



## DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE PEG/PLA PARA SISTEMA DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE MEDICAMENTOS (CETOPROFENO/NIMESULIDA)

Beatriz Santos Rocha  
Geovanna da Rocha Machado  
Giulia Cadena de Araujo  
Lorena Sofia Tomé Ribeiro  
Luana Martins Silva  
Renata Leal dos Santos  
Thais Gabrielle Moreira Silva

Orientador (as): Prof<sup>a</sup>. Aline Alves Ramos e Thais Taciano dos Santos

### RESUMO

Nos últimos anos, o desenvolvimento de micropartículas poliméricas tem sido amplamente explorado em pesquisas científicas, sendo uma de suas principais aplicações a liberação controlada de medicamentos. Esses sistemas oferecem vantagens significativas, permitindo otimizar tanto o processo de liberação quanto a eficácia do medicamento no organismo. Remédios classificados como anti-inflamatórios não esteroidais tem um alto índice de efeitos colaterais devido administrações frequentes, que cruzam a faixa terapêutica de sistemas convencionais. Quando ingeridos em grande quantidade, fármacos como o cetoprofeno e a nimesulida podem causar irritações no trato gastrointestinal, e até hemorragias. Por estes motivos, ambos se mostram um ótimo pretendente para sistemas de liberação controlada. Para que a liberação controlada seja efetuada, os medicamentos devem ser envolvidos em uma microcápsula polimérica. Neste trabalho, foram usados o polietilenoglicol (PEG) e o poliácido láctico (PLA) para tal função, uma vez que os dois polímeros apresentam elevada capacidade de reticulação de fármacos hidrofóbicos.

Durante o estudo, foi realizada a síntese de micropartículas de PEG/PLA/cetoprofeno com o objetivo de encapsular o fármaco. Na primeira formulação, observou-se a formação de um filme após a secagem, o que indicou a necessidade de ajustes no processo de encapsulação. Na nova formulação, as micropartículas apresentaram um aspecto visual aprimorado, evidenciando uma melhoria na metodologia utilizada. Além disso, a síntese de micropartículas de PEG/nimesulida resultou na presença de uma mancha amarelada na placa de Petri após a secagem, sugerindo que o uso da água destilada para lavagem não foi totalmente eficaz na remoção da nimesulida não encapsulada.

**Palavras-chave:** Micropartículas poliméricas. Liberação controlada. Sistemas. Cetoprofeno. Nimesulida. PEG. PLA.

### ABSTRACT

*In recent years, the development of polymeric microparticles has been widely explored in scientific research, with one of its main applications being the controlled release of medicines. These systems offer significant advantages, allowing to optimize both the release process and the effectiveness of the medicine in the body. Medicines classified as non-steroidal anti-inflammatory drugs have a high rate of side effects due to frequent administrations, which cross the therapeutic range of conventional systems. When ingested in large quantities, drugs such as ketoprofen and nimesulide can cause irritation in the gastrointestinal tract and even bleeding. For these reasons, both are great candidates for controlled release systems. For controlled release to take place, medications must be enclosed in a polymeric microcapsule. In this work, polyethylene glycol (PEG) and polylactic acid (PLA) were used for this function, since both polymers have a high capacity for cross-linking hydrophobic drugs.*

*During the study, the synthesis of PEG/PLA/ketoprofen microparticles was carried out with the aim of encapsulating the drug. In the first formulation, the formation of a film was observed after drying, which indicated the need for adjustments in the encapsulation process. In the new formulation, the microparticles presented an improved visual appearance, demonstrating an improvement in the methodology used. Furthermore, the synthesis of PEG/nimesulide microparticles resulted in the presence of a yellowish stain on the Petri dish after drying, suggesting that the use of distilled water for washing was not fully effective in removing unencapsulated nimesulide.*

**Keywords:** Polymeric microparticles. Controlled release. Systems. Ketoprofen. Nimesulide. PEG. PLA.

Curso Técnico em Química – ETEC Irmã Agostina  
Av. Feliciano Correa s/n – Jardim Satélite - CEP 04815-240 - São Paulo – Brasil  
\* lorenastomer@gmail.com

*Recebido em: 27/11/2024*

*Apresentado à banca em: 04/12/2024*

## **1 INTRODUÇÃO**

De acordo com a literatura, sistemas de liberação controlada podem ser definidos como um sistema onde o agente ativo de um determinado

fármaco é liberado de forma prolongada e contínua. Esse padrão de liberação se torna mais eficiente quando comparado com métodos tradicionais de liberação por suas menores taxas de variação do nível plasmático do fármaco (AZEVEDO, 2005).

