

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Campus de Araraquara

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos

Leiliane Kelline de Souza

Orientadora: Prof. Dr. Leila Aparecida Chiavacci

Dissertação de mestrado

**“Utilização de sistemas poliméricos híbridos orgânico-inorgânicos
no desenvolvimento de sistemas formadores de filme”**

Araraquara

2010

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Campus de Araraquara

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos

Leiliane Kelline de Souza

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas , Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof. Dr. Leila Aparecida Chiavacci

Araraquara, 2010

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

S729u Souza, Leiliane Kelline de
Utilização de sistemas poliméricos híbridos orgânicos-inorgânicos no desenvolvimento de sistemas formadores de filme. / Leiliane Kelline de Souza. – Araraquara, 2010
138 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas
Orientador: Leila Aparecida Chiavacci

. 1. Formador de filme. 2. Híbrido orgânico-inorgânico. 3. Matrizes híbridas. I. Chiavacci, Leila Aparecida, orient. II. Título.

CAPES: 40300005

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família que sempre me apoiou em todos os momentos de minha vida. Dedicatória especial à Giancarlo Milaré Pinotti pela dedicação, amor e companheirismo, que me permitiram vencer todas as dificuldades para concluir este trabalho, e todos os outros desafios que tenho buscado em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me dado a oportunidade de aprender muito com este trabalho e a força e dedicação necessários para concluí-lo.

Agradeço em especial à minha orientadora Leila A. Chiavacci pela orientação, paciência e por todas as discussões científicas que me fizeram crescer nesta jornada.

Agradeço ao Prof. Dr. Celso Santilli, Prof^a. Dr. Sandra Helena Pulcinelli, Prof^a. Dr. Vera Isaac e Prof^a. Dr. Palmira Daflon Gremião por me permitirem utilizar seus laboratórios para o desenvolvimento deste trabalho.

À Johnson & Johnson que me apoiou na realização do mestrado, acreditando em meu potencial. Agradecimentos especiais à Paulo Oriani, Arthur Pelegrino e Jutta Haarer que me incentivaram nesta jornada.

À minha família, que é a minha fortaleza e que são com certeza os maiores entusiastas do meu sucesso, sempre me encorajando para aceitar e vencer meus desafios. Especial agradecimento à minha mãe por seu carinho e ao meu pai por ser um visionário que me impulsionou para caminhos que jamais pensei em trilhar.

Agradeço aos amigos que fiz durante o mestrado, e que fizeram desta história em Araraquara um momento muito feliz em minha vida: Fernanda Carbinatto (meu anjo da guarda), Hilris, Daniela Vieira, Fabiano, Flávia, Fernanda, Bruna, Jemima, Paula, Cris, Leandro.

Agradeço aos amigos pela ajuda em muitos momentos do meu mestrado: Fernanda Carbinatto, Flávia, Bruna, Jemima, Leandro e Eduardo.

E com todo o meu amor agradeço às minhas pequenas Hannah e Kessie pelo carinho e compreensão, e por terem ficado do meu lado o tempo todo enquanto escrevia este trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema estrutural proposto para um compósito híbrido.....	23
Figura 2. Esquema das camadas da pele.....	33
Figura 3. Diagrama simplificado da estrutura da pele e vias de penetração de fármacos.....	37
Figura 4. Alguns estágios na liberação do fármaco de um patch transdérmico.....	39
Figura 5. Molécula do fármaco cloridrato de pramoxina.....	52
Figura 6. Perfis de liberação para o diclofenaco de sódio a partir de uma matriz híbrida siloxano-polioxietileno e siloxano polioxipropileno.....	54
Figura 7. Esquema da síntese para preparação do precursor híbrido siloxano-POE.....	58
Figura 8. Esquema da síntese para preparação do precursor híbrido siloxano-POE com solvente etanol absoluto.....	59
Figura 9. Representação esquemática do processo de sol-gel e possíveis tipos de processamento de materiais que podem ser obtidos.....	60
Figura 10. Espalhamento da solução polimérica formadora de filme com extensor de filmes.....	61
Figura 11. Mucoadhesive test rig e probe cilíndrico de 10 mm.....	64
Figura 12. Texturômetro TA.XT2 com o conjunto de mucoadhesive test rig e aquecedor.....	64
Figura 13. Mucoadhesive test rig preparado para o teste de resistência à remoção com a pele de porco.....	65
Figura 14. Pele de porco presa no mucoadhesive test rig.....	66
Figura 15. Aparência da pele após teste de resistência à remoção.....	67
Figura 16. Preparação para o teste de permeabilidade ao vapor de água.....	68
Figura 17. Equipamento Tewameter® 300 - MPA 5.....	71

Figura 18. Leitura basal de TEWL e filme aplicado sobre a área teste.....	71
Figura 19. Placa de 96 poços com fundo chato – Corning®	74
Figura 20. Representação esquemática da câmara de Neubauer.....	75
Figura 21. Filme preparado com a relação híbrido precursor/catalisador de 41,6.....	79
Figura 22. (a) Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. (b) Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador e adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.....	80
Figura 23. Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. Teste com placa de vidro de acordo com <i>Schroeder et al</i> , mostrando que após 5 minutos o filme estava seco e não aderiu à placa de vidro.....	81
Figura 24. Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. Filme seco por 24 horas à 25°C em dessecador.....	82
Figura 25. Varredura de frequência a 0,1 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.....	84
Figura 26. Varredura de frequência a 0,2 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.....	84
Figura 27. Varredura de frequência de 0,5 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.....	85
Figura 28. Varredura de tensão à 0,5 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador	

20,8.....	85
Figura 29. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE500 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%).....	87
Figura 30. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POP2000 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%).....	88
Figura 31. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POP400 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%).....	89
Figura 32. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE1900 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%).....	90
Figura 33. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900 preparado com etanol contendo razão precursor híbrido/catalisador de 20,8 e proporção etanol/água igual a 15.....	93
Figura 34. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900 preparado com etanol contendo razão precursor híbrido/catalisador de 20,8 e proporção etanol/água igual a 15 com adição de 5% de cloridrato de pramoxina.....	94
Figura 35. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula A.....	96
Figura 36. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula B.....	96
Figura 37. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula C.....	97
Figura 38. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula C com adição do fármaco cloridrato de pramoxina.....	98
Figura 39. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula D.....	99
Figura 40. Curva controle (sem adição de solução polimérica formadora de filme) de força versus tempo. A altura do pico é a força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) e o total de forças envolvidas na remoção do probe do	

substrato biológico (trabalho de adesão, W_{ad}) é calculada pela área sob a curva.....	102
Figura 41. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE500.....	103
Figura 42. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE500 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.....	104
Figura 43. Fórmulas estruturais dos compostos híbridos siloxano-POP e siloxano POE.....	105
Figura 44. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP400.....	106
Figura 45. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP400 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.....	107
Figura 46. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE1900.....	108
Figura 47. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE1900 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.....	108
Figura 48. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP2000.....	110
Figura 49. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP2000 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.....	111
Figura 50. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE 1900 (precursor híbrido sintetizado com o solvente etanol)....	112
Figura 51. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE 1900 (precursor híbrido sintetizado com o solvente etanol)	

