



Aplicação termoanalítica no desenvolvimento e caracterização de micropartículas de PLGA contendo lapachol

Santana, D.P.^{1*}; Fonseca, S.G.C.¹; Bedor, D.C.G.¹; Leal, L.B.¹; Silva, J.A.²

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, PB, Brasil

Recebido 10/09/2008 - Aceito 16/11/2008

RESUMO

Análise térmica é amplamente utilizada para obter informações sobre interações fármaco-polímero e para realização de estudos de pré-formulação de formas farmacêuticas. O principal objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar micropartículas de PLGA contendo lapachol pela técnica da emulsificação por evaporação do solvente e avaliar as possíveis interações fármaco-polímero utilizando a calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise termogravimétrica (ATG) e espectroscopia no infravermelho (IR). Os resultados mostraram uma alta eficiência de encapsulação e as técnicas DSC e ATG evidenciaram a ocorrência de interações entre o lapachol e o PLGA, as quais foram confirmadas com a IR. O método desenvolvido das micropartículas pela técnica da emulsificação por evaporação do solvente foi adequado para produzir as micropartículas contendo lapachol.

Palavras-chave: lapachol; micropartículas PLGA; análises térmica

INTRODUÇÃO

O lapachol [2-hidróxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona] (Figura 1), é uma naftoquinona encontrada em diversas espécies vegetais da família Bignoniaceae, especialmente aquelas do gênero *Tabebuia* (Fonseca et al., 2004). Possui atividade antimicrobiana contra fungo e bactérias, antiviral, antinflamatória e antineoplásica, notadamente sobre o Tumor de Walker 256 e Sarcoma de Yoshida (Lagrotta et al., 1987; Sandoval et al., 1996). Apresentam-se sob a forma de cristais prismáticos, peso molecular 242,26 e fórmula química $C_{15}H_{14}O_3$, ponto de fusão 139,5 - 140,2 °C e absorção máxima no UV-VIS entre 251,5 - 331 nm (The Merck Index, 2001).

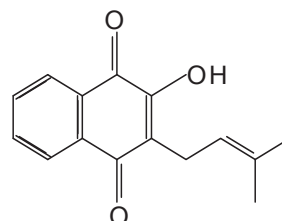


Figura 1. Estrutura química do lapachol

O desenvolvimento de um sistema de liberação controlada do lapachol a partir de um polímero biodegradável é uma importante alternativa para a profilaxia antineoplásica sobre o Tumor de Walker 256 e Sarcoma de Yoshida. O ácido poli lático-co-glicólico (PLGA) é um copolímero do ácido lático e do ácido glicólico amplamente utilizado em sistemas de liberação controlada, devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (Rouse et al., 2007; Khorasani et al., 2008; Silva-Júnior et al., 2008) que, quando hidrolisado, produzem os respectivos ácidos que são metabolizados e reabsorvido pelo organismo, através do metabolismo dos carboidratos até CO_2 e H_2O (Beiser & Kanat, 1990; Duran et al., 2006; Motta & Duek, 2006). Dentre os poliésteres alifáticos comercialmente disponíveis, o PLGA merece destaque por ser aprovado pelo FDA (Khorasani et al., 2008) para utilização em clínica humana por serem seguros do ponto de vista toxicológico (Duran et al., 2006), os quais são usados como enxerto cirúrgico, implantes e em vários dispositivos para prótese (Chu, 1982; Fredericks & Melveger, 1984; Zimmerman et al., 1987; Hay et al., 1988; Langer et al., 1990; Iannace et al., 1994; Mainardes et al., 2006).

Para a obtenção dos efeitos farmacológicos esperados em sistemas microparticulados, é necessário estabelecer e caracterizar as possíveis interações fármaco-polímero, bem como delinear o processo de produção e determinar a estabilidade física e química dos componentes da formulação (Silva-Júnior et al., 2008). A análise térmica pode ser definida como sendo “um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou

