

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

Giovana Aparecida de Souza Cintra

**Avaliação do potencial de sistemas nanoestruturados estabilizados com
poliéter funcional siloxano para administração tópica de metotrexato**

Araraquara-SP

2013

Giovana Aparecida de Souza Cintra

**Avaliação do potencial de sistemas nanoestruturados estabilizados com
poliéter funcional siloxano para administração tópica de metotrexato**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Graduação em
Farmácia-Bioquímica, da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”- UNESP para obtenção do
grau de Farmacêutica-Bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Marlus Chorilli

Araraquara-SP

2013

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Pedro Giovani e Maria Ângela e ao meu irmão Luís Eduardo, se cheguei até aqui, foi porque estiveram sempre ao meu lado. Dedico aos meus amigos Juliana Taniguchi e Felipe Hilário, companheiros fiéis de toda essa jornada, e à Prof. Dra. Márcia da Silva (*In memoriam*), por todo o carinho, conselhos e inspiração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por todas as oportunidades, e por me manter sempre firme em busca dos meus objetivos.

Aos meus pais por todo amor, por torcerem sempre por mim e estarem ao meu lado em todas minhas decisões.

Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli por toda confiança depositada em mim, toda atenção e por ser o exemplo de educador e pesquisador que é.

À todos os colegas de laboratório, em especial à Fernanda Kolenyak, Giovana Calixto, Liliane Pedreiro e Márcia Oyafuso, que sempre se mostraram solícitas a me ajudar a qualquer momento, aprendi muito com todas vocês!

À todos meus amigos que estiveram sempre comigo nestes últimos anos, vocês fazem parte de todas minhas conquistas.

À todos os professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas por todo os ensinamentos compartilhados, e por todo auxílio.

À FAPESP pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho, na forma de bolsa de iniciação científica (processo nº 2011/03260-8).

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
1.1.Psoríase	11
1.2.Metotrexato.....	11
1.3.Silicones	13
1.4 Polímeros	14
1.5.Sistemas líquido-cristalinos	15
1.6. Sistema de liberação controlada para metotrexato	16
2.OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo geral.....	18
2.2. Objetivos específicos.....	18
3.MATERIAIS	19
3.1. Padrões e matérias-primas	19
3.2. Solventes e reagentes	19
3.3. Equipamentos e softwares	19
4.MÉTODOS.....	20
4.1. Desenvolvimento dos sistemas.....	20
4.1.1.Preparação das dispersões de Carbopol e Policarbofil.....	21
4.1.2. Construção dos diagramas de fases ternários	21
4.2. Análise estrutural das formulações	22
4.2.1. Microscopia de luz polarizada.....	22
4.2.2. Análise do perfil de textura (TPA)	23
4.2.3.Determinação do comportamento reológico	24
4.2.4.Avaliação in vitro da força bioadesiva	24
4.3. Seleção das formulações.....	25

5.RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1. Desenvolvimento dos sistemas.....	26
5.1.1. Construção dos diagramas de fases ternários	26
5.2. Análise estrutural das formulações	33
5.2.1. Microscopia de luz polarizada.....	33
5.2.2.Análise do perfil de textura (TPA)	39
5.2.3.Determinação do comportamento reológico	43
5.2.4.Avaliação in vitro da força bioadesiva	53
5.3.Seleção das formulações	55
6. CONCLUSÕES.....	56
7.REFERÊNCIAS.....	57

RESUMO

O metotrexato (MTX) é um imunossupressor de uso sistêmico utilizado no tratamento da psoríase. Apesar de sua eficácia, apresenta uma série de efeitos adversos, dentre os quais a hepatotoxicidade é o mais grave. Dessa forma, sua administração tópica seria conveniente a fim de localizá-lo no seu sítio de ação, evitando-se efeitos adversos sistêmicos. Sistemas nanoestruturados, como microemulsões e cristais líquidos, têm sido empregados com sucesso na área farmacêutica por apresentarem a capacidade de compartimentalizar, de maneira eficiente, diversos grupos de princípios ativos e de modificar suas propriedades e comportamento em meio biológico. Este trabalho teve como objetivo desenvolver sistemas nanoestruturados estabilizados com poliéter funcional siloxano, de forma que tais sistemas possam otimizar a utilização deste fármaco na terapia tópica da psoríase. Foram preparadas formulações constituídas por silicone fluido de copolímero glicol que foi usado como fase oleosa (FO), poliéter funcional siloxano como tensoativo (T) e fase aquosa (FA) constituída por dispersões aquosas contendo 5,0% de um dos polímeros: Carbopol® 971P (sistema 971P), Carbopol® 974P (sistema 974P) ou Policarbofil (sistema Pol). As formulações que não apresentaram separação de fase e se apresentaram translúcidas ou transparentes foram caracterizadas por microscopia de luz polarizada (MLP). Selecionou-se nove formulações para análise reológica, três de cada sistema (971P, 974P e Pol), fixando-se a concentração de FA em 30% e variando-se as concentrações de T e FO. Também foram realizadas análises de perfil de textura e bioadesão *in vitro*. Através da análise em MLP das formulações selecionadas notou-se a presença de estrias e cruces de malta em diferentes formulações evidenciando mesofases lamelares e hexagonais ou ambas. Os ensaios de reologia evidenciaram que das nove formulações analisadas, sete apresentaram fluxo não newtoniano e reopexia, e apenas duas apresentaram fluxo newtoniano. Dados de perfil de textura mostraram que para as formulações em que foi usado o polímero Carbopol® 971P foram obtidos valores interessantes de dureza, adesividade e compressibilidade. Os dados de bioadesão *in vitro* também mostraram que com esse polímero obteve-se valores mais altos de pico de força máxima, mostrando-se interessantes para uma formulação tópica em que se deseja um maior tempo de contato com a pele. A partir

desses dados, e da microscopia de luz polarizada foram selecionadas três formulações com características interessantes para incorporação de MTX: 971P_24 composta de 30% FO, 40% T e 30% FA, a formulação 971P_6 com 10% FO, 60% T e 30% FA (respectivamente arranjos líquido-cristalinos de fase lamelar e lamelar/hexagonal), e a formulação 971P_19 com 40% FO, 30% T e 30% FA (caracterizada como uma microemulsão). Os resultados sugerem que os sistemas desenvolvidos e analisados com características de arranjos líquido-cristalinos e microemulsão, são sistemas promissores para incorporação de MTX, uma vez que tem se evidenciado que tais sistemas podem aumentar sua interação com a pele e, consequentemente, promover sua permeação cutânea.

Palavras chave: Psoríase; metotrexato; sistemas nanoestruturados; poliéter funcional siloxano.

ABSTRACT

Methotrexate (MTX) is a immunosuppressive drug for systemic use in the treatment of psoriasis. Despite its effectiveness, presents a number of adverse effects, among which the most serious is hepatotoxicity. Thus, topical administration would be convenient to find it on their site of action, avoiding systemic side effects. Nanostructured systems such as microemulsions and liquid crystals, have been successfully employed in the pharmaceutical field because they have the ability to compartmentalize, efficiently, several groups of active ingredients and modify their properties and behavior in a biological environment. This work aimed to develop nanostructured systems stabilized with polyether functional siloxane, so that such systems can optimize the use of this drug in the topical therapy of psoriasis. Silicone fluid consisting of glycol copolymer was used as oil phase (OP), and polyether functional siloxane surfactant (S) and aqueous phase (AP) formulations were prepared comprising aqueous dispersions containing 5.0% of the polymers: Carbopol® 971P (971P system) , Carbopol® 974P (974P system) or Polycarbophil (Pol system). Formulations that didn't show phase separation and showed translucent or transparent were characterized by polarized light microscopy (MLP). Nine formulations were selected for rheological analysis, three of each system (971P, 974P and Pol), by fixing the concentration of AP in 30 % and varying concentrations of S and OP. Texture profile analysis and *in vitro* bioadhesion were also performed. Through analysis of the formulations selected for MLP noted the presence of and "Maltese crosses" in different formulations showing lamellar and hexagonal mesophases or both. The tests showed that the rheology of the nine formulations analysed, seven had non-Newtonian flow and reopexia, and only two showed Newtonian flow. Texture profile data obtained showed that formulations in which was used Carbopol® 971P polymer had interesting hardness, adhesiveness and compressibility values. Data from *in vitro* bioadhesion also showed higher maximum force peak values, being interesting for a topical formulation that want a longer contact with the skin. From these data and polarized light microscopy, three formulations with important characteristics for incorporation of MTX were selected:

971P_24 composed of 30% OP, 40% S e 30% AP, the formulation 971P_6 with 10% OP, 60% S e 30% AP (respectively liquid crystalline arrangements of lamellar and lamellar / hexagonal phase) , and the formulation 971P_19 with 40% OP , 30% S and 30% AP (characterized as a microemulsion).The results suggest that the systems developed and analysed with characteristics of liquid crystalline arrangements and microemulsion are promising for development of MTX systems, since it has been evidenced that such systems can increase its interaction with the skin and thus promoting its permeation skin .

Key words: Psoriasis; methotrexate; nanostructured systems; polyether functional siloxane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Fórmula estrutural do metotrexato.....	12
Figura 2.Estrutura química básica dos silicones, sendo que R1 e R2 são usualmente os radicais orgânicos: metil, fenil, vinil, fluoropropil, hidroxila e halogênio (SILAEX, 2013).	13
Figura 3.Diagrama de fases do sistema D1 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 971P 5,0% como fase aquosa.....	27
Figura 4.Diagrama de fases do sistema D2 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 974P 5,0% como fase aquosa.....	28
Figura 5.Diagrama de fases do sistema D3 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Noveon® AA-1 Policarbofil5,0%como fase aquosa.	29
Figura 6.Diagrama de linhas do sistema D1 estabilizado com DC®5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 971 5,0%, no qual Cristal Líquido (CL),Microemulsão (ME) e Emulsão(EM).	30
Figura 7.Diagrama de linhas do sistema D2 estabilizado com DC® 5329, DC®193 e dispersão aquosa de Carbopol® 974P5,0%, no qual Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).....	31
Figura 8.Diagrama de linhas do sistema D3 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Noveon® AA-1 Policarbofil 5,0% como fase aquosa, no qual Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).	32
Figura 9.Diagrama de linhas do sistema D1 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 971P 5,0%, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).	36
Figura 10.Diagrama de linhas do sistema D2 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 974P 5,0%, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).	37
Figura 11.Diagrama de linhas do sistema D3 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Noveon® AA-1 Policarbofil 5,0% como fase aquosa, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).....	38
Figura 12.Fotomicrografias das formulações analisadas (100X)	39
Figura 13.Dureza das formulações selecionadas.	41
Figura 14.Adesividade das formulações selecionadas.	41
Figura 15.Coesividade das formulações selecionadas.....	42
Figura 16.Compressibilidade das formulações selecionadas.	42

Figura 17. Curva de fluxo da formulação 971P_19.	44
Figura 18. Curva de fluxo da formulação 971P_24.	44
Figura 19. Curva de fluxo da formulação 971P_6.	45
Figura 20. Curva de fluxo da formulação 974P_19.	45
Figura 21. Curva de fluxo da formulação 974P_24.	46
Figura 22. Curva de fluxo da formulação 974P_6.	46
Figura 23. Curva de fluxo da formulação Pol_19.	47
Figura 24. Curva de fluxo da formulação Pol_24.	48
Figura 25. Curva de fluxo da formulação Pol_6.	48
Figura 26. Pico da força bioadesiva das formulações selecionadas.	54
Figura 27. Trabalho de adesão das formulações utilizando e três polímeros diferentes.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos Diagramas de Fases Ternários.....	22
Tabela 2. Formulações selecionadas para análises.	35
Tabela 3.Comportamento de fluxo (n) e índice de consistência (K) dos sistemas. ...	52
Tabela 4. Composição das três formulações selecionadas.	55

1.INTRODUÇÃO

1.1.Psoríase

A psoríase pode ser definida como doença inflamatória crônica da pele e articulações, imuno-mediada, de base genética, com grande polimorfismo de expressão clínica e atinge um percentual que varia de 1 a 3% da população mundial e pode surgir em qualquer idade, acometendo igualmente homens e mulheres, sendo das dermatoses mais frequentes na prática clínica. No Brasil não existem estudos sobre a sua prevalência. A sua forma mais comum, chamada de psoríase vulgar, manifesta-se principalmente por placas eritemato-escamosas, bem delimitadas, ocasionalmente pruriginosas, em áreas de traumas constantes na pele, como cotovelos, joelhos, couro cabeludo (MARTINS & ARRUDA, 2004; THIELEN & LAFFITTE, 2009).

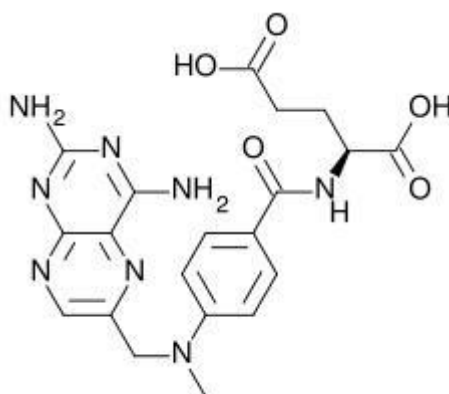
Recentes estudos apontam sempre na direção de que a psoríase é uma doença de difícil diagnóstico e tratamento, além de trazer inúmeros prejuízos à qualidade de vida do paciente, em termos sociais, físicos e ambientais (KENT & KEOHANE, 2001; KORTE et al., 2002; SAMPOGNA et al., 2003; WEISS et al., 2003).

1.2.Metotrexato

O metotrexato (MTX) (Figura 1), também chamado de ametofterina, é um fármaco citotóxico que vem sendo utilizado desde 1940 no tratamento de tumores sólidos e leucemias e, mais recentemente, como um agente imunossupressor em

transplantes de órgãos e no tratamento de doenças autoimunes, tais como reumatismo e psoríase (RUBINO, 2001).

Figura 1. Fórmula estrutural do metotrexato.