com adição de 5% de fármaco cloridrato de pramoxina.....	113
Figura 52. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do formador de filme New Skin® do substrato biológico.....	114
Figura 53. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do formador de filme Band-Aid® Liquid Bandage do substrato biológico.....	114
Figura 54. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do curativo adesivo Band-Aid® Tough Strip do substrato biológico.....	115
Figura 55. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do curativo adesivo Band-Aid® Flexible Fabric do substrato biológico.....	116
Figura 56. Taxa de permeabilidade ao vapor de água para as matrizes híbridas orgânicas-inorgânicas POP2000, POP400, POE1900 e POE500.....	119
Figura 57. Ilustração esquemática da barreira protetora do estrato córneo.....	122
Figura 58. Perda de água transepidérmica (TEWL).....	123
Figura 59. Espectros de diferentes proporções de HbO ₂ e Hb. Com o aumento da proporção de HbO ₂ tem-se a diminuição na absorbância em 560nm. Espectros característicos da oxihemoglobina (HbO ₂) e deoxihemoglobina (Hb).....	126
Figura 60. Análise de irritação da pele por DRS após uso das matrizes híbridas orgânica-inorgânica POP2000, POP400, POE1900 e POE500; além de produtos comerciais: Band-Aid Liquid Bandage, New Skin Liquid Bandage e Band-Aid adesivo curativo.....	126
Figura 61. Ensaio de citotoxicidade em linhagem de Fibroblastos humanos (MRC5-V).....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 41,6 (v/v).....	78
Tabela 2. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 20,8 (v/v).....	78
Tabela 3. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 10,4 (v/v).....	78
Tabela 4 – Tempo de gel/ tempo de filme obtidos por análise reológica dos híbridos precursores sintetizados com solvente THF: POE500, POE1900, POP400 e POP2000, solução polimérica formadora de filme preparada com proporção 20,8 híbrido/catalisador.....	91
Tabela 5 – Descrição das fórmulas das soluções poliméricas formadoras do híbrido precursor POE1900 sintetizado com etanol utilizadas nas análises reológicas.....	95
Tabela 6 – Tempo de gel/ tempo de filme obtidos por análise reológica do híbrido precursor obtido com solvente etanol: POE1900.....	97
Tabela 7. Força de resistência à tração e alongamento de ruptura dos híbridos POE500, POP400, POE1900 e POP2000.....	101
Tabela 8. Força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{m\acute{a}x}$) dos híbridos precursores em teste de resistência à remoção do filme	

do substrato biológico..... 104

Tabela 9. Força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) dos híbridos precursores em teste de resistência à remoção do filme

do substrato biológico..... 113

Tabela 10. Força máxima necessária para separar o probe do substrato (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) de produtos comerciais..... 116

LISTA DE ABREVIACÕES

POE 1900 – Polioxietileno de massa molecular 1900

POE 500 – Polioxietileno de massa molecular 500

POP 2000 – Polioxipropileno de massa molecular 2000

POP 400 – Polioxipropileno de massa molecular 2000

THF – Tetrahidrofurano

PVC – Cloreto de polivinila

MVTR – Moisture Vapor Transmitting Rate

WVP – Water Vapor Permeability

TEWL – Trans Epidermal Water Loss

DRS – Diffuse Reflectance Spectroscopy

LISTA DE SÍMBOLOS

G' = módulo de armazenamento

G'' = módulo de perda

η = viscosidade

γ = taxa de cisalhamento

τ = tensão de cisalhamento

SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO.....	20
II REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1 Pele.....	29
2.2 A epiderme e derme.....	29
2.3 Funções da Pele.....	33
2.4 Processos de transporte de Fármacos através da Pele.....	35
2.5 Barreiras difusionais complexas.....	37
2.6 Vias de penetração de fármacos através da pele e fatores que as influenciam.....	39
2.7 Propriedades que influenciam a liberação transdérmica.....	44
2.8.1 Principais sistemas de liberação controlada de fármacos que utilizam polímeros.....	45
2.9 Híbridos orgânicos-inorgânicos do tipo polióxido etileno (POE) e polióxido propileno (POP).....	47
2.10 Bioadesivos.....	49
2.11 Formadores de filme.....	50
2.12 Reologia de polímeros.....	53
2.13 Cloridrato de Pramoxina.....	55
III ESTADO DA ARTE.....	57
IV OBJETIVOS.....	59
V MATERIAL E MÉTODOS.....	60

5.1 Material.....	60
5.2 Equipamentos.....	61
5.3 Métodos.....	62
5.3.1 Preparação das matrizes híbridas com o uso do solvente Tetrahidrofurano (THF).....	62
5.3.2 Preparação das matrizes híbridas com o uso do solvente Etanol.....	63
5.3.3 Caracterização visual do tempo de gel em filmes não suportados.....	64
5.3.4 Caracterização mecânica e reológica de filmes não suportados.....	65
5.3.4.1 Determinação do tempo de gel através de medidas reológicas.....	65
5.3.4.2 Caracterização mecânica dos filmes não suportados.....	65
5.3.4.2.1 Testes mecânicos de ruptura e alongação em filmes não suportados.....	65
5.3.4.2.2 Análise de bioadesividade	66
5.3.5 Medida da taxa de transmissão de vapor de água (MVTR – “Moisture Vapor Transmittinf Rate”).....	71
5.3.6 Medida da taxa de perda de água transepidérmica (TEWL – “Trans Epidermal Water Loss”).....	73
5.3.7 Espectroscopia de Reflectância Difusa (DSR–“Diffuse Spectroscopy Reflectance”).	76
5.3.8 Avaliação de citotoxicidade “ <i>in vitro</i> ”.....	77
5.3.8.1 Cultivo das células.....	77
5.3.8.2 Ensaio de citotoxicidade “ <i>in vitro</i> ”.....	77
5.3.8.3 Viabilidade celular por exclusão do Azul de Trypan [®]	78
VI RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	80

6.1 Determinação do tempo de formação do filme.....	80
6.1.1 Determinação Visual do tempo de gel.....	80
6.1.2 Determinação do tempo de gel através de medidas reológicas.....	85
6.1.2.1 Evolução Temporal dos Módulos de estocagem e de perda das matrizes sintetizadas com o solvente THF.....	89
6.1.2.2 Evolução Temporal dos Módulos de estocagem e de perda das matrizes sintetizadas com o solvente etanol.....	95
6.2 Caracterização mecânica do formador de filme.....	103
6.2.1 Testes mecânicos de ruptura e alongação.....	103
6.2.2 Testes de bioadesão.....	105
6.2.2.1 Testes de bioadesão para matrizes híbridas obtidas com solvente THF.....	105
6.2.2.2 Testes de bioadesão para matrizes híbridas obtidas com solvente etanol.....	115
6.2.2.3 Testes de bioadesão para produtos comerciais.....	117
6.3 Medida da taxa de transmissão de vapor de água (MVTR – “Moisture Vapor Transmitting Rate”).....	120
6.4 Medida de taxa de perda de água transepidérmica (TEWL – Trans Epidermal Water Loss).....	122
6.5 Espectroscopia de Reflectância Difusa (DSR – Diffuse Spectroscopy Reflectance).....	127
6.6 Ensaios de citotoxicidade.....	129
VII CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	131
VIII CONCLUSÕES.....	133
IX REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134

