

Valéria Romero Vieira da Motta

Exposição de pacientes com síndrome de dor miofascial (SDM) à
capsaicina: desenvolvimento de forma farmacêutica de uso tópico com
possível ação analgésica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Anestesiologia.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Antonio Moreira de Barros

Botucatu – SP

2015

Dedicatórias

*Amparo Supremo, espiritualidade divina, essência de toda vida
Deus Pai, Deusa Mãe, eterna gratidão por mais essa benção recebida
Sua centelha de amor transborda em meu ser e no meu interior habita
Faça-me instrumento de Tua paz por toda existência infinita.*

Aos amores da minha vida dedico este título...

*À minha amada mãe, Maria Aparecida, exemplo de mãe, de amor e
dedicação à família! O seu apoio e amor incondicional foram essenciais
para a realização deste sonho. Minha eterna admiração, orgulho, amor
e gratidão.*

*Ao meu marido, Emanuel, companheiro, amante, amigo, amor das
minhas vidas. Meu cúmplice, incentivador, protetor e admirador.
Muita gratidão por todo seu amor, por me recordar que sempre devo
acreditar em mim, por toda paciência, carinho e doação, por ser o
amado e dedicado papai do nosso amor incondicional.*

*Ao amado Enzo, por ter me escolhido como sua mãe, pela benção de tê-lo
como meu filho. A esse lindo anjo que me trouxe a dádiva de amar
incondicionalmente. Filho receba todo o meu amor e gratidão por estar
sempre comigo, pela compreensão nos momentos em que precisei me
ausentar, por toda sua alegria e ensinamentos diários de viver o agora
intensamente.*

Agradecimentos Especiais

Ao Meu Pai Valério, que muitas vezes renunciou os seus sonhos para realizar os meus, por me amar.

Às minhas irmãs Mara e Meire e minha sobrinha Mayara, pelo incentivo em todos os momentos da minha vida.

Aos meus cunhados e irmãos Luís Carlos (Negro) “in memoriam” e Valdir, exemplos de vida e superação que vibram pelas minhas vitórias.

Ao meu amigo irmão Marcelo, pela presença sublime em minha vida, por todo apoio, incentivo, amizade e carinho.

À Profa. Dra. Efigênia Santana, pela amizade, incentivo e carinho a mim dedicado. Sua disponibilidade sempre foi e é incomparável. Em todos os momentos, pelos muitos ensinamentos científicos e de vida. Desde a minha graduação, especializações, mestrado, ela estava sempre a me apoiar e dizer que eu fosse em frente, sem nunca medir esforços para me ajudar. Agradeço muito por ter me apresentado o querido Prof. Manoel, por tudo!

Amo vocês!

Agradecimentos Especiais

Ao querido Prof. Dr. Guilherme António Moreira de Barros, pelos ensinamentos, apoio, sugestões e críticas que tanto contribuíram para minha formação e desenvolvimento desta tese. Agradeço por ter aceitado esse desafio, pela confiança, carinho e amizade.

Agradecimentos Especiais

Aos pacientes do presente estudo, pelo aprendizado e pela confiança depositada possibilitando elucidar novos caminhos na pesquisa.

Excelso Criador de todas as coisas.

Estenda Tua luminosa mão sobre os que se encontram doentes, sofrendo limitações, dores e incertezas.

Que a fé e a confiança brotem fortes em seus corações.

Alívia suas dores e dá-lhes calma e paz.

Cura suas almas para que os corpos também se restabeleçam.

Dá-lhes alívio, consolação e acenda a luz da esperança em seus corações, para que, amparados pela fé e a esperança, possam desenvolver o amor universal e a cura interior.

Agradecimentos

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão de Bolsa Doutorado, pela Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE) e por todo subsídio concedido, sem o qual não teria sido possível a realização desse relevante estudo.

À Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo, pelos ensinamentos, pelo acolhimento e amizade. Agradeço muito a oportunidade de ter sido minha orientadora substituta, por todo o seu apoio constante e fortalecedor.

Aos Docentes do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia, pelo empenho e conhecimento transmitido, em especial ao Prof. Dr. José Reinaldo Cerqueira Braz, exemplo de competência e comprometimento com o ensino e a pesquisa. Agradeço pela confiança, pelo apoio e por nunca ter medido esforços para conseguir verbas de auxílio aos materiais de consumo e equipamentos necessários para o cumprimento deste projeto. Até mesmo depois que me foi concedida a Bolsa FAPESP, não deixei de receber o seu apoio.

Aos funcionários da Terapia Antálgica e Cuidados Paliativos, Ângela, Neuce, Valdirene, Maria José, Ione, aos residentes Jorge e Marco Antonio, por toda eficiência e presteza. Agradeço em especial a minha querida ex-aluna, amiga e mestranda desta Pós-Graduação, Michelle Catarina Pires, pela amizade e por toda imprescindível colaboração na execução prática do estudo clínico.

Ao Prof. Catedrático Dr. Francisco Otero Espinar, diretor da Faculdade de Farmácia da Universidade de Santiago de Compostela/Espanha. Sou muito agradecida pela acolhida em seu renomado laboratório, pela paciência e por ter disponibilizado todos os equipamentos, materiais e o seu tempo para me ensinar e supervisionar durante todo o andamento das análises físicas e químicas. À querida Dra. Sole por todo apoio e paciência durante os ensaios das células de Franz. Vocês são sinônimos de profissionais de extrema competência e intelectualidade, que não deixam de lado a simplicidade e o carinho com seus alunos.

Ao Prof. Dr. Manoel Menezes, sem o qual a execução das análises cromatográficas não teria acontecido. Sua presteza, dedicação, inclusive permanecendo após seu horário no laboratório de química da UNESP/Bauru, foi além das expectativas. A cada dúvida, a busca de uma resposta e muitos ensinamentos. Foi um colaborador inigualável.

À Profa Dra. Lídia Raquel de Carvalho, pela especial ajuda inicial das análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Manoel Henrique Salgado, meu brilhante orientador de monografia na Engenharia de Produção, que mesmo com todas as suas ocupações e orientações na FEB/UNESP/Bauru, disponibilizou prontamente o seu tempo, dando-me atenção e muito apoio com as análises estatísticas da tese. O seu apoio, mais uma vez, foi inestimável.

Aos funcionários do Departamento de Anestesiologia e da Seção de Pós-Graduação, Joana, Tatiane, Márcia e Sônia, por serem sempre tão atenciosas e prestativas. Em especial aos estimados Neli e André pela forma cordial e amiga com que sempre me atenderam e ajudaram. São pessoas muito especiais e queridos amigos.

Aos queridos amigos Álvaro, Débora Damasceno, Bruna Dallaqua e Jusciele Moreli pela amizade sempre presente, pelo carinho e companheirismo.

À Rosângela do posto de atendimento da FAPESP desta Universidade, por ser sempre tão atenciosa e querida, por todos os esclarecimentos claros e concisos.

Às minhas amadas filhas peludas Estrela e Pucca, pelo verdadeiro amor sempre presente, pelos doces olhares que transbordam em ternura e paz. Minhas companheiras sempre ao meu lado durante os dias, noites e nas madrugadas em que escrevia essa tese.

Aos amados amigos Valter e Ícaro, pelo companheirismo, pelos almoços e momentos de risos e descontração em Botucatu, por todo apoio e carinho.

Gratidão, a mais pura expressão de reconhecimento por todo esse sonho realizado!

Lista de Figuras

Figura 1	Infiltração de PG.....	33
Figura 2	Pimenta vermelha.....	36
Figura 3	Estrutura molecular da capsaicina.....	39
Figura 4	A ativação de TRPV1 por capsaicina resulta em despolarização neuronal sensorial, e pode induzir sensibilização local para ativação pelo calor, acidose, e agonistas endógenos.....	41
Figura 5	Músculo medial com eritema após tratamento com doses altas de capsaicina.....	42
Figura 6	Pele (epiderme, derme e hipoderme).....	43
Figura 7	Força de cisalhamento aplicada sobre um fluido.....	53
Figura 8	Creme base com adição da capsaicina.....	61
Figura 9	Soluções estéreis para a inativação do sistema conservante.....	62
Figura 10	Texturômetro TA XT Plus, Texture Analyser.....	69
Figura 11	Exemplo de curva obtida durante o ensaio de textura a partir do programa Texture Exponent 32.....	70
Figura 12	Texturômetro TA XT Plus com pele de cabra e amostra.....	71
Figura 13	Partes do sistema Franz com a amostra Fc2 à esquerda e a direita com a amostra.....	73
Figura 14	Banho termostatzado a 37 °C ($\pm 0,5$), após 24 horas de agitação para simular as condições fisiológicas, que incluem células de Franz após sua preparação.....	73
Figura 15	AR 1000N-reômetro Rheolyst.....	75
Figura 16	Diagnóstico da SDM.....	77
Figura 17	Sangue em fase de processamento.....	80
Figura 18	Amostras de plasmas após extração e centrifugação.....	82
Figura 19	Valores de pH das formulações Fc1 e Fc2, de acordo com a temperatura (°C).....	93
Figura 20	Gráfico da análise da dureza das formulações Fc1 e Fc2, ($p \leq 0,005$, teste t de Student).....	95
Figura 21	Gráfico da propriedade mecânica adesão entre as formulações Fc1 e Fc2, ($p \leq 0,005$. Teste t de Student).....	95
Figura 22	Gráfico da propriedade mecânica coesão entre as formulações Fc1 e Fc2 ($p \geq 0,05$. Teste t de Student).....	96
Figura 23	Gráfico dos resultados força máxima bioadesão Fc1 e Fc2 em mJ...	97
Figura 24	Gráfico da força e capacidade de deslocamento das formulações Fc1 e Fc2.....	98

Figura 25	Gráfico da liberação gradual da capsaicina através das células de Franz.....	99
Figura 26	Gráfico da análise de densidade das formulações Fc1 e Fc2.....	100
Figura 27	Gráfico dos módulos de frequência angular a 20°C das formulações Fc1 e Fc2.....	101
Figura 28	Gráfico dos módulos de frequência angular a 37°C das formulações Fc1 e Fc2.....	102
Figura 29	Gráfico da viscosidade a 37°C das formulações Fc1 e Fc2.....	102
Figura 30	Satisfação com o tratamento após 60 minutos.....	104
Figura 31	Aplicação e pós-aplicação da formulação Fc2.....	105
Figura 32	Queimação e hiperemia local após aplicação no grupo Fc2.....	106
Figura 33	Melhor intensidade da dor antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.....	108
Figura 34	Pior intensidade da dor antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.....	110
Figura 35	Dor neste momento antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.....	111
Figura 36	Curva analítica do padrão de capsaicina (Sigma) nas concentrações de 1,25; 2,5; 5,0 e 10 µg/mL.....	113
Figura 37	Curva analítica do padrão de capsaicina (Sigma) nas concentrações de 1,25; 2,5; 5,0 e 10 µg/mL.....	114

Lista de Tabelas

Tabela 1	Inativantes específicos para agentes antimicrobianos em fórmulas farmacêuticas.....	63
Tabela 2	Critérios diagnósticos da SDM.....	76
Tabela 3	Análise microbiológica de mesófilos nas formulações Fc1 e Fc2.....	84
Tabela 4	Análise microbiológica de bactérias psicotróficas nas formulações Fc1 e Fc2.....	85
Tabela 5	Análise de bactérias Gram negativas nas formulações Fc1 e Fc2.....	85
Tabela 6	Análise microbiológica de coliformes totais nas formulações Fc1 e Fc2.....	85
Tabela 7	Análise de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> nas formulações Fc1 e Fc2.....	86
Tabela 8	Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> nas formulações Fc1 e Fc2.....	86
Tabela 9	Teste de eficácia de conservantes - Fc1.....	87
Tabela 10	Teste de eficácia de conservantes/redução logarítma - Fc1.....	87
Tabela 11	Teste de eficácia de conservantes - Fc2.....	88
Tabela 12	Teste de eficácia de conservantes/redução logarítima - Fc2.....	88
Tabela 13	Estabilidade a baixas temperaturas, inicial ao 15º dia - Fc1.....	89
Tabela 14	Estabilidade a baixas temperaturas, 30º dia ao 105º dia - Fc1.....	89
Tabela 15	Estabilidade a baixas temperaturas, inicial ao 15º dia - Fc2.....	90
Tabela 16	Estabilidade a baixas temperaturas, 30º dia ao 105º dia - Fc2.....	90
Tabela 17	Estabilidade a altas temperaturas, inicial ao 15º dia - Fc2.....	91
Tabela 18	Estabilidade a altas temperaturas, 30º dia ao 105º dia - Fc2.....	91
Tabela 19	Valores de pH da formulação Fc1 de acordo com a temperatura (°C).	92
Tabela 20	Valores de pH da formulação Fc1 de acordo com a temperatura (°C).	93
Tabela 21	Propriedades mecânicas de dureza, adesão e coesão da formulação Fc1	94
Tabela 22	Propriedades mecânicas de dureza, adesão e coesão da formulação Fc2	94
Tabela 23	Densidade da formulação Fc1.....	100
Tabela 24	Densidade da formulação Fc2.....	100
Tabela 25	Perfil dos pacientes com SDM grupos Fc1 e Fc2, resultados expressos em número absoluto (n) e em porcentagem (%).....	103
Tabela 26	Distribuição de frequências dos indivíduos com queimação local, expressos em número absoluto e porcentagem.....	105
Tabela 27	Distribuição de frequências dos indivíduos com hiperemia local, expressos em número absoluto e porcentagem.....	106
Tabela 28	Intensidade de dor dos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2, uma semana antes da aplicação das respectivas formulações, resultados expressos em média.....	107

Tabela 29	Melhor (M) intensidade da dor pós-aplicação baseando-se nos grupos e períodos avaliados, resultados expressos em média e desvio-padrão.....	108
Tabela 30	Médias e desvios-padrão referentes à pior (P) intensidade da dor pós-aplicação baseando-se nos períodos avaliados e períodos avaliados.....	109
Tabela 31	Médias e desvios-padrão referentes à dor neste momento pós-aplicação baseando-se nos grupos e períodos avaliados.....	114
Tabela 32	Resultados determinação plasmática de capsaicina nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.....	111
Tabela 33	Concentração da capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2, os valores foram expressos em porcentagem e média.....	115
Tabela 34	Valores Fc1 e Fc2 força (N) dos ensaios de bioadesão.....	162
Tabela 35	Valores dos ensaios de viscosidade e módulos G'' e G' de frequência angular.....	163
Tabela 36	Exemplos dos valores dos módulos de viscosidade mensurados.....	164

Lista de Quadro

Quadro 1	Formulação creme de capsaicina.....	60
-----------------	-------------------------------------	----

Lista de Abreviaturas e Unidades de Medidas

Ab:	<i>Aspergillus brasiliensis</i>
ABC:	Associação Brasileira de Cosmetologia
ABNT:	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACTs:	antidepressivos tricíclicos
AINEs:	anti-inflamatórios não esteroidais
ANOVA:	análise de variância
ANVISA:	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A/O:	água em óleo
A/O/A:	água/óleo/água
AAP:	Antes da aplicação
ATTC:	<i>American Type Culture Collection</i>
BHT:	butilhidroxitolueno
BPF:	boas práticas de fabricação
BPM:	boas práticas de manipulação
Ca:	<i>Candida Albicans</i>
CASO:	Caldo Caseína-Soja
CGCRE:	Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro
CLAE ou HPLC:	cromatografia líquida de alta eficiência
CRL:	número de acreditação laboratorial INMETRO
Da:	Daltons
DMA:	Dimetilacetamida
DMSO:	Dimetisulfóxido
DN:	dor neuropática
EC:	<i>Escherichia coli</i>
EMB:	eosina azul de metileno
ENV:	escala numérica verbal
ES:	Espanha
EVA:	escala visual analógica
EVS:	escala visual de sintomatologia
FAPESP:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
Fc1:	fórmula creme base ou grupo placebo
Fc2:	fórmula creme base + capsaicina ou grupo capsaicina
FD:	fator de diluição
FMB:	Faculdade de Medicina de Botucatu
g:	grama
GABA:	ácido γ -aminobutírico/ácido gama-aminobutírico
HIV:	<i>Human immunodeficiency virus</i> / Vírus da imunodeficiência humana
IEC:	Comissão Eletrotécnica Internacional
INCI:	<i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredients</i>
Inmetro:	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

ISO:	Organização Internacional para Padronização
Kg:	kilograma
LAS:	anestésicos locais
LD:	limite de detecção
LH:	lipídeo associado com hidrogênio
M:	melhor momento
mg:	miligrama
mJ:	trabalho
mm:	milímetros
m/m:	massa/massa
N:	neste momento
nm:	nanômetros
O/A:	óleo em água
O/A/O:	óleo/água/óleo
P:	pior momento
Pa:	Pascal
PA:	para análise
PA:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PG:	pontos-gatilho
pH:	potencial hidrogeniônico
p/p:	peso por peso
ppm:	parte por milhão
p/v:	parte por volume
rad:	velocidade angular
R²:	coeficiente de determinação
REBLAS:	Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde
s:	segundo
SA:	<i>Staphylococcus aureus</i>
SA:	sem alteração
SDM:	Síndrome dolorosa miofascial/ Síndrome de dor miofascial
SNC:	Sistema Nervoso Central
SP:	substância P
N:	medida de força
NGF:	fator de crescimento nervoso
NNK:	[4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone]
NNT:	número necessário para tratar
NMP:	número mais provável
NPH:	neuralgia pós-herpética
rpm:	rotações por minuto
T°:	temperatura
TACP:	Terapia Antálgica e Cuidados Paliativos
TCLE:	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG:	termogravimetria
TRPV1:	receptor de potencial transitório da vanilóide um
μ:	micro
μg:	micrograma

μl:	microlitros
μm:	micrômetro
UFC:	unidades formadoras de colônia
UNESP:	Universidade Estadual Paulista
USC:	Universidade Santiago de Compostela
USP:	<i>United States Pharmacopeia</i>
UR%:	umidade relativa em porcentagem
UV:	ultravioleta
VB:	verde brilhante
VM:	vermelho de metila
VP:	Voges Proskauer
v/v:	volume por volume

Sumário

Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1 Dor	27
2.1.1 Síndrome de dor miofascial	28
2.1.2 Diagnóstico	30
2.1.3 Tratamento da síndrome de dor miofascial	31
2.1.4 Analgésicos tópicos	34
2.1.5 Capsaicina	35
2.2 Pele	42
2.2.1 Bioquímica da pele	43
2.2.2 Função barreira e a permeabilidade cutânea	44
2.2.3 Interferentes da absorção percutânea	45
2.3 Formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico	48
2.3.1 Emulsões	49
2.3.2 Estabilidade das emulsões	52
2.3.3 Reologia das emulsões	52
3 OBJETIVO	56
3.1 Objetivo geral	56
3.2 Objetivos específicos	56
4 MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1 Material	57
4.1.1 Drogas e reagentes	57
4.1.2 Equipamentos, vidrarias, documentos e correlatos	58
4.2 Métodos	60
4.2.1 Desenvolvimento das formulações	60
4.2.2 Análises microbiológicas	62
4.2.2.1 Preparo da amostra para o controle microbiológico	62
4.2.2.2 Diluição para contagem de mesófilos e coliformes totais e fecais	63
4.2.2.3 Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotrófilos	63
4.2.2.4 Pesquisa de coliformes totais e fecais	64
4.2.2.5 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64
4.2.2.6 Teste de eficácia de conservantes ou teste de desafio – <i>Challenge Test</i>	65
4.2.2.7 Teste de estabilidade e estresse térmico (<i>shelf-life</i> e estabilidade acelerada)	66
4.2.3 Análises físicas e químicas	66
4.2.3.1 Aspecto	67
4.2.3.2 Cor	67

4.2.3.3	Odor.....	68
4.2.3.4	Valor de pH.....	68
4.2.3.5	Caracterização das propriedades mecânicas.....	68
4.2.3.6	Ensaio de bioadesão.....	70
4.2.3.7	Ensaio de difusão.....	71
4.2.4	Ensaio reológico.....	74
4.2.4.1	Densidade.....	74
4.2.4.2	Viscosidade.....	74
4.2.5	Estudo clínico.....	76
4.2.5.1	Desenho do estudo.....	76
4.2.5.2	Local do estudo, sujeitos, tamanho amostral e avaliação da dor.....	76
4.2.5.3	Critérios de exclusão.....	78
4.2.6	Análise estatística.....	81
4.2.7	Análise do plasma sanguíneo através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC).....	81
4.2.7.1	Linearidade.....	82
4.2.7.2	Quantificações de capsaicina a partir das formulações Fc1 e Fc2.....	83
4.2.7.3	Linearidade.....	83
4.2.7.4	Especificidade do método.....	83
5	RESULTADOS.....	84
5.1	Análises microbiológicas.....	84
5.1.1	Contagem de mesófilos, coliformes totais e fecais.....	84
5.1.2	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	86
5.1.3	Teste de eficácia de conservantes ou teste de desafio – Challeng Test..	87
5.1.4	Teste de estabilidade acelerada – <i>Shelf-life</i>	89
5.2	Análises físicas e químicas.....	91
5.2.1	Aspecto, cor, odor e pH.....	91
5.2.2	Características das propriedades mecânicas.....	93
5.2.2.1	Dureza.....	94
5.2.2.2	Adesão.....	95
5.2.2.3	Coesão.....	96
5.2.3	Ensaio de bioadesão.....	97
5.2.4	Ensaio de difusão (células de Franz).....	98
5.2.5	Densidade.....	99
5.2.6	Testes reológicos (viscosidade).....	101
5.3	Estudo Clínico.....	103
5.3.1	Perfil dos pacientes e medicamentos prescritos.....	103
5.3.2	Satisfação com o tratamento 60 minutos após aplicação.....	104
5.3.3	Queimação local e hiperemia após a aplicação.....	104
5.3.4	Avaliação da escala numérica verbal de dor.....	107
5.3.4.1	Comparação da intensidade de dor	107
5.3.4.2	Dor antes da aplicação.....	107
5.3.4.3	Dor pós-aplicação – melhor intensidade de dor.....	107
5.3.4.4	Dor pós-aplicação – pior intensidade de dor.....	109

5.3.4.5 Dor pós-aplicação – dor neste momento.....	110
5.4 Determinação da concentração plasmática de capsaicina através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC).....	112
5.4.1 Otimização do método da determinação da concentração plasmática de capsaicina, através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC).....	112
5.4.2 Concentrações plasmáticas de capsaicina, através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).....	113
5.4.3 Resultados das quantificações das concentrações de capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2, através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) após 10 meses de produção.....	115
6 DISCUSSÃO	116
6.1 Formulação dos cremes e análises microbiológicas.....	116
6.2 Teste de eficácia de conservantes - <i>Challenge test</i>	117
6.3 Teste de estabilidade das formulações.....	118
6.3.1 Características organolépticas.....	118
6.3.2 Estabilidade.....	119
6.4 Propriedades mecânicas.....	120
6.4.1 Dureza, coesão, adesão e ensaio de bioadesão.....	120
6.5 Ensaio de difusão (células de Franz).....	121
6.6 Densidade.....	122
6.7 Ensaio reológicos.....	123
6.7.1 Viscosidade.....	123
6.8 Estudo clínico.....	124
6.9 Concentração plasmática da capsaicina.....	128
6.10 Quantificação da capsaicina nas formulações após 10 meses de produção....	129
7 CONCLUSÕES	131
8 REFERÊNCIAS	132
9 APÊNDICE	145
10 ANEXOS	165

Vieira da Motta VR. Exposição de pacientes com síndrome de dor miofascial (SDM) à capsaicina: desenvolvimento de forma farmacêutica de uso tópico com possível ação analgésica. Botucatu. 2015. 182p. (Tese (Doutorado em Anestesiologia). Faculdade de Medicina de Botucatu. UNESP-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Introdução e Objetivo: a síndrome de dor miofascial (SDM) é uma das causas mais comuns de dor musculoesquelética. Esta dor pode se originar em um único músculo e, eventualmente, pode envolver múltiplos músculos gerando padrões complexos e variáveis de sintomas dolorosos. Nesta pesquisa, utilizou-se a capsaicina em alta concentração, produto natural obtido da pimenta vermelha e que há muito é empregada para o alívio da dor, como alternativa ao tratamento da SDM. Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar a possível ação analgésica de uma forma farmacêutica semi-sólida (creme) de capsaicina 8% em pacientes com síndrome de dor miofascial. Paralelamente avaliou-se a ocorrência de efeitos de intolerância cutânea relacionados ao emprego tópico da capsaicina, bem como as concentrações de capsaicina plasmática e finais, após 10 meses de manufatura, nas formulações. **Material e Métodos:** foram desenvolvidas as formulações Fc1 (fórmula creme base) e Fc2 (fórmula creme base + capsaicina 8%). As mesmas foram submetidas aos ensaios microbiológicos, físicos e químicos para avaliação da qualidade, conforme preconizado pela ANVISA. Este estudo prospectivo e randomizado foi desenvolvido no Serviço de Terapia Antálgica e Cuidados Paliativos (TACP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Os 40 pacientes participantes foram alocados em dois grupos, Fc1 e Fc2. Sempre em âmbito hospitalar, os cremes foram administrados topicamente, conforme o grupo, com o emprego prévio de anestésico local tópico por 50 minutos. Para tal, escolheu-se o ponto-gatilho (PG) que mais provocava desconforto e dor à palpação para a aplicação tópica das formulações na quantidade de 10 g em área delimitada de aproximadamente 24 mm e superficialmente a este ponto. Após 30 minutos da aplicação o produto foi retirado, tendo sido avaliados os parâmetros de tolerabilidade à pele. A dor foi quantificada imediatamente, antes e durante a aplicação da formulação, assim como uma hora, sete dias, 30 dias e 60 dias após a sua retirada. Para tal, empregou-se escala numérica verbal

(0 a 10, sendo 0 ausência de dor e 10 a pior dor imaginável). Depois da retirada das formulações da pele realizou-se a coleta das amostras sanguíneas para quantificação da concentração plasmática da capsaicina por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Determinou-se também a concentração de capsaicina nos cremes após 10 meses da sua produção.

Resultados: observou-se que nenhum dos pacientes do grupo Fc1 apresentou hiperemia ou sensação de queimação cutânea no local da aplicação. No grupo Fc2, 85% dos indivíduos apresentaram hiperemia ou queimação 15 minutos após a aplicação do creme e que desapareceu 24 horas após. A intensidade da dor do grupo Fc2 diminuiu de maneira estatisticamente significativa em todos os períodos e momentos avaliados, até o 60º dia de avaliação ($p < 0,0001$). Na determinação da concentração plasmática de capsaicina por meio da CLAE foram observados níveis plasmáticos de capsaicina que oscilaram entre 0,006 e 2,53 µg/mL nas amostras de pacientes que receberam a formulação Fc2, enquanto que na maioria dos pacientes que receberam a formulação Fc1 não foram encontradas concentrações plasmáticas significativas de capsaicina. A formulação Fc2 sofreu, após 10 meses de produção, perda de 5,30 g de capsaicina.

Conclusão: a administração das formulações não ocasionaram lesões agudas ou crônicas na pele dos pacientes, sendo que a formulação de capsaicina 8% foi bem tolerada. Ocorreu absorção cutânea da capsaicina na concentração topicamente administrada, que se mostrou eficaz no tratamento da dor de SDM por até 60 dias após única aplicação tópica. A concentração de capsaicina na formulação Fc2 diminuiu 10 meses de sua produção.

Palavras-chave: capsaicina, administração tópica, ponto-gatilho, síndromes de dor miofascial.

Vieira da Motta VR. Exposure of patients with myofascial pain syndrome (MPS) to capsaicin: development of pharmaceutical form for topical use with possible analgesic action. Botucatu, 2015. 182p. Thesis (PhD in Anesthesiology). Botucatu Medical School. UNESP-Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

Background and Objective: myofascial pain syndrome (MPS) is one of the most common causes of musculoskeletal pain. This pain may originate in a single muscle and eventually may involve multiple muscles generating complex patterns and variable painful symptoms. In this study capsaicin, a natural product obtained from red pepper, was formulated in a high concentration. Capsaicin, which has long been used for the management of pain, was tested as an alternative to the management of the MPS. The objective of this study was to develop and evaluate the potential analgesic action of a semi-solid formulation (cream) containing capsaicin 8% on myofascial pain syndrome patients. At the same time we evaluated the occurrence of cutaneous side effects related to the topic use of capsaicin, as well as the plasma capsaicin concentrations result of its use. Also the residual capsaicin concentration was tested in the formulations after 10 months of manufacturing. **Methods:** two formulations were developed: Fc1 (based cream formula) and Fc2 (cream formula base + capsaicin 8%). The formulations were submitted to microbiological tests, physical and chemical quality evaluation, as recommended by ANVISA. This prospective, randomized study was conducted in Pain Management and Palliative Care Service (TACP), Botucatu, Botucatu Medical School, UNESP. The 40 participating patients were assigned into two groups, Fc1 and Fc2. The clinical tests were carried out at the hospital; the creams were administered topically, as per assigned group, with the prior use of topical local anesthetic for 50 minutes. The trigger point (PG) that aroused more discomfort and pain on palpation was chosen for topical application of the formulations (10 g) in an enclosed area of about 24 mm and above this point. After 30 minutes the product was removed and parameters of the skin tolerability were evaluated. The pain was measured immediately before and during application of the formulation, as well as one hour, seven days, 30 days and 60 days after its skin removal. For doing this we employed a verbal numeric scale (0 to 10, 0 equals to no pain and 10 the worst pain imaginable). After the cleansing of skin formulations blood samples were harvested for assessment of capsaicin plasma

concentration by high performance liquid chromatography (HPLC). We also measured the remaining concentration of the capsaicin creams after 10 months of its production.

Results: none of the patients in the group Fc1 presented any side effect at the application site. In Fc2 group 85% of individuals presented redness or skin burning 15 minutes after application of the cream and that disappeared 24 hours later. The pain intensity of Fc2 group decreased in a statistically significant way in all time points, until the 60th day of evaluation ($p < 0.0001$). Plasma levels of capsaicin, ranging between 0.006 and 2.53 mg/mL, were detected in Fc2 samples, whereas in the majority of patients receiving Fc1 formulation did not present significant plasma concentrations of capsaicin. Fc2 formulation presented, after 10 months of production, loss of 5.30 g of capsaicin. **Conclusion:** the administration of the formulations did not cause serious acute or chronic skin lesions of patients, and the formulation of capsaicin 8% was well tolerated. Topically administered capsaicin in high concentration proved to be effective for the treatment of MPS for up to 60 days after a single use. The capsaicin concentration of Fc2 formulation decreased after 10 months of its production.

Keywords: capsaicin, topical administration, trigger point, myofascial pain syndromes.

1 INTRODUÇÃO

Considerada um relevante problema de saúde e comumente encontrada em centros de dor e clínicas de diversas especialidades, a síndrome dolorosa miofascial (SDM) é uma das causas mais comuns de dor musculoesquelética. Acomete músculos, tecido conectivo e fáscias, principalmente na região cervical, cintura escapular e lombar. A dor e a incapacidade geradas pelas SDMs podem ser bastante significativas. Várias sinonímias foram utilizadas para essas condições: mialgia, miosite, miofascíte, miofibrosite, miogelose, fibrosite, reumatismo muscular ou de partes moles e tensão muscular (Yeng et al., 2003).

Apesar de a SDM ser uma das causas mais comuns de dor e incapacidade em doentes que apresentam algia de origem musculoesquelética, muitos profissionais da área de saúde e doentes não a reconhecem, pois o diagnóstico depende exclusivamente da história clínica e dos achados do exame físico. Muitos destes doentes são tratados como se tivessem bursite, artrites, tendinites ou doenças viscerais, sem haver melhora significativa do quadro clínico com os tratamentos propostos. A exata prevalência da SDM na população é difícil de ser determinada, pois os critérios de diagnóstico são clínicos e dependem do achado de pontos-gatilho (PG) e de bandas de tensão, sendo necessário que o profissional seja treinado para identificá-los. (Fishbain et al., 1986; Gerwin, 1995; Glogowski e Wallraff, 1951; Newham e Mills, 1999; Rosomoff et al., 1989; Schiffman et al., 1990).

Atualmente, ainda não estão claramente determinados quais são os sinais e sintomas sugestivos de SDM e que podem ser agrupados de forma a favorecer um diagnóstico correto. Aceita-se que as síndromes álgicas funcionais, que se expressam como dor muscular, devam ser classificadas como síndrome dolorosa miofascial, quando regionalizadas, e como fibromialgia, quando a dor é difusa (Simons, 1988; Yunus et al., 1988; Travell e Simons, 1992; Wolfe et al., 1992).

A dor é definida como experiência emocional desagradável relacionada a um dano tecidual real ou potencial (Merskey e Bogduk, 1994), sendo dividida nos tipos “nociceptiva” e “neuropática”. A dor nociceptiva ocorre por ativação fisiológica de receptores da dor, chamados nociceptores e está relacionada à ocorrência de lesão de

tecidos ósseos, musculares, ligamentares entre outros que são inervados (Bennett et al., 2006). Já a dor neuropática é definida como aquela iniciada por lesão ou disfunção do sistema nervoso sensitivo propriamente, sendo melhor compreendida como resultado da ativação anormal da via nociceptiva (fibras de pequeno calibre e trato espinotalâmico) (Merskey e Bogduk, 1994), ou supressão das vias inibidoras da dor. Apesar da dor na síndrome dolorosa miofascial poder iniciar-se após evento nociceptivo, como microtraumatismo, contusão, estiramento, torção ou esforço físico, geralmente ela ocorre de modo insidioso, e o evento causal ou precipitante é desconhecido. A dor é caracterizada como peso ou queimor e pode inicialmente manifestar-se no músculo e permanecer localizada ou comprometer outras áreas (Loeser e Melzack, 1999; Melzack, 1999; Yeng et al., 2003).

De maneira geral, a dor desempenha uma função biológica essencial. É a resposta do organismo a um determinado ou potencial trauma. Porém, em algumas situações, ela perde sua função biológica e passa a ser a consequência de situações clínicas refratárias ao tratamento. Por isso, a importância em se propor novas técnicas analgésicas, o que representa um grande desafio atual (Bennett et al., 2006). No caso da SDM a dor é causada por pontos-gatilho (PG), ou pontos dolorosos específicos, e o agulhamento seco ou a infiltração com anestésicos locais a alivia ou a abole. Esta manobra constitui um dos possíveis critérios diagnósticos da SDM (Weeks e Travell, 1957; Gunn, 1976; Fischer, 1987; Musse, 1994; Teixeira et al., 1998).

Os analgésicos e anti-inflamatórios são importantes aliados no controle da dor e podem ser a primeira atitude terapêutica frente à SDM. Entretanto, o uso crônico de anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's) em casos de SDM não se revelou eficaz, assim como os relaxantes musculares de ação periférica. O relaxante muscular de ação central mais utilizado é a ciclobenzaprina, sendo este fármaco mais efetivo no tratamento da SDM associada ao diagnóstico de fibromialgia. A tizanadina, outro relaxante muscular de ação central, proporciona decréscimo de dor e melhora da mobilidade e bem estar (Okifuji et al., 2000).

Aos analgésicos e miorrelaxantes podem se associar alguns fármacos psicotrópicos. Os antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, clorimipramina, nortriptilina) em baixas doses, assim como alguns inibidores específicos de recaptção de serotonina e noradrenalina (venfalaxina, mirtazapina), são agentes que, além do efeito analgésico, normalizam o padrão do sono e relaxam os músculos. Podem ser associados às

fenotiazinas (clorpromazina, levomepromazina, propericiazina), pois estas proporcionam analgesia, ansiólise, estabilização do humor e modificação na simbologia da dor (Bonica, 1974).

Os benzodiazepínicos, outros psicotrópicos utilizados, são depressores do sistema nervoso central (SNC) e miorrelaxantes, sendo que o uso prolongado proporciona mais desvantagens que benefícios (Lin et al., 1997; Teixeira, 1997; Teixeira et al., 1998). O alprazolam, em combinação com o ibuprofeno, mostrou-se eficaz no controle da fibromialgia (Russell, 1995). O cloxazolam e clonazepam são utilizados na regulação do sono em doentes com SDM ou fibromialgia. Mais recentemente, a gabapentina é utilizada no controle da SDM.

Em vários doentes, a terapia combinada é mais eficaz que a monoterapia (Yeng, et al., 2003). Nas últimas décadas, alguns anestésicos locais como a lidocaína, a bupivacaína e, mais recentemente, a levobupivacaína e a ropivacaína, têm sido introduzidos na terapia da dor aguda e crônica, através de infiltrações locais, na tentativa de contribuir com a ação dos fármacos já utilizados (Simons et al., 1999; Whiteside e Wildsmith, 2001).

Originária da pimenta vermelha do gênero *Capsicum*, a capsaicina é alcaloide estável que constitui um complexo de capsaicinóides (componentes químicos que dão às pimentas sua ardência característica). Ela corresponde à molécula ativa responsável por dessensibilizar os nociceptores (Epstein e Marcoe, 1994; Kalil-Gaspar, 2003). O efeito analgésico obtido pela aplicação tópica da capsaicina promove a depleção da substância P, um neuropeptídeo presente em fibras nervosas sensitivas tipo C. Assim, a capsaicina inibe a transmissão dos impulsos dolorosos até o SNC. Este produto natural tem sido empregado no alívio da dor associada com a neuropatia diabética, osteoartrite, fibromialgia, psoríase, neuroalgia pós-herpética e prurido (incluindo o prurido após hemodiálise e o prurido anal). A capsaicina é utilizada como analgésico tópico em concentrações variando normalmente de 0,025% a 0,075%, veiculada na forma de cremes, géis e pomadas. Para o tratamento da alopecia, a capsaicina é usada nas concentrações de 0,001% a 0,003% em formulações de loções capilares e xampus. Cremes com capsaicina a 0,006% têm se demonstrado eficazes para aplicação perianal no tratamento do prurido anal idiopático intratável (Lysy et al., 2003). A capsaicina apresenta valores terapêuticos em neuralgia pós-herpética (Watson et al., 1993), neuropatia diabética, síndrome de dor pós-mastectomia (Watson e Evans, 1992). O grau

de alívio geralmente é modesto, embora alguns pacientes tenham reportado bons resultados (Hersh et al., 1994).

A capsaicina pode estar indicada na dor neuropática (DN) (Beltramo, 2009). Mostra-se eficaz em neuralgia pós-herpética, lesão de nervo periférico, neuropatia mista e neuropatia diabética com número necessário para tratar (NNT) de 6,7 (Finnerup et al., 2005). Usada também em alta concentração para neuralgia pós-herpética, como também o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (Finnerup et al., 2010). Atualmente a capsaicina tópica, nas concentrações de 0,025% a 0,075%, é considerada tratamento de terceira linha da neuropatia periférica. Entretanto, a capsaicina na forma de adesivo, e em concentração bem maior que aquelas encontradas na forma de pomada, tem sido considerada mais eficaz. A capsaicina na concentração de 8% foi usada em vários estudos neuralgia pós-herpética (NPH) e neuropatia dolorosa relacionada à infecção por HIV (European Medicines Agency, 2011). Em dois estudos em NPH a aplicação única do adesivo de alta concentração de capsaicina, com intervalos de oito semanas, foi mais eficaz em reduzir a dor a partir da segunda semana que os adesivos com baixa concentração. Efeito semelhante também foi observado para doze semanas em análises posteriores (Backonja et al., 2008; Qutenza, 2011). Entretanto, em outro estudo conduzido em neuropatia de HIV, os efeitos dos adesivos de alta concentração não diferiram dos adesivos de baixa concentração (European Medicines Agency, 2011).

Uma apresentação farmacêutica contendo alta concentração de capsaicina a 8% (Qutenza[®]) é aprovada para comercialização na União Europeia e nos Estados Unidos. Uma única aplicação com duração de 60 minutos em pacientes com dor neuropática produziu alívio efetivo da dor por até 12 semanas (Anand e Bley, 2011). A aplicação do adesivo de capsaicina em alta concentração tem se mostrado segura e bem tolerada, e os eventos adversos são limitados ao aumento transitório da intensidade da dor e reações locais como eritema (European Medicines Agency, 2010; Qutenza, 2011).

Como uma única aplicação desta formulação de capsaicina pode reduzir a intensidade da dor que persiste por dois a três meses, o adesivo de capsaicina em alta concentração tem potencial de se tornar um novo acréscimo aos tratamentos farmacológicos existentes para a dor neuropática, que são classicamente administrados uma ou mais vezes ao dia. Os benefícios em longo prazo deste tratamento, entretanto, não são conhecidos e a segurança de aplicações repetidas da capsaicina em alta concentração deve ser cuidadosamente avaliada, pois estudos de biópsia de pele

mostraram denervação epidérmica transitória de pele (Polydefkis et al., 2004) que é simultânea a uma perda funcional sensorial, particularmente da sensação da dor desencadeada pelo calor (Magerl et al., 2001). Ainda não estão disponíveis apresentações de capsaicina em alta concentração no Brasil.

Na terapêutica, via oral, a pimenta (*Capsicum* sp) é estimulante do apetite e auxiliar da digestão, e o extrato dos frutos tem ação protetora gástrica. A pungência ou picância deve-se aos alcaloides, ou mais especificamente, a dois capsaicinoides: a diidrocapsaicina e a capsaicina, para qual foi descrita a atividade anticoagulante *in vitro* (Reifschneider, 2000). Os frutos são fontes importantes de três antioxidantes naturais: a vitamina C, os carotenoides (capsantina, alfa caroteno, violaxantina) e a vitamina E, prevenindo doenças degenerativas como o câncer, as doenças cardiovasculares, a catarata, o mal-de-Parkinson e o mal-de-Alzheimer, por sequestrarem radicais livres (Reifschneider, 2000; Lorenzi e Matos, 2002). Também possuem flavonoides (apiina e luteolina glicosilada) e vitaminas A, B1, B2.

Com o intuito de melhorar o tratamento da SDM e trazer benefícios à saúde do paciente, a proposta desse estudo visou desenvolver e avaliar a possível ação analgésica de uma forma farmacêutica semi-sólida (creme), com a adição de alta concentração de capsaicina.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Dor

A dor pode ser definida como uma experiência subjetiva que pode estar associada a dano real ou potencial dos tecidos, ou descrita pelo paciente em termos desses danos. Independente da aceitação dessa definição, a dor é considerada como uma experiência genuinamente subjetiva e pessoal. A percepção de dor é caracterizada como uma experiência multidimensional, diversificando-se na qualidade e na intensidade sensorial, sendo afetada por variáveis afetivo-motivacionais (Sousa, 2002). A dor é compreendida como um fenômeno multifatorial, a lesão tecidual, os aspectos emocionais, sócio-culturais e ambientais são fatores que compõem o fenômeno (Von Korff et al., 1988; Jacob et al., 1996; Pimenta e Teixeira, 1997). Dor é uma experiência cotidiana nas instituições de saúde, de trabalho e no domicílio. Em muitos casos, mais do que um sintoma, a dor é a doença em si, e seu controle é o objetivo do tratamento (Rigotti e Ferreira, 2005).

Dor é um sintoma frequente na prática clínica e acomete o ser humano de forma aguda e crônica. A dor aguda tem um papel fisiológico importante, apresentando-se como um sinal de alerta diante de possíveis ameaças. Já a dor crônica não tem um papel biológico definido e pode ser considerada como a que persiste além do tempo razoável após resolução da causa que a originou. Essa última forma de dor, em geral, é tida como patológica, estando associada à incapacidade e ao estresse físico, econômico e emocional. É uma queixa comum em pacientes portadores de diferentes doenças e seu tratamento é um desafio para os profissionais de saúde, que buscam incessantemente novas estratégias terapêuticas (Kraychete e Rocha, 2005).

A dor aguda inicia-se com uma lesão e substâncias alogênicas são sintetizadas no local, ou são liberadas, estimulando terminações nervosas (nociceptores) de fibras mielinizadas finas ou amielínicas. O impulso é carreado através dessas fibras nociceptivas para o corno posterior da medula ou para os núcleos sensitivos, no caso de nervos cranianos. Nesses locais, pode ocorrer modulação (amplificação ou supressão) do sinal, antes de ser projetado para as áreas específicas do tronco cerebral, tálamo,

hipotálamo e córtex cerebral, onde é interpretado. Ao longo dessas vias de condução da dor geram-se reflexos que envolvem alterações neuroendócrinas (Drummond, 2000). Dor, na situação crônica, é aquela que persiste após um tempo razoável para a cura de uma lesão, ou que está associada a processos patológicos crônicos. Apresenta-se com mais de três meses de duração e se manifesta de modo contínuo ou recorrente (Merskey e Bogduk, 1994).

Dor, na forma aguda ou crônica, é a principal razão de procura pelo sistema único de saúde e está entre as principais causas de absenteísmo ao trabalho. Dor crônica é mais que um sintoma. Sua presença constante e duração prolongada são muito perturbadoras. Acarreta alterações nas atividades físicas, no sono, na vida sexual, modificação do humor, baixa autoestima, pensamentos negativos, apreciação desesperançada da vida, altera relações familiares, de trabalho e de lazer (Pimenta, 1999).

A intensidade dolorosa é componente de grande expressão da experiência dolorosa e é a característica da dor mais frequentemente aferida na prática clínica e em pesquisa; é indispensável para o planejamento da terapia antálgica e verificação da adequação do esquema proposto. Vários métodos são utilizados para mensurar a percepção e sensação da dor. Alguns instrumentos de avaliação da dor são ditos unidimensionais, pois consideram a sua intensidade como sendo uma experiência simples. Um desses instrumentos é a escala visual analógica (EVA), que consiste de uma linha reta, não numerada, onde uma extremidade corresponde à “ausência de dor”, e a outra a “pior dor imaginável” (Righotti e Ferreira, 2005).