*Autor correspondente: Davi Pereira de Santana - Departamento Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Rua Prof. Arthur de Sá, s/n - Cidade Universitária - CEP: 50739-520 - Recife - PE, Brasil - Telefone: (81) 3302-6594 - e-mail: setubal46@yahoo.com

seus produtos de reação é medida, enquanto a amostra é submetida a uma programação de temperatura” (Bernal et al., 2002; Rodrigues et al., 2005; Medeiros, 2006; Silva et al., 2007; Rodrigues et al., 2008). As técnicas termoanalíticas apresentam inúmeras vantagens nos estudos de interação entre princípio ativo e excipientes (Mainardes et al., 2006; Pereira et al., 2007), estudo de cinética de degradação e estabilidade de formas farmacêuticas (Bazzo & Silva, 2005; Alencar et al., 2006), contribuindo como uma valiosa ferramenta utilizada no controle de qualidade e desenvolvimento de novas formas farmacêuticas (Macedo et al., 1997; Mainardes et al., 2006). Embora não substituam os estudos convencionais, essas técnicas mostram-se extremamente úteis em estudo de estabilidade, possibilitando a escolha das formulações mais estáveis com extrema rapidez, fator desejável para micropartículas poliméricas de PLGA (Vecchio et al., 2001; Rodante et al., 2002; Sousa et al., 2002; Bazzo & Silva, 2005).

Sob esta perspectiva, o estudo termoanalítico das micropartículas de PLGA contendo lapachol foi realizado com objetivo de determinar possíveis interações do polímero com o lapachol, através das técnicas de análise termogravimétrica (ATG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectroscopia na região do infravermelho.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Lapachol (Lafepe, Brazil); Copolímero do ácido poli lático-co-glicólico - PLGA (Boehringer Ingelheim, Alemanha); Diclorometano (Merck, Alemanha); Álcool polivinílico (PVA); Água purificada Milli-Q®.

Métodos

Preparação das micropartículas de PLGA contendo lapachol

O lapachol (50 mg) e o polímero PLGA (250 mg) foram dissolvidos na fase orgânica (diclorometano – 25 mL) e emulsionadas durante cinco minutos a 8000 rpm em tampão fosfato-ácido cítrico-ácido fosfórico pH 5,0 contendo álcool polivinílico (PVA) como estabilizante da emulsão. Após a emulsificação, a mistura foi mantida sob agitação de 400 rpm durante cinco horas para a evaporação do solvente sob exaustão em capela escura. Após este período, a suspensão foi centrifugada a 2000 rpm durante um minuto, o sobrenadante foi descartado e o resíduo resuspenso em água, este procedimento foi realizado em duplicata. Esta última suspensão foi filtrada com membrana de 0,45 µm à vácuo e o resíduo deixado em dessecador por 24 horas. Em seguida, o resíduo

foi removido da membrana e triturado em gral com pistilo, resultando em pó fino microparticulado que foi armazenado em frascos de vidro bem fechados e deixados à temperatura ambiente ao abrigo da luz.

Eficiência de encapsulação (EE)

Amostras de 10 mg de micropartículas analiticamente pesadas foram dissolvidas em 2 mL de diclorometano e diluída em metanol para balão volumétrico de 10 mL. O conteúdo foi transferido para tubo de ensaio fechado e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Posteriormente, uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi tomada e diluída em metanol para 10 mL em balão volumétrico. As amostras foram analisadas em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência HP-Série 1100 (Hewlett Packard), munido de degaseificador, bomba quartenária, injetor manual com loop de 20 µL, coluna cromatográfica Lichrosorb RP-18 250x4 mm (Merck), detector UV e integrador HP 3395. A fase móvel foi constituída de uma mistura binária metanol:ácido acético 5% (80:20), com fluxo de 1 mL/min. A porcentagem de encapsulação foi calculada conforme equação abaixo:

EE = massa de lapachol presente na micropartícula/massa teórica de lapachol x 100

Análise termogravimétrica (ATG)