ABSTRACT

The objective of this work was to study the suitability of the use of hybrid matrixes as film formers as new platform of technology for drug controlled release and / or an option for wound management. Siloxane–poly (ethylene oxide) (PEO) and Siloxane-poly(propylene oxide) (POP) hybrids obtained by the sol–gel process and containing short and long polymeric chains were prepared. First it was performed the mechanical characterization that gave us support to propose the use of these material as film former due to its properties like: cosmetical attractiveness for being able to form thin and transparent films; short time to dry into films; also suitable values of tensile strength and elongation at break that shows resistance of the material for wearing purpose. The hybrids showed good bioadhesivity in ear pig skin, substrate commonly used in substitution of human skin due to their physiological similarity, reinforcing its suitability to be used in the skin. Also the analysis of Water Vapor Permeability (WVP) and Transepidermal Water Loss (TEWL) showed that this material has occlusive properties enough to moisturize the stratum corneum enabling the swelling of the film formed enhancing this way the release of the drugs loaded. Also the TEWL results shows that the material allows the permeability in all the products tested of at least 60% of the water vapor, what can prevent maceration, irritation, redness and sensibility in the skin. Regarding this observation, also after 24h of use no redness or increase of oxyhemoglobin was detected in the DRS test, showing no skin irritation was caused in the use of the films formed by the hybrid matrixes. “*In vitro*” toxicological test showed no cytotoxicity effect. The results obtained demonstrated an excellent set of properties that permit the use of these hybrid matrixes as film former devices.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a possibilidade de utilizar as matrizes híbridas como formadores de filme como uma nova plataforma de tecnologia para a liberação controlada de fármacos e/ou para o tratamento de feridas. Filmes a base de materiais híbridos orgânico-inorgânicos do tipo siloxano–polióxido etileno (PEO) e siloxano–polióxido propileno (POP) obtidos pelo processo de sol–gel, contendo longas ou curtas cadeias poliméricas foram preparados. Primeiramente, foram realizadas as caracterizações mecânicas que nos deram suporte para propor o uso deste material como um formador de filme devido às suas propriedades, tais como: atratividade estética por ser capaz de formar filmes finos e transparentes; curto tempo de formação do filme; e também bons resultados de resistência à tração e alongamento até a ruptura, que revelaram que o material apresenta características mecânicas adequadas para o uso proposto. Análise do material revelaram boa adesividade em pele de porco, substrato este utilizado em uma série de testes em substituição à pele humana por semelhanças fisiológicas, reforçando assim sua adequação para ser utilizado na pele. As análises de permeabilidade ao vapor de água (MVTR) e perda de água por transpiração transepidérmica (TEWL) mostraram que este material possui propriedade oclusivas que o faz capaz de hidratar o estrato córneo. Essa hidratação possivelmente favorece o entumescimento do filme formado, o que facilitaria a liberação de fármacos nele incorporados. Além disso, os resultados de TEWL mostram que o material permite a permeação da água através das matrizes testadas de no mínimo 60% de vapor de água, o que previne a maceração, irritação, vermelhidão e sensibilidade da pele. Confirmando esta constatação, não foi observado após 24 horas de uso vermelhidão ou aumento de oxihemoglobina na pele em teste de DRS, mostrando que nenhuma irritação foi causada no uso dos filmes formados pela matriz híbrida. Teste toxicológico “*In vitro*” não mostrou nenhum

efeito citotóxico. O conjunto de resultados apresentados permitem concluir que os materiais híbridos estudados apresentam um conjunto de características que os tornam potenciais candidatos para o uso em formadores de filmes.

I – INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas observa-se um grande interesse de diferentes áreas como medicina, farmácia, agricultura, química e ciência dos materiais em novas tecnologias para liberação controlada de fármacos e princípios ativos com as mais diversas aplicações. A liberação controlada de fármacos, agrotóxicos ou agentes biológicos oferece muitas vantagens sobre as formas convencionais de liberação, tais como alta eficiência de liberação, controle preciso da dosagem por períodos prolongados (dias, semanas, meses) e diminuição da toxicidade^[1].

Independente da forma farmacêutica em que um fármaco é administrado, o principal objetivo durante sua aplicação é assegurar que seja atingida a eficácia terapêutica sem introduzir níveis inaceitáveis de toxicidade ou efeitos adversos. Assim, nos últimos tempos, as pesquisas além de focarem o desenvolvimento de novas substâncias também se voltaram para o desenvolvimento de novas plataformas de tecnologia para a obtenção de formas farmacêuticas inovadoras.

Nas últimas décadas muitos sistemas de liberação controlada de fármacos à base de materiais poliméricos que buscam controlar a quantidade, o perfil e o local de liberação do fármaco têm sido desenvolvidos. Entretanto, as propriedades mecânicas, reológicas, ópticas e físico-químicas destes materiais nem sempre permitem o desenvolvimento de dispositivos multifuncionais para a administração de fármacos pela via cutânea.

Uma grande variedade de polímeros foram testados em dispositivos de liberação controlada de fármacos, mas os derivados da celulose e as matrizes poliméricas a base de polióxido de etileno são as matrizes macromoleculares mais utilizadas ^[2]. Sabe-se que nestes polímeros o controle da liberação do fármaco depende da solubilidade, do tamanho de partícula do fármaco e da viscosidade do polímero. Quando o meio de liberação (por exemplo, água) é termodinamicamente compatível com o polímero, pode ocorrer um processo de relaxamento da

cadeia polimérica, que se torna mais flexível, ocasionando um intumescimento e facilitando a difusão do fármaco para fora da matriz. Os mecanismos de intumescimento e difusão não são os únicos envolvidos no processo de liberação do fármaco^[3]. Para a maioria dos polímeros solúveis em água, a dissolução da matriz é outro fator importante no controle da taxa de liberação. Dessa forma, os mecanismos de liberação a partir de matrizes hidrofílicas podem ser explicados pela relação complexa entre os processos de intumescimento, dissolução, difusão e erosão.

O polióxido de etileno (POE) é um dos polímeros mais extensivamente utilizados na indústria farmacêutica, principalmente devido à baixa toxicidade, capacidade elevada de intumescimento, solubilidade em água e estabilidade no pH do meio biológico^[4]. Misturas de diferentes polímeros foram desenvolvidas nas indústrias farmacêuticas como uma rota alternativa para sistemas de liberação de fármacos^[5]. Um dos exemplos mais estudados são os copolímeros em blocos (PBC), conhecidos comercialmente por Pluronic[®], que são formados por blocos de polímeros de óxido de etileno (OE) e óxido de propileno (OP) arranjados em estruturas básicas OEx-OPy-OEx (usualmente abreviados como POE-POP-POE). Estes copolímeros blocos são amplamente usados em sistemas farmacêuticos e em cosméticos^[6]. Uma característica proeminente dos PBC está relacionada com a liberação de fármacos, que em soluções aquosas podem formar agregados com morfologias esféricas, cilíndricas ou lamelares. O tamanho e morfologia dos agregados dependem fortemente da composição dos copolímeros em blocos, especificamente do comprimento das cadeias OE e OP, razão hidrofílica/hidrofóbica resultante da proporção entre monômeros OE e OP, temperatura e qualidade do solvente^[7]. Arranjos supramoleculares com interior hidrofóbico atuam como microambientes na incorporação de compostos lipofílicos, enquanto a região hidrofílica mantém a estabilidade da dispersão dos agregados PBC, ou seja, a mistura de polímeros com caráter hidrofóbico e hidrofílico possui

aplicações práticas na indústria farmacêutica permitindo a utilização de fármacos com características químicas diferentes^[8].

