

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-CAMPUS DE ARARAQUARA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS
NANOESTRUTURADOS PARA ADMINISTRAÇÃO CUTÂNEA DE
METOTREXATO**

ALUNA: ANA CAROLINA RODRIGUES E SILVA
ORIENTADOR: PROF. DR. MARLUS CHORILLI

ARARAQUARA – SP

2012

Ana Carolina Rodrigues e Silva

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS
NANOESTRUTURADOS PARA ADMINISTRAÇÃO CUTÂNEA DE METOTREXATO

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” no laboratório de Tecnologia Farmacêutica, como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico-bioquímico.

Orientador: Prof. Dr. MarlusChorilli

ARARAQUARA

2012

“Não tente adivinhar o que as pessoas pensam a seu respeito.

Faça a sua parte, se doe sem medo.

O que importa mesmo é o que você é.

Mesmo que outras pessoas não se importem.

Atitudes simples podem melhorar sua vida.

Não julgue para não ser julgado...

Um covarde é incapaz de demonstrar amor,

isso é privilégio dos corajosos.”

Mahatma Ghandi

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| SUMÁRIO | I |
| RESUMO | III |
| LISTA DE FIGURAS E TABELA | V |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TEMA..... | 6 |
| 3. OBJETIVO..... | 7 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 7 |
| 4.1. Materiais..... | 7 |
| 4.1.1. Reagentes, Solventes e Soluções..... | 7 |
| 4.1.2. Equipamentos e instrumentos de medida..... | 8 |
| 4.2. Métodos..... | 8 |
| 4.2.1. Preparações das formulações..... | 8 |
| 5. DIAGRAMA DE FASES | 9 |
| 6. MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA (MPL) | 10 |
| 7. ESTUDOS DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES..... | 11 |
| 7.1. Características organolépticas | 11 |
| 7.2. Teste de centrifugação | 11 |
| 7.3. Determinação do pH..... | 11 |
| 7.4. Condutividade iônica | 12 |
| 7.5. Índice de refração | 12 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 7.6. Reologia | 13 |
| 8. RESULTADOS | 14 |
| 9. CONCLUSÕES | 20 |
| 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 20 |

RESUMO

A psoríase é uma doença inflamatória de pele e das articulações, e por acometer um órgão visível como a pele, resulta em transtornos psicológicos relacionados à auto-estima do paciente. Dentre os fármacos empregados no tratamento, destaca-se o metotrexato para uso sistêmico que, embora eficiente, possui a desvantagem de causar efeitos colaterais tóxicos como a hepatotoxicidade e a mielotoxicidade. Para minimizar tais efeitos e aumentar a eficácia do fármaco, o trabalho teve por objetivo desenvolver e caracterizar sistemas nanoestruturados para administração cutânea do metotrexato. Para realizar esse estudo, inicialmente foram preparadas diferentes formulações constituídas por silicone fluido de copolímero glicol (DC[®] 193), poliéter funcional siloxano (DC[®] 5329) e água destilada. O metotrexato foi incorporado numa concentração de 1,25% (p/v), com auxílio de solução de hidróxido de sódio 1M, sendo ajustado o pH final da formulação para 7,0 com ácido clorídrico 0,1M. Foram selecionadas algumas regiões do diagrama para serem submetidas a testes de estabilidade, empregando o teste de centrifugação, determinação do pH, condutividade iônica, índice de refração e avaliação das características organolépticas. Foi realizada a análise reológica empregando reômetro, modelo RS-1 (HaakeRheostress). As estruturas das formulações foram analisadas por microscopia de luz polarizada. As amostras com maior concentração de tensoativo apresentaram aspecto transparente, sendo submetidas à análise com microscópio de luz polarizada, onde evidenciou-se estruturas conhecidas como “cruzes de malta”, indicativas de fase lamelar. Foram selecionadas 3 formulações com concentração de 40% de tensoativo, variando-se as proporções de água e óleo, nas quais foram incorporadas o metotrexato. Tais formulações foram submetidas aos testes de estabilidade, demonstrando alta estabilidade. Também, elas apresentaram comportamento de fluido não-Newtoniano e tixotrópico, sendo consideradas promissoras para incorporação do metotrexato objetivando administração cutânea.

ABSTRACT

Psoriasis is an inflammatory disease of skin and joints, and visible attack an organ such as the skin, resulting in psychological disorders related to the patient's self esteem. Among the drugs used in treatment, there is systemic methotrexate for use which, although efficient, has the drawback of causing toxic side effects such as hepatotoxicity and myelotoxicity. To minimize these effects and increase the efficacy of the drug, the study aimed to develop and characterize nanostructured systems for dermal administration of methotrexate. To perform this study, first were prepared various formulations were initially, with of liquid silicone glycol copolymer (DC ® 193), polyether functional siloxane (DC 5329 ®) and distilled water. Methotrexate was incorporated at a concentration of 1.25% (w / v), with aid solution of sodium hydroxide 1M, the pH was adjusted to final formulation to 7.0 with hydrochloric acid 0.1 M. Was chosen some regions of the diagram, which were subjected to stability tests, using the centrifugation test, determination of pH, ionic conductivity, refractive index and assessment of organoleptic characteristics. Rheological analysis was performed using a rheometer, model RS-1 (HaakeRheostress). The structures of the formulations were analyzed by polarized light microscopy. Samples with higher concentration of surfactant showed transparent aspect, being subjected to analysis with polarized light microscopy, which showed up structures known as "crosses malta", indicative of lamellar phase. Were selected 3 formulations, with 40% concentration of surfactant, varying the proportions of oil and water, in which were embedded methotrexate. These formulations were submitted to stability tests, showing high stability. Also, they showed behavior of non-Newtonian fluid and thixotropic and is considered promising for incorporation of methotrexate in a topical formulation.