Na maioria dos casos, em administrações comuns de fármacos como pílulas, injeções ou comprimidos, o agente ativo é liberado rapidamente na corrente sanguínea, causando um pico na concentração do ativo que, logo em seguida, começa a decair. Isso pode vir a se tornar problemático pois todas as drogas possuem três fases: a sub-terapêutica, onde se torna ineficaz, a terapêutica, onde se torna eficaz e a tóxica, a qual pode causar efeitos colaterais, como representado na figura 1. (BIZERRA; SILVA, 2016).

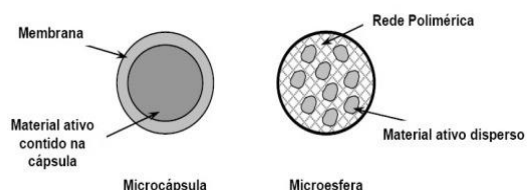
**Figura 1: Perfil de liberação de fármacos em sistemas convencionais e controlados em função do tempo.**



Fonte: adaptado de PRIMO, 2006

De acordo com a IUPAC, uma esfera polimérica se encontra na faixa de diâmetro de 0,1 mm (milímetros). No intervalo de 0,1 mm a 100  $\mu\text{m}$ , (micrômetros) serão chamadas, aquelas que contém o fármaco solubilizado ou disperso homogeneamente no interior da matriz polimérica, de microesferas ou micropartículas, quando não é possível verificar o formato esférico das partículas. Já as que possuem uma espécie de envoltório, na qual geralmente é formado por um polímero, e dentro podemos identificar um tipo de núcleo formado por uma substância sólida, líquida ou gasosa, podem ser chamadas de microcápsulas. A diferença entre as esferas poliméricas e as microcápsulas pode ser observada na figura 2 (AZEVEDO, 2005; EVERETT, KOOPAL, 2001).

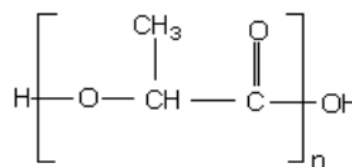
**Figura 2: diferenças entre microcápsulas e microesferas**



Fonte: MATTÉ, 2013

O poli ácido lático ou ácido polilático (PLA), É um poliéster alifático, obtido pela polimerização do ácido lático. Esse polímero pode ser obtido de fontes renováveis, é biocompatível, biodegradável e possui baixa toxicidade. Essas características tornam o PLA um polímero amplamente utilizado na indústria farmacêutica e em sistemas de liberação controlada, já que ele também possui uma elevada capacidade de reticulação de fármacos hidrofóbicos. Sua fórmula molecular é  $(\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2)_n$ , e sua fórmula estrutural se encontra na figura 3 (GIBELLI, 2012).

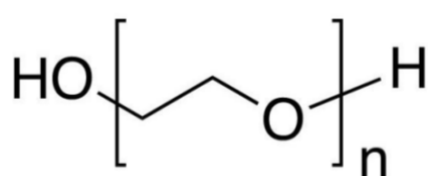
**Figura 3: Fórmula estrutural da unidade de repetição do PLA.**



Fonte: YU, 2010

O polietilenoglicol (PEG) é um poliéster sintético, hidrofílico, biocompatível e de baixa toxicidade. É considerado um polímero farmacologicamente ativo, ou seja, pode agir como medicamento ou como veículo de outros fármacos para aumentar sua meia-vida. Essas características, juntamente com a capacidade do PEG de aumentar a solubilidade de compostos hidrofóbicos ou com baixa solubilidade em água, tornam esse polímero uma boa alternativa para o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada, cuja fórmula é representada na figura 4 (TIAN, et. al., 2012).

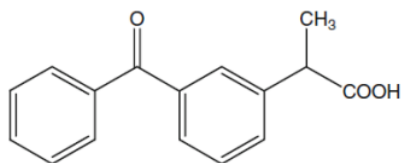
**Figura 4: Fórmula estrutural da unidade de repetição do PEG.**



Fonte: COELHO, 2018

O cetoprofeno (ácido 3-benzoil- $\alpha$ -metilbenzo acético) é um anti-inflamatório não esteroidal que apresenta atividade anti-inflamatória, analgésica e antidismenorréica. É derivado do ácido fenilpropionico acético e é solúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona e éter, mas é pouco solúvel em água. Apesar de possuir características lipofílicas, não é considerado completamente hidrofóbico. Possui uma massa molar de  $254 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e sua estrutura é apresentada conforme a figura 5 (FLOREY, 1981; AHUJA, et. al., 2008; LOZANO; MARTÍNEZ, 2006).