O desenvolvimento da nanotecnologia permitiu a obtenção de formas poliméricas nanoestruturadas, que constituem uma alternativa de sistemas poliméricos para uso em matrizes de liberação controlada. Os materiais poliméricos nanoestruturados permitem, através de modificações nanométricas em sua estrutura, a projeção de sistemas com características estruturais, ópticas e mecânicas otimizadas, com potencial aplicação em dispositivos para administração controlada de fármacos.

Dentre essa nova classe de polímeros nanoestruturados, a síntese e a caracterização de materiais híbridos orgânico-inorgânicos recebem considerável atenção. Estes híbridos não representam apenas uma alternativa para projetar novos materiais e compostos para pesquisas acadêmicas, suas características peculiares permitem que eles sejam utilizados para o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas. A maioria dos materiais híbridos que já entraram no mercado é sintetizada e processada a partir de uma rota química denominada sol-gel, onde um precursor organosilano é polimerizado em uma matriz de macromoléculas orgânicas^[9]. Este processo é baseado na: a) copolimerização de organosilanos funcionais, macromônômeros e alcóxidos metálicos, b) encapsulação de componentes orgânicos em sílica ou alcóxidos metálicos, c) funcionalização de nanopartículas, argilas ou outros compostos com estruturas lamelares, etc. As várias estratégias químicas (autoorganização, construção baseada em nanoblocos, híbridos metalo-orgânicos, sínteses integradas, processos acoplados ou estratégias que buscam a mimetização de sistemas biológicos, etc..) usadas nos laboratórios de pesquisa permitem projetar uma grande variedade de nano-objetos com estrutura bem definida. Esta nova geração de materiais híbridos deve abrir inúmeras aplicações em diversas áreas das ciências dos

materiais (eletrônica, óptica, condução iônica), no desenvolvimento de formas alternativas de energia, em ciência do meio-ambiente, biologia, medicina, como por exemplo, membranas e dispositivos de separação, células solares, catalisadores e sensores dentre outras^[10].

Os nanocompósitos formados por estes híbridos orgânico-inorgânicos são materiais bifásicos, onde ocorre a interpenetração das duas fases em uma escala nanométrica, conforme esquematizado na Figura 1. Evidentemente, as propriedades desses materiais não são descritas pela soma das contribuições individuais de cada fase, já que a interface desempenha um papel predominante. No híbrido, a cadeia polimérica confere aos nanocompósitos propriedades físicas ou químicas específicas (ópticas, elétricas, reatividade química ou bioquímica), enquanto a parte inorgânica contribui com o aumento da resistência mecânica e térmica e permitindo modular o índice de refração. Além disso, as propriedades mecânicas dos híbridos favorecem a obtenção de xerogéis com diferentes formas e tamanhos^[11].

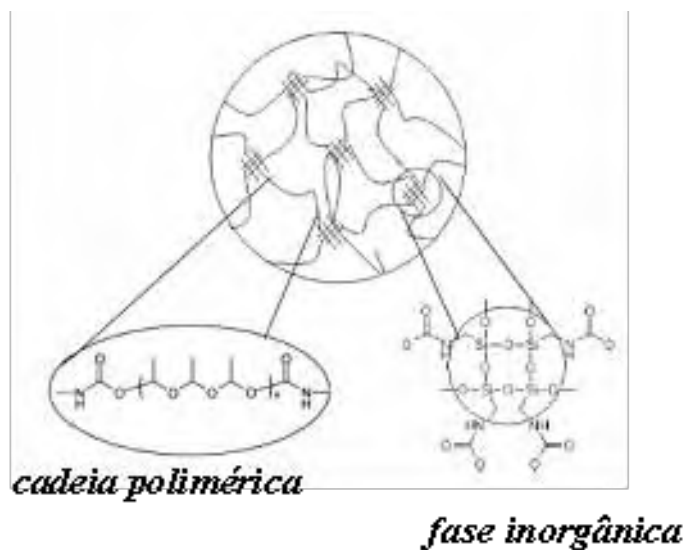


Figura 1. Esquema estrutural proposto para um compósito híbrido^[11].

A escolha do método de preparação desses materiais e dos componentes adequados das fases orgânica e inorgânica podem determinar as propriedades e as áreas de aplicação do material

final. Em particular, no caso do uso desses materiais como matrizes para a incorporação de fármacos, a escolha dos componentes de ambas as fases é decisiva, pois dela dependerá a presença de sítios de ligação catiônicos ou aniônicos aos quais deverão se ligar as moléculas do princípio ativo a serem incorporados e sua posterior liberação. O uso do processo sol-gel na preparação desses novos materiais permite a obtenção de géis (que podem ser usados em máscaras, ataduras oclusivas ou formadores de filmes), filmes finos, pós e microesferas à temperatura ambiente, além de facilitar a incorporação de diferentes compostos contendo moléculas com atividade farmoquímica na rede híbrida através da mistura em meio líquido (soluções aquosas ou alcoólicas, por exemplo).

Uma classe de nanocompósitos particularmente interessante obtida pelo processo sol-gel é a família dos híbridos siloxano-poliéter. Esses materiais são transparentes, flexíveis e possuem propriedades mecânicas superiores aos poliéteres puros^[12].

Em razão de suas características ópticas e mecânicas, esse sistema é um bom candidato para ser utilizado como um sistema terapêutico transdérmico (TTS, da sigla em inglês Transdermal Therapeutic System). Os TTSs facilitam a passagem de quantidades terapêuticas de fármacos através da pele, com o objetivo de atingir a circulação sanguínea, para exercer efeitos sistêmicos^[13]. Em 1965, Stoughton^[13] introduziu o conceito de absorção percutânea de fármacos. Na administração via transdérmica é considerado ideal que o fármaco migre através da pele até a corrente sanguínea sem permanecer nas camadas dérmicas. Esta condição contrasta diretamente com as formas farmacêuticas tópicas, tais como cremes, pomadas, géis e outras preparações semi-sólidas, nas quais a permanência do fármaco sobre a pele, o órgão-alvo, é necessária. A via transdérmica é uma eficiente via de administração de fármacos, sendo uma rota alternativa de administração de fármacos em relação às vias tradicionais, como a oral ou injetável por exemplo.

A via transdérmica pode ser utilizada tanto para administrar fármacos de ação local como para administração de fármacos de ação sistêmica, como por exemplo os “patches” de nicotina e hormônios, que quando liberados são absorvidos através da pele, agindo sistemicamente no organismo. Dentre as formas farmacêuticas convencionais utilizadas para a veiculação de fármacos por via tópica estão preparações semi-sólidas (pomadas, emulsões, géis, cremes) e soluções. Nos últimos anos, novos sistemas de liberação têm sido estudados para a incorporação de fármacos para administração via cutânea, como lipossomas, nanopartículas, ciclodextrinas, microemulsões, cristais líquidos, entre outros. Além disso, o uso de géis ou xerogéis poliméricos na forma de ataduras oclusivas, máscaras e bioadesivos, também constituem alternativas para a administração de certos fármacos por via cutânea e/ou transdérmica, pois aumentam a hidratação do estrato córneo prevenindo perdas de água por sudorese, podendo aumentar por um fator de 100 o grau de absorção de alguns fármacos como os corticosteróides, por exemplo.

Funcionalmente, uma atadura oclusiva pode ser definida como qualquer material capaz de manter o estrato córneo hidratado. Para o caso de feridas, o requisito é manter o tecido da ferida hidratado, promovendo a cicatrização por via úmida.