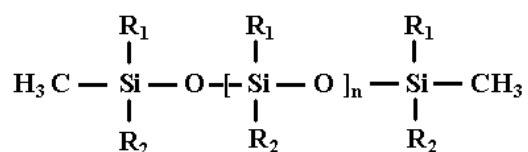


O MTX é indicado na artrite psoriática, nas formas eritrodérmica, pustulosa generalizada ou palmo plantar e nos pacientes não responsivos a tratamentos tópicos e a fototerapia. É uma das substâncias mais utilizadas no tratamento da psoríase devido a sua eficácia, baixo custo e comodidade posológica. A dose semanal habitual de 7,5 a 25mg reduz o risco de toxicidade aguda. Van der Kerkof (2003) relata que os principais problemas associados com sua utilização são hepatotoxicidade e a mielotoxicidade. Com o intuito de aumentar a eficácia terapêutica das substâncias ativas e permitir a redução da sua dose total necessária, existe uma preocupação com o desenvolvimento de novos veículos para administração do MTX, afim de minimizar os efeitos colaterais tóxicos. Assim, sua incorporação em sistemas líquido-cristalinos é importante, como maneira de atenuar tais problemas e viabilizar a terapia tópica (BATCHELOR et al., 2009).

1.3. Silicones

Os silicones são compostos semi-orgânicos com o silício na cadeia principal, combinado principalmente com o oxigênio, descobertos no final do século XIX e tendo permanecido como curiosidade científica até a década de 1940. São fabricados a partir da sílica e do cloreto de metila, não derivando essencialmente do petróleo. Seu nome vem da denominação dada por F.S. Kipping por achar que eram as cetonas dos compostos silícicos (do inglês: Silicon + Ketone). Possui atualmente cerca de 7.000 tipos e variadas aplicações. O tipo principal é constituído de cadeias lineares de átomos de silício e oxigênio alternados (siloxanas) com radicais metila ligados aos átomos de silício, conforme a estrutura química na Figura 2 (SILAEX, 2011).

Figura 2. Estrutura química básica dos silicones, sendo que R1 e R2 são usualmente os radicais orgânicos: metil, fenil, vinil, fluoropropil, hidroxila e halogênio (SILAEX, 2013).



Atualmente, há no mercado silicones que também oferecem função emulsificante, como exemplo, o poliéter funcional siloxano (DC[®] 5329), empregado em alguns sistemas desenvolvidos na pesquisa. O DC[®] 5329, segundo informações de literatura, pode ser empregado como emulsificante para uma série de óleos, apresentando como vantagem o fato de ser menos irritante

(PRODUCTINFORMATION, 2009). O DC[®] 193 trata-se de um silicone fluído de copolímero glicol não irritante para a pele e olhos. Como as formulações desenvolvidas são para uso tópico, a utilização de componentes não irritantes é de extrema importância (PRODUCT INFORMATION,2007).

1.4 Polímeros

O carbopol C974P e o policarbofil são exemplos de polímeros sintéticos carregados negativamente e são derivados do ácido poliacrílico. O comportamento bioadesivo é devido a processos físico-químicos, como interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e de van der Waals, que são controladas pelo pH e composição iônica (WOODLEY, 2001). O carbopol C974P é um polímero altamente reticulado que produz géis muito viscosos chamados fluídos viscoelásticos, que se comportam como sólidos elásticos em baixa tensão, porém começa a fluir quando essa tensão aumenta (OPPONG et al., 2006).

Já o policarbofil é um polímero com elevado peso molecular e reticulado com divinilglicol. Apresenta excelentes propriedades bioadesivas, portanto, tem sido amplamente utilizado para melhorar a liberação tópica de fármacos (LEE et al. 2000).

O carbopol C971P é um carbômero tipo homopolímero A, levemente reticulado com o comportamento de “shearthinning”, o que resulta em fluxo pseudoplástico e tixotrópico. Ele também fornece espessamento, suspensão e emulsão de estabilização, propriedades para sistemas de baixa viscosidade para aplicações tópicas (CARVALHO et al.2012).

1.5.Sistemas líquido-cristalinos

Em virtude do grande número de citações na literatura científica, as indústrias farmacêuticas têm demonstrado interesse no desenvolvimento de sistemas nanoestruturados, como os sistemas líquido-cristalinos (SLC), os quais apresentam vantagens relacionadas principalmente ao fato de promoverem liberação controlada de fármacos, além de protegerem princípios ativos da degradação térmica ou fotodegradação (MOHANRAJ & CHEN, 2006; GUTERRES et al., 2007). Dentre os diversos sistemas de liberação para incorporação do MTX, destacam-se as microemulsões e os SLC.

As microemulsões são sistemas transparentes, caracterizados pela mistura de óleo, tensoativo e água, originando um sistema isotrópico, termodinamicamente estável e que se forma de maneira espontânea (GARTI et al., 2004).

Também conhecidos como *registados mesomórficos*, os SLC apresentam propriedades tanto de sólidos quanto de líquidos. Possuem ordem estrutural, rigidez e ligações definidas como os sólidos e mobilidade, regiões desordenadas e fluidas como os líquidos. Trata-se de sistemas que possuem área interfacial interna e área externa, com características físico-químicas diferentes, formando microambientes distintos, que possibilitam compartimentalizar fármacos lipossolúveis e hidrossolúveis. Devido a estas e outras particularidades, estes sistemas coloidais têm-se mostrado bastante promissores no melhoramento de propriedades de fármacos já existentes, podendo ser utilizados na liberação controlada dos mesmos. Essa compartimentalização é possível com o uso de agentes tensoativos, que

possuem grande importância na estabilização dos sistemas coloidais (SAULNIER et al., 2005).

Para observar as estruturas do sistema de cristal líquido, utiliza-se a técnica de microscopia de luz polarizada que permite verificar estruturas internas de um sistema e fundamenta-se em um campo elétrico de raio luminoso polarizado que uma substância birrefringente é capaz de provocar. Essa técnica permite a classificação quanto à isotropia e anisotropia dos sistemas, permitindo diferenciar microscopicamente os tipos de estruturação. Os sistemas isotrópicos são aqueles que não desviam luz sob o plano de luz polarizada, e os anisotrópicos desviam a luz sob o plano de luz polarizada (LONGO,2006). Mesofases lamelares e hexagonais são anisotrópicas, enquanto as cúbicas são isotrópicas (BRINON et al.,1999).

1.6. Sistema de liberação controlada para metotrexato

Existem poucos estudos focados no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos contendo MTX. Alguns estudos encontrados na literatura citam a veiculação do MTX em sistemas coloidais e em nanopartículas, os quais evidenciaram a ação modificadora da liberação promovida por tais sistemas (TROTTA et al., 2004; CASONE et al., 2006). Muitas das pesquisas de novas alternativas tecnológicas que aumentem a eficiência e segurança dos fármacos já disponíveis têm sido focadas no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos (BRUSCHI et al., 2003; MAINARDES et al., 2006; BRUSCHI et al., 2008).

Uma preparação farmacêutica ideal é aquela capaz de liberar a substância ativa no seu órgão alvo em doses terapeuticamente relevantes, com mínimos desconfortos e efeitos adversos para o paciente (KREILGAARD, 2002). Muitos estudos apresentam como objetivo manter (dentro dos níveis terapêuticos) a concentração do fármaco por um tempo mais prolongado, resultando assim em maior adesão ao tratamento, minimizando os efeitos colaterais e diminuindo o número de doses necessárias (ALVAREZ-LORENZO et al.,2004).

De maneira geral, as publicações verificadas evidenciaram resultados promissores que justificam a continuidade de estudos que evidenciem a liberação controlada do MTX, como os SLC, podendo aumentar sua biodisponibilidade, diminuir sua dose administrada e, conseqüentemente, reduzir seus efeitos adversos associados. Logo, sua utilização para incorporação de fármacos como MTX para aplicação tópica é extremamente viável, uma vez, que este fármaco apresenta uma série de efeitos colaterais quando administrado por via sistêmica.

2.OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Neste trabalho desenvolveu-se e caracterizou-se sistemas nanoestruturados estabilizados com poliéter funcional siloxano de forma que tais sistemas possam otimizar a utilização do metotrexato na terapia tópica da psoríase.

2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver sistemas líquido-cristalinos utilizando poliéter funcional siloxano;
- Avaliar as formulações por meio de microscopia de luz polarizada (MLP);
- Determinar do comportamento reológico das formulações;
- Analisar o perfil de textura (TPA) das formulações;
- Analisar a bioadesão *in vitro*.

3.MATERIAIS

3.1. Padrões e matérias-primas

- Metotrexato matéria-prima, lote:20090710(Genix[®]);
- Poliéter funcional siloxano (Dow Corning[®] 5329 Performance Modifier);
- Silicone fluído de co-polímero glicol (Dow Corning[®] 193C Fluid);

3.2. Solventes e reagentes

- Água deionizada Milli-Q;
- Carbopol 971P[®] NF Polymer, Lubrizol;
- Carbopol 974[®] P NF Polymer, Lubrizol;
- Noveon[®] AA-1 Polycarbophil, Lubrizol;
- Trietanolamina – Synth[®].

3.3. Equipamentos e softwares

- Balança semi-analítica, BP 210S (Sartorius[®]);
- Centrífuga Excelsa Baby II, modelo 206 (Fanem[®]);
- Microscópio de luz polarizada Olympus BX41 com Câmara acoplada QColor3 Olympus America INC;
- Peagômetro – Gehaka[®];
- Purificador de água Milli-Q Plus – Millipore;

- Reômetro, modelo RS-1 – HaakeRheostress[®];
- Sensor tipo placa-placa (PP35Ti);
- Software Rheowin 3.5;
- Software Sigma Plot[®] 10.0;
- Tamis GranuTest, ABNT 40, Abertura em 0,42mm, Tyler 35;
- Texturômetro, TA-XTplus (Stable Micro Systems, Surrey, UK).

4.MÉTODOS

4.1. Desenvolvimento dos sistemas

Três diferentes diagramas de fases ternários foram construídos, fixando-se, em todos, o silicone fluido de co-polímero glicol como óleo e como tensoativo o poliéter funcional siloxano. Foram utilizados três diferentes componentes como fases aquosas, dentre os quais dispersão de Carbopol[®] 971P NF Polymer, Carbopol[®] 974P NF Polymer e o Noveon[®] AA-1 Policarbofil. Inicialmente, foram misturados 10% da dispersão polimérica a 5% com água, de modo que resultasse numa porcentagem polimérica final nos sistemas de 0,5%. À temperatura ambiente, foi misturado, com agitação, 36 diferentes proporções, de 10 a 100% (m/m), de cada fase dos sistemas, resultando, desse modo, na construção do diagrama de fase ternário com 36 pontos.

4.1.1.Preparação das dispersões de Carbopol e Policarbofil

As dispersões de Carbopol® 971P NF Polymer, Carbopol® 974P NF Polymer e Noveon® AA-1 Policarbofil foram preparadas na concentração de 5,0% (m/m). Os polímeros foram suspensos, separadamente, em água Milli-Q e misturados por agitação mecânica por 24 horas. Após a completa solubilização, o pH foi ajustado para 7,0 com trietanolamina.

4.1.2. Construção dos diagramas de fases ternários

Para a construção de cada um dos diagramas de fase ternário foram preparadas trinta e seis amostras (pontos) de 2g para cada diagrama (D1; D2 e D3) em frascos transparentes com tampa, os quais foram agitados manualmente por 2 minutos para melhor homogeneização dos componentes. A Tabela 1 mostra composição de cada diagrama.

Tabela 1. Composição dos Diagramas de Fases Ternários.

Diagrama	Tensoativo	Fase Oleosa	Fase Aquosa
D1	Poliéter funcional siloxano (Dow Corning® 5329)	Silicone fluido de co-polímero glicol (Dow Corning® 193C)	Dispersão de Carbopol® 974P NF Polymer (Lubrizol) 5,0%
D2	Poliéter funcional siloxano (Dow Corning® 5329)	Silicone fluido de co-polímero glicol (Dow Corning® 193C)	Dispersão de Carbopol® 971P NF Polymer (Lubrizol) 5,0%
D3	Poliéter funcional siloxano (Dow Corning® 5329)	Silicone fluido de co-polímero glicol (Dow Corning® 193C)	Dispersão de Noveon® AA-1 Policarbofil (Lubrizol) 5,0%

Os pontos obtidos foram classificados quanto à viscosidade e transparência, adotando-se a seguinte padronização: sistema líquido transparente (SLT), sistema viscoso transparente (SVT), sistema líquido translúcido (SLTL), sistema viscoso translúcido (SVTL), sistema líquido opaco (SLO), sistema viscoso opaco (SVO) e separação de fases (SF). A partir desses dados, foram selecionadas as regiões dos sistemas para a caracterização das formulações.

4.2. Análise estrutural das formulações

4.2.1. Microscopia de luz polarizada

Dentre as 108 formulações obtidas pelos diagramas, aquelas que não apresentaram separação de fase e se apresentaram translúcidas ou transparentes,

foram analisadas através de microscopia de luz polarizada. Uma quantidade de cerca de 40 mg das formulações foi colocada sobre lâminas de vidro, cobertas com lamínula e analisadas com auxílio de microscópio de luz polarizada Olympus BX41 com Câmara acoplada QColor3 - Olympus América INC, para avaliar a homogeneidade das dispersões. Com o auxílio da luz polarizada observou-se a presença de prováveis áreas de anisotropia que indicam a presença de sistemas líquido-cristalinos.

4.2.2. Análise do perfil de textura (TPA)

O perfil de textura dos sistemas selecionados foi analisado utilizando um analisador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), a partir do qual foi possível extrair propriedades mecânicas, tais como a dureza, compressibilidade, adesividade e coesão. Para a realização do teste, 12g dos sistemas selecionados foram colocados em tubos de centrífuga cônicos de 50 mL (Falcon, BD[®], Franklin Lakes, EUA) e centrifugados a 4000 rotações por minuto, durante 3 minutos, para eliminar as bolhas de ar e tornar a sua superfície lisa. Em seguida, esses tubos foram colocados embaixo da sonda analítica (10 mm de diâmetro) do analisador de textura, que foi programada para comprimir a amostra a velocidade de 0,5 mm/s até a profundidade pré-definida (10 milímetros) e retornar para a superfície da amostra na mesma velocidade. Após 5 segundos de repouso, uma segunda compressão iniciou-se, nas mesmas condições. Todas as análises foram realizadas em triplicata, à temperatura de 25 °C.