Figura 5: Fórmula estrutural química do cetoprofeno.

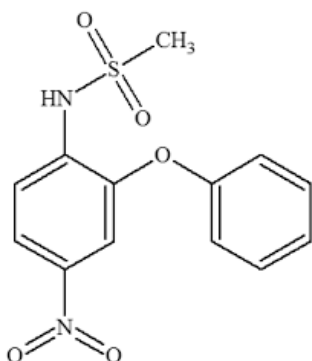


Fonte: KHAN, 2011

Sendo um fármaco que é rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal e possuindo uma meia-vida de 2 a 4 horas, aproximadamente 50% da dose ingerida é expelida 6 horas após sua administração. Em consequência, administrações frequentes de altas doses do fármaco são necessárias para manter seus níveis terapêuticos, porém, quando ingerido em grande quantidade, o cetoprofeno pode causar irritações no trato gastrointestinal, e até hemorragias. Por estes motivos, o cetoprofeno se mostra um ótimo pretendente para sistemas de liberação controlada. (MOREIRA, et. al., 2012).

A nimesulida (N-(4-nitro-2-fenoxifenil) metanosulfonamida), um anti-inflamatório não esteroide, é uma alquilssulfonamida considerada protótipo da classe das metassulfonamidas, principalmente devido à potência anti-inflamatória. É encontrado na forma de pó cristalino levemente amarelado, sendo praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em etanol e muito solúvel em acetona. Sua massa molar é 308,3 g.mol<sup>-1</sup>, sua fórmula molecular C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S, e sua estrutura se encontra representada na figura 6 (BRUNTON, et al., 2006; LEVAL, et al., 2000; FARMACOPÉIA PORTUGUESA, 2002).

Figura 6: Fórmula estrutural química da nimesulida.



Fonte: ANVISA, 2003

O fármaco apresenta rápida absorção e sua dose diária recomendada é 100 mg por via oral para situações clínicas. A nimesulida é bastante utilizada em terapias de uso contínuo, o que exige altas doses em uso prolongado, ocasionando uma elevada incidência de efeitos colaterais, principalmente sobre o trato gastrointestinal

(MAZZARINO, KNORST, 2007; KULKARNI, 2002; BERNAREGGI, 1993).

A fim de tornar a ingestão de tais medicamentos mais eficaz e segura, no presente trabalho foi desenvolvido dois sistemas de liberação para dois fármacos diferentes. Um sistema desenvolvido a partir da blenda de poli ácido láctico (PLA) e polietilenoglicol (PEG) para a veiculação do cetoprofeno, e o outro sistema elaborado a partir, unicamente, do polietilenoglicol (PEG) para a veiculação da nimesulida.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os reagentes utilizados na realização dessas micropartículas, juntamente com suas fórmulas químicas, estão descritos conforme Tabela 1.

Tabela 1: reagentes e suas respectivas fórmulas químicas.

Reagente	Fórmula Molecular
PEG 6000	(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) nH <sub>2</sub> O
PLA	(C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ) n
Cetoprofeno	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
Nimesulida	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S
Clorofórmio	CHCl <sub>3</sub>
PVA	(C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> ) n

Fonte: do próprio autor, 2024

Para a produção das micropartículas de PEG/PLA/cetoprofeno e PEG/nimesulida foram utilizados a centrífuga da marca Nova Instruments®, a balança analítica modelo AG200, marca Gehaka®, agitador magnético IKA® Color Squid, estufa, espectrofotômetro UV/Visível modelo NI-1600 UV.