As curvas ATG das amostras (lapachol, PLGA, mistura física 1:5 lapachol/PLGA e micropartículas de PLGA contendo lapachol) foram obtidas através de termo balanças modelo Shimadzu TGA-50H, sob fluxo de ar sintético de 20 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10; 12,5; 15 e 20 °C min⁻¹, até 400 °C em cadinho de alumina e massa de amostra em torno de 4,0 – 4,5 mg. Antes dos ensaios foi verificada a calibração do equipamento empregando uma amostra padrão oxalato de cálcio monoidratado sob as mesmas condições experimentais.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC das amostras (lapachol, PLGA, mistura física 1:5 lapachol/PLGA e micropartículas de PLGA contendo lapachol) foram obtidas através da célula DSC-50 Shimadzu em atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 50 mL min⁻¹; razão de aquecimento 10 °C min⁻¹, até 400 °C. As amostras, em torno de 2 mg, foram colocadas em células de alumínio hermeticamente fechada, calibrada com padrões de índio (T_{fusão} = 156,6 ± 0,2 °C) e zinco (T_{fusão} = 419,5 ± 0,3 °C) metálicos com pureza de 99,99 %. O fluxo de calor e a entalpia foram calibrados empregando-se o ΔH_{fusão} do índio metálico (28,58 ± 0,3 J g⁻¹) nas mesmas condições das amostras.

Espectroscopia no infravermelho (IR)

Os espectros de IR das amostras (lapachol, PLGA e micropartículas de PLGA contendo lapachol) foram realizados com o auxílio de um aparelho Bruker IFS66 FTIR, utilizando pastilhas de KBr e suas absorções expressas em cm^{-1} .

RESULTADOS

A concentração de lapachol encapsulado nas micropartículas de PLGA determinada por cromatografia líquida de alta eficiência foi de $91,72 \% \pm 0,79$ (n=3), o

que correspondeu a uma concentração nominal de 45,86 mg de lapachol. Os resultados foram obtidos a partir da comparação dos dados com a curva de calibração ($0,01-1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $r^2 = 0,99989$). O método foi previamente validado de acordo com Fonseca et al. (2004).

As Figuras 2 e 3 mostram, respectivamente as curvas DSC e ATG das micropartículas de PLGA contendo o lapachol, bem como dos seus componentes individuais e sua respectiva mistura física. Já o espectro de absorção no IR das micropartículas de PLGA contendo lapachol é apresentado na Figura 4, cujo objetivo foi confirmar, através da transformada de Fourier, possíveis interações entre o lapachol e o PLGA.

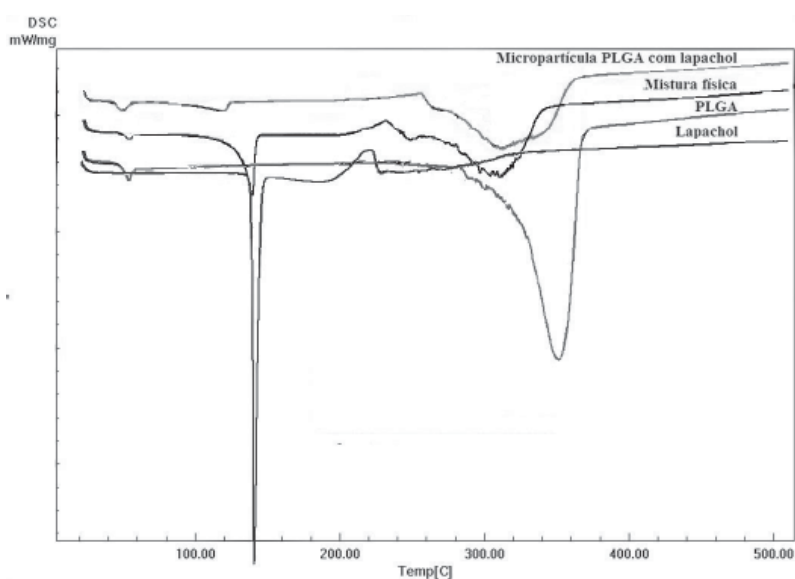


Figura 2. Curvas DSC das micropartículas de PLGA contendo lapachol, PLGA, lapachol e mistura física lapachol/PLGA.

