco não micronizado. Assim, este melhoramento na performance do processo de dissolução favorece o aumento da biodisponibilidade do fármaco na corrente sanguínea.

1.4. Doenças Oftalmológicas

Anatomia e fisiologia do olho

O olho humano é responsável por um dos sentidos mais importantes para o ser humano. Permite-nos interpretar as cores, formas e dimensões de tudo o que nos rodeia.

O olho é um sistema complexo, uma vez que o nervo ótico é capaz de detetar os raios de luz e transformá-los em impulsos elétricos que são processados e interpretados a nível cerebral.

O globo ocular é responsável por captar a luz refletida pelos objetos, consistindo numa esfera com cerca de 24 mm de diâmetro que está suspensa na cavidade óssea pelos músculos que controlam os seus movimentos e por uma espessa camada de tecido adiposo no interior do crânio que protege o olho e que permite que ele se movimente com facilidade (Seeley *et al.*, 2003).

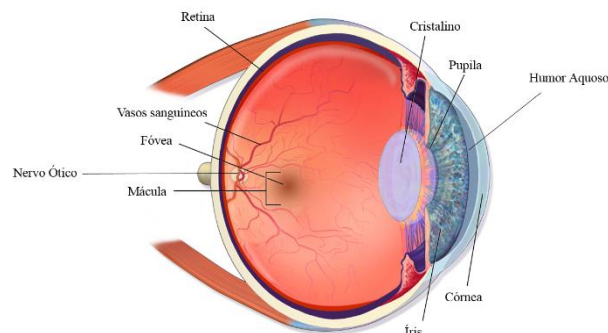


Figura 5 – Anatomia do olho (adaptada de Wikipedia, 2015a).

A córnea é um tecido transparente que cobre a íris (Figura 5) e possibilita a passagem dos raios de luz. Essa luz passa através do humor aquoso, que é um líquido responsável por fornecer nutrientes à córnea e ajuda a manter a pressão intra-ocular. Posteriormente, incide no globo ocular pela pupila, que controla a quantidade de luz que chega à retina, atingindo de seguida o cristalino. O cristalino, converge os raios luminosos para um foco sobre a retina, tornando as imagens mais nítidas.

A retina tem como principal função receber os fotoestímulos através de dois tipos de fotorreceptores: os cones, que são responsáveis pela visão a cores, e os bastonetes, que são responsáveis pela intensidade luminosa (Netter, 2000; Seeley *et al.*, 2003).

No centro da retina está uma pequena mancha amarela, a mácula lútea, que congrega na sua parte central, a fóvea, que é onde a luz é focada normalmente. Esta estrutura compreende uma maior acuidade visual devido à elevada densidade de células fotorreceptoras e pelo facto dos raios de luz não terem que atravessar muitas camadas de tecido antes de atingir as células fotorreceptoras.

O sistema lacrimal produz e elimina as lágrimas, conseguindo um equilíbrio entre a lubrificação da córnea e a limpeza da superfície ocular. O filme lacrimal é constituído por três camadas, a camada lipídica, a camada aquosa e a camada mucosa e, tem como funções, a hidratação da superfície ocular, nomeadamente a córnea e a conjuntiva; o metabolismo do olho pelo transporte de oxigénio, dióxido de carbono e nutrientes, a defesa e proteção dos olhos contra partículas e bactérias do meio ambiente e a lubrificação para os movimentos das pálpebras e favorecer o melhor funcionamento do centro ótico (Gossman, 2004).

1.4.1. Síndrome do Olho Seco

A síndrome do olho seco, também conhecida por síndrome de disfunção lacrimal ou ceratoconjuntivite seca, é uma doença crónica que é caracterizada pela diminuição da produção da lágrima ou pela deficiência de alguns dos seus componentes.

Esta patologia surge de forma lenta e pode começar por causar sintomas quase impercetíveis ou atingir quadros clínicos bastante graves e sintomáticos que comprometem a saúde ocular, provocando desconforto ocular, perturbação visual e instabilidade do filme lacrimal com potenciais danos da superfície ocular (Michael *et al.*, 2007).

A síndrome do olho seco afeta quase dois milhões de portugueses (Bayer, 2015). Nos Estados Unidos da América esta doença predomina em 8% dos pacientes com doenças auto imunes, dos quais 78% são mulheres. O mesmo estudo indica que a prevalência da doença é de 14% em adultos com idades entre 48-91 anos (Gayton, 2009).

Na evaporação do filme lacrimal, quando se descreve como causa extrínseca a alteração da superfície ocular, refere-se a uma má lubrificação do olho que pode causar danos na córnea. A causa principal associada a esta alteração é a carência da vitamina A no olho (Xeroftalmia).

A vitamina A é extremamente importante para o olho, pois ajuda no desenvolvimento das células caliciformes da conjuntiva. Quando existe carência de vitamina A, o número de células caliciformes diminui, tornando o filme lacrimal pouco viscoso e com rutura muito precoce, causando também lesão dos ácinos da glândula lacrimal, pelo que este parâmetro estará também associado à deficiência aquosa do filme lacrimal (Michael *et al.*, 2007).

Na Figura 6 encontram-se esquematizadas algumas das causas associadas a esta doença.

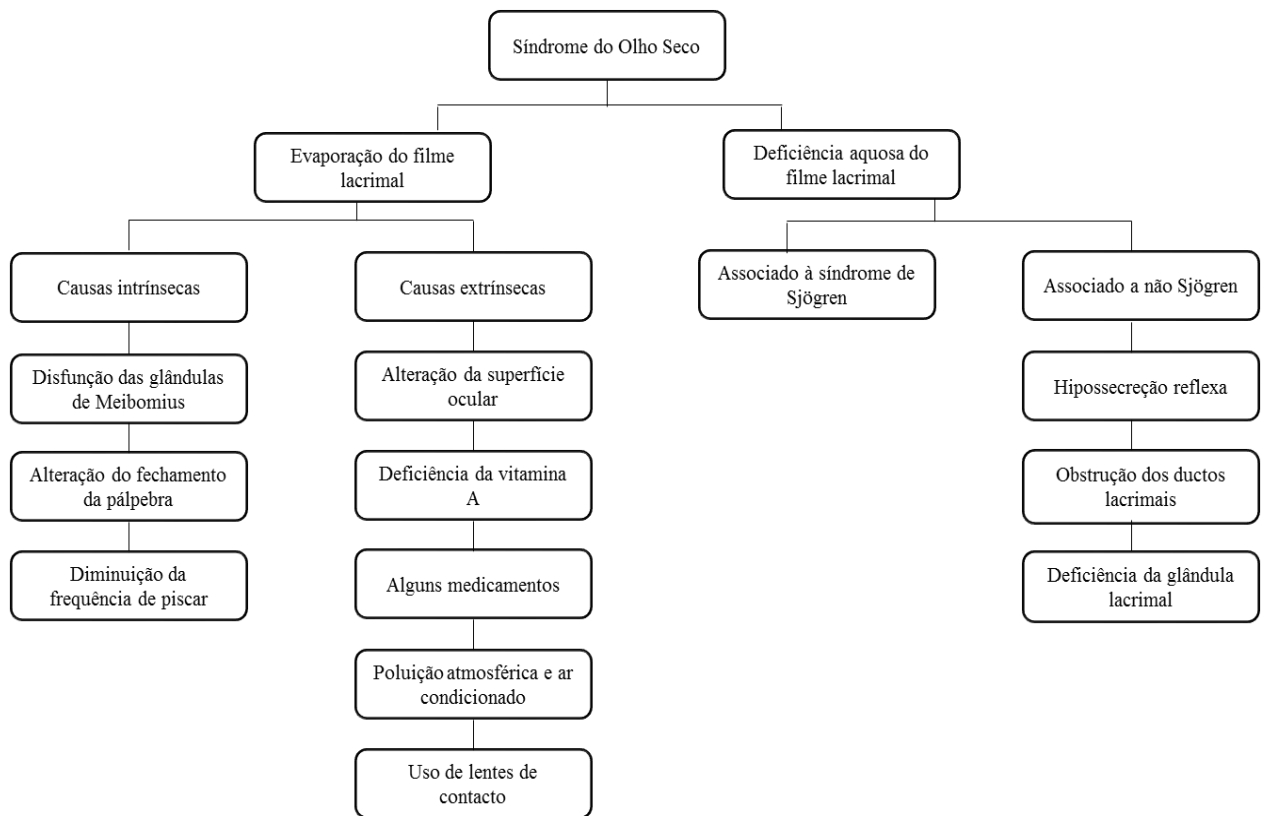


Figura 6 – Principais causas da síndrome do olho seco (adaptada de Michael *et al.*, 2007).

1.4.2. Degeneração Macular

A doença macular degenerativa relacionada à idade (DMRI) caracteriza-se pela perda de visão central, sendo considerada a maior causa de cegueira em pessoas com idade superior a 65 anos, quando não tratada (Michalska-Malecka *et al.*, 2015). Deste modo, as mais simples tarefas que impliquem a coordenação olho-mão, a condução, a leitura, o reconhecimento de rostos, entre outras, estão comprometidas. Facilmente se percebe que esta patologia restringe severamente a independência dos idosos, até então, saudáveis (Trial, 2010). Estudos relacionados com esta doença revelam que níveis elevados de antioxidantes reduzem significativamente o risco de DMRI avançada e a perda de visão associada (NEI, 2015). Dado o carácter antioxidante do ATRA, este pode ser considerado uma alternativa viável para a terapia da DMRI.

Dados oficiais em Portugal indicam que existem cerca de 355 mil pacientes, ou seja, cerca de 4% da população portuguesa é afetada por esta doença (SPO, 2015). Já, nos Estados Unidos esta patologia apresenta uma prevalência em cerca de 11 milhões de pessoas (Bightfous, 2015).

Os fatores de risco associados a esta doença são a idade (fator predominante), o sexo (maior incidência no sexo feminino), a raça, fatores hereditários e fatores pessoais, nomeadamente, hábitos tabágicos, exposição às radiações solares, cor da íris (azul é mais suscetível) e presença de cataratas (Maryadele, 2011).

Existem dois tipos de DMRI, a seca e a exsudativa. A seca é diagnosticada pela presença de drusas (proteínas e gorduras que se depositam abaixo da retina) de tamanho médio e com pequenas áreas de hiperpigmentação. As pessoas com DMRI precoce geralmente não sofrem perda total de visão (Michalska-Malecka *et al.*, 2015).

Na DMRI exsudativa ocorre o desenvolvimento anormal de novos vasos sanguíneos que crescem sob a retina. Este fenómeno pode causar danos na mácula de forma mais rápida e grave, nomeadamente a perda total da visão central (Michalska-Malecka *et al.*, 2015).

O stress oxidativo é a condição biológica que provoca o desequilíbrio celular devido à produção de espécies reativas de oxigénio, que parecem desempenhar um papel crucial na patogénese da DMRI. As espécies reativas de oxigénio são substâncias que provocam danos nas células, nomeadamente a redução da reparação celular e a diminuição dos níveis de antioxidantes. As espécies reativas de oxigénio vão reagir com o oxigénio causando hipoxia celular, que é a diminuição dos níveis de oxigénio, que é contrabalançado pela formação de novos vasos sanguíneos com o objetivo de aumentar o afluxo de oxigénio na mácula, originando assim a doença (Blasiak *et al.*, 2014).

Estudos comprovam que o ATRA possui propriedades antioxidantes capazes de contrariar o estado oxidativo em que se encontram as células (Beatty *et al.*, 2000; Blasiak *et al.*, 2014).

1.5. Fármacos Aplicados à Oftalmologia

Dependendo da doença que se pretende tratar, é necessário efetuar um estudo prévio para entender qual a melhor estratégia e qual o fármaco mais indicado para a patologia em questão. Para além das características farmacodinâmicas e farmacocinéticas de cada fármaco, é imperativo avaliar outros parâmetros fulcrais para a realização deste trabalho, nomeadamente, as propriedades físico-químicas de cada componente e as possíveis interações entre eles: a hidrofília/hidrofobia do fármaco, a solubilidade e a densidade deste em dióxido de carbono em condições supercríticas.

Tendo em conta estes parâmetros, os fármacos selecionados para cada tipo de doença foram o ATRA, para o tratamento da síndrome do olho seco e da degeneração macular, e a Norfloxacin para o tratamento de infeções oculares.

O ácido *all-trans* Retinóico (ATRA) cuja estrutura ($C_{20}H_{28}O_2$), está representada na Figura 7, é também conhecido por tretinoína. Trata-se da forma oxidada da Vitamina A, pertencendo à classe dos retinoides, pelo que desempenha funções essenciais em todo o corpo (na visão, na regulação da proliferação e diferenciação celular, no crescimento ósseo, na defesa imunológica

e na supressão tumoral) (Fast, 1997). Primariamente, é utilizado no tratamento da acne vulgaris devido ao aumento da atividade mitótica do epitélio folicular; também é administrado em casos de leucemia promielocítica aguda e pode ser uma mais-valia no caso da DMRI (Blasiak *et al.*, 2014) e no caso do síndrome do olho seco.

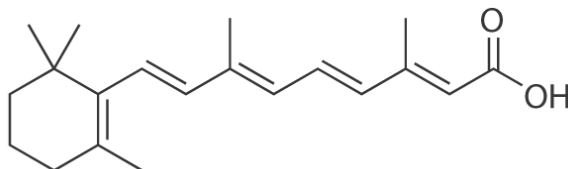


Figura 7 - Estrutura química do ATRA (Rosa *et al.*, 2015).

A xeroftalmia é uma condição médica que se caracteriza pela dificuldade do olho em produzir lágrima, causando a secura da conjuntiva e da córnea. É comum em crianças, grávidas e idosos, e, de entre as causas mais comuns, a deficiência grave em vitamina A é a mais reportada, podendo causar visão noturna anormal ou até mesmo cegueira noturna. A administração tópica do ATRA provou ser útil no tratamento da xeroftalmia, erosões epiteliais da córnea e anormalidades relacionadas com a superfície ocular em coelhos (Harrison, 1983; Yavuz, 2012).

O carácter antioxidante do ATRA confere-lhe interesse no tratamento de patologias associadas ao stress-oxidativo, como é o caso da DMRI (Beatty *et al.*, 2000; Siddikuzzaman e Grace, 2012).

O ATRA apresenta-se sob a forma de um pó amarelo/laranja claro, devendo ter-se particular cuidado no seu acondicionamento devido ao facto de ser extremamente sensível à luz. É solúvel em dimetilsulfóxido e éter, levemente solúvel em polietilenoglicol 400 (PEG 400), octanol, etanol (100%) e clorofórmio e pouco solúvel em água, óleo mineral e glicerina (Infarmed, 2015b).

O máximo de absorção do ATRA em água observa-se para um comprimento de onda de 285 nm, o que permite a sua quantificação por espectrofotometria UV/VIS nos ensaios de libertação. A estrutura da Norfloxacin (NFLX) (C₁₆H₁₈FN₃O₃) está representada na Figura 8. Trata-se de um antibiótico pertencente à família das quinolonas, nomeadamente das fluoroquinolonas, devido à presença de um substituinte flúor.

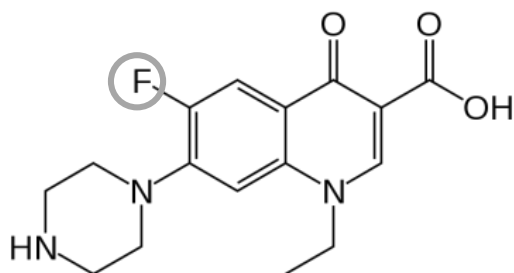


Figura 8 – Estrutura química da Norfloxacin (Chim *et al.*, 2012).

A NFLX sob a forma farmacêutica de colírio é um medicamento utilizado em afeções oculares como anti-infeccioso tópico (Fast, 1997). Trata-se de uma fluoroquinolona de largo espectro, ou seja, possui atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, envolvidas nas infeções superficiais do olho (Infarmed, 2015c).

No que concerne às características físico-químicas deste fármaco, encontra-se sob a forma de um pó cristalino branco, sendo higroscópico e também fotossensível. Relativamente à solubilidade, a Farmacopeia Europeia revela que é um fármaco muito pouco solúvel em água e ligeiramente solúvel em acetona e em álcool (Infarmed, 2015c).

O máximo de absorção da NFLX em água observa-se para um comprimento de onda de 272nm.

Dada a necessidade de, no caso dos colírios, se aplicar cerca de 1 a 2 gotas no olho ou olhos afetados, 4 vezes ao dia durante um período mínimo de 5 dias (Infarmed, 2015c), o uso de lentes de contacto impregnadas com NFLX afigura-se como uma boa alternativa no que diz respeito ao incremento à adesão à terapêutica por parte do paciente devido à simplificação da posologia.