Foi estimado que há no mercado aproximadamente 10000 diferentes tipos de ataduras oclusivas, e que as vendas relacionadas somaram US\$ 350 milhões de dólares em 1995. Todavia, ataduras oclusivas provavelmente são utilizadas em apenas 30% dos casos em que elas poderiam ser muito benéficas^[14]. Vantagens adicionais das ataduras oclusivas nos tratamentos de ambos os tipos de feridas, aguda e crônica, incluem redução da dor e do risco de infecção. Vantagens específicas para o tratamento de feridas agudas incluem redução do tempo de cicatrização e da cicatriz. A ocorrência de infecção e/ou inflamação em feridas cobertas com ataduras oclusivas é

muito rara, o que provavelmente contribui para a cicatrização e para a diminuição da formação de cicatriz^[14].

Uma atadura oclusiva para uso em feridas é composta de uma porção absorvente, geralmente um não-tecido retangular ilhado em um substrato que contém um filme e um adesivo que o recobre. As ataduras oclusivas disponíveis no mercado são formadas, na sua maioria, por filmes de poliuretano, que possuem propriedades muito interessantes, tais como, flexibilidade, respirabilidade e transparência. É importante que uma atadura oclusiva seja capaz de absorver um grande volume de fluidos da ferida (exsudato) facilitando a cicatrização. Assim sendo, os hidrogéis poliméricos são materiais bastante indicados para utilização em ataduras oclusivas, pois são capazes de absorver grandes quantidades de fluídos e possuem a habilidade de aderir tanto a feridas secas quanto úmidas. É muito importante que haja também um filme hidrofóbico na parte externa da atadura conferindo a ela a propriedade de não se dissolver em contato com a água^[14].

Apesar de não existir nenhum guia que estabeleça as condições de uso de ataduras oclusivas, alguns fatores ajudam o médico a definir o tipo de atadura para uso no tratamento de feridas. O fator mais importante neste caso é a experiência do médico com os tratamentos que ele comumente usa e os resultados que obtém. Outros fatores importantes que influem na escolha da atadura oclusiva são o volume de exsudato e o tipo da ferida. Por exemplo, na abrasão a laser feita em procedimentos para eliminar ou minimizar rugas faciais, que geram um elevado volume de exsudato. Assim, alguns clínicos preferem utilizar hidrogéis capazes de absorver esse excesso de exsudato, outros preferem utilizar uma espuma fina e absorvente que seja capaz de aderir à face e possa ser cortada e moldada como uma máscara, pois a julgam mais efetiva na absorção do excesso de exsudato. A condição da pele que circunda a ferida também influencia na escolha

da atadura oclusiva. Se a pele encontra-se friável e facilmente danificável, o médico pode ficar relutante ao uso de uma atadura oclusiva que possua material adesivo, escolhendo então um hidrogel ou um hidrocolóide que apresentarem propriedades adesivas mais brandas e mais adequadas para peles sensíveis. Outros fatores que norteiam a escolha de uma atadura oclusiva incluem seu custo, a necessidade de proteger o ferimento evitando impactos e, conseqüentemente, dores (ataduras com almofada), a necessidade de se visualizar a ferida sem a retirada da atadura e a presença ou não de suturas^[14].

Os polímeros mais utilizados na produção de ataduras oclusivas são os polietilenos, poliuretanos, polipropilenos, PVC, dentre outros, alguns puros e outros na forma de blendas poliméricas. As características mais importantes para que um polímero possa ser utilizado em ataduras oclusivas são: a flexibilidade, que dá à atadura a propriedade de conforto durante o uso; a respirabilidade, ou seja, é importante que o material seja capaz de realizar trocas gasosas entre o ambiente interno e externo à atadura oclusiva para não ocorrer maceração da ferida; a transparência que é desejada para que o médico possa acompanhar o processo de cicatrização e até a capacidade de mimetizar a pele e tornar-se esteticamente aceitável, o que é importante para a adesão do usuário ao tratamento e, conseqüentemente, para a boa comercialização do produto. Os poliuretanos, principais constituintes das ataduras oclusivas encontradas atualmente no mercado são materiais flexíveis, transparentes e respiráveis, porém apresentam baixa resistência mecânica e um custo elevado.

Uma forma alternativa para o tratamento de feridas com liberação de fármacos que tornem o tratamento mais confortável e funcional e que possuem características similares às ataduras oclusivas, mas que são ainda muito pouco exploradas, são os materiais formadores de filmes, ou seja, materiais capazes de formar filmes “*in situ*” quando aplicados a uma superfície

como a pele/ferida. Algumas soluções de polímeros em solventes orgânicos ao serem aplicadas sobre a pele na forma líquida, por evaporação do solvente ou por reticulação do polímero, formam um filme sólido polimérico fino sobre a mesma. Esses materiais têm sido bastante utilizados em cirurgias, como por exemplo, em colas cirúrgicas que substituem os pontos no fechamento de cortes. Entretanto, pouquíssimos relatos são encontrados na literatura a respeito da utilização desses materiais como sistemas de liberação controlada de fármacos através da pele. Esses sistemas podem apresentar um grande avanço em relação às atuais ataduras oclusivas, pois possuem atratividade estética formando filmes finos e transparentes que melhorariam a aderência do paciente ao tratamento; tem capacidade de incorporar fármacos importantes para o tratamento de feridas, tais como anestésicos locais e antibióticos que tornariam o tratamento mais confortável.

Apesar de ser uma tecnologia promissora, poucos estudos avaliam as características mecânicas, térmicas e a permeabilidade ao vapor de água destes formadores de filmes. O grande desafio é a obtenção de um material formador de filme que apresente características estéticas desejáveis: filmes finos e transparentes; capazes de formar um filme mecanicamente resistente e ao mesmo tempo flexível o suficiente para que o movimento natural do corpo não provoque o seu rompimento; ser pouco solúvel em água (ou em fluídos biológicos como o suor) o que é imprescindível para a sua durabilidade; ter capacidade de incorporar fármacos que tenham ação em proteção e alívio da dor, para tornar o tratamento de feridas mais confortável e, além disso, a solução polimérica formadora de filme deve formar um filme sobre o local de aplicação em um tempo que varia de 2 a 5 minutos.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Pele

A pele humana compõe-se de três camadas de tecidos: a epiderme celular, estratificada e avascular; a derme subjacente de tecido conectivo e a gordura subcutânea. A pele coberta de pêlos contém folículos pilosos e glândulas sebáceas; a pele lisa das solas dos pés e palmas das mãos produz uma epiderme espessa com estrato córneo compacto, mas não contém folículos pilosos nem glândulas sebáceas^[15-20].

A pele é o maior órgão do corpo humano, contabilizando aproximadamente 15% da massa corpórea em adultos. Ela exerce inúmeras funções vitais, como metabólicas, imunológicas, táteis, termorreguladoras e de proteção contra agressões ambientais^[20]. A pele protege os órgãos internos, limita a passagem de produtos químicos, estabiliza a pressão sanguínea e a temperatura e media as sensações de frio, calor, toque e dor. A pele pode ser facilmente danificada por ação mecânica, química, biológica ou por radiação. Exemplos de insultos mecânicos à pele são cortes, contusões, queimaduras, mordidas e picadas. Insultos químicos podem ocorrer por ação de detergentes, resíduos químicos, solventes orgânicos, poluentes, cosméticos, fármacos tópicos e sistêmicos, que atacam e penetram na superfície da pele. Insultos biológicos à pele podem ser causados por microorganismos e plantas liberam alérgenos de contato e algumas patologias podem danificar a pele^[15-20].