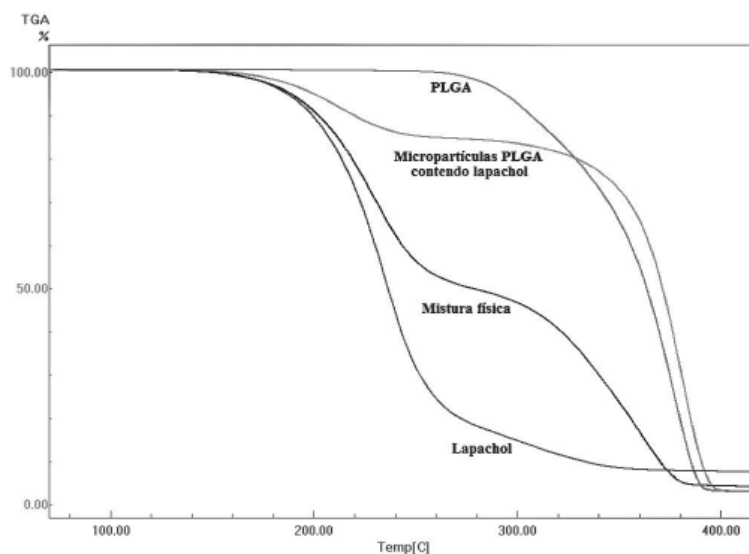


Figura 3. Curvas ATG das micropartículas de PLGA contendo lapachol, PLGA, lapachol e mistura física lapachol/PLGA.

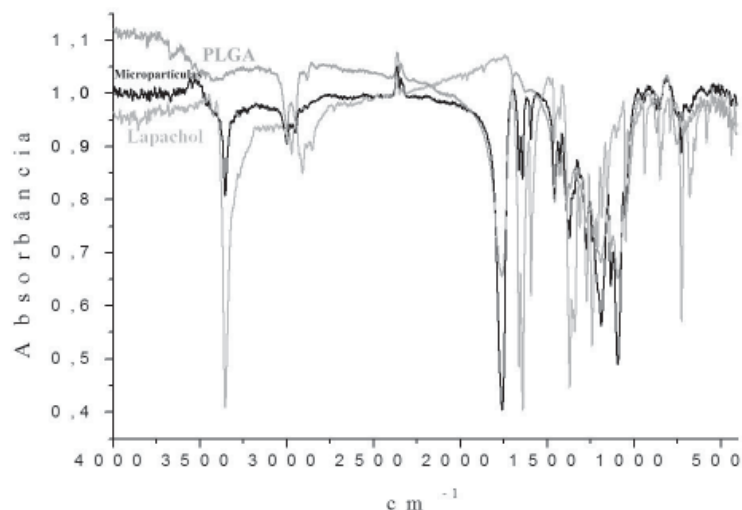


Figura 4. Espectro de absorção na região infravermelha (IR) das micropartículas de PLGA contendo lapachol, lapachol e PLGA isolado

DISCUSSÃO

As técnicas termoanalíticas possuem grande importância no âmbito farmacêutico devido à grande variedade de aplicações, as quais podem ser utilizadas tanto no controle da matéria-prima, quanto do produto acabado, possuindo potencial de emprego no desenvolvimento e na caracterização de novas formas farmacêuticas, como é o caso das micropartículas de PLGA (Rodrigues et al., 2005; Silva et al., 2007).

As curvas de aquecimento de Le Chatelier acompanham a variação na temperatura de uma amostra em função do tempo, quando a mesma é aquecida. Caso não ocorra nenhum fenômeno físico ou químico com a amostra observa-se uma reta para a variação de temperatura em relação ao tempo, havendo liberação de calor, processo exotérmico, verifica-se um aumento na temperatura durante o processo, representanda por uma inflexão no perfil temperatura – tempo. Já no processo endotérmico, com absorção de calor, observa-se a diminuição na temperatura da amostra e a inflexão na curva pode ser representado por um pico para baixo (Bernal et al., 2002).

Na curva DSC (Figura 2) pode-se observar um evento endotérmico a 141,24 °C, correspondente a fusão do lapachol, fato que está em concordância com a literatura (Macedo & Nascimento, 2001) que relatou em seu estudo sobre caracterização térmica do lapachol um valor de ponto de fusão de 141,7 °C e um calor de fusão de 132,58 J g⁻¹, com pureza de 98,6 %. Este resultado demonstra que possivelmente o lapachol esteja presente no estado cristalino na matriz polimérica, fato que é considerado comum em sistemas microparticulados obtidos por emulsificação, os quais são visualizados nas curvas de DSC, onde foi possível distinguir o lapachol isolado e sua mistura com o polímero.