O grande objetivo deste trabalho experimental foi desenvolver uma forma de administração ocular de fármacos oftalmológicos através de lentes de contacto. A tecnologia utilizada foi a impregnação/deposição usando scCO₂ e foram testadas dois tipos de lentes de contacto comerciais, a Balafilcon A e a Hilafilcon B.

A seleção dos fármacos utilizados teve como base o seu mecanismo de ação e o *state of the art* relacionado com as patologias oculares para as quais se procura fornecer uma alternativa viável para o seu tratamento. O ácido *all-trans*-retinóico tem forte potencial para o tratamento da síndrome do olho seco e da doença macular degenerativa relacionado com a idade e a norfloxacin que é comumente utilizada no tratamento de infeções oculares, sob a forma de colírio

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos utilizados ao longo do trabalho experimental, assim como alguns princípios teóricos das técnicas usadas, encontram-se descritos de seguida.

2.1. Materiais

Os materiais utilizados para a atividade experimental, o peso molecular, o distribuidor, a pureza e o *Chemical Abstracts Service (CAS) number*, encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Lista de material utilizado.

Material	Peso Molecular (g mol ⁻¹)	Ponto de fusão (°C)	Solubilidade em água (mg ml ⁻¹)	Distribuidor	Pureza (%)	CAS
Ácido <i>all-trans</i> Retinóico	300,44	180-182 ¹	0,035	Sigma-Aldrich	≥ 98	302-19-4
Norfloxacina	319,33	220-221 ¹	0,28 ³		≥98	70458-96-7
Dióxido de Carbono	44,01	-55,6 ²	1,7 a 20°C ²	Praxair, Espanha	>99,99, v/v	124-28-9

1-Ponto de fusão dos fármacos - Maryadele *et al.*, 2011.

2-Propriedades do CO₂ - Wikipédia, 2015b.

3-Solubilidade da NFLX em água - Pubchem, 2015.

As lentes de contacto utilizadas, assim como as suas características, encontram-se na Tabela 2 e o esquema do procedimento experimental pode ser consultado na Figura 9.

Tabela 2 – Lentes de contacto utilizadas.

Lente	Potência Esférica	Curva Base (mm)	Diâmetro Ø _T (mm)	Quantidade de Água % (m/m)	D×k
Balafilcon A (Bausch & Lomb)	-4,00	8,6	14,0	36	101
Hilafilcon B (Bausch & Lomb)	-8,00	8,6	14,2	59	22

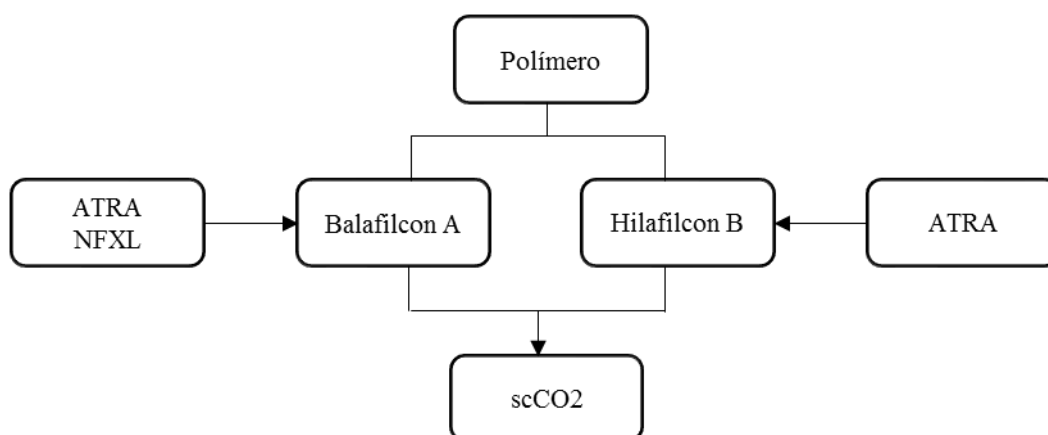


Figura 9 – Esquema do procedimento experimental.

2.2. Métodos

2.2.1. Impregnação de Fármaco utilizando a Tecnologia de Dióxido de Carbono Supercrítico

Antes de se introduzirem as lentes de contacto comerciais na célula, estas são deixadas imersas em água destilada sob agitação magnética durante cerca de 24h para remover o máximo de cloreto de sódio contido na solução de armazenamento.

Na célula de alta pressão (Figura 10), dividida em 5 andares, introduzem-se no primeiro andar 10mg de fármaco e um agitador magnético. No segundo andar, insere-se apenas um anel de inox e, com auxílio de redes previamente preparadas, inserem-se sete lentes de contacto nos três andares seguintes, também separadas por anéis perfurados nas laterais. As lentes são introduzidas na vertical para diminuir a probabilidade de deposição de fármaco na superfície da lente durante a despressurização.

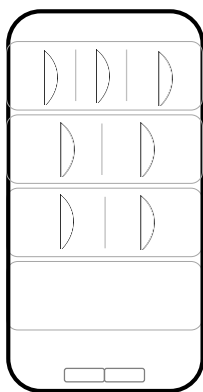


Figura 10 – Representação esquemática da célula de impregnação.

O fármaco é impregnado nas lentes através utilizando a tecnologia de $scCO_2$. Na Figura 11, podem observar-se a constituição e o mecanismo de funcionamento do sistema através da esquematização de um diagrama experimental do equipamento. Este equipamento é composto por uma bomba de líquido de alta pressão, um banho de água com temperatura controlada (Thermoscientific, Haake AC 150), uma célula de alta pressão com 23 cm^3 de volume, um manómetro (Lab DMM, transdutor REP), válvulas de alta pressão e uma placa de agitação magnética para homogeneizar a mistura.

Depois de acondicionar as amostras dentro da célula de alta pressão, esta é imersa num banho de água termostático à temperatura que se pretende, consoante a condição que se deseja estudar. De seguida, o CO_2 armazenado na garrafa passa pelo compressor, onde se regula a pressão a que se pretende operar e, posteriormente, a célula é saturada com CO_2 até se atingir a pressão desejada. O sistema é mantido à temperatura e pressão pré-estabelecidas durante 14h (Braga *et al.*, 2011b) para que se alcance a completa saturação da matriz polimérica com o CO_2 .

Após esta etapa, procede-se à despressurização do sistema até à pressão ambiente, a uma taxa de 1bar/min, mantendo a temperatura do banho constante. Este processo deve ser realizado de forma lenta para não danificar as lentes e o fármaco residual é coletado no final para um recipiente com água, precipitando-o, para não contaminar o ambiente. Por fim, recolhem-se as lentes impregnadas com o fármaco e reservam-se numa caixa de humidade (75-80%).

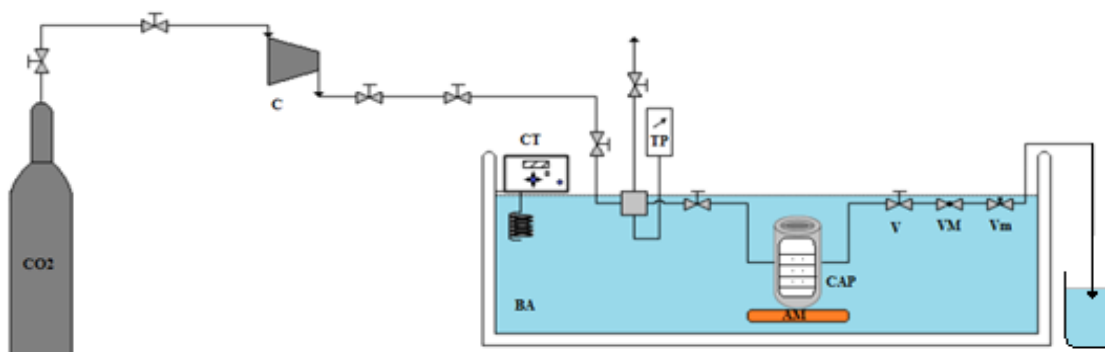


Figura 11 – Diagrama experimental do equipamento. Garrafa de CO₂; V – Válvula; C – Compressor; CT – Controlador de Temperatura, BA – Banho de Água; TP – Transdutor de Pressão; CAP – Célula de Alta Pressão; VM – Válvula Macrométrica; Vm – Válvula micrométrica; AM – Agitador Magnético (adaptada de Rosa, 2013).

As condições utilizadas nesta atividade experimental encontram-se na tabela seguinte (Tabela 3).

Tabela 3 – Condições de operação utilizadas no decurso da atividade experimental e respetiva densidade e solubilidade de cada fármaco em CO₂.

Ensaio	Fármaco	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Densidade do CO ₂ (kg m ⁻³) ¹	Solubilidade em CO ₂ x 10 ² (g L ⁻¹) ^{2, 3}
1	Ácido <i>all-trans</i> Retinóico	200	35	868,72	2,79
2			55	763,75	5,53
3		300	35	929,42	5,13
4			55	852,07	10,71
5	Norfloxacina	200	45	815,06	2,23
6			55*	785,11	6,38
7		300	45	892,23	6,54
8			55*	869,65	15,40

Observações:

*Os valores da densidade e da solubilidade da NFLX em CO₂ apresentados na tabela a 55°C correspondem, na realidade, à temperatura de 50°C disponível na literatura. Considera-se que a diferença não é significativa.

1-Densidade do CO₂ - NIST, 2015.

2-Solubilidade do ATRA em CO₂ - Rosa *et al.*, 2015.

3-Solubilidade da NLX em CO₂ - Chim *et al.*, 2012.

2.2.2. Métodos de Caracterização

Ao longo desta subsecção será feita a descrição dos métodos de caracterização utilizados para avaliar a eficiência da impregnação efetuada nas diferentes condições para os dois fármacos estudados.

Estudo de Libertação (*In Vitro*): O fármaco foi quantificado para verificar a capacidade de carregamento das lentes de contacto usando o método de impregnação utilizando scCO_2 . As lentes de contacto comerciais impregnadas com cada um dos fármacos utilizados foram imersas em 20 mL e/ou 40 mL de água bidestilada dependendo da concentração do fármaco na lente e colocadas ao abrigo da luz sob agitação a 100 rpm e a 37°C, de forma mimetizar a temperatura normal da superfície ocular. Foram recolhidas alíquotas de aproximadamente 1,6 a 2 mL da solução e, posteriormente, foi analisado o valor da absorvância por espectrofotometria (*Jasco V- 650, Japan*). O comprimento de onda máximo absorvido pelo ATRA e pela NFLX foi de 285 nm e 272 nm, respetivamente. A medição foi feita como sistema de libertação fechado sem renovação de fluído, dado que a concentração de fármaco a medir era relativamente baixa. Esta análise foi feita durante um período de tempo pré-estabelecido, que variou entre 24 e 144h. A concentração de fármaco foi determinado através das curvas de calibração.

As curvas de calibração de ambos os fármacos encontram-se no ANEXO I.

Modelos Matemáticos da Libertação Controlada: De forma a compreender os mecanismos que controlam a libertação dos fármacos a partir das lentes, recorreu-se a modelos matemáticos que permitem estimar os parâmetros cinéticos e os coeficientes de difusão.

Analisando os perfis de libertação obtidos para ambos os fármacos denotaram-se duas etapas distintas: a etapa inicial que é caracterizada por um perfil de libertação mais rápido e uma etapa seguinte correspondente a um período de libertação mais lento.

Recorrendo à equação de *Korsmeyer-Peppas* (Equação 1) (Yañez, 2011), que relaciona a velocidade de libertação com o tempo, calculou-se os coeficientes cinéticos de libertação para todas as condições estudadas. Esta equação só é válida para os primeiros 60% de libertação. A Equação 2 obteve-se através da logaritmização da Equação 1.

Representou-se graficamente o $\log \frac{M_t}{M_\infty}$ em função de $\log t$, para se obter a equação da recta a partir da qual se determinam os parâmetros cinéticos, n e K . O n é o expoente de libertação que fornece informação sobre o mecanismo de libertação do fármaco e o K é a constante cinética

de libertação que incorpora as características geométricas e estruturais do dispositivo de administração – polímero + fármaco (Siepmann e Peppas, 2001; Yañez, 2011).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K \cdot t^n \quad (1)$$

$$\log \frac{M_t}{M_\infty} = \log K + n \times \log t \quad (2)$$

M_t representa a massa do fármaco libertado num período tempo t , M_∞ representa a massa de fármaco num período de tempo infinito e t representa o tempo de libertação.

Como os perfis de libertação apresentam duas etapas distintas, isto é, velocidades de libertação diferentes, é imprescindível estudar os coeficientes de difusão nessas duas zonas. Para isso, recorreu-se às equações 3 e 5: a primeira apenas é válida para os primeiros 60% de libertação e a segunda é válida para os últimos 40% da libertação (Siepmann e Peppas, 2001; Yañez, 2011). Estas duas equações têm sido amplamente utilizadas para se obter os coeficientes de difusão a partir de dados experimentais de libertação de fármacos. Após linearizar as equações anteriores, obtiveram-se as equações 4 e 6, respetivamente para cada um dos modelos.

Representou-se graficamente $\frac{M_t}{M_\infty}$ em função de $t^{1/2}$ para os primeiros 60% de libertação e para os últimos 40% de libertação representou-se $\log \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right)$ em função de t .

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \times \left(\frac{D_1 \times t}{\pi \times l^2}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt{\frac{16 \times D_1}{l^2 \times \pi}} \times t^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \left(\frac{8}{\pi^2}\right) \times e^{-\frac{D_2 \times t \times \pi^2}{l^2}} \quad (5)$$

$$\log \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right) = \log \left(\left(\frac{8}{\pi^2}\right) - \frac{\pi^2 \times D_2 \times t}{l^2}\right) \quad (6)$$

Em que l é a espessura da lente, D_1 e D_2 são os coeficientes de libertação para os primeiros 60% e para os últimos 40% de libertação, respetivamente.

Quando a água penetra na lente a configuração da matriz altera, levando a um relaxamento das cadeias poliméricas. Este processo de relaxamento normalmente envolve uma transição de fase

do estado vítreo para o estado amorfo. Isto é, a água atua como um plastificante no polímero, levando a uma diminuição da temperatura de transição vítrea da matriz. Quando esta temperatura se torna igual à temperatura a que se encontra o sistema, o polímero passa do estado vítreo, onde as cadeias de polímero têm uma mobilidade muito reduzida, para o estado amorfo, onde estas apresentam uma maior mobilidade e uma expansão do volume (Siepmann e Peppas, 2001; Lin e Metters, 2006).

Como a espessura das lentes é muito pequena comparada com o diâmetro, considera-se a lente de contacto como um filme e, deste modo, o mecanismo de libertação do fármaco ao longo do tempo pode ser classificado da seguinte forma (Coimbra, 2010):

- Difusão Fickiana, para $0 < n \leq 0,5$ – normalmente associada à cinética de libertação que segue a primeira lei de Fick, ou seja, quando a taxa de difusão da água na matriz polimérica é muito mais lenta que o processo de relaxamento da matriz.
- Transporte anómalo ou não Fickiano para $0,5 < n \leq 1,0$ – quando as taxas de difusão e de relaxamento das cadeias poliméricas são semelhantes.
- Caso II ou transporte controlado pelo relaxamento para $n > 1,0$ – acontece quando a difusão é mais rápida do que o processo de relaxamento das cadeias poliméricas. O processo de difusão passa a ser controlado pela cinética de relaxamento e não pela lei de Fick.

Este estudo foi feito apenas para as impregnações do ATRA e da NFXL na lente Balafilcon A para todas as condições estudadas.

Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR): O objetivo da utilização desta técnica foi verificar a presença de fármaco depositado na superfície das lentes de contacto.

A técnica de FTIR é normalmente utilizada para identificar a estrutura e a pureza de um determinado composto. O equipamento disponível para a realização deste estudo de caracterização foi o *Jasco FT/IR-4200, Japan*. Utilizou-se o método de espectroscopia de infravermelho por reflectância total atenuada (ATR) para obter os espectros dos fármacos, das lentes desprovidas de fármaco e das lentes impregnadas. A resolução foi de 4 cm^{-1} , 256 *scans* e com varrimento do espectro numa região entre 3100 e 500 cm^{-1} .

Ângulos de Contacto: A avaliação dos ângulos de contacto de cada lente foi realizada para investigar se a molhabilidade característica de cada tipo de lente sofreu alguma alteração aquando da impregnação de alta pressão com scCO₂. Os resultados só podem ser comparáveis se os ensaios forem realizados tanto nas lentes não processadas como nas lentes processadas.