LISTA DE FIGURAS E TABELA

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diagrama de Fases para o sistema constituído por água, DC 5329 [®] (tensoativo) e DC 193 [®] | 15 |
| Figura 2. Resultados dos ensaios de microscopia de luz polarizada, evidenciando sistemas semelhantes à cruces de malta..... | 17 |
| Figura 3. Curva de Fluxo | 18 |
| Figura 4. Teste Varredura de Frequência..... | 18 |
| Tabela 1. Resultados do teste de estabilidade..... | 16 |

1. INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença inflamatória crônica da pele e articulações, imuno-mediada, de base genética. É uma doença que apresenta um grande polimorfismo de expressão clínica. O tratamento dos pacientes é preferencialmente feito com medicamentos de uso tópico, e nos casos mais graves de psoríases, o tratamento é realizado com medicamentos de uso sistêmico, com os imunossupressores e os agentes citotóxicos. ⁽¹⁻⁷⁾

Essa associação pode estar explicada pelo fato da psoríase se manifestar na pele, resultando em problemas de auto-estima, causando transtornos psicológicos ao paciente, e como geralmente esta doença afeta pacientes que estão na faixa etária de 20 a 40 anos, que é um período da vida que ocorrem grandes mudanças e envolve importantes decisões, esses acontecimentos podem alterar os níveis de estresse e as condições fisiológicas, promovendo aumento da pressão arterial e assim podendo desencadear problemas cardiovasculares.

Segundo Kaye, Li & Jick 2008, existem evidências de associação entre diversas comorbidades e a psoríase, pois eles observaram a incidência do diagnóstico de várias doenças cardiovasculares associadas à psoríase após o surgimento da doença. ⁽⁸⁾

O uso do medicamento diretamente na lesão é suficiente para controle das lesões e a vantagem é que os efeitos colaterais são minimizados. Nas formas mais graves de psoríase, é indicado o tratamento local associado à fototerapia e/ou a terapia sistêmica, a fim de melhorar o conforto e acelerar a

melhora do paciente.⁽⁹⁾

O metotrexato é uma das substâncias mais utilizadas no tratamento da psoríase devido à sua eficácia e baixo custo. Seu uso pode causar principalmente problemas como hepatotoxicidade e a mielotoxicidade. Assim, existe uma preocupação com o desenvolvimento de novos veículos para administração do metotrexato, com o intuito de aumentar a eficácia terapêutica da substância e permitir a redução da sua dose total necessária, para minimizar os efeitos colaterais tóxicos. ^(4,5,11)

A nanotecnologia reúne muitas pesquisas que permitem desenvolver, por exemplo, sistemas de liberação controlada de fármacos. Essas pesquisas estão resultando em novas estratégias para a veiculação de substâncias ativas, ⁽¹⁷⁻²⁰⁾ os quais incluem aplicações importantes no estudo de polímeros e de soluções de surfactantes, administração de vacinas de DNA e o preparo de espécies coloidais^(21,22), sendo também utilizada em ensaios de transdérmicos. ^(23,24)

O interesse dos pesquisadores está relacionado com as várias vantagens que os sistemas de liberação controlada de fármacos apresentam quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos. ⁽²⁵⁾

As formas de administração convencionais (injeção, *spray*, pílulas) apresentam uma concentração aumentada do fármaco na corrente sanguínea, a qual que sofre um aumento atinge um pico máximo e depois declina. Considerando que cada fármaco apresenta uma faixa de ação terapêutica intermediária, acima do índice terapêutico encontra-se a zona de toxicidade e abaixo uma zona onde a ação terapêutica é ineficaz, sendo que os níveis plasmáticos dependem, por exemplo, das doses administrada e das condições clínicas. Os sistemas de liberação controlada, geralmente têm como objetivo

manter a concentração do fármaco dentro dessa faixa de ação terapêutica e obter um efeito prolongado. ^(26,27)

Os fármacos que possuem mecanismos de ação específicos apresentam uma faixa de concentração relacionada com os níveis de segurança e eficácia. As concentrações que estão abaixo ou acima dessa faixa de concentração poderão resultar na ineficiência do tratamento, e também graves efeitos tóxicos ou até mesmo sintomas anteriormente não evidenciados. ⁽²⁸⁾ Vários estudos buscam manter a concentração do fármaco por um tempo mais prolongado e dentro dos níveis terapêuticos, para possibilitar a diminuição dos efeitos colaterais e diminuir o número de doses necessárias.

Para desenvolver esses sistemas de liberação controlada de fármacos, é necessário uma interdisciplinaridade, capaz de envolver conhecimentos de diferentes áreas de ciências farmacêuticas, biologia molecular, estudo de polímeros, físico-química e química de colóides. ⁽²⁸⁾

A liberação do fármaco pode acontecer por difusão gradativa, por degradação da matriz ou por meio de uma matriz, mediante a um certo estímulo químico ou físico, como por exemplo, a mudança de pH, temperatura e força iônica. ⁽³⁰⁾

Dentre os fármacos candidatos a serem incorporados em sistemas de liberação destaca-se o metotrexato, fármaco antimetabólito usado no tratamento sistêmico da psoríase, que por ser um análogo ao ácido fólico, inibe a diidrofolato redutase, enzima necessária na síntese de nucleotídeos e aminoácido e que também reduz a síntese de DNA, inibe a mitose e a proliferação das células. ⁽¹⁰⁾

Dentre os diversos sistemas de liberação para incorporação do

metotrexato, podem ser utilizados os sistemas líquido-cristalinos e as microemulsões.