### 2.2 SÍNTESE DAS MICROPARTICULAS PEG/PLA E CETOPROFENO

As micropartículas foram preparadas através da técnica de emulsão e evaporação do solvente O/A, onde ocorre a formação de uma emulsão por meio da união de uma fase oleosa e aquosa. Inicialmente, para a fase oleosa, pesou-se 0,1 g de PEG 6000; 0,2 g de PLA e 0,6915 g de cetoprofeno, estes, foram solubilizados em 5 mL de clorofórmio e mantidos sob agitação magnética até a completa dissolução. Para fase aquosa, preparou-se uma solução 0,1% de PVA em 100 mL de água destilada, mantida sob aquecimento em um béquer

encamisado, até a completa homogeneização. Verteu-se a solução polimérica na solução aquosa, e a emulsão foi mantida no sistema sob aquecimento controlado a 40 °C e agitação durante 3 horas. As micropartículas foram submetidas a centrifugação e lavadas com água destilada. Em seguida, foram secas em estufa a 50 °C por um período de 24 horas (LIRA et al., 2017).

Realizaram-se mais testes com diferentes proporções de polímeros, utilizando em todos um comprimido de 150 mg de cetoprofeno. Estas formulações estão descritas na tabela 2.

**Tabela 2: testes e suas respectivas formulações.**

Teste	Formulação
1°	0,7 g de PLA e 0,2 g de PEG
2°	0,2 g de PLA e 0,1 g de PEG

Fonte: do próprio autor, 2024

### 2.3 SÍNTESE DAS MICROPARTÍCULAS PEG E NIMESULIDA

As micropartículas de PEG/nimesulida foram preparadas a partir da técnica de emulsão e evaporação do solvente O/A, onde ocorre a formação de uma emulsão por meio da união de uma fase oleosa e aquosa. Para o preparo da fase oleosa, pesou-se 1,5 g de PEG 6000 e 0,05 g de nimesulida, que foram solubilizados em 25 mL de clorofórmio e mantidos sob agitação, em um béquer encamisado, até a completa dissolução. Simultaneamente, foi preparada uma solução 0,1% de PVA em 100 mL de água, mantida em aquecimento até a total solubilização. A solução de PEG foi emulsionada com 10 mL da solução de PVA. A emulsão foi mantida sob agitação magnética em um béquer encamisado, com circulação de água a 40 °C e uma bomba a vácuo, por 5 horas. Em seguida efetuou-se a centrifugação e lavagem das micropartículas com água destilada, estas, foram secas em estufa a 50 °C, durante 24 horas.

### 2.4 PREPARO DA SOLUÇÃO DE NIMESULIDA

Preparou-se uma solução usando 100 mg de nimesulida e 100 mL de uma solução tampão fosfato pH 7,4, contendo  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  e  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , para realizar a leitura de varredura afim de determinar o ponto de absorvância máxima da nimesulida. A leitura foi feita entre 300 à 600 nm (RANGEL et al., 2016).

A figura 7 representa o sistema utilizado para a obtenção das micropartículas de cetoprofeno e de nimesulida.

**Figura 7: Sistema utilizado para obtenção das micropartículas.**



Fonte: Do próprio autor, 2024

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 SÍNTESE DAS MICROPARTÍCULAS DE PEG/PLA/CETOPROFENO

Em todos os ensaios, utilizou-se um comprimido de 150mg de cetoprofeno, uma vez que, devido ao alto custo, não foi possível obter o padrão analítico do fármaco.

Na primeira formulação, que foi preparada com 0,7062 g de PLA e 0,1931 g de PEG, foi observado a presença de uma espécie de filme após a secagem na placa de petri, como observado na figura 8.

**Figura 8: Foto tirada após secagem das micropartículas de PLA/PEG e cetoprofeno na primeira formulação.**



Tal característica indica algum erro cometido durante a encapsulação, o que ocasionou na formação de um filme durante o processo, mesmo depois da maior parte do fármaco já ter sido encapsulada.

Uma nova formulação foi testada, utilizando 0,2026 g de PLA e 0,1125 g de PEG, obtendo-se micropartículas com um aspecto melhor em relação a formulação anterior, como observado na figura 9.

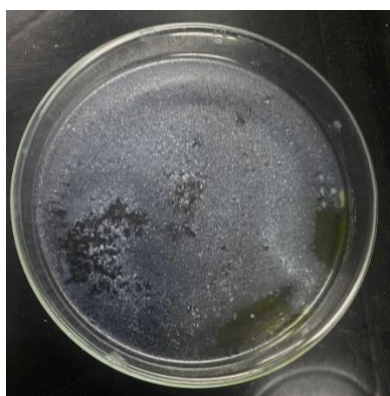
Figura 9: Foto tirada após secagem das micropartículas de PLA/PEG e cetoprofeno na segunda formulação.