Para efetuar esta caracterização procedeu-se de acordo com o método *sessile drop*, onde a técnica de medição de ângulos de contacto é feita através de um líquido, neste caso água, onde a interface líquido/vapor encontra uma superfície sólida. Esta técnica determina o ângulo de contacto das lentes, indicando se o material tem carácter hidrofílico ou hidrofóbico. Deste modo, a gota de água (cerca de 10 µL), é dispensada sobre a superfície da lente usando uma seringa (Dias *et al.*, 2012).

A operação consistiu na realização de 5 medições em quatro regiões distintas de cada lente através do equipamento disponível (*OCA 20 DataPhysics*), que se baseia no método de *Young-Laplace*.

Transmitância: As lentes de contacto comerciais devem ser transparentes para que seja permitida uma perceção clara e sem distorção dos objetos (Gulsen, 2006). Desta forma, é necessário assegurar a transparência na zona do visível, sendo um parâmetro muito importante para avaliar se o processo de impregnação provoca alterações nesta propriedade. A transmitância compara a intensidade de luz que passa através da lente com a intensidade de luz que incide sobre ela e é expressa em percentagem.

O equipamento (*Jasco V-530, Japan*) efetua a leitura da transmitância no comprimento de onda de maior interesse para lentes de contacto que se situa nos 600 nm, uma vez que é este comprimento de onda visível que é utilizado para quantificar a transparência (Gulsen, 2006; Yañez *et al.*, 2008).

Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM): Para visualização/localização dos fármacos no interior e superfície das matrizes poliméricas utilizou-se a microscopia eletrónica de varrimento, que permitiu identificar a sua presença, forma, tamanho e distribuição na superfície e no interior da lente de contacto.

O protocolo utilizado nesta técnica consistiu em recorrer ao espalhamento das amostras de uma lente impregnada com ambos os fármacos, fraturadas com auxílio de azoto, e colocadas numa fita adesiva de grafite sobre o suporte metálico do microscópio eletrónico. Como os materiais poliméricos não são condutores foi necessário proceder ao seu revestimento com uma camada

de ouro com aproximadamente 300Å. O equipamento utilizado foi o Merlin-ZEISS e a análise foi feita a 5kV com o aumento de 500 X e 1000 X.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Quantificação de Fármacos

Foram realizados ensaios de liberação *in vitro* para avaliar a quantidade de fármaco impregnado nas lentes Hilafilcon B e Balafilcon A.

Quantificação total de ATRA impregnado na Balafilcon A

Na Figura 12, encontram-se os resultados obtidos para a massa de ATRA impregnado em cada lente para as diferentes densidades do CO₂. É importante referir que a liberação das lentes impregnadas com fármaco ocorreu durante 6 dias. No entanto, para a Figura 12 os cálculos foram efetuados apenas para as primeiras 24h de liberação, uma vez que os espectros de absorvância obtidos após esse período sofreram um deslocamento de 10nm no comprimento de onda de máxima absorção do ATRA.

Tendo em conta os ensaios, verifica-se que existe uma tendência pois à medida densidade do CO₂ aumenta, menor é a massa de fármaco impregnado na matriz.

Através do gráfico observa-se que o valor mais elevado de massa de fármaco impregnado por lente é cerca de 900,27 µg para uma densidade de CO₂ de 764 kg/m³. Já a menor quantidade de fármaco impregnado foi cerca de 329,31 µg para uma densidade de CO₂ de 929 kg/m³.

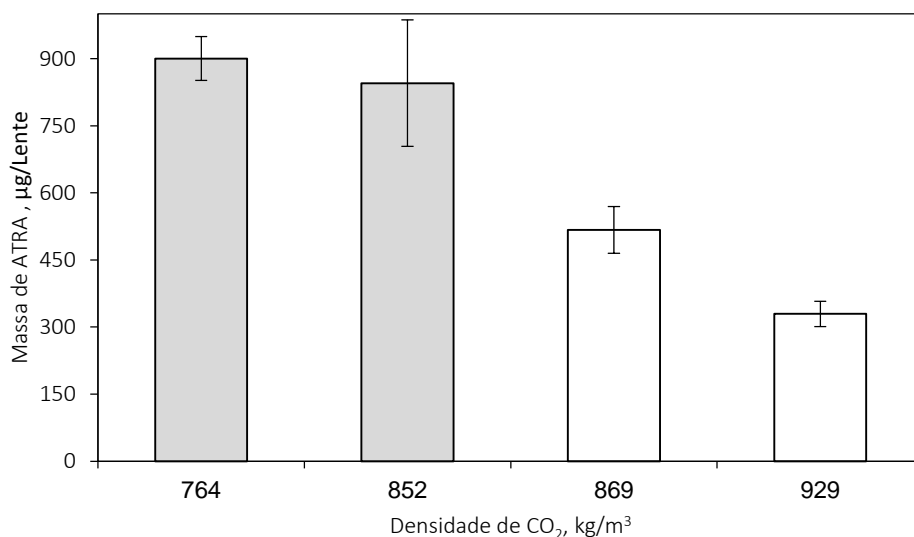


Figura 12 – Massa de ATRA ao fim de 24h de liberação. Ensaio a 35°C (□) e a 55°C (■).

Na Figura 13, está representado o coeficiente de partição e a solubilidade do fármaco em CO₂ em função da densidade do CO₂. O coeficiente de partição está definido como a razão entre o máximo de fármaco impregnado na matriz polimérica e a solubilidade do fármaco em CO₂. Com estas informações torna-se mais simples a compreensão das interações que existem durante o processo de impregnação do fármaco na matriz nas diferentes condições e assim, entender a eficiência do processo de impregnação.

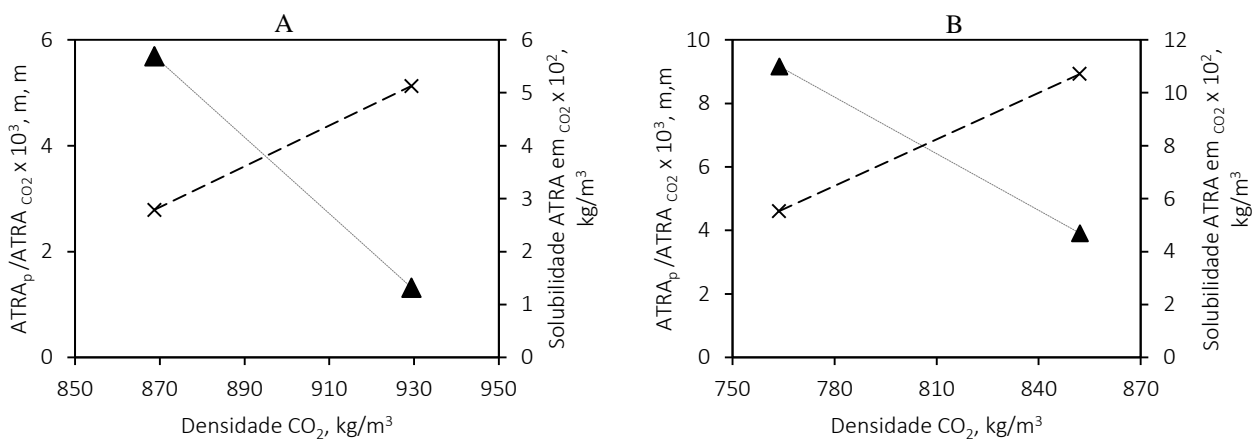


Figura 13 – Coeficiente de partição (▲) e solubilidade (x) em função da densidade do CO₂. A) a 35°C; B) a 55°C.

A comparação da eficiência de impregnação deve ser feita para os ensaios efetuados à mesma temperatura. Relacionando as Figuras 12 e a 13, entende-se que para maiores valores de coeficiente de partição, maior foi a massa de fármaco impregnado. Isto acontece pelo facto de haver maior quantidade de fármaco no polímero do que no CO₂. Como a solubilidade do fármaco neste solvente é menor, há uma menor afinidade entre o CO₂ e o fármaco e uma maior afinidade entre o fármaco e o polímero. Assim sendo, dada a maior afinidade entre o fármaco e o polímero, existe uma menor quantidade de fármaco que se desloca com o CO₂ durante o processo de despressurização, permanecendo mais fármaco no interior da matriz polimérica.

Contrariamente, para menores valores de coeficiente de partição, a eficiência de impregnação é menor. Seguindo o raciocínio anterior, como a solubilidade do fármaco em CO₂ é maior, a afinidade entre eles aumenta e a afinidade entre o fármaco e o polímero diminui, fazendo com que haja menor quantidade de fármaco no polímero e, conseqüentemente, menor massa de fármaco impregnado na matriz. Ou seja, durante o processo de despressurização o fármaco desloca-se em maior quantidade com o CO₂ para o exterior.

Para as condições de temperatura de 35°C verifica-se que a impregnação de fármaco para uma densidade de 869 kg/m³ é maior quando comparada com a densidade de 929 kg/m³. Para os ensaios efetuados a 55°C, também se observa maior impregnação de massa de fármaco para um

valor de densidade de 764 kg/m^3 , do que para a densidade de 852 kg/m^3 . Estes resultados podem ser confirmados com a Figura 13, pois para um maior coeficiente de partição maior é a eficiência da impregnação, uma vez que a solubilidade do fármaco em CO_2 é menor.

Neste sistema, verifica-se que a interação predominante durante o processamento é a afinidade entre o fármaco e o polímero.

Na Figura 14 está representado o coeficiente de partição e a sorção do CO_2 no polímero em função da densidade do CO_2 . A sorção está relacionada com o inchamento do polímero, ou seja, a capacidade que o polímero tem para aumentar de volume e ficar intumescido. Para maiores valores de sorção, o polímero apresenta maior grau de intumescimento, pois as suas cadeias poliméricas afastam-se, permitindo assim maior difusão de fármaco para o interior da matriz.

À medida que a densidade do CO_2 aumenta, a sorção do polímero também aumenta e quanto maior é a sorção do polímero menor é o coeficiente de partição. Contrariamente, para menores valores de sorção, mais elevado é o coeficiente de partição.

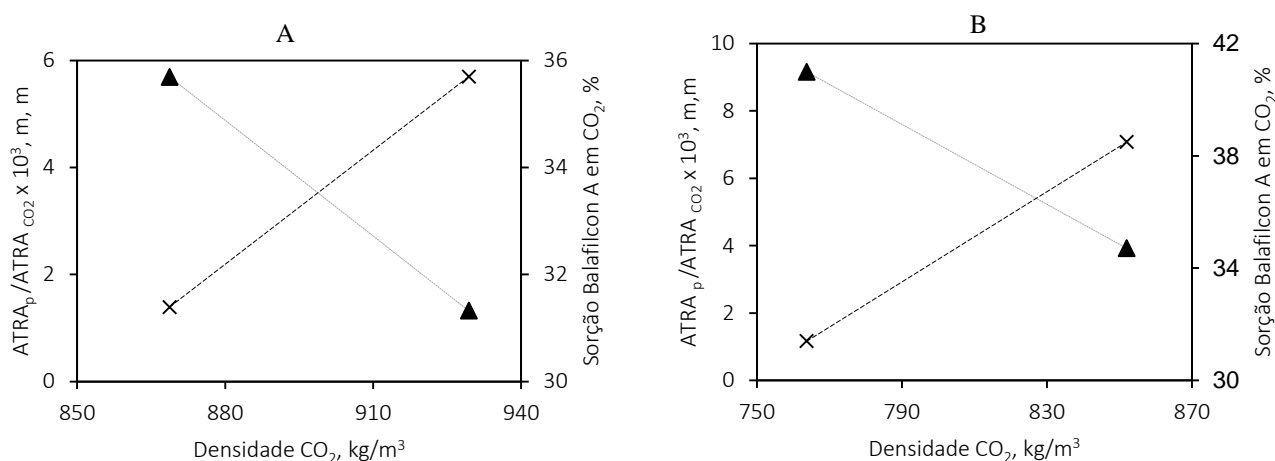


Figura 14 – Coeficiente de partição (▲) e sorção (×) em função da densidade do CO_2 . A) a 35°C ; B) a 55°C .

Interligando as Figuras 12 e 14, conclui-se que para menores valores de coeficiente de partição e maiores valores de sorção, a massa de fármaco impregnado é menor.

Existem três possíveis explicações para o sucedido: i) quando o polímero apresenta maior grau de inchamento, ocorre uma difusão do fármaco para o interior e para o exterior do polímero, o que pode levar a uma menor fração de fármaco que fica aprisionado na matriz; ii) à medida que a densidade aumenta, a viscosidade também aumenta, fazendo com que a difusão do fármaco para o interior da matriz polimérica seja dificultada e, desta forma, reduzindo a massa de fármaco no interior da matriz; iii) possível elevada taxa de despressurização efetuada durante o ensaio. Durante o processo de despressurização, se esta for efetuada a uma taxa elevada, como o fármaco é mais solúvel em CO_2 , este pode deslocar-se com o CO_2 para o exterior, causando

decréscimo de fármaco no interior da matriz polimérica. Por este motivo, seria interessante efetuar os ensaios para uma taxa de despressurização mais baixa, cerca de 0,6 bar/min, por exemplo, para verificar a influência deste parâmetro na quantidade de massa de fármaco impregnada no polímero.

Para valores de solubilidade de fármaco em CO₂ e de sorção do polímero mais baixos, existe uma maior impregnação de fármaco na lente de contacto. Como a solubilidade do fármaco é menor e como a taxa de despressurização pode ter sido elevada, durante este processo o fármaco não se deslocou tanto com o CO₂ ficando mais fármaco retido na matriz polimérica.

Com estes resultados concluiu-se que a interação predominante neste sistema é a grande afinidade entre a matriz polimérica e o fármaco.

Como não existem formulações oftalmológicas cujo princípio ativo seja o ATRA e como não foi possível realizar ensaios *in vivo*, não é possível afirmar se a quantidade de fármaco impregnado é ou não suficiente para o tratamento das patologias oculares supramencionadas e, ainda, qual das condições de operação utilizadas seria a mais indicada para impregnar o fármaco na Balafilcon A.

No entanto, num estudo de libertação *in vitro* realizado em PBS, constatou-se que foi possível impregnar cerca de 558 µg de Vitamina E na lente de Balafilcon A, através do método de imersão aquosa (Hsu *et al.*, 2013). Considerando este valor como referência, ainda que se tratem de fármacos diferentes, é possível concluir que a quantidade de ATRA impregnado na Balafilcon A é próxima desta.

A grande vantagem da utilização desta tecnologia com scCO₂ para impregnação de fármacos é que variando as condições de processamento obtêm-se diferentes quantidades de fármaco em cada lente de contacto e isso pode ser benéfico para o ajustamento da terapêutica do paciente.

Na Figura 15, está representada a percentagem de libertação de cada condição em função dos 6 dias de libertação. É possível observar que a percentagem de libertação ao longo do tempo para todas as condições foi semelhante, levando a considerar que se trata de um processo de impregnação/deposição homogêneo (devido à grande afinidade entre o ATRA e a lente).

Percorridas as primeiras 8h, observa-se que foi libertado, em média, cerca de 73% do fármaco presente na matriz. Após as 24h de libertação, já se havia libertado cerca de 94% do fármaco, sendo que o remanescente (6%) foi libertado até às 144 horas. Após análise do coeficiente de difusão, apresentado na secção 3.2 será verificado se se trata de um perfil de libertação controlado.

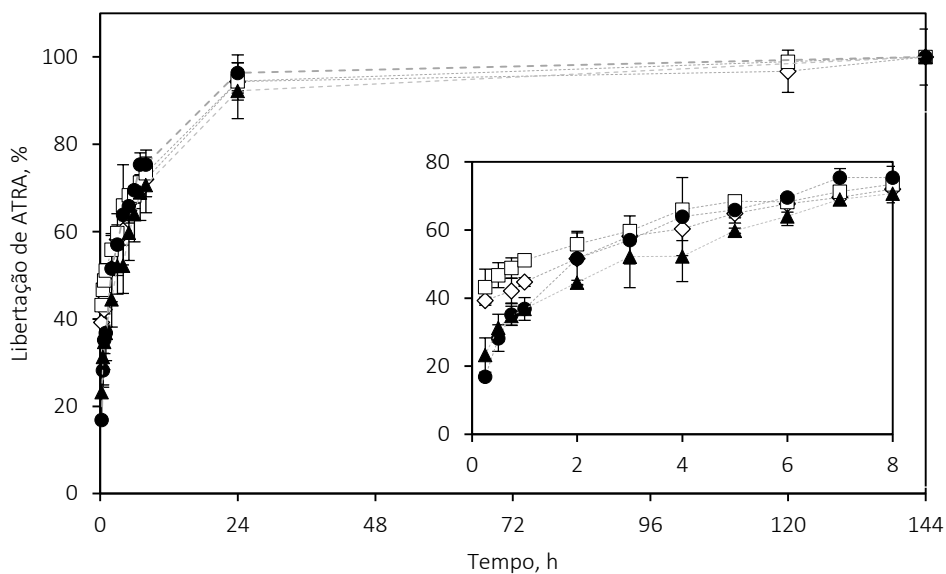


Figura 15 – Percentagem de Libertação do ATRA impregnado na lente Balafilcon A durante 6 dias para as várias densidades: 869 kg/m³ (◇), 929 kg/m³ (□), 764 kg/m³ (●) e 852 kg/m³ (▲).