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. ⁽³¹⁻³²⁾

Os sistemas líquido-cristalinos também são constituídos pela mistura de água, tensoativo e óleo, porém constituem uma fase distinta de estruturas condensadas, cujas características físicas os posicionam entre sólidos e fundidas, com parcial ordem/desordem das espécies atômicas. Por essa razão, são também chamados de mesofases, em que o prefixo grego meso significa intermediário. Materiais que formam cristais líquidos pela adição de solventes são chamados cristais líquidos liotrópicos, enquanto cristais líquidos termotrópicos têm sua estabilidade dependente da temperatura. ⁽¹²⁾

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 tem-se mostrado bastante promissores no melhoramento de propriedades de fármacos já existentes, podendo ser utilizados na liberação controlada dos mesmos. ^(33,34) Essa compartimentação é possível com o uso de agente tensoativos, que possuem grande importância na estabilização dos sistemas coloidais. ^(31,35)

Mesofases liotrópicas podem ser consideradas micelas ordenadas com arranjo molecular caracterizado por regiões hidrofóbicas e hidrofílicas alternadas. Conforme o aumento da concentração de tensoativo, diferentes

formas líquido-cristalinas podem ser formadas, como lamelares, hexagonais e cúbicas. ⁽¹³⁾

Em relação à caracterização físico-química, as mesofases líquido-cristalinas podem ser caracterizadas verificando-se a viscosidade, onde a fase lamelar frequentemente apresenta-se como líquido viscoso e a fase hexagonal apresenta viscosidade parecida com um aspecto de gel. Por outro lado, a viscosidade da fase cúbica é extremamente elevada. ^(16,15)

Para observar as estruturas do sistema de cristal líquido, utiliza-se a técnica de microscopia de luz polarizada, que classifica as fases líquido-cristalinas através da determinação da sua isotropia óptica. Assim sob um plano de luz polarizada, se a amostra for anisotrópica, será capaz de desviar o plano da luz incidente e se for isotrópica, não desviará a luz. Mesofases lamelares e hexagonais são anisotrópicas, enquanto as cúbicas são isotrópicas. ^(36,37,15)

É importante analisar a estabilidade das amostras preparadas. Para isso, devem ser realizados testes de estabilidade que analisam se as especificações relacionadas às características da formulação serão mantidas. Uma característica física importante é a não separação das fases, pois caso isso ocorra, todas as outras especificações relacionadas a emulsão serão afetadas. ⁽³⁹⁾

As propriedades físicas são as que englobam os aspectos de odor, textura, cor, consistência, sensação de tato e comportamento reológico. ⁽⁴⁰⁾

A importância da estabilidade química é poder selecionar as condições de armazenagem (umidade/luz/temperatura), escolha do recipiente adequado (vidro, plástico claro, âmbar ou opaco), tipo de tampa ideal e para evitar

interações e incompatibilidades ao misturar fármacos e adjuvantes.⁽³⁸⁾

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TEMA

A psoríase pode ser definida como doença inflamatória crônica da pele e articulações, imuno-mediada, de base genética, com grande polimorfismo de expressão clínica. De ocorrência universal, acomete igualmente homens e mulheres, sendo das dermatoses mais frequentes na prática clínica. O metotrexato é um quimioterápico amplamente utilizado no tratamento de vários tipos de câncer. Também é um efetivo antiinflamatório e imunossupressor de uso sistêmico utilizado no tratamento da artrite reumatóide e da psoríase. No caso do metotrexato, apesar de sua eficácia, apresenta uma série de efeitos adversos, dentre os quais a hepatotoxicidade e a mielotoxicidade. Dessa forma, sua aplicação tópica seria conveniente a fim de localizar o metotrexato no seu sítio de ação evitando-se efeitos adversos sistêmicos. No entanto, algumas propriedades físico-químicas, como limitada solubilidade aquosa, dificultam sua eficiência terapêutica tópica, uma vez que possui baixa penetração na pele. As nanodispersões aquosas de fase lamelar têm se mostrado vantajosas na liberação tópica de várias substâncias dada às características de interação com o estrato córneo e outras camadas da pele, capacidade de arranjo do fármaco com efeito protetor e sustentador da liberação, maior superfície de contato com a pele, etc. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar do ponto de vista físico-químico sistemas nanodispersos líquido-cristalinos de fase lamelar acrescidos de metotrexato. As formulações desenvolvidas foram constituídas de água destilada, silicone fluido de copolímero glicol (DC 193[®]) e poliéter funcional

siloxano (DC 5329[®]), às quais adicionou-se metotrexato na concentração correspondente a 1,25% na fase aquosa. As formulações foram caracterizadas usando diferentes parâmetros, dentre eles: microscopia de luz polarizada, condutividade iônica, teste de centrifugação, caracteres organolépticos, pH, índice de refração e reologia. No desenvolvimento da formulação, foram empregados silicones, uma vez que são substâncias não tóxicas, que formam película protetora à pele, aumentando o grau de hidratação.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar sistemas nanoestruturados para administração cutânea de metotrexato.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1 Reagentes, Solventes e Soluções

- Água destilada;
- Silicone fluído de copolímero glicol (DC 193[®]-All Chemistry, Brasil);
- Poliéter funcional siloxano (DC 5329[®]-Volp Química, Brasil);
- metotrexato (Purifarma);
- Solução de hidróxido de sódio 1M;
- Solução de ácido clorídrico 0,1M;

4.1.2 Equipamentos e instrumentos de medidas

- Balança Semi-Analítica, Marte – AS 2000C;
- Banho termostaticado Fanem – Mod.100;
- Centrífuga Sorvall TC6 DuPont;
- Frasco transparente e com tampa;
- Micropipeta de 100 e 1000 μ L Pipetman , Gilson;
- Microscópio luz polarizada - TYPE 102M- Motic;
- pHmêtro digital PG 1800 Gehaka;
- Purificador de água Milli-Q Plus – Millipore;
- Reômetro, modelo RS-1, (Haake Rheostress);

4.2 Métodos

4.2.1 Preparações das formulações

Inicialmente foram preparadas 36 formulações, todas contendo óleo DC 193[®], tensoativo – DC5329[®] e água destilada, porém variando a proporção de cada um dos componentes entre si. Essa proporção está indicada no diagrama, onde cada um dos lados da figura corresponde a um dos componentes, sendo que o lado direito do diagrama refere-se ao DC 5329[®], a base ao DC 193[®] e o lado esquerdo se refere à proporção de água. Desse modo, cada formulação correspondente a um ponto no diagrama, o qual foi delimitado de acordo com as respectivas proporções.