Outra forma unidimensional de avaliar a dor são as escalas numéricas e de descritores verbais. As escalas numéricas são comumente graduadas de 0 a 10, onde zero significa ausência de dor e 10 significa a pior dor imaginável. Apesar de simples, essa escala é muito utilizada para o reajuste terapêutico (Pimenta, 1997).

2.1.1 Síndrome de dor miofascial

Em 1992, Travell sugeriu a terminologia dor miofascial e síndrome dolorosa miofascial (SDM) para designar afecções de miofilamentos de contração de fibras vermelhas e brancas do músculo esquelético (Simons, 1976). A dor miofascial é caracterizada pela existência de músculos que estão em um estado reduzido, ou

contraídos, com aumento do tônus e rigidez, e que contêm PG, pontos dolorosos (Simons et al., 1999; Wheeler e Aaron, 2001). A dor miofascial é definida como dor que se origina a partir de PG miofasciais no músculo esquelético. Presente predominantemente nas síndromes de dor músculo-esqueléticas regionais, quer isoladamente ou em combinação com outros geradores de dor. A avaliação adequada e gestão da dor miofascial é parte importante da reabilitação músculo-esquelética (Borg-Stein e Simons, 2002).

O músculo contendo PG apresenta: fadiga, fraqueza, tensão e espasmo. Observa-se restrição do movimento do músculo afetado e, como consequência, o paciente assume posição antálgica, o que mantém a contratura muscular e, consequentemente, a dor (Kraus e Fisher, 1991). Essa restrição de movimentação perpetua os PG e leva a formação de outros. O músculo também pode estar encurtado, sendo muito doloroso o seu alongamento. Pode haver rigidez articular, edema e parestesia. Digito pressão exercida sobre o PG provoca dor intensa (Issy e Sakata, 2005).

A SDM tem uma alta prevalência entre os indivíduos com queixas de dor regional. A prevalência varia de 21% dos pacientes atendidos em uma clínica ortopédica geral, a 30% dos pacientes gerais de clínica médica com dor regional, como pode atingir 85% a 93% dos pacientes em centros especializados em tratamento da dor (Skootsky et al., 1989; Kaergaard e Andersen, 2000). Estudos realizados em centros de tratamento da dor e em clínicas de diversas especialidades indicam que ocorre SDM em 21% a 93% dos indivíduos com queixas de dor regionalizada (Fishbain et al., 1986; Gerwin, 1995; Glogowski e Wallraff, 1951; Newham e Mills, 1999; Rosomoff et al., 1989; Schiffman et al., 1990).

Os PG redefinidos como pontos dolorosos profundos circunscritos com resposta contrátil localizada ao serem pressionados ou agulhados e que, quando estimulados, ocasionam dor referida (Simons, 1976). PGs são nódulos firmes de tamanho 3-6 mm, que são encontrados no exame palpatório. (Simons et al., 1999). Os PG ativos são normalmente identificados nos músculos posturais da região cervical, cintura escapular e pélvica, escaleno, esternocleidomastoideo, elevador da escápula, quadrado lombar e musculatura mastigatória (Friction et al., 1985; Headley, 1900; Simons, 1996; Skootsky et al., 1989; Travell et al., 1942).

Segundo Yeng et al., 2003, as características da SDM são:

- dor difusa em um músculo ou grupo de músculos;

- dor regional em peso, queimor ou latejamento, surtos de dor, referência de dor a distância e, às vezes, queixas de parestesias (sem padrão neuropático);
- banda muscular tensa palpável contendo PG;
- ausência de padrão de dor radicular ou neuropática;
- reprodução das queixas ou alterações das sensações durante a compressão do ponto miálgico;
- alívio da dor após o estiramento do músculo ou após a infiltração do ponto sensível;
- possível limitação da amplitude de movimento;
- encurtamento muscular ao estiramento passivo;
- possível redução da força muscular.

2.1.2 Diagnóstico

Os critérios de diagnóstico são clínicos e dependem do achado de PG e de bandas de tensão, sendo necessário que o profissional seja treinado para identificá-lo. O diagnóstico da SDM depende exclusivamente do histórico e exame físico do paciente e na identificação dos PG, ou ponto doloroso, numa banda de tensão e na reprodução da dor, sendo esses os critérios mínimos para o diagnóstico.

Os PG podem ser palpados e geralmente estão associados à presença de banda tensa ou “nódulo muscular”. Os PG são decorrentes de sobrecargas dinâmicas (traumatismos, excesso de uso) ou estáticas (sobrecargas posturais), ocorridas durante as atividades ocupacionais e da vida diária. Em alguns casos, a tensão e o encurtamento muscular geram inflamação no local da inserção dos feixes musculares, tendões ou ligamentos nas articulações ou estruturas ósseas, ocasionando entesites ou entesopatias (Simons, 1988; Travell e Simon, 1992; Yeng et al., 2003).

A SDM não diagnosticada e tratada torna-se crônica. A não identificação da SDM é responsável por numerosos diagnósticos errôneos e insucessos terapêuticos de sintomas dolorosos crônicos, perda da produtividade e aumento de compensações. Muitos doentes com SDM são rotulados como neuróticos ou portadores de anormalidades psicossomáticas (Bonica, 1953; Fishbain et al., 1986).

Gerwin, 2013, descreveu passo a passo o processo de identificação dos PG. Esse protocolo de identificação dos PG é usado na clínica de dor e medicina de reabilitação do referido autor, em Bethesda, Maryland, como segue abaixo.

1. Obtenha a história do paciente e utilize um desenho para identificar os locais dolorosos:
 - A) a história identifica as áreas afetadas pela dor e sugere possíveis fatores que provocam a dor;
 - B) o desenho mostra a dor que o paciente sente.
2. Realizar exame:
 - A) selecione um músculo cujos PG podem referir dor para uma área afetada;
 - B) coloque a mão suavemente sobre o paciente em um local não doloroso à distância do ponto de disparo. Esse primeiro contato é ameaçador, o movimentos do paciente são agora controlados pelo médico;
 - C) palpar o músculo para as bandas tensas;
 - D) mova os dedos ao longo da faixa esticada para encontrar o ponto-gatilho mais difícil e mais sensível na banda esticada.
3. Comprima o ponto de disparo manualmente:
 - A) pergunte ao paciente se o local é doloroso, em caso afirmativo;
 - B) pergunte ao paciente se a dor se assemelha a sua dor de costume.
4. Comprima o ponto de disparo de 5 a 10 segundos e, em seguida, pergunte se há dor ou alguma sensação a distância do ponto-gatilho (dor referida).

2.1.3 Tratamento da síndrome de dor miofascial

O tratamento da SDM consiste no agulhamento dos PG e na interrupção do ciclo vicioso dor espasmo dor (Lin et al., 1998; Teixeira, 1997; Teixeira et al., 1998; Travell e Simon, 1992). Baseia-se na eliminação das causas e no controle da dor através dos medicamentos, como também através do agulhamento dos PG, reabilitação muscular e na remoção dos fatores perpetuantes ou agravantes (anormalidades psicológicas e posturais, afecções associadas) (Newham et al., 1994; Rothman e Simeone, 1975). Exercícios, alongamentos, acupuntura, medidas fisioterápicas e estimulação elétrica transcutânea, técnicas de relaxamento e de suporte psicológicos são necessários nestes

casos (Lewit, 1979). A inativação dos PG deve ser realizada com cuidado, pois vasos, vísceras digestivas ou não, estruturas nervosas e respiratórias podem ser traumatizadas durante o agulhamento ou a infiltração (Rubin, 1981; Simons, 1990).

Tratamentos comumente usados para a SDM incluem as terapias térmicas, gelo para as primeiras 24-48 horas da dor e depois calor, compressão para controlar o edema associado. Em alguns pacientes um espartilho ou cinta pode fornecer suporte em toda articulação afetada (Wheeler e Aaron, 2001; Noonan e Garret, 1999). A crioterapia, aplicando-se gelo desde a origem até a inserção, ao longo de um músculo dolorido, provavelmente aumenta os mecanismos inibitórios no segmento vertebral, como também, inibe a transmissão da dor, espasmo muscular e inflamação (Downer, 1970; Waylonis, 1967).

Os relaxantes musculares empregados com frequência na SDM são: ciclobenzaprina, baclofeno, carisoprodol, tizanidina e orfenadrina. Os antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, imipramina, nortriptilina) são usados para síndrome miofascial crônica. Os inibidores seletivos da receptação de serotonina podem ser indicados para o alívio da dor quando não se podem utilizar os tricíclicos. As doses dos antidepressivos são: amitriptilina (12,5-50 mg/dia), nortriptilina (25-50 mg/dose), fluoxetina (20 mg/dose) e sertralina (50 mg/dose). Os opioides são utilizados para SDM quando não houve melhora da dor com anti-inflamatórios e outras medidas. Os mais usados são: codeína (30-60 mg/4-6 horas) e tramadol (50-100 mg/4-6 horas). A injeção de PG é realizada com anestésico local (bupivacaína a 0,25%, lidocaína a 1%) ou opióide (morfina, fentanil) em pequenos volumes (0,5-1 mL), (Issy e Sakata, 2005).

Os anti-inflamatórios não estereoidais (AINEs) têm sido defendidos para o alívio da dor e para atenuar a inflamação (Noonan e Garret, 1999). Ensaios clínicos bem realizados demonstraram AINEs, como sendo úteis como um tratamento para a dor; entretanto, o uso em longo prazo de AINEs deve ser desencorajado por causa da frequente ocorrência de efeitos adversos renais e gastrointestinais (Wheeler e Hanley, 1995; Deyo, 1997). Além disso, os efeitos destes medicamentos no tratamento da dor musculoesquelética crônica permanecem obscuros, e nenhum estudo demonstrou superioridade sobre o ácido acetilsalicílico (aspirina) (Deyo, 1997).

Os opioides são medicações comumente utilizadas na prática clínica para o tratamento da dor em pacientes portadores de doenças agudas e crônicas (Rocha et al., 2005). Baixas doses de opioides podem ser úteis ao tratamento da dor miofascial, mas o

uso em longo prazo pode levar a comportamentos aberrantes, tais como o abuso de drogas e dependência química (Argoff e Wheeler, 1998).

Os antidepressivos tricíclicos (ACTs) são medicamentos já consagrados no tratamento da dor crônica. O seu papel na modulação da dor está documentado no que diz respeito à sua ação sobre a recaptação da serotonina e da noradrenalina, substâncias que estão envolvidas na inibição da transmissão do estímulo algico (Rocha et al., 2005). As benzodiazepinas podem ser adequadas para pacientes com estados de ansiedade simultâneas e em tais pacientes clonazepam deve ser considerado. Clonazepam é um benzodiazepínico que opera através de ácido γ -aminobutírico (GABA) mediada por mecanismos através dos neurônios internuncial da medula espinhal para proporcionar relaxamento muscular (Harkens et al., 1991).

Algumas injeções terapêuticas nos PG são comuns de serem realizadas e incluem anestésicos locais (LAS), corticosteroides e soro fisiológico; menos comumente, os agentes neurolíticos ou agulhamento seco são executados (Wheeler, 2004). Corticosteroides injetáveis nos PG têm sido defendidos por muitos para o tratamento da dor miofascial, exceto quando há infecção na pele ou a mesma apresente colapso presente no local de destino, ou em doentes com diabetes mellitus mal controlado (Noerdlinger e Fadale, 2001). As reações adversas comuns das injeções de corticosteroides incluem tonturas, nervosismo, rubor facial, insônia e transitório aumento do apetite. Cuidados são recomendados principalmente nos pacientes que apresentam a doença úlcera péptica ativa, colite ulcerativa, infecção ativa, hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva, doença renal ou doença psiquiátrica (Dreyer, 2000).



Fonte: Issy e Sakata, 2005

Figura 1 - Infiltração de PG.

Após localização de todos os pontos, conforme a figura 1 introduz-se a agulha perpendicularmente até atingir o ponto doloroso onde é injetada a medicação. É importante que seja realizada injeção de todos os pontos-gatilhos para alívio adequado da dor (Issy e Sakata, 2005).

2.1.4 Analgésicos tópicos

São formulações tópicas que quando aplicadas nas proximidades da área afetada, exercem ação analgésica associada ao aumento da concentração do medicamento no tecido alvo e à reduzida concentração sérica (Flores et al., 2012).

Os AINEs são os medicamentos de uso tópicos mais utilizados na prática clínica. O mecanismo de ação consiste na inibição da enzima ciclo-oxigenase tipo um e tipo dois com consequente redução da síntese de prostaglandinas e da sensibilização de terminações nervosas nos tecidos periféricos, sítio comum de dor e inflamação. Os anestésicos tópicos como o creme EMLA[®] (lidocaína 4%) podem ser utilizados para anestesia da pele para punções venosas, para punção lombar, para injeção intramuscular e para circuncisão. Alguns trabalhos têm explorado a utilização de creme de EMLA na neuralgia pós-herpética, mas poucos têm demonstrado eficácia (McCleane, 2007). Trabalhos que envolvem a utilização de adesivos, tipo “patch”, de lidocaína a 5% têm produzido resultados mais consistentes no tratamento da dor neuropática (Lai et al., 2004).

Os antidepressivos tricíclicos estão bem-estabelecidos como medicações analgésicas. O uso tópico de formulação contendo amitriptilina a 4% e cetamina a 2% foi eficaz em reduzir a dor neuropática após três semanas de tratamento (Dogrul e Uzbay, 2004). A formulação de amitriptilina a 5%, no entanto não se mostrou eficaz, demonstrando a importância da associação de diferentes fármacos com mecanismos de ação distintos para um melhor controle da dor (Byas-Smith et al., 1995). A doxepina, um antidepressivo tricíclico com mecanismo de ação semelhante ao da amitriptilina, quando administrado topicamente a 5%, foi eficaz em reduzir a dor após duas semanas de uso em pacientes com dor neuropática, em pacientes com mucosite bucal relacionada ao câncer e em paciente com síndrome dolorosa complexa regional tipo I (Byas-Smith et al., 1995; Lockhart, 2004).

A capsaicina tópica a 0,075% apresenta mecanismo de ação que consiste na ligação a nociceptores cutâneos observando-se inicialmente um estado de excitação neuronal e aumento da sensibilidade local. Nesta fase identificam-se sensações de queimação, picada e prurido, associados à vasodilatação cutânea. Estas manifestações são atribuídas à estimulação de fibras aferentes do tipo C e a liberação de substância P. Em seguida, ocorre um período refratário, com redução da sensibilidade, que se torna persistente após aplicações repetidas, em função da depleção de substância P e da degeneração de fibras nervosas periféricas (Barbano et al., 2004). Não se conhece os possíveis efeitos do seu uso prolongado (Attal et al., 1999).

2.1.5 Capsaicina

Uma das principais características culturais das tribos indígenas que habitavam as terras brasileiras na época do descobrimento era o cultivo de pimentas. Após o descobrimento, as sementes e frutos de pimentas passaram a ser cada vez mais cultivados, disseminados entre vários povos e utilizadas de diversas formas (Reifschneider, 2000). As pimentas do gênero *Capsicum* são as principais especiarias originárias do continente americano (Maistre, 1964) sendo cultivadas atualmente em regiões tropicais e temperadas de todo o mundo, como especiaria ou hortaliça (Heiser, 1979). A origem do nome *Capsicum* parece estar ligada à derivação da palavra grega *kapto*, cujo significado é “picar” e *kapsakes* que significa “cápsula” (Nuez et al., 1996).

Originada da pimenta vermelha, do gênero *Capsicum* (Figura 2), a capsaicina é um alcaloide estável que constitui um complexo de capsaicinoides (componentes químicos que dão às pimentas sua ardência característica). Capsaicina (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) corresponde à molécula ativa responsável por dessensibilizar as fibras do tipo C (Epstein e Marcoe, 1994; Kalil-Gaspar, 2003).

Fonte: hans/pixabay.com



Figura 2 - Pimenta vermelha.

As pimentas, em geral, são conhecidas pelo seu alto teor de vitamina C sendo comparadas a frutos como a goiaba, superando os teores encontrados em frutas cítricas (Carvalho, 1984). As espécies do gênero *Capsicum* vêm sendo estudadas por pesquisadores do mundo inteiro e os estudos conferem à capsaicina uma atividade antihiperlipidêmica (Kuda et al., 2004), propriedades anti-inflamatórias (Surh e Lee, 2002), antioxidantes (Surh e Lee, 2002; Ganji, 2004), além de efeito quimiopreventivo (Surh e Lee, 2002; Lee et al., 2005) e efetivas no tratamento de um número de desordens de fibras nervosas, incluindo dor associada com artrite, cistite e neuropatia diabética (Nuez et al., 1996). As pimentas ainda contêm altas concentrações de vitamina A e C, consideradas nutrientes anticancerígenos (Kuda et al., 2004).

São notáveis os inúmeros efeitos biológicos da capsaicina. Ensaios com ratos alimentados com dieta hiperlipídica e, posteriormente, adicionadas pequenas quantidades de pimenta vermelha (*Capsicum annuum*) ou capsaicina, apresentam efeito hipocolesterolêmico e hipotrigliceridêmico (Kuda et al., 2004). Do mesmo modo, estudos demonstraram que a suplementação de capsaicina em dieta hiperlipídica de animais reduz o risco de desenvolvimento de aterosclerose através da redução do colesterol sanguíneo e da concentração sérica de triglicerídeos (Koul e Kapil, 1993). Os capsaicinoides parecem interferir também na contratilidade das artérias coronárias, tendo um efeito direto de relaxamento nos músculos lisos (Saito, 1999). O uso de adesivos contendo capsaicina pode melhorar o limiar isquêmico em pacientes com

doença coronária isquêmica, provavelmente através de vasodilatação arterial (Fragasso, 2004).

Sugere-se que a capsaicina possui propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas através da inibição de enzimas que poderiam iniciar a mutação de células ou através da inibição de metabólitos carcinogênicos, como, por exemplo, o NNK [4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone] do tabaco (Modly et al., 1986). A ação protetora desta molécula também parece ser eficaz contra efeitos maléficos de carcinógenos presentes no tabaco (nitrosamina) e no cigarro (benzopireno) (Suhr e Lee, 2002). O uso do tópico de capsaicina em pacientes com artrite reumatoide e osteoartrite, com doloroso envolvimento das mãos, também foi testado (Negulesco, 1999). O tratamento foi aplicado quatro vezes ao dia, por quatro semanas. Neste estudo, houve diminuição da dor associada à osteoartrite, sugerindo que a capsaicina é potencialmente útil para o tratamento destes tipos de enfermidades reumatológicas. No estudo de Watson (1992), doze pacientes com síndrome pós-mastectomia foram submetidas a tratamento com capsaicina tópica e apresentaram melhora após quatro semanas. Oito pacientes (57%) tiveram a resposta ao tratamento classificada como boa ou excelente. Em estudo posterior destes autores, treze pacientes que fizeram uso de capsaicina foram categorizadas como tendo boa a excelente resposta, com oito (62%) tendo 50% de melhora da dor.

A capsaicina apresenta características muito promissoras no que diz respeito à analgesia. Mesmo utilizada há séculos como remédio para dor, existem cada vez mais estudos com a finalidade de verificar a sua ação analgésica em diferentes enfermidades. Enquanto cresce o número de pesquisas, a capsaicina deixa de ser uma promessa, para se tornar uma realidade no tratamento da dor (Fusco e Giacobazzo, 1997). Há muito tempo são realizados estudos sobre a capsaicina que mostram que este capsaicinoide inativa neurônios dos gânglios da raiz dorsal da medula espinhal e das terminações nervosas, encarregados de transmitir a dor. Essas características estimularam o uso desta substância como ferramenta de estudo dos mecanismos da transmissão da dor e como analgésico para o tratamento de doenças como artrite reumatoide (Deal, 1991; Bernstein, 1987).

Os efeitos adversos da capsaicina, cuja intensidade depende da concentração da formulação, decorrem principalmente de sua aplicação local e são representados por queimação, ardência e eritema locais. Estas reações podem comprometer a adesão ao

tratamento. Estima-se que para cada 10 pacientes, um tende a abandonar a terapêutica devido à presença de sintomas locais. Ademais, por causa destes efeitos irritantes, torna-se difícil realizar ensaios clínicos duplo-cego com esta medicação. Apesar de efeitos sistêmicos serem raros (Barbano et al., 2004). Estudos têm demonstrado que alguns pacientes desenvolvem hiper-reatividade do trato respiratório por inalação de partículas da capsaicina (Flores et al., 2004).

A eficácia e a tolerância do uso de adesivo contendo 0,025% de *Capsicum* em lombalgia não específica foram investigadas em um estudo com 320 pacientes, sendo que metade deles recebeu o adesivo e metade recebeu placebo. A superioridade do tratamento deste tipo de dor com o adesivo de *Capsicum* comparado ao placebo foi clinicamente relevante para dor nas costas (Bernstein, 1987). Um estudo multicêntrico foi conduzido para esclarecer a eficácia do uso tópico de capsaicina no alívio da dor associada com neuropatia diabética em 252 pacientes. O creme contendo tal substância foi aplicado nas áreas dolorosas quatro vezes ao dia durante oito semanas. A análise final mostrou que 69,5% dos pacientes melhoraram a dor e 38,1% tiveram a intensidade da dor reduzida. Este estudo sugere que o uso tópico de capsaicina é seguro e efetivo no tratamento de neuropatia diabética (Tewksbury e Nabhan, 2001).

Diante da indicação e utilização da capsaicina quanto aos seus efeitos analgésicos, bem como, nas neuralgias e neuropatias dolorosas (European Medicines Agency, 2011), a capsaicina tópica em altas concentrações pode ser uma excelente alternativa terapêutica para a SDM.

Fonte: www.infarmed.com.

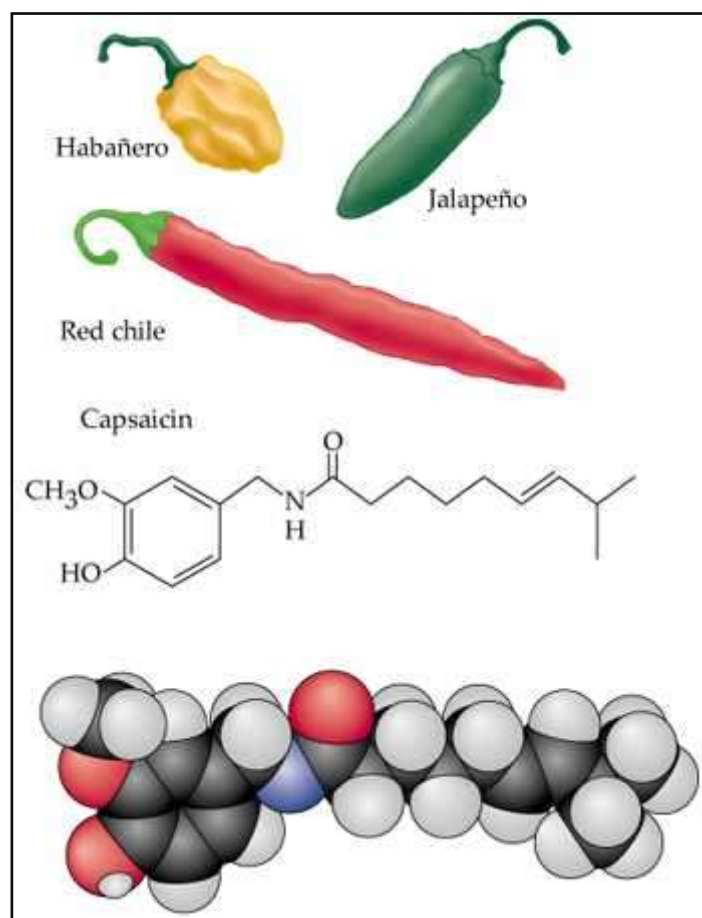


Figura 3 - Estrutura molecular da capsaicina.

A aplicação tópica da capsaicina, cuja estrutura molecular está ilustrada na figura 3, pode resultar na destruição seletiva dos neurônios sensoriais primários, especialmente em animais neonatal. A inalação de capsaicina na forma de aerossol produz tosse, constituindo a base para experimento de sensibilidade do receptor de tosse. Aplicada na intraderme ou de forma tópica, a capsaicina induz a hiperalgesia secundária e a alodinia, o que a torna útil, como uma ferramenta de pesquisa em estudos de dor. A administração sistêmica de altas concentrações de capsaicina é tóxica, causando degeneração de axônios e de seus terminais. A morte celular, pela administração sistêmica de capsaicina ocorre provavelmente secundária ao aumento do cálcio intracelular, com a ativação de proteases sensíveis ao cálcio e circulação de sódio e água para dentro da célula, levando ao inchaço osmótico e lise celular (Wachtel, 1999).

Alguns autores consideram a capsaicina como uma opção em pacientes idosos, pela possibilidade da diminuição dos efeitos secundários sistêmicos provenientes das

interações medicamentosas, onde a principal indicação do uso tópico é como coadjuvante de antidepressivos e anticonvulsivantes nos diversos quadros de dor neuropática, desde que, como terapia única, parece ser insuficiente. Apesar de alguns estudos demonstrarem uma maior efetividade da capsaicina frente ao placebo, são poucos os pacientes que referem uma resposta expressiva quando a utilizam como terapia única (Vidal et al., 2004).

O estímulo inicial decorrente da aplicação da capsaicina é seguido por um estado duradouro refratário denominado dessensibilização, com claro potencial terapêutico. Esse processo depende de uma variedade de fatores: concentração, duração da aplicação, bem como presença ou ausência de cálcio extracelular. Acontece, então, uma supressão da atividade sensorial das fibras aferentes primárias do tipo C. Ao ligar-se aos receptores TRPV1 (receptor de potencial transitório da vaniloide um) ocorre um influxo de cálcio pelo neurônio sensitivo, gerando potenciais de ação que liberam neuropeptídeos nos terminais nervosos periféricos, como a substância P (SP), como ditos anteriormente (Szallasi e Blumberg, 1999).

A aplicação tópica repetida da capsaicina leva a dois tipos de dessensibilizações: uma farmacológica, onde há um declínio progressivo do estímulo em resposta a capsaicina, e outra “funcional” com redução ou perda de outros estímulos também. Essas terminações nervosas parcial ou totalmente degeneradas podem perder contato com células que secretam o fator de crescimento nervoso (NGF), responsáveis pela regulação da expressão do TRPV1, SP e outras moléculas necessárias para a nocicepção (Heliwell et al., 1998). Na ausência do NGF, a sensibilidade das fibras sensitivas para agonistas do TRPV1 está diminuída, bem como a expressão de TRPV1 e da SP. Pode ocorrer reversão do quadro caso a aplicação da capsaicina seja descontinuada, requerendo assim repetidas aplicações para manutenção da eficácia terapêutica (Anand, 2003).

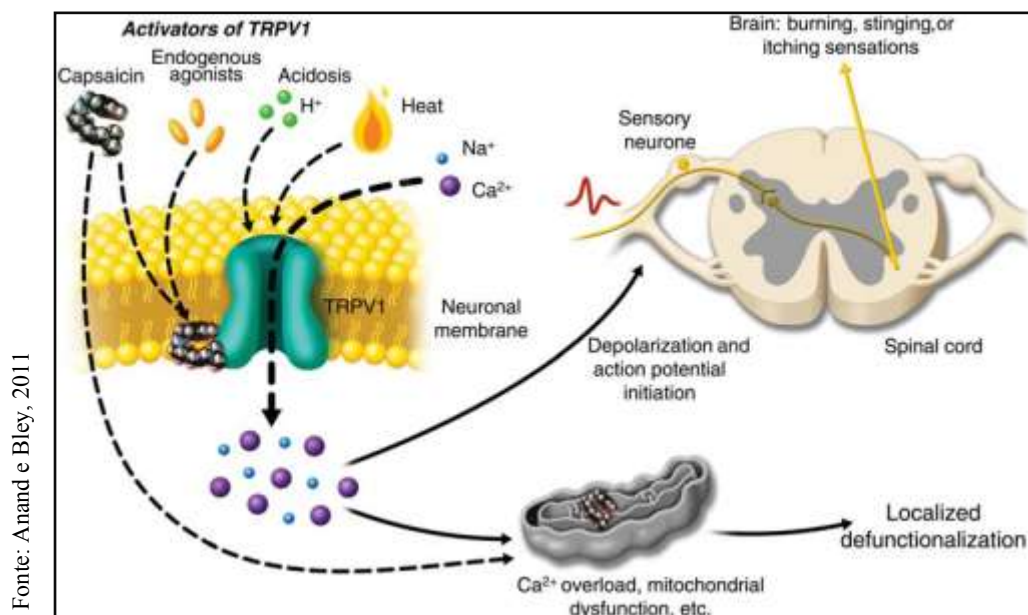


Figura 4 - A ativação de TRPV1 por capsaicina resulta em despolarização neuronal sensorial, e pode induzir sensibilização local para ativação pelo calor, acidose, e agonistas endógenos.

A exposição tópica de capsaicina, conforme mostra a figura 4, leva a sensações de calor, ardor, coceira ou prurido. Altas concentrações de capsaicina ou aplicações repetidas podem produzir um efeito local persistente em nociceptores cutâneos, o que é melhor descrito como desfuncionalização e constituído por redução da atividade espontânea e uma perda de capacidade de resposta a uma vasta gama de estímulos sensoriais (Anand e Bley, 2011).

A dose apropriada de capsaicina aplicada topicamente para um tratamento efetivo de dores neuropáticas, neuralgia pós-herpética, entre outras é 0,075% e produz perda profunda de fibras intraepidérmicas em 24 horas (Khalili et al., 2001). A ativação contínua de TRPV1 pela capsaicina resulta em uma diminuição reversível na densidade de fibras nervosas da epiderme e perda de função de nociceptores (Malmberg et al., 2004; Kennedy et al., 2010).

Um estudo clássico da utilização da capsaicina no tratamento de dores neuropáticas foi o de Epstein e Marcoe (1994) em 24 pacientes (19 mulheres e cinco homens) classificados como portadores de neuralgia trigeminal ou outros tipos de dor neuropática, de acordo com os critérios da Associação Internacional para o Estudo de Dor. Os sujeitos da pesquisa foram tratados com capsaicina tópica a 0,025%, quatro vezes ao dia, durante quatro semanas e acompanhados pelo maior tempo possível. A avaliação se deu pela escala visual de sintomatologia (EVS) e relato verbal dos sintomas. O efeito adverso mais comumente observado foi à ardência provocada pela

aplicação do medicamento, que ocorreu em 58,3% dos pacientes onde a remissão se dava entre duas e quatro semanas. Depois de repetidas aplicações, houve completa remissão dos sintomas em 31,6% dos casos e outros 31,6% apresentaram melhora parcial.

Um patch com alta concentração de capsaicina a 8% (Qutenza[®]), conforme mostra a figura 5, foi aprovado para comercialização na União Européia e nos Estados Unidos. Uma única aplicação de 60 minutos em pacientes com dor neuropática produziu alívio efetivo da dor por até 12 semanas. As vantagens do patch de alta concentração de capsaicina incluem a longa duração do efeito, a adesão do paciente e o baixo risco de efeitos sistêmicos ou interações medicamentosas. Evidência sugere que o uso do patch de capsaicina tópica pode se estender além das dolorosas neuropatias periféricas (Bhaskar et al., 2013).



Fonte: Bhaskar et al., 2013.

Figura 5 - Músculo medial com eritema após tratamento com doses altas de capsaicina.

2.2 Pele

A pele é o mais extenso órgão do corpo humano, correspondendo aproximadamente com 5% do peso corpóreo total, sendo o principal meio de comunicação com o exterior. Em um indivíduo adulto de peso e altura médios, a superfície da pele é de 2 m², seu peso é correspondente a 4,2 kg, e recebe cerca de um terço do suprimento sanguíneo. Ela constitui um limite anatômico imprescindível à

existência de vida e uma barreira de proteção contra ataques físicos, químicos e contra micro-organismos, além de outras características peculiares que variam com sua localização e função específicas (Fitzpatrick, 1997; Chien, 2001).

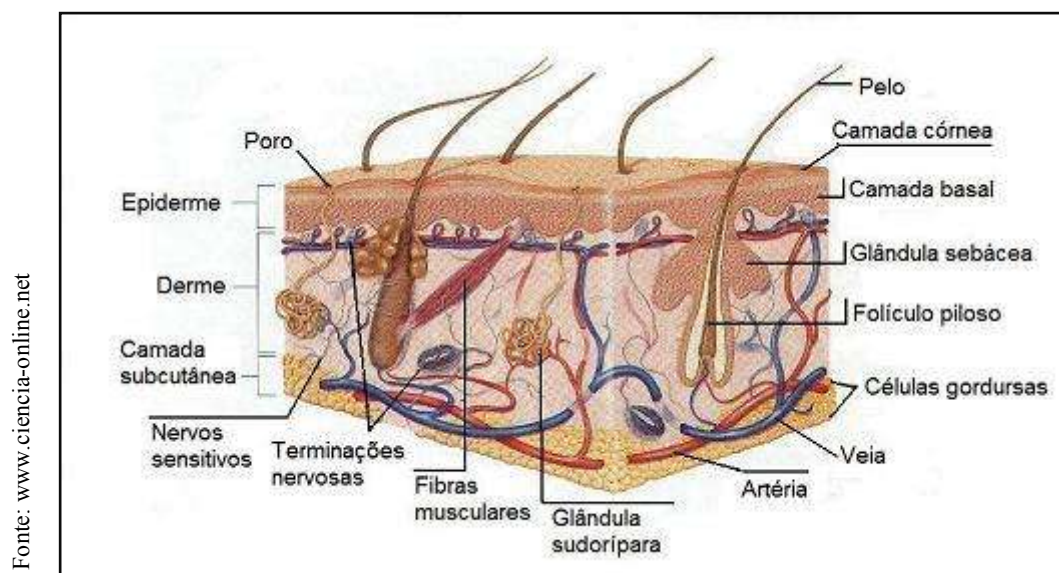


Figura 6 - Pele (epiderme, derme e hipoderme).

Microscopicamente a pele é um órgão composto de multicamadas, mas que é geralmente descrito por três camadas, que em corte perpendicular, visto de fora para dentro: epiderme, derme e hipoderme (Figura 6).

2.2.1 Bioquímica da pele

O pH da superfície cutânea é para muitos autores, um importante indicador funcional da pele e sua determinação na superfície cutânea, modernamente por metodologias cada vez menos invasivas de estudo cutâneo, tem motivado muitos pesquisadores. O pH da superfície cutânea é resultante da produção de ácido lático, o que confere à superfície da mesma o que se convencionou chamar de “manto ácido cutâneo”. Desta maneira, a pele apresenta pH levemente ácido (4,6-5,8), o que contribui para ações bactericida e fungicida em sua superfície. A proteinase, ativa no pH fisiológico da pele pode participar modulando a resposta inflamatória nas agressões celulares. As secreções cutâneas apresentam apreciável capacidade tamponante, fato importante uma vez que o pH da pele é frequentemente alterado em consequência da

utilização de produtos tópicos inadequados, deixando-a exposta a agentes agressores especialmente micro-organismos (Rieger, 2000; Leonardi et al., 2002).

2.2.2 Função barreira e a permeabilidade cutânea

Uma das mais importantes funções da pele está relacionada às suas propriedades de permeação cutânea que confere a capacidade de proteção (Forslind et al., 1997). O local da pele conhecido como “zona barreira” está representado por três distintas camadas: o estrato córneo, epiderme viável, e derme, além da rede de capilares sanguíneos, folículos pilosos, glândulas sebáceas, e sudoríparas (Chien, 2001). Estas estruturas são responsáveis pela proteção da pele, agindo como barreira contra agentes externos como descrito a seguir:

- a) barreira microbiológica: o estrato córneo é a primeira barreira para micro-organismos, e muito embora o manto ácido não seja muitas vezes suficiente para defender a pele contra as bactérias, existem ainda secreções pelas glândulas da pele de ácidos graxos de cadeia curta, os quais inibem o crescimento de fungos e bactérias (Aulton, 2005);
- b) barreira química: uma importante função da pele humana é barrar a entrada de moléculas indesejáveis de fora para dentro, enquanto controla a perda de água, eletrólitos e outros constituintes endógenos. O estrato córneo é praticamente impermeável a todas as substâncias químicas não gasosas agindo, assim, como passo limitante para a absorção percutânea (Aulton, 2005);
- c) barreira à radiação: para a pele exposta à luz do sol, a radiação ultravioleta 290-400 nm é a mais danosa, e desta exposição três principais reações agudas são percebidas: eritema, pigmentação (produção de melanina como resultado da estimulação dos melanócitos) e engrossamento da epiderme. Reações crônicas à exposição desta radiação incluem o envelhecimento e os cânceres de pele (Aulton, 2005);
- d) barreira ao calor e regulador térmico: a pele (estrato córneo), por sua extensão corpórea, é o primeiro órgão responsável pela manutenção da temperatura do corpo em 37 °C (Aulton, 2005);

- e) barreira elétrica e mecânica: a pele possui uma resistência e impedância muito maior que outros tecidos biológicos, e exerce proteção contra as agressões mecânicas, por meio de engrossamentos e calosidades (Aulton, 2005).

A denominação permeação percutânea de substâncias em um sistema transdérmico, ou em preparações dermatológicas, representa o caminho das mesmas através das camadas da pele até a corrente linfática e sanguínea, que lhes transportarão até os órgãos alvo. Em preparações dermatológicas, embora seja importante que o fármaco penetre além da superfície, normalmente não se deseja que o medicamento penetre na circulação sistêmica (Jato, 1997).

Em média, na superfície cutânea existem 40-70 folículos pilosos e 200-250 ductos sebáceos por metro quadrado de área de pele e por eles a absorção cutânea é muito intensa (Jato, 1997; Chien, 2005), entretanto, estes apêndices cutâneos representam apenas 0,1% da superfície cutânea total, e desta maneira, a absorção percutânea pela via transepidérmica se torna a principal via de permeação de absorção de fármacos (Ansel et al., 2007).

2.2.3 Interferentes da absorção percutânea

Pelo fato da pele ser composta de complexas e heterogêneas camadas laminares, onde cada lâmina contribui com uma resistência difusional específica, e por fatores inerentes ao fármaco, além de outras variáveis envolvidas no processo, o processo de absorção percutânea pode ser favorecido ou não por situações específicas.

Sendo o fluxo do soluto proporcional ao gradiente de concentração através membranas, então para um máximo de fluxo é necessário que a solução doadora seja saturada, e isto pode ser conseguido otimizando-se a solubilidade do fármaco através da melhor composição do veículo, e da escolha da solução no compartimento receptor pela experimentação com uma série de solventes apropriados (Jato, 1997; Martins e Veiga, 2002, Aulton, 2005, Allen et al., 2007)

O coeficiente de partição é fator importante para estabelecer o fluxo do fármaco através da membrana. Quando a membrana é a maior fonte de resistência difusional no processo, a magnitude do coeficiente de partição é muito importante, e isto frequentemente ocorre na permeação percutânea. A impermeabilidade do estrato córneo

é o passo limitante na absorção, sendo então o coeficiente de partição estrato córneo/veículo crucialmente importante, para o estabelecimento da alta concentração inicial do fármaco na primeira camada da membrana (Aulton, 2005, Allen et al., 2007). Embora a concentração diferencial do fármaco entre as duas fases, doadora e receptora, seja a força condutora para o processo de difusão, o gradiente químico potencial, ou gradiente de atividade, é o parâmetro fundamental. A atividade termodinâmica do fármaco na fase doadora ou a membrana pode ser radicalmente alterada por mudanças no pH, formação de complexos ou presença de tensoativos, ou cosolventes. Tais fatores também modificam o coeficiente de partição efetivo (Aulton, 2005).

Misturas cosolventes polares, tais como propilenoglicol e água, podem produzir soluções saturadas e maximizar o gradiente de concentração através do estrato córneo. No entanto, o coeficiente de partição de um fármaco entre o veículo e estrato córneo diminui com a solubilidade do fármaco na mistura solvente. Este dado é importante, quando não se deseja a promoção da penetração do fármaco, então na formulação deve-se proceder à solubilização deste no veículo até próximo da saturação (Aulton, 2005).

O efeito do uso dos tensoativos na pele é relatado como sendo responsável pela diminuição da tensão interfacial e mudanças na conformação proteica do estrato córneo. A formação de complexos afeta a permeação do fármaco de maneira semelhante à solubilização micelar. Quando o complexo se forma ocorre mudanças na aparente solubilidade e aparente coeficiente de partição do fármaco (Aulton, 2005).

O manto superficial (0,4-10 μm) dificilmente afeta a absorção percutânea. Os apêndices cutâneos podem ser uma rota importante apenas para íons e moléculas grandes e polares (massas moleculares acima de 500 Daltons), os quais têm dificuldade de atravessar o estrato córneo intacto. Pela via epidérmica, as moléculas penetram pelo estrato córneo ou através da via intercelular ou transcelular. Na queratina intracelular presente na formação em mosaico das regiões polar e não polar, os fármacos se dissolvem e se difundem de acordo com suas afinidades químicas. Os lipídios neutros da via intercelular provêm uma rota alternativa (Jato, 1997; Aulton, 2005).

O processo dinâmico de absorção percutânea sofre variações de fator biológico tais como idade, fatores fisiológicos e a localização da pele. A literatura relata que pele proveniente de feto e de tecido jovem é mais permeável, quando comparadas à pele de tecido adulto. A condição da pele é importante uma vez que muitos solventes rompem ou modificam a complexa estrutura da camada córnea intacta. Em estados patológicos,

onde há modificação na camada córnea, uma maior permeação percutânea pode ser verificada. A espessura e a natureza da camada córnea promovem variações na permeabilidade cutânea, assim como a densidade dos apêndices cutâneos. Peles de diferentes animais diferem largamente na espessura, densidade de glândulas e de folículos pilosos e ainda no suprimento sanguíneo, entre outros fatores que afetam as rotas de penetração de substâncias e a resistência à permeação. Estudos comparativos demonstraram que as peles de macacos e porcos são mais semelhantes à pele humana sendo, entretanto, mais permeáveis até mesmo que as peles de ratos sem pelos (Aulton, 2005).

As interações fármaco-pele e a hidratação da pele são fatores importantes na absorção percutânea. Quando a água satura a pele, sua permeabilidade aumenta acentuadamente. Muitos compostos podem possibilitar esta função, como ácidos graxos livres, pirrolidonas, ureia, sódio, cálcio, potássio, lactato, complexos entre proteína e açúcar ou misturas destes compostos. A interação do fármaco com a pele resulta em reservatório do fármaco na camada córnea, como acontece com os filtros solares e produtos tópicos contendo esteroides (Martins e Veiga, 2002; Aulton, 2005).

Igualmente importantes são as interações veículo-pele. O veículo pode modificar o estado e a permeabilidade da pele alterando sua hidratação. Os veículos oclusivos, como óleos e gorduras, reduzem ou previnem a perda de água, aumentando a umidade da pele e assim promovem a penetração. Variações na temperatura podem aumentar a taxa de penetração na pele humana até dez vezes, enquanto que veículos oclusivos aumentam a temperatura da pele em alguns graus, mas seu efeito sobre a permeabilidade cutânea é pequeno se comparado ao efeito da hidratação. Os promotores de absorção (meios químicos), substâncias que podem temporariamente diminuir a impermeabilidade da pele e ao mesmo tempo são seguros e não tóxicos, podem ser empregados clinicamente para aumentar a penetração de fármacos (Femenía-Font et al., 2005).

Logo após a remoção de um promotor de penetração cutâneo, segundo Femenía-Font et al. (2005), idealmente deve ocorrer rápida recuperação da propriedade de barreira da pele. Um promotor de penetração deve também ter outros atributos como: ser compatível com o fármaco e demais excipientes; ser um bom solvente para o fármaco aumentando a efetiva concentração do mesmo no veículo; possibilitar boa espalhabilidade da formulação e agradável sensação na pele; deve possibilitar sua

incorporação em todos os tipos de preparações usadas topicamente, além de não possuir cheiro, odor, cor e ser economicamente viável. Alguns exemplos de promotores com estas características são o miristato de isopropila, a lanolina, ésteres do ácido nicotínico; fosfolípidios hidrogenados de soja; óleos essenciais, etanol; n-octanol e decanol e terpenos (Nokhodchi, 2003). Dificilmente uma só substância possuirá todas estas propriedades desejadas (Martins e Veiga, 2002; Aulton, 2005).

Por segurança e eficiência o melhor promotor de penetração é a água. Todas as substâncias penetram melhor por meio da pele hidratada do que da pele seca, então qualquer substância química inativa e não tóxica que promova hidratação da camada córnea pode ser considerada como um promotor de penetração. Os mais efetivos promotores de absorção são os solventes apróticos como o dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF) e dimetilacetamida (DMA), possuindo vários dos atributos mencionados para um promotor ideal. As pirrolidonas podem ser usadas em formulações que contenham associação de diferentes fármacos para promover a penetração e também estabelecer um reservatório dos mesmos no estrato córneo e unhas (Jato, 1997, Martins e Veiga, 2002, Aulton, 2005, Allen et al., 2007)

As interações fármaco-veículo são também muito importantes na absorção percutânea, quando a impermeabilidade do estrato córneo não é o fator determinante, e sim é a liberação do fármaco no veículo o passo limitante para a penetração cutânea. Isto acontece quando a difusão do fármaco no veículo é excepcionalmente baixa ou quando o veículo possui a capacidade de controlar a liberação do fármaco (sistemas de liberação de fármacos com taxa controlada) (Aulton, 2005).