4.2.3.Determinação do comportamento reológico

Os reogramas dos sistemas foram obtidos através do Reômetro, modelo RS-1 – HaakeRheostress®, utilizando geometria placa/placa (C35/2° Ti) de 40 mm, à temperatura de 25 °C e a distância entre as placas (gap) de 52 µm. Os dados foram analisados pelo software Rheowin3. Foi colocada sobre a placa do equipamento uma alíquota de cerca de 1 g de amostra em cada análise. A fim de avaliar a viscosidade das formulações, procedeu-se o teste denominado curva de fluxo ou de escoamento na temperatura de 25±0,5 °C. As formulações foram submetidas a condições de estresse, tendo como parâmetros uma faixa de taxa de cisalhamento de 0 a 100 s⁻¹ para a curva de subida (ascendente) durante 120 segundos e de 100 a 0 s⁻¹ para a curva de descida (descendente) também por 120 segundos. Os reogramas foram avaliados quanto a tensão de cisalhamento obtida em relação à taxa de cisalhamento.

4.2.4.Avaliação *in vitro* da força bioadesiva

A força necessária para remover os sistemas selecionados da superfície da pele de porco foi avaliada *in vitro*, utilizando o analisador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems, Surrey Inglaterra), no modo *Adhesion Test*. A pele foi presa com elásticos à extremidade inferior da sonda cilíndrica (10 mm de diâmetro) do equipamento. As formulações foram acondicionadas em recipientes de vidro pequenos sob a sonda. O teste foi iniciado abaixando a sonda a uma velocidade constante (1 mm/s) até que a pele entrasse em contato com a amostra. A pele e a

amostra foram mantidas em contato durante 60 segundos e nenhuma força foi aplicada durante este tempo. Em seguida, a sonda subiu a velocidade constante (0,5 mm/s) até ocorrer o destacamento da pele da amostra. A força necessária para destacar a pele da amostra foi calculada pela curva força *versus* tempo. O teste foi realizado em triplicata.

4.3. Seleção das formulações

De acordo com as características apresentadas na microscopia de luz polarizada (MLP), análise do perfil de textura, comportamento reológico e avaliação *in vitro* da força bioadesiva, foram selecionadas três formulações mantendo-se constante a proporção da fase aquosa (dispersões poliméricas a 5,0% de Carbopol® 974P NF, Carbopol® 971P NF ou Noveon® AA-1 Policarbofil), variando-se as proporções de fase oleosa (silicone fluido de co-polímero glicol - DC® 193) e tensoativo (poliéter funcional siloxano - DC® 5329).

5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. *Desenvolvimento dos sistemas*

5.1.1. *Construção dos diagramas de fases ternários*

A construção do diagrama de fases é uma metodologia vantajosa, pois permite o estudo de um grande número de composições de forma significativa, permitindo descrever em que condições experimentais é possível se obter sistemas nanoestruturados como microemulsões e cristais líquidos, bem como as regiões de transição entre os sistemas obtidos. Foram construídos 3 diagramas, utilizando 3 diferentes dispersões poliméricas a 5,0% como fase aquosa: Carbopol® 971P NF, Carbopol® 974P NF e Noveon® AA-1 Policarbofil, a fim de entender como estes se arranjarão na presença de silicone (DC®193) como fase oleosa, e um silicone emulsificante (DC® 5329) empregado como tensoativo, com o objetivo de encontrar regiões características de sistemas líquido-cristalinos. Os diagramas foram construídos para os três sistemas estudados e descritos na Tabela 1, podendo os mesmos ser visualizados nas figuras de 3 a 5. As formulações foram deixadas em repouso por 24 horas com o objetivo de estabilizar o sistema e foram analisadas visualmente, contra fundo escuro, sendo definidas as seguintes regiões: sistema líquido transparente (SLT), sistema viscoso transparente (SVT), sistema líquido translúcido (SLTL), sistema viscoso translúcido (SVTL), sistema líquido opaco (SLO), sistema viscoso opaco (SVO) e separação de fases (SF), conforme demonstrados a seguir nos três diagramas de fases ternários obtidos (D1, D2 e D3). O DC® 193

trata-se de um silicone fluido de co-polímero glicol não irritante para pele e olhos. Como as formulações foram desenvolvidas para uso tópico, a utilização de componentes não irritantes tornou-se de extrema importância uma vez que esta região é extremamente delicada (PRODUCT INFORMATION, 2004).

Figura 3. Diagrama de fases do sistema D1 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 971P 5,0% como fase aquosa.

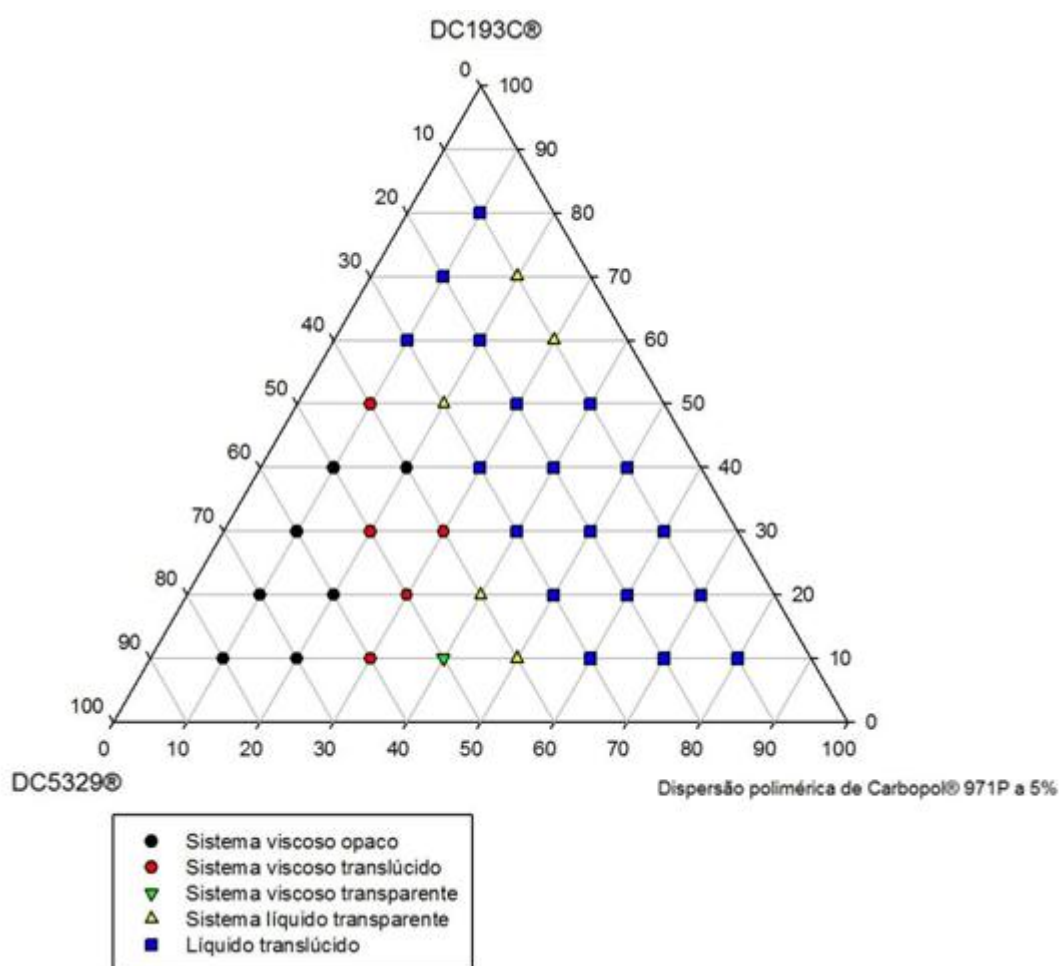


Figura 4. Diagrama de fases do sistema D2 estabilizado com DC[®] 5329, DC[®] 193 e dispersão polimérica de Carbopol[®] 974P 5,0% como fase aquosa.

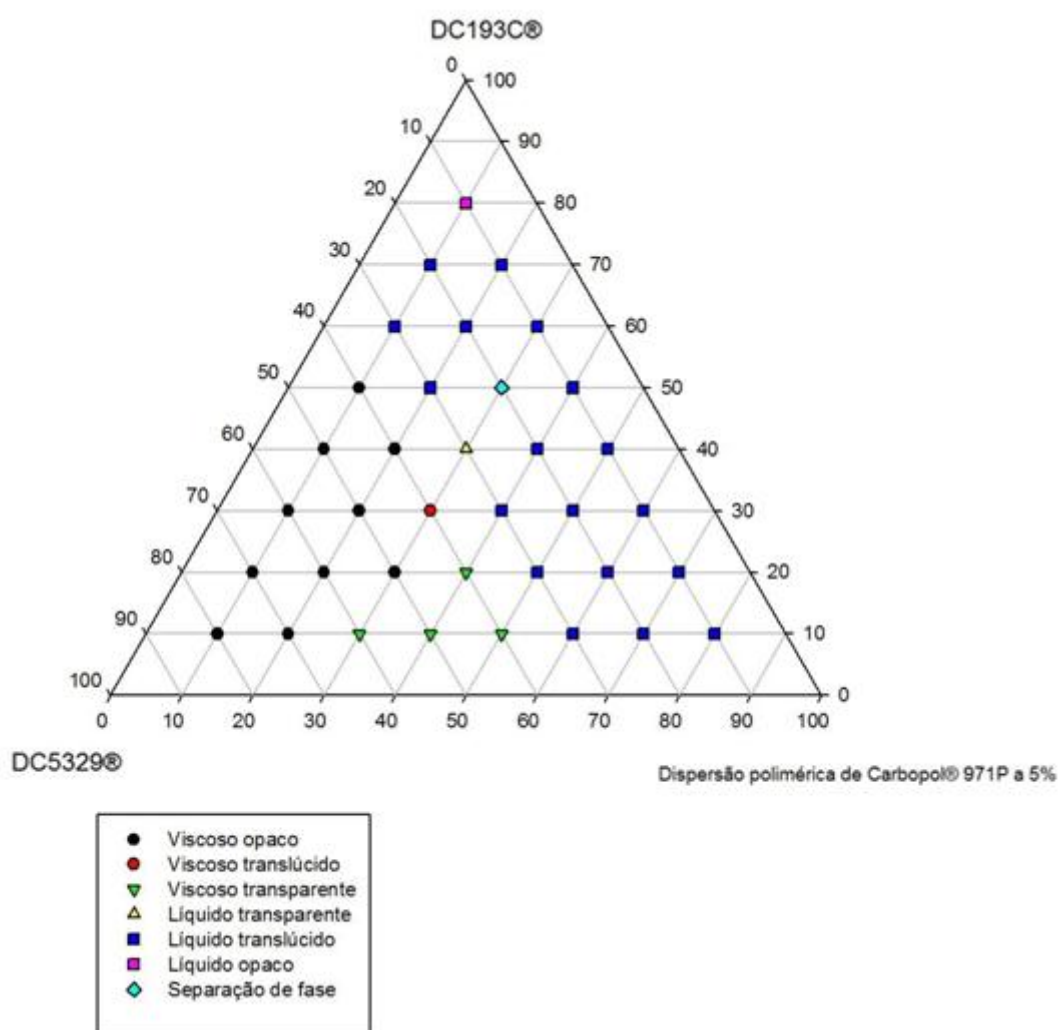


Figura 5.Diagrama de fases do sistema D3 estabilizado com DC[®] 5329, DC[®] 193 e dispersão polimérica de Noveon[®] AA-1 Policarbofil5,0% como fase aquosa.

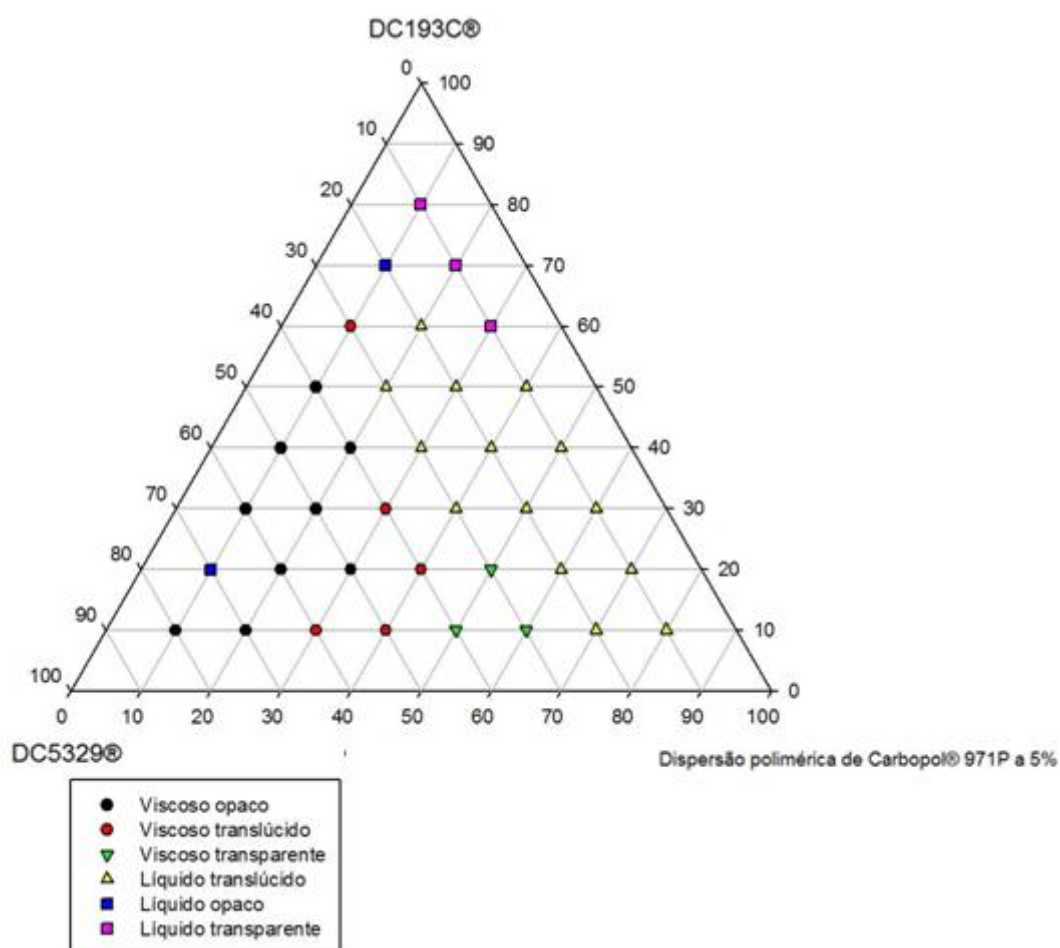


Figura 6.Diagrama de linhas do sistema D1 estabilizado com DC[®]5329, DC[®] 193 e dispersão polimérica de Carbopol[®] 971 5,0%, no qual Cristal Líquido (CL),Microemulsão (ME) e Emulsão(EM).