### 3.2 SÍNTESE DAS MICROPARTÍCULAS DE PEG/NIMESULIDA

Após a secagem das micropartículas, foi observada uma mancha amarelada em uma parte da placa de Petri, indicando nimesulida remanescente que não foi encapsulado no processo. Esse resultado pode ser atribuído, possivelmente, à ineficiência da lavagem com água destilada. No estudo de Justos, a lavagem foi realizada com álcool etílico, solvente na qual a nimesulida é solúvel, característica que ajuda na remoção da nimesulida remanescente das micropartículas (JUSTOS, 2020).

Figura 10: Foto tirada após a secagem das micropartículas de PEG e nimesulida.

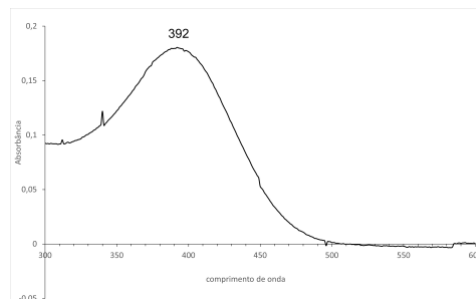


### 3.3 CURVA ESPECTRAL DA NIMESULIDA

Em colaboração com a Fatec Diadema - Luigi Papaiz, através do intermédio do Professor Klauss Engelmann, foi possível a utilização do espectrofotômetro para a criação da curva espectral e curva de calibração da nimesulida.

O ponto máximo de absorção observado se encontra em 392 nm, como demonstrado no gráfico.

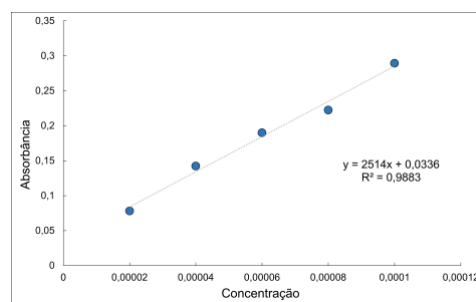
Figura 11: Perfil espectrofotométrico da nimesulida.



### 3.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO DA NIMESULIDA

O espectrofotômetro foi fixado no comprimento de 392 nm e foi medida as absorbâncias de cada padrão do fármaco. Os dados da leitura foram inseridos no seguinte gráfico.

Figura 12: Curva de calibração da nimesulida.



A curva de calibração apresentou o comportamento esperado para soluções que obedecem à lei de Lambert-Beer, com um  $R^2$  no valor de 0,9883 e a equação da reta conforme apresentado na Equação 1.

$$A^{395\text{nm}} = 2514C_{\text{nimesulida}} + 0,0336 \quad (1)$$

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o preparo das micropartículas de cetoprofeno e nimesulida, o método de emulsificação e evaporação se mostrou eficaz devido a boa solubilidade dos fármacos em clorofórmio. A quantidade e proporção dos polímeros utilizados nas formulações é determinante para o sucesso da encapsulação. A lavagem das micropartículas com o solvente correto impacta diretamente para o resultado após secagem.

Os testes de liberação não foram concluídos devido a um problema no espectrofotômetro presente na ETEC Irmã Agostina e devido à falta de tempo hábil para a conclusão do trabalho.

## 5 PERSPECTIVAS

Utilizar o padrão analítico do cetoprofeno para a formação das micropartículas. Testar outros métodos de encapsulação de fármacos. Realizar e

quantificar os testes de liberação para ambos os fármacos.

## AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer às nossas professoras orientadoras, Aline Alves Ramos e Thais Taciano dos Santos, pelo apoio durante todo o projeto; e ao professor Klauss Engelmann, pelos conselhos e ajuda.

Agradecemos também aos amigos e familiares que nos apoiaram e estiveram conosco durante o último ano, juntamente à ETEC Irmã Agostina, pela infraestrutura oferecida, e a todos os funcionários e professores que cederam suas aulas para que pudéssemos trabalhar em nosso projeto.

E, um agradecimento especial a nós mesmas, que estivemos juntas durante todo o ano, mesmo com nossas diferenças, nos unimos por um mesmo propósito, apoiamos umas às outras e nos esforçamos ao máximo para alcançar o melhor resultado possível com este projeto.