2.3 Formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico

Em geral, os medicamentos destinados à pele podem ser de aplicação tópica ou sistêmica. As formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico são preparações destinadas a uma ação sobre a pele e mucosas que sejam acessíveis ao meio externo. Os fármacos contidos em uma formulação tópica são incorporados aos excipientes e assim, conforme as combinações entre eles, as preparações tópicos apresentam composição e consistência diversas. Os excipientes determinam a natureza, a consistência e também o grau de penetrabilidade (Aulton, 2005).

As formas farmacêuticas dermatológicas usadas com maior frequência são pomadas, cremes, loções e soluções tópicas, embora outras formas farmacêuticas como pastas, linimentos; pós; géis; tinturas; e aerossóis sejam também usadas, mas em menor proporção (Allen et al., 2007).

Cremes são formas farmacêuticas semi-sólidas, que contêm um ou mais fármacos dissolvidos ou dispersos em uma base adequada. O termo creme foi tradicionalmente aplicado a semi-sólidos que possuem uma consistência relativamente fluida, formulada como uma emulsão água-em-óleo (por exemplo, *cold cream*) ou óleo-em-água (por exemplo, creme de acetnido de fluocinolona). Entretanto, mais recentemente, este termo tem sido utilizado em um sentido mais restrito, referindo-se a emulsões óleo-em-água ou dispersões aquosas microcristalinas de ácidos ou álcoois graxos de cadeia longa, removíveis por água, e com características estéticas e cosméticas mais aceitáveis (USP 23).

Entre as formas farmacêuticas semi-sólidas descritas na literatura, merecem destaque os cremes, em especial os do tipo O/A, por apresentarem facilidade de aplicação, espalhabilidade sobre a pele e facilidade de veiculação de fármacos. Os cremes constituem formas farmacêuticas semi-sólidas obtidas por emulsão. Sua natureza antifilica e similaridade com a epiderme humana permitem elevada eficiência na veiculação de fármacos (Aulton, 2005; Allen et al., 2007).

2.3.1 Emulsões

As emulsões farmacêuticas geralmente consistem na mistura de uma fase aquosa com vários óleos e/ou ceras. Quando as gotículas de óleo estão dispersas na fase aquosa, tem-se uma emulsão óleo-em-água (O/A). Sistemas nos quais a água encontra-se dispersa em óleo constituem emulsões água-em-óleo (A/O). Também é possível formar emulsões múltiplas. Por exemplo, pequenas gotículas de água podem ser englobadas dentro de partículas oleosas maiores, as quais, por sua vez, estão dispersas em água. Nesse caso, tem-se uma emulsão água-óleo-água (A/O/A). Também é possível formar emulsões do tipo O/A/O (Voigt e Bornschein, 1982; Aulton, 2005).

Pela emulsificação, há a possibilidade de misturas estáveis e homogêneas de dois líquidos imiscíveis ou relativamente imiscíveis entre si. Tem-se uma emulsão

quando um líquido estiver dividido (fase interna, dispersa ou descontínua) em pequeníssimos glóbulos, no seio de outro (fase externa, dispersante ou contínua).

As emulsões são classificadas de acordo com a natureza lipofílica (ou hidrofóbica) da fase dispersante em sistemas óleo em água (O/A) ou sistemas água em óleo (A/O), e ainda de acordo com a sua utilização, em de uso interno ou externo:

- a) para uso interno: as emulsões administradas por via oral são exclusivamente do tipo O/A;
- b) para uso externo: podem ser tanto O/A quanto A/O, dependendo da natureza do fármaco a ser incorporado, da via de administração, tipo de emolientes na formulação e condição da superfície cutânea (Ansel et al., 2007).

A miscibilidade ou a solubilidade em óleo e em água do fármaco que vai ser usado numa preparação emulsificada, é o fator determinante para a escolha do veículo adequado, sendo os fármacos quando incorporados na fase interna da emulsão, menos irritantes para a pele (Lachman et al., 2001).

A fase aquosa é em geral água destilada ou deionizada, já que a presença de sais de cálcio na água dura seriam elementos desestabilizadores da emulsão. Nesta fase, podem ser incorporados os elementos hidrossolúveis; fármacos, conservantes, tampões, corretivos de pH, antioxidantes, conservantes, sequestrantes, corantes, edulcorantes, aromatizantes. A fase oleosa é composta de componentes oleosos ou emolientes e é responsável por características importantes da emulsão que podem ser moduladas conforme a natureza do elemento oleoso escolhido (Lachman et al., 2001).

O agente emulsivo, além de facilitar a obtenção da fase dispersa, contribui para a estabilização termodinâmica da emulsão por provocar modificações nas propriedades reológicas da mesma (Jato, 1997). Os agentes emulsivos são substâncias que reduzem a tensão interfacial entre a água e o óleo, e assim reduzem a energia que é necessária para dispendir um líquido no outro. Os tensoativos são substâncias formadoras de filme em volta de cada gotícula da fase dispersa, de modo a originar uma barreira (mecânica) que evite a coalescência das gotículas quando contatam umas com as outras (Jato, 1997, Lachman et al., 2001). Os filmes formados, dependendo da natureza do agente emulsivo podem ser representados por uma camada monomolecular, multimolecular ou partículas sólidas finamente divididas (Jato, 1997).

Os agentes emulsivos sintéticos em relação à estrutura molecular e a natureza de seus grupos polares podem ser classificados em tensoativos anfóteros, aniônicos,

catiônicos e não iônicos. Estes agentes contêm grupos lipófilos e hidrófilos sendo que a parte lipófila, geralmente é a responsável pela atividade superficial. Os agentes emulsivos não iônicos, não apresentam tendência a se ionizar e dependendo de sua natureza podem formar emulsão O/A ou A/O (Lachman et al., 2001).

Os derivados de lanolina, frações ricas em esteróis etoxilados, são emulsionantes primários muito complexos, mas com boas propriedades endérmicas. Estes tensoativos são eficazes na faixa de pH de 3-10 (Ansel et al., 2007). A relação do volume da fase interna com o da fase externa, e a natureza iônica são características importantes e primordiais na escolha do tensoativo na elaboração da emulsão desejada (Jato, 1997; Sanctis, 2000).

Além das substâncias mencionadas, outros componentes são utilizados como reguladores da viscosidade entre estes estão os polímeros hidrófilos e hidrocoloides derivados da celulose (quando a fase externa for aquosa) e lanolina e substâncias com características plásticas, (quando a fase externa for oleosa) (Lachman et al., 2001).

Os umectantes são substâncias utilizadas para impedir ou retardar a formação de cristais devido à evaporação ou secagem completa da fase aquosa. Exemplos de umectantes mais empregados são: a glicerina, o propilenoglicol e o sorbitol (Lachman et al., 2001).

Entre os antioxidantes e conservantes (preservantes), os mais utilizados nas preparações semi-sólidas para uso tópico são os que atuam por mecanismos preventivos impedindo a auto-oxidação na presença de metais. Entre estes, o butilhidroxitouleno (BHT) é recomendado como uma alternativa ao tocoferol numa concentração de 10 ppm para estabilizar a parafina líquida. Os ésteres do ácido gálico são muito utilizados (propil, octil e dodecil éster) para óleos fixos em concentrações acima de 0,001% e para óleos essenciais em concentrações acima de 0,1% (Aulton, 2005).

Os ésteres do ácido para-hidroxibenzóico (metil, etil, propil e butil) e seus sais largamente usados para a conservação das emulsões, nas concentrações de 0,1 - 0,2%. O metabissulfito de sódio possui efeito antioxidante e inibidor sobre a proliferação de micro-organismos, mais efetivo na faixa de pH 7-9 (Lachman et al., 2001).

2.3.2 Estabilidade das emulsões

As emulsões são termodinamicamente instáveis, possuindo um tempo de vida limitado e a instabilidade destas formulações farmacêuticas pode ser detectada em alguns casos por uma mudança na aparência física, na cor, no odor e na textura, enquanto em outros casos, podem ocorrer alterações químicas que não são evidentes e que só podem ser verificadas por análises químicas (Lachman et al., 2001).

Os dados obtidos pelo estudo da estabilidade de uma formulação levam a previsão do prazo de validade esperado para o produto e, se necessário, a um novo procedimento para a formulação (Voigt e Bornschein, 1982; Tadros, 2004).

Uma emulsão é considerada estável quando mantém os constituintes da fase oleosa dispersa na fase dispersante, ou vice-versa, mesmo, quando submetida a tensões decorrentes de temperatura, agitação e gravidade. Durante o desenvolvimento de uma formulação para abreviar os conhecimentos sobre a compatibilidade da formulação, sobre a embalagem e prazo de validade do produto pronto, se faz uso de condições exageradas de temperatura, umidade, luz e outros, para avaliar a estabilidade das formulações farmacêuticas (Tadros, 2004).

2.3.3 Reologia das emulsões

Reologia é o estudo da deformação e fluidez dos materiais sob a influência de forças externas. Tecnicamente é definida como “a resistência ao fluxo ou ao movimento” (Chien, 2005). As propriedades reológicas de produtos farmacêuticos são sempre de fundamental importância, seja na elaboração, no desenvolvimento, ou na avaliação de formas farmacêuticas (Aulton, 2005).

Na elaboração de produtos farmacêuticos semi-sólidos se faz necessário a padronização do desenvolvimento e da produção, a fim de se obter e conquistar a credibilidade dos consumidores. A aparência também é característica importante para aceitação deste tipo de produto (principalmente a consistência). Deve ser garantida a qualidade e a estabilidade destes produtos quando transportados de um local a outro e, para isto, os mesmos são submetidos a métodos de análise para detectar mudanças sofridas ao estresse mecânico e às flutuações de temperatura (Brummer e Godersky, 1999).

A viscosidade de materiais não newtonianos é determinada pelo viscosímetro rotacional que é capaz de produzir diferentes velocidades de cisalhamento, medir a tensão de cisalhamento e criar um gráfico com os resultados obtidos (Aulton, 2005).

As medidas reológicas provêm informações sobre a estabilidade física e a consistência da emulsão. É essencial realizar as medidas reológicas em função da temperatura (Tadros, 2004).

Diferentes forças agem sobre os materiais em função das condições de estocagem, processamento, ou condições de aplicação e a resultante destas forças pode modificar o comportamento reológico destes materiais. Considerando-se um fluido contido entre duas placas planas paralelas de área a , separadas por uma distância y , uma força f é aplicada na parte superior, movimentando a placa a uma velocidade v , constante em relação à placa inferior, que é mantida fixa (Figura 7).

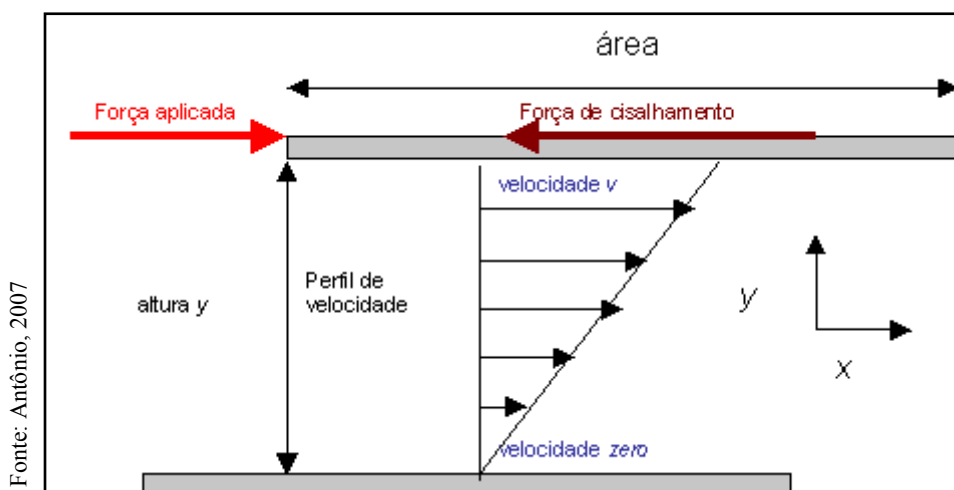


Figura 7 - Força de cisalhamento aplicada sobre um fluido.

Somente poucos materiais seguem a lei de Newton, isto é, exibem uma direta proporcionalidade entre a tensão (τ) e a taxa de cisalhamento (γ) segundo mostra a equação Newton, mostrada abaixo, onde (η) é definida como viscosidade absoluta, dinâmica (constante). Esta equação também pode ser empregada para líquidos de baixo peso molecular (água, glicerina, clorofórmio); soluções verdadeiras (xaropes); e sistemas coloidais poliméricos muito diluídos.

$$\tau = \eta \cdot \gamma$$

As dimensões de viscosidade (η) são mensuradas como: Pascal/(1/segundo) = Pascal. s (Pa.s), onde:

$$1 \text{ Pascal (Pa)} = 10 \text{ dyn./cm}^2, 1 \text{ Pa.s} = 10 \text{ poise}, 100 \text{ cP} = 1 \text{ poise}$$

$$1 \text{ cP} = 1 \text{ m Pa.s sendo } 1 \text{ cP} = 1 \text{ centi-poise}, 1000 \text{ m Pa.s} = 1 \text{ Pa.s}$$

Na representação gráfica a curva de fluxo, ou reograma em coordenadas cartesianas dos fluídos newtonianos, mostra uma relação linear, sendo a sua inclinação igual à viscosidade única do fluído. Outra forma de analisar o comportamento do fluído é verificando a relação entre a viscosidade e a taxa de cisalhamento (curva da viscosidade). Para o fluído newtoniano, esta relação é uma reta paralela aos eixos das taxas de cisalhamentos (viscosidade constante) (Laba, 1993; Tadros, 2004).

Todo fluído, cuja relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento não é constante, é denominado de não newtoniano, considerando ainda a temperatura e a pressão constantes e o escoamento laminar. Estes fluídos são classificados de acordo com o aspecto da curva de fluxo e a correlação com algum modelo ou equação matemática. A viscosidade destes fluídos não é única, e varia com a magnitude da taxa de cisalhamento, (equação abaixo), e é denominada viscosidade aparente (η_a). Esta viscosidade só é válida para uma determinada taxa de cisalhamento, portanto sempre que citada, deve vir acompanhada da taxa de cisalhamento correspondente.

$$\eta_a = \tau / \dot{\gamma}$$

A maioria das preparações farmacêuticas possui comportamento não newtoniano (Aulton, 1988; Laba, 1993; Brummer e Godersky, 1998,).

Grande número de fluídos não newtonianos se comporta como pseudoplástico, sendo as emulsões, dispersões e suspensões, exemplos deste comportamento. Nos fluídos com comportamento pseudoplástico há um decréscimo da viscosidade em decorrência do aumento da taxa de cisalhamento, comportamento também referido como “*shear thinning*”, ou afinamento. Isso significa que a resistência do material ao fluxo decresce, e a energia requerida para manter este fluxo diminui, quando as taxas de cisalhamento aumentam (Aulton, 1988, Brummer; Godersky, 1999; Laba, 1993).

Existem materiais que apresentam uma dependência da tensão de cisalhamento com o tempo, para uma taxa de cisalhamento constante. A mecânica dos fluídos classifica estes fluídos em reopéticos e tixotrópicos. São reopéticos quando a tensão

cisalhante ou a viscosidade aumenta com o tempo, mantendo-se a mesma taxa de deformação. São tixotrópicos os fluídos que apresentam diminuição da taxa cisalhante ou da viscosidade, com o tempo de aplicação de certa taxa de cisalhamento. Ambos os fenômenos são reversíveis, sendo a reopexia um fenômeno raro de acontecer (Laba, 1993; Aulton, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a possível ação analgésica de uma forma farmacêutica analgésica semi-sólida (creme) de capsaicina em pacientes com síndrome de dor miofascial.

3.2 Objetivos específicos

- **subprojeto 1:** determinar os parâmetros de qualidade microbiológicos, físicos e químicos e microbiológicos do creme de capsaicina;
- **subprojeto 2:** estudar a possível ação analgésica e ocorrência de efeitos adversos relacionados ao emprego tópico da capsaicina aplicada em pacientes portadores de SDM;
- **subprojeto 3:** avaliar a concentração da capsaicina no plasma sanguíneo dos pacientes com SDM submetidos ao tratamento, assim como nas formulações, após 10 meses de sua produção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Drogas e reagentes

- Acetonitrila grau HPLC (Baker México);
- Acetato de etila grau HPLC (Mallinckrodt – U.S.A.);
- Água purificada (obtida por osmose reversa)
- Ágar Baird Parker (Merck, Brasil);
- Ágar Cetrimida (Synth, Brasil);
- Ágar triptase (Synth, Brasil);
- Ágar eosina azul de metileno (Difco, Brasil);
- Ágar Levine (Prolab, Brasil);
- Água purificada (obtida por osmose reversa equipamento LXE Gehaka Brasil);
- Água destilada (obtida por destilador equipamento, Splabor, Brasil);
- Álcool cetoestearílico (Synth, Brasil);
- Álcool de cereais (Synth, Brasil);
- Álcool etílico 70% (Dinâmica, Brasil);
- *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404), Supriveter Ind e Com.;
- BHT (Sigma, U.S.A);
- Caldo Caseína-Soja (Synth, Brasil);
- Caldo Lauril Sulfato (Synth, Brasil);
- Caldo Verde Brilhante (Synth, Brasil);
- Caldo *E. Coli* (Synth, Brasil);
- Caldo Vermelho de Metila (VM) – Voges Proskauer (VP) (Merck, Brasil);
- Caldo CASO (Merck, Brasil);
- *Candida albicans* (ATCC 10231)
- Capsaicina pó (Henan Biotech- China) para o desenvolvimento da Fc2;
- Capsaicina pó – padrão para HPLC (Sigma Aldrich – U.S.A);

- Capsaicina pó – testes físicos e químicos doação USC/ES (ACOFARMA – ES) (ANEXO F);
- Cetearato 20 (álcool cetoestearílico etoxilado Galena, Brasil);
- Cyclopentasiloxane (Daltomare, Brasil);
- Cloreto de sódio 0,9% Dinâmica, Brasil)
- Coro de cabra curtido (USC-ES);
- *Escherichia coli* (ATCC 8739)), Supriveter Ind e Com.;
- Gel para a retirada do creme de capsaicina da pele;
- Lanette 50 (Viafarma, Brasil);
- Lanolina (Galena, Brasil);
- Membrana de diálise (Visking U.S.A peso molecular de 11.000 a 12.000 Da);
- Metanol grau HPLC (Baker México);
- Metilparabeno (Sigma, U.S.A);
- Miristato de isopropila (Galena, Brasil);
- Palmitato de cetoestearila (Galena, Brasil);
- Peptona (Synth, Brasil);
- Pomada de lidocaína 4%.
- Propilparabeno (Sigma, U.S. A);
- Propilenoglicol P.A (Synth, Brasil);
- Silicone (Dow Corning, U.S.A - graxa de alto vácuo);
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), Supriveter Ind e Com.;
- Tampão 4,0 e 7,0 (Merck Chemicals, U.S.A);
- Tween 80 - polissorbato 80 (Synth, Brasil).

4.1.2 Equipamentos, vidrarias, documentos e correlatos

- Adaptadores vacutainer;
- Agitador mecânico (Fisatom, modelo 713 D);
- Agulhas 25 x 0,8;
- Autoclave vertical microprocessada (Quimis Q 190M, Brasil);
- Banho termostatzado (Digiterm modelo Quimis 3000542, Brasil);
- Cabina de segurança biológica Classe II A-1 Q216F2-RAI;

- Capela de exaustão de gases (Permutation, Brasil);
- Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (ANEXO E)
- Centrífuga refrigerada (Q222RM, Quimis, Brasil);
- Centrífuga Centrifuge 5430;
- Certificado de credenciamento pela REBLAS (ANEXO G)
- Contador eletrônico de colônias (Quimis Q295B);
- Destilador tipo pilsen (Splabor, Brasil);
- Espectrofotômetro Hewlett Packard 8452^a;
- Estufa Microprocessada de cultura e bacteriologia (modelo QUIMIS, Q316 M, Brasil);
- Garrote (látex-free) em rolo;
- Gaze;
- HPLC Varian Pro Star;
- Jaleco manga longa;
- Laudos oficiais das análises microbiológicas (ANEXOS A, B e C)
- Lenços umedecidos;
- Luvas de nitrila;
- Medidor de pH digital (B374);
- Micropipetas mecânicas monocanal automáticas Agipette: 0,5 a 10 μ L, 1000 a 5000 μ L, 2000 μ L.
- Óculos de proteção;
- Osmose reversa (LXE, Ghaka, Brasil);
- Papel toalha;
- Ponteiras para micropipetas sem filtro Kasvi;
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A)
- Protocolo Clínico (APÊNDICE B)
- Sistemas de Franz (Pyrex, ES);
- Software HPLC Polaris System Control;
- Vidrarias (Pyrex, Merse, Brasil);
- Texturômetro TA XT Plus e software Exponente 32 Rupenthal;
- Toucas descartáveis;

- Tubos de vácuo para coleta de sangue siliconizados Vacuplast com heparina sódica.

4.2 Métodos

4.2.1 Desenvolvimento das formulações

Na etapa inicial do projeto foram desenvolvidas as formas farmacêuticas semi-sólidas cremes, com a utilização da farmacotécnica de emulsões. Os cremes ou emulsões foram nomeados como formulações Fc1 (fórmula creme base) e Fc2 (fórmula creme base + capsaicina Henan Biotech® - FAPESP Processo nº 2012/22294-3), em conformidade com as normas da ANVISA de boas práticas de manipulação (BPM) e fabricação (BPF), Resolução nº 210, de 4 de agosto de 2003 e Resolução nº 67, de 8 de agosto de 2007.

As formulações foram envasadas em embalagens apropriadas para formas farmacêuticas de uso tópico ou local e codificadas visando obter melhor organização e rastreabilidade dos testes. As formulações Fc1 e Fc2, antes de serem destinadas aos ensaios microbiológicos, físicos e químicos, foram produzidas em um único lote. As mesmas matérias-primas foram utilizadas em ambas as formulações, exceto a formulação Fc2 que apresenta em sua composição a adição da capsaicina na etapa C da manufatura (Quadro 1).

CREME DE CAPSAICINA		
Componentes e suas respectivas funções		%
	Álcool cetosteárilico (agente emulsionante)	6,0
A	Álcool cetosteárilico etoxilado (agente tensoativo O/A)	3,0
	Miristato de isopropila (agente emoliente)	4,0
	Palmitato de cetosteáril (doador de consistência e viscosidade)	3,0
	Cyclopentasiloxane (silicone promotor de antioleosidade)	1
	BHT (antioxidante)	0,05
	Lanolina (agente emoliente e promotor de absorção)	0,5
	Propilparabeno (conservante)	0,02
B	Metilparabeno (conservante)	0,18
	Propilenoglicol (agente solubilizante)	3,0
	Água Purificada qsp (veículo)	100
C	Capsaicina (pó Henan Biotech) (princípio ativo)	8
	Álcool de cereais qsp (agente solubilizante)	8

Quadro 1 - Formulação creme de capsaicina

O/A: emulsão fase interna oleosa, fase externa aquosa. Fonte: elaboração própria

Preparou-se 1 kg de cada emulsão (Fc1 e Fc2), cuja técnica de preparação constitui-se pelas fases graxa (A) e aquosa (B). Essas fases foram pesadas separadamente em béqueres e aquecidas à temperatura elevada o suficiente para a fusão e ou solubilização dos sólidos, ou seja, de 75°C a 80°C. Em seguida, a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa, sob a fase aquosa constante agitação a 1500 rpm, em agitador Fisatom, modelo 713 D, mantida até o resfriamento da preparação (Rangel, 1998). A formulação base Fc1 foi escolhida devido ao fato de ser uma emulsão simples, não iônica e de fácil incorporação de ativos, além de ter sido aprovada por testes pré-clínicos e de estabilidade (Rangel, 1998). A fase C refere-se à capsaicina que foi previamente solubilizada em álcool de cereais e depois incorporada ao creme base, dando origem à formulação Fc2. Como promotor de absorção, adicionaram-se em ambas as formulações 0,5% de lanolina (Quadro 1 e Figura 8).

Fonte: elaboração própria



Figura 8 - Creme base com adição da capsaicina.

Depois de desenvolvidas e manipuladas, até que fossem realizados os testes microbiológicos, físicos e químicos, as formulações foram envasadas e acondicionadas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz (Ferreira, 2000; Ferreira, 2008). As formulações Fc1 e Fc2 foram primeiramente submetidas às análises microbiológicas.

4.2.2 Análises microbiológicas

4.2.2.1 Preparo da amostra para o controle microbiológico

As análises microbiológicas foram executadas nas formulações Fc1 e Fc2 a partir das metodologias descritas em Silva et al., 2001, Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos ANVISA, 2007, Guia ABC de Microbiologia, 2008, *United States Pharmacopeia* 27, 2004; *United States Pharmacopeia* 36, 2013; e *National Formulary* 31, 2013. Devido à necessidade de laudos com valores oficiais (ANEXOS A, B e C), as análises microbiológicas foram realizadas em laboratório oficial particular credenciado pela REBLAS – Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde (ANEXO G). O laboratório foi contratado através da permissão e apoio financeiro obtido da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo nº 2012/26610-0, apresenta também acreditação pela CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação da Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro, de acordo com a ABNT ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0545, escopo disponível em www.inmetro.gov.br/legislacao.

Fonte: elaboração própria



Figura 9 – Soluções estéreis para a inativação do sistema conservante.

Em virtude da utilização de um sistema conservante (metilparabeno e propilparabeno) foi necessária a realização da inativação dos mesmos (Figura 9) para o qual se utilizou as informações contidas na tabela 1.

Tabela 1 - Inativantes específicos para agentes antimicrobianos em fórmulas farmacêuticas

Conservante	Inativante
Parabenos	3,0% p/v polissorbato 80
Formaldeído	0,1% p/v histidina
Isotiazoliononas	12% p/v sulfitos
Dibromoglutaronitrila	12% p/v sulfitos
Imidazolinil uréia/diazolidinil	0,5% p/v histidina
Ureia/ hidantoina	
Piritionato de zinco	3,0% p/v polissorbato 80
	0,5% p/v cistidina/histeína
Ipbac	3,0% p/v polissorbato 80
	0,5% p/v cistidina/histeína

Fonte: Pinto et al., 2003; Guia ABC de Microbiologia, 2008.

4.2.2.2 Diluição para contagem de mesófilos e coliformes totais e fecais

Utilizou-se a solução salina peptonada, pesou-se 10 g da amostra em 90 mL do diluente que continha 90 mL de água peptonada 0,1% + agente neutralizante (0,7 g de lecitina + 8 g de Tween 80/100 mL amostra). Para as diluições seriadas utilizou-se 9 mL de salina peptonada previamente esterilizada em autoclave a 120°C/15 minutos. Após adicionou-se o inativante pré-esterilizado e o pH da solução foi corrigido para a neutralidade.

4.2.2.3 Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotrófilos

Utilizou-se o meio de cultura Agar triptase – soja – TSA na diluições 10^{-1} e 10^{-3} .

O volume da amostra adicionado foi de 1 mL em placas de Petri previamente esterilizadas. Em seguida as placas foram incubadas em estufa a 35°C/48 horas. Para a realização da possível contagem microbiana utilizou-se um contador de colônias. Para tal deveriam ser selecionadas as placas que apresentassem um crescimento microbiano de 30 a 300 colônias. As unidades formadoras de colônias (UFC) são calculadas por grama.

4.2.2.4 Pesquisa de coliformes totais e fecais

Utilizou-se teste presuntivo do Número Mais Provável (NMP) para coliformes, empregando-se a tabela NMP (ANEXO D). As tabelas de NMP apresentam-se nas diluições 0,1 mL, 0,01 mL e 0,001 mL.

Os meios de cultura empregados foram: Caldo Lauril Sulfato (LST) com tubo Durhan, Caldo Verde Brilhante (VB) com tubo Durhan, Caldo *E. Coli* (EC) com Durhan, Agar eosina azul de metileno (EMB), Ágar padrão para contagem, Caldo Citrato de Simons, Caldo VM – VP e Caldo Triptona. As diluições foram 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .

Para o teste presuntivo inoculou-se uma série de três tubos de LST para cada uma das diluições. Incubou-se a 35°C/24-48 horas. Caso fosse observada a presença de turvação e a produção de gás atestasse positividade para os tubos. Se positivos, para o teste confirmativo de cada tubo, inoculou-se uma alçada em tubos de VB e em tubos de EC.

Para os tubos VB, se positivos, incubou-se a 35°C 24/48 horas. O NMP de coliformes totais é dado pelo número de tubos positivos VB, de acordo com a tabela NMP (ANEXO D) adequada às diluições empregadas. Para os tubos EC, se positivos, incubou-se a 45,5°C/24 horas. O NMP de coliformes fecais é dado pelo número de tubos positivos de EC, de acordo com a tabela adequada às diluições empregadas. De cada tubo positivo estriou-se uma alçada em Ágar Levine. As colônias típicas de EC se mostram nucleadas, com ou sem centro preto, com ou sem brilho metálico.

4.2.2.5 Contagem de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

Para a diluição e pré-enriquecimento foi utilizada a diluição específica para análise de *S. aureus* e *P. aeruginosa* com 10 g de amostra e 90 mL de Caldo Caseína-Soja = *Broth* CASO. A amostra depois de diluída foi incubada a 35°C/24-48 horas para pré-enriquecimento. O isolamento foi realizado a partir do Caldo CASO, por espalhamento em superfície de 0,5 mL do Caldo em Ágar Baird Parker e Ágar Cetrimida.

Para a pesquisa de *Staphylococcus aureus* (SA) foi utilizado o meio de cultura Baird Parker que foi incubado a 35°C/48 horas. As colônias típicas, se presentes,

apresentam-se com as seguintes características: colônias circulares, pretas, pequenas, lisas, convexas, com bordas perfeitas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente. A contagem acontece através da somatória de todas as placas.

Para a pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) foi utilizado o meio de cultura Ágar Cetrimide, o período de incubação foi de 48 horas na temperatura de 35°C. Quando presentes colônias típicas suas características são circulares, esverdeadas e com fluorescência.

As análises microbiológicas de micro-organismos mesófilos e psicotróficos, bem como, as análises de coliformes totais, fecais, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* foram realizadas durante 105 dias consecutivos, conforme deve ser preconizado em laudo oficial.

4.2.2.6 Teste de eficácia de conservantes ou teste de desafio – *Challenge Test*

O presente teste teve como objetivo avaliar a eficácia do sistema conservante necessário à proteção satisfatória da formulação. Foi realizada a contaminação proposital das formulações com micro-organismos específicos e a avaliação desta carga aconteceu em intervalos de tempos definidos. O *Challenge Test* foi realizado nas Formulações Fc1 e Fc2, durante 28 dias ininterruptos.

O inóculo foi preparado a partir de uma suspensão de micro-organismos utilizados no teste, com uma cultura recente (24 horas). As bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foram incubadas a 30-35°C de 18 a 24 horas. As bactérias *Aspergillus brasiliensis* foram incubadas a 20-25°C por sete dias e *Candida albicans* foram incubadas a 20-25°C por 48 horas.

Para o preparo da suspensão de micro-organismos foi utilizada solução fisiológica (0,9% p/v) ou água ajustando a concentração do inóculo para 105 a 106 mL das formulações. Para a suspensão de *Aspergillus brasiliensis* foi adicionado 0,5% p/v de polissorbato 80 (Tween 80) à solução salina, ajustando à concentração do inóculo para 105 mL tanto para Fc1, como para Fc2.

As formulações foram inoculadas com a suspensão de cada micro-organismo, em separado. Foi transferido o equivalente a 0,1 mL de inóculo a cada 20 g de cada formulação. Foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias das amostras imediatamente após a inoculação, às 24 horas, ao 7º, 14º, 21º e 28º dias. Foi realizada a

monitorização em 48 e 72 horas, a partir da inoculação, para melhor conhecimento do tempo de ação do sistema conservante da formulação.

4.2.2.7 Teste de estabilidade e estresse térmico (*shelf-life* e estabilidade acelerada)

O teste de estabilidade acelerada teve como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade da formulação, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento (Brasil, 2004). O presente teste visou auxiliar a triagem das formulações.

Foram empregadas condições extremas de temperatura e serviram como auxiliar na determinação da estabilidade da formulação. Foi um estudo preditivo e pode ser usado para estimar o prazo de validade, mas pode ser empregado também quando houver mudanças na composição ou no processo de fabricação terceirizada. As amostras analisadas Fc1 e Fc2 foram previamente acondicionadas na embalagem final, o que pode antecipar a avaliação da compatibilidade da formulação e a embalagem.

Foram separadamente pesados e analisados 20g das amostras Fc1 e Fc2. Os parâmetros avaliados foram: aspecto, cor e odor. As amostras foram mantidas nas temperaturas de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. As inspeções foram realizadas no 1º dia, após 24 horas, 7º dia, 15º dia, 30º dia, 60º dia, 90º dia e 105º dia. As quantidades das formulações Fc1 e Fc2 foram suficientes para as avaliações necessárias, foi respeitado um terço da capacidade da embalagem, para possíveis trocas gasosas (Brasil, 2004).

4.2.3 Análises físicas e químicas

As análises físicas e químicas abaixo descritas foram realizadas no Laboratório de Farmácia e Tecnologia Farmacêutica da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha (USC – ES). O estágio de pesquisa no exterior foi realizado pela autora do presente estudo, graças ao apoio da FAPESP, BEPE/FAPESP Processo nº 2013/04743-8, sob supervisão do Prof. Dr. Francisco Javier Otero Espinar.

As formulações foram enviadas ao laboratório de Farmácia e Tecnologia Farmacêutica (USC – ES), seguindo as instruções estabelecidas pela ANVISA. Os testes físicos e químicos realizados foram: parâmetros organolépticos, aspecto, cor,

odor, pH, densidade, viscosidade (Gil e Brandão, 2007), características das propriedades mecânicas, ensaio de bioadesão, ensaio de difusão e testes reológicos.

4.2.3.1 Aspecto

As amostras foram analisadas, em comparação ao padrão, a fim de avaliar as características macroscópicas para verificação de sinais de instabilidade. A não ocorrência de separação de fases, de precipitação, de turvação, deve ser indicativa de estabilidade da amostra ensaiada. O aspecto poderá ser descrito como granulado, pó seco, pó úmido, cristalino, pasta, gel, fluido, viscoso, volátil, homogêneo, heterogêneo, transparente, opaco e leitoso. Cada amostra poderá ser descrita como normal, sem alteração; levemente separada, precipitada, turva.

4.2.3.2 Cor

A colorimetria foi realizada pela comparação visual, sob condições de luz branca e espectrofotométrica, pela análise na região espectral do visível, da cor das amostras com a cor do padrão, armazenado nas mesmas condições e embalagens.

A comparação visual da cor da amostra ensaiada com a cor do padrão foi realizada com cerca de 5 g da amostra (formulações Fc1 e Fc2) acondicionadas em frascos iguais. A fonte de luz empregada foi à luz branca, natural. Foram pesados 1,5g de cada amostra, diluídos em água destilada, na proporção de 1:1 (p/p) e submetidos à colorimetria espectrofotométrica pela análise da varredura, na região do visível, e comparados com a varredura do padrão. Efeitos hipercrômico e hipocrômico, referentes à intensidade da banda e efeitos batocrômico ou hipsocrômico, referentes à variação no comprimento de onda relativo à máxima absorção, são indicativos de alteração na intensidade da cor ou mesmo modificação da coloração e, portanto, podem ser indicativos de instabilidade. Cada amostra foi classificada, em relação à cor em: normal, sem alteração, levemente modificada, modificada, intensamente modificada.

4.2.3.3 Odor

O odor de cada amostra ensaiada foi comparado ao odor do padrão, diretamente através do olfato. Cada amostra foi classificada, em relação ao odor em: normal, sem alteração, levemente modificado, modificado, intensamente modificado.

4.2.3.4 Valor de pH

A determinação do pH foi realizada diretamente nas amostras ensaiadas usando peagômetro digital B374, momento em que foi avaliada a diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na amostra em análise, previamente calibrados com solução tampão de pH 4,0 e 7,0 (Brasil, 2004). O eletrodo foi inserido diretamente na formulação e não em dispersão aquosa como descrito em Davis e Burbace, 1997, Isaac, 1998, Farmacopeia Brasileira, 2001. Valores mantidos entre 5,5 e 6,5, compatíveis com o pH cutâneo, foram usados como critério de estabilidade.

4.2.3.5 Caracterização das propriedades mecânicas

Para a caracterização das propriedades mecânicas se utilizou o Texturômetro TA XT Plus, Texture Analyser (Figura 10) e o programa Texture Exponent 32. A caracterização das propriedades mecânicas foi realizada por meio do método descrito por Rupenthal et al. (2011).

As análises foram realizadas diretamente nas formulações Fc1 e Fc2 nas embalagens finais, onde foram envasadas as amostras. O equipamento texturômetro descende e realiza punção de 2 mm/seg até alcançar a superfície da amostra onde penetra 5 mm. A continuação da punção volta a ascender até que seja alcançada a posição inicial, na qual se mantém 30 segundos e uma vez transcorrido o tempo, se volta a repetir o ensaio. Ao final de todo processo se obtém um gráfico, que constitui o primeiro de um mínimo de três réplicas.

Fonte: elaboração própria

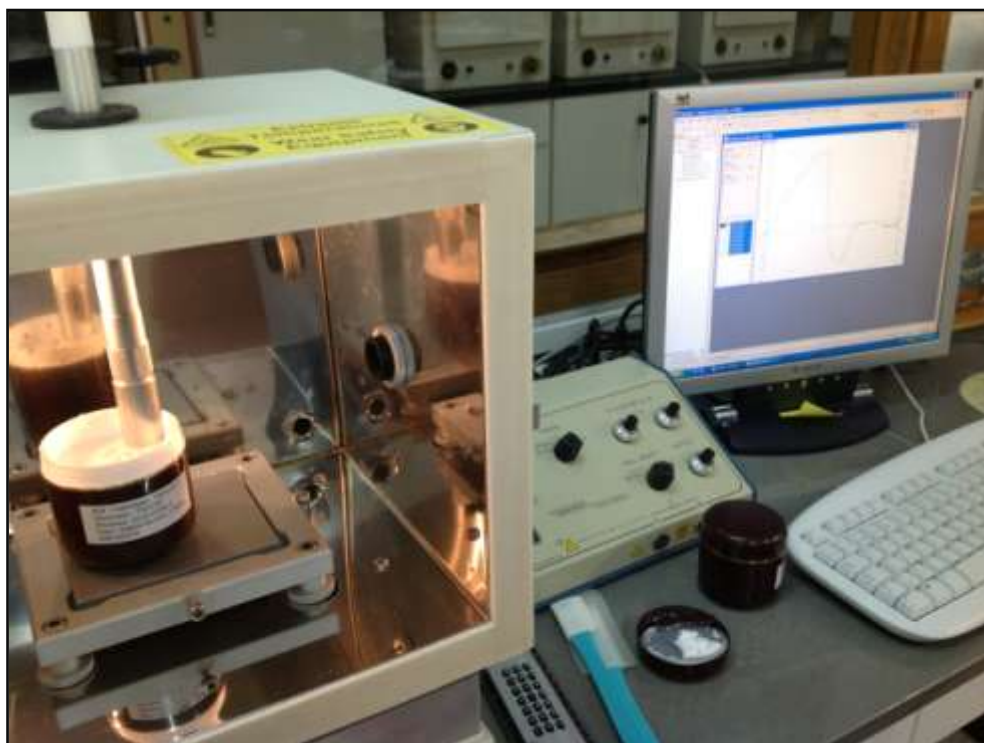


Figura 10 - Texturômetro TA XT Plus, Texture Analyser.

A partir da curva, calculam-se três parâmetros: dureza, adesão e coesão. Esses parâmetros devem ser intrínsecos a uma emulsão estável e necessários para que a emulsão apresente uma adequada textura. A dureza se obtém a partir da altura máxima da curva positiva, a adesão se calcula a partir da descida máxima da parte negativa da curva e finalmente, a coesão é o resultado da divisão da altura máxima da primeira e da segunda curva obtida, durante os 30 segundos transcorridos, a figura 11 ilustra o modelo de uma curva de uma emulsão que foi submetido aos ensaios e permaneceu com adequada textura.

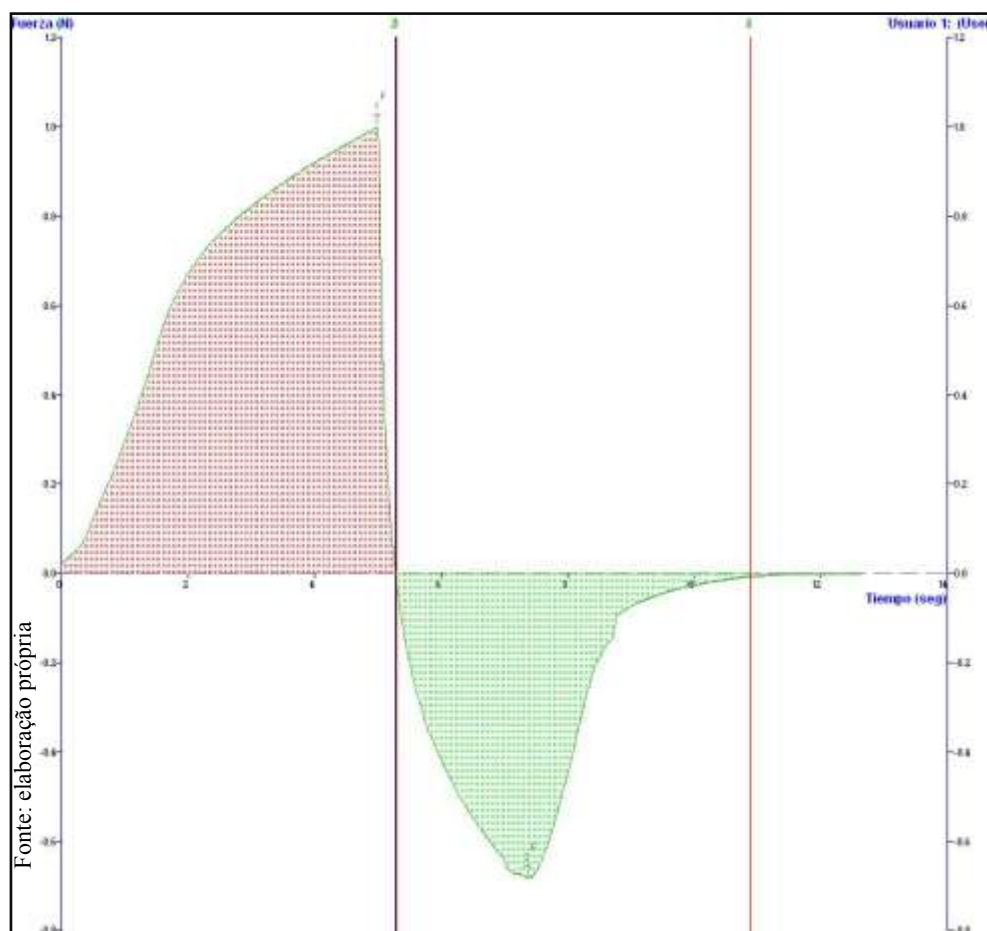


Figura 11 - Exemplo de curva obtida durante o ensaio de textura a partir do programa Texture Exponent 32.

4.2.3.6 Ensaio de bioadesão

O ensaio de bioadesão permite medir a capacidade que a emulsão possui de aderir-se a um tecido. Novamente utilizou-se o Texturômetro TA XT Plus, Textura Exponent 32, empregou-se o método descrito por Blanco et al., 1996.

Para simular a pele humana foi utilizada pele curtida de cabra, que foi demonstrado ser um bom substituto da pele humana para caracterizar a bioadesão (Blanco et al., 1996) e através da metodologia descrita pelo *Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales Farmacéuticos* (2012). A pele de cabra foi recortada em dois pedaços para cobrir a parte inferior da punção em uma placa de Petri, sobre a qual, em continuidade foi adicionado aproximadamente 0,1 g da formulação, conforme demonstra a figura 12. Uma vez que a amostra e o sistema foram preparados, a punção baixou a uma velocidade de 1 mm/seg. até que entrasse em contato com a

formulação e começasse a exercer uma força de 0,5 N durante 60 seg. Transcorrido o tempo descrito, a punção começou a elevar-se enquanto registrava-se a curva força-tempo, que representa a bioadesão. Quando finalmente a punção chegou à posição inicial, foram mantidos 60 segundos iniciando-se um novo ciclo de compressão. O ciclo se repetiu em 10 ocasiões e foram realizadas seis réplicas por amostra.

A bioadesão foi calculada como a área abaixo da curva (mJ) força de deslocamento, obtida para cada ciclo.