A curva DSC da Figura 2 mostra, também, o termograma para o PLGA puro onde se observam dois eventos térmicos. A transição vítrea que ocorreu

entre 45,5-52,4 °C (Rouse et al., 2007) e a degradação endotérmica que ocorreu em uma única etapa no intervalo de 309,2-381 °C com um $\Delta H = 550,6 \text{ Jg}^{-1}$ e uma perda de peso de 90,1%, fatos estes que estão em concordância com Silva-Júnior et al. (2008).

As interações físico-químicas entre droga e polímero foram estudadas com o objetivo de prever o comportamento térmico das micropartículas biodegradáveis. Assim, uma mistura física de droga e polímero (1:5) com proporções idênticas aos das micropartículas contendo lapachol foram analisados por DSC e ATG. A transição vítrea do PLGA ocorreu entre 45,5-52,4 °C, seguido de um evento endotérmico no intervalo de 99-140 °C, devido à uma possível desidratação do lapachol presente na amostra (Silva-Júnior et al., 2008).

A fusão caracteriza-se por ser um fenômeno físico, o qual pode ser detectado através das curvas DSC ou ATD (Análise Térmica Diferencial), apresentando-se como um evento endotérmico (Clas et al., 1999; Bazzo & Silva, 2005). Foi observado um evento adicional nas micropartículas de PLGA contendo o lapachol, pois houve uma pequena diminuição da temperatura de fusão do lapachol, bem como alteração na forma do pico. Estas pequenas alterações estão relacionadas à presença dos componentes da formulação, as quais indicam o estado de organização do fármaco no sistema polimérico, que neste caso, dependeram, principalmente, do método de obtenção escolhido (emulsificação por evaporação do solvente), o que foi caracterizado como interações e confirmadas pelo espectro de absorção no infravermelho.

A curva ATG (Figura 3) mostra que houve modificação do perfil térmico das amostras estudadas, sendo que o lapachol apresentou comportamento térmico diferente das amostras PLGA, mistura física 1:5 lapachol/PLGA e da micropartícula contendo o lapachol. A decomposição inicial do lapachol foi em 185 °C e este resultado está em concordância com a literatura (Macedo & Nascimento, 2001). Observa-se, também, que não ocorreu alteração do

perfil de degradação térmica entre a mistura física lapachol/PLGA e o sistema microparticulado contendo lapachol, no entanto foi observada uma diferença de intensidade do perfil de degradação térmica de ambas amostras. Além disso, observa-se que o processo de decomposição térmica das micropartículas de PLGA contendo lapachol inicia-se na mesma temperatura que o lapachol isolado, os quais apresentam três estágios térmicos de decomposição em torno de 200, 240 e 300 °C.

Modificações quanto à cristalinidade dos fármacos podem ser caracterizadas por DSC através de alterações significativas nas temperaturas e valores de entalpia referentes aos eventos, alterações na área e formas dos picos, bem como pelo aparecimento de novos eventos. Estas observações podem sugerir a ocorrência de alterações na cristalinidade, porém devem ser comprovadas com o auxílio de técnicas adicionais, a exemplo de difratometria de raios-X ou espectroscopia de absorção na região do infravermelho (Lin et al., 1994; Bazzo & Silva, 2005).

O espectro de absorção no IR das amostras analisadas é apresentado na Figura 4, cujo objetivo foi complementar a análise térmica e verificar, através da transformada de Fourier, possíveis interações entre o lapachol e o PLGA. As análises dos espectros indicaram que os grupos funcionais da superfície das micropartículas têm as mesmas características químicas do PLGA e do lapachol isoladamente, porém observa-se a ocorrência de formação de pontes de hidrogênio entre a hidroxila ou o oxigênio quinônico do lapachol com os grupamentos carboxila do polímero, como verificado pela exacerbação do pico correspondente a 1750 cm⁻¹ e 1150 cm⁻¹ e pela redução do pico da hidroxila do lapachol em 3300 cm⁻¹. Observa-se, também, que no espectro do PLGA é possível identificar a banda de absorção característica em 1750 cm⁻¹, o que segundo Silva-Júnior et al., (2008) está relacionado ao grupamento ester existente na sua molécula, e uma banda de absorção em 2997-2965 cm⁻¹ que segundo Motta & Duek (2006) está relacionado aos radicais CH₂ e CH₃, fatos confirmados por Porjazoska et al., (2004).