## REFERÊNCIAS

- AHUJA, M.; DHAKE, A. S.; SHARMA, S. K.; MAJUMDAR, D. K. **Topical Ocular Delivery of NSAIDs**. The AAPS Journal, v. 10(2), p. 229-241, 2008.
- ANVISA. **Nimesulida**. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/arquivossocp39\\_mat\\_primanimesulida.pdf](https://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/arquivossocp39_mat_primanimesulida.pdf). PD F Acesso em: 02 mai. 2012.
- AZEVEDO, M. M. M. **Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas**. 2005. Tese (Doutorado em Físico-química) - Unicamp, Campinas.
- BERNAREGGI, A. **The pharmacokinetics profile of nimesulide in healthy volunteers**. Drugs, v. 46, suppl. 1, p. 64-72, 1993.
- BIZERRA, A.; SILVA, V. **Sistemas de liberação controlada: Mecanismos e aplicações**. Revista Saúde e Meio Ambiente, v. 3, n. 2, p. 1-12, 2016.
- BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica**. 11.ed. Rio de Janeiro: McGrawHill, 2006.
- COELHO, L.; et. al. **Vascularization: plant decellularization and electrospinning techniques for the development of small and medium caliber blood vessels**. Dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biochemistry, 2018.
- EVERETT, D. H.; KOOPAL, L. K. **Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units**. IUPAC Council, Washington DC, 2001.
- FARMACOPÉIA PORTUGUESA. **7a ed.** Imprensa Nacional: Lisboa, 2002.
- FLOREY, K. **Analytical Profiles of Drug Substances**. Academic Press, Inc., v. 10, 1981.
- GIBELLI, I. C. **Ação antibacteriana de nanopartículas de prata em Poli (ácido láctico): PLA e estudo da biodegradação**. 2012.
- JUSTUS, S. D. C. **Celulose nanofibrilada para a liberação controlada da nimesulida**. 2020.
- KHAN, J. **Bioequivalence evaluation of two different controlled release matrix formulations of ketoprofen tablets in healthy Malaysian volunteers**. Latin American Journal of Pharmacy, v. 30, n. 10, p. 1991-1998, 2011.
- KULKARNI, S. K. **On the safety of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor**. Curr. Sci., v. 83, n. 12, p. 1442-1443, 2002.
- LEVAL, X.; et. al. **Curr. Med. Chem.**, v. 7, p. 1041, 2000.
- LIRA, C. D. S. et al. **Desenvolvimento de sistema de liberação controlada a partir de micropartículas lipo-poliméricas para veiculação de vitamina A**. ETEC Irmã Agostina, São Paulo, SP, 2017
- LOZANO, H. R.; MARTÍNEZ, F. **Thermodynamics of partitioning and solvation of ketoprofen in some organic solvent/buffer and liposome systems**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 42(4), p. 601-613, 2006.
- MATTÉ, G. M.; ROSA, S. **A tecnologia da microencapsulação através das microesferas de quitosana**. Revista Iberoamericana de polímeros, v. 14, n. 5, p. 206-218, 2013.
- MAZZARINO, L.; KNORST, M. T. **Desenvolvimento e caracterização farmacotécnica de formas farmacêuticas semi-sólidas contendo nimesulida**. Latin Am. J. Pharm., v. 26, n. 3, p. 415-419, 2007.
- MOREIRA, K.; et. al. **Comprimidos contendo microesferas de cetoprofeno como sistema de liberação bifásica**. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 33(1), p. 71-76, 2012.

PRIMO, F.L. **Estudos fotofísicos e in vitro em modelo animal do fármaco fotossensibilizador Foscan® incorporado em nanoemulsão: avaliação como sistema de liberação em Terapia Fotodinâmica do câncer de pele.** [Dissertação]. FFCLRP USP: Ribeirão Preto, 2006.

RANGEL, A. C.; SANTOS, E. G.; SANTOS, F. N. dos; ROCHA, G. S.; VALDEVITE, L. D. V.; OLIVEIRA, V. S. **Produção de micropartículas poliméricas para sistema de liberação controlada de nimesulida.** Trabalho de conclusão de curso (Técnico em Química) – Escola Técnica Estadual ETEC Irmã Agostina, São Paulo, 2016.

TIAN, H.; TANG, Z.; ZHUANG, X.; CHEN, X.; JING, X. **Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application.** Progress in Polymer Science, v. 37, p. 237-280, 2012.

YU, T.; REN, J.; LI, S.; YUAN, H.; LI, Y. **Effect of fiber surface-treatments on the properties of poly(lactic acid)/ramie composites.** Composites: Part A, v. 41, p. 499-505, 2010.