Após a leitura do diagrama, foi feita a pesagem de cada um dos componentes em balança semi-analítica, os quais foram posteriormente misturados em frasco transparente e com tampa. Os frascos foram homogeneizados em banho-maria à temperatura de 35 °C. O metotrexato foi incorporado previamente na água destilada na proporção de 1,25% (p/v), com auxílio de solução de hidróxido de sódio 1M, que foi usada em qsp solubilizar o metotrexato na água destilada, uma vez que metotrexato é insolúvel em água. Para ajustar o pH, foi utilizado a solução de ácido clorídrico 0,1M em qsp pH 7. Em seguida as amostras foram colocadas em repouso por 24 horas, podendo então caracterizá-las visualmente quanto à transparência e viscosidade e depois analisadas em microscópio de luz polarizada. Os sistemas obtidos foram descritos em diagrama de fases para delimitar as regiões formadas.

5. DIAGRAMA DE FASES

O diagrama de fases é utilizado para auxiliar na determinação da natureza do produto resultante para cada mistura. Esse diagrama mostra que a mistura, em diferentes proporções dos componentes, pode gerar diferentes tipos de agregados nos pontos desse diagrama, e são essas diferentes formas de agregação que podem influenciar diferentemente a velocidade de liberação dos fármacos. ^(42,16)

Com a utilização do diagrama de fases, observa-se as fases que se apresentam mais estáveis em diferentes composições, possibilitando a escolha dos pontos que devem ser usados para incorporar o metotrexato.

A leitura do diagrama foi feita no sentido horário, conforme a Figura 1, o lado direito do diagrama refere-se ao DC 5329[®], a base refere-se ao DC 193[®] e o lado esquerdo se refere à proporção de água.

Após o preparo das formulações, homogeneização e repouso, os sistemas foram classificados visualmente como: sistema líquido transparente (SLT), sistema viscoso transparente (SVT), sistema semi-transparente (ST), sistema líquido opaco (SLO), sistema viscoso opaco (SVO) e separação de fases (SF).

6. MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA (MLP)

A microscopia de luz polarizada é utilizada por permitir a verificação de estruturas internas de um sistema. Isso é possível pela presença de um campo elétrico de raio luminoso polarizado devida à presença de uma substância birrefringente. Assim é possível classificar os sistemas de acordo com a isotropia e anisotropia, e assim diferenciar microscopicamente os tipos de estruturação. Dessa forma os sistemas isotrópicos não são capazes de desviar luz sob o plano de luz polarizada, enquanto os anisotrópicos desviam luz sob o plano de luz polarizada. ⁽⁴³⁾

As formulações depois de preparadas e deixadas em repouso no período de 24 horas, foram colocadas em lâminas e cobertas com lamínulas de vidro e analisadas em microscópio de luz polarizada 102 tipo Motic. Foram avaliadas a homogeneidade da dispersão, por evidenciação da presença de “cruz de malta” que indica a presença da área de anisotropia, correspondente à presença de cristais líquidos. A análise foi realizada em temperatura de 35 °C.

7. ESTUDOS DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

7.1. Características organolépticas

As amostras foram acondicionadas em frascos de vidro transparentes e cobertas com tampas com o objetivo de visualizar as possíveis alterações do tipo aspecto, odor, cor, homogeneidade e consistência em diferentes condições de armazenamento como: geladeira (4°C) estufa (40°C) e ambiente (25°C).

Esses aspectos foram avaliados do dia 18 de março de 2011 até 12 de abril de 2011, com intervalos de dois a três dias. Esses três aspectos foram observados e registrados como parâmetro de estabilidade.

7.2. Teste de centrifugação

O teste de centrifugação é realizado para avaliar se acontecerá a separação de fases da amostra analisada, a separação de fases compromete todas as especificações relacionadas à emulsão.

Alíquotas de 6 mL das amostra foram submetidas à centrifugação, a 3.000 rpm durante 30 minutos.

7.3. Determinação do pH

O pele tem pH de 5,5, dessa forma é importante que as formulações desenvolvidas tenham pH próximo a este ou em torno do pH fisiológico.

O pH das amostras foi verificado em peagômetro com eletrodo de vidro e sensor de temperatura, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a uma temperatura de 35°C. O eletrodo de vidro foi introduzido diretamente no interior da formulação. Essa medição foi feita do dia 18 de março de 2011 até 12 de abril de 2011, com intervalos de dois a três dias. Esses três aspectos foram observados e registrados como parâmetro de estabilidade. Mediu-se o valor correspondente a cada amostra e depois se registrou os valores.

7.4. Condutividade iônica

A importância desse teste é monitorar a estabilidade das formulações, uma vez que permite a observação da integridade da fase externa.

A amostra foi levada ao condutivímetro quinzenalmente durante o período do dia 18 de março de 2011 até 12 de abril de 2011, para medição da condutividade iônica das amostras, posteriormente seus valores foram registrados.

7.5. Índice de refração

O índice de refração das amostras foi verificado em temperatura de 25°C, no período de 18 de março de 2011 até 12 de abril de 2011, com intervalos de dois a três dias. Os valores obtidos foram registrados.

7.6. Reologia

O método da reologia é utilizado para determinar a viscosidade dinâmica, gerando como resultado uma curva de viscosidade em relação ao fluxo e à visco-elasticidade, utilizando os parâmetros módulo de armazenagem (G') e módulo de perda (G'').

A viscosidade é a resistência do fluido frente ao fluxo ou movimento. Assim, quanto maior a viscosidade, maior será a resistência ao fluxo. A viscosidade (η) é definida como sendo a razão entre a tensão de cisalhamento (*shear stress*) e a taxa de cisalhamento (*shear rate*).

Um material não-newtoniano não tem relação proporcional direta entre a taxa e tensão de cisalhamento.

Os sistemas foram analisados por medidas reológicas, utilizando reômetro HAAKE modelo RHEOSTRESS RS-1, utilizando sensor do tipo placa-placa que encontra-se no Laboratório de Cosmetologia do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, empregando ensaios de escoamento e mecânico-dinâmicos ou de oscilação e os dados foram analisados pelo software Rheowin 3. Foi colocada na placa do equipamento uma alíquota de cerca de 1 g de amostra em cada análise.