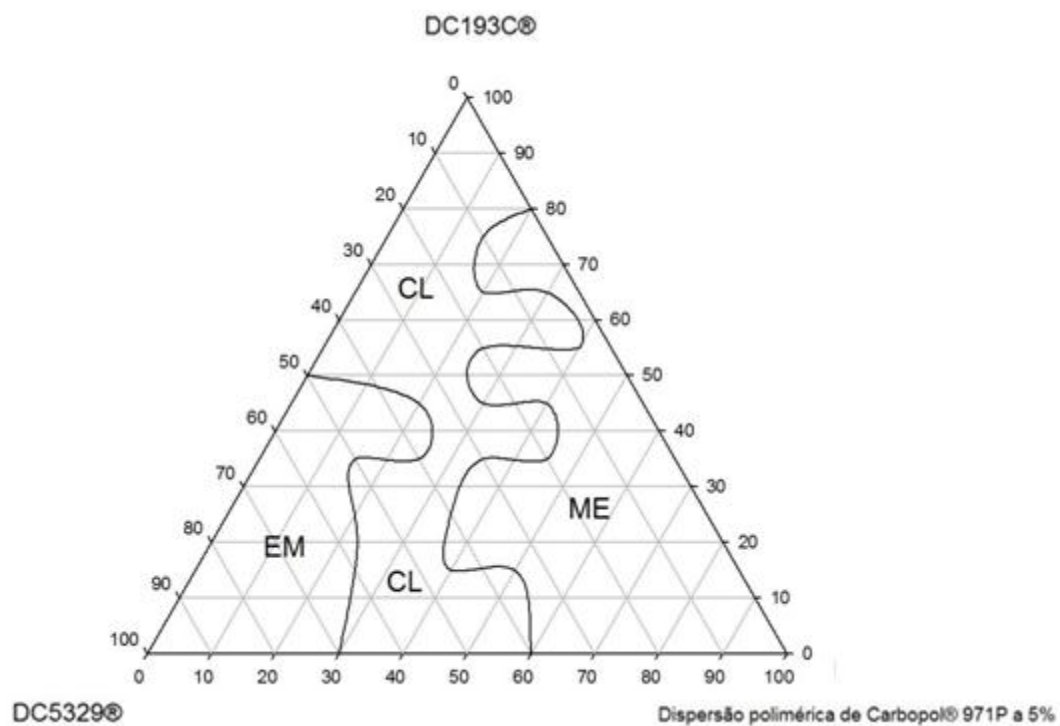


Figura 7.Diagrama de linhas do sistema D2 estabilizado com DC® 5329, DC®193 e dispersão aquosa de Carbopol® 974P5,0%, no qual Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).

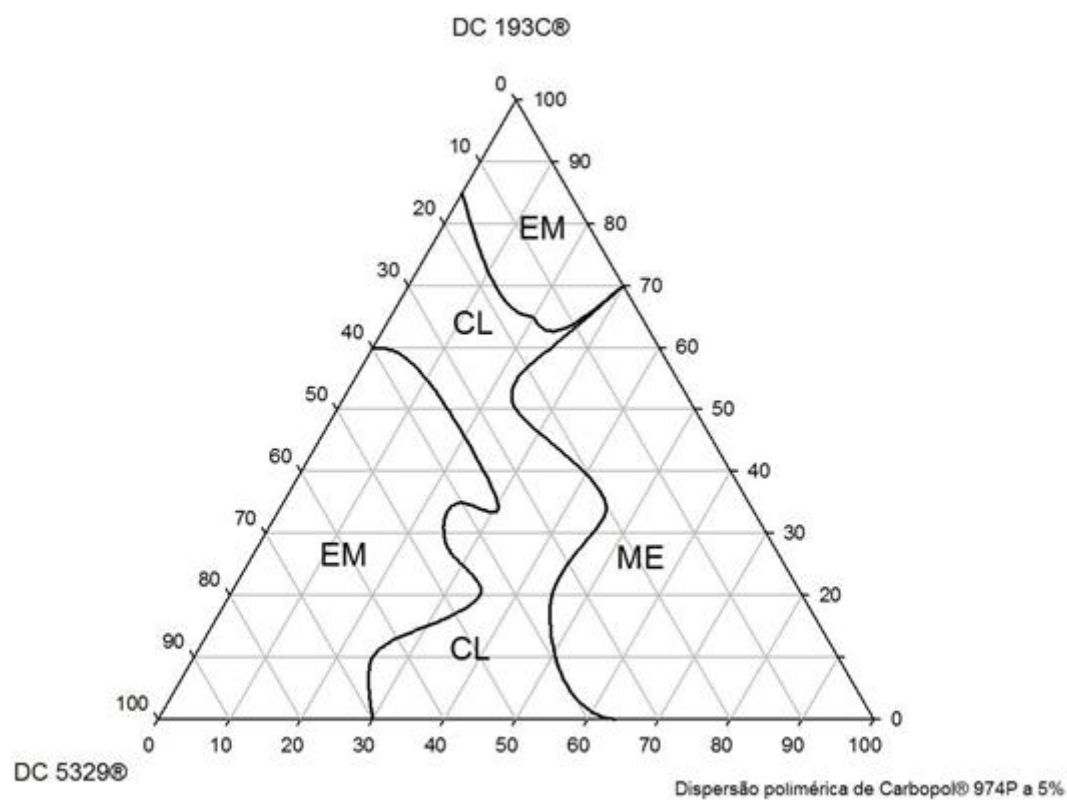
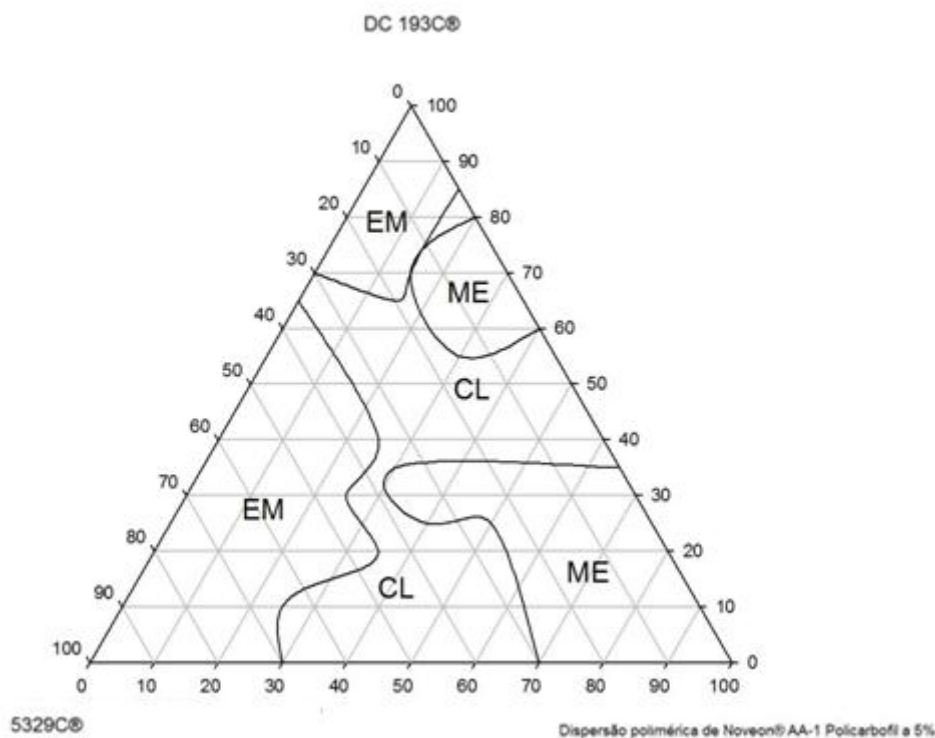


Figura 8. Diagrama de linhas do sistema D3 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Noveon® AA-1 Policarbofil 5,0% como fase aquosa, no qual Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).



Ao observar os diagramas formados (Figuras 3 a 5 e Figuras 6 a 8), nota-se que, na concentração de 30% de fase aquosa, nos três diagramas tem-se uma região de cristal líquido que compreende as concentrações de 10% a 40% de óleo e 30 a 60% de tensoativo. Ocorreu uma grande região de emulsão (EM) entre 10 a 20% de óleo e 10 a 40% de fase oleosa. Obteve-se uma ampla região de microemulsão (ME) para quase todos os pontos em que a concentração de tensoativo variava de 10 a 70% com fase aquosa de 10 a 30%. Observando-se os três diagramas, obteve-se uma região de cristal líquido (CL) com formulações caracterizadas como líquidas translúcidas quando se manteve a concentração da fase aquosa em 30% e variou-se a concentração de tensoativo de 30 a 60%.

Nesses diagramas, notou-se diversos agregados formando regiões microemulsionadas, emulsionadas e líquido-cristalinas, e todas essas regiões podem ser exploradas de acordo com a aplicabilidade proposta para o desenvolvimento de sistemas de liberação. Por exemplo, a região de cristal líquido pode ser adequada para sistemas de liberação prolongada, como sistemas tópicos, a região microemulsionada pode ser benéfica para promover o aumento da incorporação de fármacos com problemas de solubilidade, e como formas farmacêuticas de liberação imediata, além das emulsões, que podem ter grande função no desenvolvimento de produtos para uso tópico.

5.2. Análise estrutural das formulações

5.2.1. Microscopia de luz polarizada

O microscópio de luz polarizada apresenta a capacidade de propagar o feixe de luz em uma só direção devido à presença de um sistema polarizador de luz, acoplado ao seu condensador. As alterações que uma substância birrefringente provoca na direção da propagação da luz, em um equipamento desse tipo, são feitas graças ao analisador, um segundo sistema de polarização, junto à ocular.

Desse modo, se a formulação analisada nesse microscópio for capaz de alterar o plano da luz polarizada, ela será classificada como anisotrópica, e se a formulação não conseguir desviar o plano de luz polarizada, será classificada isotrópica. Mesofases hexagonais podem ser reconhecidas pela sua textura típica

de estrias. Mesofases lamelares normalmente apresentam manchas oleosas com cruzeiros de malta inseridas (MULLER, 2004).

Portanto, a microscopia de luz polarizada se tornou uma ferramenta amplamente utilizada para identificação primária de microemulsões e de mesofases de sistemas líquido-cristalinos (CHORILLI et al., 2007). Entre as inúmeras vantagens apresentadas pelos cristais líquidos como veículos para administração de fármacos, a literatura também tem demonstrado propriedades bioadesivas das fases cúbicas e lamelares, embora o mecanismo de bioadesão ainda não esteja completamente elucidado (FORMARIZ et al., 2005).

Alguns cristais líquidos (CLs) exibem estruturas anisotrópicas, e com isso são obtidas imagens característica do tipo de fase formada. Por exemplo, a fase lamelar pode ser identificada através da visualização das “cruzeiros de malta” e a fase hexagonal através da presença de estrias ou estruturas parecidas com fibras. Já as estruturas isotrópicas como as Microemulsões (MEs) e as fases cúbicas, por não desviarem a propagação da luz polarizada, são visualizadas como campo escuro.

Foram selecionadas 9 formulações para realização da microscopia. As formulações escolhidas foram os pontos 6, 19 e 24 e dos diagramas de fases, nas quais se fixou a % de fase aquosa. As composições de cada uma dessas formulações estão demonstradas na Tabela 2 e as figuras de 9 a 11 representam o diagrama de linhas.

Tabela 2. Formulações selecionadas para análises.

Formulações	DC[®] 193 (%)	DC[®] 5329 (%)	Dispersão polimérica Carbopol[®] 971P 5,0%(%)	Dispersão polimérica Carbopol[®] 974P 5,0% (%)	Dispersão polimérica Noveon[®] AA-1 Policarbofil 5,0% (%)
971P_19	40	30	30	-	-
971P_24	30	40	30	-	-
971P_6	10	60	30	-	-
974P_19	40	30	-	30	-
974P_24	30	40	-	30	-
974P_6	10	60	-	30	-
Pol_19	40	30	-	-	30
Pol_24	30	40	-	-	30
Pol_6	10	60	-	-	30

Figura 9.Diagrama de linhas do sistema D1 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 971P 5,0%, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).