Quantificação total de ATRA impregnado na Hilafilcon B

Na Figura 16, está representado a massa de ATRA por lente de contacto de Hilafilcon B após libertação em água bidestilada durante o período de libertação de 8h nas duas condições estudadas: P=200bar, T=35°C e P=300bar, T=55°C.

Pela análise da figura verifica-se que consoante as condições utilizadas se obtiveram diferentes valores de massa de fármaco em cada lente. Para a condição mais alta, obteve-se uma massa de fármaco na lente de 123 µg e para a condição mais baixa foi impregnado cerca de 57 µg.

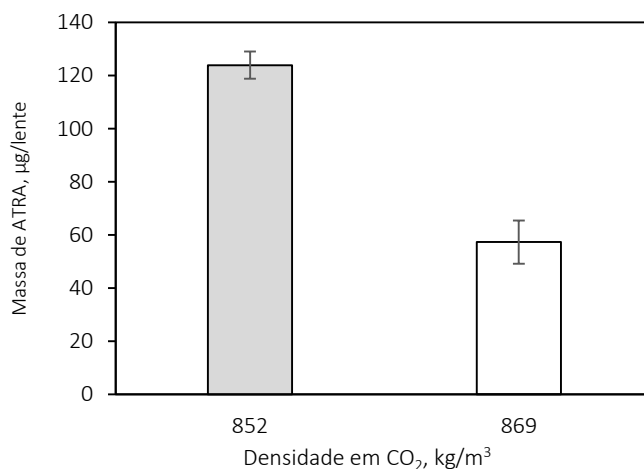


Figura 16 – Massa de ATRA na Hilafilcon B ao fim de 8h de libertação. Ensaio a 35°C (□) e a 55°C (■).

Comparando os valores da massa de fármaco impregnado na Hilafilcon B e na Balafilcon A verifica-se claramente que a Balafilcon A permitiu impregnar maior quantidade de fármaco por lente de contacto.

A origem da baixa impregnação deste fármaco na Hilafilcon B deve-se à elevada quantidade de água neste polímero, cerca de 59% (m/m), ao contrário da Balafilcon A que contém menor quantidade de água. Como a lente é mais hidrofílica e o fármaco é muito hidrofóbico, há menor afinidade entre ambos.

Existindo uma menor afinidade entre a lente e o fármaco e sendo o fármaco solúvel em CO₂, existe maior afinidade entre este e o fármaco, fazendo com que o ATRA se desloque em maior quantidade com o CO₂ durante a despressurização, reduzindo a quantidade de fármaco impregnado no polímero.

Na Figura 17-A encontra-se representado o coeficiente de partição entre o polímero e o solvente e a solubilidade do ATRA em CO₂ em função da densidade de CO₂ e, na Figura 17-B está representado o coeficiente de partição e a sorção da Hilafilcon em função da densidade do CO₂.

É de notar que apesar de se terem usado condições de temperatura e pressão diferentes, a densidade de CO₂ em ambas as condições é bastante próxima. Para densidades semelhantes, observa-se uma grande diferença na massa de fármaco impregnado na lente de contacto, o que leva a crer que a temperatura e pressão apresentam uma grande influência na quantidade de fármaco impregnado na matriz.

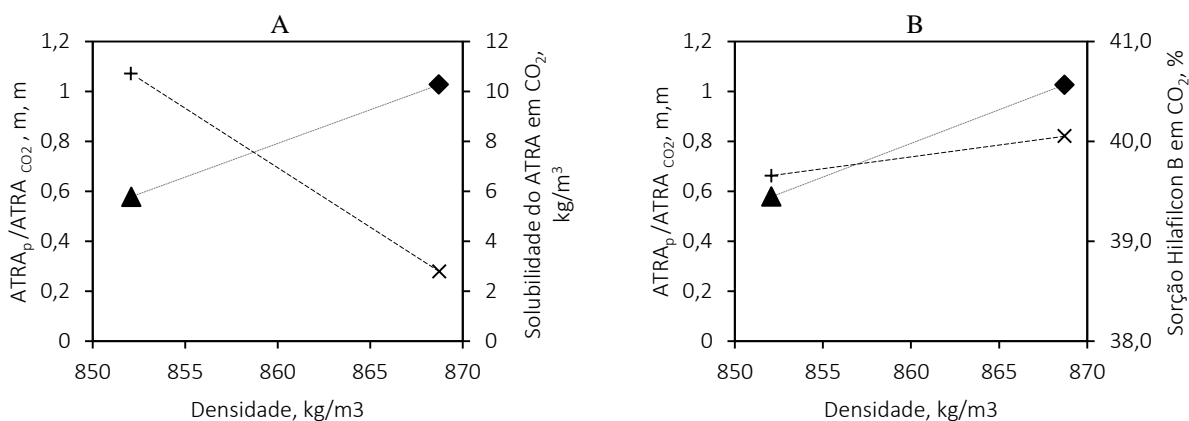


Figura 17 – Coeficiente de partição \blacklozenge 35°C , \blacktriangle 55°C em função da densidade de CO₂. A) Solubilidade do ATRA em CO₂: \times a 35°C, + a 55°C; B) Sorção da Hilafilcon B em CO₂ \times a 35°C. + a 55°C.

Interligando as Figuras 16 e 17-A, observa-se que no ensaio efetuado a 55°C, para um menor coeficiente de partição existe maior solubilidade do fármaco em CO₂, tendo sido incorporada maior massa de fármaco na lente. Isto aconteceu devido à maior quantidade de fármaco que fica com o polímero, uma vez que entra mais fármaco para o interior da matriz.

Já no ensaio efetuado a 35°C verificou-se que para um maior coeficiente de partição e para uma solubilidade mais baixa, observa-se menor quantidade de massa de fármaco no polímero. Apesar do coeficiente de partição ser maior, a difusão do fármaco para o interior da matriz é menor, fazendo com que haja uma menor massa de fármaco no polímero.

Também é de notar que a sorção para ambas as condições é próxima, levando a crer que esta interação não é relevante para a quantidade de fármaco impregnada, no caso particular das lentes de contacto Hilafilcon B.

Relativamente à percentagem de libertação do ATRA na Hilafilcon B concluiu-se que a libertação não ocorreu de forma uniforme (Figura 18). Nas duas primeiras horas observa-se um aumento gradual de libertação do fármaco para ambas as condições testadas. Nas 6 horas seguintes observa-se alguma irregularidade no perfil de libertação que se pode associar a erros relacionados com a medição e/ou à difusão constante do fármaco para o interior e exterior da matriz polimérica.

Estes resultados são provavelmente consequência da rápida libertação do fármaco que se encontra depositado à superfície da lente. Este perfil não se enquadra num perfil de libertação controlada de fármaco, pelo que, é possível concluir que o fármaco não terá sido impregnado no interior da matriz polimérica, mas apenas se depositou na sua superfície. Este resultado foi confirmado visualmente, uma vez que a lente não apresentava a coloração amarelada característica do próprio fármaco, após o processamento.

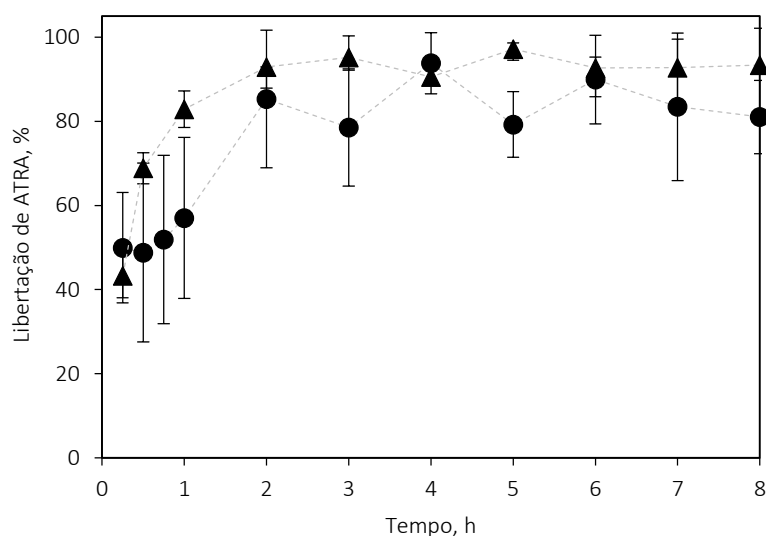


Figura 18 – Percentagem de Libertação do ATRA impregnada na lente Hilafilcon B durante 8h para as densidades estudadas: 869 kg/m³ (●) e 852 kg/m³ (▲).

Quantificação total da NFLX impregnado na Balafilcon A

Na Figura 19, apresentam-se os resultados obtidos para a massa de NFLX impregnada em cada lente de Balafilcon A em função das diferentes densidades do CO₂, num período de libertação de 8h.

Destaca-se claramente que para a densidade mais baixa se obteve o máximo de libertação, tendo sido impregnado cerca de 170 µg de fármaco na lente. Ainda assim, trata-se de um valor muito inferior comparativamente com os valores da impregnação efetuada com o ATRA. Isto pode ser explicado pelo facto do ATRA ser mais hidrofóbico que a NFLX e, desta forma, existe uma maior afinidade entre o ATRA e o polímero.

Verifica-se também que à temperatura de 45°C, o aumento da densidade potencia a impregnação do fármaco, enquanto que, para a temperatura de 55°C, à medida que a densidade diminui verificou-se uma maior quantidade de fármaco impregnado.

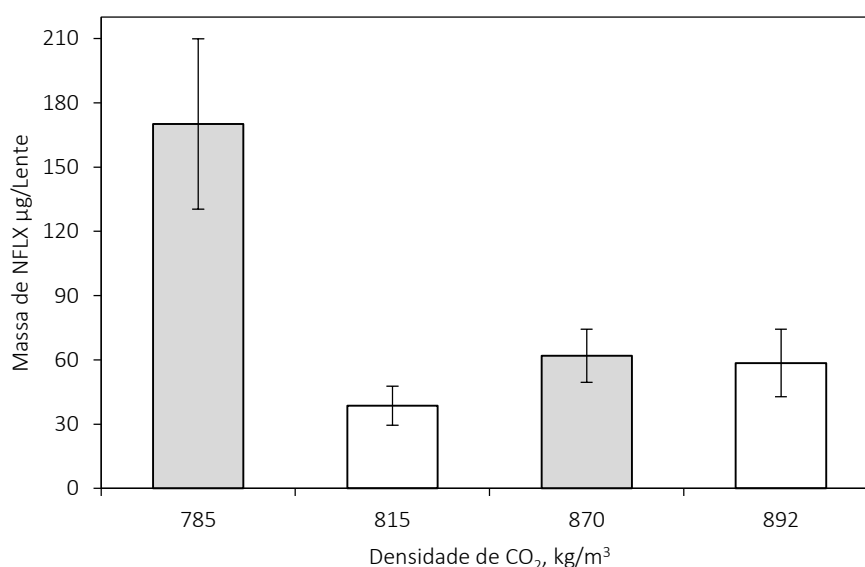


Figura 19 – Massa de NFLX ao fim de 8h de libertação. Ensaio a 45°C (□) e a 55°C (■).

Na Figura 20, encontra-se representado o coeficiente de partição e a solubilidade da NFLX em CO₂ em função da densidade do CO₂. O coeficiente de partição, como no caso anterior, está definido como a razão entre o máximo de fármaco impregnado na matriz polimérica e a solubilidade do fármaco em CO₂.

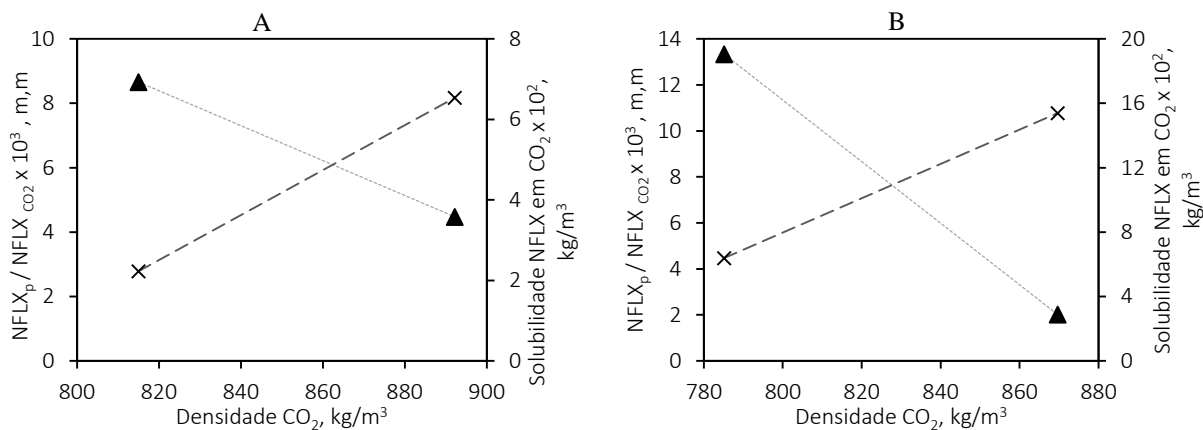


Figura 20 – Coeficiente de partição (▲) e solubilidade (×) em função da densidade em CO₂. A) a 45°C; B) a 55°C.

Mais uma vez é importante referir que a comparação da eficiência de impregnação deve ser feita para os ensaios efetuados à mesma temperatura. Pelas Figuras 19 e 20 verifica-se que para os ensaios realizados a 55°C, quanto maior o valor de coeficiente de partição maior a massa de fármaco impregnado. Isto acontece porque existe maior quantidade de fármaco no polímero do que no solvente, devido à maior afinidade entre o fármaco e o polímero e à menor afinidade entre o fármaco e o CO₂. Contrariamente, para um coeficiente de partição inferior e uma solubilidade em CO₂ maior, menor massa de fármaco foi impregnado na matriz polimérica, uma vez que durante o processo de despressurização o fármaco desloca-se com o CO₂ para o exterior.

No caso dos ensaios realizados à temperatura de 45°C, seria de esperar que houvesse maior quantidade de fármaco impregnado no caso de 815 kg/m³, dado que o coeficiente de partição é maior e a solubilidade em CO₂ é menor. Uma justificação para que tal não se tenha verificado é devido diferença existente entre os valores de solubilidade e os valores dos coeficientes de partição não ser suficientemente grande para se observar alterações tão acentuadas nestes resultados.

Na Figura 21 encontra-se representado o coeficiente de partição entre o polímero e o solvente e a sorção do polímero em função da densidade do CO₂. É importante referir que na literatura não existem valores para ensaios de sorção a 45°C, pelo que no gráfico do ensaio efetuado a esta temperatura, os valores de sorção correspondem a 35°C.

Pela observação da figura é possível verificar que à medida que aumenta a densidade a sorção do CO₂ no polímero também aumenta.

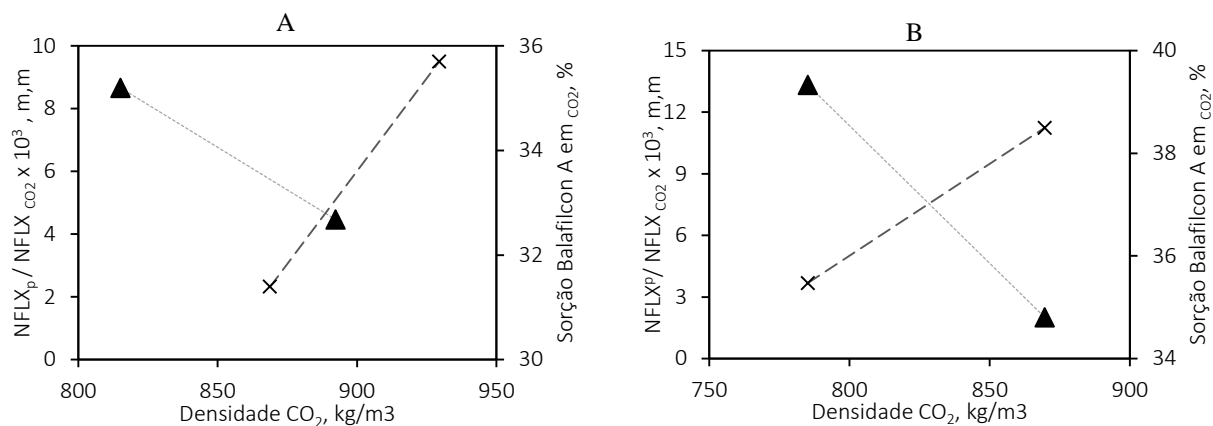


Figura 21 – Coeficiente de partição (▲) e sorção (×) em função da densidade do CO₂. A) a 45°C; B) a 55°C.