8. RESULTADOS

O diagrama de fases (Figura 1) representa o sistema constituído por DC 5329[®], DC 193[®] e água destilada. Foram escolhidos os pontos A; B; C, pois apresentam característica de sistema viscoso transparente (SVT). Como se trata de uma formulação tópica, a característica de ser viscoso é interessante para reter a formulação do local de ação, e a transparência é indicador de homogeneidade. Logo, a escolha das formulações foi baseada na viscosidade, considerando regiões com pequena quantidade de tensoativo, os quais podem estar levando a irritação da pele.

Por meio do diagrama se faz uma seleção visual das formulações, mas a análise de estruturas internas é feita por microscopia de luz polarizada.

A visualização por microscopia de luz polarizada permitiu verificar que os sistemas viscosos transparentes (SVT), apresentaram estruturas semelhantes a “cruzes de malta” (Figura 2), indicando a presença de cristal líquido. Esse arranjo lamelar impede a perda por evaporação sendo então usado em formulações para uso tópico por necessitar de maior energia que a disponível da superfície cutânea para evaporar. ^(14,15,16)

A Tabela 1 apresenta os resultados de aparência, microscopia de luz polarizada, pH, condutividade iônica e índice de refração.

Os testes de estabilidade são importantes para pesquisar alterações na estrutura da formulação que nem sempre são perceptíveis visualmente e que podem alterar a qualidade e a eficácia da formulação. Assim, uma alteração nesses parâmetros, pode indicar problemas de estabilidade entre os

componentes ou decorrentes do processo de preparação da formulação.

Os resultados demonstraram uma pequena variação de resultado, portanto foi possível deduzir que a amostra permaneceu com um valor de pH estável. Isso é uma das vantagens das formulações selecionadas, pois como se trata de uma formulação de uso tópica, é de extrema importância que o pH neutro se mantenha estável. O teste de microscopia mostrou a presença de “cruz de malta”, o que sugere que os componentes da amostra estavam homogêneos entre si, e assim se manteve estáveis por todo o período de avaliação.

O teste de condutividade iônica também apresentou uma variação, mas que não foi significativa e, portanto, por esse parâmetro também pode se concluir que as amostras se mantiveram estáveis. No teste de caracteres organolépticos, observou-se que a amostra preservou as características iniciais da amostra, tais como a cor amarela, o aspecto transparente e viscosidade durante todo o período da avaliação, indicando mais uma vez a estabilidade da formulação. Pelo teste de centrifugação, observou-se que não houve separação de fases, demonstrando que as amostras se mantiveram estáveis, uma vez que se as amostras sofressem separação de fases haveria um comprometimento de todas as especificações relacionadas às amostras.

Os testes de estabilidade indicam que as amostras permaneceram estáveis durante o período de análise, pois houve uma pequena variação de resultado nesse período em relação a todos os parâmetros, o que sugere que as amostras obedeceram aos critérios desejados de estabilidade, demonstrando que são adequadas para o uso tópico.

Figura 1. Diagrama de fases para o sistema constituído por água, DC 5329[®] (tensoativo) e DC 193[®].

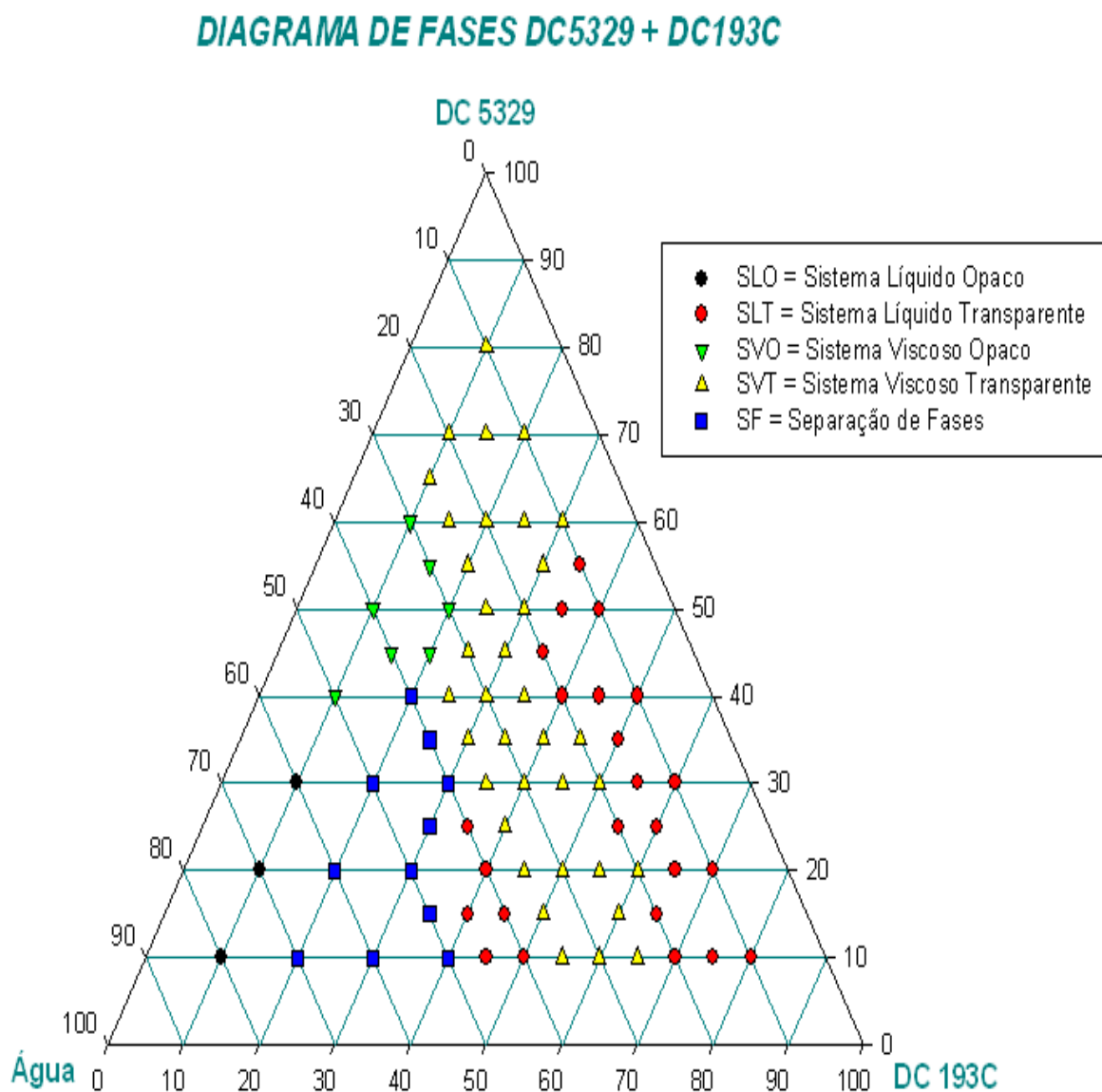
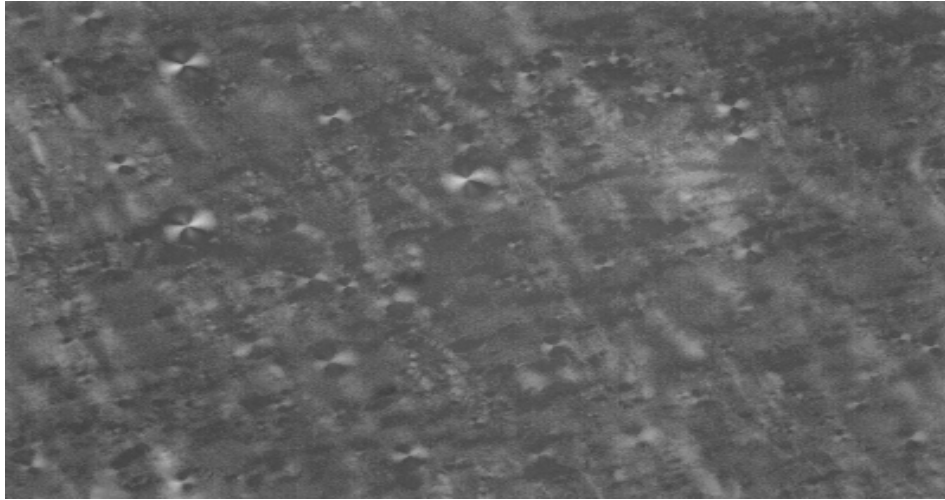