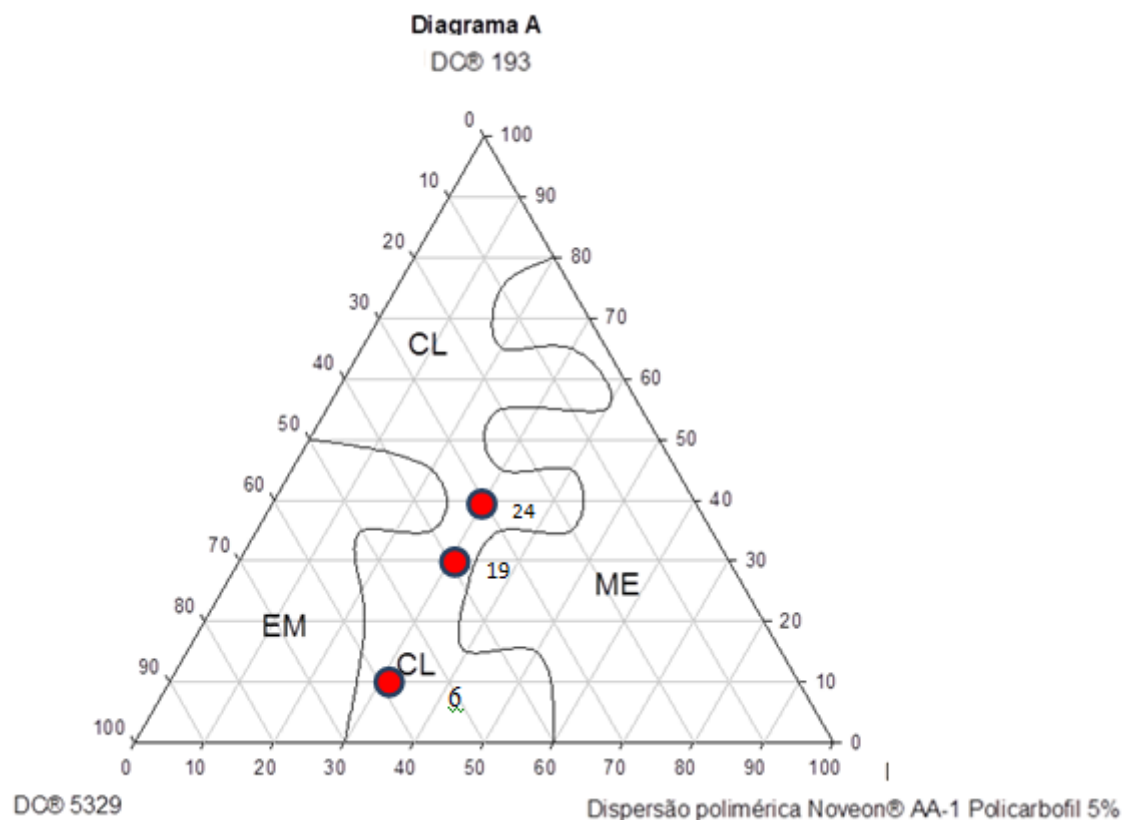


Figura 10.Diagrama de linhas do sistema D2 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Carbopol® 974P 5,0%, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).

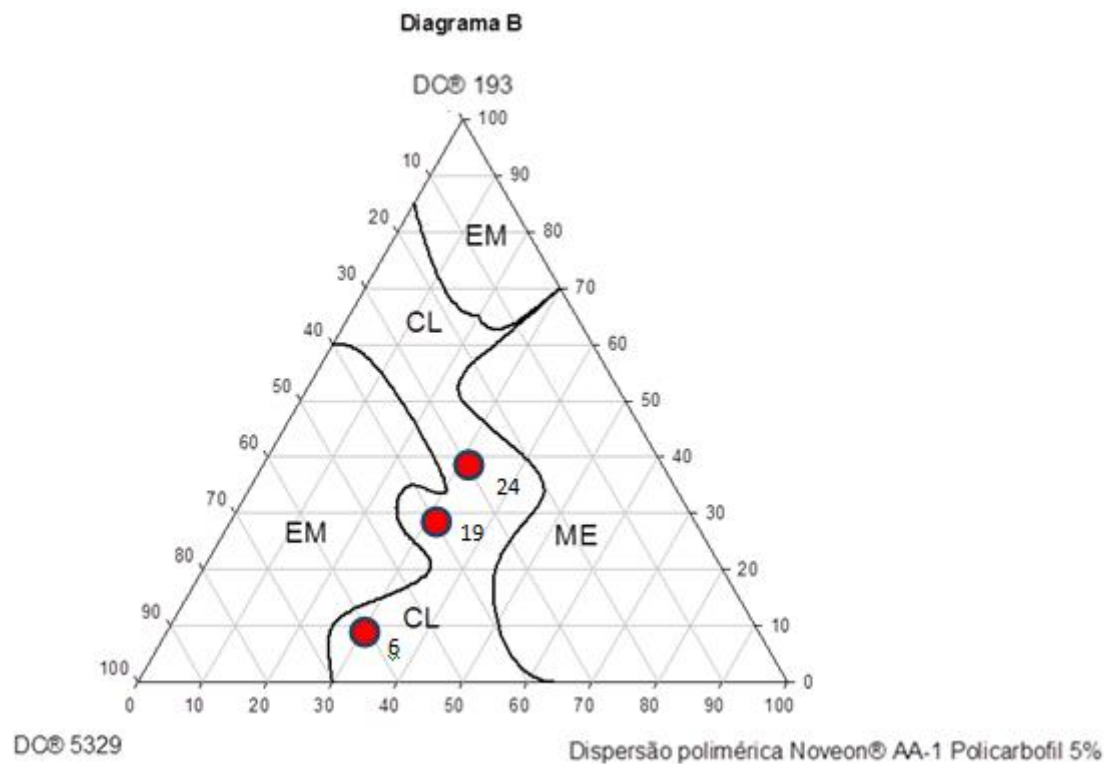
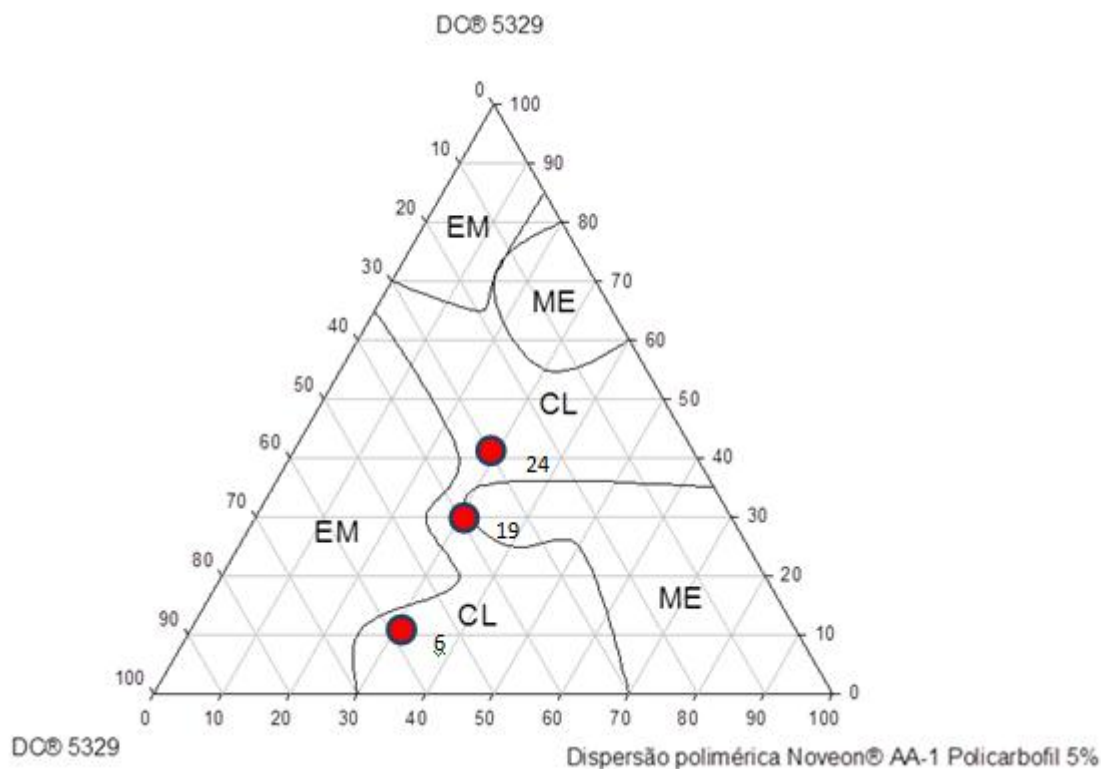
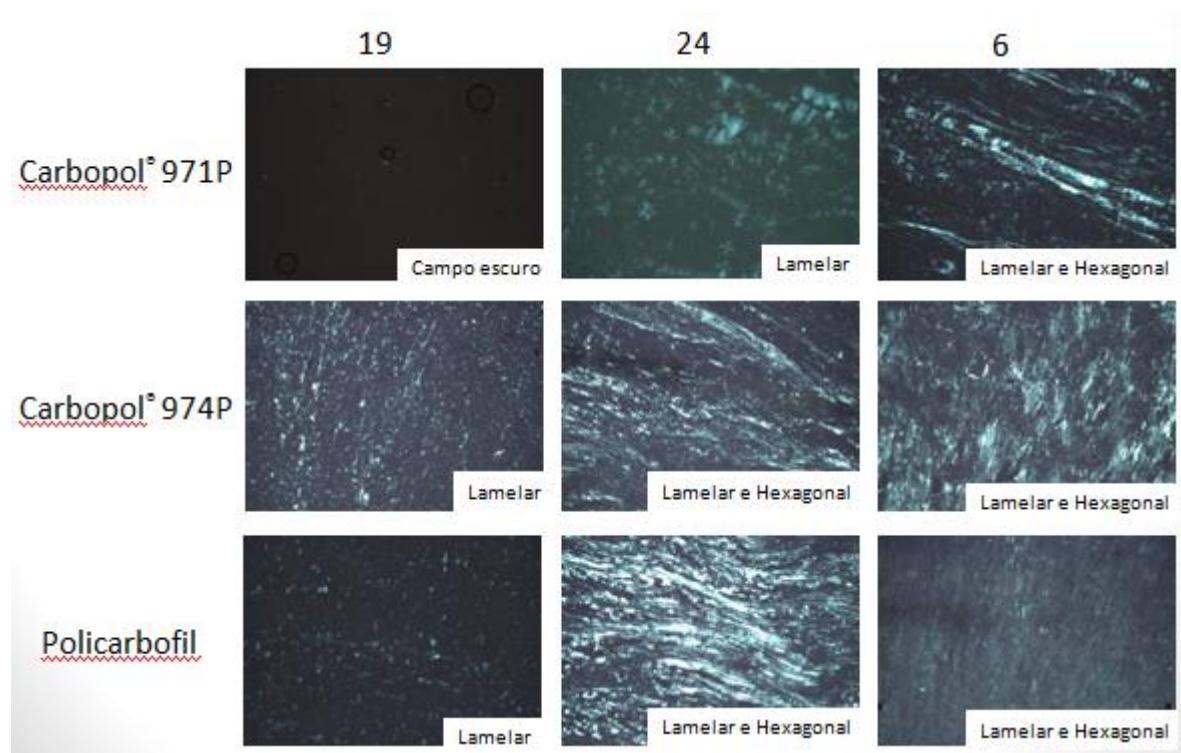


Figura 11. Diagrama de linhas do sistema D3 estabilizado com DC® 5329, DC® 193 e dispersão polimérica de Noveon® AA-1 Policarbofil 5,0% como fase aquosa, nos quais Cristal Líquido (CL), Microemulsão (ME) e Emulsão (EM).



Mesofases líquido-cristalinas podem ser grosseiramente caracterizadas verificando-se a viscosidade. A fase lamelar geralmente se apresenta como líquido viscoso e a fase hexagonal possui a viscosidade semelhante à de um gel, enquanto que a viscosidade da fase cúbica é muito elevada (FORMARIZ et al., 2005). Na Figura 12, observam-se as fotomicrografias das microscopias de luz polarizadas realizadas com as nove formulações. Através da análise em MLP das formulações selecionadas notou-se que as formulações 971P_6, 974P_24, 974P_31, Pol_24 e Pol_6 apresentam estrias e cruzeiros de malta evidenciando mesofases hexagonais e lamelares respectivamente. Em formulações com dispersões poliméricas de 971P_24, 974P_19 e Pol_19 apresentaram cruzeiros de malta, evidenciando mesofases lamelares. A formulação 971P_19 apresentou campo escuro.

Figura 12. Fotomicrografias das formulações analisadas (100X)



As formulações selecionadas foram submetidas às análises subsequentes (reologia, TPA e bioadesão *in vitro*).

5.2.2. Análise do perfil de textura (TPA)

As propriedades de textura de uma formulação são um parâmetro importante na otimização de formulações tópicas. Estas propriedades irão afetar a aplicabilidade da formulação no local de administração e consequentemente o resultado da terapia (HURLER et al., 2011). Vários atributos desejáveis nas formulações que contribuem para a aceitabilidade final do paciente e eficácia clínica do produto podem ser definidos. Estes incluem ótimas propriedades mecânicas (por

exemplo, facilidade de remoção do produto a partir do recipiente, boa espalhabilidade sobre o substrato, por exemplo, pele ou mucosa), boa bioadesão (para assegurar a retenção no local da aplicação), viscosidade aceitável, liberação e absorção do fármaco (JONES et al., 1997).

A análise do perfil de textura (TPA) foi originalmente proposta como um método adequado para caracterizar formas farmacêuticas semi-sólidas de fármacos por JONES et al. (1997). Os parâmetros mecânicos, tais como dureza, adesividade e compressibilidade hoje em dia têm sido correlacionados com o resultado terapêutico da formulação (HURLER et al., 2011).

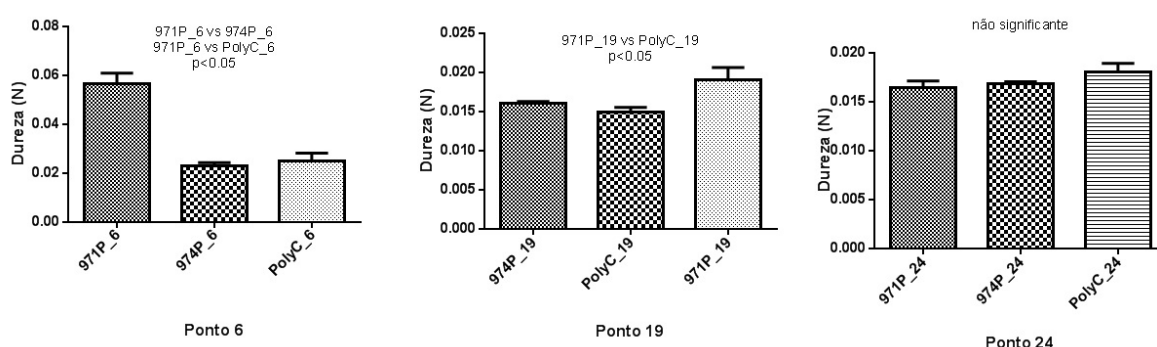
No teste de TPA, uma sonda analítica comprime duas vezes uma amostra a uma taxa e profundidade definidas, permitindo atraso (“delay”) entre as duas compressões. A partir do gráfico força x tempo resultante, os seguintes parâmetros mecânicos podem ser descritos: dureza (força necessária para atingir uma dada deformação), adesividade (uma quantidade que simula o trabalho necessário para vencer as forças de atração entre a superfície da amostra e a superfície da sonda com a qual a amostra entra em contato), compressibilidade (a força por unidade de tempo necessária para deformar o produto durante o primeiro ciclo de compressão da sonda) e coesão (a razão entre a área de força positiva durante a segunda compressão até a primeira compressão). Tais parâmetros podem ser usados dentro de aplicações farmacêuticas, fornecendo informação relativa à facilidade de remoção de um produto a partir de um recipiente, facilidade de espalhamento, além das propriedades adesivas (JONES et al., 1997).