A manutenção das propriedades físico-químicas dos excipientes farmacêuticos após o processo de produção da forma farmacêutica é de fundamental importância para assegurar a atividade biológica do fármaco (Lopes et al., 2006; Silva-Júnior et al., 2008). As técnicas termoanalíticas empregadas no presente estudo fornecem parâmetros acerca do desenvolvimento e caracterização das micropartículas de PLGA contendo lapachol que são de extrema importância na identificação e controle de qualidade de fármacos em geral, sendo portanto um tema relevante para a tecnologia farmacêutica. A calorimetria exploratória diferencial permitiu identificar o lapachol através de sua faixa e entalpia de fusão, fornecendo ainda dados quantitativos sobre sua pureza. Os resultados de DSC e ATG evidenciaram a ocorrência de interações entre o lapachol e o PLGA, as quais foram confirmadas com a espectroscopia de absorção no infravermelho, no entanto as referidas técnicas confirmaram a presença do fármaco no polímero, e que

o processo utilizado mantém a integridade estrutural do lapachol, mostrando que o método de desenvolvimento pela técnica da emulsificação foi adequado para produzir as referidas micropartículas, além do estabelecimento da relação entre o comportamento térmico das micropartículas e do lapachol.

ABSTRACT

Application of thermal analysis to the development and characterization of PLGA microparticles containing lapachol

Thermal analysis has been extensively used to obtain information about drug-polymer interactions and to perform pre-formulation studies of pharmaceutical dosage forms. The aim of this study was to develop and characterize lapachol/PLGA microparticles prepared by the technique of emulsification by solvent evaporation and to analyze the drug-polymer interaction by differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetric analysis (TGA) and infrared spectroscopy (IR). The results showed that the encapsulation was highly efficient and the thermal analysis (DSC and TGA) showed evidence of interaction between lapachol and PLGA, which was confirmed by analysis of the IR data. We found that the method of emulsification by solvent evaporation was safe and successful in producing lapachol PLGA microparticles.

Keywords: lapachol; microparticles PLGA; thermal analysis

REFERÊNCIAS

- Alencar JS, Bedor DCG, Medeiros F, Alencar JRB, Leite ACL, Brondani DJ, Galembeck A, Macedo R, Albuquerque MM, Rolim Neto PJ. Caracterização e propriedades térmicas do ritonavir para qualificação de fornecedores. *Acta Farm Bonaer* 2006; 25(2):170-6.
- Bazzo GC, Silva MAS. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). *Rev Bras Ciênc Farm* 2005; 41(3):315-22.
- Beiser IH, Kanat IO. Biodegradable internal fixation. A literature review. *J Am Pediatric Med Assoc* 1990; 80:72-5.
- Bernal C, Couto AB, Breviglieri ST, Cavalheiro ETG. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Quím Nova* 2002; 25(5):849-55.