Fonte: elaboração própria

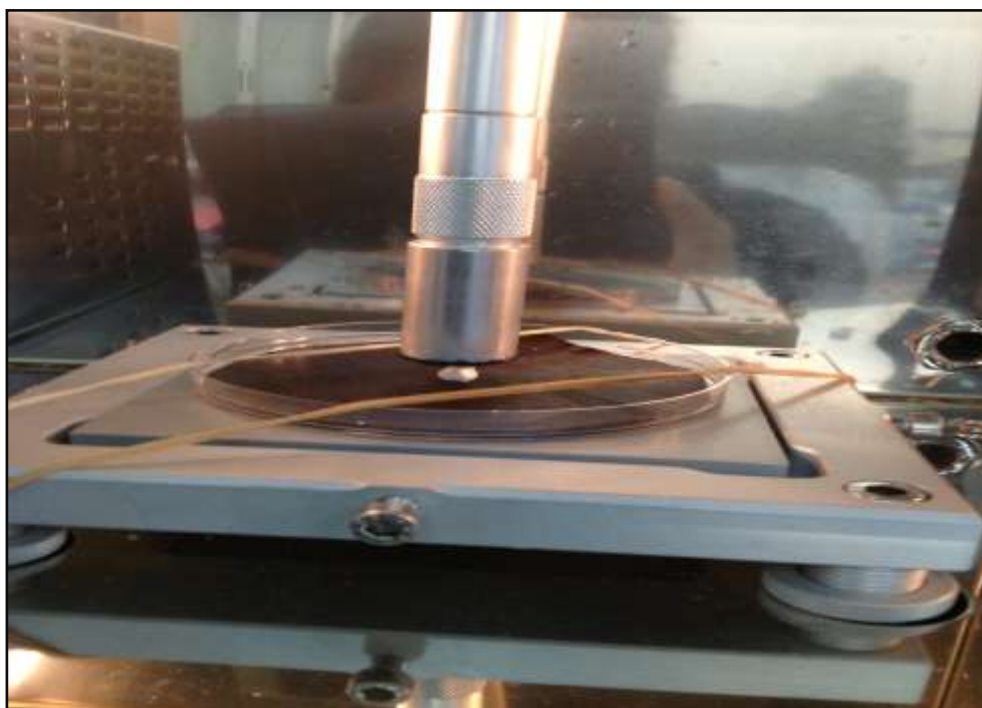


Figura 12 - Texturômetro TA XT Plus com pele de cabra e amostra.

4.2.3.7 Ensaio de difusão

Para esse ensaio, empregou-se método baseado no uso de células de difusão de Franz (1975). Esse método permitiu que fossem controlados de maneira mais precisa parâmetros importantes como a superfície de liberação de pequenos volumes de fluido, em contato direto com as formulações, enquanto se mantém de igual modo às condições fisiológicas. Esse ensaio se prolongou por duas semanas.

Para simular a barreira biológica foi utilizada membrana de diálise semipermeável com um peso molecular de 12000 Daltons (Da). Essa membrana permitiu que moléculas de pequeno tamanho, como os solventes, os sais e os princípios ativos da emulsão, passassem livremente.

O primeiro passo para a montagem das peças que formam as células de Franz foi a realização da hidratação das membranas, previamente recortadas de um tamanho superior ao orifício das células (1 cm de diâmetro), durante uma hora, com água purificada, na temperatura de 37°C ($\pm 0,5$). Uma vez hidratadas, as membranas foram acondicionadas de forma centrada sobre a parte inferior da célula de Franz e, em seguida, a parte superior foi fixada utilizando um silicone (Dow Corning – *high vacuum grease*).

Uma vez que o conjunto de células de Franz foi montado e o silicone já havia selado ambas as partes, foram pesadas 0,5 g de emulsão de cada formulação do presente estudo. As quantidades previamente pesadas foram colocadas no canto superior da peça e no interior da zona cilíndrica da mesma, fazendo sempre com que a emulsão ficasse em contato com toda a superfície da membrana, conforme ilustra a figura 13. Entretanto, a peça inferior apresenta uma zona também cilíndrica anexa à base da qual existe um tubo que serve para a amostragem. Parte da peça foi preenchida com cloreto de sódio 0,9% evitando a presença de bolhas em contato com a membrana que podem modificar a superfície de difusão. Para que esse sistema se mantivesse homogêneo durante todo o ensaio, se procedeu a agitação contínua adicionando um pequeno imã no meio receptor.

Fonte: elaboração própria



Figura 13 - Partes do sistema Franz com a amostra Fc2 à esquerda e a direita com a amostra Fc1.

Em continuidade, foi realizada em cada célula de difusão de Franz, com o auxílio de uma pinça metálica, a cobertura dos orifícios da parte superior do tubo de amostragem com Parafilm® visando evitar a evaporação e contaminação do meio receptor durante o ensaio. O experimento foi executado no período ininterrupto de 24 horas, tal como ilustra a figura 14.

Fonte: elaboração própria



Figura 14 - Banho termostatzado a 37 °C ($\pm 0,5$), após 24 horas de agitação para simular as condições fisiológicas, que incluem células de Franz após sua preparação.

Para a amostragem e com a finalidade de determinar as quantidades absorvidas nos intervalos de tempo predeterminados retirou-se 1 mL de cloreto de sódio 0,9% do meio do receptor, que se substituiu por meio fresco. Os testes foram realizados em seis amostras de cada formulação.

A quantidade de capsaicina nas amostras foi determinada espectrofotometricamente a uma longitude de onda de 284 nm, em um Espectrofotômetro Hewlett Packard 8452A. Para tal, determinou-se previamente a curva de leitura com soluções de capsaicina com diferentes concentrações.

4.2.4 Ensaios reológicos

4.2.4.1 Densidade

Foi utilizado um picnômetro com capacidade de 5 mL da marca Satélite, previamente calibrado pela determinação de sua massa quando vazio e quando contendo água recém-destillada. Depois de colocada a amostra no picnômetro, retirou-se o excesso e pesou-se em balança analítica, sendo a massa da amostra obtida através da diferença entre a massa do picnômetro cheio e vazio (Farmacopéia, 1988).

4.2.4.2 Viscosidade

A caracterização reológica das emulsões Fc1 e Fc2 (viscosidade) foi realizada utilizando-se um AR 1000N-reômetro Rheolyst (TA Instruments, Newcastle, UK) com um analisador de AR2500, uma placa de Petri e um cone de 6 cm de diâmetro e 1 grau, conforme ilustra a figura 15.

Fonte: elaboração própria



Figura 15 - AR 1000N-reômetro Rheolyst (TA Instruments, Newcastle, UK).

As amostras Fc1 e Fc2 foram adaptadas ao equipamento durante 2 minutos a 20 °C, com varrimentos de frequência entre 0,1 e 50 rad / s. Utilizou-se a aplicação de uma força de oscilação de 0,1 Pa, com TA Instruments cone certificado de 6 cm e 1 grau. Finalmente formou-se um cisalhamento de rampa de fluxo contínuo num intervalo entre 0,1 e 10s-1. As determinações reológicas de viscosidade aconteceram em módulos de temperaturas de 20 °C e 40 °C. As medições de reometria consistem geralmente na análise de cisalhamento a uma frequência constante. Os gráficos obtidos a partir da varredura de tensão fornecem informações, a serem observadas no capítulo Resultados, sobre o módulo de elasticidade G' e módulo viscoso G'' (Signorelli e Isla, 2005).

Com o execução do subprojeto 1 foi possível a obtenção das formulações Fc1 e Fc2 dentro dos parâmetros de qualidade e segurança estabelecidos pela ANVISA.

SUBPROJETOS 2 e 3 – *in vivo* (clínico)

4.2.5 Estudo Clínico

4.2.5.1 Desenho do estudo

Estudo prospectivo, placebo controlado e simples cego.

4.2.5.2 Local do estudo, sujeitos, tamanho amostral e avaliação da dor

O estudo foi desenvolvido no Serviço de Terapia Antálgica e Cuidados Paliativos (TACP), localizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (FMB-UNESP). Esse estudo clínico obteve aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMB-UNESP (ANEXO E).

Para o diagnóstico da SDM foram utilizados os critérios publicados em Yeng et al., 2003. Segundo estes critérios, o diagnóstico da SDM dependeu exclusivamente da história e do exame físico, conforme ilustra a figura 16. A SDM é caracterizada por dor muscular regional, com a presença de bandas musculares tensas palpáveis nas quais foram identificados pontos intensamente dolorosos denominados de PG. Uma vez estimulados por palpação digital, ou durante a punção localizada com agulha, os PG desencadeiam dor local ou referida à distância. A tabela 2 sumariza os critérios que foram empregados para o diagnóstico dos pacientes incluídos no presente estudo.

Tabela 2 - Critérios diagnósticos da SDM

Critérios maiores	Critérios menores
bandas de tensão muscular	evocação da reação contrátil visualmente ou à palpação
dor intensa nos PGs em uma banda de tensão reação contrátil ao agulhamento dos PGs	reação contrátil ao agulhamento dos PGs reprodução da dor à pressão do nódulo demonstração eletromiográfica de atividade
reprodução da dor à pressão do nódulo demonstração eletromiográfica de atividade dolorosa	doloroso elétrica característica de nódulo doloroso em uma banda de tensão
limitação da amplitude de movimento decorrente da dor	anormalidade sensitiva na distribuição de um PG à compressão correspondente

Fonte: Yeng et al., 2003

Fonte: elaboração própria



Figura 16 - Diagnóstico da SDM.

Após o diagnóstico da SDM, os pacientes foram convidados a participarem do estudo. Os pacientes foram sequencialmente incluídos no grupo de estudo, depois de observadas as seguintes condições dos critérios de inclusão:

- apresentar-se como paciente em seguimento regular no ambulatório da TACP;
- usar regularmente os medicamentos prescritos no TACP há pelo menos um mês, medicamentos esses que compõem a terapia convencional para SDM;
- obter o diagnóstico da SDM e PG ativos no momento do exame, conseguindo apontar um PG com maior intensidade de dor;
- presença de dor ≥ 5 (0 a 10) à palpação do PG com maior intensidade de dor;
- ausência de lesões ou feridas na pele;
- história negativa de hipersensibilidade à capsaicina (verificada no protocolo clínico quando se investigou intolerância às pimentas vermelhas);
- negar ingesta de pimenta vermelha nas últimas seis horas;
- não apresentar hipersensibilidade a qualquer componente da fórmula (verificada no protocolo clínico quando se investigou intolerância a cremes para pele);
- não apresentar diagnóstico de hipertensão;

- apresentar idade superior a 18 anos;
- não ser gestante;
- não apresentar diagnóstico de diabetes;
- entendimento da escala numérica verbal de dor;
- concordância em participar;
- concordância com o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.2.5.3 Critérios de exclusão

- a) negativa em participar;
- b) não entendimento da escala numérica verbal de dor;
- c) presença de lesão cutânea na área de aplicação;
- d) não compreensão da ENV.

Uma vez satisfeitas às condições anteriores e após devidamente orientados, os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE (APÊNDICE A). Caso recusassem participar do estudo, foi assegurado ao paciente que este não sofreria qualquer forma de sanção. Os sujeitos da pesquisa foram examinados pelos médicos residentes do serviço de TACP, sob supervisão do médico responsável pelo ambulatório.

Sempre em âmbito hospitalar, os pacientes foram divididos em dois grupos, no total de 46, que foram admitidos ao estudo. No entanto, seis pacientes foram excluídos do estudo no decorrer da pesquisa por não terem se adequadado ao seguimento do protocolo clínico, até o término da pesquisa. Dessa forma, 40 pacientes com SDM foram efetivamente acompanhados nessa pesquisa clínica, sendo 20 alocados no Grupo Fc1 e 20 alocados no Grupo Fc2 e que receberam, respectivamente, as formulações Fc1 e Fc2. Foi escolhido pelo paciente o PG que mais lhe provocava desconforto e dor à palpação para que fosse realizada a aplicação tópica da formulação e o mesmo foi marcado através de um molde circular de 24 milímetros de diâmetro, com caneta própria para marcação na pele. As formulações tópicas Fc1 e Fc2 (creme base e creme base incorporado à capsaicina 8%) foram aplicados na quantidade de 10 g por 30 minutos, apoiando-se na terapia proposta por Qutenza, 2011 e Anand e Bley, 2011.

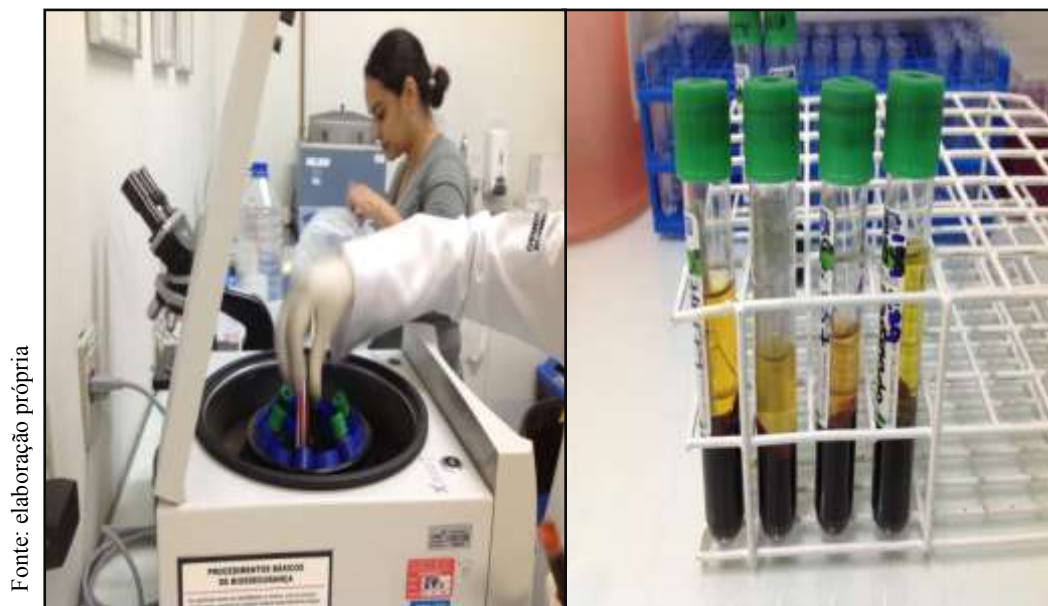
Como a capsaicina está presente em muitos alimentos ingeridos rotineiramente sob a forma de tempero (pimenta), o protocolo clínico (APÊNDICE B) contém

perguntas que investigam a dieta das últimas 6 horas de todos os pacientes, mesmo os pacientes do grupo Fc1, o que serviu de referencial para a análise do grupo Fc2.

A administração dos cremes foi realizada com espátula, na quantidade previamente pesada e padronizada, em via tópica ou local, com completa espalhabilidade na área delimitada. A administração foi realizada em área superior, na superfície cutânea, correspondente ao PG de maior dor, através de profissional capacitado e treinado.

Todos os equipamentos de proteção individual (EPI's) foram oferecidos para a segurança do profissional e dos pacientes. Anteriormente à aplicação dos cremes (Fc1 e Fc2) do estudo, os pacientes de ambos os grupos receberam a aplicação tópica de anestésico (lidocaína 4%) por período de 50 minutos na área correspondente aos PG, e em seguida o anestésico foi retirado. Os pacientes do grupo Fc1 foram tratados em uma única aplicação exclusivamente com a formulação Fc1, já os pacientes do grupo Fc2 foram tratados exclusivamente com a formulação Fc2. Ao término dos 30 minutos do tempo de aplicação, as formulações Fc1 e Fc2 foram imediatamente retiradas com lenços umedecidos e foram avaliados os parâmetros de tolerabilidade à pele.

Após a retirada das formulações, a área de aplicação foi higienizada por um gel de limpeza próprio, não iônico e de pH fisiológico. Ao finalizar a higienização foram coletadas dos pacientes amostras sanguíneas para quantificação da possível concentração plasmática da capsaicina. Conforme ilustra a figura 17, as amostras de sangue foram coletadas em tubos plásticos estéreis e descartáveis, contendo o anticoagulante heparina sódica e processadas em centrífuga Centrifuge 5430 com refrigeração, por 10 minutos a 4000 rpm. As amostras de plasma foram separadas através de micropipetas em tubos Eppendorfs, mantidas sob refrigeração (-80 °C) e submetidas à análise de dosagem de capsaicina, através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).



Fonte: elaboração própria

Figura 17 - Sangue em fase de processamento.

Para a avaliação da intensidade da dor, utilizou-se uma Escala Numérica Verbal (ENV). Nesta instruiu-se o paciente a atribuir um escore numérico, de zero a dez, para a intensidade de sua dor, sendo que zero significa ausência de dor e dez a dor mais intensa imaginável, conforme descrito por Fortunato et al., 2013.

Os pacientes foram orientados a comunicar a presença e a intensidade de queimação local (parâmetros de tolerabilidade a pele), bem como, a presença de alterações cutâneas durante o período de 60 minutos da aplicação das formulações. Após a retirada das formulações, aos 30 e 60 minutos, os pacientes responderam à ENV. Vinte e quatro horas após a retirada das formulações, os pacientes foram contatados via telefone para avaliação da tolerabilidade cutânea, questionando-se sobre a presença ou ausência de hiperemia e queimação no local da aplicação.

As avaliações que ocorreram após o 7º dia da aplicação das formulações, assim como as avaliações subsequentes (um mês e dois meses) foram realizadas também via telefone. Durante esses telefonemas os pacientes foram questionados quanto à presença e intensidade de queimação local, alterações cutâneas e responderam a escala verbal de dor.

Os pacientes não foram informados quanto ao grupo, e consequentemente o tipo de formulação, que receberam. Não foi prevista a disponibilização do medicamento após término do projeto.

4.2.6 Análise estatística

Para a avaliação estatística dos ensaios físicos e químicos, quando os dados apresentaram-se como paramétricos e analisados isoladamente, utilizou-se a ANOVA (Análise de Variância) para medidas repetidas. Para a comparação dos resultados dos ensaios de Fc1 e Fc2 aplicou-se teste *t* de Student.

Para o estudo clínico o tamanho amostral foi determinado baseando-se numa diferença esperada entre as médias da escala numérica verbal, nos grupos Fc1 e Fc2, em torno de quatro unidades de medida. Assumindo desvio-padrão igual a 3,5 unidades e poder do teste de no mínimo 90%, determinou-se 20 pacientes por grupo.

Para a comparação das médias e verificação das possíveis diferenças, em relação aos momentos e grupos, foi utilizado o teste ANOVA com medidas repetidas, o qual possibilita tratamento uni e multivariável. Para as comparações envolvendo variáveis quantitativas foi utilizado o teste *t* de Student e, para comparações entre variáveis qualitativas, o teste para Proporção. Em relação aos resultados envolvendo comparações não paramétricas utilizou-se o teste de Wilcoxon.

O nível de significância considerado foi de 5%.

4.2.7 Análise do plasma sanguíneos através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC)

O método utilizado para a quantificação de capsaicina a partir do plasma sanguíneo dos pacientes submetidos ao tratamento com as formulações Fc1 e Fc2 foi realizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), no Departamento de Química, da Faculdade de Química na Universidade Estadual Paulista, Bauru-São Paulo, pela autora do presente estudo, sob a colaboração e supervisão do Prof. Dr. Manoel Menezes.

O método foi otimizado de Suresh e Srinivasan (2010), em acordo com as normas do ICH (1996). As amostras de plasma foram extraídas, com 1 mL de acetato de etila cuidadosamente em vórtex e em seguida centrifugadas por 5 minutos a 4000 rpm, conforme mostra a figura 18.

Fonte: elaboração própria

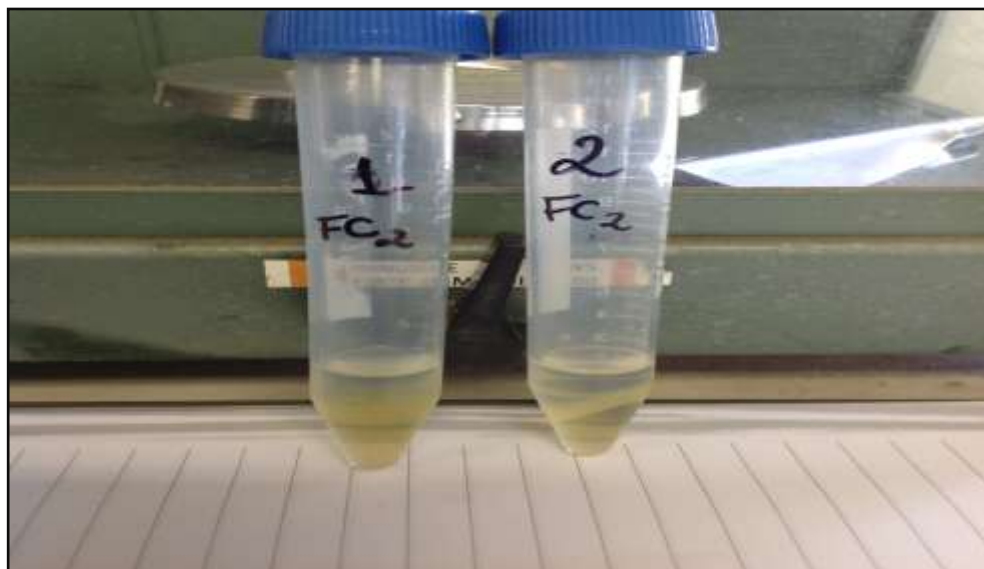


Figura 18 - Amostras de plasmas após extração e centrifugação.

O sobrenadante foi decantado e a extração repetida três vezes para cada amostra. A quantificação por CLAE foi realizada nos 40 tubos coletados, divididos em grupo Fc1 (creme placebo) e grupo Fc2 (creme capsaicina). A quantificação foi realizada através de extratos limpos por passagem através de filtro de membrana 0.22 μ . Utilizou-se o equipamento Varian Pro Star utilizando SGE 250 x 4,6mm SS Excil, coluna C18 Analítica de 10 microns. A capsaicina nas amostras foi separada e quantificada por eluição isocrática, em uma fase móvel contendo uma mistura de acetonitrila grau HPLC e água MiliQ[®] (70:30). Os parâmetros de análise foram: fluxo 1 mL/minuto, λ = 220 nm e injeção de 30 μ l. O desempenho e reprodutibilidade foram confirmados utilizando padrões internos de capsaicina Sigma- Aldrich.

4.2.7.1 Linearidade

A validação iniciou-se com a obtenção de 5 curvas-padrão em 3 dias consecutivos a partir de uma solução estoque de capsaicina. A curva analítica foi obtida utilizando as concentrações de: 1,25; 2,5; 5,0 e 10 μ g/mL do padrão analítico de capsaicina. Foram obtidas curvas médias de capsaicina mostrando valores de coeficiente de determinação (R^2) adequados (ICH 1996).

4.2.7.2 Quantificações de capsaicina a partir das formulações Fc1 e Fc2

O método utilizado para a quantificação de capsaicina a partir das formulações Fc1 e Fc2 foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método também foi otimizado de Suresh e Srinivasan (2010) em acordo com as normas do ICH (1996). As amostras das formulações foram extraídas pesando-se 0,1 g do creme (Fc1 ou Fc2), com 1 mL de acetato de etila, 1 mL de água MiliQ[®] e, em seguida centrifugadas, por 5 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante foi decantado e a extração repetida três vezes para cada amostra. A quantificação por HPLC foi realizada em triplicata, divididos em grupo Fc1 (creme placebo) e grupo Fc2 (creme capsaicina).

A quantificação foi realizada através de extratos limpos por passagem através de filtro de membrana 0.22 μ . Utilizou-se o equipamento Varian Pro Star utilizando SGE 250 x 4,6 mm SS Excil, coluna C18 Analítica de 10 microns,

A capsaicina nas amostras foi separada e quantificada por eluição isocrática, em uma fase móvel contendo uma mistura de acetonitrila grau HPLC e água MiliQ[®] (70:30). Os parâmetros de análise foram: fluxo 1 mL/minuto, $\lambda = 220$ nm e injeção de 30 μ L. O desempenho e reprodutibilidade foram confirmados utilizando padrões internos de capsaicina Sigma- Aldrich.

4.2.7.3 Linearidade

A validação iniciou-se com a obtenção de cinco curvas-padrão em três dias consecutivos a partir de uma solução estoque de capsaicina. As concentrações (pontos) utilizadas foram: 1,25; 2,5; 5,0 e 10 μ g/mL. Obtiveram-se curvas médias de capsaicina mostrando valores de coeficiente de determinação (R^2) adequados (ICH 1996).

4.2.7.4 Especificidade do método

A especificidade do método de quantificação de capsaicina tanto no plasma humano, quanto na formulação foi confirmada a partir dos plasmas sem capsaicina e creme placebo (creme base). Observou-se que não houve interferência dos componentes do plasma ou da formulação, que pudesse interferir no método proposto.

5 RESULTADOS

5.1 Análises microbiológicas

5.1.1 Contagem de mesófilos, coliformes totais e fecais

As análises das formulações Fc1 e Fc2 apresentaram os resultados negativos quanto aos micro-organismos mesófilos e psicotróficos <10 UFC/g, bem como, às bactérias Gram negativas. Não houve o aparecimento de colônias mesófilas e psicotróficas durante o período de incubação. Em relação aos coliformes totais <3,0 NMP/g, identificou-se resultado negativo, por meio da ausência da produção de gás, no interior do tubo Durhan. Por esse motivo, não se executou a sequência de análises em tubos contendo caldo verde brilhante (confirmatório de coliformes totais) e caldo EC (confirmatório de coliformes fecais). Não se observou diferença entre os valores, que estão de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente (Tabelas 3, 4, 5 e 6).

Tabela 3 – Análise microbiológica de mesófilos nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Contagem de bactérias aeróbicas mesófilas UFC/mL ou g	
	Fc1	Fc2
inicial	< 10	< 10
24 horas	< 10	< 10
7 dias	< 10	< 10
15 dias	< 10	< 10
30 dias	< 10	< 10
60 dias	< 10	< 10
90 dias	< 10	< 10
105 dias	< 10	< 10

Limite de quantificação do método: 10 UFC/mL ou g.

Tabela 4 - Análise microbiológica de bactérias psicotróficas nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Contagem de bactérias aeróbicas psicotróficas UFC/mL ou g	
	Fc1	Fc2
Inicial	< 10	< 10
24 horas	< 10	< 10
7 dias	< 10	< 10
15 dias	< 10	< 10
30 dias	< 10	< 10
60 dias	< 10	< 10
90 dias	< 10	< 10
105 dias	< 10	< 10

Limite de quantificação do método: 10 UFC/mL ou g.

Tabela 5 – Análise de bactérias Gram negativas nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Determinação de bactérias Gram negativas	
	Fc1	Fc2
Inicial	Ausência	Ausência
24 horas	Ausência	Ausência
7 dias	Ausência	Ausência
15 dias	Ausência	Ausência
30 dias	Ausência	Ausência
60 dias	Ausência	Ausência
90 dias	Ausência	Ausência
105 dias	Ausência	Ausência

Limite de quantificação do método: Presença/Ausência

Tabela 6 – Análise microbiológica de coliformes totais nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Contagem de bactérias aeróbicas coliformes totais NMP/mL ou g	
	Fc1	Fc2
Inicial	< 3	< 3
24 horas	< 3	< 3
7 dias	< 3	< 3
15 dias	< 3	< 3
30 dias	< 3	< 3
60 dias	< 3	< 3
90 dias	< 3	< 3
105 dias	< 3	< 3

Limite de quantificação do método: 3 NMP/g

5.1.2 Contagem de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

Durante todos os períodos de incubação, no decorrer dos 105 dias de análise de contagem dos micro-organismos patogênicos *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* detectou-se ausência de crescimento microbiano, conforme ilustram as tabelas 7 e 8. Os valores estão expressos em acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente. Os resultados não indicam diferença significativa entre os valores das formulações Fc1 e Fc2.

Tabela 7 – Análise de *Pseudomonas aeruginosa* nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Determinação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Fc1	Fc2
Inicial	Ausência	Ausência
24 horas	Ausência	Ausência
7 dias	Ausência	Ausência
15 dias	Ausência	Ausência
30 dias	Ausência	Ausência
60 dias	Ausência	Ausência
90 dias	Ausência	Ausência
105 dias	Ausência	Ausência

Limite de quantificação do método: Presença/Ausência.

Tabela 8 – Análise de *Staphylococcus aureus* nas formulações Fc1 e Fc2

Período	Formulações	
	Determinação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	Fc1	Fc2
Inicial	Ausência	Ausência
24 horas	Ausência	Ausência
7 dias	Ausência	Ausência
15 dias	Ausência	Ausência
30 dias	Ausência	Ausência
60 dias	Ausência	Ausência
90 dias	Ausência	Ausência
105 dias	Ausência	Ausência

Limite de quantificação do método: Presença/Ausência

5.1.3 Teste de eficácia de conservantes ou teste de desafio – *Challeng Test*

Os resultados das análises das formulações Fc1 e Fc2 estão demonstrados por meio da redução logarítmica dos micro-organismos sobreviventes. Os resultados, sem diferença entre os grupos, se apresentam como: <10 UFC dos micro-organismos Sa, Pa, Ab e Ca, bem como, da redução log UFC/g >4,77 dos mesmos e evidenciam a eficácia do sistema conservante utilizado nas formulações desenvolvidas. Os valores expressos no presente teste apresentam-se em acordo com a legislação vigente, conforme mostram as tabelas 9, 10, 11 e 12.

Tabela 9 - Teste de eficácia de conservantes – Fc1

Tempo								
Contagem formulação Fc1								
MO	FD	7 dias	FD	14 dias	FD	21 dias	FD	28 dias
Sa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ec	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Pa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ab	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ca	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10

MO: micro-organismos; Sa: *Staphylococcus aureus*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*
Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida Albicans*; FD: fator de diluição.

Tabela 10 - Teste de eficácia de conservantes/ redução logarítmica – Fc1

Redução Logarítmica				
Formulação Fc1				
MO	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Sa	> 4,77	> 4,77	> 4,77	> 4,77
Ec	> 4,81	> 4,81	> 4,81	> 4,81
Pa	> 4,85	> 4,85	> 4,85	> 4,85
Ab	> 4,73	> 4,73	> 4,73	> 4,73
Ca	> 4,79	> 4,79	> 4,79	> 4,79

Tabela 11 – Teste de eficácia de conservantes - Fc2

Tempo								
Contagem Formulação Fc2								
MO	FD	7 dias	FD	14 dias	FD	21 dias	FD	28 dias
Sa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ec	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Pa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ab	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ca	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10

Resultados

MO: micro-organismos; Sa: *Staphylococcus aureus*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*
 Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida Albicans*; FD: fator de diluição.

Tabela 12 - Teste de eficácia de conservantes/ redução logarítmica – Fc2

Redução Logarítmica				
Formulação Fc2				
MO	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
As	> 4,77	> 4,77	> 4,77	> 4,77
Ec	> 4,81	> 4,81	> 4,81	> 4,81
Pa	> 4,85	> 4,85	> 4,85	> 4,85
Ab	> 4,73	> 4,73	> 4,73	> 4,73
Ca	> 4,79	> 4,79	> 4,79	> 4,79

MO: micro-organismos; Sa: *Staphylococcus aureus*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*
 Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida Albicans*; FD: fator de diluição.

5.1.4 Teste de estabilidade acelerada – *Shelf life*

O teste de estabilidade acelerada das formulações Fc1 e Fc2 foi realizado durante 105 dias consecutivos empregando-se situações extremas de temperatura e verificou-se ausência de reações entre os seus componentes ou alterações. Foram avaliados e considerados normais, os resultados dos parâmetros: aspecto, cor, odor, peso inicial, temperatura (T°) e umidade relativa em porcentagem (UR%), nas diferentes condições de temperatura; baixas temperaturas ($5,0 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e altas temperaturas ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$). As formulações apresentaram-se estáveis durante todo o período de análise, e em acordo com a legislação vigente. Os resultados dos ensaios, quando comparados, não apresentaram diferenças (Tabelas 13, 14, 15, 16, 17 e 18).

Tabela 13 – Estabilidade a baixas temperaturas, inicial ao 15º dia - Fc1

Parâmetros	Baixas temperaturas - Fc1			
	Tempo de inspeção			
	inicial	24 horas	7º dia	15º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	-	5°C - 65%	6°C - 66%	5,5°C - 62%

S.A: sem alteração

Tabela 14 – Estabilidade a baixas temperaturas, 30º dia ao 105º dia - Fc1

Parâmetros	Baixas temperaturas - Fc1			
	Tempo de inspeção			
	30º dia	60º dia	90º dia	105º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	5,8°C - 60%	6,0°C - 60%	5,5°C - 60%	5,2°C - 60%

S.A: sem alteração

Tabela 15 – Estabilidade a baixas temperaturas, inicial ao 15º dia – Fc2

Baixas temperaturas – Fc2				
Tempo de inspeção				
Parâmetros	inicial	24 horas	7º dia	15º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	-	5°C - 65%	6°C - 66%	5,5°C - 62%

S.A: sem alteração

Tabela 16 – Estabilidade a baixas temperaturas, 30º dia ao 105º dia – Fc2

Baixas temperaturas - Fc2				
Tempo de inspeção				
Parâmetros	30º dia	60º dia	90º dia	105º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	5,8°C - 60%	6,0°C - 60%	5,5°C - 60%	5,2°C - 60%

S.A: sem alteração

Tabela 17 - Estabilidade a altas temperaturas, inicial ao 15º dia – Fc2

Parâmetros	Altas temperaturas - Fc2			
	Tempo de inspeção			
	inicial	24 horas	7º dia	15º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	-	41,5°C - 60%	41,3°C - 62%	41,0°C - 60%

S.A: sem alteração

Tabela 18 - Estabilidade a altas temperaturas, 30º dia ao 105º dia – Fc2

Parâmetros	Altas temperaturas - Fc2			
	Tempo de inspeção			
	30º dia	60º dia	90º dia	105º dia
Aspecto	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Cor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Odor	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.	Normal/S.A.
Peso inicial	20 g	20 g	20 g	20 g
Tº e UR%	41,7°C - 63%	41,5°C - 60%	41,1°C - 60%	41,8°C - 61%

S.A: sem alteração

5.2 Análises físicas e químicas

5.2.1 Aspecto, cor, odor e pH

– Aspecto

Não foi observada a ocorrência de separação de fases, não houve precipitação. O aspecto das formulações Fc1 (creme base) e Fc2 (creme base incorporado à capsaicina) apresentaram-se como cremes viscosos, aparentemente homogêneos, normais e sem nenhuma alteração.

– Cor

A formulação Fc1 corresponde à cor de creme base cor branca e aparência opaca. A formulação Fc2 corresponde à cor semelhante à capsaicina em pó, ou seja, pó cristalino branco, levemente amarelado. As amostras Fc1 e Fc2 apresentam cores normais, sem qualquer alteração (ANEXO F).

– **Odor**

Fc1: odor normal e sem alteração.

Fc2: odor normal, sem alteração e levemente picante, devido à alta concentração de capsaicina na formulação. O odor picante ou irritante é característico da matéria-prima capsaicina em pó.

– **Valor de pH**

A capsaicina em pó, conforme laudo ACOFARMA (ANEXO F) apresenta em solução saturada, o valor de pH de aproximadamente 6,4. Os valores de pH das formulações Fc1 e Fc2 foram determinados em diferentes condições de temperatura:

- temperatura ambiente
- estufa a 45°C
- geladeira a 5°C

Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$. Teste de ANOVA) no valor de pH (temperatura ambiente, estufa a 45°C e geladeira 5°C) e nas diferentes temperaturas, quando analisadas isoladamente as formulações Fc1 e Fc2. No entanto, quando comparados os parâmetros dos grupos Fc1 e Fc2, observa-se diferença estatisticamente significativa entre os valores ($p \leq 0,0001$. Teste *t* de Student), as tabelas 19, 20 e a figura 19 ilustram os resultados.

Tabela 19 - Valores de pH da formulação Fc1 de acordo com a temperatura (° C), valores expressos em número absoluto (n) e média

Valores de pH da formulação Fc1			
Réplicas	Ambiente	Estufa 45°C	Geladeira 5°C
1	5,09	5,08	5,08
2	5,08	5,09	5,08
3	5,08	5,08	5,09

$p \geq 0,05$. Teste de ANOVA

Tabela 20 - Valores de pH da formulação Fc2 de acordo com a temperatura (°C), valores expressos em número absoluto (n) e média

Valores de pH da formulação Fc2			
Réplicas	Ambiente	Estufa 45°C	Geladeira 5°C
1	6,50	6,45	6,50
2	6,48	6,47	6,51
3	6,50	6,45	6,49

$p \geq 0,05$. Teste de ANOVA

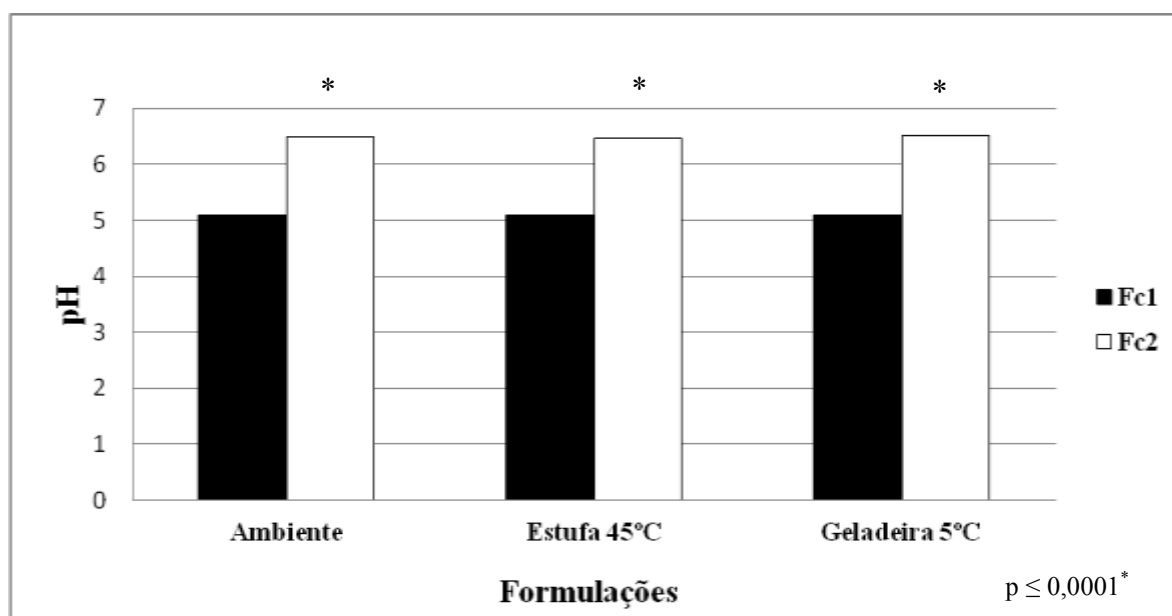


Figura 19 - Valores de pH das formulações Fc1 e Fc2, de acordo com a temperatura (°C).

$p \leq 0,0001^*$. Teste *t* de Student, quando comparados os parâmetros de Fc1 e Fc2.

5.2.2 Características das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das formulações Fc1 e Fc2 foram caracterizadas a partir das determinações de dureza, adesão e coesão e avaliadas em seis réplicas, conforme ilustram as tabelas 20 e 21. Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$. Teste de ANOVA) no valor das propriedades mecânicas (dureza, adesão e coesão) quando analisados isoladamente nas formulações Fc1 e Fc2.

Tabela 21 – Propriedades mecânicas de dureza, adesão e coesão da formulação Fc1, valores expressos em número absoluto

Propriedades mecânicas da formulação Fc1							
Réplica	1	2	3	4	5	6	Unidade
Dureza	0,714	0,615	0,80	0,885	1,001	0,733	N
Adesão	1,313	1,287	1,30	1,139	1,631	0,534	mJ
Coesão	-1,803	-1,687	-2,10	-2,178	2,036	-5,161	-

($p \geq 0,05$. Teste de ANOVA)

Tabela 22 – Propriedades mecânicas de dureza, adesão e coesão da formulação Fc2, valores expressos em número absoluto (n)

Propriedades mecânicas da formulação Fc2							
Réplica	1	2	3	4	5	6	Unidade
Dureza	0,550	0,481	0,530	0,564	0,594	0,54	N
Adesão	1,005	0,857	0,950	1,091	1,091	0,856	mJ
Coesão	-2,077	-1,718	-1,80	-1,935	-2,021	-2,019	-

($p \geq 0,05$. Teste de ANOVA)

Os resultados das comparações envolvendo esses três parâmetros são discutidos a seguir.

5.2.2.1 Dureza

A adequada propriedade mecânica de dureza avaliada nas formulações Fc1 e Fc2, apresentaram diferença estatisticamente significativa, quando tiveram os seus valores comparados ($p \leq 0,005$. Teste t de Student). Apresentam-se os resultados de dureza através das figuras 20, 21 e 22. As análises estatísticas mostram variações significativas nas formulações Fc1 e Fc2 ($p \leq 0,005$. Teste t de Student).

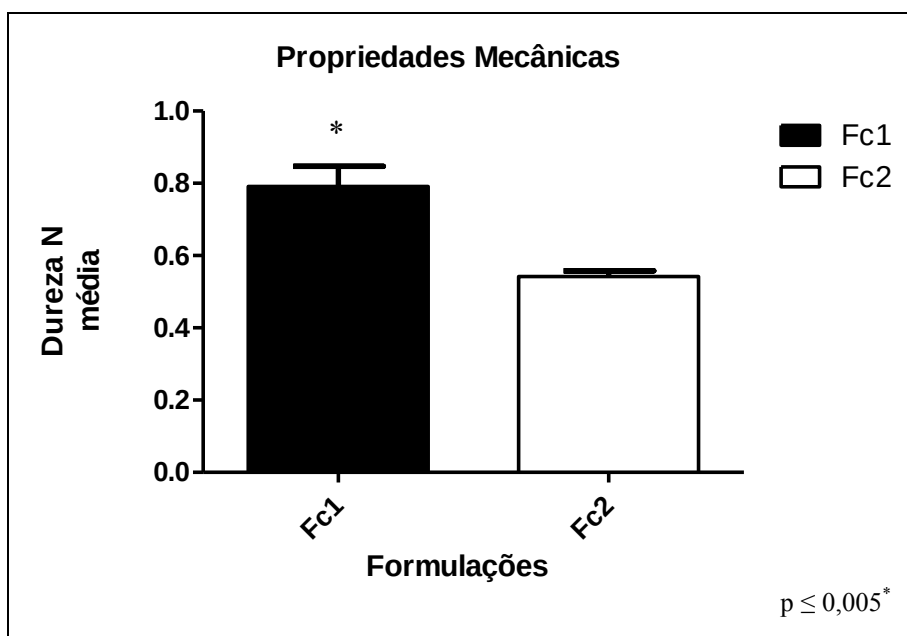


Figura 20 - Gráfico da análise da dureza das formulações Fc1 e Fc2

($p \leq 0,005^*$. Teste t de Student).

5.2.2.2 Adesão

As adequadas propriedades mecânicas adesivas das formulações Fc1 e Fc2, quando comparadas, mostram variações estatisticamente significativas ($p \leq 0,005$. Teste t de Student).

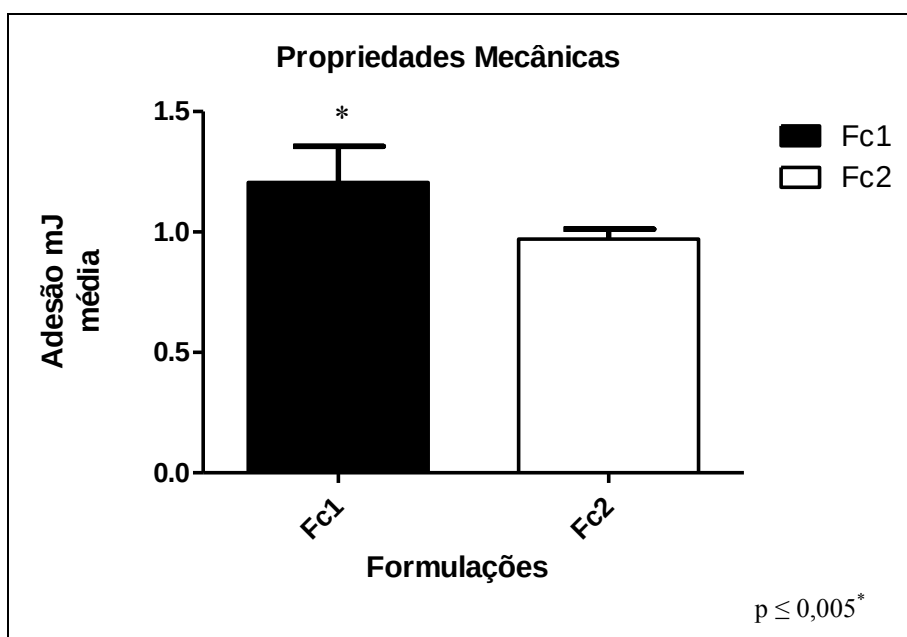


Figura 21 - Gráfico da propriedade mecânica adesão entre as formulações Fc1 e Fc2

($p \leq 0,005^*$. Teste t de Student).

Certamente as diferenças estatísticas das propriedades de dureza e adesão, detectadas nas formulações de Fc1 e Fc2 devem-se à influência da capsaicina, presente na formulação na Fc2.

5.2.2.3 Coesão

As formulações Fc1 e Fc2 apresentaram adequados resultados de coesão. No entanto, quando comparados, os valores não diferem estatisticamente entre si ($p \geq 0,05$. Teste t de Student). A presença da capsaicina na formulação Fc2 não interferiu na propriedade mecânica de coesão, como mostra a figura 24.