Tabela 1: Resultados dos testes de estabilidade.

| Testes | | | | | |
|----------|------------------------------|-------------|------|--------------|--------------------|
| Dias | Aparência | Microscopia | pH | Cond. Iônica | Índice de refração |
| 18/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.59 | | 1.4186 |
| 21/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.55 | 203.63 | 1.4196 |
| 22/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.20 | | 1.4206 |
| 23/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | + | 7.13 | | 1.4210 |
| 24/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.15 | | 1.4206 |
| 25/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.11 | | 1.4203 |
| 28/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.05 | | 1.4203 |
| 29/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.10 | | 1.4170 |
| 30/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.99 | | 1.4140 |
| 31/03/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 7.05 | | 1.4170 |
| 01/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.98 | | 1.4170 |
| 04/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.95 | | 1.4143 |
| 05/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.91 | | 1.4170 |
| 06/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.94 | | 1.4170 |
| 07/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | + | 6.97 | 220.05 | 1.4140 |
| 11/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.90 | | 1.4170 |
| 12/04/11 | Amarelo/transparente/inodoro | | 6.86 | | 1.4200 |

(+): cruz de malta

Figura 2: Resultados dos ensaios de microscopia de luz polarizada, evidenciando sistemas semelhantes às cruzes de malta.



O comportamento reológico foi avaliado em reômetro HAAKE modelo RHEOSTRESS RS-1 utilizando sensor do tipo placa-placa (C35/2°Ti) à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Os dados foram analisados pelo software Rheowin 3, sendo verificada a propriedade de fluxo e varredura de frequência.

As Figuras 3 e 4 indicaram que as formulações comportaram-se como sistemas não newtonianos, pois não apresentaram linearidade entre a tensão e a velocidade de cisalhamento, o que sugere que estes sistemas apresentam as características de fluidos pseudoplásticos, em virtude da diminuição da viscosidade. Além disso, de acordo com a varredura de frequência, observou-se que $G'' > G'$, indicando que esses sistemas são mais viscosos do que elásticos na frequência de 1 Pa.

Figura 3. Curva de Fluxo.