A adesividade, no entanto, é uma medida do trabalho necessário para remover a sonda a partir da amostra, a qual pode, em alguns casos, envolver

fraturas de ligações coesivas dentro da amostra, e, por conseguinte, é dependente, em parte, da direção da amostra (JONES et al., 1997).

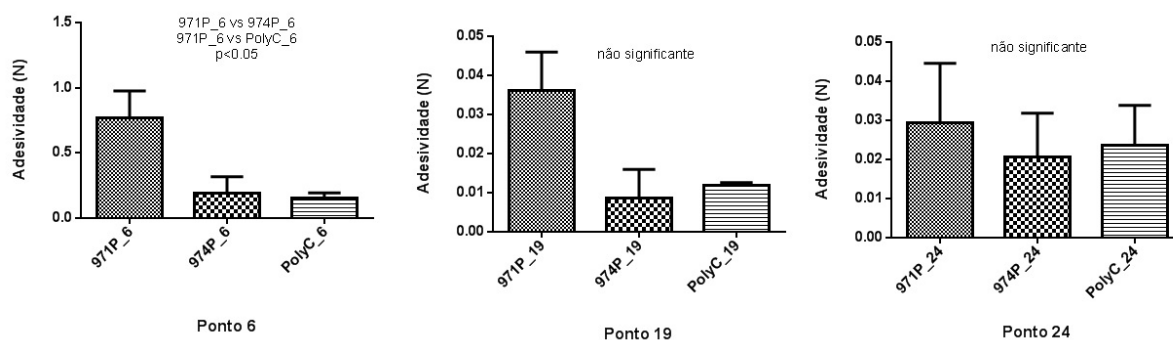
As análises de dureza, adesividade, coesividade e compressibilidade estão presentes nas figuras 13 a 16.

Figura 13. Dureza das formulações selecionadas.



Em relação à dureza das formulações, observa-se que a formulação seis, independente do tipo de polímero utilizado apresentou sempre valores superiores as outras, podendo ser relacionada a sua constituição com alto teor de tensoativo.

Figura 14. Adesividade das formulações selecionadas.



Pela análise da adesividade, a única formulação que apresentou valores estatisticamente diferentes das demais, quando comparados com outros pontos preparados com o mesmo polímero, foi a 971P_6. A formulação seis em geral apresentou valores superiores de adesividade, que podem ser relacionados com o alto teor de tensoativo presente na formulação (60%).

Figura 15. Coesividade das formulações selecionadas.

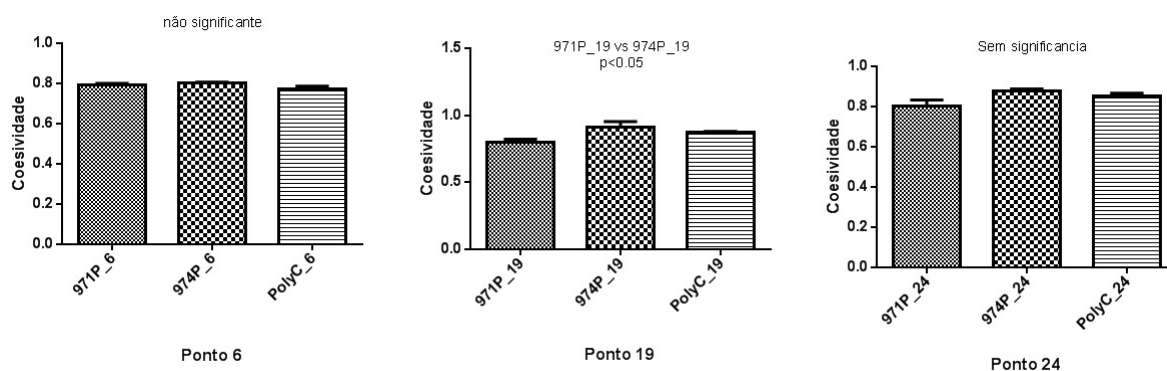
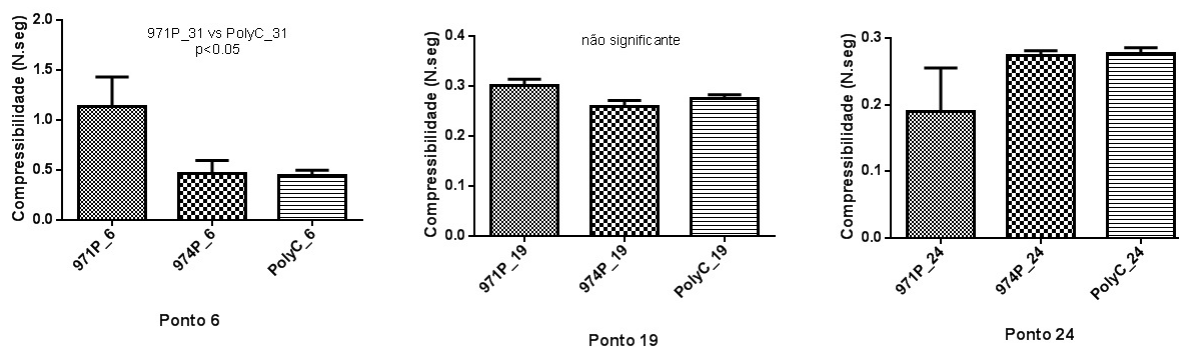


Figura 16. Compressibilidade das formulações selecionadas.



A variação da composição da formulação não altera significativamente a coesividade das formulações. Assim como a variação do polímero também não promoveu modificações significantes. Em relação à compressibilidade, as

formulações em se empregou a dispersão polimérica de Carbopol® 971P apresentaram valores maiores para esse parâmetro. A formulação seis apresentou os valores superiores de compressibilidade, quando comparadas as outras formulações.

5.2.3.Determinação do comportamento reológico

A correlação entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento que define o comportamento de fluxo de um líquido é mostrada graficamente em diagramas chamados de curvas de fluxo. Os diferentes tipos de curva de fluxo têm seus correspondentes tipos de curva de viscosidade. As curvas de fluxo representam duas partes do experimento, a curva ascendente que indica o aumento da taxa de cisalhamento, e a curva descendente, quando a taxa de cisalhamento é reduzida continuamente (SCHRAMM, 2006).

As curvas de fluxo para as 9 formulações, em que os pontos pretos representam a curva de ida e os pontos vermelhos representam a curva de volta encontram-se nas figuras de 17 a 25.

Figura 17.Curva de fluxo da formulação 971P_19.

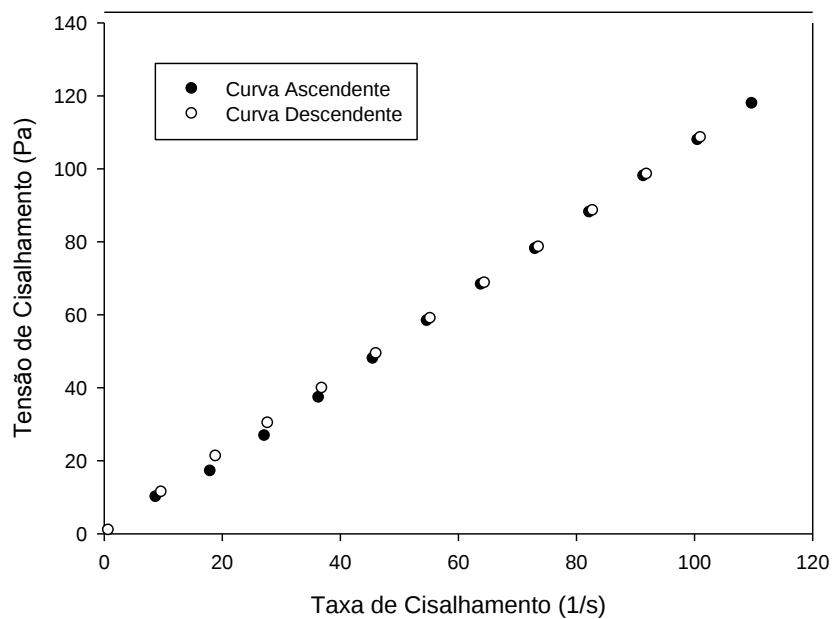


Figura 18.Curva de fluxo da formulação 971P_24.

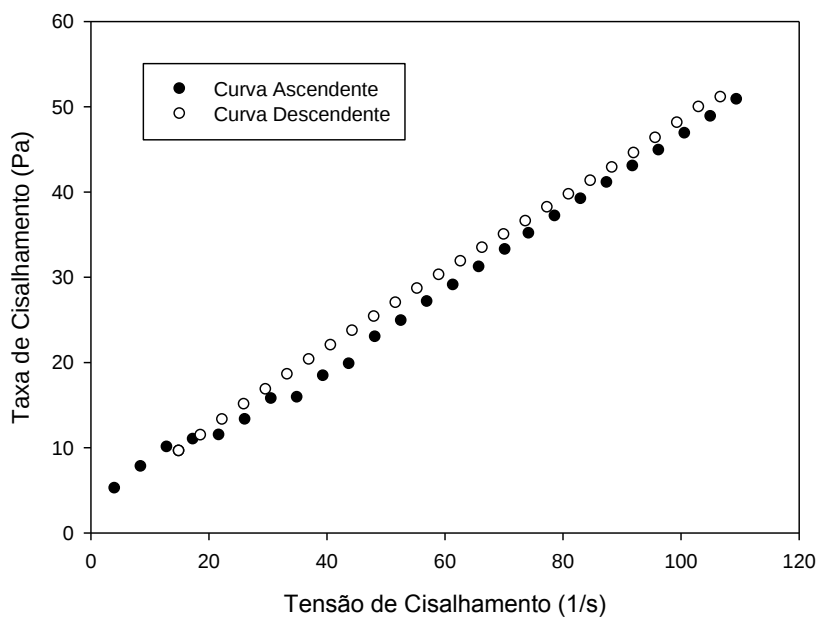


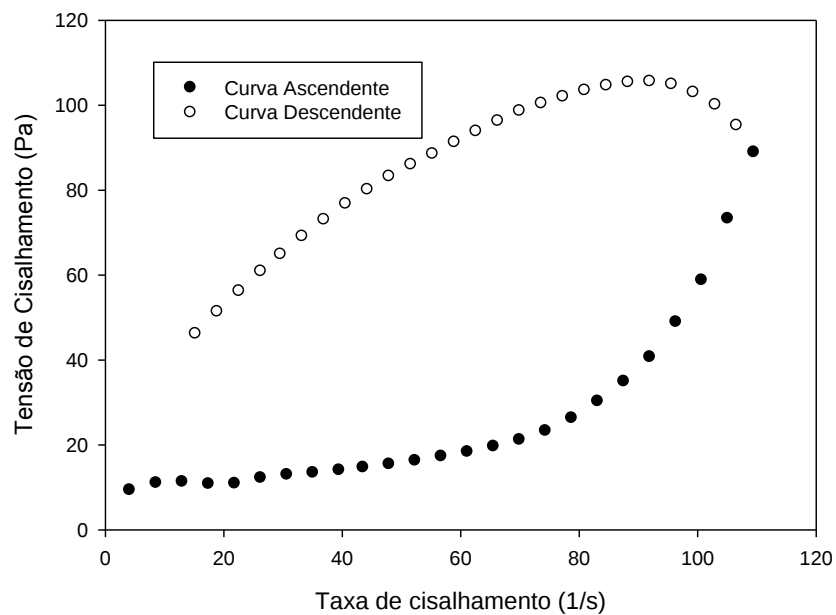
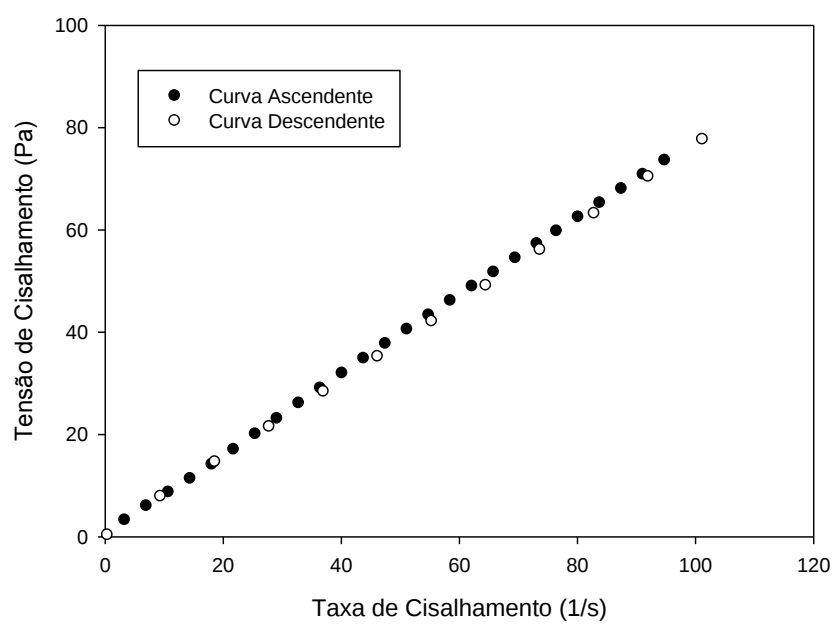
Figura 19.Curva de fluxo da formulação 971P_6.**Figura 20.**Curva de fluxo da formulação 974P_19.