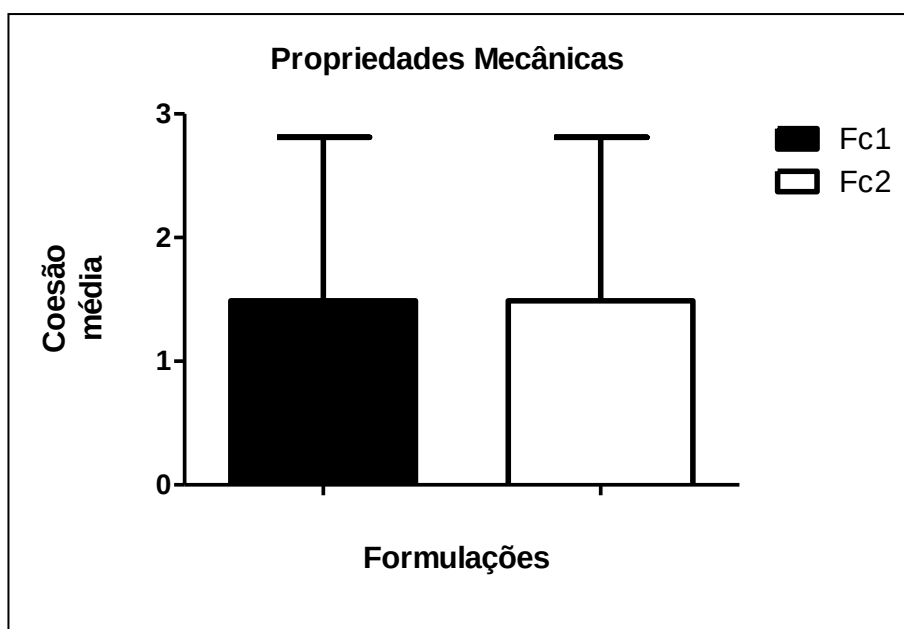


Figura 22 - Gráfico da propriedade mecânica coesão entre as formulações Fc1 e Fc2 ($p \geq 0,05$. Teste t de Student).

As formulações estudadas mantiveram-se estáveis e com adequada textura no decorrer das determinações, uma vez que foi possível a atribuição de valores à caracterização de propriedades mecânicas.

5.2.3 Ensaio de bioadesão

Os resultados do trabalho de bioadesão (APÊNDICE D) foram avaliados por meio da determinação dos parâmetros: força máxima de separação (N) e trabalho de adesão (mJ) das formulações Fc1 e Fc2, os mesmos são observados nas figuras 23 e 24. A análise estatística dos resultados do ensaio de bioadesão demonstra uma influência significativa dos fatores estudados. De acordo com os resultados obtidos no presente ensaio, nota-se que há diferença significativa em relação à força máxima de separação ($p=0,0179$. Teste t de Student), quando comparadas as formulações Fc1 e Fc2. Em relação ao trabalho de adesão, não há diferença estatisticamente significativa entre as formulações, ($p \geq 0,05$. Teste t de Student).

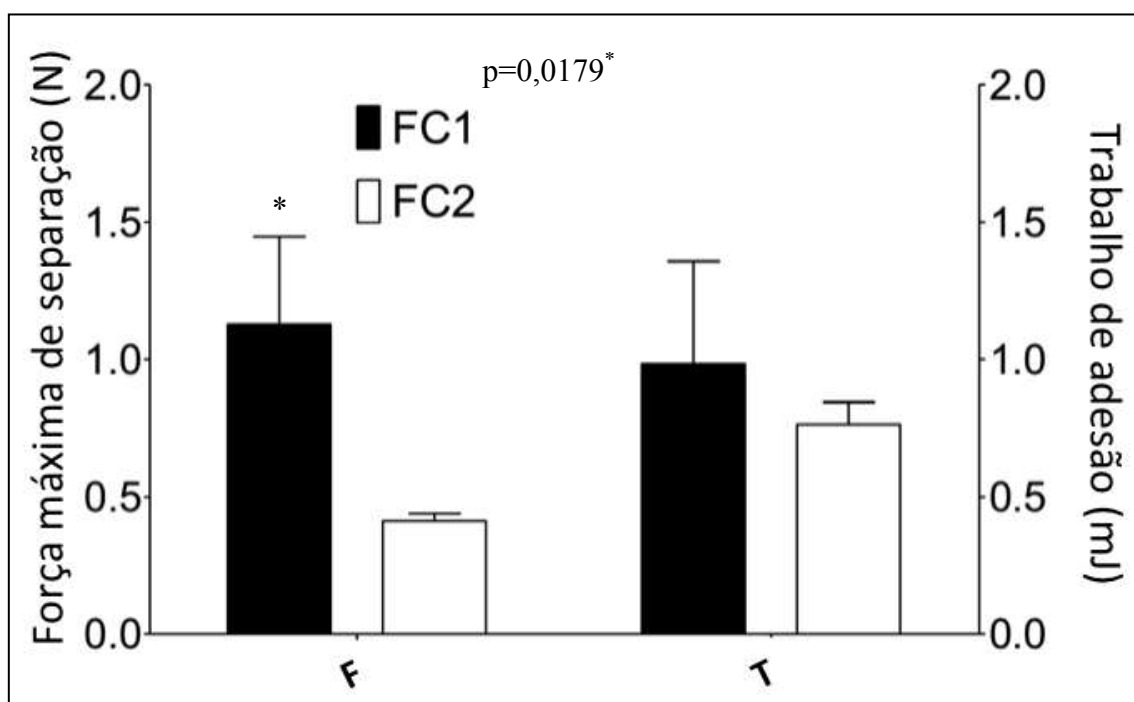


Figura 23 - Gráfico dos resultados força máxima bioadesão Fc1 e Fc2 em mJ.

Força máxima de separação, $p=0,0179^*$. Teste t de Student.

Trabalho de adesão, $p \geq 0,05$. Teste t de Student.

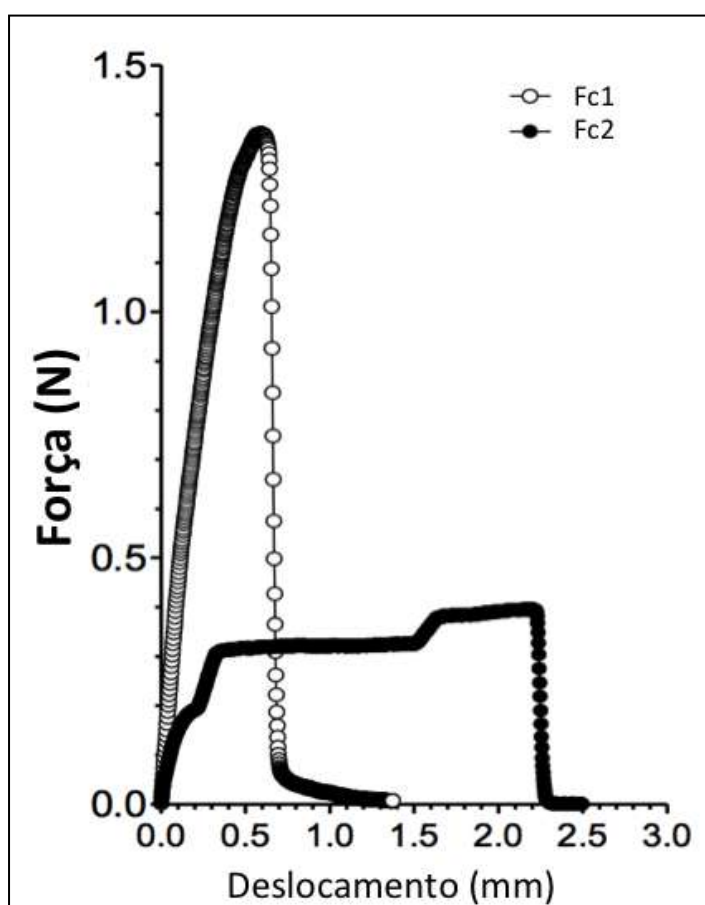


Figura 24 - Gráfico da força e capacidade de deslocamento das formulações Fc1 e Fc2.

$p=0,0179$. Teste t de Student.

5.2.4 Ensaio de difusão (células de Franz)

Para a determinação das possíveis propriedades de liberação da capsaicina a partir da formulação Fc2, foi realizado um estudo de 24 horas. Os resultados são apresentados na figura 25 em que podemos verificar a cinética obtida.

Na formulação Fc2 observou-se uma liberação gradual de capsaicina durante as 8 horas iniciais do ensaio. Após a oitava hora de análise observou-se a possível saturação do receptor à capsaicina no meio, não havendo mais a liberação até as 24 horas de análise. Na formulação Fc1 não se observou a liberação gradual da capsaicina.

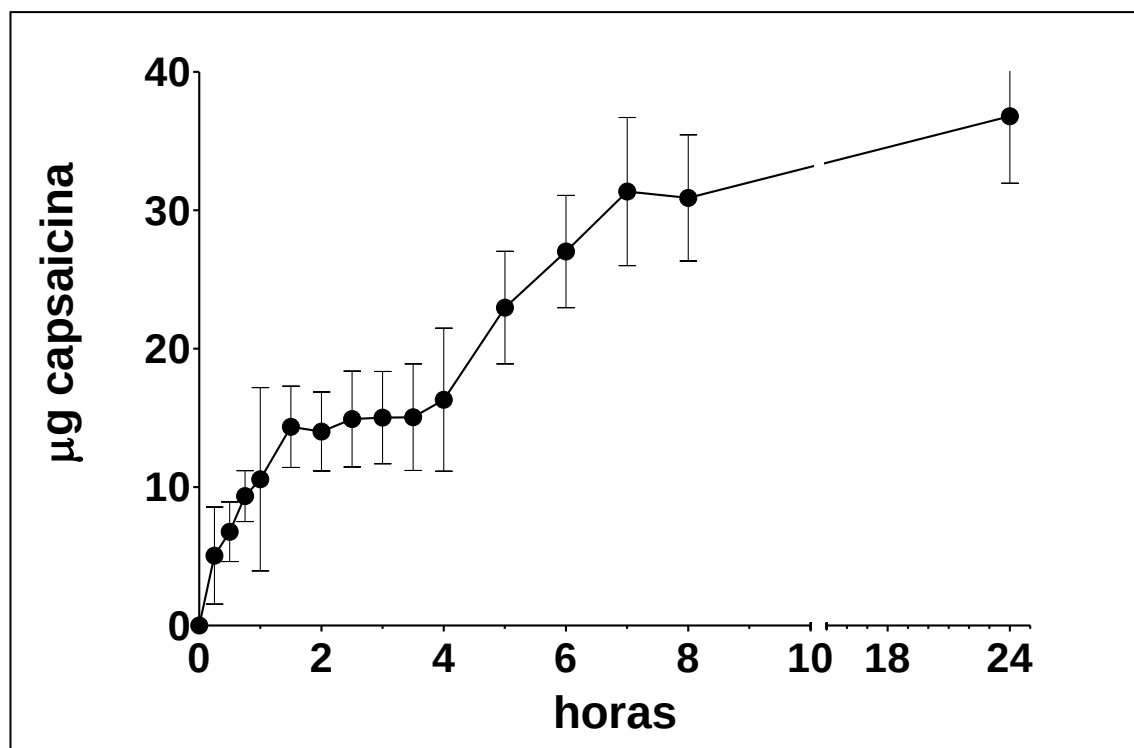


Figura 25 - Gráfico da liberação gradual da capsaicina através das células de Franz.

5.2.5 Densidade

Os valores de densidade das formulações Fc1 e Fc2 foram determinados em diferentes condições de temperatura:

- temperatura ambiente
- estufa a 45 °C
- geladeira a 5 °C

Verificou-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros (temperatura ambiente, estufa a 45°C e geladeira 5°C) de densidades, quando avaliados isoladamente. Quando comparadas às densidades, entre os parâmetros dos grupos Fc1 e Fc2, observa-se também a ausência de diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$. Teste t de Student), os resultados podem ser observados nas tabelas 23, 24 e figura 26.

Tabela 23 - Densidade da formulação Fc1, valores expressos em número absoluto (n) e média

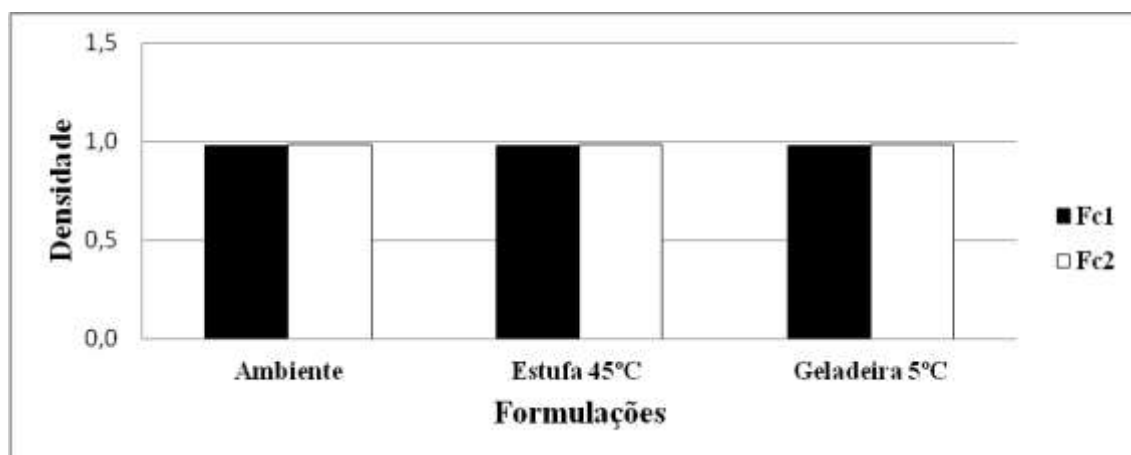
Densidade da Formulação Fc1 (g/cm ³)			
Réplicas	Ambiente	Estufa 45°C	Geladeira 5°C
1	0,982	0,980	0,980
2	0,980	0,981	0,979
3	0,979	0,980	0,980

$p \geq 0,05$. Teste *t* de Student

Tabela 24 - Densidade da formulação Fc2, valores expressos em número absoluto (n) e média.

Densidade da Formulação Fc2 (g/cm ³)			
Réplicas	Ambiente	Estufa 45°C	Geladeira 5°C
1	0,982	0,983	0,983
2	0,983	0,982	0,982
3	0,983	0,983	0,982

$p \geq 0,05$. Teste *t* de Student

**Figura 26** – Gráfico da análise de densidade das formulações Fc1 e Fc2.

$p \geq 0,05$. Teste *t* de Student.

5.2.6 Testes reológicos (viscosidade)

Os resultados dos testes reológicos de viscosidade demonstram que as formulações Fc1 e Fc2 apresentam um comportamento não newtoniano, ou seja, sofreram deformação quando submetidas à tensão de cisalhamento, indicando um importante fenômeno de pseudoplasticidade e de adequada viscosidade. Os resultados dos módulos de frequência angular, na temperatura de 20°C, bem como, das viscosidades a 37°C (APÊNDICE E) demonstram a interferência da capsaicina sobre os mesmos, uma vez que a formulação Fc2 apresenta menor frequência angular e viscosidade. As emulsões foram caracterizadas como tixotrópicas, pois apresentaram diminuição da viscosidade com o cisalhamento. Os adequados parâmetros reológicos das formulações Fc1 e Fc2 foram ilustrados por meio das figuras 27, 28 e 29.

Devido ao comportamento não newtoniano, de um modo geral, as emulsões analisadas apresentaram diminuição do valor de viscosidade com o aumento da tensão aplicada, como pode ser observado na figura 29.

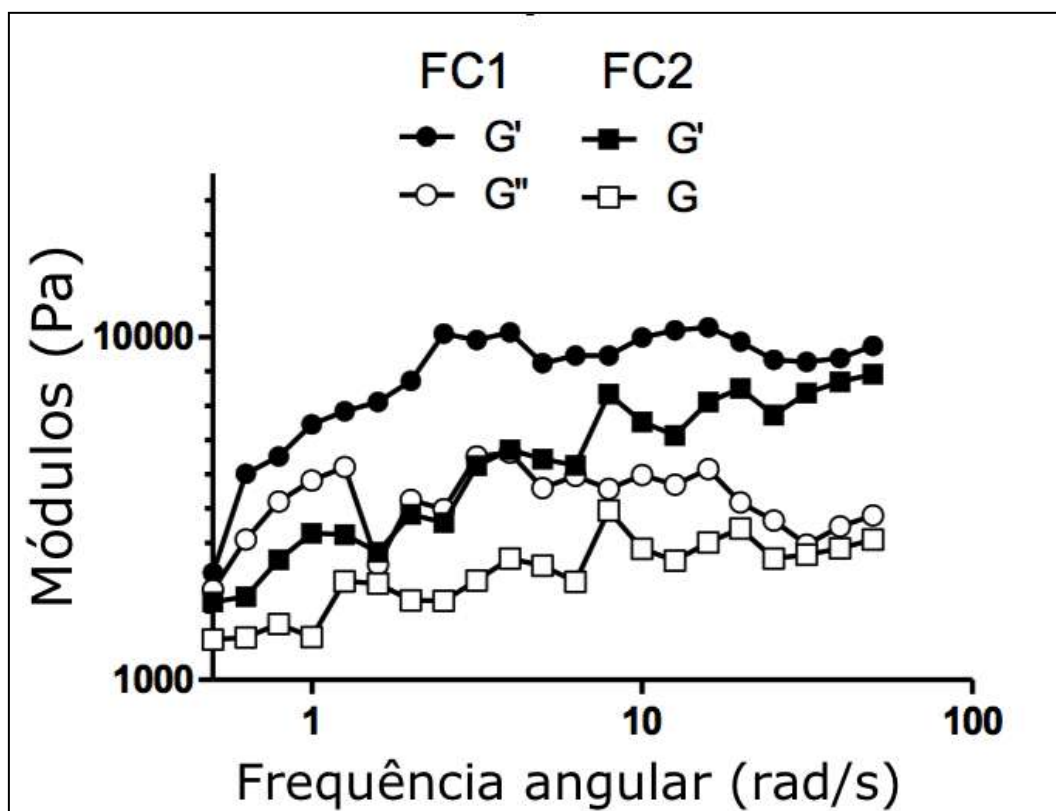


Figura 27 - Gráfico módulos de frequência angular a 20°C das formulações Fc1 e Fc2.

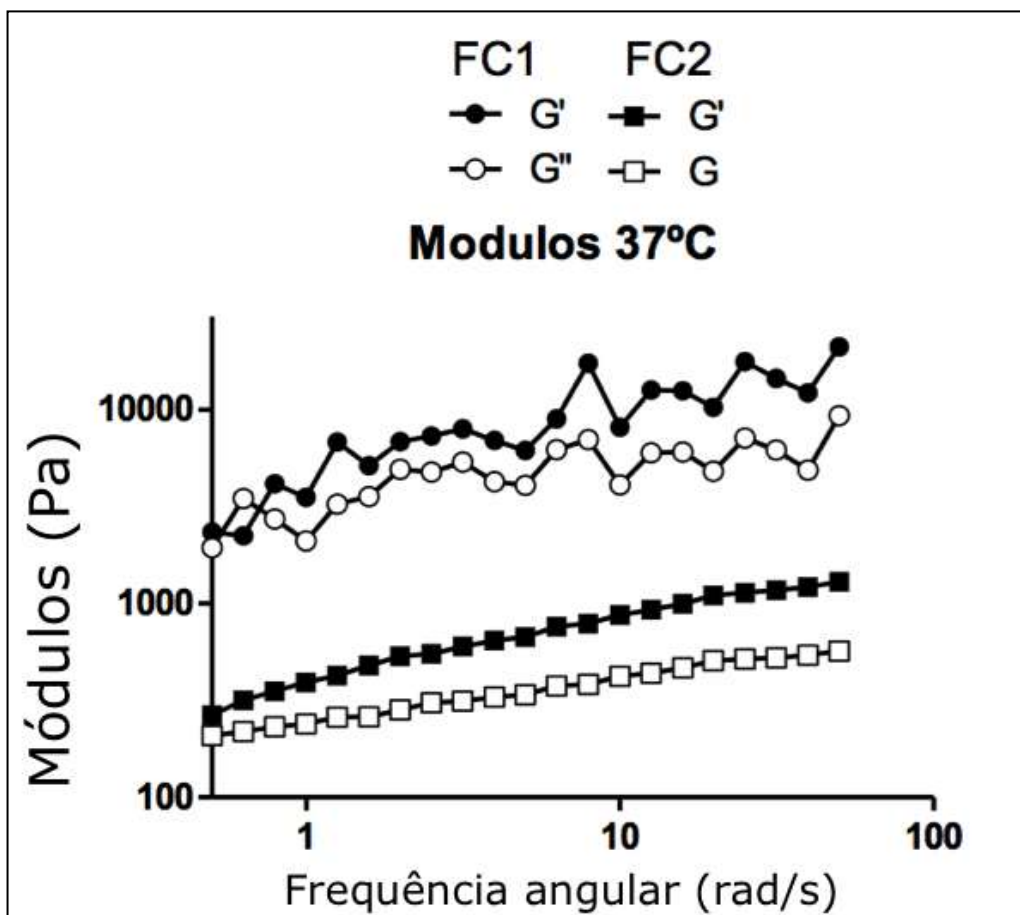


Figura 28 - Gráfico módulos de frequência angular a 37°C das formulações Fc1 e Fc2.

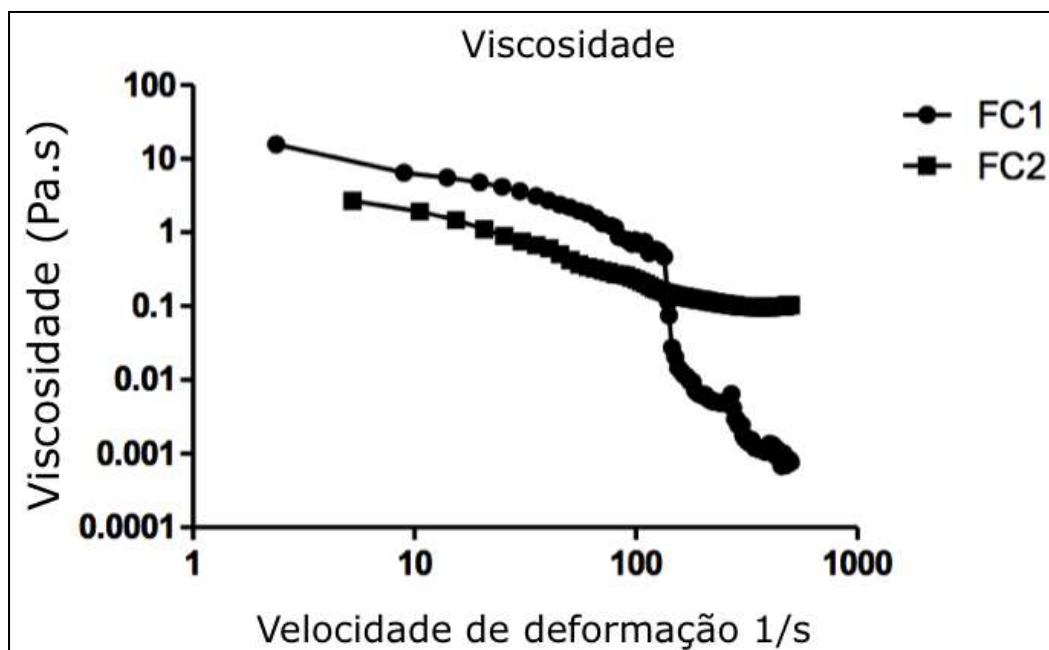


Figura 29 - Gráfico viscosidade a 37°C das formulações Fc1 e Fc2.

5.3 Estudo clínico

5.3.1 Perfil dos pacientes e medicamentos prescritos

Os resultados do perfil dos pacientes com SDM demonstram, que os grupos Fc1 e Fc2, em relação à faixa etária, não apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$. Teste t de Student). Além dessa variável, a distribuição por gênero e as medicações prescritas são mostradas na tabela 25.

Tabela 25 - Perfil dos pacientes com SDM grupos Fc1 e Fc2, resultados expressos em número absoluto (n) e em porcentagem (%)

Perfil dos pacientes com SDM e medicamentos em uso (%)		
Características	Fc1	Fc2
Homens	25	20
Mulheres	75	80
Faixa etária média (anos)	57,80	58,20
Analgésico: metadona, dipirona, codeína, paracetamol, tramadol, metadona, morfina.	90	100
Anti-inflamatório: diclofenaco.	0	10
Relaxante muscular: ciclobenzaprina, baclofeno.	25	10
Antidepressivos: amitriptilina, nortriptilina, venlafaxina, cymbalta, fluoxetina, sertralina, trazodona.	40	40
Benzodiazepínicos, anticonvulsivantes e neurolépticos: clonazepam, citalopram, carbamazepina, gabapentina, pregabalina, bromazepam, haloperidol.	80*	50*

Fc1= grupo placebo Fc2= grupo capsaicina
 $p < 0,001^*$. Teste para Proporção

Em relação aos medicamentos em uso, analgésicos, anti-inflamatórios, relaxantes musculares e antidepressivos, os resultados não indicam diferença significativa entre os valores ($p \geq 0,05$. Teste t de Student). Nota-se apenas diferença estatisticamente significativa em relação ao emprego dos medicamentos benzodiazepínicos, anticonvulsivantes e neurolépticos que, no grupo Fc1, foram mais prescritos (80%) em comparação ao grupo Fc2 (50%), ($p < 0,001$. Teste para Proporção *).

5.3.2 Satisfação com o tratamento 60 minutos após aplicação

No presente estudo, os pacientes foram questionados quanto à satisfação em relação ao tratamento com as formulações Fc1 e Fc2. A figura 30 ilustra esse resultado.

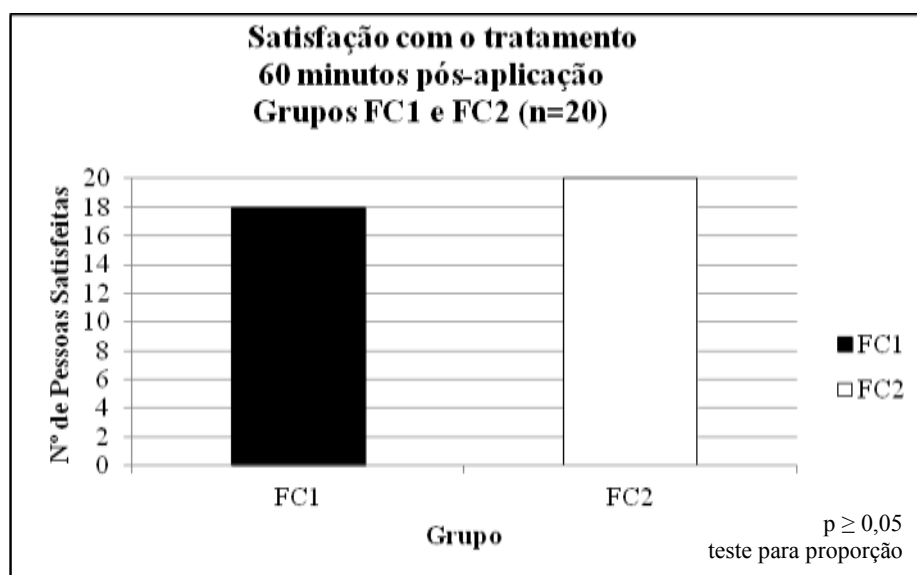


Figura 30 - Satisfação com o tratamento após 60 minutos.

Observa-se que não ocorreu diferença estatisticamente significativa em relação à satisfação com o tratamento, quando comparados os grupos estudados ($p \geq 0,05$. Teste para Proporção).

5.3.3 Queimação local e hiperemia após a aplicação

Para ilustrar a ocorrência local de queimação e hiperemia local, a figura 31 apresenta os momentos da aplicação inicial e pós-aplicação.



Figura 31 - Aplicação e pós-aplicação da formulação Fc2.

Considerando os quatro períodos em que foram avaliados os parâmetros de tolerabilidade à pele (1 minuto e 15, 30 e 60 minutos) para os 20 pacientes, foram realizados um total de 80 observações em cada grupo (Fc1, Fc2). A tabela 26 apresenta os resultados relativos à ocorrência de queimação local em qualquer um dos momentos de observação.

Tabela 26 - Distribuição de frequências dos indivíduos com queimação local, expressos em número absoluto (n) e porcentagem (%)

Grupo (n=20)	Queimação local		Total
	Não	Sim	
Fc1	79 (98,8%)	1 (1,2%)*	80 (100%)
Fc2	28 (35,0%)	52 (65,0%)*	80 (100%)
Total	107 (66,9%)	53 (33,1%)	160 (100%)

p < 0,0001*. Teste *t* de Student

Verifica-se que houve diferença estatisticamente significativa em relação à queimação local após a aplicação, quando comparados os grupos estudados (p < 0,0001*. Teste *t* de Student). O grupo Fc2 apresentou maior percentual (65%) de queimação local. Independente dos grupos para o total de avaliações (160), 66,9% não relataram queimação.

Em relação à hiperemia local, a tabela 27 apresenta os resultados das 80 avaliações em cada grupo, Fc1 e Fc2.

Tabela 27 - Distribuição de frequências dos indivíduos com hiperemia local, expressos em número absoluto (n) e porcentagem (%)

Grupo(n=20)	Hiperemia local		Total
	Sim	Não	
Fc1	-(0,0%)*	80(100%)	80(100%)
Fc2	38(47,5%)*	42(52,5%)	80(100%)
Total	38(24,3%)	112(75,7%)	160(100%)

p <0,0001*. Teste para Proporção

Observa-se a ocorrência de diferença estatisticamente significativa em relação à hiperemia local após a aplicação, quando comparados os grupos estudados (p <0,0001*. Teste para Proporção). O grupo Fc2 apresentou 47,5% de hiperemia local, enquanto o grupo Fc1 não apresentou nenhuma alteração. Totalizadas 24 horas após a aplicação, os pacientes do grupo Fc2 foram contatados via telefone e não apresentaram mais queimação ou hiperemia local. A figura 32 resume os resultados de queimação e hiperemia local encontrados no grupo Fc2.

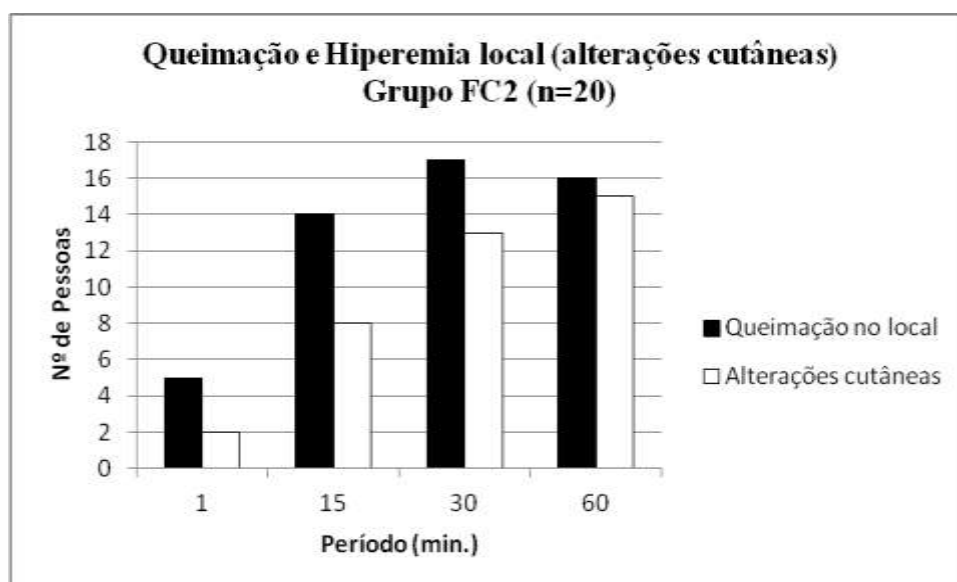


Figura 32 - Queimação e hiperemia local após aplicação no grupo Fc2.

5.3.4 Avaliação da escala numérica verbal de dor (ENV)

5.3.4.1 Comparação da intensidade de dor

A análise da ENV iniciou-se avaliando a dor dos pacientes antes da aplicação das formulações. Na sequência avaliou-se a dor pós-aplicação considerando três situações de intensidade de dor para cada momento avaliado – melhor (M), pior (P) e neste momento (N).

5.3.4.2 Dor antes da aplicação (AAP)

Na avaliação antes da aplicação das formulações, não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$. Teste t de Student) entre os grupos Fc1 e Fc2 considerando a intensidade da dor em três situações (M, P e N), em função da ENV, uma semana antes da aplicação. A tabela 28 apresenta as médias.

Tabela 28 - Intensidade de dor dos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2, uma semana antes da aplicação das respectivas formulações, resultados expressos em média e desvio padrão

Grupos (n=20)	Melhor	Pior	Neste momento
Fc1	3,7 (1,1)	9,2 (1,10)	6,7 (2,0)
Fc2	4,3 (2,2)	9,2 (1,59)	6,8 (2,14)

$p \geq 0,05$. Teste t de Student.

Em continuidade, os resultados de dor (M, P e N) dos pacientes antes da aplicação (AAP) dos cremes, também foram comparados às intensidades de (M, P e N) dor pós-aplicação.

5.3.4.3 Dor pós-aplicação – melhor intensidade de dor

Após a administração das formulações os pacientes foram questionados na ENV em relação à melhor intensidade de dor nos quatro períodos (60 minutos, sete dias, 30 dias e 60 dias). Os resultados em termos de média e desvio padrão são apresentados na tabela 29.

Tabela 29 - Melhor (M) intensidade da dor pós-aplicação baseando-se nos grupos e períodos avaliados, resultados expressos em média e desvio-padrão

Grupos (n=20)	Períodos de avaliação				
	AAP	60 min	7 dias	30 dias	60 dias
Fc1	3,7 (1,1)	3,7 (1,7)	2,7 (2,8)	1,3 (2,9)	1,4 (3,3)
Fc2	4,3 (2,2)*	3,3(2,3)*	1,4 (1,4)	1,7 (1,9)	1,7 (2,9)
Média (desvio-padrão)	4,0 (1,6)	3,5 (2,0)	2,0 (2,3)	1,5 (2,4)	1,5 (3,1)

p < 0,01*. ANOVA com medidas repetidas (uni e multilateral).

Independentemente dos momentos observados não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p \geq 0,05$). No entanto, notou-se diferença estatisticamente significativa entre os períodos avaliados, ($p < 0,01^*$). Essa diferença ocorreu entre os períodos antes da aplicação e 60 minutos, quando comparados com os demais, sendo que, em média, o escore de dor nesses períodos foram superiores. Entre os outros períodos não ocorreram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Na interação entre esses escores, não se observou diferença estatisticamente significativa ($p \geq 0,05$) entre os períodos e os grupos avaliados. A figura 33 ilustra esses resultados.

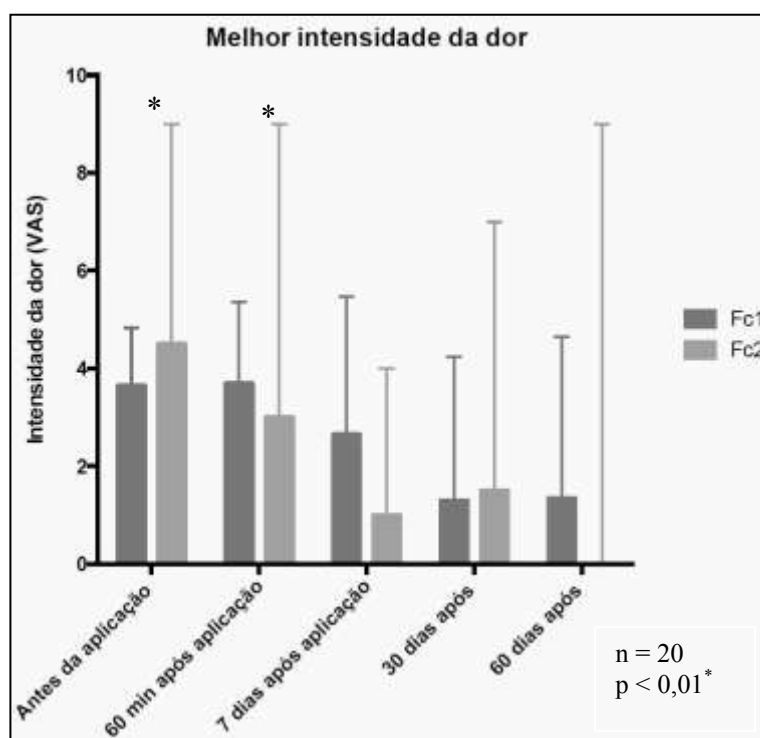


Figura 33 - Melhor intensidade da dor antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.

p < 0,01*. ANOVA

Os resultados dos grupos Fc1 e Fc2 avaliados começaram com médias maiores no primeiro período avaliado e terminaram com médias menores nos últimos períodos.

5.3.4.4 Dor pós-aplicação – Pior intensidade de dor

Após a administração das formulações os pacientes dos grupos Fc1 e Fc2, foram questionados na ENV em relação à pior intensidade de dor nos quatro períodos (60 minutos, sete dias, 30 dias e 60 dias). Os resultados expressos em média e desvio padrão, são apresentados na tabela 30.

Tabela 30 - Médias e desvios-padrão referentes à pior (P) intensidade da dor pós-aplicação baseando-se nos períodos avaliados

Grupos (n=20)	Períodos avaliados				
	AAP	60 min	7 dias	30 dias	60 dias
Fc1	9,2 (1,1)*	8,5 (2,3)*	8,1 (1,5)*	9,8 (0,5)*	9,7 (0,5)*
Fc2	9,2 (1,5)**	6,9 (2,6)	5,0 (1,9)	8,6 (1,0)	8,7 (1,0)**
Média geral de períodos	9,2 (1,3)	7,7 (2,5)	6,5 (2,3)	9,2 (1,0)	9,2 (1,0)

p < 0,01 **, p < 0,0001 *. ANOVA com medidas repetidas (uni e multilateral).

Em relação à pior intensidade de dor pós-aplicação das formulações, observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,0001^*$), sendo que, em média, Fc1 apresentou maior escore de intensidade de dor. Nos períodos, a diferença significativa ($p < 0,01^{**}$) ocorreu no período antes da aplicação e no período avaliado de 60 dias pós-aplicação, com maior média em relação aos demais e, entre os, períodos sete dias e 30 dias, com significância $p = 0,014$. Também se observou diferença estatisticamente significativa quanto à interação dos resultados dos períodos avaliados e dos grupos ($p < 0,05$). Observou-se que, antes da aplicação e do período inicial de pós-aplicação (60 minutos) para o segundo (sete dias) o grupo Fc2 teve queda mais acentuada na intensidade de dor, conforme ilustra a figura 34.

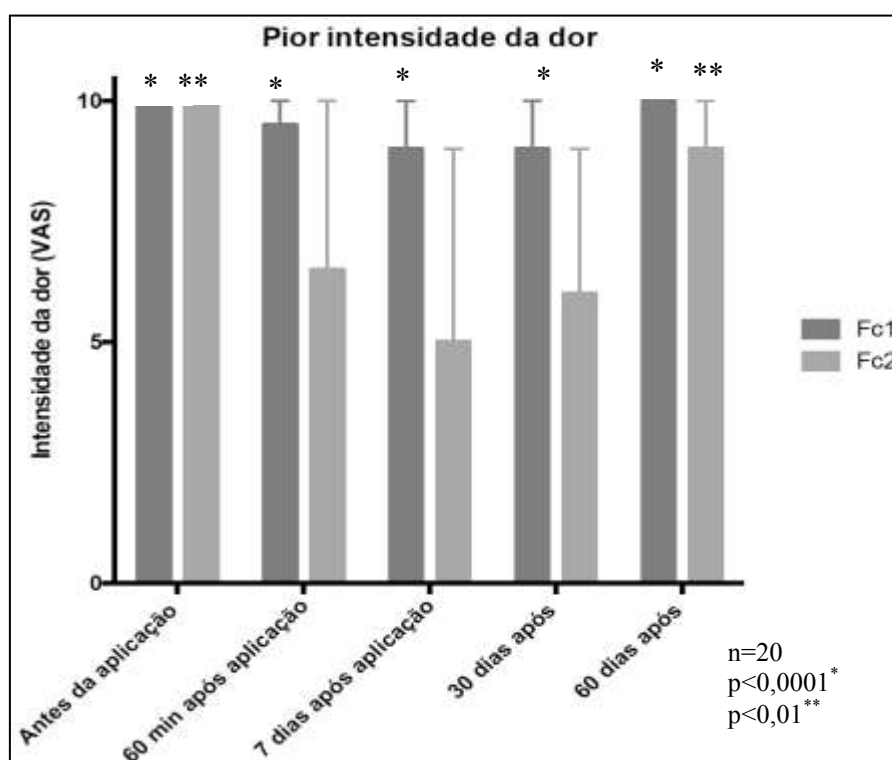


Figura 34 - Pior intensidade da dor antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.
 $p<0,0001^*$, $p<0,01^{**}$. ANOVA

5.3.4.5 Dor pós-aplicação – dor neste momento

Após a administração das formulações os pacientes foram questionados na ENV em relação à dor neste momento, durante os quatro períodos avaliados (60 minutos, sete dias, 30 dias e 60 dias). Os resultados expressos em média e desvio padrão são apresentados na tabela 31.

Tabela 31 - Médias e desvios-padrão referentes à dor neste momento pós-aplicação baseando-se nos grupos e períodos avaliados

Grupos (n=20)	Períodos avaliados				
	AAP	60 min	7 dias	30 dias	60 dias
Fc1	6,7 (2,0)*	3,5 (2,2)*	5,7 (2,5)*	7,8 (2,0)*	8,8 (0,5)*
Fc2	6,8 (2,1)**	2,2 (2,1)	0,7 (1,2)	1,1 (1,2)**	3,8 (3,4)**
Média geral de períodos	6,7 (2,0)	2,8 (2,2)	3,2 (3,2)	4,4 (3,7)	6,3 (3,5)

$p<0,0001^*$, $p<0,0001^{**}$. ANOVA com medidas repetidas (uni e multilateral).

Verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p<0,0001^*$), sendo que no grupo Fc1, em média, os escores de dor foram superiores ao grupo Fc2. Neste caso somente não ocorreu diferença estatisticamente significativa, entre os dois primeiros períodos (60 minutos e sete dias). Entre os demais, antes da aplicação, 30 e 60 dias, notou-se diferença estatisticamente significativa entre os períodos avaliados ($p<0,0001^{**}$). Observou-se, também, diferença estatisticamente significativa relativa à interação dos períodos avaliados e dos grupos ($p<0,0001$). Observa-se que no grupo Fc1 a dor é crescente no decorrer do tempo, enquanto que no grupo Fc2, a dor diminui no início e aumenta no final do período avaliado, conforme ilustra a figura 35.

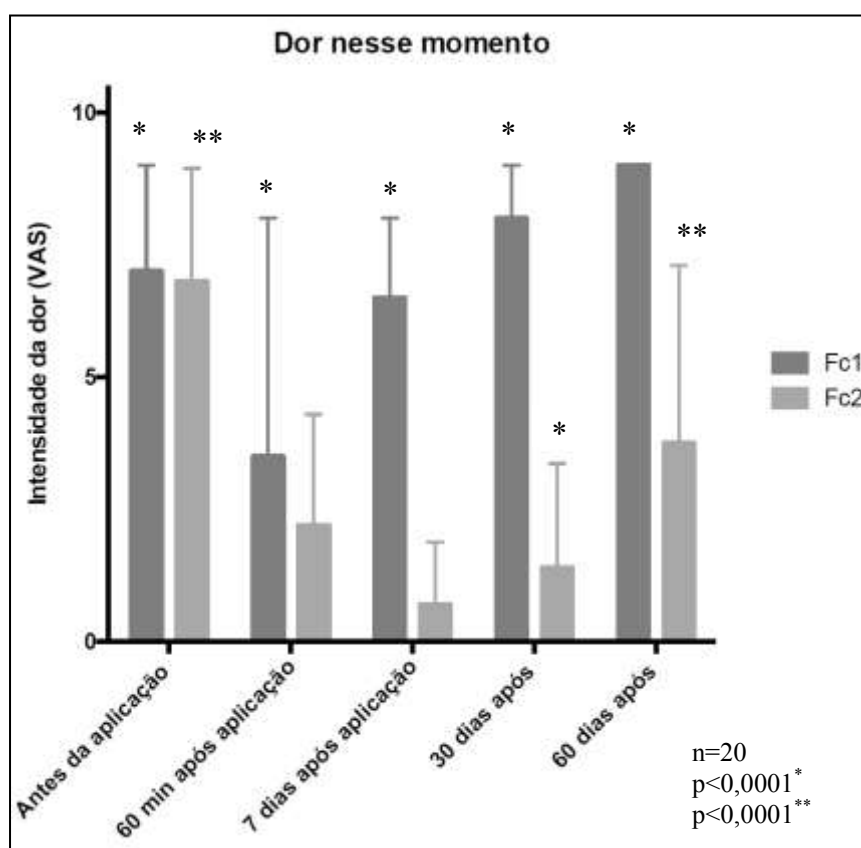


Figura 35 - Dor neste momento antes e pós-aplicação nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2. $p<0,0001^*$, $p<0,0001^{**}$, ANOVA.

O grupo Fc1 apresentou em seus resultados médias superiores ao Fc2 em todos os períodos avaliados.