2.2 A epiderme e a derme

A epiderme multicamada varia em espessura, oscilando desde 0,8 mm nas palmas das mãos e solas dos pés até 0,0006 mm nas pálpebras. As células da camada basal (estrato germinativo) dividem-se e migram ascendentemente para produzirem o estrato córneo ou

camada córnea. Os seres humanos sobrevivem em um ambiente não-aquoso graças à natureza quase impermeável desta camada morta, densa, que é crucialmente importante no controle da permeação de fármacos e outros produtos químicos. O estrato córneo pode ter apenas de 10 a 15 μm de espessura quando seco, porém, intumescce significativamente quando em contato com água. A proteção da pele é primariamente conferida pelo estrato córneo. Esta é a primeira barreira à permeação de substâncias, assim como contra a perda de água pelo organismo^[15].

Abaixo do estrato córneo está a epiderme viável (50 – 100 μm de espessura) que é responsável pela geração do estrato córneo^[17]. A epiderme viável é um epitélio estratificado composto principalmente pela camada basal, espinhosa e granular. Cada camada é definida pela posição, forma, morfologia e estado de diferenciação dos queratinócitos (nome dado às células da epiderme viável). A epiderme é um tecido dinâmico que se auto-regenera, onde a perda de células da superfície do estrato córneo por descamação é balanceada pelo crescimento de suas camadas mais profundas por multiplicação celular^[17-22].

Na camada basal, os queratinócitos iniciam sua diferenciação e, durante a migração em direção aos estratos espinhoso e granuloso, passam por uma série de mudanças estruturais e de composição. Os queratinócitos sintetizam e expressam diferentes proteínas e lipídeos estruturais durante a sua maturação. As últimas sequências de diferenciação dos queratinócitos estão associadas à mudanças profundas em sua estrutura, transformando-os nas escamas cornificadas física e quimicamente resistente do estrato córneo, os corneócitos. Os corneócitos são células anucleadas e escamosas compostas principalmente por filamentos de queratina. São circundados intercelularmente por uma matriz de lipídeos apolares e interconectados entre si por estruturas protéicas conhecidas como desmossomos^[17,21]. A matriz lipídica que circunda o estrato córneo é constituída principalmente por ceramidas (18%), ácidos graxos livres (19%), esteróis (14%) e

triacilgliceróis (25%). Em um estrato córneo normal, as células possuem cerca de 20% de água, enquanto que no estrato germinativo fisiologicamente ativo possui cerca de 70%. O estrato córneo requer no mínimo 10% de umidade para que sua flexibilidade seja mantida, e a camada de lipídeos intercelulares é a responsável direta por evitar a perda de água transcutânea^[18].

Além dos queratinócitos e corneócitos, há também na epiderme outros tipos celulares (células dendríticas), como as células de Merkel, melanócitos e células de Langerhans^[21]. Numa histologia padrão, os melanócitos, que produzem melanina (substância que dá cor à pele), e células de Langerhans, as células de defesa primária, aparecem entre as camadas basal e supra basal da epiderme. As células de Merkel apresentam dificuldades para serem identificadas.^[16]

A derme consiste em uma matriz de tecido conectivo de 3 a 5 mm de espessura entremeada de proteínas fibrosas (colágeno, elastina e reticulina) que são embebidas em uma substância de fundo amorfa composta por mucopolissacarídeos. Nervos, vasos sanguíneos e linfáticos atravessam a matriz e os apêndices da pele, tais como: glândulas sudoríparas écrinas, apócrinas e unidades pilosebáceas. A derme necessita de um suprimento sanguíneo eficiente para transportar nutrientes, remover produtos de degradação, regular a pressão e a temperatura, mobilizar forças de defesa e contribuir para a coloração da pele. Ramificações do plexo arterial levam o sangue para as glândulas sudoríparas, folículos pilosos, gordura subcutânea e derme propriamente dita. Esse suprimento atinge 0,2 mm dentro da superfície da pele, de tal forma que ele absorva de modo mais rápido e sistematicamente dilua a maioria das substâncias que passam pela epiderme. O volume generoso de sangue na pele geralmente age como um sistema sink, difundindo as moléculas que alcançam os capilares, mantendo as concentrações penetrantes na derme bastante baixas e maximizando gradientes de concentração epidérmicos, promovendo desta forma a permeação^[17-22].

A pele apresenta ainda o tecido subcutâneo, onde a gordura subcutânea (hipoderme) funciona como amortecedor mecânico e barreira térmica, que sintetiza e estoca rapidamente substâncias energéticas prontamente disponíveis.

Os chamados apêndices da pele também possuem importantes funções:

Glândulas sudoríparas écrinas (2 a 5 milhões) produzem suor (pH 4 a 6,8) e também podem excretar fármacos, proteínas, anticorpos e antígenos. Sua principal função é auxiliar no controle de temperatura.

Glândulas sudoríparas apócrinas desenvolvem-se nos folículos pilossebáceos para produzir características adultas das axilas, auréolas dos seios e região perianal. A secreção leitosa ou oleosa pode ser colorida e conter proteínas, lipídeos, lipoproteínas e sacarídeos. Bactérias de superfície metabolizam este líquido inodoro para produzir o cheiro corporal característico.

Folículos pilosos desenvolvem-se por toda a pele, exceto na parte vermelha dos lábios, das palmas das mãos e solas dos pés e em partes dos órgãos sexuais.

Glândula sebácea associa-se à um folículo piloso, estas glândulas holócrinas produzem sebo a partir de desintegração celular, seus componentes principais são glicerídeos, ácidos graxos livres, colesterol, ésteres de colesterol, ésteres sólidos e esqualeno. Glândulas sebáceas são mais numerosas e maiores na face, na testa, dentro da orelha, na linha mediana das costas e na superfície anogenital; as palmas e solas, geralmente, não as contém^[15].

A Figura 2 apresenta uma estrutura esquemática da pele com suas camadas (epiderme, derme e tecido subcutâneo) e seus anexos.