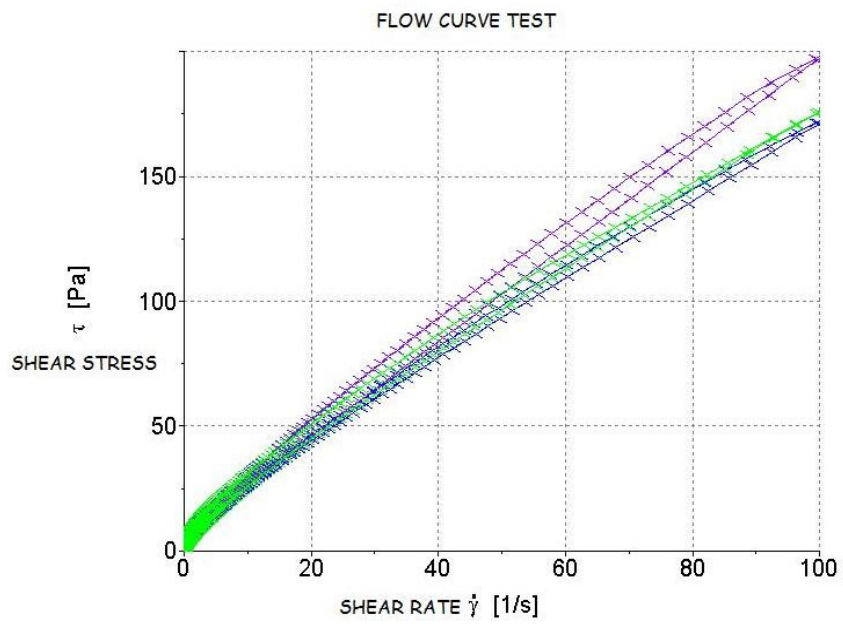
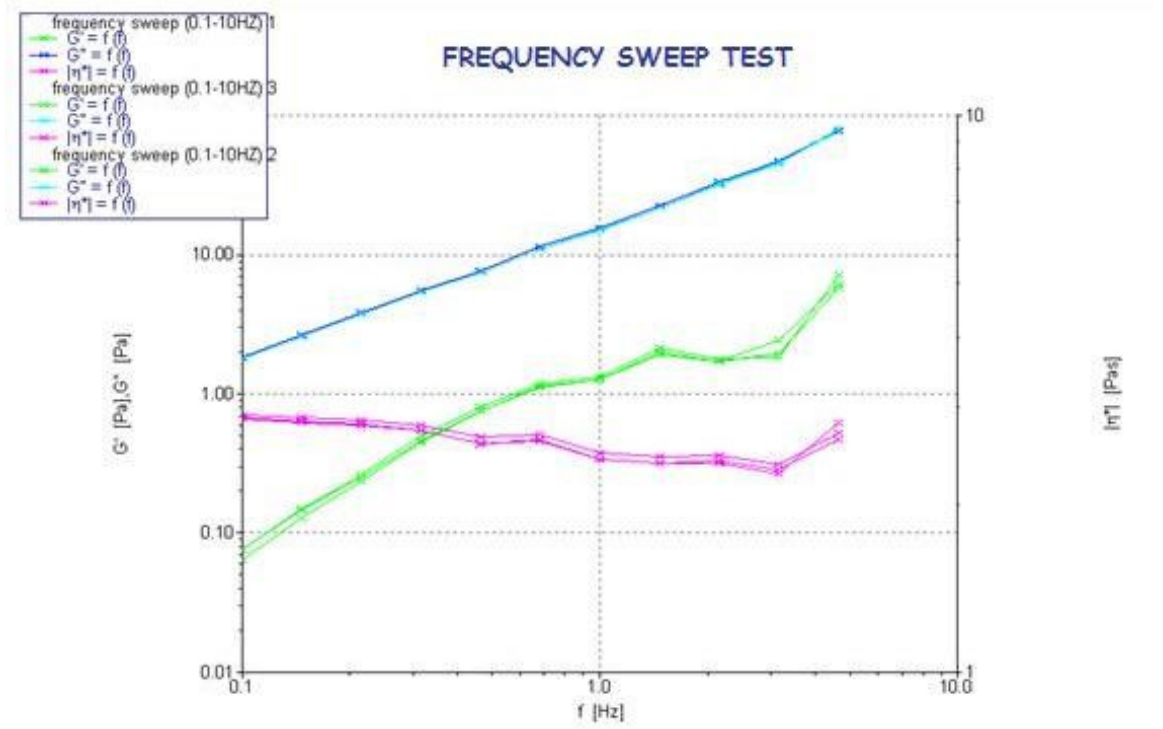


Figura 4. Teste Varredura de Frequência.



9. CONCLUSÕES

As formulações desenvolvidas com os silicones, que possuem baixo potencial irritante, boa espalhabilidade e sensação de sedosidade sem causar oleosidade, apresentaram fases líquido-cristalinas do tipo lamelar, evidenciado pela presença de cruces de malta. Durante o período de um mês correspondente ao estudo de estabilidade, observou-se que as formulações permaneceram estáveis, pois houve uma pequena variação de resultado nesse período em relação a todos os parâmetros analisados, o que sugere que as amostras obedeceram aos critérios de estabilidade, mantendo-se adequadas para uso tópico, demonstrando assim, ser promissoras como sistemas de liberação para o metotrexato.

Os resultados obtidos sugerem que o fármaco pode interferir na evolução estrutural de certas formulações, dependendo da composição quantitativa dos

componentes da formulação. Isso se deve possivelmente às características físico-químicas relacionadas da formulação, as quais podem interferir com o sistema e possibilitar uma melhor estruturação.

Assim, os sistemas propostos são promissores para administração cutânea do metotrexato.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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.
2. THIELEN, A.M.; LAFFITTE, E. Topical treatments for psoriasis in 2009 Rev. Med. Suisse, v.5, n.200, p.876-881, 2009.
3. BÉRARD, F.; NICOLAS, J.F. Physiopathologie du psoriasis. Ann. Dermatol. Venereol., v.130, p.837-842, 2003.
4. GRIFFITHS, C.E.M. The immunological basis of psoriasis. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol., v.17, suppl.2, p.1-5, 2003.
5. 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. Drugs Dermatol., v.8, n.2, p.175-178, 2009.

6. GRILL, A.E.; JOHNSTON, N.W.; SADHUKHA, T.; PANYAM, J. A review of select recent patents on novel nanocarriers. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.*, v.3, n.2, p.137-142, 2009.
7. VENUGOPAL, J.; PRABHAKARAN, M.P.; LOW, S.; CHOON, A.T.; DEEPIKA, G.; DEV, V.R.; RAMAKRISHNA, S. Continuous nanostructures for the controlled release of drugs. *Curr. Pharm. Des.*, v.15, n.15, p.1799-1808, 2009.
8. KAYE JA, LI L, JICK SS. Incidence of risk factors for myocardial infarction and other vascular diseases in patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2008 Sep;159(4):895-902.
9. MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, v.5, n.1, p.561-573, 2006.
10. 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.
11. BATCHELOR, J.M.; INGRAM, J.R.; WILLIAMS, H. Adalimumab vs methotrexate for the treatment of chronic plaque psoriasis. *Arch Dermatol.*, v.145, n.6, p.704-706, 2009.
12. MENTER, A.; KORMAN, N.J.; ELMETS, C.A.; FELDMAN, S.R.; GELFAND, J.M.; GORDON, K.B.; GOTTLIEB, A.B.; KOO, J.Y.; LEBWOHL,

M.; LIM, H.W.; VAN VOORHEES, A.S.; BEUTNER, K.R.; BHUSHAN, R. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis Section. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with traditional systemic agents. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.17, p.152-163, 2009.