5.4 Determinação da concentração plasmática de capsaicina através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC)

5.4.1 Otimização do método da determinação da concentração plasmática de capsaicina através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC)

Os resultados da otimização do método são demonstrados a partir da obtenção de quatro curvas-padrão, que foram obtidas em três dias consecutivos a partir das concentrações (pontos) crescentes do padrão analítico de capsaicina, realizada em triplicata, a saber: 1,25; 2,5; 5,0 e 10 µg/mL conforme ilustra o APÊNDICE C. Foram obtidas curvas médias de capsaicina resultando em valores concentração para cada ponto (ICH, 1996). Com a obtenção das médias dos valores das áreas correspondentes aos picos de capsaicina pela CLAE, representada na figura 36, ilustra-se a relação entre as áreas dos picos (Y) e os respectivos níveis de concentração de capsaicina (X). O modelo linear obtido ($Y = A + B * X$) apresenta coeficiente de correlação igual a 0,99978 resultando em um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,999, indicando que o modelo explica 99,9% da relação entre as duas variáveis. Com esse coeficiente pode-se afirmar ($p < 0,0001$) que o modelo é estatisticamente significativo, sendo, portanto apropriado para a aplicação.

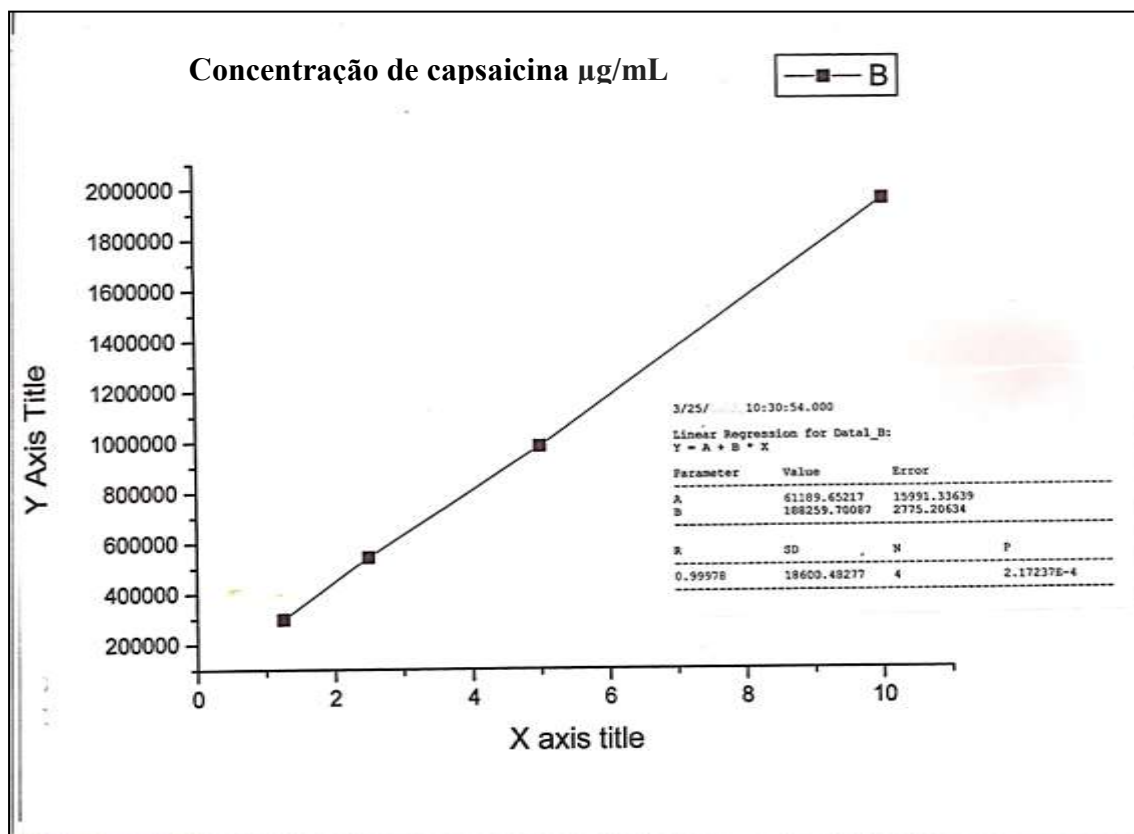


Figura 36 - Curva analítica do padrão de capsaicina (Sigma) nas concentrações de 1,25; 2,5; 5,0 e 10 µg/mL.

Utilizando-se dos resultados obtidos a partir da curva analítica, foi possível determinar a concentração de capsaicina nos plasmas dos pacientes.

5.4.2 Concentrações plasmáticas de capsaicina através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Uma vez obtido o coeficiente de determinação ($R=0.99978$), através da regressão linear, otimizou-se a metodologia para a obtenção da concentração plasmática de capsaicina nos plasmas dos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, conforme a tabela 32 e figura 37. Nota-se diferença estatisticamente significativa quando comparados os grupos, sendo que Fc2 apresenta média superior a Fc1 ($p<0,001$. Teste de Wilcoxon).

Tabela 32 - Resultados da determinação plasmática de capsaicina nos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2.

Pacientes	Determinação plasmática da concentração de capsaicina (µg/mL)	
	Grupo Fc1	Grupo Fc2
1	n/d	0,08
2	n/d	2,53
3	n/d	1,32
4	0,001	1,63
5	n/d	1,60
6	n/d	1,10
7	n/d	0,90
8	n/d	1,64
9	n/d	0,55
10	n/d	0,67
11	n/d	0,44
12	n/d	1,53
13	0,0002	0,06
14	n/d	0,99
15	n/d	0,88
16	n/d	0,18
17	n/d	0,62
18	n/d	0,77
19	n/d	0,32
20	n/d	0,08
Média dos grupos	0,06	0,89

n/d: nada detectado

p<0,001*. Teste de Wilcoxon.

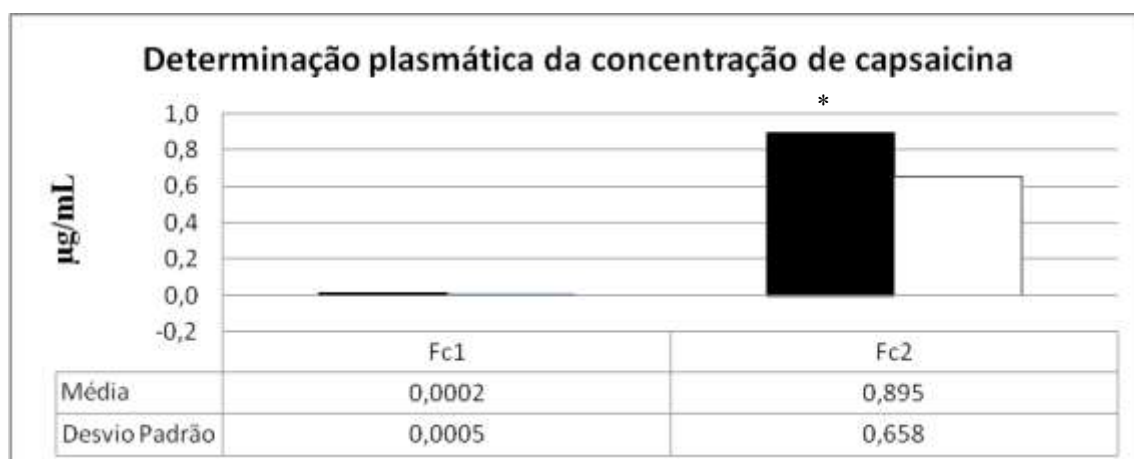


Figura 37 - Gráfico concentração de capsaicina no plasma sanguíneo dos pacientes dos grupos Fc1 e Fc2, os valores foram expressos em média e desvio padrão.

p<0,001*. Teste de Wilcoxon.

5.4.3 Resultados das quantificações das concentrações de capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2 através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) após 10 meses de produção

A metodologia otimizada para a determinação plasmática de capsaicina no plasma sanguíneo dos pacientes submetidos ao tratamento com as formulações Fc1 e Fc2, através do HPLC foi também utilizada para a quantificação da concentração de capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2. Após 10 meses de produção das formulações foi possível quantificar a perda na concentração final em massa do princípio ativo capsaicina. Os resultados, em percentagem da massa final em gramas do princípio ativo, estão apresentados na tabela 33.

Tabela 33 - Concentração da capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2, os valores foram expressos em percentagem e média

Quantificação de capsaicina em 100g da formulação por HPLC (% m/m)		
Médias triplicatas	Formulação Fc1	Formulação Fc2
1	n/d	2,71
2	n/d	2,80
3	n/d	2,61
Média geral	n/d	2,71

% m/m = percentagem, massa/massa
n/d: nada detectado

Comparando-se os resultados das formulações Fc1 e Fc2, observa-se que o valor médio %, quantificado na formulação Fc2 foi de 2,70g de capsaicina em 100g de creme (m/m), notou-se perda de 5,30g de capsaicina após 10 meses de produção. A formulação Fc1 não apresentou nenhuma detecção de capsaicina, quando comparada a formulação Fc2.

6 DISCUSSÃO

6.1 Formulação dos cremes e análises microbiológicas

No desenvolvimento de novas formulações é de extrema relevância a escolha de componentes, ou matérias-primas, de maneira a atingir os critérios desejados, como a eficácia, segurança, estabilidade e aceitação pelo paciente (Fox, 1986; Ayannides e Ktists, 2002). Priorizou-se no presente estudo o desenvolvimento de formulações com características simples, para que apresentassem menor intolerância possível e baixa concentração de componentes oleosos, devido a finalidade do estudo (creme uso tópico ou local).

O tensoativo utilizado, álcool cetosteárilico etoxilado, caracteriza-se como não iônico. Emulsões contendo este tipo de tensoativo são amplamente empregadas em formulações de uso tópico devido às suas características, como a compatibilidade com o pH cutâneo, estabilidade em diversos valores de pH, e possibilidade de incorporação de diferentes substâncias ativas, como por exemplo, a capsaicina (Junginger, 1997). Atualmente tem se priorizado o emprego de matérias-primas que permitam boa estabilidade da formulação, tanto do ponto de vista microbiológico, quanto físico-químico, permitindo prazo de validade viável para comercialização do produto (Leonardi e Matheus, 2004).

Para o desenvolvimento tecnológico de formulações que atendam às exigências e especificações da legislação vigente no país, é indispensável o estabelecimento de protocolos que garantam o controle de qualidade desde a matéria-prima, até a formulação final. Dessa forma, é possível obter um produto tecnologicamente acabado com qualidade assegurada (Toledo et al., 2003; Bassani et al., 2005; Netto et al., 2006; Oliveira et al., 2007). Diante dessa premissa, a primeira etapa deste estudo se deteve na realização de metodologias estabelecidas por protocolos de controle de qualidade microbiológicos, físicos e químicos, conforme preconizam as resoluções RDC n° 67, de 8 de agosto de 2007 e RDC n° 210, de 4 de agosto de 2003, bem como, os ensaios reológicos que também asseguram a qualidade das formulações de uso tópico.

No presente estudo, em relação ao controle microbiológico realizado, as análises microbiológicas dos micro-organismos mesófilos e psicrófilos, classificados como micro-organismos deteriorantes, não apresentaram em seus resultados o aparecimento de colônias mesófilas e psicrófilas dentro dos períodos estabelecidos. Em relação às análises de coliformes totais e fecais houve a ausência de gás no tudo Durhan, Por esse motivo não se executou a sequência de análises em tubos contendo caldo verde brilhante (confirmatório para coliformes totais) e caldo EC (confirmatório para coliformes fecais) foram observados resultados negativos. Em sequência aos necessários testes microbiológicos, após a pesquisa dos micro-organismos patogênicos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* nos períodos estabelecidos pela metodologia, observou-se que as formulações Fc1 e Fc2 apresentaram ausência do crescimento desses micro-organismos. Os resultados das análises microbiológicas negativas evidenciaram a segurança microbiana das formulações tanto Fc1, como Fc2, em acordo com as legislações vigentes. O controle microbiológico assegura uma produção de boa qualidade, livre de determinados micro-organismos, principalmente os potencialmente prejudiciais ao usuário, bem como garante uma preparação adequada, que permaneça como tal, mesmo após uso contínuo pelo consumidor (Carturan, 1999).

6.2 Teste de eficácia de conservantes - *Challenge test*

Para estudos de eficácia, segurança e estabilidade microbiológica de uma formulação, geralmente, recomenda-se o ensaio de eficácia para o sistema conservante. Esse teste deve ser feito quando o produto for susceptível à contaminação potencialmente perigosa ao consumidor (Pinto et al., 2003). No presente estudo as formulações Fc1 e Fc2 apresentaram em suas composições em quantidades iguais, os conservantes metilparabeno e propilparabeno. Para o desenvolvimento de um produto, seja farmacêutico ou cosmético, é necessário estipular o conservante, como realizado com as formulações Fc1 e Fc2 desenvolvidas. No entanto, para definir qual conservante será ideal à determinada formulação, é relevante que se execute esse teste, a fim de se determinar substância química e a concentração mínima efetiva para garantir que o produto se mantenha sem contaminação, conforme a legislação específica, durante sua fabricação, na embalagem e distribuição, além de resistir a possíveis contaminações introduzidas pelo usuário em função do mau uso (Introini, 1985; Curry, 1987; CTFA,

1990; Orth, 1993, Pinto et al 2003; Russel, 2003). Mesmo as formulações Fc1 e Fc2 tendo sido administradas no âmbito hospitalar, por profissionais treinados e paramentados, a realização desse teste foi vital para atender às legislações específicas e oferecer a adequada segurança do produto final aos pacientes.

Neste teste, conhecido por *Challenge* ou “Desafio”, inóculos de $10^5 - 10^6$ de bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e dos fungos *Aspergillus niger* e *Candida Albicans*, esses micro-organismos são inoculados no conservante ou nas formulações que os contenham, sendo feito um acompanhamento da viabilidade dos mesmos nos tempos de incubação de 7, 14 e 28 dias (USP XXVII, 2004). Nos intervalos de tempos estabelecidos pela metodologia, as formulações Fc1 e Fc2 do presente estudo foram propositalmente contaminadas com cargas microbianas de micro-organismos testes, deteriorantes e patogênicos, e contagem em placa de Petri das Unidades Formadoras de Colônia (UFC), em diferentes tempos. Os resultados comprovaram a eficácia dos sistemas conservantes utilizados nas formulações Fc1 e Fc2, conferindo proteção satisfatória às mesmas. Segundo Pinto et al. (2003), é aceitável que a carga microbiana de um produto não estéril mantenha-se dentro dos limites estabelecidos pelos compêndios oficiais com o tempo de armazenamento (vida útil), entretanto, não é desejável que aumente.

Considerando a relevância em se preparar emulsões tópicas seguras do ponto de vista microbiano, é de suma importância comprovar a segurança de seus sistemas conservantes, conforme realizado no presente estudo.

6.3 Teste de estabilidade das formulações

6.3.1 Características organolépticas

A análise macroscópica foi utilizada para seleção da formulação, visto que a avaliação visual da formulação é um método claro de detecção de separação de fases ou instabilidade podendo fornecer importantes informações, como separação de fases (Idson, 1993). A instabilidade que pode ocorrer em sistemas emulsionados, como as formulações Fc1 e Fc2 desenvolvidas no presente estudo, pode se manifestar sob a forma de sedimentação, floculação e coalescência o que, por sua vez, resultaria em

separação de fases comprometendo a qualidade dos cremes desenvolvidos (Aulton, 2005).

Todavia, não foi observada nenhuma alteração nas características organolépticas das formulações Fc1 e Fc2 quanto ao aspecto (homogeneidade), odor, cor ou separação das fases, durante todo o período da realização de todos os ensaios microbiológicos, físicos e químicos.

Segundo Barry (2002), é desejável que as formulações tópicas tenham aparência homogênea, límpida e com odor agradável, proporcionando melhora na aceitação, e consequente aderência, do paciente ao tratamento. As formulações Fc1 e Fc2 apresentaram aparência homogênea, límpida e com odor típico. A formulação Fc2 apresentou o odor picante e a cor amarela clara, devido à presença da matéria-prima capsaicina na sua composição. Já a formulação Fc1 se apresentou de cor branca e inodora, pois se trata do creme base, sem a adição da capsaicina. As formulações não apresentaram nenhuma modificação visível.

6.3.2 Estabilidade

O ensaio de estabilidade representa uma fase fundamental e crucial no desenvolvimento e avaliação de medicamentos, pois a instabilidade de uma formulação ou preparação farmacêutica modifica requisitos essenciais como a qualidade, segurança e eficácia (Bilia et al., 2001). Partindo desse pressuposto, o teste de estabilidade do presente estudo direcionou o desenvolvimento das formulações, as quais foram submetidas a condições extremas de temperatura durante 105 dias visando acelerar possíveis processos de instabilidade. Em ambas as formulações, Fc1 e Fc2, desde o período inicial até o 105º dia de análise, não foram observadas manifestações de instabilidade.

Para a avaliação da estabilidade um importante parâmetro foi o valor de pH obtido por potenciometria direta em diferentes condições de temperatura. Os valores de pH de Fc1 e Fc2 em temperaturas de ambiente, estufa e geladeira, avaliados separadamente, foram semelhantes apesar do estresse térmico sofrido pelas amostras e o processo de envelhecimento ocasionado pela estufa. A formulação Fc2 apresenta maiores valores de pH, quando comparadas ao grupo Fc1, devido a presença da capsaicina em sua composição. A capsaicina em suspensão aquosa saturada apresenta

um valor de pH de aproximadamente 6,4 (ANEXO F). Portanto, presume-se que as formulações Fc1 e Fc2, não apresentaram mudanças relevantes no pH durante esses ensaios, o que caracteriza um indicativo da estabilidade das mesmas.

A análise do pH é necessária para a detecção de alterações de estabilidade e para assegurar que o valor de pH esteja compatível com os componentes da formulação e com o local de aplicação, como a pele, evitando, dessa forma, irritações (Azzini, 1999; Charro, 1997). Observou-se através dos resultados do presente estudo, que não houve grandes variações de pH entre as formulações e que os valores apresentam-se compatíveis ao pH levemente ácido da pele 4,6 a 5,8 (Rodrigues, 1995; Pinto et al., 1997).

A realização do estudo de estabilidade acelerada foi primordial para o desenvolvimento das formulações propostas, pois possibilitou a obtenção de resultados satisfatórios quanto à estabilidade das formulações Fc1 e Fc2 em um curto intervalo de tempo, desde a sua composição inicial. Uma das situações mais críticas no desenvolvimento de formulações farmacêuticas semi-sólidas é o relevante número de incompatibilidades que podem ocorrer, simultaneamente ou não, entre os princípios ativos e os excipientes (Isaac et al., 2008; Lima et al., 2008). No caso de formulações contendo ativos em altas concentrações, e ou provenientes de produtos naturais como a capsaicina no presente estudo, as incompatibilidades geralmente acontecem entre os constituintes do creme base após a incorporação de extratos, tinturas ou ativos naturais. Essas incompatibilidades se manifestam por meio de processos de instabilidade como turbidez, precipitação, cristalização e em alterações de cor, odor e viscosidade (Zague, 2008; Ferreira e Leite, 2008). As formulações Fc1 e Fc2 apresentaram-se estáveis, possibilitando a continuidade da pesquisa.

6.4 Propriedades mecânicas

6.4.1 Dureza, coesão, adesão e ensaio de bioadesão

A resistência das formulações mediante a uma força foi demonstrada por meio dos resultados da análise de dureza. A formulação Fc1 apresentou maior propriedade mecânica de dureza, quando comparada à formulação Fc2. Acredita-se que a capsaicina,

presente na formulação Fc2 tenha exercido influência significativa na formulação diminuindo a sua dureza.

A força de adesão baseia-se em interações físico-químicas onde a dinâmica da energia de superfície desempenha um importante papel (Ferrarini et al 2007). A Formulação Fc1 apresentou maior adesão quando comparada à formulação Fc2. A capsaicina, presente na formulação Fc2 exerce, dessa forma, influência significativa na propriedade de adesão. A adição de capsaicina à formulação Fc2, entretanto, não altera a coesão, não sendo observadas diferenças significativas entre as formulações. Gago, 2013, afirma em estudo de comparação das propriedades mecânicas que as emulsões apresentam valores maiores de dureza, adesão e coesão, quando comparadas aos géis e à água.

A capacidade da formulação em aderir-se a um tecido vivo, ou a um substrato substituto (nesse caso pele curtida de cabra), bioadesão, pode ser evidenciada nas formulações. Para que se estabeleçam as uniões bioadesivas é necessário que os cremes se estendam durante a fase de compressão, sobre o substrato, ocupando a maior superfície possível. As formulações do presente estudo apresentaram diferenças em relação à força máxima, ou seja, a capsaicina interferiu nessa propriedade em Fc2, ocasionando alteração na consistência do creme quando comparado ao Fc1. Os resultados obtidos nas análises das propriedades mecânicas das formulações Fc1 e Fc2 demonstram que as formulações se mantiveram estáveis no decorrer dos ensaios e apresentam adequada textura.

6.5 Ensaio de difusão (células de Franz)

Nesse ensaio, foi possível avaliar a cinética de liberação *in vitro* da capsaicina durante oito horas. Na formulação Fc1 não foi observada a liberação da capsaicina, pois a mesma não apresenta a citada substância em sua composição. As formulações de uso tópico consistem em sistemas complexos, de modo que a liberação do fármaco a partir de um veículo tem sido bastante investigada (Freitas, 2005). A liberação *in vitro* de fármacos presentes em formulações de uso tópico pode ser determinada aplicando-se uma metodologia que preconiza um modelo bicompartimental, conhecido como célula de difusão vertical, e membrana sintética (Haigh e Smith, 1994), por não oferecerem resistência à passagem do fármaco do compartimento doador para o compartimento

receptor. Assim, permite a quantificação do fármaco em função da partição entre veículo e a solução receptora.

Finalizadas às oito horas de análises, não mais se detectou a liberação de capsaicina, pois ocorreu a saturação do receptor. Ao final do ensaio pode-se inferir que o creme base apresentou adequada excipiência à capsaicina. Em outro estudo *in vitro* foi avaliada a liberação da capsaicina, por meio das células de Franz, com pele de espessura completa. Após 60 minutos de exposição a adesivo com alta concentração de capsaicina, aproximadamente 0,9% do conteúdo total de capsaicina foi recuperado da pele após 240 minutos de análise. No mesmo estudo, ao avaliar a biodisponibilidade, afirma-se que aproximadamente 1% da capsaicina presente em adesivo pode se solubilizar na pele (CHMP assessment report for Qutenza® EPAR, 2009).

6.6 Densidade

Visto que a densidade pode estar relacionada ao controle de aeração da formulação (Sanctis, 1999), com a descaracterização das propriedades físicas de uma forma farmacêutica semi-sólida, nota-se a importância dessa determinação para novas formulações.

A densidade relativa é a relação entre a densidade absoluta da amostra e a densidade absoluta de uma substância usada como padrão. Quando a água é utilizada como substância padrão, a densidade determinada é a densidade específica (Brasil, 2007). As determinações da densidade foram realizadas em triplicatas, em diferentes condições de temperatura para ambas as formulações e que não apresentaram diferenças significativas. Corroboram com nossos achados aqueles publicados por Isaac et al., 2008, que determinaram que não existem variações significativas entre as comparações dos valores de densidade de sistemas emulsionados e não emulsionados.

O valor da densidade da água detectado, parâmetro para essa variável, foi de 1,01 g/cm³. As formulações Fc1 e Fc2 apresentaram valores de densidade próximos aos mensurados para a água.

6.7 Ensaios reológicos

6.7.1 Viscosidade

Quando uma formulação emulsionada é administrada sobre a pele, certamente esta será espalhada sobre a superfície da mesma. O revestimento do epitélio, a área de aplicação, bem como o tempo de exposição, são fatores importantes para a liberação do fármaco ou para proporcionar uma proteção adequada para a superfície da pele. Este comportamento é altamente dependente das propriedades reológicas do sistema, e influencia a sua propagação, a viscosidade e o tempo de residência na pele.

O comportamento reológico esperado de um sistema emulsivo O/A é não newtoniano e os fenômenos de cisalhamento deste tipo de sistema são dependentes do teor da fase dispersa, assim como da forma e do tamanho da fase aquosa (Choi et al., 2009). Os dados de viscosidade das formulações Fc1 e Fc2 confirmam o comportamento não newtoniano com pseudoplasticidade e tixotropia, o que lhes confere adequada reologia.

A tixotropia está relacionada com a deformação da amostra durante a aplicação, ou seja, quando submetida a uma tensão. Assim, quanto mais tixotrópica a amostra, maior sua deformação, possibilitando maior espalhabilidade da formulação quando aplicada na pele, e o inverso é verdadeiro. Após a aplicação, a emulsão com caráter tixotrópico recupera sua viscosidade, o que evita que o produto escorra. Além disso, uma formulação tixotrópica tende a ter maior vida de prateleira, pois durante o armazenamento apresenta viscosidade constante, o que dificulta a separação dos constituintes da formulação (Martin et al., 1993).

Essas análises de estabilidade física através de estudos reológicos são de suma importância, pois, segundo Almeida e Bahia (2003), cada categoria de formulação deve apresentar comportamento reológico adequado à sua aplicação. As formulações Fc1 e Fc2 desenvolvidas e avaliadas no presente estudo apresentaram diminuição da resistência do material ao escoamento, com o aumento da velocidade de deformação, típicos de uma emulsão estável.

6.8 Estudo clínico

Os pacientes com SDM incluídos no presente estudo apresentaram característica clínicas semelhantes àsquelas de indivíduos incluídos em outras publicações. Estudos realizados em centros de dor e em clínicas de diversas especialidades indicam que a incidência de SDM é de 21% a 93% em indivíduos que apresentam queixas de dor generalizada (Fishbain et al., 1986; Gerwin, 1995; Glogowski e Wallraff, 1951; Newham e Mills, 1999; Rosomoff et al., 1989; Schiffman et al., 1990).

A faixa etária média dos pacientes participantes do presente estudo foi de 57 a 58 anos. Estudo realizado em um serviço de reabilitação demonstrou haver maior prevalência de SDM em doentes com idades compreendidas entre 31 a 50 anos (Kraft et al., 1968). Este dado coincide com os de Travell e Simons (1998) e sugere que os indivíduos em idade laboral são os mais acometidos pela SDM. No entanto, a maioria dos pacientes que concordaram em participar da presente pesquisa possuíam idade acima de 50 anos. No Brasil as mulheres de meia-idade são mais propensas a apresentarem a SDM (3:1) em comparação ao sexo masculino, principalmente na faixa etária de 30 a 49 anos (Kraychete e Rocha, 2005).

A maioria os sujeitos com SDM admitidos no presente estudo, em ambos os grupos, era do sexo feminino. Sola et al. (1955) observaram que haviam PG latentes na musculatura da cintura escapular em 54% dos indivíduos do sexo feminino portadores de SDM e em 45% daqueles do sexo masculino. Em um estudo de epidemiologia clínica, realizado no Centro de Dor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, também foi observada maior prevalência da SDM no sexo feminino. Na maioria desses indivíduos o acometimento ocorreu em mais de um segmento corpóreo (Yeng et al., 2003).

Notáveis aspectos como a dor, as incapacidades geradas pela SDM, a cronicidade da condição e algumas experiências terapêuticas frustradas tendem a produzir nos pacientes alguma resistência a novas propostas de tratamento. Principalmente quando não lhes pode ser garantido efetividade, com relativo grau de confiança. Vários pacientes foram convidados a participar do presente estudo, mas muitos se recusaram por não haver garantia de resolução do problema. Associa-se a esse fato o ceticismo dos pacientes de que a aplicação de um derivado de pimenta pudesse aliviar a SDM. Os sujeitos que concordaram e foram admitidos ao estudo

demonstravam muita esperança em que algo desconhecido que lhes seria administrado, pudesse aliviar suas dores. Afirmam Flores et al., 2012 que estima-se para cada 10 pacientes, um tende a abandonar a terapêutica local com capsaicina devido ao aparecimento de sintomas e sinais locais. Ademais, por causa destes efeitos irritantes, torna-se difícil realizar ensaios clínicos com esta medicação, dificultando o encobrimento do estudo.

Os pacientes do presente estudo já se encontravam em vigência de terapia medicamentosa, prescrita pelos médicos da TACP, na sua maioria medicamentos analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais, antidepressivos, benzodiazepínicos, relaxantes musculares, anticonvulsivantes e neurolépticos.

Os antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, clorimipramina, nortriptilina) na dose de 25 a 100 mg ao dia ou alguns inibidores seletivos de recaptção de serotonina e de noradrenalina (duloxetina, venfalaxina, mirtazapina) são agentes que, além de analgésicos, normalizam o padrão do sono e relaxam os músculos.

Recentemente os gabapentinoides também têm sido utilizados no controle da SDM (Yeng et al., 2003). Observou-se, nos resultados do presente estudo, que os pacientes do grupo Fc1 eram aqueles em que os benzodiazepínicos, anticonvulsivantes e neurolépticos, eram mais frequentemente prescritos, quando comparados aos pacientes do grupo Fc2. As outras medicações prescritas apresentaram distribuição homogênea entre os grupos.

Afirmam Kraychete e Rocha (2005) que outros fármacos devem ser utilizados como adjuvantes na SDM. A capsaicina, os benzodiazepínicos, os antagonistas do receptor NMDA, os anti-inflamatórios, o magnésio, o complexo B e a cafeína, no entanto, não possuem evidência suficiente na literatura que justifiquem o seu emprego. O presente estudo avalia a potencial relevância da utilização da capsaicina tópica em altas concentrações no tratamento da SDM.

Os capsaicinoides (capsaicina e dihidrocapsaicina) são as substâncias responsáveis pelo sabor picante presente nas pimentas do gênero *capsicum*, e pela irritabilidade de peles e mucosas resultantes do seu uso tópico. A formulação comercial de capsaicina se encontra na forma de pomada contendo 0,025% ou 0,075% de ativo (Contri, 2010). Para o alívio da dor, conforme afirmam Mason et al. (2004) e Simpson et al. (2010), as formulações de capsaicina em baixas concentrações necessitam de várias semanas de aplicações para o alívio da dor. No entanto, devido às reações

cutâneas locais de ardência, queimação e eritema, muitos pacientes acabam por abandonar o tratamento antes desse período.

Recentemente foi aprovado pelo *Food and Drugs Administration* (FDA), Estados Unidos, um adesivo dérmico de capsaicina contendo altas concentrações de ativo, para casos de neuralgia pós-herpética. Os efeitos adversos mais comumente citados na literatura foram reações transitórias de eritema, prurido e dor. Essas reações cutâneas não foram graves e resolveram-se espontaneamente até sete dias após a aplicação (European Medicines Agency, 2011).

No presente estudo observou-se queimação e hiperemia cutânea local em 48% dos pacientes 15 minutos após a administração da formulação Fc2. Essas reações cutâneas desapareceram 24 horas após a administração sem ocorrência de lesão residual. Os pacientes que receberam a formulação Fc1 não apresentaram qualquer alteração cutânea.

As quantidades das formulações administradas foram um total de aproximadamente 10 g para cada paciente, no PG previamente demarcado através de um molde plástico de 24 mm de diâmetro. Em cada 10 gramas de formulação Fc2 foram administrados 0,87 g de capsaicina nos PG. Vale ressaltar que imediatamente após o tempo pré-determinado de aplicação, e contato com a pele, os PG foram limpos com gel próprio utilizando gaze seca sob supervisão médica. Não existe antídoto para a capsaicina em casos de sobredoses (Ficha técnica de Qutenza, 2010).

Estudos de toxicidade da capsaicina com maior tempo de exposição maior que 30 minutos foram realizados em ratos, camundongos e porcos, sem que seja evidenciada toxicidade. Comprovou-se que a absorção cutânea da capsaicina em ratos é maior, quando comparada à pele humana. Em torno de 70% da capsaicina presente no adesivo se transfere para a pele e outros tecidos (Fang et al., 1995; European Medicines Agency, 2011). Não foram notificados nos sujeitos do presente estudo qualquer sinal de toxicidade ou fototoxicidade durante ou após as aplicações das formulações Fc1 e Fc2. Também em ratos não foi constatado potencial fototóxico da capsaicina (Ficha técnica de Qutenza, 2010).

A capsaicina é um fármaco analgésico usado tipicamente no tratamento de dores de origem neuropática, como a neuropatia diabética e neuralgia pós-herpética, assim como na osteoartrite, na artrite reumatoide, bem como no tratamento sintomático de

psoríase (Zi et al., 2008). Até o presente momento, não existem estudos farmacocinéticos da capsaicina em alta concentração em pacientes portadores de SDM.

Ela se liga ao receptor TRPV1 presente nos nervos periféricos, levando a um influxo de cálcio e liberação de neuropeptídeos inflamatórios, o que está associado com as propriedades irritantes da capsaicina. Além disso, a liberação aguda da substância P leva a uma hiperalgesia inicial, que com a continuidade do tratamento é seguida por depleção de tal substância. Após aplicações repetidas por um período variável, o local apresenta diminuição da sensibilidade e bloqueio a estímulos dolorosos, resultando em dessensibilização (reversível com a suspensão do uso) ou lesão reversível da fibra, dependendo das doses e da duração da exposição (Erin et al., 2009; Hayman e Kam, 2008).

Os resultados do presente estudo corroboram com a atividade farmacodinâmica da capsaicina, uma vez que alguns pacientes apresentaram diminuição na intensidade da dor até 60 dias após a aplicação, podendo ter havido uma possível dessensibilização reversível à dor.

A intensidade da dor foi avaliada no presente estudo, antes da aplicação, após a aplicação, através da ENV, evidenciando-se a redução dos escores da dor após os 60 minutos de aplicação e que perdurou até o início dos 60 dias de observação.

Há evidências de possível atividade da capsaicina sobre a densidade das fibras nervosas epidérmicas (FNE), após uma única aplicação de adesivo de alta concentração. A degeneração axonal significa efetivamente que os nociceptores “desaparecem” da epiderme após a exposição à capsaicina em alta concentração. Este efeito é reversível, uma vez que depois da interrupção da exposição à capsaicina ocorre reinervação da epiderme, com a recuperação do funcionamento dos receptores (Nolano et al., 1999).

A concentração de capsaicina da formulação Fc2 é consideravelmente maior que a concentração utilizada em produtos de uso tópico com capsaicina patenteados no Brasil. Uma única aplicação de 60 minutos da formulação Fc2 pode ter resultado numa possível redução significativa da densidade de FNE, fato que não foi mensurado no presente estudo por análises anatomopatológicas. Após 60 dias de aplicação todos os pacientes voltaram a sentir dor, comprovando o mecanismo de ação reversível da formulação Fc2. Segundo Malmberg e colaboradores (2004), uma única aplicação de um adesivo controle de baixa concentração contendo 0,04% p/p de capsaicina não

apresentou diferença significativa, quando comparado a um adesivo placebo, em relação a redução da densidade de FNE.

Ainda que os dados de estudos imunohistoquímicos sugiram que a capsaicina possa interferir nas fibras nervosas nociceptivas (Nolano et al., 1999), vale a pena ressaltar que a degeneração axonal não é, provavelmente, a única responsável pelo alívio da dor observada no presente estudo. As reduções da excitabilidade neuronal interrupção do rápido transporte axonal, ou a dessensibilização intrínseca de receptores, provavelmente contribuam para o efeito terapêutico (Bley, 2011).

6.9 Concentração plasmática da capsaicina

As administrações das formulações Fc1 e Fc2 foram realizadas em zonas cutâneas correspondentes à localização dos PG. Após exame físico, as áreas de aplicação foram delimitadas e marcadas na pele seca pelo médico. Em relação à absorção das formulações, acredita-se que a absorção tenha sido facilitada pela ação da lanolina, que é uma substância promotora de absorção diadérmica. A lanolina apresenta em sua composição o colesterol livre e combinado, o que lhe confere poder de penetração cutânea (composição semelhante ao manto hidrolipídico cutâneo), com propriedade de atravessar o estrato córneo (epiderme), fator limitante para a absorção de fármacos de uso tópico. Baseando-se em estudos realizados *in vitro*, calcula-se que aproximadamente 1% da capsaicina é absorvida em capas epidérmicas e dérmicas durante o período de uma hora de aplicação. Supõe-se que um adesivo de 1000 cm² libere em média 1% de capsaicina. A exposição máxima de capsaicina recomendada em adultos é de 0,12 mg/kg, com intervalos mínimos de 3 meses (Ficha técnica de Qutenza, 2010).

Em estudos clínicos de fase II realizado pelo laboratório Astellas Pharma em 2010, foram obtidas amostras de sangue para a determinação dos níveis plasmáticos de capsaicina depois de 60 minutos de aplicação do adesivo Qutenza[®]. Em 31% dos pacientes do grupo com neuralgia pós-herpética (NPH) e 3% dos pacientes diabéticos foram detectados níveis quantificáveis de capsaicina que oscilaram entre 0,52 e 4,64 ng/mL (Ficha técnica de Qutenza, 2010). No presente estudo, após a otimização do estudo de determinação de concentração plasmática de capsaicina através da HPLC, foram realizadas quantificações dos níveis plasmáticos de capsaicina que oscilaram

entre 0,006 e 2,53 $\mu\text{g/mL}$ nos pacientes que receberam a formulação Fc2. Não foram encontradas concentrações plasmáticas de capsaicina na maioria dos pacientes que receberam a formulação Fc1. Conforme evidenciam os resultados, os pacientes do grupo Fc2 apresentam diferença estatística significativa, quando comparados aos pacientes do grupo Fc1. Apenas dois pacientes dos que pertenciam ao grupo Fc1 apresentaram pequenas quantidades de capsaicina 0,001 e 0,002 $\mu\text{g/mL}$ nas amostras de plasma sanguíneo analisadas. Certamente a presença de capsaicina deve-se a dieta com temperos, aditivos com capsaicinoides na composição, ou a ingestão de pimenta em data anterior à participação no estudo.

Em estudo para determinação de curvas de níveis plasmáticos foi observado que as concentrações plasmáticas de capsaicina alcançaram valores máximos aproximadamente após 20 minutos da retirada do adesivo Qutenza[®]. A aplicação de Qutenza[®] durante 90 minutos praticamente duplicou a exposição sistêmica à capsaicina, quando comparada à aplicação de 60 minutos (os valores sob a curva (AUC) e concentração plasmática máxima ($C_{\text{máx}}$) foram 1,78 e 2,15 vezes maiores respectivamente (Babbar et al., 2009).

6.10 Quantificação da capsaicina nas formulações após 10 meses de produção

A quantificação da capsaicina nas formulações Fc1 e Fc2 foi possível por meio da otimização da técnica pela cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Após 10 meses de produção das formulações Fc1 e Fc2 procedeu-se com avaliação da possível perda de concentração do princípio ativo capsaicina nas formulações. Na formulação Fc1 não foi detectada a presença de capsaicina, enquanto que em Fc2 verificou-se uma perda notável do princípio ativo, na quantidade de 5,30 g a cada 100 g da formulação, quando comparada à concentração inicial da capsaicina (8,0/100 g). A concentração final de capsaicina na formulação Fc2 foi de 2,70/100 g.

Pode-se estimar que a caducidade do produto seja inferior a 10 meses. Testes adicionais mensais, de quantificação do teor do ativo capsaicina em cremes ou pomadas são sugeridos a partir da técnica proposta no presente estudo. Nos compêndios oficiais, como a farmacopeia brasileira ainda não se encontram testes ou ensaios para a determinação do teor de capsaicina em uma formulação semi-sólida.

Finalmente, com os resultados obtidos no presente trabalho, incentiva-se a realização de investigações científicas com a capsaicina de uso tópico, nas mais diferentes concentrações, em novas formas farmacêuticas e sistemas de liberação modificadas, visando agregar qualidade de vida e aliar a dor do paciente com SDM.

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que:

1. O controle microbiológico das formulações empregadas no presente estudo evidenciou a assegurada qualidade, sem risco microbiano potencial aos pacientes. Os testes de eficácia do sistema conservante certificaram a segurança e a estabilidade microbiológica das formulações, indicando a acertada decisão sobre o sistema conservante.
2. Os testes de estabilidade realizados evidenciaram que as formulações Fc1 e Fc2 se mantiveram estáveis durante o período de realização dos ensaios físicos e químicos, e mesmo diante do estresse térmico a que foram submetidas.
3. As formulações Fc1 e Fc2 apresentaram-se com ensaios reológicos e propriedades mecânicas adequadas a um sistema emulsivo, ou seja, sistemas não newtonianos com características de fluidos pseudoplásticos.
4. O ensaio de permeação *in vitro* demonstrou que a capsaicina teve a sua liberação a partir do excipiente creme base, bem como a sua solubilização na pele sintética, por até oito horas.
5. A capsaicina, nesse estudo clínico em pacientes portadores de SDM, apresentou efeito analgésico. Esta analgesia prolongou-se por até quase dois meses, após única administração, sem produzir efeito adverso relevante.
6. A otimização da metodologia da determinação plasmática da capsaicina em sangue humano foi possível por meio da cromatografia líquida de alta eficiência. O método possibilitou a detecção de diferentes concentrações de capsaicina no plasma sanguíneo dos pacientes que receberam a formulação Fc2. A lanolina mostrou-se eficaz na promoção da absorção percutânea da capsaicina.
7. A concentração de capsaicina na formulação Fc2 diminuiu significativamente na análise realizada após 10 meses de sua produção.

7 REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para validação de métodos analíticos. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

Almeida IF, Bahia M. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. *Cosmetics & Toiletries*. 2003;3:96-100.

Allen LV Jr, Popovich NG, Ansel HC. Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. 8ª ed. São Paulo: Artmed; 2007.

Anand P. Capsaicin and menthol in the treatment of itch and pain: recently cloned receptors provide the key. *Gut*. 2003;52:1233-35.

Anand P, Bley K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. *Br J Anaesth*. 2011;107:490-2.

Ansel HC, Popovich NG, Allen LVJR. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed. São Paulo: Artmed; 2007.

Antonio MECO. Permeação cutânea *in vitro* como ferramenta auxiliar para o estudo de formulações semi-sólidas de cetoconazol para aplicações tópicas. 2007. Disponível em: www.livros01.livrosgratis.com.br. Acesso em: 12 de setembro de 2013.

Argoff CE, Wheeler AH. Spinal and radicular pain disorders. *Neurol Clin*. 1998;16(4):833-49.

Attal N, Brasseur L, Chauvin M, Bouhassira D. Effects of single and repeated applications of a eutectic mixture of local anaesthetics (EMLA) cream on spontaneous and evoked pain in post-herpetic neuralgia. *Pain*. 1999;81(1-2):203-9.

Aulton, ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. São Paulo: Artmed; 2005.

Ayannides CA, Ktistis G. Stability estimation of emulsions of isopropyl myristate in mixtures of water and glycerol. *J Cosmet Sci*. 2002;53(3):165-73.

Azzini RG. Desenvolvimento e avaliação *in vitro* e *in vivo* de emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 1999.

Babbar S, Marier JF, Mouksassi MS, Beliveau M, Vanhove GF, Chanda S et al. Pharmacokinetic analysis of capsaicina after topical administration of a high-concentration capsaicina patch to patients with peripheral neuropathic pain. *Ther Drug Monit*. 2009;31(4):502-10.

- Baby AR, Migliato KF, Maciel COM, Zangue V, Pinto CASO, Salgado HRN et al. Accelerated chemical stability data of O/W fluid emulsions containing the extract of *Trichilia catigua* Adr. Juss (and) *Ptychopetalum olacoides* Benth. *Braz J Pharm Sci.* 2007;43(4):405-12.
- Backonja M, Wallace MS, Blonsky ER, Cutler BJ, Malan PJr, Rauck R, Tobias J. NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch, for the treatment of postherpetic neuralgia: a randomised, double-blind study. *Lancet Neurol.* 2008;7(12):1106-12.
- Barbano RL, Herrmann DN, Hart-Gouleau S, Pennella-Vaughan J, Lodewick PA, Dworkin RH. Effectiveness, tolerability, and impact in quality of life of the 5% lidocaine patch in diabetic polyneuropathy. *Arch Neurol.* 2004;61(6):914-18.
- Bassani VL, Gonz  les OG, Petrovick PR. Desenvolvimento tecnológico de produtos fitoter  picos. *Revista Fitos.* 2005; 1(1):14-17.
- Beltramo M. Cannabinoid type 2 receptor as a target for chronic pain. *Mini Rev Med Chem.* 2009 Jan;9(1):11-25.
- Bennett MI, Smith BH, Torrance N, Lee AJ. Can pain can be more or less neuropathic? Comparison of symptom assessment tools with ratings of certainty by clinicians. *Pain.* 2006;122(3):289-94.
- Bernstein JE, Bickers DR, Dahl MV, Roshal JY. Treatment of chronic postherpetic neuralgia with topical capsaicin: a preliminary study. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17(1):93-6.
- Berry H, Hutchinson DR. A multicenter placebo-controlled study in general practice to evaluate the safety and efficacy of tizanidine in acute low back pain. *J Int Med Res.* 1988;16 (2):75-82.
- Bhaskar A, Nadstwek J, Viel EJ, Buonocore M, López Mill  n JM, Jaeger H. Capsaicina al 8% para controlar el dolor neuropático perif  rico: una estrategia basada em casos clínicos. *Rev Soc Esp Dolor.* 2013;20(1):25-33.
- Bilia AR, Bergonzi MC, Morgenni F, Mazzi G, Vincieri FF. Evaluation of chemical stability of St. John's wort commercial extract and some preparations. *Int J Pharm.* 2001 Feb 1;213(1-2):199-208.
- Blanco Fuente H, Vila-Dorrio B, Anguiano-Igea S, Otero Espinar FJ, Blanco Mendez J. Tanned leather: a good model for determining hydrogels bioadhesion. *In J Pharm.* 1996;138(1):103-12.
- Bley K. TRPV1 agonist approaches for pain management. In: Gomtsyan A, Faltynek CR, editors. *Vanilloid receptor TRPV1 in drug. Discovery: John Wiley & Sons; 2010.* p. 325-47.
- Bonica JJ. Myofascial syndromes with trigger mechanism. In: Bonica JJ, editor. *The management of pain.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1953. p.1150-1151.