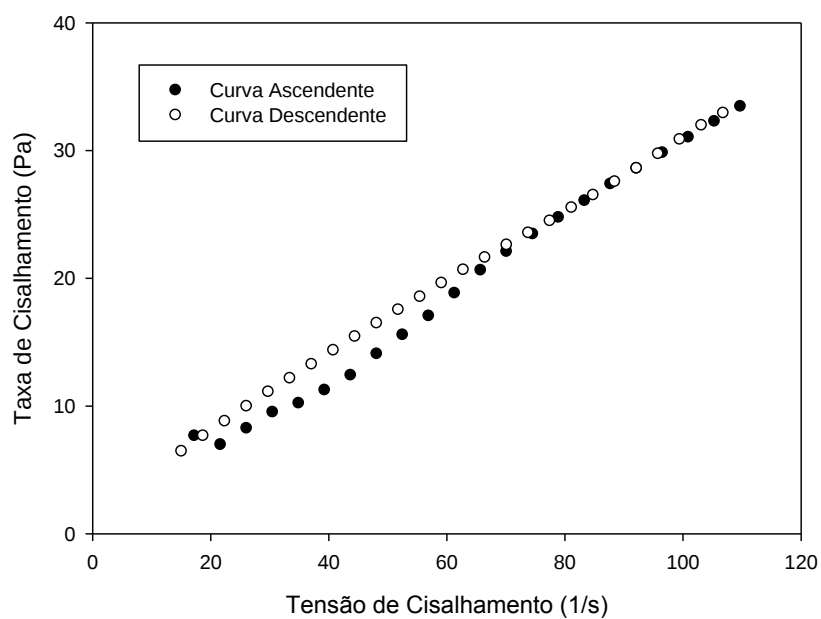
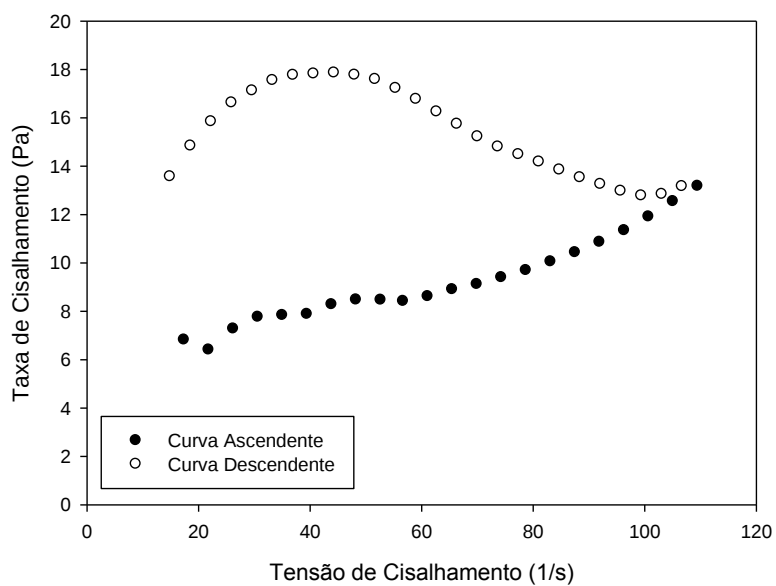
Figura 21.Curva de fluxo da formulação 974P_24.**Figura 22.**Curva de fluxo da formulação 974P_6.

Figura 23.Curva de fluxo da formulação Pol_19.

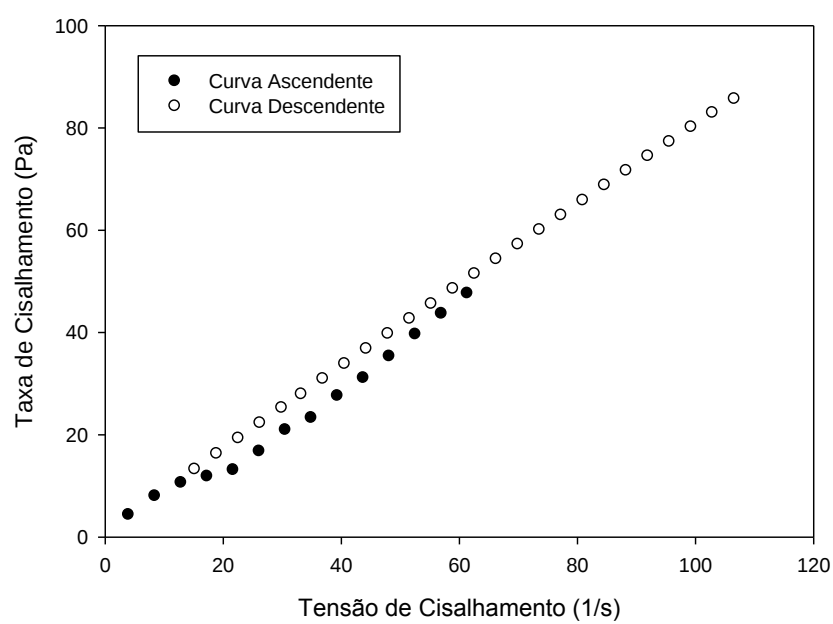
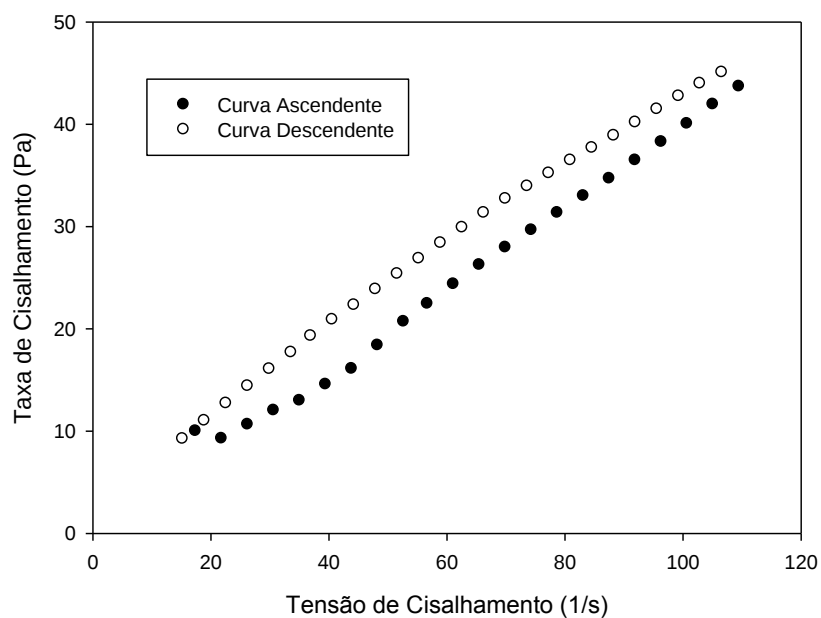
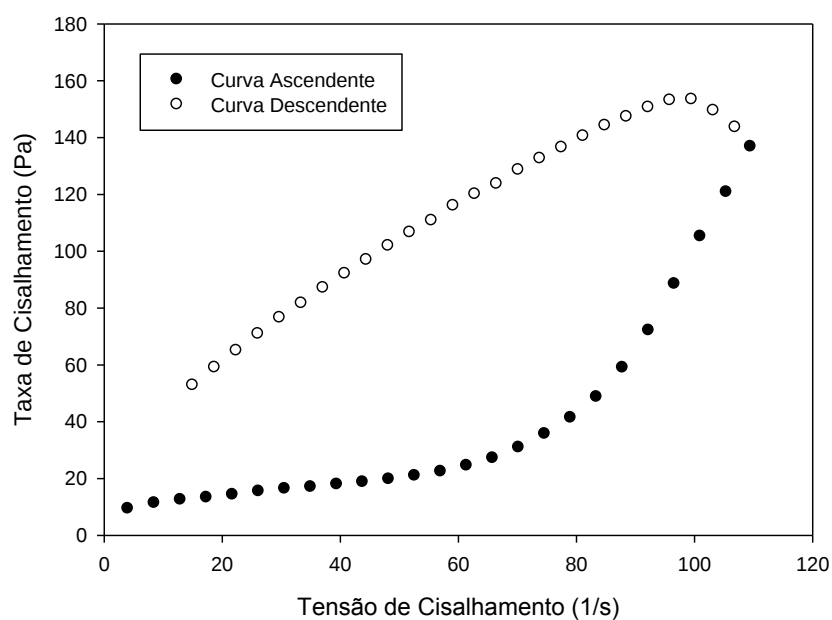


Figura 24. Curva de fluxo da formulação Pol_24.**Figura 25.** Curva de fluxo da formulação Pol_6.

A análise reológica contínua estuda o comportamento de fluxo do material quando submetido a uma tensão, estabelecendo, assim, uma relação entre o microestrutural e o comportamento macroscópico do material (SAVIC et al., 2011).

Este comportamento de fluxo do material é dado através da análise de um gráfico, chamado curva de fluxo, que correlaciona a tensão de cisalhamento com a taxa de cisalhamento. Essas curvas de fluxo são formadas por duas curvas, uma curva ascendente que indica o comportamento de fluxo do material quando se aumenta a taxa de cisalhamento sobre ele, e uma curva descendente que indica o comportamento de fluxo desse material quando se diminui a taxa de cisalhamento (ISAAC et al., 2008).

A partir da curva ascendente, pode-se classificar o comportamento de fluxo em dois tipos: newtoniano ou não newtoniano, sendo que o fluxo não newtoniano pode ser ainda classificado em pseudoplástico, dilatante ou plástico. Já a partir da curva descendente, pode-se classificar o material em tixotrópico ou reopético (SCHRAMM, 2006)

Assim, o fluxo classificado como newtoniano é aquele em que a curva de fluxo é formada por uma reta que passa pela origem, onde seus valores de tensão e taxa de cisalhamento são constantes. Isso significa que a viscosidade não é afetada por mudanças na taxa de cisalhamento, portanto a viscosidade desse tipo de fluxo é constante (SCHRAMM, 2006).

O fluxo pseudoplástico ocorre em materiais que sofrem diminuição na viscosidade quando a taxa de cisalhamento passa de níveis baixos para níveis mais altos. O aumento da taxa de cisalhamento orienta partículas rígidas na direção do fluxo, gerando *shear thinning*, ou seja, afinamento por cisalhamento (SAVIC et al., 2011).

Já o fluxo plástico apresenta as mesmas características do fluxo pseudoplástico, porém, com uma tensão limite de escoamento, conhecida também por *yield stress*, sendo necessário superá-la para que o material comece a fluir. Portanto, esses materiais necessitam de uma força externa maior que supere sua força de reticulação interna para fluir. Por fim, o fluxo dilatante é aquele que aumenta sua viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. (MAZZARINO et al., 2007)

Os materiais podem ser classificados ainda como tixotrópico ou reopético quando esses apresentarem a capacidade de se reestruturar, ou seja, recuperar sua estrutura inicial quando o taxa de cisalhamento for diminuída. (ISAAC et al., 2008).

Materiais com comportamento de fluxo tixotrópico são caracterizados pela diminuição da viscosidade durante o aumento da taxa de cisalhamento, e quando essa taxa é diminuída, a viscosidade volta a aumentar. Graficamente, a curva descendente pode se sobrepor à curva ascendente, mostrando que o material se recupera rapidamente, classificado como tixotrópico tempo independente, ou a curva descende pode voltar por baixo da curva ascendente, no sentido horário, formando uma área de histerese, que indica que a viscosidade do material aumenta mais lentamente do que diminui, inicialmente, com o *shear thinning*, sendo classificado como tixotrópico tempo dependente. (FRESNO et al., 2002).

Por outro lado, materiais com comportamento de fluxo reopético são caracterizados pelo aumento da viscosidade durante o cisalhamento, e quando esse cisalhamento for diminuído, o material recuperará sua forma original, ou seja, de baixa viscosidade. Na curva de fluxo de um sistema com reopexia a curva descendente volta acima da curva ascendente, no sentido anti-horário da curva (SCHRAMM, 2006).

As figuras 18, 19, 21, 22, 23, 24 e 25 apresentam formulações que tem possivelmente fluxo não newtoniano, pois essas formulações não apresentam linearidade entre a tensão e a taxa de cisalhamento. Já sua curva descendente não se sobrepõe à curva ascendente, formando uma área de histerese, necessitando, desse modo, de um tempo maior para recuperar sua estrutura inicial. A histerese da curva de fluxo tem a curva de volta acima da curva de ida, caracterizando um fluido reopético.

Já as formulações representadas nas figuras 17 e 20 são indicativos de sistemas newtonianos, pois sua curva ascendente apresenta relação linear direta entre a tensão e a taxa de cisalhamento.

A partir dos reogramas obtidos, foi utilizado a Equação 1 abaixo para calcular o valor de n para caracterizar o comportamento de fluxo e k para caracterizar a viscosidade do material.

$$\tau = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (\text{equação 1})$$

em que: $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento, k é o índice de consistência, τ é a tensão de cisalhamento e n é o comportamento de fluxo.

Neste modelo, $n > 1$ representa um fluido dilatante, $n < 1$ representa um fluido pseudoplástico e $n = 1$ representa um fluido newtoniano. Além disso, o grau de “pseudoplasticidade” pode ser medido pelo comportamento de fluxo (n), que aumenta com a diminuição da pseudoplasticidade (FORMARIZ, 2008).

Já a viscosidade dinâmica das formulações pode ser avaliada com o índice de consistência (K) que aumenta com a viscosidade da formulação.

Os valores de n e k estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3. Comportamento de fluxo (n) e índice de consistência (K) dos sistemas.

Formulações	n	k
971P_6	2,59	0,00
974P_6	0,39	1,89
Pol_6	3,02	0,00
971P_19	1,03	0,92
974P_19	0,98	0,85
Pol_19	3,02	0,00
971P_24	0,92	0,66
974P_24	0,98	0,85
Pol_24	1,01	0,39

A avaliação do comportamento de fluxo mostra que as formulações compostas de 971P e Pol apresentam características de fluídos dilatantes, com exceção da formulação 971P_24. A formulação cujo polímero usado foi o 974, apresentaram características de fluído pseudoplástico. Pela análise de comportamento de fluxo, nenhuma formulação foi caracterizada como fluído newtoniano.

Já em relação ao índice de consistência dos sistemas, os resultados apresentaram-se bem variados, não tendo correlação com o tipo de polímero utilizado. O que observou-se foi que com o polímero Pol, obteve-se valores mais baixos de índice de consistência quando comparado aos outros.

5.2.4. Avaliação *in vitro* da força bioadesiva

Bioadesão pode ser definida como o estado em que dois materiais, pelo menos um de natureza biológica, são mantidos juntos por um período de tempo prolongado, através de forças interfaciais (REPKA et al., 2000).