13. CARRASCOSA, J.M.; VANACLOCHA, F.; BORREGO, L.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, E.; FUERTES, A.; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ-FREIRE, L.; ZULAICA, A.; TUNEU, A.; CABALLÉ, G.; COLOMÉ, E.; BORDAS, X.; HERNANZ, J.M.; BRUFAU, C.; HERRERA, E. Update of the topical treatment of psoriasis. *Actas Dermosifiliogr.*, v.100, n.3, p.190-200, 2009.

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

15. HYDE, S.T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K., ed. *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2001. cap.16, p.299-332.

16. GABBOUN, N.H.; NAJIB, N.M.; IBRAHIM, H.G.; ASSAF, S. Release of salicylic acid and diclofenac acid salts from isotropic and anisotropic nonionic surfactant systems across rat skin. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.212, p.73-80, 2001.

17. KAWASHIMA, Y. Preface nanoparticulate systems for improved drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.1, n.47, p.1-2, 2001.

18. DIEHL, C. Stable skin treatment preparation for treating vitiligo, containing plant extract having reductase, catalase and superoxide dismutase activity in nanosphere carrier to give high bioavailability. WOpat 200193887-A, 2001.
19. OTT, G., SINGH, M., BRIONES, M., SENAWAN, E., UGGOZZOLI, M., O'HAGAN, D.T. J. A cationic sub-micron emulsion (MF59/DOTAP) is an effective delivery system for DNA vaccines. *J. Control. Release*, v. 1-3, n.79, p.1-5, 2002.
20. LIMA, K.M., RODRIGUES-JÚNIOR, J. M. Poly-DL-lactide-co-glycolide microspheres as a controlled release antigen delivery system. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.2, n.32, p.171- 180, 1999.
21. CABRAL, E. C. M., ZOLLNER, R. L., SANTANA, M. H. Preparation, characterization and in vivo assays of liposomes and microspheres (PLGA) useful for desensitization therapy in allergy. *First Brazilian Winter School on Nanobiotechnology-Rede Nanobiotec.*, p.171-172, 2002.
22. LIMA, K.M., SILVA, C.L., RODRIGUES-JÚNIOR, J.M. Microesferas biodegradáveis. *Biotechnol. Cienc. Desenv. (Brasil)*, v.2, p. 10-13, 2000.
23. YANO, H., HIRAYAMA, F., KAMADA, M., ARIMA, H, UEKAMA, K. J. Colon-specific delivery of prednisolone-appended alpha-cyclodextrin

conjugate: alleviation of systemic side effect after oral administration. *J. Control. Release*, v.1-3, n.79, p.103-112, 2002.

24. JAIN, A. K., THOMAS, N. S., PANCHAGNULA, R. Transdermal drug delivery hydrochloride. I.Effect of terpenes. *J. Control. Release*. v.1-3, n.79, p.93-101, 2002.

25. DUMITRIU, S. em *Polymeric biomaterials* , Marcel Dekker: New York, 1994.

26. GHANDEHARI, H. *Phar 535: controlled drug release*. Disponível em: <https://rxsecure.umaryland.edu/courses/PHAR535/lecture_handouts/Intro_CR/Introduction%20to%20Controlled%20Drug%20Delivery.pdf >. Acesso em: 11 julho 2011.

27. FARREL, S.; HESKETH, R.P. *An introduction to drug delivery for Chemical Engineers*. Disponível em<<http://engineering.eng.rowan.edu/~hesketh/hesketh/cee%20drug%20delivery.pdf>> *Companies involved in polymeric drug delivery.htm*> Acesso em: 12 julho de 2011.

28. KAPARISSIDES, C.; ALEXANDRIDOU, S.; KOTTI, K.; CHAITIDOU, S. Recent advances in novel drug delivery systems. *J. Nanotechnol. Online*, v.2, p.1-11, 2006.

29. ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A. Molecularly imprinted polymers for drugs

delivery. *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, v.804, n.1, p.231-245, 2004.

30. CHIEN, Y.W.; LIN, S. Optimisation of treatment by applying programmable rate-controlled drug delivery technology. *Clin. Pharmacokinet.*, v.41, n.15, p. 1267-1300, 2002.

31. GARTI, N.; YAGHMUR, A.; ASERIN, A.; SPERNATH, A.; ELFAKES, R.; EZRAHI, S. Solubilization of Active Molecules in Microemulsions for Improved Environmental Protection. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* 2004, 230, 183-190.

32. HEUSCHKEL, S.; GOEBEL, A.; NEUBERT, R. H. H. Microemulsions—Modern Colloidal Carrier for Dermal and Transdermal Drug Delivery. *J. Pharm. Sci.*, v. 97, n. 2, p. 603 – 631, 2008.

33. CARVALHO, F.C. Desenvolvimento e caracterização de sistemas nanoestruturados para potencial administração nasal de zidovudina. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia – Departamento de Fármacos e Medicamentos, Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP.

34. 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.

35. KREILGAARD, M. Influence of Microemulsions on Cutaneous Drug

Delivery. *Adv. Drug Del. Rev. Arlington*. V.54, P.77-98, 2002.

36. NORLING, T.; LADING, P.; ENGSTRON, S.; LARSSON, K.; KROG, N.; NISSEN, S.S. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.19, p.687-692, 1992.

37. 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.

38. ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; LOYD, V. O. Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. 6ª ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

39. SANCTIS, D. S. Emulsões para uso externo. *Revista Racine*, São Paulo, n. 53, p. 53 – 62, nov./dez. 1999.

40. D' LEON, L. F. P. Estudo de estabilidade de produtos cosméticos. *Cosmetic & Toiletries*, São Paulo, v. 13, n. 4. p.54 – 62, jul./ago. 2001.

41. SAMPAIO, A.C. Curso avançado de cremes e loções cremosas. Consulcom, São Paulo, 1999.

42. EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV)

microemulsion systems. In: KUMAR, P.; MITTAL, K.L., ed. *Handbook of Microemulsion Science and Technology*. New York: Marcel Dekker, 1999. cap.7, p.195-240.

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

44. SCHRAMM, G. *A practical approach to rheology and rheometry*. 3rd.ed. Karlsruhe: ThermoHaake, 2002, 291p.