Observado a Figura 19 em conjunto com a Figura 21, conclui-se que nos ensaios efetuados a 55°C, para maiores valores de coeficiente de partição e menor valor de sorção, a massa de fármaco impregnado é maior. Isto é explicável porque como as cadeias poliméricas estão mais afastadas, ocorre difusão do fármaco tanto para o interior como para o exterior do polímero, fazendo com que a fração de fármaco que fica aprisionado no interior da matriz seja menor. Outro motivo para este resultado é devido à viscosidade da mistura que dificulta a difusão do fármaco para o interior da lente, uma vez que a viscosidade e a sorção aumentam com a densidade de CO₂.

Para os ensaios efetuados a 45°C, verifica-se que à medida que densidade aumenta a sorção do polímero também aumenta. Apesar dos valores serem retirados a 35°C, a 45°C a tendência é a mesma. Neste caso, como já se verificou anteriormente, à medida que o coeficiente de partição aumenta e a sorção diminui, seria de esperar que a quantidade de fármaco impregnado fosse maior, pelas razões já descritas anteriormente. Seria importante repetir os ensaios de libertação para as condições de impregnação efetuados a 45°C, a fim de entender se ocorreu algum erro na medição da absorvância aquando dos ensaios de libertação.

Considerando que, no tratamento de infeções oculares através de lentes de contacto impregnadas, 50% do fármaco é teoricamente absorvido, carregando cada lente com 170 µg de fármaco, 85 µg de fármaco é que são eficazmente utilizados. Trata-se de um valor superior quando comparado com uma estimativa da quantidade de fármaco necessário para o tratamento de uma infeção ocular através do colírio comercial, o *Chibroxol*, cujo princípio ativo é a NFLX: a posologia varia de 30 a 60 µg de fármaco, correspondentes a 4 ou 8 gotas administradas diariamente por um período mínimo de 5 dias (Infarmed, 2015b).

Seguindo o mesmo raciocínio efetuado anteriormente, as condições cujas densidades em CO₂ são 870 e 892 kg/m³ permitem impregnar uma quantidade de fármaco suficiente, cerca de 30 µg de fármaco por lente que é efetivamente utilizado para o tratamento. Com isto, conclui-se

que para o tratamento de uma infeção ocular seria necessário a utilização de lentes diárias com pelo menos cerca de 60 μg de fármaco impregnado em cada lente. No entanto, poder-se-ia alterar as condições de processamento a fim de se obter uma quantidade de fármaco por lente entre os 60 e os 120 μg . Com isto concluiu-se que as condições onde se impregnou menos fármaco são interessantes para o tratamento de infeções oculares.

A percentagem de NFLX libertada através da lente Balafilcon A encontra-se na Figura 22, para um período de libertação de 8h. A medição às 24h de libertação também foi efetuada; no entanto, observou-se uma ligeira diminuição dos valores de absorvância quando comparados com os valores obtidos para a medição correspondente ao período de 8h. Esta diminuição deve-se ao facto do fármaco ser hidrofóbico, fazendo com que ocorra uma difusão constante da molécula para o interior e exterior da matriz. Tendo em conta estes resultados, considerou-se que o máximo de absorvância nesta libertação foi observado ao final de 8h de libertação.

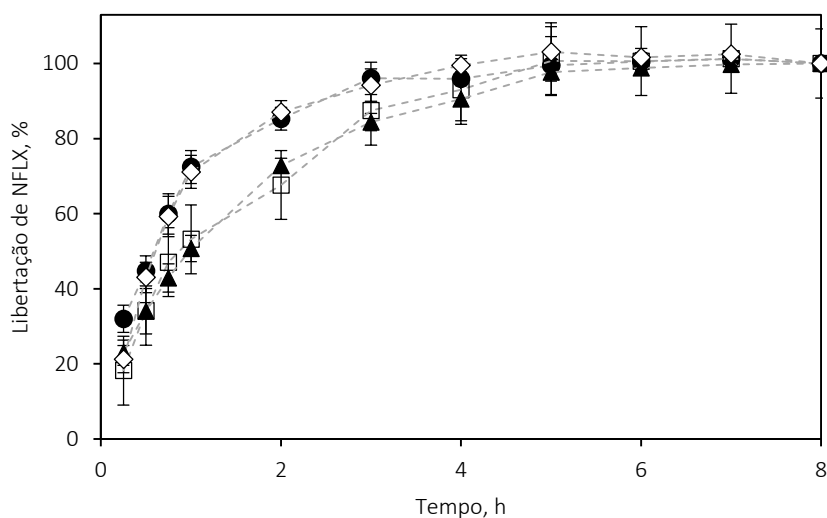


Figura 22 – Percentagem de Libertação da Norfloxacin impregnada na lente Balafilcon A durante 8h para as várias densidades: 815 kg/m³ (◇), 892 kg/m³ (□), 785 kg/m³ (●) e 870 kg/m³ (▲).

Para os ensaios onde a densidade de CO₂ é maior constata-se que a libertação ao longo do tempo foi mais lenta do que nas outras condições para as primeiras 2h de libertação, observando-se apenas uma libertação de 69% do fármaco presente na matriz. Para os dois ensaios correspondentes às densidades de CO₂ inferiores, a libertação ocorreu de forma mais rápida, tendo-se libertado cerca de 87% do fármaco incorporado na matriz ao fim de 2h de libertação. Ao final de 6h de libertação, já se havia libertado praticamente todo o fármaco presente nas lentes para todas as condições.

A percentagem de libertação não foi linear para as diferentes condições, o que indica que se está perante uma impregnação/deposição heterogénea, que se deve à menor afinidade do

fármaco com o polímero. Este motivo faz com que haja zonas da lente que libertam maior quantidade de fármaco por unidade de tempo do que outras.

Comparando os perfis obtidos da impregnação/deposição da NFLX na lente Balafilcon A e os resultados obtidos por González-Chomón *et al.*, 2012 que impregnou NFLX em lentes intraoculares hidrofílicas através do processo de impregnação por scCO₂, concluiu-se que neste trabalho se obtiveram melhores resultados no perfil de libertação obtido. González-Chomón efetuou a libertação em fluido lacrimal e concluiu que em menos de 1h já se havia libertado todo o fármaco presente na matriz. Supõe-se que a diferença dos perfis de libertação de González-Chomón relativamente aos perfis obtidos neste trabalho se deve à quantidade de água contida nas lentes, pois a lente intraocular estudada pelos autores é mais hidrofílica que a Balafilcon A. Isto leva a crer uma vez mais, que a impregnação de fármacos hidrofóbicos em lentes hidrofóbicas através de scCO₂ é um processo bastante eficiente para a obtenção de um perfil libertação controlada de fármaco no local de interesse/alvo.

3.2. Modelos Matemáticos da Libertação Controlada

Na Tabela 4, encontram-se os valores obtidos dos parâmetros cinéticos do ATRA e da NFLX impregnados na Balafilcon A.

Tabela 4 – Parâmetros cinéticos da libertação do ATRA e da NFLX impregnado na Balafilcon A.

Fármaco	Densidade de CO ₂ (kg/m ³)	Condições de Processamento	<i>n</i>	$\frac{K}{h^{-n}}$	R ²
Acido-<i>all-trans</i>- Retinóico	868,72	P=200bar, T=35°C	0,256±0,026	0,624±0,010	0,975
	763,75	P=200bar, T=55°C	0,347±0,023	0,633±0,009	0,912
	929,42	P=300bar, T=35°C	0,170±0,017	0,683±0,016	0,978
	852,07	P=300bar, T=55°C	0,270±0,045	0,608±0,041	0,983
Norfloxacina	815,06	P=200bar, T=45°C	0,847±0,042	0,768±0,035	0,990
	785,11	P=200bar, T=55°C	0,687±0,097	0,689±0,128	0,987
	892,23	P=300bar, T=45°C	0,650±0,161	0,537±0,067	0,919
	869,65	P=300bar, T=55°C	0,574±0,062	0,507±0,042	0,995

Observando os valores do expoente de libertação (*n*) para o ATRA verifica-se que em todas as condições, os valores são inferiores a 0,5, o que indica que estamos perante um mecanismo de difusão *Fickiana*. Esta observação é perfeitamente compreensível, uma vez que como o fármaco é muito hidrofóbico, a difusão da água para o interior da matriz polimérica é mais lenta devido ao processo de solubilização/dissolução do fármaco, enquanto as cadeias poliméricas vão relaxando. Já os valores do expoente de libertação da NFLX, encontram-se entre 0,5 e 1,0, o que indica que o mecanismo de difusão se trata de transporte anómalo. Dado que a NFLX é um fármaco menos hidrofóbico que o ATRA, a difusão da água para o interior da matriz polimérica

ocorre de forma mais rápida. É por esta razão que os valores dos expoentes de libertação para todas as condições são superiores quando comparados com os resultados do ATRA.

Um sistema que apresenta uma libertação controlada de fármaco é aquele que segue um mecanismo de difusão *Fickiana*. Neste caso, a Balafilcon A impregnada com o ATRA garante um perfil de libertação mais controlada do que a NFLX impregnada na mesma lente.

Tendo em conta os valores das constantes cinéticas de ambos os fármacos, conclui-se que os resultados obtidos são semelhantes para todas as condições estudadas, o que indica que as interações que existem entre o polímero e o fármaco no meio de libertação utilizado são similares.

Na Tabela 5, encontram-se os resultados relativos aos coeficientes de difusão para ambos os fármacos.

Tabela 5 – Coeficientes de difusão da libertação dos fármacos impregnados na Balafilcon A.

Fármaco	Condições de Processamento	$D_1 \times 10^3 (\text{mm}^2 \text{h}^{-1})$	R^2	$D_2 \times 10^3 (\text{mm}^2 \text{h}^{-1})$	R^2
Acido-<i>all-trans</i>-Retinóico	P=200bar, T=35°C	1,160±0,021	0,956	0,847±0,169	0,944
	P=200bar, T=55°C	4,593±1,115	0,930	0,332±0,109	0,930
	P=300bar, T=35°C	0,629±0,051	0,959	0,108±0,001	0,996
	P=300bar, T=55°C	0,711±0,035	0,953	0,091±0,015	0,925
Norfloxacina	P=200bar, T=45°C	119,516±4,916	0,994	11,252±1,845	0,994
	P=200bar, T=55°C	79,859±11,184	0,993	8,798±0,250	0,960
	P=300bar, T=45°C	66,910±11,203	0,985	12,115±5,120	0,995
	P=300bar, T=55°C	26,613±1,042	0,989	6,335±1,357	0,957

Observando os valores da tabela 5, verifica-se que o D_1 é maior que o D_2 para todos os casos, indicando que a libertação dos primeiros 60% de fármaco ocorre de forma mais rápida e que os últimos 40% são libertados de forma mais lenta, como era de esperar pelos perfis de libertação obtidos.

Os resultados comprovam uma vez mais que o processo de libertação/difusão do ATRA impregnado na matriz das lentes de Balafilcon A é mais lento, ao contrário da NFLX. Este facto é facilmente comprovado pelos coeficientes de difusão apresentados acima, onde se verifica que os valores correspondentes ao ATRA são muito inferiores quando comparados com os coeficientes de difusão da NFLX:

3.3. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise efetuada por FTIR permite identificar a presença de fármaco nas lentes de contacto e averiguar a existência de possíveis alterações que possam ter ocorrido durante o processo de impregnação e, dessa forma, reconhecer as diferentes estruturas químicas presentes na amostra.

Na Figura 23, 24 e 25 estão representados os espectros obtidos para a lente Balafilcon A impregnada com ambos os fármacos nas condições de 200bar e 55°C e para a lente Hilafilcon B impregnada com o ATRA na condição de 300bar e 55°C.

Durante o processamento das lentes de contacto, os monómeros que entram na sua constituição perdem as ligações duplas. Tanto no caso das lentes impregnadas com o ATRA como com a NFLX, é importante visualizar no espectro as ligações duplas que cada um dos fármacos apresenta, encontrando os picos correspondentes a essas ligações e, dessa forma, conseguir diferenciar a lente impregnada da lente não processada. Na Tabela 6, encontram-se os comprimentos de onda correspondente a cada grupo funcional para os fármacos e os polímeros utilizados.

Tabela 6 – Grupos funcionais e respetivos comprimentos de onda (cm^{-1}) dos fármacos e dos polímeros para análise do FTIR (Launer, 1987; Holler *et al.*, 2009).

NFLX	ATRA	Balafilcon A	Hilafilcon B
N-H – 3500-3300	O-H – 3650-3590	C-Si – 1275- 1245, 865-750	C-O – 1760-1690
N=C – 1622-1600	C=C-CH ₃ – 2970-2860	Si-O – 1250, 840, 755	O-H – 3650-3590
C=C – 1600-1500	C=O – 1760-1690	O-Si-O – 780-760	C-N – 2280-2210
C=O – 1760-1690	C=C – 1600-1500	N-H – 3500-3300	
O=C-OH – 3600-2200		C-O – 1760-1690	
		C-N – 2280-2210	

No espetro da lente Balafilcon A impregnada com ATRA (Figura 23), o grupo funcional presente é o C=C-CH₃ (Propileno) que se encontra próximo do comprimento de onda de 2866 cm^{-1} , o que indica a presença do fármaco na lente de contacto. Na Figura 23 encontra-se também representado um recorte do espetro relativo à banda de comprimentos de onda correspondente aos picos que indicam a presença do fármaco.

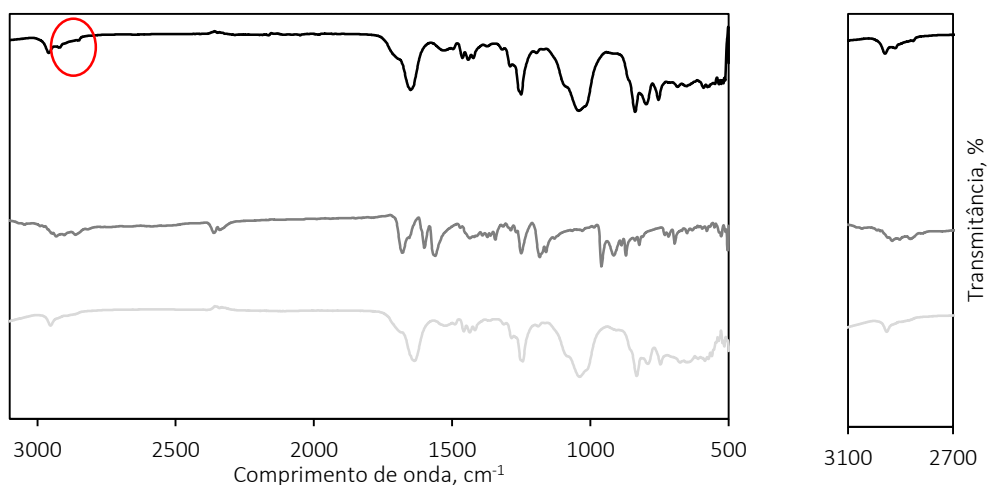


Figura 23 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com ATRA (—); do ATRA (—); e da Lente Balafilcon A (—).

Na lente de contacto de Hilafilcon B impregnada com o ATRA (Figura 24) verificaram-se diferenças no espectro obtido da lente impregnada e da lente não processada no comprimento de onda 2880 cm^{-1} , que corresponde igualmente ao grupo funcional $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$. A presença deste grupo funcional permite confirmar, uma vez mais, a presença de fármaco na superfície da lente de contacto decorrente do fenómeno de deposição. No comprimento de onda 1711 cm^{-1} do perfil da lente impregnada com a ATRA também se verifica um pico mais acentuado, que coincide com um pico do fármaco nesse comprimento de onda, mas não foi possível identificar o grupo funcional corresponde.