A principal vantagem da utilização de sistemas bioadesivos como veículos de fármacos é prolongar o tempo de permanência do fármaco no local de aplicação, o que permite um contato intensificado da formulação com a barreira biológica, diminuindo a frequência da aplicação do produto e, desse modo, aumentando a aderência do paciente à terapia (SMART et al., 2003).

Recentemente, o ensaio de tração utilizando analisador de textura tem sido utilizado para estudar as características mecânicas das formulações estudadas. A bioadesão foi avaliada através da medida da força máxima necessária para separar formulação da superfície da membrana após o contato em tempo determinado, (THIRAWONG et al., 2007).

Figura 26. Pico da força bioadesiva das formulações selecionadas.

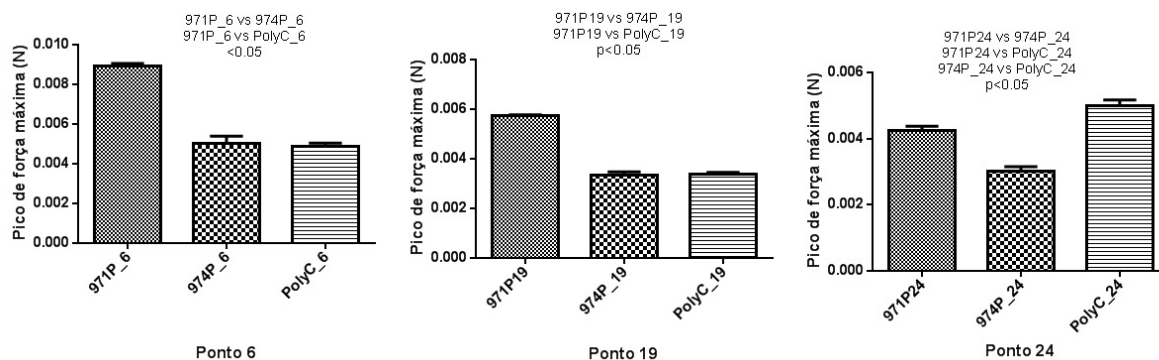
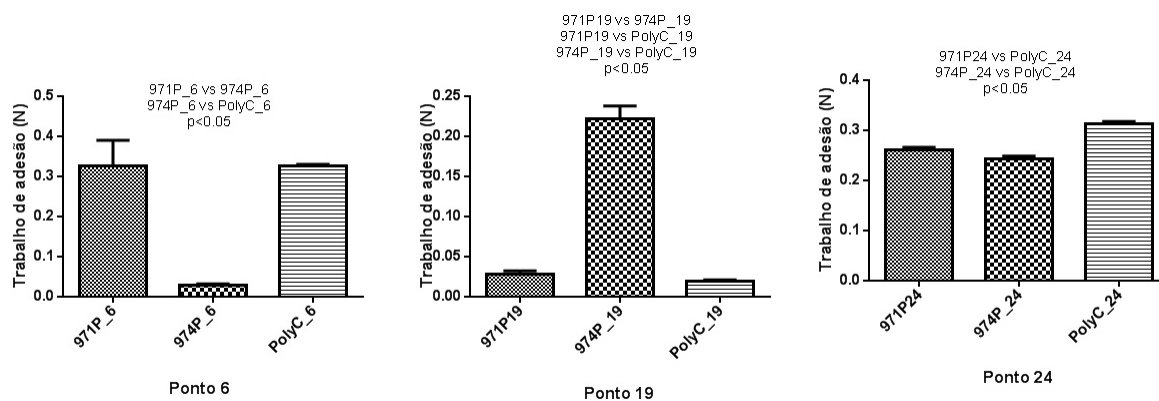


Figura 27. Trabalho de adesão das formulações utilizando e três polímeros diferentes.



Analisando os parâmetros estudados percebe-se que a formulação seis apresentou valores maiores tanto de pico de força máxima, quanto de trabalho de adesão, com exceção da formulação 974P_6. As formulações em que foi usado o polímero 971P apresentaram valores superiores para o pico de força máxima mostrando-se mais interessantes para uma formulação tópica em que se deseja um maior tempo de contato da formulação com a pele.

5.3. Seleção das formulações

A partir dos três diagramas de fases obtidos e com o auxílio das análises de microscopia de luz polarizada e das análises de comportamento reológico, análise de perfil de textura e análise *in vitro* da força bioadesiva, foram selecionados três sistemas, entre eles, sistemas de mesofase hexagonal, mesofase lamelar, características de sistemas líquido-cristalinos, e um sistema com característica de microemulsão. Os sistemas escolhidos foram preparados a partir da mistura de poliéter funcional siloxano (Dow Corning® 5329) como tensoativo, silicone fluido de co-polímero glicol (Dow Corning® 193C) como fase oleosa e dispersão de Carbopol® 971P NF Polymer (Lubrizol) 5% como fase aquosa. A Tabela 4 apresenta a composição dos três pontos selecionados.

Essas formulações quando preparadas com o polímero Carbopol® 971P apresentaram características interessantes para um sistema de uso tópico, como pico de força máxima e trabalho de adesão adequados, além de adesividade superior as outras formulações. Essas características tornam esses sistemas interessantes para estudos posteriores de incorporação de MTX.

Tabela 4. Composição das três formulações selecionadas.

Formulações	DC® 193 (%)	DC® 5329 (%)	Dispersão polimérica Carbopol® 971P 5% (%)
971P_19	40	30	30
971P_24	30	40	30
971P_6	10	60	30

6. CONCLUSÕES

Baseado nos resultados promissores apresentados neste projeto de pesquisa, conclui-se que os sistemas nanoestruturados líquido-cristalinos de fase lamelar, lamelar e hexagonal constituídos por silicone fluido de co-polímero glicol como fase oleosa, poliéter funcional siloxano como tensoativo e dispersão de Carbopol[®] 971P 5,0% como fase aquosa nas concentrações de 30% FO, 40% T e 30% FA; 10% FO, 60% T e 30% FA e 40% FO, 30% T e 30% FA podem ser utilizadas como sistemas de liberação controlada para a incorporação de metotrexato e uso no tratamento tópico da psoríase já que possuem características líquido-cristalinas, pico de força máxima e trabalho de adesão com valores na maioria dos casos superiores aos demais, além de adesividade superior as outras formulações. Os resultados apresentados neste trabalho são de grande importância, pois os sistemas nanoestruturados têm sido cada vez mais estudados, sendo de grande importância para a liberação de diversos fármacos.

7.REFERÊNCIAS

ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. Molecularly imprinted polymers for drugs delivery. **J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci**, v.804, n.1, .231-245, 2004

BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J-T., COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens form liquid crystalline phases.**J. Control. Rel.**, Arlington, v.60, p.67-76, 1999.

CALIXTO, G. M. F. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados bioadesivos contendo peptídeo análogo à adesina do Streptococcus mutans**. 2013. 105p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

CASCONE, M. G.; LAZZERI, L.; CARMIGNANI, C.; ZHU, Z. Gelatin nanoparticles produced by a simple w/o emulsion as delivery system for methotrexate. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, p. 523-526, 2006.

CHORILLI, M.; PRESTES, P.S.; RIGON, R.B.; LEONARDI, G.R.; CHIAVACCI, L.A.;

SCARPA, M.V. Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos empregando silicone fluído de co-polímero glicol e poliéter funcional siloxano. **Química Nova**, v.32, n.4, p.1036-1040, 2009.

DARABI, K.; JAISWAL, R.; HOSTETLER, S.; BECHTEL, M.; ZIRWAS, M. Infectious complications in patients with psoriasis and rheumatoid arthritis treated with Antitumor necrosis factor agents and methotrexate. **J. DrugsDermatol.**,v.8, n.2, p.175-178, 2009.

DUMITRIU, S. em *Polymericbiomaterials*. New York. Marcel Dekker, 1994.

FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n.3, p. 301-313, 2005.

FRESNO, M. J. C. *et al.* Systematic study of the flow behaviour and mechanical properties of Carbopol (R) Ultrez (TM) 10 hydroalcoholic gels. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v.54, p. 329–335, 2002.

FRIEDRICH, M.; KRAMMIG, S.; HENZE, M.; DÖCKE, W.D.; STERRY, W.; ASADULLAH, K. Flowcytometriccharacterisation of lesional T-cells in psoriasis: intracellular cytokine and surface antigen expression indicates a activated, memory/effector type 1 immunophenotype. **Arch. Derm. Res.**, v.292, p.519-521, 2000.

GARTI, N.; YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; SPERNATH, A.; ELFAKESS, R.; EZRAHI, S. Solubilization of active molecules in microemulsions for improved environmental protection. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.**, v. 230, p.183-190, 2004

GUTERRES, S.S.; ALVES, M.P.; POHLMANN, A.R. Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules, for cutaneous application. **Drug Target Insights**, v.2, p.147-157, 2007.

ISAAC, V. L. B. et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008

JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN A. F. Textural analysis and flow rheometry of novel , bioadhesive, antimicrobial oral gels. **Phamaceutical Research**, v. 14, n. 4, 1997.

KALB, R.E.; STROBER, B.; WEINSTEIN, G.; LEBWOHL, M. Methotrexate and psoriasis: 2009 National Psoriasis Foundation Consensus Conference. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.60, n.5, p.824-837, 2009.

KENT, G.; KEOHANE, S. Social anxiety and disfigurement: the moderating effects of fear of negative evaluation and past experience. **British Journal of Clinical Psychology**, v. 40, p.23-34, 2001.

KORTE, J.; MOMBERS, M. C.; SPRANGERS, M.; BOS, J.; CORONA, R. The suitability of quality of life questionnaires for psoriasis research: a systematic literature review. **Archives of Dermatology**, v. 138, p.122-129, 2002.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Adv. DrugDeliv. Rev.**, v 54, p. 77-98, 2002.

LONGO, D. P. **Obtenção, Caracterização e Estudo de Liberação *in vitro* e Permeação *in vivo* de Sistemas Microestruturados Contendo Cafeína**. 130p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

MARTINS, G.A.; ARRUDA, L. Tratamento sistêmico da psoríase - Parte I: metotrexato e acitretina. **An. Bras. Dermatol.**,v.79, n.3, p.263-278, 2004.

MARQUES,S.A. Metotrexatoand Psoríase. **Soc. Bras. Dermatol.**,cap.8, p.63-67, 2009.

MAZZARINO, L. Desenvolvimento e Caracterização Farmacotécnica de Formas Farmacêuticas Semi-Sólidas Contendo Nimesulida. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 415-419, 2007

MODI, S.; JAIN, J.P.; DOMB, A.J.; KUMAR, N. Copolymers of pharmaceutical grade lactic acid and sebacic acid: Drug release behavior and biocompatibility. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.64, p.277-286, 2006.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.5, n.1, p.561-573, 2006.

MÜLLER-GOYMANN, C.C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v.58, n.2, p.343-356, 2004.

NALDI, L.; RAHO, G. Emerging drugs for psoriasis. Expert Opin. **Emerg. Drugs**, v.14, n.1, p.145-163, 2009.

PRINZ, J.C. The role of T cells in psoriasis. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.17, p.257-270, 2003.

PRODUCT INFORMATION. Dow Corning – DC 5329[®]. 2009.

PRODUCT INFORMATION. Dow Corning – DC 193C[®]. 2007.

RAYCHAUDHURI, S.P.; FARBER, E.M. The prevalence of psoriasis in the world. **J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, v.15, p.16-17, 2001.

REPKA, M. A.; MCGINITY, J. W. Physical mechanical, moisture absorption and bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose hot-melt extruded. **Biomaterials**, v. 21, n. 2, p. 1509-1517, 2000.

RUBINO, F.M. Separation methods for methotrexate, its structural analogues and metabolites. **Journal of Chromatography B**, v.764, p.217-254, 2001.

SAMPOGNA, F., SERA, F.; MAZZOTTI, E.; PASQUINI, P. Performance of selfadministered psoriasis area and severity index in evaluating clinical and sociodemographic subgroups of patients with psoriasis. **Archives of Dermatology**, v.139, p. 353-359, 2003.

SAULNIER, P.; ANTON, N.; HEURTAULT, B., BENOIT, J. Liquid crystals and emulsions in the formulation of drug carriers. **C. R. Chimie.**, v. 11, p. 221-228, 2008.

SAVIC, S. et al. An alkyl polyglucoside-mixed emulsifier as stabilizer of emulsion systems: The influence of colloidal structure on emulsions skin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 358, p. 182-191, 2011.

SCHRAMM, G. **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. 2.ed, São Paulo: Artliber Editora, 2006.

SCHRAMM, G. **A practical approach to rheology and rheometry**. 2.ed. Karlsruhe Gebrueder HAAKE GmbH, Federal Republic of Germany, 1998.

SILAEX. Disponível em: <<http://www.silaex.com.br/silicone.htm>>. Acesso em: 15/08/2013

SMART, J. D. et al. The retention of C-labelled poly(acrylic acids) on gastric and oesophageal mucosa: an in vitro study. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 6, p. 83-90, 2003.

THIELEN, A.M.; LAFFITTE, E. Topical treatments for psoriasis in 2009. **Rev. Med. Suisse**, v.5, n.200, p.876-881, 2009.

THIRAWONG, N.; NUNTHANID, J.; PUTTIPIPATKHACHORN, S.; SRIAMORNSAK, P. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An in vitro evaluation using texture analyzer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 132–140, 2007.

TROTTA, M.; PEIRA, E.; CARLOTTI, M. E.; GALLARATE, M. Deformable liposomes for dermal administration of methotrexate. **International Journal of pharmaceutics**, v.270, p.119-125, 2004.

VAN DE KERKHOF, P.C.M. **Textbook of Psoriasis**. 2.ed. Oxford: Blackwell, p.127-147; 170-185, 2003.

VON ZUBEN, E. S. **Desenvolvimento e caracterização de sistemas líquido-cristalinos para aplicação tópica de metotrexato: estudos de liberação, retenção e permeação in vitro**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

WEISS, S. Quality of life considerations in psoriasis treatment.**Dermatology Nursing**, v.15, p. 120-16, 2003.

ARARAQUARA, 11 de dezembro de 2013.

Giovana Aparecida de Souza Cintra

De acordo,

Orientador
Marlus Chorilli