Bonica JJ Preface. In: Bonica JJ, editor. *Advances in Neurology*. New York: RavenPress; 1974. p. 7.

Borg-Stein J, Simons DG. Focused review: myofascial pain. *Arch Phys Med Rehabil*. 2002 Mar;83(3 Suppl 1):S40-7, S48-9.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 210 de 4 de agosto de 2003. Estabelece as novas diretrizes para as boas práticas de fabricação de medicamentos. Brasília, DF, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2003/140803.htm>. Acesso em: 17 novembro de 2011.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 67 de 8 de outubro de 2007. Estabelece as novas diretrizes para as boas práticas de manipulação de medicamentos. Brasília, DF, 2007. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/67_081007rdc.htm Acesso em: 5 dezembro de 2011.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, 2004.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília, 2007.

Brummer R, Godersky, S. Rheological studies to objectify sensations occurring when cosmetic emulsions are applied to the skin. *Colloids and surfactants: physicochemical and engineering aspects*. Germany.1999;152(1-2):89-94.

Byas-Smith MG, Max MB, Muir J, Kingman A. Transdermal clonidine compared to placebo in painful diabetic neuropathy using a two-stage „enriched enrollment” design. *Pain*. 1995 Mar;60(3):267-74.

Carvalho VD. Características químicas de pimentas e pimentos. *Informe Agropecuário* 1984;113:76-8. Vol.10.

Carturan GF. Guia ABC de microbiologia: controle microbiológico na indústria e produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. 2ªed. São Paulo: ABC; 1999.

Chaiyasit K, Khovidhunkit W, Wittayalerpanya S. Pharmacokinetics and the effect of capsaicin in *Capsicum frutescens* on decreasing plasma glucose level. *J Med Assoc Thai*. 2009;92(1):108-13.

Charro MBD. Sistemas disperses heterogêneos. In: Jato JLV, editor. *Tecnologia farmacêutica: aspectos fundamentais de los sistemas farmacêuticos y operaciones básicas*. Madri: Editorial Sintesis; 1997. p.207-316.

CHMP assessment report for QutenzaTM (EPAR). 2009. European Medicines Agency, London, UK. Disponível em http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Public_assessment_report/human/000909/WC500040450.pdf Acesso em: 16 janeiro de 2014.

Choi MH, Jeong S, Nam SI, Shim SE, Chang Y. Rheology of decamethylcyclopentasiloxane (cyclomethicone) W/O emulsion system. *Macromol Res*. 2009;17(12):943-49.

Chien YW. *Novel Drug Delivery Systems*. 2^a ed. New York: Marcel Dekker Inc; 2001.

Contri R. Incorporação de nanocápsulas contendo capsaicinóides em hidrogel de quitosana destinado ao uso tópico: caracterização das formulações e estudo de liberação in vitro. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.

CTFA survey: test methods companies use Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association 1990;105:79-2.

Curry J. Thoughts on preservation testing of water-based products. *Cosmetics & Toiletries*. 1987;102(12):93-5.

Davis SS, Burbace AS. Electron micrography of water-in-oil-in-water emulsions, *J Colloid Interface Sci*. 1997; 62:361-63.

Deal CL. Clinical Therapeutics. *European J Pharmacol*. 1999;3:383-95.

Departamento Técnico del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Catálogo de Medicamentos 2012. Madrid: Consejo General de Colegios oficiales de Farmacéuticos; 2012.

Deyo RA. Nonoperative treatment of low back disorders: differentiated useful from useless therapy. In: Frymoyer JW, Ducker TB, Hadler NM, et al., editors. *The adult spine principles and practice*. Philadelphia (PA): Lippincott-Raven; 1997. p.1777-93.

Dogrul A, Uzbay IT. Topical clonidine antinociception. *Pain*. 2004;111(3):385-91.

Downer AH. *Physical therapy procedures*. Springfield (IL):Charles C Thomas; 1970.

Dreyer SJ. Commonly used medications in pain procedures. In: Lennard JA, editor. *Pain procedures in clinical practice*. Philadelphia (PA): Hanley & Belfus; 2000. p.1-9.

Drummond JP. Neurofisiologia. In: Drummond JP. *Dor aguda: fisiologia clínica e terapêutica*. São Paulo (SP): Atheneu; 2000. p. 1-23.

England J, Wagner T, Kern KU, Daniek AR, Sell A. The capsaicin 8% patch for peripheral neuropathic pain. *Brit J Nursing*. 2011;20(15):926-31.

Epstein JB, Marcoe JH. Topical application of capsaicin for treatment of oral neuropathic pain and trigeminal neuralgia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994;77(2):135-40.

Erin N, Zik B, Sarigul M, Tutuncu S. The effects of chronic low-dose capsaicin treatment on substance P levels. *Regul Pept*. 2009;153(1-3):83-7.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. CHMP assessment report for Qutenza. Disponível em: <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Qutenza/H-909-en6.pdf>. Acesso em: 12 dezembro de 2011.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Qutenza (capsaicin) 179mg cutaneous patch: summary of product characteristics. Disponível em: <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Qutenza/emea-combined-h909en.pdf>. Acesso em: 15 dezembro de 2011.

Fang JY, Wu PC, Huang YB, Tsai YH. In vitro permeation study of capsaicina and its synthetic derivatives from ointment bases using various skin types. *Int J Pharm.* 1995;126(1-2):119-28.

Farmacopéia Brasileira. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 1988. Parte I.

Farmacopéia Brasileira. 4ªed. São Paulo: Atheneu; 2001. Parte II.

Felder M. Tizanidine in the treatment of neck and low back pain. *AIDS Int.* 1990;1:9.

Femenía-Font A, Balaguer-Fernández C, Merino V, Rodilla V, López-Castellano A. Effect of chemical enhancers on the in vitro percutaneous absorption of sumatriptan succinate. *Eur J Pharm Biopharm.* 2005;61(1-2):50-5

Ferrarini M, Baby AR, Pinto CASO, Velasco MV, Pinto TJ, Kaneko TM. Influência do Kollidon® 90F e do Polyox® WSR301NF na força de adesão de comprimidos bucais de clorexidina. *Latin American J Pharmacy.* 2007;26(4): 541-7.

Ferreira AO. Guia Prático da Farmácia Magistral. Boas Práticas de Manipulação, 2ª ed. Juiz de Fora: Ortofarma; 2000. p. 159-197.

Ferreira AO. Guia Prático da Farmácia Magistral. 3ª ed. São Paulo: Pharmabooks; 2008. p. 277-321.

Ferreira LA, Leite JPV. Desenvolvimento de formulações fitoterápicas. In: Leite JPV. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. São Paulo: Atheneu; 2008. p.206-251.

Ficha Técnica QutenzaTM 179 mg parche cutâneo. Astellas Pharma. Fecha de elaboración: Novembro de 2010.

Finnerup NB, Otto M, Mcquay HJ, Jensen TS, Sindrup SH. Algorithm for neuropathic pain treatment: an evidence based proposal. *Pain.* 2005;118(3):289-305.

Finnerup NB, Sindrup SH, Jensen TS. Recent advances in pharmacological treatment of neuropathic pain. *F1000. Med Rep.* 2010;2:52.

Fishbain DA, Goldberg M, Meagher BR, Steele R, Rosomoff H. Male and female chronic pain patients categorized by DSM-III psychiatric diagnostic criteria. *Pain.* 1986;26(2):181-97.

Fischer, A.A. Pressure threshold measurement for diagnosis of myofascial pain and evaluation oftreatment results. *Clin J Pain.* 1987;2(4):207-14.

Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF. Dermatología en Medicina General. 4ª ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana; 1997.

Flores MP, Castro APCR, Nascimento JS. Analgésicos tópicos. Rev Bras Anesthesiol. 2012;62(2):244-52.

FDA, 2001. Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), May 2001.

Fragasso G. Red pepper in the medicine. J Cardiovascular Pharmacol. 2004;3:340-47.

Franz TJ. Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data. J. Invest. Dermatol 1975; 64(3): 190-95.

Freitas ZMF. Avaliação Biofarmacotécnica de Formulações Dermatológicas Semi-Sólidas de Cetoconazol. São Paulo (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2005.

Friction JR, Auvinen MD, Dukstra D, Schiffman E. Miofascial pain syndrome: electromyographic changes associated with local twitch response. Arch Phys Med Rehabil. 1985;66(5):314-17.

Forslind B, Engström, S, Engblom J, Norlén LA. Novel approach to the understanding of human skin barrier function. J Dermatol Sci. 1997;14(2):115-125.

Fusco BM, Giacobazzo M. Peppers and pain. The promise of capsaicin. Drugs. 1997;53:909-14.

Gago A P. Sistemas bioadhesivos para la administración vaginal de resveratrol. (Dissertation). Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidade de Santiago de Compostela; 2013.

Ganji V, Kafai MR. Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annuum* L. in relation to fruiting. Am J Clin Nutrition. 2004;6:1500-7.

Gerwin, RD. A study of 96 subjects examined both for fibromyalgia and myofascial pain. J Musculoskel Pain. 1995;3(1):121.

Gil E, Brandão AL. Excipientes: suas aplicações e controle físico-químico. 2ª ed. São Paulo: Pharmabooks; 2007.

Glogowski G; Wallraff J. Clinical and histologic aspects of myogelosis. Z Orthop Ihre Grenzgeb. 1951;80(2):237-68.

Guia ABC: controle microbiológico na indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Associação Brasileira de Cosmetologia; 2008.

Gunn CC. Transcutaneous neural stimulation, needle acupuncture & “teh chi” phenomenon. Am J Acupuncture. 1976;(4):317-22.

Han SC, Harrison P. Myofascial pain syndrome and trigger-point management. Reg Anesth. 1997; 22(1):89-101.

- Harkens S, Linford J, Cohen J, Kramer T, Cueva L. Administration of clonazepam in the treatment of TMD and associated myofascial pain a double-blind pilot study. *J Craniomandib Disord*. 1991;5(3):179-86.
- Headley BJ. Evaluation and treatment of myofascial pain syndrome utilizing biofeedback. *Clinical Electromyography for Surface Recordings*. Nevada City NV: Clinical Resources; 1990. Vol.2.
- Haigh JM, Smith EW. The selection and use of natural and synthetic membranes for in vitro diffusion experiments. *Eur J Pharm Sci*. 1994;2(5-6):311-30.
- Hayman M, Kam PCA. Capsaicin: a review of it pharmacology and clinical applications. *Curr Anaesth & Critical Care* 2008; 19(5-6):338-43.
- Heiser CB Jr. Peppers - Capsicum (Solanaceae). In: Simmonds NW. *Evolution of crop plants*. Longman; 1979. p. 265-273.
- Helliwell RJA, McLatchie LM, Clarke M, Winter J, Bevan S, McIntyre P. Capsaicin sensitivity is associated with the expression of the vanilloid (capsaicin) receptor (VR1) mRNA in adult rat sensory ganglia. *Neurosci Lett*. 1998;250 (3):177-80.
- Hersh EV, Pertes RA, Ochs HA. Topical capsaicin – pharmacology and potential role in the treatment of temporomandibular pain. *J Clin Dent*. 1994;5(2):54-9.
- Idson B. Stability testing of emulsion. *Drug Cosmet Ind*. 1993;152:27-27.
- Introini C. Teoria e prática del challenge test. *Boll Chim Farm*. 1985;124:365-81.
- Internacional Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). *Guidance for industry E6 good clinical practice: consolidated guidance*; 1996.
- Isaac VLB. Desenvolvimento, estabilidade e liberação *in vitro* de preparações lipolíticas. [Tese] São Paulo; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP; 1998.
- Isaac VLB, Cefali LC, Chiari BG, Oliveira CCLG, Salgado HRN, Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. *Rev Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2008;29(1):81-96.
- Issy AM, Sakata RK. Como diagnosticar e tratar dor músculo-esquelética. *Rev Bras Med*. 2005;67:3-11.
- Jacob WF, Magold RM, Chiamolera M. Característica da dor no idoso. In: Jacob WF, organizador. *Envelhecimento do sistema nervoso e a dor no idoso*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1996. p. 103-10.
- Jato JLV. *Tecnologia Farmaceutica: Aspectos Fundamentais de los Sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*. Madrid: Editorial Sintesis; 1997. Vol.I.
- Junginger H I. Multiphase emulsions. *Surfactants science series*. 1997;68:155-82.

Jato JLV. Tecnologia Farmaceutica: Formas Farmaceuticas. Madrid: Editorial Sintesis; 1997. Vol.II.

Kaergaard A, Andersen JH. Musculoskeletal disorders of the neck and shoulders in female sewing machine operators: prevalence, incidence, and prognosis. *Occup Environ Med.* 2000;57(8):528-34.

Kalil-Gaspar P. Neuropeptides in the skin. *An Bras Dermatol.* 2003;78(4):483-98.

Kennedy WR, Vanhove GF, Lu SP, Tobias J, Bley KR, Walk D et al. A randomized, controlled, open-label study of the long-term effects of NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch on epidermal nerve fiber density and sensory function in healthy volunteers. *J Pain.* 2010;11(6):579-87.

Koul LB, Kapil A. Modernização tecnológica em alimentos. *Planta Médica.* 1993;59:413-17.

Kuda T, Iwai A, Yano T. Effect of red pepper *Capsicum annuum var conoides* and garlic *Allium sativum* on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food Chem Toxicol.* 2004;42(10):1695-700.

Kraft GH, Johnson EW, LaBan MM. The fibrositis syndrome. *Arch Phys Med Rehabil.* 1968; 49(3): 155-62.

Kraychete DC, Rocha APC. Avaliação e tratamento da síndrome dolorosa miofascial. *Rev Dor.* 2005;6(4):672-79.

Kraus H, Fisher AA. Diagnosis and treatment of myofascial pain. *The Mount Sinai J Med.* 1991;58(3):235-39.

Laba D. Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries. New York: Marcel Dekker, Inc; 1993.

Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001. Vol. 2.

Lai J, Porreca F, Hunter JC, Gold MS. Voltage-gated sodium channel and hyperalgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:371-97.

Lee JJ, Crosby KM, Pike LM, Yoo KS, Leskovar DI. Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*Capsicum spp.*). *Scientia Horticulturae.* 2005;106 (3):341-52.

Lewit K. The needle effect in the relief of myofascial pain. *Pain.* 1979;6(1):83-90.

Leonardi GR, Gaspar LR, Maia Campos PM. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. *An Bras Dermatol.* 2002;77(5):563-69.

Leonardi GR, Matheus LGM. Cosmetologia aplicada. São Paulo: MedFarma; 2004.

- Lima CG, Vilela AFG, Silva AAS, Piannovski, AR, Silva KK, Carvalho VFM et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*). Rev Bras Farmácia. 2008;89(3):239-45.
- Lin TY, Teixeira MJ, Lin EI, Kaziyama HHS, Imamura ST. Cervicogenic headache: clinical and therapeutic aspects. In: World Congress of the International Rehabilitation medicine Association, 8, Kyoto, Japão, 1997.
- Lin TY, Teixeira MJ, Barboza HGF. Lesões por esforços repetitivos – Distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (DORT). Rev Med Desport. 1998;47:11-20.
- Loeser JD, Melzack R. Pain: an overview. Lancet. 1999;353:1607-9.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas Medicinais do Brasil. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2002.
- Lockhart E. Topical analgesics; Topical combination of amitriptyline and ketamine for post herpetic neuralgia. J Pain. 2004;5(3):82.
- Lysy L, Sistieri-Ittah M, Israelit Y, Shmueli A, Strauss-Liviatan N, Mindrul V et al. Topical capsaicin - a novel and effective treatment for idiopathic intractable pruritus ani: a randomised, placebo controlled, crossover study. Gut. 2003;52(9):1323-26.
- Maistre J. Les plantes a épices. Paris: Maisonneuve & Larose; 1964.
- Magerl W, Fuchs PN, Meyer RA, Treede RD. Roles of capsaicin-insensitive nociceptors in cutaneous pain and secondary hyperalgesia. Brain. 2001;124(9):1754-64.
- McCleane G. Topical analgesics. Anesthesiol Clin. 2007;25:825-39.
- Malmberg AB, Mizisin AP, Calcutt NA, von Stein T, Robbins WR, Bley KR. Reduced heat sensitivity and epidermal nerve fiber immunostaining following single applications of a high-concentration capsaicin patch. Pain. 2004;111(3):360-67.
- Martin A, Swarbrick J, Cammarata A. Physical Pharmacy. 4^aed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1993.
- Martins MRFM, Veiga F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. Rev Brase Cien Farm. 2002;38(1): 33-54.
- Mason L, Moore RA, Derry S, Edwards JÁ, McQuay HJ. Systematic review of topical capsaicin for the treatment of chronic pain. BMJ. 2004;328(7446):991-94.
- Melzack, R. Textbook of pain. Edinburg: Churchill Livingstone; 1999. Vol. 2.
- Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain. Seattle IASP Task Force on Taxonomy. Seattle, WA: International Association for the Study of Pain Press 1994. (Also available online at www.iasp-pain.org).

- Modly CE, Das M, Don PS, Marcelo CL, Mukhtar H, Bickers DR. Capsaicin as an in vitro inhibitor of benzo(a)pyrene metabolism and its DNA binding in human and murine keratinocytes. *Drug Metab Dispos.* 1986;14(4):413-6.
- Musse A. Síndrome dolorosa miofascial. In: Lianza S. (editor). *Medicina de reabilitação.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan; 1994. p.163-177.
- Negulesco JA. Atherosclerosis and Artery. *J Neuroscience.* 1999;3:85-90.
- Newham DJ, Edwards RHT, Mills KR. Skeletal muscle pain. In: Wall PD, Melzack R (editors). *Textbook of Pain.* 3ªed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994.
- Newham DJ; Mills KR. Muscles, tendons and ligaments. In: Wall PD Melzack R. (editors). *Textbook of Pain.* 2th ed. Edinburg: Churchill Livingstone; 1999.
- Netto EM, Shuqair NSMSAQ, Balbino EE, Carvalho AC. Comentários sobre o Registro de Fitoterápicos/Comments on the Phytomedicines Register. *Rev Fitos.* 2006;1(3):9-17.
- Noerdlinger MA, Fadale PD. The role of injectable corticosteroids in orthopedics. *Orthopedics.* 2001;24 (4):400-5.
- Nokhodchi A, Shokri J, Dashbolaghi A, Hassan-Zadeh D, Ghafourian T, Barzegar-Jalali M. The enhancement effect of surfactants on the penetration of lorazepam through rat skin. *Int J Pharm.* 2003;250(2):359-69.
- Nolano M, Simone DA, Wendelschafer-Grabb G, Johnson RT, Hazen E, Kennedy WR - Topical capsaicin in humans: parallel loss of epidermal nerve fibres and pain sensation. *Pain.* 1999;81:135-45.
- Noonan TJ, Garrett WE. Muscle strain injury: diagnosis and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 1999; 7: 262-69.
- Nuez F, R Gil R, J Costa G.. *El cultivo de pimientos, chiles y ajies.* Madri: Ediciones Mundi-Prensa; 1996.
- Okifuji A, Turk DC, Sherman JJ. Evaluation of the relationship between depression and fibromyalgia syndrome: why aren't all patients depressed? *J Rheumatol.* 2000;27(1):212-19.
- Oliveira AB, Longhi JG, Andrade CA, Miguel OG, Miguel MD. A normatização de fitoterápicos no Brasil/Brazilian phytotherapeutic regulation. *Visão Acadêmica* 2006;7(2):1-13.
- Orth D. *Handbook of cosmetic microbiology.* Cosmetic science and technology series New York: Marcel Dekker; 1993.
- Pimenta CAM, Teixeira MJ. Avaliação da dor. *Rev Med.* 1997;76:27-35.
- Pimenta CAM. Atitudes de doentes com dor crônica frente à dor. Tese (Livre-Docência), São Paulo (SP): Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo; 1999.

Pinto P, Galego N, Silva N. Definição de critérios de avaliação dos efeitos sobre a superfície cutânea de cremes hidratantes: I - análise após uma aplicação. Rev Port Farm. 1997;47(1):23-34.

Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2003.

Polydefkis M, Hauer P, Sheth S, Sirdofsky M, Griffin JW, McArthur JC. The time course of epidermal nerve fibre regeneration: studies in normal controls and in people with diabetes, with and without neuropathy. Brain. 2004;127(7):1606-15.

QUTENZA (NGX-4010): Fullprescribinginformation. Disponível em: http://www.neurogesx.com/ngx_4010. Acesso em: 13 de agosto de 2011.

QUTENZA (CAPSAICINA) 8% PARCHE. Cuestionário de evaluación técnica. Astellas Pharma Europe 2009.

Rangel VLBI. Desenvolvimento, estabilidade e liberação in vitro de preparações lipolíticas. (Tese) Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1988.

Reifschneider FJB. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia/Embrapa hortaliças; 2000.

Rieger, M. Teste de estabilidade para microemulsões. Cosmet. Toiletries 2000; 8:47-55.

Rigotti MA, Ferreira AM. Intervenções de enfermagem ao paciente com dor. Arq Ciênc Saúde. 2005;12(1):50-4.

Rodrigues L. A avaliação biofísica da superfície cutânea: princípios e metodologias. Rev Port Farm. 1995;45(1):59-9.

Rosomoff HL, Fishbain DA, Goldberg M, Santana R, Rosomoff RS. Physical findings in patients with chronic intractable benign pain of the neck and/or back. Pain. 1989;37(3):279-87.

Rothman RH, Simeone FA. The spine. Philadelphia: WB Saunders Company; 1975. Vol 2.

Rubin D. Myofascial trigger point syndromes: an approach to the management of myofascial trigger point syndromes. Arch Phys Med Rehabil. 1981;62(3):107-10.

Rupenthal ID, Green CR, Alany RG. Comparison of ion-activated in situ gelling systems for ocular drug delivery. Part 1: Physicochemical characterization and in vitro release. Int J Pharm. 2011;411(1):69-77.

Russell IJ. Neurohormonal: abnormal laboratory findings related to pain and fatigue in fibromyalgia. J Musculoskelatal Pain. 1995;3 (2):59-65.

Russell AD. Challenge testing: principles and practice. Int J Cosmet Sci. 2003;25(3):147-53.

- Saito A. Vitamin and Nutrition. *Int J Nut Research*. 1999;69:337-40.
- Sanctis DS. Emulsões para uso externo. *Rev Racine*. 1999;53 (9):53-63.
- Sanctis DS. Emulsões aspectos técnicos e práticos para o desenvolvimento de formulações. *Rev Racine*. 2000:51.
- Schiffman EL, Friction JR, Haley DP, Shapiro BL. The prevalence and treatment needs of subjects with temporomandibular disorders. *J Am Dent Assoc*. 1990;120(3):295-303.
- Signorelli I, Isla M. Elaboración de una crema para uso tópico a base de *Urtica dioica* L. *Revista de la facultad de farmácia* 2005;47(2):26-31.
- Silva N, Junqueira VCA, Silveira NF. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 2ª ed. São Paulo: Editora Varela; 2001.
- Simons DG. Muscle pain syndromes. Part II. *Am J Phys Med*. 1976;55(1):15-42.
- Simons DG. Myofascial pain syndrome: where are we? Where are we going? *Arch Phys Med Rehabil*. 1988;69:202-12.
- Simons DG. Muscular pain syndromes. In: JR Friction, EA Awad (editors), *Advances in pain research and therapy*, New York: Raven Press; 1990. p.1-41.
- Simons DG. Clinical and etiological update of myofascial pain from trigger points. *J Musculoske Pain*. 1996;4:97-125.
- Simons DG, Travel JG, Simons LS. *Travell & Simons myofascial pain and dysfunction: the trigger point manual*. 2th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.
- Simpson DM, Gazda S, Brown S, Webster LR, Lu SP, Tobias JK et al. Long-term safety of NGX-4010, a high-concentration capsaicin patch, in patients with peripheral neuropathic pain. *J Pain Symptom Manage*. 2010; 39(6): 1053-64.
- Skootsky AS, Jaeger B, Oye RK. Prevalence of myofascial pain in general internal medicine practice. *West J Med*. 1989;151:157-160.
- Sola AE, Rodenberger ML, Gettys BB. Incidence of hypersensitive areas in posterior shoulder muscles. *Am J Phys Med*. 1955;34(6):585-90.
- Sousa FAEF. Dor: o quinto sinal vital. *Rev Latino-am Enfermagem*. 2002;10(3):446-47.
- Surh YJ, Lee E, Lee JM. The Capsaicin Study. *Mut Research*. 2002;41:259-67.
- Suresh D, Srinivasan K. Tissue distribution & elimination of capsaicin, piperine e curcumin following oral intake in rats. *Indian J Med Res*. 2010; 131: 682-91.
- Szallasi A, Blumberg PM. Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev*. 1999;51:159-212.

- Tadros T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Adv Colloid Interface Sci.* 2004;108-109:227-58.
- Teixeira, M.J. Aspectos gerais do tratamento da dor. *Rev Med.* 1997;76:46-7.
- Teixeira MJ, Pimenta CAM, Lin TY, Figueiró JAB. Assistência ao doente com dor. *Rev Med.* 1998;1:105-9.
- Tewksbury JJ, Nabhan GP. Diabetes Care. *Nature.* 2001;12:403-4.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP) United States Pharmacopeia Convention, Inc., 29th ed. Rockville, MD; 2006.
- Toledo AC, Hirata LL, Buffon, MCM, Miguel MD, Miguel OG. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. *Revista Lecta.* 2003;21(2):7-13.
- Travell J, Rinzler J, Herman M. Pain and disability of the shoulder and arm: treatment by intramuscular infiltration with procaine hydrochloride. *J Am Med Assoc.* 1942;120:417-22.
- Travell J, Simon D. Myofascial pain and dysfunction - The trigger point manual. Baltimore: Williams, Wilkins; 1992. Vol.2.
- USP XXVII. The United States Pharmacopoeia: USP 27; The National Formulary; NF 22. By authority of the United States Pharmacopoeia Convention. Rockville, MD; 2004.
- USP XXXVI. The United States Pharmacopoeia: USP 36; The National Formulary; NF 22. By authority of the United States Pharmacopoeia Convention. Rockville, MD; 2013.
- Vidal MA, Calderón E, Roman D, Perez-Bustamante F, Torres LM. Capsaicina tópica en el tratamiento de dolor neuropático. *Rev Soc Esp Dolor.* 2004;11(5):306-18.
- Voigt R, Bornschein M. Tratado de Tecnologia Farmacêutica. Espanha: Editorial Acríbia; 1982.
- von Korff M, Dwokin SF, Le Resche L, Kruger A. Na epidemiologic comparison of pain complaints. *Pain.* 1988;12:173-83.
- Wachtel RE. Capsaicin. *Reg Anesth Pain Med.* 1999;24(4):361-63.
- Watson CPN, Evans RJ. The postmastectomy pain syndrome and topical capsaicin: a randomized trial. *Pain.* 1992; 51(3):375-9.
- Watson CPN, Tyler KL, Rickers DR, Millikan LE, Smith S, Coleman E. A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia. *Clin Ther.* 1993;15:510-26.
- Waylonis GW. The physiological effects of ice massage. *Arch Phys Med Rehabil.* 1967;48(1):37-42.

Weeks VD, Travell J. How to give painless injections. AMA Scientific Exhibits. New York: Grune & Stratton; 1957.

Whiteside JB, Wildsmith JAW. Developments in local anesthetic drugs. Br J Anaesth. 2001;87(1): 27-35.

Wheeler AH, Aaron GW. Muscle pain due to injury. Curr Pain Headache Rep 2001; 5(5): 441-46.

Wheeler AH. Myofascial pain disorders: theory to therapy. Drugs. 2004;64(1):45-62.

Wheeler AH, Hanley EN. Spine Update nonoperative treatment of low back pain: rest to restoration. Spine. 1995;20(3):375-78.

Wolfe F, Simons DG, Friction J, Bennett RM, Goldenberg DL, Gerwin R et al. The fibromyalgia and myofascial pain syndromes: a preliminary study of tender points and trigger points in persons with fibromyalgia, myofascial pain syndrome and no disease. J Rheumatol. 1992;19(6):944-51.

Yeng LT, Kaziya HH, Teixeira MJ. Síndrome dolorosa miofascial. Jornal Brasileiro de Oclusão, ATM & Dor Orofacial. 2003;3(9):27-43.

Yilmaz Z, Renton T, Yiangoi Y, Zakrzeweska J, Chessel IP, Bountra C et al. Burning mouth syndrome as a trigeminal small fibre neuropathy: Increased heat and capsaicin receptor TRPV1 in nerve fibres correlates with pain score. J Clin Neurosci. 2007;14(9):864-71.

Yunus MB, Raman K Uma P, Raman KK. Primary fibromyalgia syndrome and myofascial pain syndrome: clinical features and muscle pathology. Arch Phys Med Rehabil. 1988;69(6):451-4.

Zague V. Manipulação de géis hidrofílicos. Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (FCF-USP). Disponível em: www.anfarmag.org.br/documentos/enc_tec_ed60_artigo.doc. Acesso em: 17 de janeiro, 2014.

Zi P, Yang X, Kuang H, Yang Y; Yu L. Effect of HPβCD on solubility and transdermal delivery of capsaicin through rat skin. Int J Pharmaceutics. 2008; 358: 151-8.

www.ciencia-online.net, acesso em 10 de setembro de 2014.

www.infarmed.com, acesso em 05 de julho de 2014.

www.hans/pixabay.com, acesso em 05 de julho de 2014.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “**Exposição de pacientes com síndrome de dor miofascial (SDM) à capsaicina: desenvolvimento de forma farmacêutica de uso tópico com possível ação analgésica**”. Este projeto tem como principal objetivo avaliar a possível ação analgésica do creme de capsaicina em pacientes com síndrome de dor miofascial.

A síndrome de dor miofascial (SDM) é uma das causas mais comuns de dor musculoesquelética. Esta dor miofascial pode se originar em um único músculo ou pode envolver vários músculos, gerando padrões complexos e variáveis de dor. Neste projeto, como alternativa para o tratamento da SDM estamos utilizando a capsaicina. A capsaicina é um produto natural obtido da pimenta vermelha, e tem sido empregada para o alívio da dor. Você será avisado sobre a possível eficácia deste tratamento apenas quando o estudo estiver sido concluído.

Não participarão deste projeto: pacientes que apresentem a pele com lesões ou ferida, pacientes alérgicos às pimentas vermelhas, ou qualquer outro componente da fórmula, pacientes com idade inferior a 18 anos, gestantes e diabéticos.

Após o preenchimento deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você será convidado (a) a responder um breve questionário, com duração média de cinco minutos. Ele nos fornecerá importantes informações sobre seus pontos dolorosos, os medicamentos usuais e a sua dieta nas últimas 6 horas. Ao finalizar o preenchimento, você será encaminhado ao Serviço de Terapia Antálgica e Cuidados Paliativos (TACP), onde um médico residente realizará o possível diagnóstico de SDM e localizará os pontos de dor, marcando em sua pele as zonas mais dolorosas com caneta ou marcador. Posteriormente, será administrado pelo mesmo, no(s) local(is) da dor, o creme em estudo.

O creme de estudo poderá produzir em você sensação de ardor no local da aplicação, assim como reações do tipo queimadura superficial e alergia podem ocorrer. Antes da administração do creme, a pele precisa ser lavada com água e sabão, ser seca e ter recebido pomada anestésica. O creme em estudo ficará com contato com sua pele por 30 minutos. Por favor, não toque, cheire ou inale o creme. Terminado o tempo de aplicação, o creme será imediatamente retirado com solução de limpeza por 1 minuto e você será avaliado(a) sobre o nível de sua dor. Após este período, será encaminhado(a) para a coleta de cinco 5mL do seu sangue para análise. A partir da data desta aplicação, após 2 meses você nos informará se houve melhora da dor após a

aplicação deste produto. Espera-se que, de posse desses dados, possamos contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos de dor envolvidos na Síndrome de Dor Miofascial (SDM), bem como desenvolver um analgésico de uso tópico inovador para a terapia da dor. Você pode solicitar para interromper a aplicação do creme a qualquer momento, assim como pode decidir por não participar ou se retirar do estudo quando desejar. Não haverá qualquer consequência ao seu tratamento e você continuará a ser acompanhado(a) pela TACP. As suas respostas serão utilizadas neste estudo e para futura publicação, com preservação de sua identidade em sigilo absoluto.

Eu, _____, após leitura atenta deste termo e compreensão do projeto de pesquisa autorizo a utilização das respostas do questionário aplicado e aceito participar do projeto de pesquisa.

Este documento será elaborado em duas vias sendo uma entregue ao sujeito da pesquisa e outra mantida pelo pesquisador. Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética e Pesquisa, através do fone: (14) 3811-6143.

Botucatu ____/____/2012 _____

Paciente

Valéria Romero Vieira da Motta

Autora da pesquisa Pesquisador Responsável

Pós-graduanda da FMB -UNESP Depto de Anestesiologia da FMB

(11) 970223299 Ramal 6222

Prof. Dr. Guilherme A M Barros

APÊNDICE B – Protocolo Clínico


UNESP Universidade Estadual Paulista

Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina

Pesquisa de doutorado: Valéria Romero Vieira da Motta

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Antonio Moreira de Barros

ANEXO II
Paciente nº:.....
Grupo: Fc1() Fc2()
PROTOCOLO

"Exposição de pacientes com síndrome de dor miofascial (SDM) à capsaicina: desenvolvimento de forma farmacêutica de uso tópico com possível ação analgésica".

I - Identificação

Nome: _____ Data: ____/____/____

 RG: _____ Sexo: ☐ Masc ☐ Fem Idade: _____ anos

Naturalidade: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Estado: _____ CEP: _____ - _____

Telefone: _____

 É paciente em seguimento regular no ambulatório da TACP? ☐ Não ☐ Sim

 É diabético? ☐ Não ☐ Sim

 É hipertenso? ☐ Não ☐ Sim

 Sexo feminino gestante? ☐ Não ☐ Sim

II – Hipótese diagnóstica + Exame Físico

Hipótese diagnóstica: Síndrome de dor miofascial

Dor muscular regional? _____

Presença de bandas musculares tensas palpáveis (PG's): _____

Localização dos pontos intensamente dolorosos (PG's): _____

– Qual medicação foi prescrita? _____

 – Usou a medicação da forma prescrita? ☐ Não ☐ Sim OBS: _____

 – Apresentou algum grau de melhora? ☐ Não ☐ Sim Percentual: _____

 – PG's foram infiltrados?: ☐ Não ☐ Sim

– Data da última infiltração? ____/____/____

Na última semana:

 Melhor intensidade de Dor (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

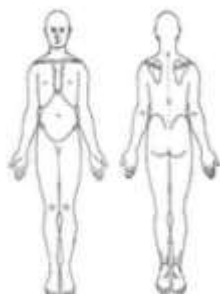
 Pior intensidade de Dor (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

 Dor neste momento (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

 – características: ☐ queimação ☐ choque ☐ contínua ☐ outras: _____

 – alodínia: ☐ Não ☐ Sim

Exame físico geral (dados relevantes): _____



Analgésicos usados **antes** de vir à TACP: ☐ AINES ☐ opióide fraco ☐ opióide forte
☐ anticonvulsivante ☐ antidepressivo tricíclico ☐ outro antidepressivo ☐ outro

- Nome do fármaco: _____
- Usou a medicação da forma prescrita? ☐ Não ☐ Sim OBS: _____
- Efeitos adversos: _____
- Apresentou algum grau de melhora? ☐ Não ☐ Sim Percentual---- _____

Analgésicos **em uso**: ☐ AINES ☐ opióide fraco ☐ opióide forte ☐ anticonvulsivante
☐ antidepressivo tricíclico ☐ outro antidepressivo ☐ outro

- Nome do fármaco: _____
- Usou a medicação da forma prescrita? ☐ Não ☐ Sim OBS: _____
- Efeitos adversos: _____
- Apresentou algum grau de melhora? ☐ Não ☐ Sim Percentual---- _____

Tem o hábito de utilizar pimentas para realçar o sabor de sua alimentação?

☐ Não ☐ Sim OBS: _____

Apresenta intolerância a pimentas vermelhas?

☐ Não ☐ Sim OBS: _____

Você apresenta alergia de algum creme hidratante para pele?

☐ Não ☐ Sim OBS: _____

Nas últimas seis horas ingeriu algum alimento que continha pimenta ou adicionou à sua dieta algum condimento que possa ter pimentas na sua composição?

☐ Não ☐ Sim OBS: _____

III – Aplicação do creme

1 minuto após a aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

15 minutos após a aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

30 minutos após a aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

60 minutos após a aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

Satisfação com o tratamento: ☐ Muito satisfeito ☐ Satisfeito ☐ Não satisfeito

– justificativa: _____

Melhor intensidade de Dor (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Pior intensidade de Dor (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

Dor neste momento (ENV): ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10

– características: ☐ queimação ☐ choque ☐ contínua ☐ outras: _____

- alodinia: ☐ Não ☐ Sim

OBS: O paciente deverá ser encaminhado à sala de coleta de sangue.

IV – Contato via telefone pós-aplicação do creme

Uma semana após aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

Um mês após aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim. Quais? _____

Dois meses após aplicação do creme do estudo sobre o(s) ponto(s) doloroso(s), você sentiu queimação no local? ☐ Não ☐ Sim Qual intensidade? _____

O paciente apresentou alterações cutâneas? ☐ Não ☐ Sim.

Quais? _____

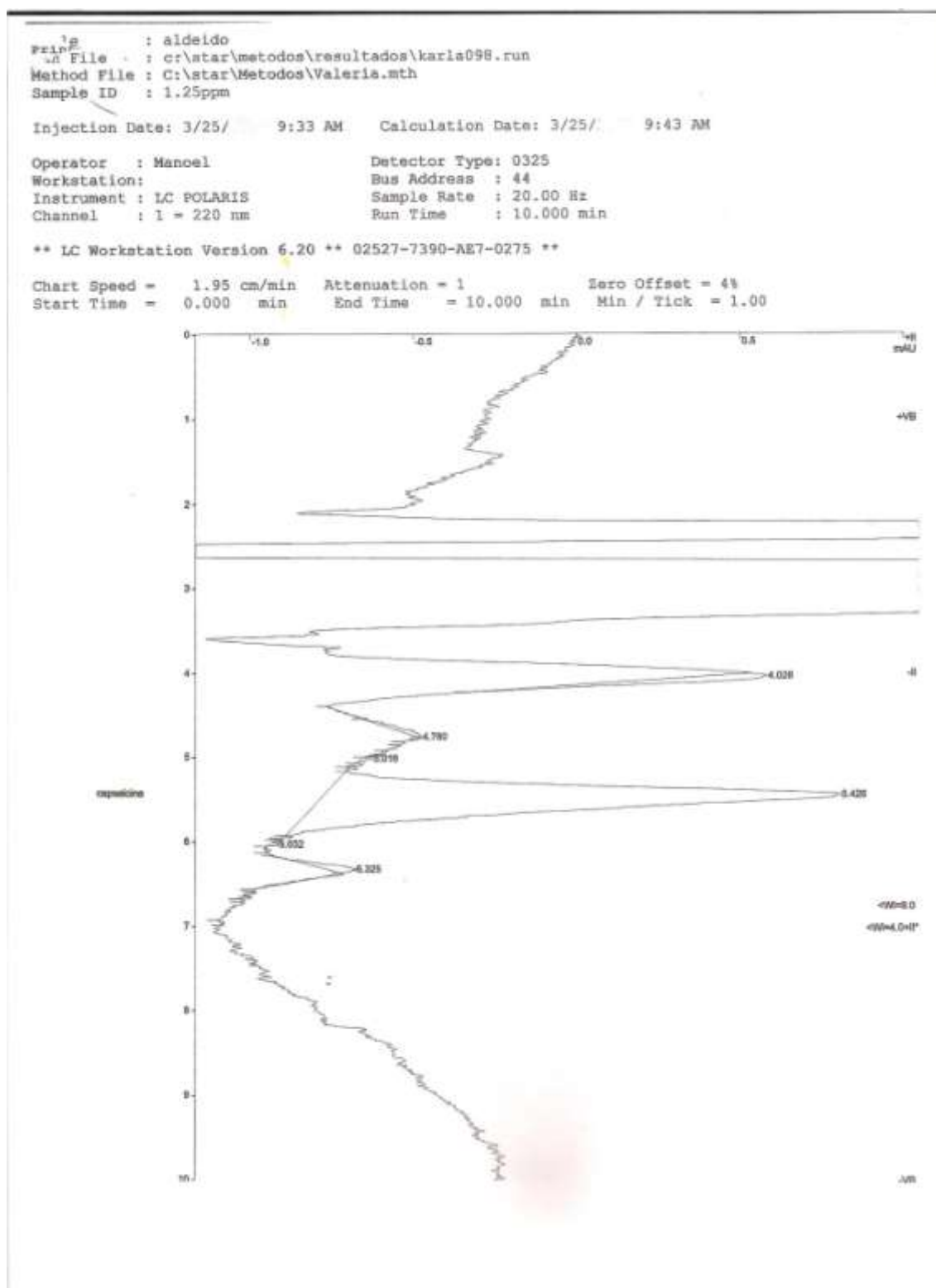
Pesquisador:

Valéria Romero
Rua Praia do Calhau, 536
emaildavaleria@gmail.com
Fone: (11) 4456-3474
Salto - SP

Orientador:

Guilherme Antônio Moreira de Barros
Rua Theotônio de Araújo, 530
barros@fmb.unesp.br
Fone: (14) 3811-6222
Botucatu-SP

APÊNDICE C – Curvas de calibração padrão capsaicina



Curva padrão capsaicina 1,25 µg/mL

Print Date: Fri Mar 28 08:53:58 2014 Page 1 of 1

Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\karla277.run
 Method File : c:\star\metodos\valeria.mth
 Sample ID : 1.25ppm

Injection Date: 3/28/2014 8:43 AM Calculation Date: 3/28/2014 8:53 AM

Operator : Manoel Detector Type: 6325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 - 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (ppm)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	1/2 (sec)	Status Codes
1		0.0000	4.411	0.000	226087	BB	18.1	
2	Capsaicina	no result	5.855	0.025	471775	BB	19.1	C*
3		0.0000	6.906	0.000	11028	BB	0.0	
Totals:		0.0000		0.025	709690			

Status Codes:
 * - No result could be calculated; check calibration curve
 C - Out of calibration range

Total Unidentified Counts : 237915 counts

Detected Peaks: 3 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0

Baseline Offset: 0 microAU LSB: 0.1 microAU

Noise (used): 23 microAU - monitored before this run

Manual injection

Data Handling: At Least One Curve has Improper Solution!
 Calib. out of range; No Recovery Action Specified

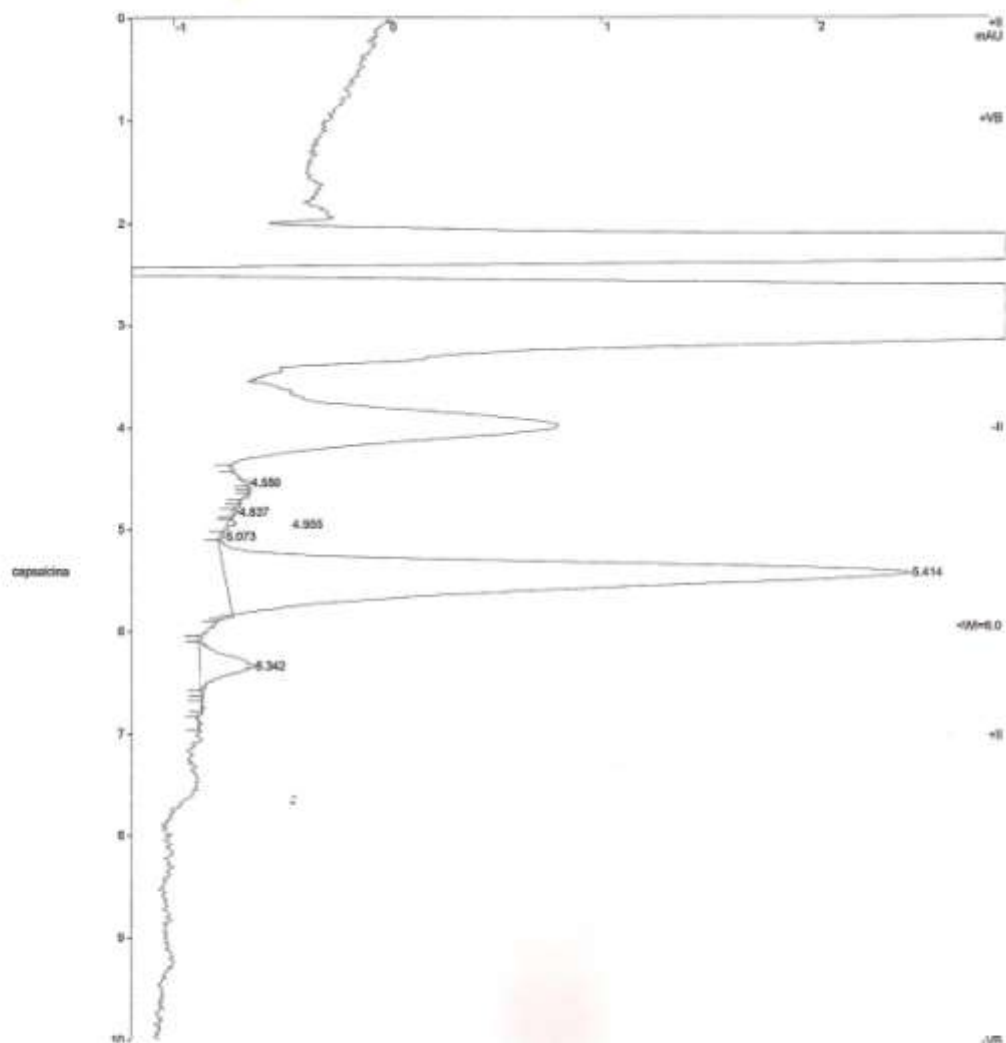
Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\karla100.run
 Method File : C:\star\Metodos\Valeria.mth
 Sample ID : 2.5ppm