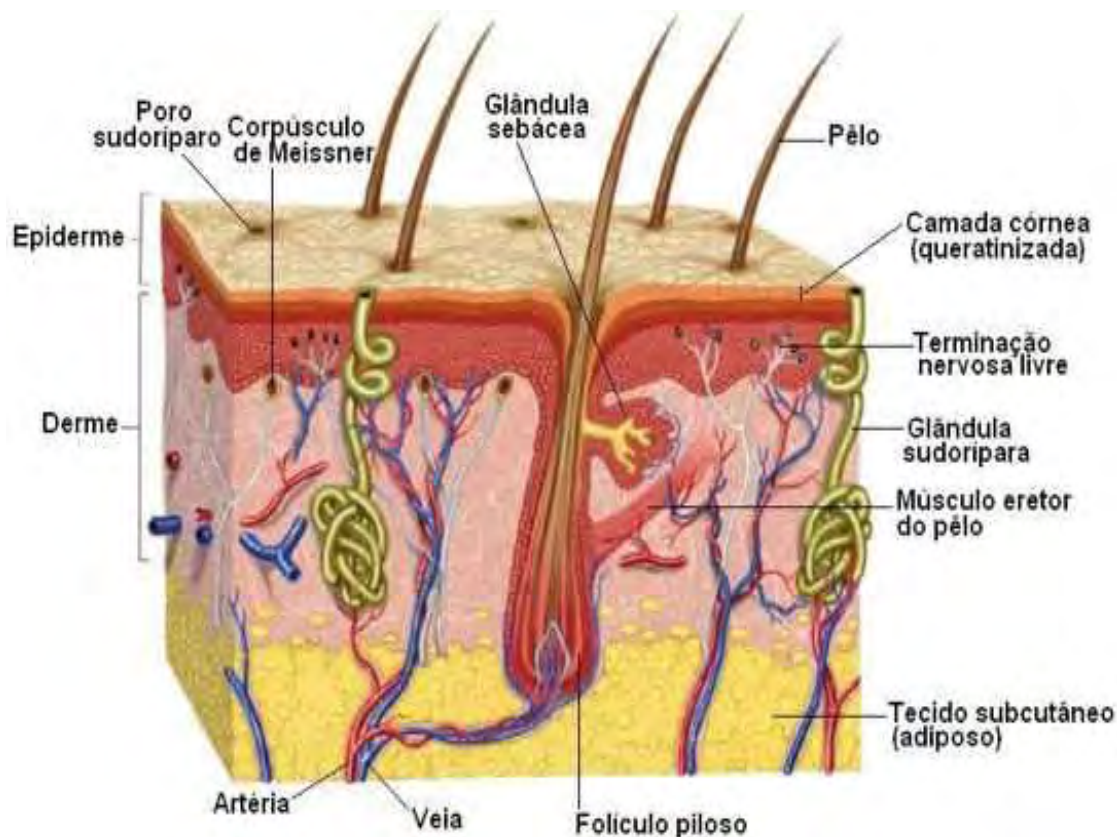


Figura 2. Esquema das camadas da pele. ^[23]

2.3 Funções da Pele

A derme confere propriedades mecânicas à pele, cabendo à epiderme a menor parte. A pele é elástica, mas uma vez que tenha atingido sua distensão inicial, se distenderá para além desse estado apenas com certa dificuldade. Com a idade a pele enrugase e torna-se mais rígida. A fina camada córnea é relativamente forte, e sua maleabilidade depende de um equilíbrio de lipídeos, substâncias higroscópicas solúveis em água (o fator de hidratação natural – Natural Moisturizing Factor – NMF) e particularmente da água. O tecido requer de 10 a 20 % de umidade para agir como plastificante e manter sua flexibilidade^[15].

O estrato córneo funciona como uma barreira microbiológica, a perda de grupos de corneócitos (escamas) junto com os microrganismos ali aderidos, auxilia neste mecanismo protetor. Entretanto, se os microrganismos penetrarem nas fendas superficiais, o estrato córneo danificado pode permitir o acesso a tecidos mais profundos, nos quais estes podem desenvolver-se. A tão conhecida camada ácida (produzida por secreções sebáceas e écrinas, a pH de 4,2 a 5,6) provavelmente não defende a pele contra bactérias em virtude de sua acidez, conforme acreditou-se no passado. Porém, outros mecanismos como os das glândulas da pele secretam ácidos graxos de cadeia curta que inibem o crescimento de bactérias e fungos; e o óxido nítrico produzido a partir dos nitratos do suor que podem auxiliar na prevenção de infecções causadas por patógenos da pele^[15].

Uma outra importante função da pele humana é exercer também uma barreira química, impedindo a entrada de moléculas indesejadas, enquanto controla a perda de água, de eletrólitos e de outros constituintes endógenos. A camada córnea é muito impermeável à maioria dos produtos químicos e, usualmente contribui para o passo limitante da absorção transdérmica. A pele intacta é uma barreira muito efetiva porque a resistência difusional da camada córnea é alta, e a rota alternativa dos apêndices permeáveis propicia apenas uma pequena área fracional (cerca de 0,1%)^[15,17].

A pele também funciona como uma barreira protetora contra radiação solar, e para a pele exposta à luz do sol, o comprimento de onda da luz ultravioleta de 290 a 400 nm é o mais danoso. Três reações agudas principais ocorrem após irradiação: eritema, pigmentação e espessamento dérmico. A luz ultravioleta estimula os melanócitos a produzirem melanina, que parcialmente protege a pele. Reações crônicas à luz solar incluem “envelhecimento”, estado pré-canceroso e canceroso.

A pele é um órgão primariamente responsável por manter a temperatura corporal à 37 °C. Apesar de o estrato córneo ser muito fino quando comparado com a maioria das áreas corporais e não proteger efetivamente os tecidos vivos subjacentes de extremo de frio e calor, porém a pele e seus anexos tem mecanismos para desempenhar esta função. Para conservar calor, a circulação periférica é reduzida para minimizar a perda de calor superficial, os calafrios geram energia quando o frio é intenso. Para perder calor, vasos sanguíneos dilatam-se, glândulas sudoríparas ecrinas despejam sua secreção salina diluída, a água evapora, e a remoção do calor de vaporização resfria o corpo^[15-21].

Além disso, na pele seca, a resistência à condução elétrica e a impedância são muito maiores do que em outros tecidos biológicos^[15].

2. 4 Vias de penetração de fármacos através da pele

A pele é muito efetiva como uma barreira seletiva à penetração de substâncias. A epiderme exerce o maior controle, por exemplo, a maioria dos não-eletrólitos pequenos solúveis em água difunde-se no sistema capilar mil vezes mais rapidamente quando a epiderme está ausente ou danificada. É importante que os cientistas estudem e controlem a permeabilidade seletiva por meio da relação existente entre os atributos fisiológicos e físico-químicos da pele e as propriedades do veículo ou base penetrante. É preciso ainda correlacionar as propriedades intrínsecas da barreira da pele com os requisitos moleculares de sua ruptura, como quando a pele é modificada pelas interações com os componentes dos veículos tópicos^[15].

Quando uma molécula chega à pele intacta, ela entra em contato com fragmentos celulares, microrganismos, sebos e outros materiais. A camada de sebo misturada com suor, bactérias e células mortas é fina (0,4 a 10 µm), irregular e descontínua; ela dificilmente afeta a

absorção transdérmica. Essa falta de efeito significativo pode parecer surpreendente, em particular porque mais de 300 compostos voláteis e não-voláteis foram detectados na superfície da pele^[15].

O difusante então tem três vias potenciais de entrada no tecido viável: pelos folículos pilosos com suas glândulas sebáceas associadas, via ductos sudoríparos, ou pelo estrato córneo contínuo existente entre estes apêndices^[15].