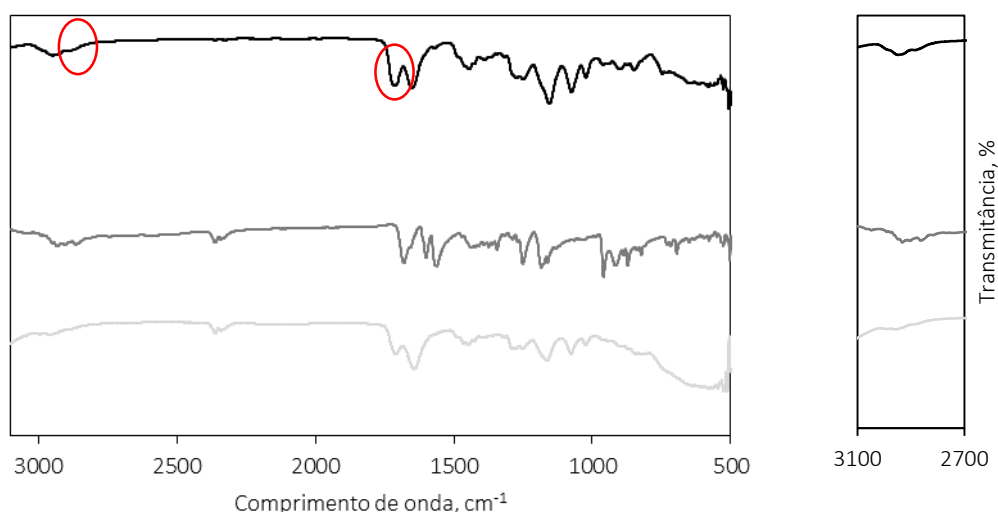


Figura 24 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com ATRA (—); do ATRA (—); e da Lente Hilafilcon B (—).

Pela análise dos três espectros da Figura 25 não se verificam alterações significativas entre o espectro da Balafilcon A impregnada com a NFLX e o espectro da Balafilcon A não processada. A interpretação deste resultado poderia levar à conclusão errónea de que não teria ocorrido

impregnação do fármaco na lente. No entanto, pelos perfis de libertação obtidos é possível reafirmar que ocorreu incorporação de NFLX na lente de contacto. Isto aconteceu devido à quantidade de fármaco presente na lente não ser suficiente para o equipamento conseguir detetá-lo, dado que é um procedimento que é realizado à superfície da lente.

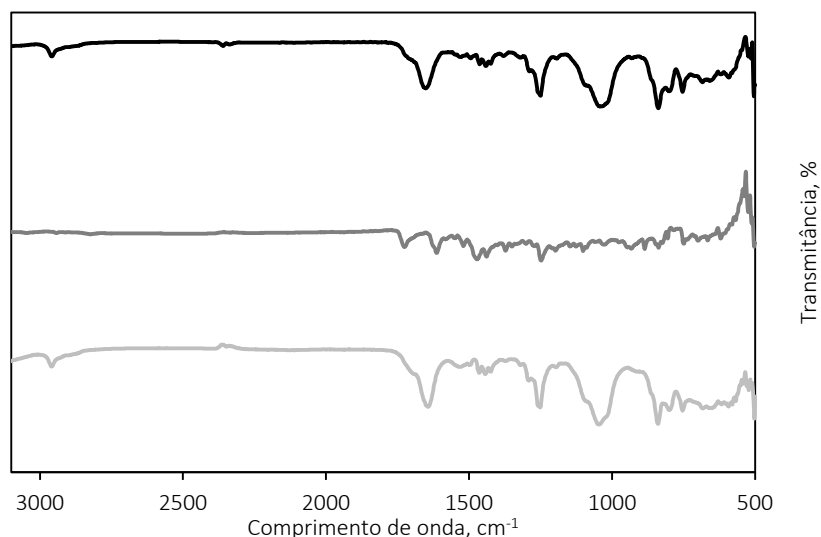


Figura 25 – Espectros de FTIR obtidos da lente impregnada com NFLX (—); da NFLX (—); e da Lente Balafilcon A (—).

3.4. Transmissão

Nos resultados da transmissão das lentes de Hilafilcon B impregnadas com ATRA não foram observadas grandes diferenças nos valores de transmissão, o que pode ser devido à baixa eficiência de impregnação do fármaco neste tipo de polímero.

Quanto aos resultados obtidos para a lente Balafilcon A impregnada com ATRA verificou-se que em média houve uma diminuição de 2% no valor da transmissão, que é considerado como sendo um valor aceitável. Este decréscimo pode ser explicado pela coloração do fármaco (amarelo/ laranja) que acaba por alterar a cor da lente, uma vez que a cor do fármaco se situa num comprimento de onda compreendido entre os 590 e os 625 nm e a medição é feita nos 600 nm.

Relativamente às lentes Balafilcon A impregnadas com NFLX, salienta-se que não houve diminuição significativa no valor da transmissão, visto que a lente impregnada apresentava coloração igual à lente não processada e dado o facto da quantidade de fármaco impregnado ser relativamente baixa.

Em suma, pode concluir-se que o processo de impregnação/deposição do ATRA e de NFLX não alteram significativamente o valor da transmissão no comprimento de onda de interesse,

mantendo as propriedades das lentes de contacto intactas, favorecendo assim uma perceção clara e sem distorção dos objetos.

Tabela 7 – Valores de transmitância para as lentes impregnadas para todas as condições.

Condições		ATRA/Balafilcon A, %	ATRA/Hilafilcon B, %	Condições		NFXL/Balafilcon A, %
200bar	35°C	93,80±0,42	95,90±0,31	200bar	45°C	95,69±0,23
	55°C	91,79±0,36			55°C	95,33±0,46
300bar	35°C	96,25±0,45	94,93±0,27	300bar	45°C	96,37±0,38
	55°C	95,06±0,28			55°C	95,67±0,40
Controlo		96,38	95,62	Controlo		96,38
Diminuição		2,15%	0,20%			0,61%

O processo de impregnação através de scCO₂ demonstra evidências claras da sua eficiência e segurança, uma vez que não se observam diferenças relevantes entre as lentes impregnadas e as lentes não processadas.

3.5. Ângulos de Contacto

O estudo dos ângulos de contacto foi efetuado para as lentes de contacto Hilafilcon B impregnadas com ATRA e para as lentes de contacto Balafilcon A impregnadas com ATRA e NFLX. No que concerne aos resultados obtidos para o polímero Hilafilcon B, verificou-se uma diminuição de 6% do ângulo de contacto quando comparado com lente não processada. Quanto ao polímero Balafilcon A impregnado com ATRA não se verificou qualquer diminuição no valor obtido para os ângulos de contacto. Relativamente às lentes Balafilcon A impregnadas com NFLX verificou-se igualmente uma diminuição de 6,6% no valor do ângulo de contacto.

Com estes resultados pode concluir-se que as alterações evidenciadas foram pouco expressivas, tendo em conta também o facto de que a própria técnica é suscetível ao erro do utilizador e mesmo inerente ao próprio equipamento. Os erros associados à medição por parte do utilizador prendem-se essencialmente com a dificuldade em segurar/equilibrar a lente de contacto no suporte do equipamento devido à dificuldade criada pela concavidade da lente.

Desta forma, conclui-se que este processo de impregnação não provoca alterações ao nível da molhabilidade e hidroflicidade da lente, confirmando que este processo não causa alteração na superfície da lente.

Considerando outra propriedade importante das lentes de contacto, segundo Braga *et al.*, 2011b, a permeabilidade ao oxigénio de ambas as lentes (Balafilcon A e Hilafilcon B), após contacto com scCO₂, não sofre alterações relevantes. Este resultado reforça uma vez mais que a

utilização de scCO₂ não provoca alterações significativas nas propriedades das lentes de contacto.

3.6. Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM)

A análise de SEM foi realizada com o intuito de identificar e localizar a presença dos fármacos no interior e na superfície das lentes de contacto impregnadas, assim como observar se ocorreram alterações morfológicas relevantes oriundas do processo de impregnação.

Para esta análise apenas foram analisadas as lentes Balafilcon A, impregnadas com ambos os fármacos. Não se procedeu à análise da lente Hilafilcon B impregnada com o ATRA porque, como já relatado anteriormente, verificou-se que não existe fármaco no interior da matriz, mas, provavelmente, apenas depositado apenas na superfície da lente.

As lentes de contacto utilizadas para esta análise, tanto do ATRA como da NFLX, foram processadas a 200bar e a 55°C, condições essas onde a impregnação dos fármacos foi superior.

Comparando as imagens de SEM obtidas neste trabalho com as imagens de SEM da lente de contacto não processada proveniente de outros estudos realizados (Braga *et al.*, 2011), foi possível concluir que não existem alterações da morfologia da superfície da lente impregnada com ambos os fármacos, o que permite reafirmar que este processo não altera as propriedades físicas da lente.

Analisando as imagens de SEM da lente impregnada com o ATRA, é possível identificar a presença de partículas do fármaco na superfície da lente de contacto em forma de “agulha”, característica do próprio fármaco que estando no interior da matriz recristaliza até à superfície (Figura 26-A). Pode observar-se também uma disposição uniforme do fármaco na superfície da lente de contacto.

Na imagem representativa do corte transversal, Figura 26-B, visualizam-se algumas partículas na parte lateral da lente que poderão indicar que o fármaco está presente no interior da matriz polimérica.

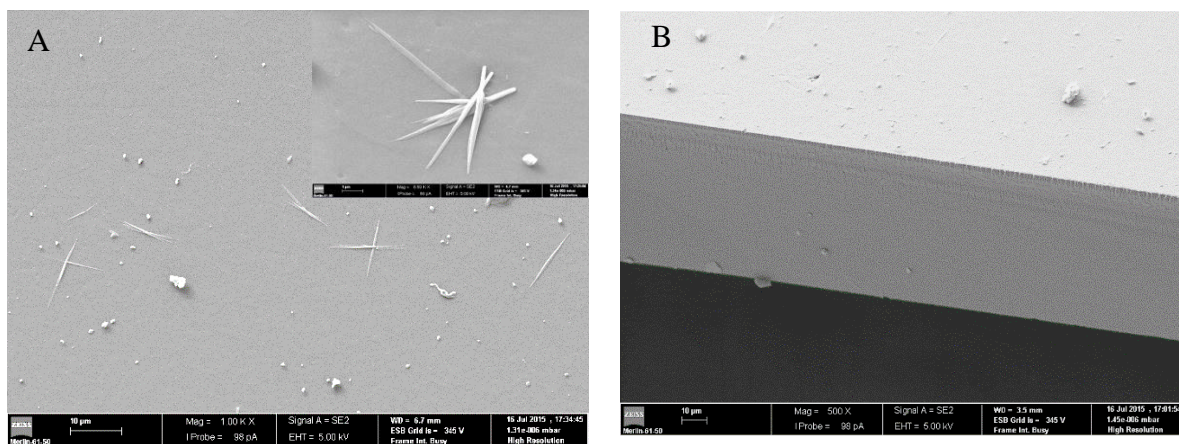


Figura 26 – Imagens de SEM da lente Balafilcon A impregnada com ATRF. A) Imagem da superfície da lente de contacto, 1000 X. B) Imagem do corte transversal da lente de contacto, 500 X.

Nas imagens de SEM da lente impregnada com o NFLX foram identificadas partículas de fármaco na superfície da lente de contacto em forma de “bolhas” (Figura 27-A). Para além disso, também se consegue observar uma disposição uniforme do fármaco na superfície da lente.

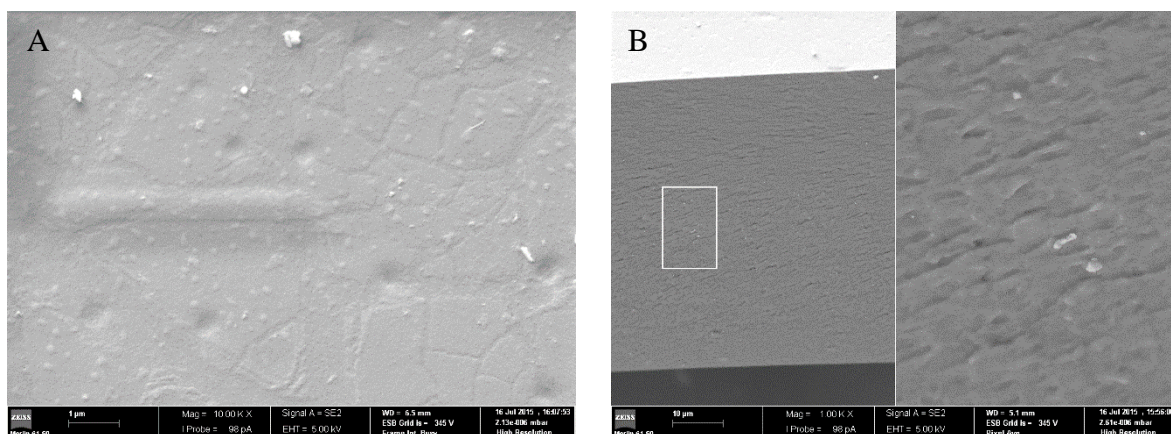


Figura 27 – Imagens de SEM da lente Balafilcon A impregnada com NFLX. A) Imagem da superfície da lente de contacto, 500 X. B) Imagem do corte transversal da lente de contacto, 1000 X.

Analisando as imagens correspondentes ao corte transversal, Figura 27-B, visualizam-se também algumas partículas na parte lateral que poderão indicar de igual modo que o fármaco está presente no interior da matriz polimérica. Com maior pormenor foi possível identificar partículas “incrustadas” em alguns orifícios da lateral da lente. No entanto, esta imagem não é totalmente representativa já que existem orifícios que não estão ocupados por fármaco, mas supõe-se que este facto acontece porque durante o corte das lentes, recorrendo à utilização de azoto líquido, o fármaco pode ter-se soltado e saído dos orifícios.

Nas imagens recolhidas através deste tipo de microscopia de alta resolução foi também perceptível a existência de pequenas partículas de cloreto de sódio na superfície de ambas as lentes, próprias da solução de armazenamento das lentes de contacto comerciais.

Os resultados fornecidos pelo SEM permitem constatar que a impregnação foi conseguida com sucesso, uma vez que relata a existência de fármaco quer à superfície quer no interior da matriz polimérica, sendo este último a característica mais importante porque influencia diretamente a libertação continuada/prolongada do fármaco.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

O objetivo principal deste trabalho consistiu na impregnação de fármacos em lentes de contacto comerciais usando $scCO_2$ com o intuito de obter um perfil de libertação controlada de fármaco para o tratamento de patologias oculares e estudar a eficiência da impregnação nas diversas condições de processamento. O grande impacto que este tipo de libertação apresenta é o facto de permitir ultrapassar as limitações resultantes dos sistemas de libertação convencionais permitindo prolongar a ação do fármaco no sítio alvo, diminuindo a frequências das doses, maximizando os benefícios e minimizando os efeitos secundários.

A seleção dos fármacos foi feita com base no *state of the art*, considerando as suas potencialidades para o tratamento de patologias oculares: o ATRA para o tratamento da DMRI e da síndrome do olho seco; a NFLX para o tratamento de infeções oculares.

O uso de matrizes poliméricas é vulgarmente conhecido pela sua capacidade de controlar a velocidade de libertação de fármacos. Como tal, as lentes de contacto tornaram-se uma opção válida visto que conjugam o facto de serem compostos por materiais poliméricos e aplicam-se na superfície ocular possibilitando maior biodisponibilidade do fármaco, uma vez que aumentam o tempo de residência do mesmo.

Neste trabalho experimental utilizaram-se como matrizes poliméricas dois tipos de lentes comerciais: a Hilafilcon B e a Balafilcon A. O ATRA foi impregnado em ambas as matrizes e a NFLX foi impregnada apenas na lente Balafilcon A.

Após a impregnação das lentes com os fármacos recorrendo à tecnologia supercrítica de dióxido de carbono, foram realizados estudos de libertação. A impregnação do ATRA na Balafilcon A permitiu a obtenção de perfis de libertação controlada em todas as condições estudadas. A quantidade de fármaco impregnado nas lentes de contacto variou entre 329 e 900 μg , dependendo das condições de processamento utilizadas. O sucesso da impregnação do ATRA na Balafilcon A está associado à grande afinidade entre o fármaco e o polímero.

Também foi possível concluir através dos perfis de libertação que o processo de impregnação/deposição do fármaco no polímero foi homogéneo, uma vez que os perfis para as diferentes condições foram idênticos, tendo-se libertado sensivelmente 73% do fármaco presente no polímero nas primeiras 8h de libertação, tendo o restante sido libertado até às 144horas.

Relativamente ao ATRA impregnado na Hilafilcon B verificou-se que a impregnação não foi eficiente, visto que não se observou a obtenção de um perfil de libertação controlada, levando a concluir que o fármaco apenas ficou depositado na superfície da lente de contacto. Isto aconteceu porque este polímero possui 59% de água na sua constituição e como o fármaco é muito hidrofóbico, a afinidade entre o polímero e o fármaco é reduzida e, desta forma, a impregnação do fármaco na matriz polimérica é dificultada.