Injection Date: 3/25/ 9:45 AM Calculation Date: 3/25/ 9:55 AM

Operator : Mancel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 = 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Chart Speed = 1.95 cm/min Attenuation = 1 Zero Offset = 4%
 Start Time = 0.000 min End Time = 10.000 min Min / Tick = 1.00



Curva padrão capsaicina 2,5 µg/mL

Print Date: Fri Mar 28 08:20:43 2014 Page 1 of 1

Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\karia271.run
 Method File : c:\star\metodos\valeria.mth
 Sample ID : 2.5ppm

Injection Date: 3/28/2014 8:10 AM Calculation Date: 3/28/2014 8:20 AM

Operator : Manoel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 = 220 nm Run Time : 12.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AK7-0275 **

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (ppm)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1		0.0000	4.044	0.000	2145	BB	1.9	
2		0.0000	4.337	0.000	28484	VB	0.0	
3	Capsaicina	1.1948	5.833	0.003	683769	BB	21.3	
4		0.0000	6.862	0.000	599	BB	0.0	
Totals:		1.1948		0.003	714997			

Total Unidentified Counts : 31228 counts

Detected Peaks: 34 Rejected Peaks: 30 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0

Baseline Offset: 0 microAU LBB: 0.1 microAU

Noise (used): 3 microAU - monitored before this run

Manual injection

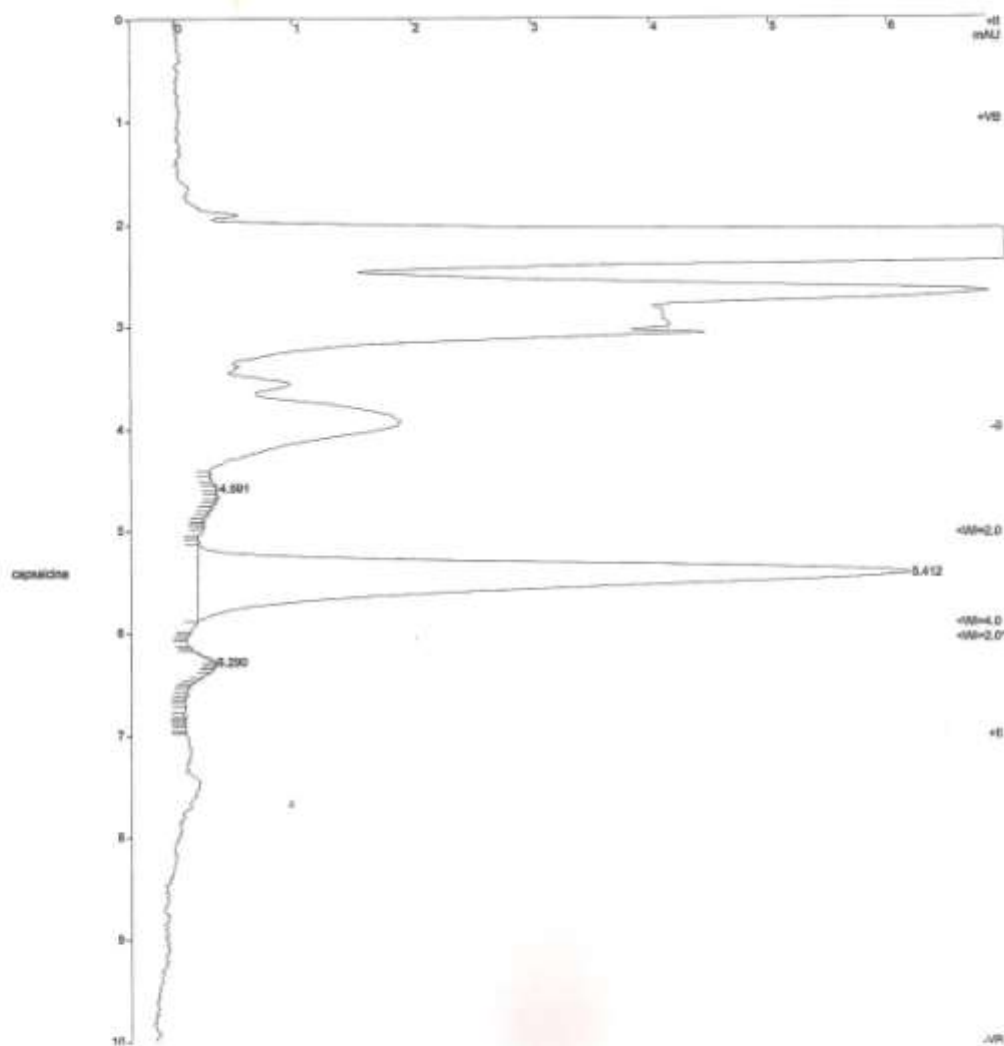
Title : aldeido
 Run File : C:\star\metodos\resultados\karia102.run
 Method File : C:\star\Metodos\Valeria.mth
 Sample ID : 5.0ppm

Injection Date: 3/25/ 9:58 AM Calculation Date: 3/25/ 10:08 AM

Operator : Manoel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 = 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Chart Speed = 1.95 cm/min Attenuation = 1 Zero Offset = 1%
 Start Time = 0.000 min End Time = 10.000 min Min / Tick = 1.00



Curva padrão capsaicina 5,0 µg/mL

Print Date: Fri Mar 28 08:31:46 2014 Page 1 of 1

Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\kaxla273.run
 Method File : c:\star\metodos\valeria.mth
 Sample ID : 5.0ppm

Injection Date: 3/28/2014 8:21 AM Calculation Date: 3/28/2014 8:31 AM

Operator : Mancel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 = 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (ppm)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1		0.0000	4.138	0.000	96240	BB	3.5	
2	Capsaicina	5.3379	5.828	-0.002	1392102	BB	18.3	
3		0.0000	6.483	0.000	521	BB	0.9	
4		0.0000	6.844	0.000	68238	BB	14.1	
Totals:		5.3379		-0.002	1557101			

Total Unidentified Counts : 164999 counts

Detected Peaks: 11 Rejected Peaks: 7 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0

Baseline Offset: 0 microAU LSB: 0.1 microAU

Noise (used): 8 microAU - monitored before this run

Manual injection

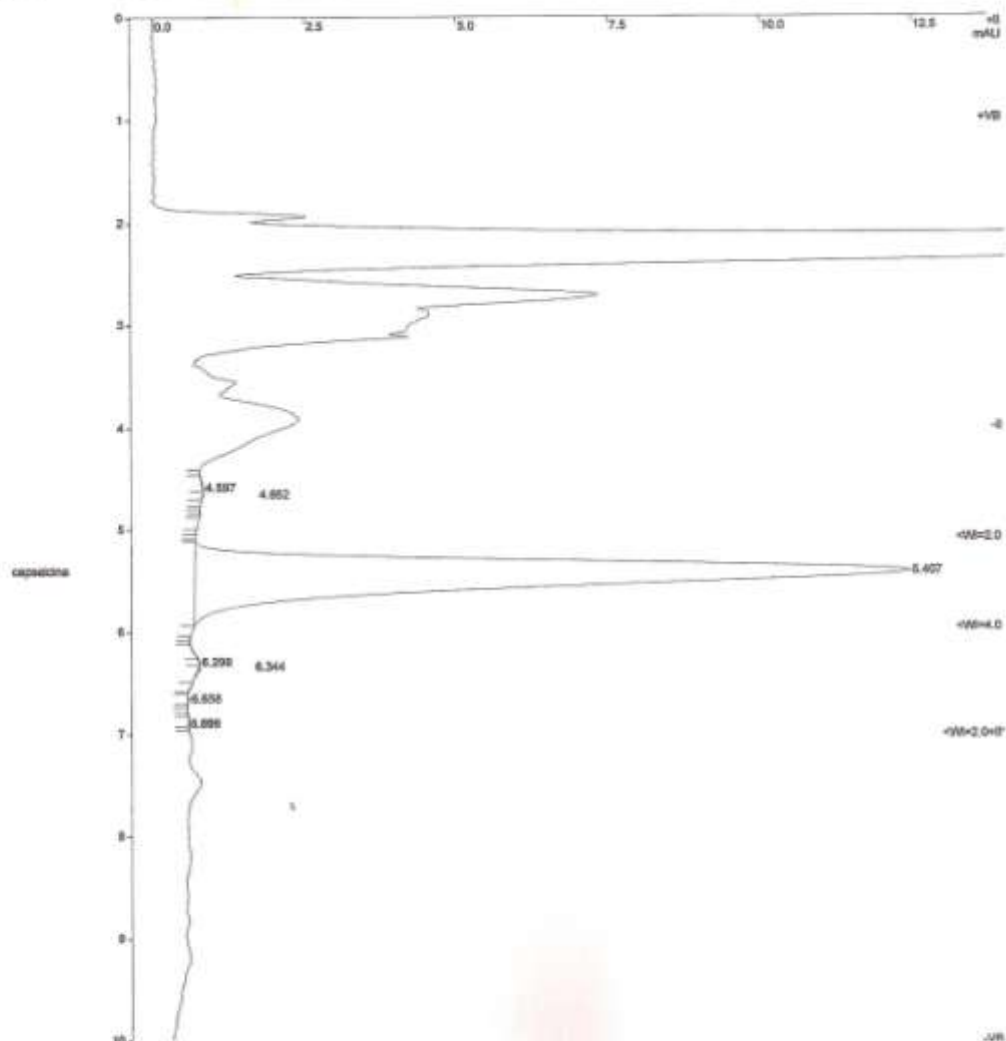
Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\karla104.run
 Method File : C:\star\Metodos\Valeria.mth
 Sample ID : 10ppm

Injection Date: 3/25/ 10:10 AM Calculation Date: 3/25/ 10:20 AM

Operator : Manoel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 = 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Chart Speed = 1.95 cm/min Attenuation = 1 Zero Offset = 1%
 Start Time = 0.000 min End Time = 10.000 min Min / Tick = 1.00



Curva padrão capsaicina 10,0 µg/mL

Print Date: Fri Mar 28 08:42:33 2014 Page 1 of 1

Title : aldeido
 Run File : c:\star\metodos\resultados\karla275.run
 Method File : c:\star\metodos\valeria.mth
 Sample ID : 10ppm

Injection Date: 3/28/2014 8:32 AM Calculation Date: 3/28/2014 8:42 AM

Operator : Manoel Detector Type: 0325
 Workstation: Bus Address : 44
 Instrument : LC POLARIS Sample Rate : 20.00 Hz
 Channel : 1 - 220 nm Run Time : 10.000 min

** LC Workstation Version 6.20 ** 02527-7390-AE7-0275 **

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: External Standard

Peak No.	Peak Name	Result (ppm)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1		0.0000	4.203	0.000	3600	BB	5.3	
2		0.0000	4.395	0.000	26218	BB	15.7	
3		0.0000	5.165	0.000	9949	BB	7.6	
4	Capsaicina	11.3671	5.876	0.046	2422919	BB	17.6	C
5		0.0000	6.900	0.000	10650	VB	0.0	
Totals:		11.3671		0.046	2473336			

Status Codes:
 C - Out of calibration range

Total Unidentified Counts : 50417 counts

Detected Peaks: 6 Rejected Peaks: 1 Identified Peaks: 1

Multiplier: 1 Divisor: 1 Unidentified Peak Factor: 0

Baseline Offset: 0 microAU LSB: 0.1 microAU

Noise (used): 17 microAU - monitored before this run

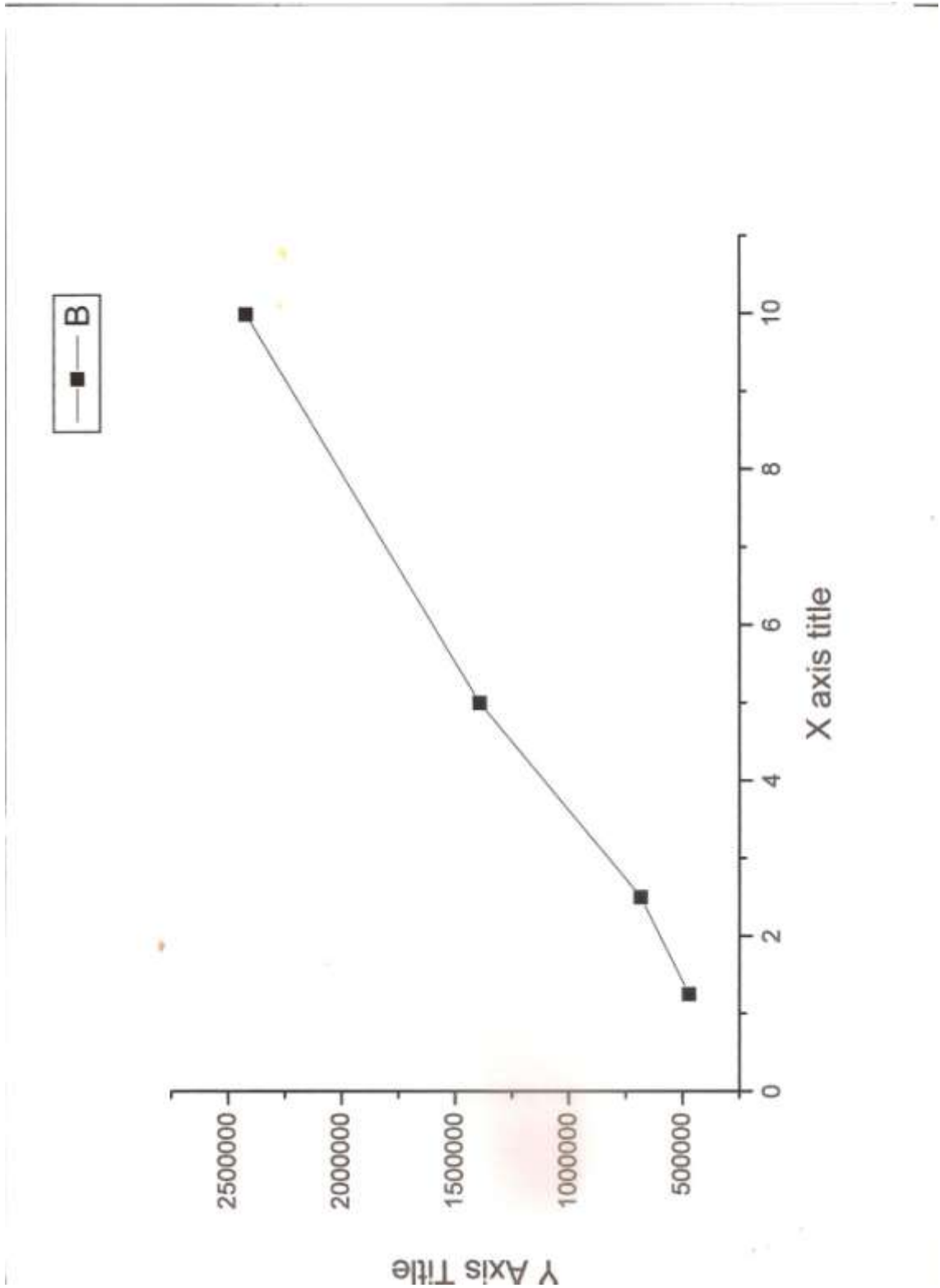
Manual injection

Calib. out of range; No Recovery Action Specified

3/28/2014 09:04:23.000

Linear Regression for Data1_B:
 $Y = A + B * X$

Parameter	Value	Error		
A	179408.08696	63161.33238		
B	226823.07478	10961.25869		
R	SD	N	P	
0.99767	73466.50249	4	0.00233	



APENDICE D - Valores mensurados nos ensaios de bioadesão para as formulação Fc1 e Fc2

Tabela 34 - Valores Fc1 e Fc2 força (N) dos ensaios de bioadesão

Fc1				
Lote	Area F-T 1:2 N.seg	Força 1 N	Força 2 N	Area F-T 3:4 N.seg
	Area F-T 1:2	Força 1	Força 2	Area F-T 3:4
FC1	2,368	0,714	-0,552	-1,313
FC1	0,645	0,365	-0,194	-0,287
FC1	2,171	0,615	-0,471	-1,287
FC1	0,699	0,371	-0,216	-0,371
FC1	2,748	0,801	-0,573	-1,332
FC1	0,641	0,359	-0,198	-0,294
FC1	2,480	0,885	-0,578	-1,139
FC1	0,310	0,315	-0,173	-0,276
FC1	3,321	1,001	-0,684	-1,631
FC1	0,646	0,365	-0,227	-0,315
FC1	2,759	0,733	-0,534	-0,534
FC1	0,488	0,293	-0,155	-0,251
Fc2				
Lote	Area F-T 1:2 N.seg	Força 1 N	Força 2 N	Area F-T 3:4 N.seg
	Area F-T 1:2	Força 1	Força 2	Area F-T 3:4
FC2	0,550	-0,361	2,088	-1,005
FC2	0,301	-0,186	0,548	-0,357
FC2	0,481	-0,346	1,473	-0,857
FC2	0,286	-0,170	0,528	-0,312
FC2	0,525	-0,369	1,710	-0,952
FC2	0,272	-0,142	0,500	-0,293
FC2	0,564	-0,388	2,111	-1,091
FC2	0,338	-0,232	0,664	-0,379
FC2	0,594	-0,375	2,143	-1,064
FC2	0,324	-0,203	0,597	-0,355
FC2	0,540	-0,326	1,722	-0,856
FC2	0,275	-0,150	0,539	-0,273

APENDICE E - Exemplos dos valores mensurados nos ensaios de viscosidade para as formulações Fc1 e Fc2

Tabela 35 - Valores dos ensaios de viscosidade e módulos G'' e G' de frequência angular

shear stress	shear rate	viscosity	time	temperature
Pa	1/s	Pa.s	s	°C
14,19	5,252	2,701	6,036	37
20,39	10,56	1,931	12,05	37
22,8	15,42	1,479	18,03	37
22,84	20,66	1,105	24,03	37
22,92	25,46	0,9003	30,04	37
22,93	30,64	0,7482	36,04	37
23,72	35,42	0,6697	42,05	37
24,57	40,59	0,6054	48,04	37
22,79	45,41	0,5018	54,06	37
21,23	50,65	0,4191	60,06	37
20,41	55,41	0,3684	66,04	37
20,57	60,58	0,3396	72,04	37
20,98	65,37	0,3209	78,03	37
21,45	70,58	0,3039	84,05	37
21,77	75,35	0,2889	90,04	37
21,83	80,49	0,2712	96,04	37
22,88	85,28	0,2683	102,1	37
23,42	90,48	0,2589	108	37
23,32	95,31	0,2447	114	37
22,95	100,5	0,2284	120	37
22,57	105,3	0,2144	126	37
22,07	110,5	0,1997	132	37
21,59	115,3	0,1873	138,1	37
21,14	120,5	0,1755	144,1	37
20,95	125,2	0,1673	150	37
20,85	130,4	0,1599	156	37
20,84	135,2	0,1541	162	37
20,96	140,4	0,1493	168	37
21,11	145,2	0,1454	174	37
21,4	150,4	0,1423	180,1	37
21,61	155,2	0,1393	186,1	37
21,81	160,4	0,136	192,1	37
22,02	165,2	0,1334	198	37
22,32	170,3	0,131	204	37
22,56	175,1	0,1288	210,1	37
22,82	180,3	0,1265	216,1	37
23,06	185,1	0,1246	222,1	37
23,41	190,3	0,123	228,1	37
23,73	195,1	0,1216	234,1	37
24,09	200,3	0,1203	240,1	37
24,41	205,1	0,119	246,1	37
24,68	210,3	0,1174	252,1	37
24,98	215,1	0,1161	258,1	37
25,22	220,3	0,1145	264,1	37
25,46	225	0,1131	270,1	37
25,7	230,2	0,1116	276,1	37
25,92	235	0,1103	282,1	37

26,17	240,2	0,109	288,1	37
26,47	245	0,108	294,1	37
26,79	250,2	0,1071	300,1	37
27,08	255	0,1062	306,1	37
27,37	260,2	0,1052	312,1	37
27,78	265	0,1049	318,1	37
28,09	270,1	0,104	324,1	37
28,36	274,9	0,1031	330,1	37
28,69	280,1	0,1024	336,1	37
29,02	284,9	0,1019	342,1	37
29,34	290,1	0,1011	348,1	37
29,74	294,9	0,1008	354,1	37
30,1	300,1	0,1003	360,1	37
30,42	304,9	0,09978	366,1	37
30,77	310,1	0,09922	372,1	37
31,11	314,9	0,09882	378,1	37
31,57	320	0,09864	384,1	37
31,95	324,8	0,09834	390,1	37
32,34	330	0,098	396,1	37
32,71	334,8	0,09769	402,1	37
33,16	340	0,09751	408,1	37
33,64	344,8	0,09755	414,1	37
34,11	350	0,09747	420,1	37
34,58	354,8	0,09748	426,1	37
35,16	360	0,09767	432,1	37

Tabela 36 - Exemplos dos valores dos módulos de viscosidade mensurados

G'	G''	n*	gap
Pa	Pa	Pa.s	micro m
265,2	208,4	674,5	59
316,1	218,8	610,7	59
352,6	231,3	532,2	59
393	239,3	461,1	59
425	259,9	396,8	59
479,9	261	345,4	59
535	282,3	303,9	59
548,5	307,8	251	59
597,6	314,4	214,1	59
644,3	328,9	182,1	59
672,5	337,7	150,6	59
760,5	375,1	135	59
789	383,2	110,7	59
873,3	420,6	97,02	59
926,5	438,5	81,57	59
996,4	465,1	69,39	59
1098	506	60,87	59
1138	515,6	49,9	59
1168	523,2	40,59	59
1215	540,7	33,48	59
1293	568,6	28,21	59

ANEXOS

ANEXO A – Laudos oficiais análises microbiológicas

1/2

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)	Ordem de serviço/ano: 24685-1/2013	Nº de amostra: 01
Data de entrada: 20/05/2013	Hora de entrada: 11:50	

N.º de amostra	Especificação do produto	Período	Contagem de bactérias aeróbias mesófilas UFC/mL ou g	Contagem de bactérias aeróbias psicrófilas UFC/mL ou g	Contagem de fungos mesófilos UFC/mL ou g	Determinação de Bactérias Gram Negativas	Determinação de Pseudomonas aeruginosa	Determinação de Staphylococcus aureus	Controle de Qualidade
CS 24685/01	FC 1 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Inicial - 18/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		24 Horas - 19/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		7º dias - 25/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		15 dias - 03/07/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		30 dias - 19/07/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		60 dias - 17/08/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		30 dias - 19/09/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		105 dias - 01/10/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		Limite de Quantificação de Método			10 UFC/mL ou g	10 UFC/mL ou g	10 UFC/mL ou g	Presença/Ausência	

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NR: Não Realizado, Não Referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

Metodologia: United States Pharmacopeia 36, National Formulary 31, 2013.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 10.068-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/G Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 06516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rh/le/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

**RELATÓRIO DE ENSAIO
ANÁLISE MICROBIOLÓGICAS**

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)	Ordem de serviço/nº: 24685-1/2013	Nº de amostra: 01
Data de entrada: 20/05/2013	Hora de entrada: 11:50	

N.º da amostra	Especificação do produto	Período	Contagem de bactérias aeróbias mesófilas UFC/mL ou g	Contagem de bactérias aeróbias psicrófilas UFC/mL ou g	Contagem de fungos mesófilos UFC/mL ou g	Determinação de Bactérias Gram Negativas	Determinação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Determinação de <i>Staphylococcus aureus</i>	Controle de Qualidade
OS 24685/02	FC 2 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Inicial - 18/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		24 Horas - 19/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		7º dias - 25/06/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		15 dias - 03/07/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		30 dias - 18/07/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		60 dias - 17/08/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		90 dias - 16/09/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		105 dias - 01/10/2013	< 10	< 10	< 10	Ausência	Ausência	Ausência	Aprovado
		Limite de Quantificação de Método	10 UFC/mL ou g	10 UFC/mL ou g	10 UFC/mL ou g	Presença/Ausência			-

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NR: Não Realizado, Não Referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

Metodologia: United States Pharmacopeia 38, National Formulary 31, 2013.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.088-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pelo Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbhe/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br

ANEXO B – Laudos oficiais análises “Challenge test”

1/4

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS
“Challenge Test”

Material: Creme - FC 1 (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)			Ordem de serviço/ano: 24685/2013
Processo: 2012/22294-3	Fabricação: 19/04/2013	Data de entrada: 20/05/2013	Hora de entrada: 11:50
Condições de coleta: temperatura ambiente			

CONTAGEM

MO	TEMPO							
	Fator de Diluição	7 DIAS; data: 04/06/2013	Fator de Diluição	14 DIAS; data: 11/06/2013	Fator de Diluição	21 DIAS; data: 18/06/2013	Fator de Diluição	28 DIAS; data: 25/06/2013
Sa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ec	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Pa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ab	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ca	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10

MO: Microrganismo; Sa: *Staphylococcus aureus*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*; Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida albicans*.

REDUÇÃO LOGARÍTMICA

MO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
Sa	> 4,77	> 4,77	> 4,77	> 4,77
Ec	> 4,81	> 4,81	> 4,81	> 4,81
Pa	> 4,85	> 4,85	> 4,85	> 4,85
Ab	> 4,73	> 4,73	> 4,73	> 4,73
Ca	> 4,79	> 4,79	> 4,79	> 4,79

MO: Microrganismo; Sa: *Staphylococcus aureus*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*; Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida albicans*.

Avaliação do resultado

Satisfatório (x)

Não satisfatório (-)

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Azei, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/vble/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br.

OS: 24685/2013

CONTROLE

MICRO-ORGANISMOS	INÓCULO (UFC)		
	Fator de Diluição	Contagem	Log
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	-4	59 5,9.10 ⁵	5,77
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	-4	64 6,4.10 ⁵	5,81
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	-4	70 7,0.10 ⁵	5,85
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)	-4	54 5,4.10 ⁵	5,73
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-4	62 6,2.10 ⁵	5,79

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NR: Não Referido, Não Realizado.

Metodologia: United States Pharmacopeia 36, National Formulary 31, 2013.**Observação:** Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS
"Challenge Test"

Material: Creme - FC 2 (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)			Ordem de serviço/ano: 24685/2013	
Processo: 2012/22294-3	Fabricação: 19/04/2013	Data de entrada: 20/05/2013		Hora de entrada: 11:50
Condições de coleta: temperatura ambiente				

CONTAGEM

MO	TEMPO							
	Fator de Diluição	7 DIAS; data: 04/06/2013	Fator de Diluição	14 DIAS; data: 11/06/2013	Fator de Diluição	21 DIAS; data: 18/06/2013	Fator de Diluição	28 DIAS; data: 25/06/2013
Sa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ec	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Pa	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ab	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10
Ca	-1	<10	-1	<10	-1	<10	-1	<10

MO: Microrganismo; Sa: *Staphylococcus aureus*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*; Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida albicans*.

REDUÇÃO LOGARÍTMICA

MO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS	28 DIAS
Sa	> 4,77	> 4,77	> 4,77	> 4,77
Ec	> 4,81	> 4,81	> 4,81	> 4,81
Pa	> 4,85	> 4,85	> 4,85	> 4,85
Ab	> 4,73	> 4,73	> 4,73	> 4,73
Ca	> 4,79	> 4,79	> 4,79	> 4,79

MO: Microrganismo; Sa: *Staphylococcus aureus*; Ec: *Escherichia coli*; Pa: *Pseudomonas aeruginosa*; Ab: *Aspergillus brasiliensis*; Ca: *Candida albicans*.

Avaliação do resultado

Satisfatório (x)

Não satisfatório (-)

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rble/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br.

CONTROLE

MICRO-ORGANISMOS	INÓCULO (UFC)		
	Fator de Diluição	Contagem	Log
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	-4	59 5,9.10 ⁶	5,77
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	-4	64 6,4.10 ⁶	5,81
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	-4	70 7,0.10 ⁶	5,85
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)	-4	54 5,4.10 ⁶	5,73
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-4	62 6,2.10 ⁶	5,79

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NR: Não Referido, Não Realizado.

Metodologia: United States Pharmacopeia 36, National Formulary 31, 2013.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

ANEXO C – Laudos oficiais ensaios “Shelf-Life”

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO SHELF LIFE/TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)				Ordem de serviço/ano: 24685/2013		
Quantidade: 01 amostra		Embalagem: Original do fabricante		Data de entrada: 20/05/2013		Hora de entrada: 11:50
N.º da Amostra	Especificação do produto	Parâmetros	Tempo da Inspeção			
			Inicial 18/06/2013	24 Horas 19/06/2013	7º DIA 25/06/2013	15º DIA 03/07/2013
OS 24685/01	FC 1 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Aspecto	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Cor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Odor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Peso da amostra Inicial:	20g	20g - 20g	20g - 19,7g	20g - 20g
Temperatura e Umidade da Estufa no momento da Inspeção			-	41,5 °C - 60%	41,3 °C - 62%	41,0°C - 60%

NR: não referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Cons. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbtle/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br.

1/4

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
SHELF LIFE/TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)			Ordem de serviço/ano: 24685/2013
Quantidade: 01 amostra	Embalagem: Original do fabricante	Data de entrada: 20/05/2013	Hora de entrada: 11:50

N.º da Amostra	Especificação do produto	Parâmetros	Tempo da Inspeção			
			30º DIA 18/07/2013	60º DIA 17/08/2013	90º DIA 16/09/2013	105º DIA 01/10/2013
OS 24685/01	FC 1 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Aspecto	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Cor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Odor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Peso da amostra Inicial/Final:	20g - 19,8g	20g - 19,9g	20g - 19,8g	20g - 19,9g
Temperatura e Umidade da Estufa no momento da Inspeção			41,7°C - 63%	41,5 °C - 59%	41,1 °C - 60%	41,8°C - 61%

NR: não referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbtle/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br

2/4

Anexos

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
SHELF LIFE/TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)				Ordem de serviço/ano: 24685/2013			
Quantidade: 01 amostra		Embalagem: Original do fabricante		Data de entrada: 20/05/2013		Hora de entrada: 11:50	
N.º da Amostra	Especificação do produto	Parâmetros	Tempo da Inspeção				
			Inicial 18/06/2013	24 Horas 19/06/2013	7º DIA 25/06/2013	15º DIA 03/07/2013	
OS 24685/02	FC 2 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Aspecto	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	
		Cor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	
		Odor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	
		Peso da amostra Inicial/Final:	20g	20g - 20g	20g - 20g	20g - 20g	
Temperatura e Umidade da Estufa no momento da Inspeção			-	41,5 °C - 60%	41,3 °C - 62%	41,0°C - 60%	

NR: não referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05518-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbtle/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br

3/4

173

Anexos

GUILHERME ANTONIO MOREIRA DE BARROS
Projeto: FAPESP Processo nº 2012/16610-0

Rua Distrito de Rubião Júnior, s/nº
CEP 18618-970 - Botucatu - SP

RELATÓRIO DE ENSAIO
SHELF LIFE/TESTE DE ESTABILIDADE ACELERADA

Material: Creme (Pesquisa de Doutorado de Valéria Vieira da Motta)			Ordem de serviço/ano: 24685/2013
Quantidade: 01 amostra	Embalagem: Original do fabricante	Data de entrada: 20/05/2013	Hora de entrada: 11:50

N.º da Amostra	Especificação do produto	Parâmetros	Tempo da Inspeção			
			30º DIA 18/07/2013	60º DIA 17/08/2013	90º DIA 16/09/2013	105º DIA 01/10/2013
OS 24685/02	FC 2 Processo 2012/22294-3 Fabricação: 19/04/2013	Aspecto	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Cor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Odor	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração	Normal, sem alteração
		Peso da amostra Inicia/Final:	20g - 19,9g	20g - 19,9g	20g - 19,7g	20g - 19,8g
Temperatura e Umidade da Estufa no momento da Inspeção			41,7°C - 63%	41,5 °C - 59%	41,1 °C - 60%	41,8°C - 61%

NR: não referido.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

São Paulo, 28/10/2013.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em:
<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/nile/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br.

4/4

174

Anexos

ANEXO D - Escala de Número Mais Provável (NMP)

Número de Tubos Positivos			NMP/g ou mL	Intervalo Confiança (95%)	
0,1	0,01	0,001		Inferior	Superior
0	0	0	<3,0	~	9,5
0	0	1	3,0	0,15	9,6
0	1	0	3,0	0,15	11
0	1	1	6,1	1,2	18
0	2	0	6,2	1,2	18
0	3	0	9,4	3,6	38
1	0	0	3,6	0,17	18
1	0	1	7,2	1,3	18
1	0	2	11	3,6	38
1	1	0	7,4	1,3	20
1	1	1	11	3,6	38
1	2	0	11	3,6	42
1	2	1	15	4,5	42
1	3	0	16	4,5	42
2	0	0	9,2	1,4	38
2	0	1	14	3,6	42
2	0	2	20	4,5	42
2	1	0	15	3,7	42
2	1	1	20	4,5	42
2	1	2	27	8,7	94
2	2	0	21	4,5	42
2	2	1	28	8,7	94
2	2	2	35	8,7	94
2	3	0	29	8,7	94
2	3	1	36	8,7	94
3	0	0	23	4,6	94
3	0	1	38	8,7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1000
3	3	0	240	42	1000
3	3	1	460	90	2000
3	3	2	1100	180	4100
3	3	3	>1100	420	~

ANEXO E – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Anexos

Botucatu, 04 de junho de 2012

Of. 301/2012

Ilustríssimo Senhor

Prof. Dr. Guilherme Antônio Moreira de Barros
Departamento de Anestesiologia da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Dr. Guilherme,

Informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4218-2012) Exposição de pacientes com síndrome de dor miofascial (SDM) à capsaicina: desenvolvimento de forma farmacêutica de uso tópico com possível ação analgésica, a ser conduzido por Valéria Romero Vieira da Motta, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, sem necessidade de envio à CONEP.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Prof. Dr. Trajano Sardenberg
Coordenador do CEP

ANEXO F - Laudo de especificação capsaicina ACOFARMA

Ficha de Dados de Segurança

ACOFARMA

Conforme o Regulamento (CE) Nº 1907/2006 (REACH)

Anexos

1.- Identificação da substância ou do preparado e da sociedade ou empresa

Identificação da substância ou do preparado

Denominação: Capsaicina

Identificação da sociedade ou empresa:

Acofarma Distribución S.A.
Llobregat, 20
08223-Terrassa, Espanha.
Tel: (0034) 93 736 00 88 / Fax: 93 785 93 62

Telefone de emergência: INEM – Centro de Informação Antivenenos: Tel: 808 250 143

2. 2.- Identificação dos perigos

Classificação da substância ou mistura

De acordo como Regulamento (EC) No 1272/2008

Toxicidade aguda, Cutâneo (Categoria 3)

Toxicidade aguda, Oral (Categoria 3)

Irritação cutâneas (Categoria 2)

Lesões oculares graves (Categoria 1)

Sensibilização respiratória (Categoria 1)

Sensibilização cutânea (Categoria 1)

Toxicidade específica em determinados órgãos (stot) - exposição única (Categoria 3)

De acordo com a Diretiva Europeia 67/548/CEE e suas emendas.

Tóxico por ingestão.

Irrita as vias respiratórias e a pele.

Risco de lesões oculares graves.

Possibilidade de sensibilização por inalação e por contato com a pele.

Elementos da etiqueta

Pictograma



Palavra de aviso

Perigo

Indicação(ões) de perigo

H301

Tóxico em caso de ingestão.

H311

Tóxico em contato com a pele.

H315

Provoca irritação cutânea.

H317

Pode provocar uma reação alérgica na pele.

H318

Provoca lesões oculares graves.

H334

Pode provocar sintomas de alergia, asma ou dificuldades respiratórias em caso de inalação.

H335

Pode irritar as vias respiratórias.

Declaração(ões) de aviso

P261

Evitar respirar o pó/ fumo/ gás/ neblina/ vapores/ aerosol.

P280

Usar luvas de proteção/óculos de proteção/máscara de proteção.

P301+P310

EM CASO DE INGESTÃO: Contatar imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA ou um médico.

P305 + P351 + P338	EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Retirar as lentes de contato, se usar e for possível . Continuar a enxaguar.
P342 + P311	Em caso de sintomas respiratórios: Contatar um CENTRO DE INFORMAÇÃO TOXICOLÓGICA ou um médico.
Símbolo(s) de perigosidade T	Tóxico
Frase(s) - R R25 R37/38 R41 R42/43	Tóxico por ingestão. Irrita as vias respiratórias e a pele. Risco de lesões oculares graves. Possibilidade de sensibilização por inalação e por contato com a pele.
Frase(s) - S S22 S26 S28 S36/39 S45	Não respirar o pó. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e contatar um médico. Em caso de contato com a pele, lavar imediatamente com água e sabão em abundância. Usar indumentária adequada e proteção para os olhos/ cara. Em caso de acidente ou mal-estar, procurar imediatamente assistência médica (se for possível, mostre a etiqueta).
Outros Perigos - nenhum(a)	

3.- Composição/informação sobre os componentes

CAS-Nº.:	404-86-4	EINECS-Nº.:	206-969-8
PM:	305.40		
Fórmula molecular:	C ₁₈ H ₂₇ NO ₃		

4.- Primeiros socorros

Em caso de contacto com os olhos, lavar com água abundante durante, pelo menos, 15 minutos, mantendo as pálpebras abertas. Contactar o médico.

Em caso de inalação, levar o indivíduo para o ar livre. Se não respira, administrar respiração artificial. Se respira com dificuldade, administrar oxigénio.

Após ingestão: enxaguar a boca com água, se a pessoa estiver consciente e dirigir-se ao médico.

Em caso de contacto com a pele, lavar ou mergulhar a área irritada com vinagre (ácido acético 5%).

A imersão pode continuar até que a irritação pare e seque a área afetada. Em casos graves são necessárias várias horas. Um tratamento alternativo consiste na imersão da área irritada em óleo vegetal. Alguns estudos indicam que a imersão em óleo vegetal proporciona maior alívio que com água fria.

Lavar a roupa contaminada antes de voltar a usá-la.

Eliminar o calçado contaminado.

Ficha de Dados de Segurança ACOFARMA**Denominação: Capsaicina**

Anexos

5.- Medidas de luta contra incêndios*Meios de extinção adequados:*Água pulverizada. Dióxido de Carbono (CO₂), pó químico seco e espuma apropriada.*Procedimentos especiais para o combate contra incêndios:*

Usar dispositivo autónomo de respiração e roupa protectora para evitar contacto com a pele e os olhos.

Riscos especiais:

Emite fumos tóxicos em caso de incêndio.

6.- Medidas a tomar em caso de derrame accidental

Evacuar a zona.

Usar dispositivo autónomo de respiração, botas e luvas resistentes de borracha.

Usar vestuário descartável e eliminar depois de usar.

Recolher em seco, colocar num recipiente e conservar para a sua posterior eliminação como resíduo.

Evitar levantar pó.

Limpar a área com uma lama de diatomáceas e etanol.

Ventilar o local e lavar o lugar onde se derramou o produto, após completamente recolhido.

7.- Manuseamento e armazenamento*Consultar seção 8.***8.- Controlos de exposição/proteção pessoal***Proteção pessoal:*

Roupa de proteção adequada.

Proteção respiratória: Máscara de respiração homologada.

Proteção das mãos: Luvas resistentes a químicos.

Proteção dos olhos: Óculos de segurança.

Medidas de higiene particulares:

Utilizar unicamente dentro de uma cabina para fumos químicos. Chuveiro de segurança e lavagem ocular.

Evitar o contacto com os olhos, pele e roupa. Não respirar o pó. Evitar a exposição prolongada ou repetida. Lavar cuidadosamente, mãos e pele, após cada manipulação.

Altamente tóxico. Irritante severo. Provoca espirros.

Armazenamento:

Manter hermeticamente fechado.

Em lugar fresco e seco.

Ficha de Dados de Segurança ACOFARMA**Denominação: Capsaicina**

Anexos

9.- Propriedades físicas e químicas

Estado físico: Sólido
 Cor: Branco
 Odor: Irritante

Valor pH

(susp. aquosa saturada) aprox. 6.4

Ponto de fusão 62 – 65 °C

Solubilidade em

Água (20 °C)	Praticamente insolúvel
Etanol	Solúvel
Éter	Solúvel
Clorofórmio	Solúvel
benzeno	Solúvel

10.- Estabilidade e reatividade*Matérias a evitar:*

Agentes oxidantes fortes.

Produtos de decomposição/combustão perigosos:

Fumos tóxicos de: monóxido de Carbono, dióxido de Carbono. Óxidos de Nitrogénio.

11.- Informação toxicológica*Toxicidade aguda:*DL₅₀ (intraperitoneal, rato): 9500 mcg/kgDL₅₀ (oral, rato): 47200 mcg/kg

Pode ser fatal por inalação, por ingestão ou por absorção através da pele.

Causa irritação grave.

Em altas concentrações é extremamente destrutivo para os tecidos das membranas mucosas, trato respiratório superior, olhos e pele.

Os sintomas da exposição podem incluir sensação de queimadura, tosse, laringite, falta de ar, dor de cabeça, náuseas e vômitos.

Provoca espirros. Não inalar.

Órgãos alvo:

Nervos.

12.- Informações ecológicas

Informação não disponível.

Ficha de Dados de Segurança ACOFARMA**Denominação: Capsaicina**

Anexos

13.- Considerações relativas à eliminação*Produto:*

Dissolver ou misturar com um solvente combustível adequado e incinerar em instalações adequadas. Na União Europeia não estão regulamentados, de momento, os critérios homogêneos para a eliminação de resíduos químicos. Aqueles produtos químicos, que resultam em resíduos através do uso quotidiano dos mesmos, têm geralmente, a característica de resíduos especiais. A sua eliminação nos países comunitários encontra-se regulamentada por leis e regulamentos locais. Pedimos-lhe que contacte a entidade adequada em cada caso (Administração Pública, ou então Empresa especializada na eliminação de resíduos), para obter informação acerca do seu caso particular.

Recipientes:

A sua eliminação deve ser realizada de acordo com as regulamentações oficiais. Devem adotar-se as mesmas medidas para as embalagens contaminadas que para o produto contaminante. As embalagens não contaminadas serão tratadas como resíduos domésticos ou como material reciclável.

14.- Informação relativa ao transporte

Contactar com ACOFARMA, S.C.L. para informação relativa ao transporte.

15.- Informação Regulamentar

A folha técnica de segurança cumpre com os requisitos do Regulamento (CE) No. 1907/2006.

16.- Outras informações**Texto de códigos H e frases R mencionadas na seção 2**

Data de Emissão 06-04-2000

Data da revisão: 19-01-2009

Os dados fornecidos nesta ficha de segurança baseiam-se no nosso actual conhecimento. Descrevem tão somente as medidas de segurança no manuseamento deste produto e não representam uma garantia acerca das propriedades descritas do mesmo.

ANEXO J – Credenciamento REBLAS**DECLARAÇÃO Nº 2**

Brasília, 15 de Maio de 2007.

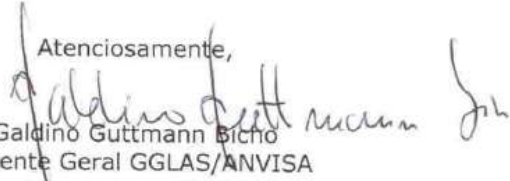
Declaramos para os devidos fins que o Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda, CNPJ 67.185.180/0001-77, situado na Rua Comendador Elias Assi, 645 - Caxingui - São Paulo-SP, está habilitado na Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde - REBLAS - sob o código ANALI-095, desde 27/04/2007.

O processo de manutenção da habilitação do laboratório foi conduzido pela Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública (GGLAS/ANVISA) conforme procedimentos operacionais publicados na página da ANVISA, <http://www.anvisa.gov.br/reblas/procedimentos/index.htm> e critérios da Norma NBR ISO/IEC 17025:2005.

Vale salientar que a habilitação concedida é válida exclusivamente para o escopo divulgado no site <http://www.anvisa.gov.br/reblas>.

Fica proibido o uso da logomarca institucional da ANVISA conforme o Procedimento de Identificação da Habilitação de Laboratórios (Procedimento GGLAS 04 - 2ª edição de 29/11/2004) em quaisquer documentos do laboratório.

Atenciosamente,


Galdino Guttman Bicho
Gerente Geral GGLAS/ANVISA

Anexos