- Chu CC. The effect of pH on the in vitro degradation of poly(glycolide lactide) copolymer absorbable sutures. *J Biomed Mater Res* 1982; 16:117-24.
- Clas SD, Dalton CR, Hancock BC. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *PSTT* 1999; 2(8):311-20.
- Duran L, Mattoso, LHC, Morais PC. *Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*. São Paulo: Artliber; 2006. 207p.
- Fonseca SG, Silva LBL, Castro RF, Santana DP. Validação de metodologia analítica para doseamento de soluções de lapachol por CLAE. *Quím Nova* 2004; 27(1):157-9.
- Fredericks RJ, Melveger AJ. Morphological and structural changes in a copolymer of glycolide occurring as a result of hydrolysis. *J Polym Sci Part B: Polym Phys* 1984; 22:57-66.
- Hay DL, Von Fraunhofer JA, Chegini N, Masterson BJ. Locking mechanism strength of absorbable ligating devices. *J Biomed Mater Res* 1988; 22:179-85.
- Iannace S, Ambrosio L, Huang SJ, Nicolais L. Poly(3-hydroxybutyrate)/Poly-L-lactide blends: thermal and mechanical properties. *J Appl Polym Sci* 1994; 54:1525-30.
- Khorasani MT, Mirzadeh H, Irani S. Plasma surface modification of poly (L-lactic acid) and poly (lactic-co-glycolic acid) films for improvement of nerve cells adhesion. *Radiat Phys Chem* 2008; 77:280-7.
- Lagrotta MHC, Wigg MD, Aguiar ANS, Pinto AV, Pinto MCFR. Antiviral activity of naphthoquinones. I. lapachol derivatives against enteroviruses. *Rev Latinoam Microbiol* 1987; 29:15-20.
- Langer R, Cima LG, Tamada JA, Wintermantel E. Future directions in biomaterials. *Biomaterials* 1990; 11:738-45.
- Lin SH, Cheng CL, Perng RI. Solid state interaction studies of drug – polymers (II): warfarin - Eudragit® E, RL or S resins. *Eur J Pharm Sci* 1994; 1:313-22.
- Lopes LB, Scarpa MV, Pereira NL, Oliveira LC, Oliveira AG. Interaction of sodium diclofenac with freeze-dried soya phosphatidylcholine and unilamellar liposomes. *Rev Bras Ciênc Farm* 2006; 42(4):497-504.
- Macedo RO, Souza AG, Macedo AMC. Application of thermogravimetry in the quality control of mebendazole. *J Therm Anal Calorim* 1997; 49:937-41.
- Macedo RO, Nascimento TG, Thermal characterization of lapachol by means of TG and DSC coupled to a photovisual system. *J Therm Anal Calorim* 2001; 64:751-6.
- Mainardes RM, Gremião MPD, Evangelista RC. Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles. *Rev Bras Ciênc Farm* 2006; 42(4):523-30.
- Medeiros AFD. *Estudos térmicos de pré-formulados de diferentes fármacos e suas misturas secas via spray dry*. [Dissertação] Recife: Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFPE; 2006.
- Motta AC, Duek EAR. Síntese, caracterização e degradação “in vitro” do poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico). *Matéria* 2006; 11(3):340-50.
- Pereira RN, Valente BR, Cruz AP, Foppa T, Murakami FS, Silva MAS. Thermoanalytical study of atenolol and commercial tablets. *Lat Am J Pharm* 2007; 26 (3): 382-6.
- Porjazoska A, Garacinova K, Mladenovska K, Glava M. Poli (DL-lactide-co-glycolide) microparticles as systems for controlled release of proteins – preparation and characterization. *Acta Pharm* 2004; 54:215-29.
- Rodante F, Vecchio S, Catalana G, Tomassetti M. Compatibility between active components of a commercial drug. *Farmaco* 2002; 57:833-43.
- Rodrigues PO, Cardoso TM, Silva MAS, Matos JR. Caracterização termoanalítica e estudo do perfil de dissolução de comprimidos contendo metronidazol. *Lat Am J Pharm* 2008; 27(4):528-34.
- Rodrigues PO, Cardoso TFM, Silva MAS, Matos JR. Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização, determinação da pureza e cinética de degradação da zidovudina (AZT). *Acta Farm Bonaer* 2005; 24(3):383-7.
- Rouse JJ, Mohamed F, Van der Walle CF. Physical ageing and thermal analysis of PLGA microspheres encapsulating protein or DNA. *Int J Pharm* 2007; 339:112-20.
- Sandoval NA, Rodriguez C, Poch M, Martinez NR. Tumores provocados por metilcolantreno y lapachol. Seguimiento del desarrollo mediante citología. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1996; 46:257-64.
- Silva ECS, Paola MVRV, Matos JR. Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Rev Bras Ciênc Farm* 2007; 43(3):347-56.
- Silva-Júnior AA, Scarpa MV, Pestana KC, Mercuri LP, Matos JR, Oliveira AG. Thermal analysis of biodegradable microparticles containing ciprofloxacin hydrochloride obtained by spray drying technique. *Thermochim Acta* 2008; 467:91-8.
- Sousa FS, Macedo RO, Veras JWE. Studies of cimetidine pré-formulated and tablets for TG and DSC coupled to the photovisual system. *Thermochim Acta* 2002; 392-393:99-106.
- The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13th ed. New Jersey: Merck; 2001.
- Vecchio S, Rodante F, Tomassetti M. Thermal stability of disodium and calcium phosphomycin and the effects of the excipients evaluated by thermal analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 24:1111-23.
- Zimmerman M, Parsons JR, Alexander H. The design and analysis of a laminated partially degradable composite bone plate for fracture fixation. *J Biomed Mater Res* 1987; 21:345-61.