Na impregnação da NFLX na Balafilcon A gama de fármaco impregnado oscilou entre 38 e 170 µg, consoante as condições estudadas.

A quantidade de fármaco impregnado foi consideravelmente inferior à quantidade de ATRA impregnado no mesmo polímero. Embora a NFLX seja um fármaco hidrofóbico, é relativamente menos hidrofóbico que o ATRA. Como a Balafilcon A tem na sua constituição 36% de água, o fármaco mais hidrofóbico tem maior afinidade com o polímero e, desta forma, permite impregnar maior quantidade de fármaco.

Através dos perfis da percentagem de libertação foi possível concluir que o processo de impregnação/deposição foi heterogéneo, uma vez que para as diferentes condições a percentagem de fármaco libertado nas primeiras 4 horas foi diferente. Este facto dever-se-á à existência de zonas do polímero onde terá sido impregnada maior ou menor quantidade de fármaco e que, por esta forma, se vai libertando de forma diferente. Em ambas as condições, passadas 6h de libertação já se havia libertado praticamente todo o fármaco presente na matriz.

Seguindo o modelo de *Peppas*, que relaciona a velocidade de libertação do fármaco com o tempo, nos primeiros 60% de libertação calculou-se os coeficientes cinéticos de libertação. Verificou-se que para o ATRA impregnado na Balafilcon A, o mecanismo de libertação segue um modelo de difusão *Fickiana*. Já a NFLX impregnada na mesma matriz polimérica segue um mecanismo de transporte anómalo. Conclui-se portanto que o sistema do ATRA impregnado na Balafilcon A segue um mecanismo de libertação mais controlado que o sistema da NFLX incorporada na Balafilcon A.

Relativamente aos coeficientes de difusão, obtiveram-se valores maiores nos primeiros 60% de libertação para a NFLX, uma vez que este fármaco se liberta mais rápido que o ATRA. Isto acontece devido à NFLX ser menos hidrofóbica que o ATRA, fazendo com que o fármaco se difunda de forma mais rápida no meio de libertação utilizado.

Pela análise de FTIR foi possível concluir que para ambos os polímeros impregnados com o ATRA se verificou a presença de fármaco na superfície das matrizes. Já relativamente à NFLX impregnada na Balafilcon A não foi possível confirmar a presença do fármaco na superfície da

lente, uma vez que a quantidade de fármaco pode não ter sido significativa e desta forma não ter sido possível visualizar através deste método de caracterização.

Na análise da transmitância das lentes de contacto impregnadas com o ATRA, verificou-se que na Hilafilcon B não houve alteração deste parâmetro, confirmando o que já havia sido concluído, ou seja, a lente não continha fármaco impregnado. Para a Balafilcon A impregnada com o ATRA verificou-se uma diminuição de 2% da transmitância quando comparado com a lente não processada no comprimento de onda de 600nm. Esta diminuição deve-se ao facto da cor do fármaco amarelo/alaranjado se situar neste comprimento de onda estudado, transferindo esta cor para a lente. Este facto comprova a existência de fármaco impregnado, mas trata-se de uma diminuição não significativa que não compromete a transparência da lente de contacto. Para a Balafilcon A impregnada com a NFLX também não se verificou nenhuma alteração neste parâmetro

Posteriormente, efetuou-se o estudo dos ângulos de contacto e verificou-se uma diminuição de 6% deste parâmetro comparado com as lentes não processadas para NFLX impregnada na Balafilcon A e para o ATRA impregnada na Hilafilcon B, já para o ATRA impregnado na Balafilcon A não foi verificado nenhuma alteração. A diminuição insignificante que foi verificada para ambos os casos supõe-se que tenha sido devido a erros de medição por parte do utilizador e do equipamento.

Na análise de SEM para o ATRA e a NFLX impregnada na Balafilcon A foi possível verificar a presença do fármaco tanto na superfície da lente como no corte transversal, o que confirma a sua incorporação no interior da matriz.

Com isto, pelas análises efetuadas durante a caracterização das lentes impregnadas, concluiu-se uma vez mais que o processo de impregnação/deposição por scCO₂ revelou-se eficaz e inócuo para as propriedades das lentes, uma vez que não provocou qualquer alteração significativa nas mesmas. No entanto, apenas um dos sistemas estudados obteve um perfil de libertação controlada.

Embora o custo deste tipo de SLC seja inicialmente mais caro que os sistemas convencionais, nomeadamente colírios e pomadas oftálmicas, a eficácia do tratamento e a redução da frequência da aplicação fará com que estes sistemas sejam comercial e clinicamente mais apelativos, quer para os profissionais de saúde quer para os pacientes (Phan *et al.*, 2014).

Como perspetivas futuras, com os resultados obtidos seria interessante efetuar ensaios de impregnação com uma taxa de despressurização mais baixa, a fim de se compreender a

influência que este parâmetro apresenta na quantidade de fármaco impregnado por lente de contacto.

Considerando o facto da ausência de fármaco impregnado nas lentes de Hilafilcon B devido à baixa afinidade do polímero com o fármaco, tornar-se-ia útil efetuar o estudo desta tecnologia recorrendo ao uso de um co-solvente, como por exemplo, a água ou com 5% de etanol (quantidade pequena para não danificar a matriz polimérica), para verificar a sua influência quer no melhoramento da afinidade, quer no aumento da eficiência do processo.

Apesar de existirem artigos que comprovam que não há alteração da permeabilidade ao oxigénio com a utilização de scCO₂ devem ser estudados/aprimorados os métodos de determinação deste parâmetro.

Também seria interessante realizar ensaios de libertação em fluido lacrimal, uma vez que já se conhecem todas as interações envolvidas no processo de impregnação/deposição através de scCO₂.

Por fim, realizar ensaios *in vivo* com o ATRA e com a NFXL com o de entender se a quantidade de fármaco impregnado na matriz é segura e eficaz para o tratamento das patologias oculares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ambroziak, A. M., Szaflik, J.P. e Szaflik, J. (2004). *Therapeutic use of a silicone hydrogel contact lens in selected clinical cases*. Eye Contact Lens. 30 (1), 63-7.
- Baudouin, C., Labbé, A. e Liang, H. (2010). *Preservatives in eyedrops: The good, the bad and the ugly*. Prog Retin Eye Res, 29, 312-34.
- Bausch & Lomb. (2003). *Softens (Hilafilcon B) Visibility Tinted Contact Lenses for Daily Wear. Package Insert and Fitting Guide*.
- Bausch & Lomb. (2008). *Pure Vision (Balafilcon A) Visibility Tinted Contact Lenses. Package Insert and Fitting Guide*.
- Beatty, S., Koh, H., Phil, M., Henson, D. e Boulton, M. (2000). *The Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Age-Related Macular Degeneration*. Survey of Ophthalmology, 45(2), 115–134.
- Beckman, E. J. (2004). *Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing*. Journal of Supercritical Fluids, 28, 121-191.
- Bergmann, C.P. e Stumpf, A. (2013). *Dental Ceramics, Topics in Mining, Metallurgy and Materials Engineering*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Blasiak, J., Petrovski, G., Veréb, Z., Facskó, A. e Kaarniranta, K. (2014). *Oxidative stress, hypoxia, and autophagy in the neovascular processes of age-related macular degeneration*. BioMed Research International.
- Braga, M. E. M., Costa, V. P., Pereira, M. J. T., Fiadeiro, P. T., Gomes, A. P. A. R., Duarte, C. M. M. e de Sousa, H. C. (2011a). *Effects of operational conditions on the supercritical solvent impregnation of acetazolamide in Balafilcon A commercial contact lenses*. International Journal of Pharmaceutics, 420(2), 231–43.
- Braga, M. E. M., Marques, S. R., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A. C. M. M. Duarte, C. M. M. e de Sousa, H.C. (2011b). *Supercritical carbon dioxide processing of commercial contact lenses: sorption effects on drug loading*. Proceedings of the 13th EMSF, European Meeting on Supercritical Fluids, Den Hague, The Netherlands, October 9-13.
- Braga, M. E. M., Pato, M. T. V., Silva, H. S. R. C., Ferreira, E. I., Gil, M. H., Duarte, C. M. M., e de Sousa, H. C. (2008). *Supercritical solvent impregnation of ophthalmic drugs on chitosan derivatives*. The Journal of Supercritical Fluids, 44(2), 245–257.

- Braga, M. E. M., Yañez, F., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Duarte, C. M. M., Gil, M. H. e de Sousa, H. C. (2010). *Improved drug loading/release capacities of commercial contact lenses obtained by supercritical fluid assisted molecular imprinting methods*. Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 148(1), 102–4.
- Brant, A. (2008). *Preparação e caracterização de hidrogéis a partir de misturas de soluções de quitosana e poli(N-vinil-2-pirrolidona)*. Universidade de São Paulo. São Paulo. Tese de Doutorado.
- Chien, Y. W. e Lin, S. (2007). *Drug Delivery: Controlled Release* - Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Informa Healthcare USA.
- Chim, R., Marceneiro, S., Braga, M. E. M., Dias, A. M. e de Sousa, H. C. (2012). *Solubility of norfloxacin and ofloxacin in supercritical carbon dioxide*. Fluid Phase Equilibria, 331, 6–11.
- Christie, C. L. (1999). *Therapeutic contact lenses*. Contact Lens and Anterior Eye, 22.
- Coelho, J. F., Ferreira, P. C., Alves, P., Cordeiro, R., Fonseca, A. C., Góis, J. R. e Gil, M. H. (2010). *Drug Delivery Systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments*. EPMA J, 1, 164-209.
- Coimbra, P. *Preparação e caracterização de sistemas de libertação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra 2010.
- Comissão europeia - memorando. (2012). *A Comissão apresenta propostas de um novo quadro regulamentar da UE para dispositivos médicos e dispositivos médicos de diagnóstico in vitro*
- Coral, G. C., Ghanem, V. C. e Ghanem, R. C. (2009). *Lentes de contato terapêuticas e as vantagens dos materiais de alto Dk*. Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, 71, 19–22.
- Costa, V. P., Braga, M. E. M., Guerra, J. P., Duarte, A. R. C., Duarte, C. M. M., Leite, E. O. B. e de Sousa, H. C. (2010). *Development of therapeutic contact lenses using a supercritical solvent impregnation method*. The Journal of Supercritical Fluids, 52(3), 306–316.
- Deshpande, S. G. e Shirolkar, S. (1989). *Sustained release ophthalmic formulations of pilocarpine*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 41(3), 197–200.

- Dias, A. M., Marceneiro, S., Braga, M. E., Coelho, J. F., Ferreira, A. G., Simões, P. N., Veiga, H. I., Tomé, L. C., Marrucho, I. M., Esperança, J. M., Matias, A. A., Duarte, C. M., Rebelo, L. P. e de Sousa, H. C. (2012). *Phosphonium-based ionic liquids as modifiers for biomedical grade poly(vinylChloride)*. *Acta Biomaterialia* 8 (3), 1366 - 1379.
- Dodane, V. e Vilivalam, V. (1998). *Pharmaceutical applications of chitosan*. *Pharm. Sci. Technol. To*,1, 246–253.
- Fast, R. B. (1997). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 157(10), 1437.
- Fleming, O. S. e Kazarian, S.C. (2005). *Polymer Processing with Supercritical Fluids*. M. F. Kemmere, T. Meyer (Eds.), *Supercritical Carbon Dioxide: in Polymer Reaction Engineering*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, Germanypp. 205–234.
- Garrett, R.W., Laycock, Q. e Garrett, R.W.(2000). *Hydrogel Lens Monomer Constituents Modulate Protein Sorption*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 41(7),1687-95.
- Gayton, J. L. (2009). *Etiology, prevalence and treatment of dry eye disease*. *Clinical Ophthalmology*, 3, 405-410.
- Ghate, D. e Edelhauser, H. F. (2006). *Ocular drug delivery*. *Expert Opin. Drug.Deliv*. 3, 275-287.
- González-Chomón, C., Braga, M. E. M., de Sousa, H. C., Concheiro, A. e Alvarez-Lorenzo, C. (2012). *Antifouling foldable acrylic IOLs loaded with norfloxacin by aqueous soaking and by supercritical carbon dioxide technology*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics : Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik*, 82(2), 383–91.
- Gossman, M. V. (2004). *Systematic Evaluation of the Mouse Eye: Anatomy, Pathology, and Biomethods*. *Journal of Neuro-Ophthalmology*, 24(1), 84–85.
- Gulsen, D. e Chauhan, A. (2006). *Effect of water content on transparency, swelling, lidocaine diffusion in p-HEMA gels*. *J. Membrane Sci.*, 269, 35–48.
- Guzman, A., Colligris, B. e Pintor, J. (2013). *Contact lenses: promising devices for ocular drug delivery*. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics : The Official Journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 29(2), 189–99.

- Holler, J. F., Skoog, A. e Crouch. R. S. (2009). *Princípios de Análise Instrumental*. Bookman. 6^a edição.
- Hsu, K. H., Fentzke, R. C. e Chauhan, A. (2013). *Feasibility of corneal drug delivery of cysteamine using vitamin e modified silicone hydrogel contact lenses*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85 (3), 531–540.
- Hu, X., Hao, L., Wang, H., Yang, X., Zhang, G., Wang, G. e Zhang, X. (2011). *Hydrogel Contact Lens for Extended Delivery of Ophthalmic Drugs*. *International Journal of Polymer Science*, 1–9.
- Jones, L. (2002). *Modern contact lens materials: A clinical performance update*. *Contact Lens Spectrum*, 24-35.
- Karlgard, C.C.S., Sarkar, D.K., Jones, L.W., Moresoli, C. e Leung, K.T. (2004). *Drying methods for XPS analysis of pure vision, focus, night & day, and conventional hydrogel contact lenses*. *Appl. Surf. Sci.*, 230, 106–114.
- Kazarian S. G. (2000). *Polymer Processing with Supercritical Fluids*. *Polymer Science*, 78-101 (Review).
- Kikic, F. e Vecchione, F. (2003). *Supercritical Impregnation of Polymers*. *Curr. Opin. Solid St. Mat. Sci.* 7 399–405.
- Lang, J. C. (1995). *Ocular drug delivery conventional ocular formulations*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16(1), 39–43.
- Launer, P. J. (1987). *Infrared Analysis Of Organosilicon Compounds: Spectra-Structure Correlations*. *Silicon Compounds: Register and Review*.
- Lauritsen, K. J. e Nguyen, T. (2009). *Combination products regulation at the FDA*. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 85(5), 468–470.
- Lee, Y. S., Lowe, J. P., Gilby, E., Perera, S. e Rigby, S. P. (2010). *The initial release of cisplatin from poly(lactide-co-glycolide) microspheres*. *International Journal of Pharmaceutics*, 383(1-2), 244–254.
- Li, C.C. e Chauhan, A. (2006). *Modeling ophthalmic drug delivery by soaked contact lenses*. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 45, 3718–3734.
- Li, Q. L., Chen, Z. Q., Darvell, B. W., Liu, L. K., Jiang, H. B., Zen, Q., Peng, Q. e Ou, G. M. (2007). *Chitosanphosphorylated chitosan polyelectrolyte complex hydrogel as an*

- osteoblast carrier*. Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials, 2, 481-486.
- Lin, C. C. e Metters, A. T. (2006). *Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling*. Advanced Drug Delivery Reviews, 58(12-13), 1379-1408.
- Maldonado C. e Efron, N. (2003). *Hydrogel Lenses – Materials and Manufacture : A Review*. Optometry in Practice, 4, 101–115.
- Malmonge, S. e Zavaglia, C. (1997). *Hidrogéis de PoliHEMA para Reparo de Defeitos da Cartilagem Articular. 1 - Síntese e Caracterização Mecânica*. Polímeros: Ciência e Tecnologia.
- Maryadele, J. (2011). *The Merck index.: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. Print Book. 3ª edição.
- Michael, A., Baudouin, C., Baum, J., Dogru, M. e Foulks, G., (2007). *The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*. The Ocular Surface, 5 (2) (85-92).
- Michalska-Małecka, K., Kabiesz, a., Nowak, M. e Śpiewak, D. (2015). *Age related macular degeneration – challenge for future: Pathogenesis and new perspectives for the treatment*. European Geriatric Medicine, 6(1), 69–75.
- Montero, J., Sparholt, J., Mély, R. e Long, B. (2003) *Retrospective case series of therapeutic applications of lotrafilcon a silicone hydrogel soft contact lenses*. Eye Contact Lens. 29(2).
- Morèrea, J., Tenorio M. J., Torralvo M. J., Pando C., Renuncio J. A. R. e Cabañas A. (2011). *Deposition of Pd into mesoporous silica SBA-15 using supercritical carbon dioxide*. Journal of Supercritical Fluids, 56, 213–222.
- Netter, Frank H. (2000). *Atlas de Anatomia Humana*. Porto Alegre: Artmed. 2ª edição.
- Ngai, V., Medley, J.B., Jones, L., Forrest, J. e Teichroe, J. (2005). *Friction of Contact Lenses: Silicone Hydrogel versus Conventional Hydrogel*. Tribology and Interface Engineering Series, 48, 371-379.
- Phan, C.M., Hui A, Subbaraman L. e Jones L. (2014). *Insights to Using Contact Lenses for Drug Delivery*. Clin Exp Pharmacol, 3, 145.

- Pisella, P.J., Pouliquen, P. e Baudouin, C. (2002). *Prevalence of ocular symptoms and signs with preserved and preservative free glaucoma medication*. Br J Ophthalmol, 86, 418-23.
- Rosa, A. B. S., Marceneiro, S., Braga, M. E. M., Dias, A. M. e de Sousa, H. C. (2015). *Solubility of all-trans retinoic acid in supercritical carbon dioxide*. The Journal of Supercritical Fluids, 98, 70–78.
- Rosa, A. *Poly (ϵ -caprolactone)/SBA-15 composite biomaterials plasticized with greener additives*. Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra 2013.
- Seeley, S. R., Stephens, T. D. e Tate, P. (2003). *Anatomy & Physiology*. McGraw-Hill Companies, Inc. 6ª edição.
- Siddikuzzaman, V. e Grace, V. M. B. (2012). *retinoic acid (ATRA) and enhanced activity of liposome encapsulated ATRA against inflammation and tumor-directed angiogenesis*. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 35, 1–10.
- Siepmann, J. e Peppas, N. (2001). *Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)*. Advanced Drug Delivery Reviews, 48(2-3), 139–157.
- Sklubalova, Z. e Zatloukal, Z. (2006). *Study of eye drops dispensing and dose variability by using plastic dropper tips*. Drug Dev. Ind. Pharm., 32, 197–205.
- Sklubalova, Z. e Zatloukal, Z. (2005). *Systematic study of factors affecting eye drop size and dosing variability*. Pharmazie, 60, 917–921.
- Szuts, E. Z. e Harosi, F.I. (1991). *Solubility of Retinoids in Water*.
- Tang, C., Guan, Y.-X., Yao, S.-J. e Zhu, Z.-Q. (2014). *Preparation of ibuprofen-loaded chitosan films for oral mucosal drug delivery using supercritical solution impregnation*. International Journal of Pharmaceutics, 473(1-2), 434–41.
- Trial, D. T. (2010). *Age-Related Macular Degeneration*. 1–2.
- Van der Worp, E., Bornman, D., Ferreira, D. L., Faria-Ribeiro, M., Garcia-Porta, N. e González-Meijome, J. M. (2014). *Modern scleral contact lenses: A review*. Contact Lens and Anterior Eye, 37(4), 240–250.

- Velaga, S. P., Ghaderi, R. e Carlfors, J. (2002). *Preparation and characterisation of hydrocortisone particles using a supercritical fluids extraction process*. International Journal of Pharmaceutics, 231(2), 155–66.
- Vilar, G., Tulla-Puche, J. e Albericio, F. (2012). *Polymers and drug delivery systems*. Current Drug Delivery, 9(4), 367–394.
- Yalkowsky, H.S., Jain, P. e He, Y. (2010). Handbook of Aqueous Solubility Data.
- Yañez, F., Concheiro, A. e Lorenzo, A. C. (2008). *Macromolecule release and smoothness of semi-interpenetrating PVP–pHEMA networks for comfortable soft contact lenses*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 69, 1094–1103.
- Yañez, F., Martikainen, L., Braga, M. E. M., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Duarte, C. M. M. e de Sousa, H. C. (2011). *Supercritical fluid-assisted preparation of imprinted contact lenses for drug delivery*. Acta Biomaterialia, 7(3), 1019–30.
- Yavuz, B., Pehlivan, S. e Ünlü, N. (2012) *Review Article: An Overview on Dry Eye Treatment: Approaches for Cyclosporin A Delivery*. The Scientific World Journal Volume 2012.

WEBGRAFIA

- Bayer: *Science For a Better Life: Gotas oftálmicas, protege e hidrata a superfície ocular*. Disponível em <http://www.bayer.pt/ebbsc/cms/pt/news/news0172.html>, acedido em Julho 2015.
- Brightfocus: *Age-Related Macular: Facts and Figures*. Disponível em: <http://www.brightfocus.org/macular/article/age-related-macular-facts-figures>, acedido em Julho 2015.
- DrugBank: *ATRA*. Disponível em <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00755>, acedido em Novembro de 2014.
- E-Eye: *Dry eye syndrome treatment*. Disponível em <http://www.dry-eyes.com.au/>, acedido em Junho 2015.
- Infarmed: *CHIBROXOL 3 mg/ml Colírio, solução – Resumo das Características do Medicamento (RCM)*. Disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=1708&tipo_doc=rcm, acedido em Junho 2015c.

Infarmed: *Legislação Farmacêutica Compilada - Decreto-Lei n.º 145/2009, de 17 de Junho.*

Disponível em http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_V/TITULO_V_CAPITULO_II/122-A_DL_145_2009_2ALT.pdf, acessido em Setembro 2015a.

Infarmed: *Retin-A 0,5 mg/g Creme – Resumo das Características do Medicamento (RCM).*

Disponível em http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=7485&tipo_doc=rcm, acessido em Junho 2015b.

National Eye Institute (NEI): *Age-Related Eye Disease Study.* Disponível em

<https://nei.nih.gov/amd/>, acessido em Junho 2015.

NIST: *Propriedades do dióxido de carbono.* Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>, acessido em Maio 2015.

Pubchem: *Norfloxacin.* Disponível em: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/norfloxacin#section=Top>, acessido em Junho 2015.

Sociedade Portuguesa de Oftalmologia: *Degenerescência Macular da Idade.* Disponível em

https://www.spoftalmologia.pt/wp-content/uploads/2014/03/degenerescencia_macular_da_idade.pdf, acessido em Julho 2015.

Wikipédia: *Carbon Dioxide.* Disponível em https://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_dioxide,

acessido em Junho 2015b.

Wikipédia: *Eye Anatomy.* Disponível em https://en.wikipedia.org/wiki/Macula_of_retina#/media/File:Blausen_0389_EyeAnatomy_02.png,

acessido em Junho 2015a.

Anexos

ANEXO I- Curva de Calibração dos Fármacos em Água.

Para fazer as curvas de calibração de ambos os fármacos foi necessário efetuar a dissolução dos fármacos em água bidestilada.

Após pesquisa na literatura, verificou-se que os valores relativos à solubilidade do ATRA não eram concordantes, pois variavam entre: 0,0006 g/L (Szutsl e Harosi, 1991), 0,07 g/L (Yalkowsky *et al.*, 2010) e 1 g/L (DrugBank, 2015).

Foram feitas várias soluções com base nestes dados, deixando-as sob agitação de 100 rpm e a 37°C durante um período de tempo que variou entre os 15 dias e os 2 meses. Posto isto, ocorreram três situações distintas: nas concentrações mais elevadas não foi possível solubilizar o fármaco na totalidade, verificando-se precipitados do mesmo; nas concentrações mais baixas, após solubilização, não foi possível quantificar o fármaco através espectrofotómetro; por último, nas soluções onde teórica e aparentemente o fármaco se encontrava totalmente dissolvido, por análise de espectrofotometria verificou-se que se encontrava degradado, possivelmente devido ao elevado tempo de solubilização.

Face às dificuldades no processo de dissolução do ATRA, decidiu-se iniciar os ensaios de libertação *in vitro* das lentes de contacto impregnadas antes da obtenção da curva de calibração.

Após várias tentativas da solubilização do ATRA em água bidestilada conseguiu-se obter uma solução cuja concentração foi de 0,035 g/L, que demorou cerca de 3 semanas a solubilizar, com recurso a ultrassons duas vezes por semana durante 10-15 minutos a uma temperatura de 40°C. Quando se contruiu a curva de calibração, verificou-se que o valor máximo de absorvância era de 0,130. No entanto, nos ensaios de libertação previamente realizados obtiveram-se valores superiores a este e, para ultrapassar este problema, procedeu-se à realização de novas soluções com uma concentração superior (cerca de 0,04 g/L), mas sem sucesso. A solução delineada para superar esta situação foi refazer os ensaios de libertação das lentes para um volume de libertação superior (40 mL), cujos resultados se encontram no ponto a discutir em seguida.

Relativamente à solução da NFLX em água bidestilada foi possível solubilizar totalmente o fármaco numa semana, à temperatura de 37°C e a 100 rpm, com uma concentração de 0,28g/L.

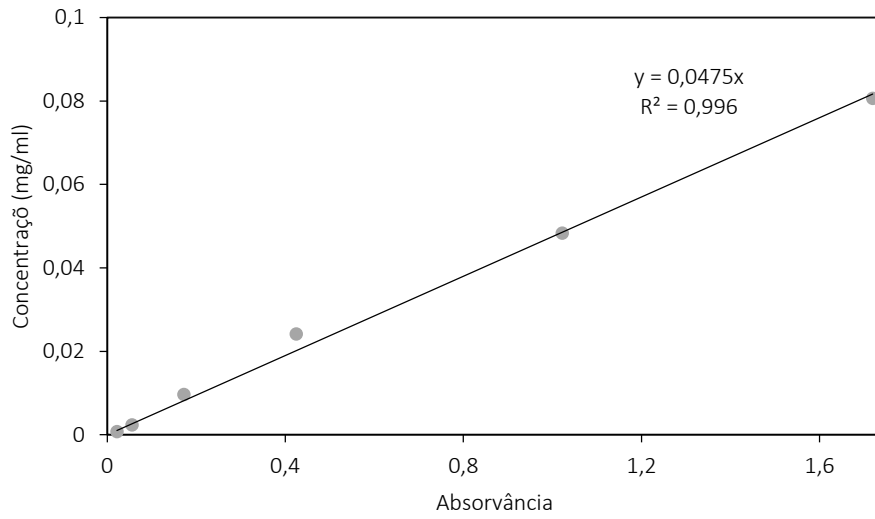


Figura I-1- Curva de calibração da NFLX em água: $[NFLX]=0.0475 \times \text{Absorvância}$.

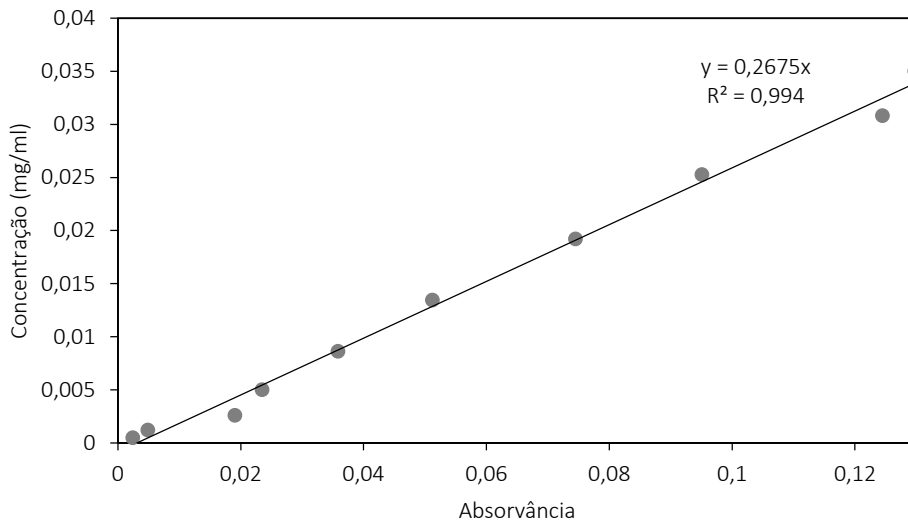


Figura I-2- Curva de calibração do ATRA em água: $[ATRA]=0.2675 \times \text{Absorvância}$.

ANEXO II- Calculo dos Parâmetros Cinéticos.

Nesta secção apenas está representado um exemplo dos cálculos efetuados dos parâmetros cinéticos, visto o raciocínio ser o mesmo para os outros casos.

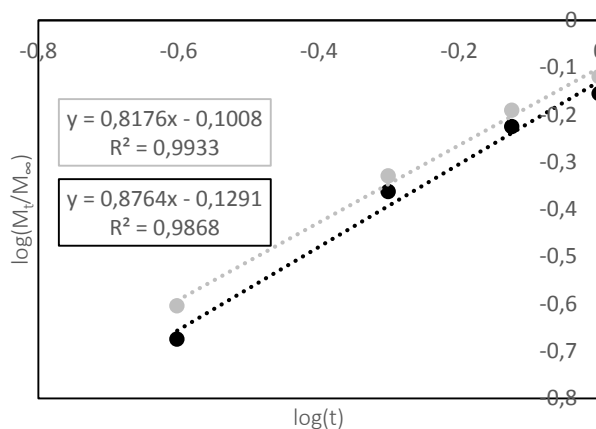


Figura II-1- Representação de $\log(\frac{M_t}{M_\infty})$ em função de $\log(t)$ para os 60% de libertação na condição à P=200 bar e T=45°C. Lente 23 (●) e lente 24 (●).

Através do declive da recta retira-se o valor de n . Da ordenada da origem retira-se o valor de K , para ambas as lentes. De seguida efetuou-se a média dos parâmetros.

Para o cálculo dos coeficientes de difusão efetuou-se as representações gráficas que se seguem:

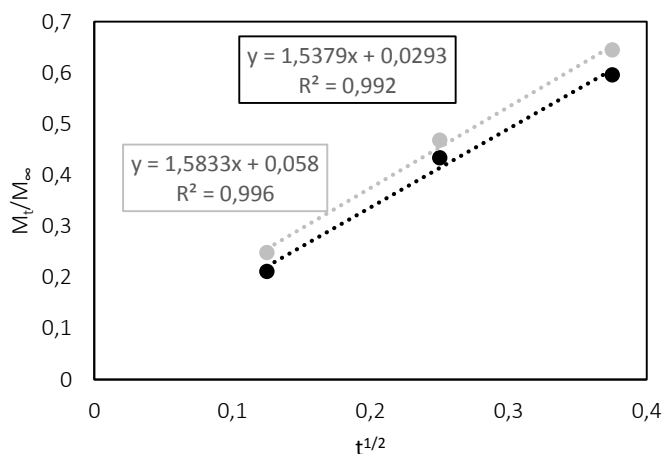


Figura II-2- Representação de $\frac{M_t}{M_\infty}$ em função de $t^{1/2}$ para os 60% de libertação na condição à P=200 bar e T=45°C. Lente 23 (●) e lente 24 (●).

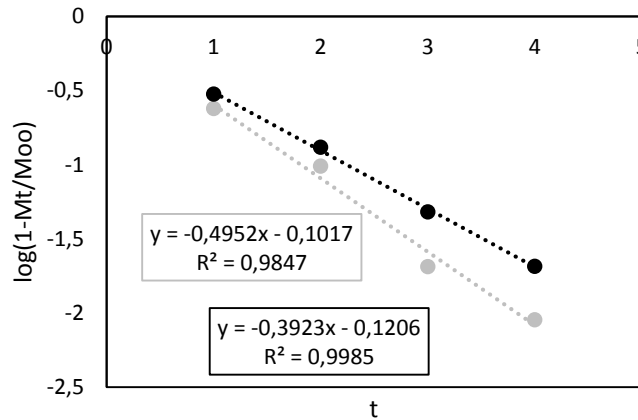


Figura II-3- Representação de $\log\left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right)$ em função de t para os últimos 40% de libertação na condição à P=200 bar e T=45°C: Lente 23 (●) e lente 24 (●).

Para o cálculo de D_1 recorreu-se à Figura II-2 e retirou-se o valor do declive (m) e calculou-se o coeficiente de difusão pela seguinte equação: $D = \frac{m^2 \times l^2 \times \pi}{16}$, em que o l toma o valor de 0,5 mm.

Já para o cálculo de D_2 recorreu-se à Figura II-3 e retirou-se o valor do declive para calcular o coeficiente de difusão pela equação: $D = -\frac{m \times l^2}{\pi^2}$.

Este raciocínio foi efetuado para cada lente da mesma condição e efetuou-se a média, obtendo-se os valores que estão na Tabela 5, ao longo da dissertação.