Na Figura 3 (a) podemos observar as três macrorrotas pelas quais um fármaco pode penetrar na pele. A macrorrota 1 apresenta os ductos sudoríparos; a macrorrota 2 apresenta o estrato córneo contínuo; e a macrorrota 3 apresenta os folículos pilosos com suas glândulas sebáceas associadas. As macrorrotas 1 e 3 apresentam uma área fracional disponível para absorção muito pequena (cerca de 0,1%) não contribuindo apreciavelmente para o fluxo no estado estacionário do fármaco. Porém, estas vias podem ser muito importantes para íons e grandes moléculas polares que atravessam o estrato córneo intacto com dificuldade. Apêndices da pele também podem funcionar como desvios, importantes nos primeiros momentos que antecedem o estado de difusão no estado estacionário, por exemplo, em ensaios biológicos que avaliam reações farmacológicas. Apesar de usualmente ignorarmos a rota pelos folículos pilosos para fluxo molecular sob condições de estado estacionário, moléculas muito grandes e partículas de dimensões coloidais podem ter o folículo como alvo. Especula-se que folículos normais têm um mecanismo eficiente para induzir respostas imunes a proteínas no folículo. Partículas coloidais, assim como lipossomas e pequenos cristais, são úteis para a vetorização pelos folículos pilosos. Em geral, partículas maiores que 10 μ m permanecem na superfície da pele, entre 3 e 10 μ m concentram-se nos folículos pilosos, e quando menores que 3 μ m, elas penetram tanto nos

folículos pilosos e estrato córneo. A macrorrota 2 apresentada na Figura 3(a) é a via de penetração mais comum para os difusantes^[15].

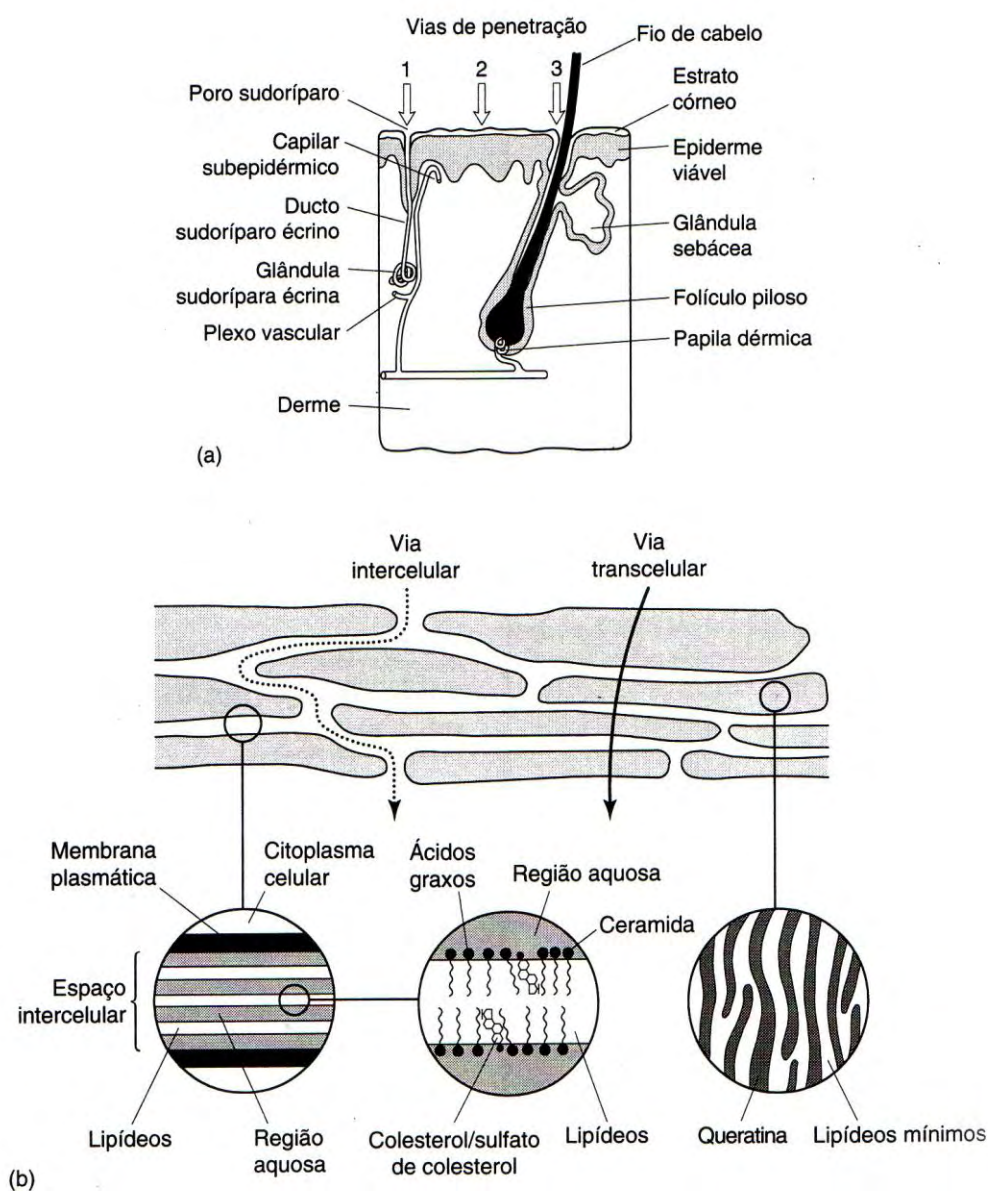


Figura 3. Diagrama simplificado da estrutura da pele e vias de penetração de fármacos. (a) Macrorrotas: (1) por via de ductos sudoríparos; (2) pelo estrato córneo contínuo; ou (3) por folículos pilosos com suas glândulas sebáceas associadas. (b) Representação da membrana do estrato córneo, ilustração de duas possíveis microrrotas de permeação^[15].

Na Figura 3(b), que apresenta um esquema de representação do estrato córneo, podemos observar que a função epidérmica de barreira consiste principalmente no estrato córneo. Este apresenta uma estrutura do tipo similar à de “tijolos e pilares” em analogia a uma parede. Os corneócitos constituem os “tijolos” nesta analogia. Estes estão embebidos nos “pilares” que são formados por uma mistura lipídica complexa de ceramidas, ácidos graxos, colesterol e ésteres de colesterol, dispostos em múltiplas bicamadas. A maioria das moléculas que penetram na pele utiliza esta microrrota intercelular^[15,17-18].

Para esta microrrota intercelular, uma vez que o estrato córneo é um tecido morto, parte-se do pressuposto de que não existem processos de transporte ativo e nenhuma diferença fundamental entre processos de permeação *in vivo* e *in vitro*. Porém, pode haver algumas discrepâncias no modo como algumas substâncias permeiam cortes de tecidos e a pele *in vivo*. Essas diferenças podem surgir porque manipulamos a pele para inseri-la no equipamento de difusão, podendo, inclusive danificá-la.

Na Figura 4, que apresenta um esquema ilustrativo de alguns estágios envolvidos na liberação de fármaco da partir de um adesivo di tipo “patch” transdérmico, podemos observar que as camadas viáveis (particularmente a epiderme) podem metabolizar e inativar um fármaco ou ativar um pró-fármaco. A camada papilar dérmica contém tantos capilares que o tempo médio de residência de um fármaco na derme pode ser de 1 minuto antes que seja absorvido. Em geral, as camadas dérmicas mais profundas não influenciam a absorção transdérmica, embora fármacos como agentes antiinflamatórios não-esteroidais possam penetrar profundamente até atingir os músculos. Porém, a derme pode se ligar a um hormônio como a testosterona, diminuindo sua absorção sistêmica. Se a substância penetrante for muito lipofílica, ela atravessará a camada córnea para encontrar uma fase aquosa, na qual é pouco solúvel. O potencial químico

imediatamente abaixo da barreira pode tornar-se alto, aproximando-se do da barreira. O gradiente de potencial (estrato córneo até tecido viável), então decai junto com o fluxo. Logo o passo determinante da velocidade n de permeação é a velocidade de depuração, mas não a velocidade de penetração na barreira^[15].

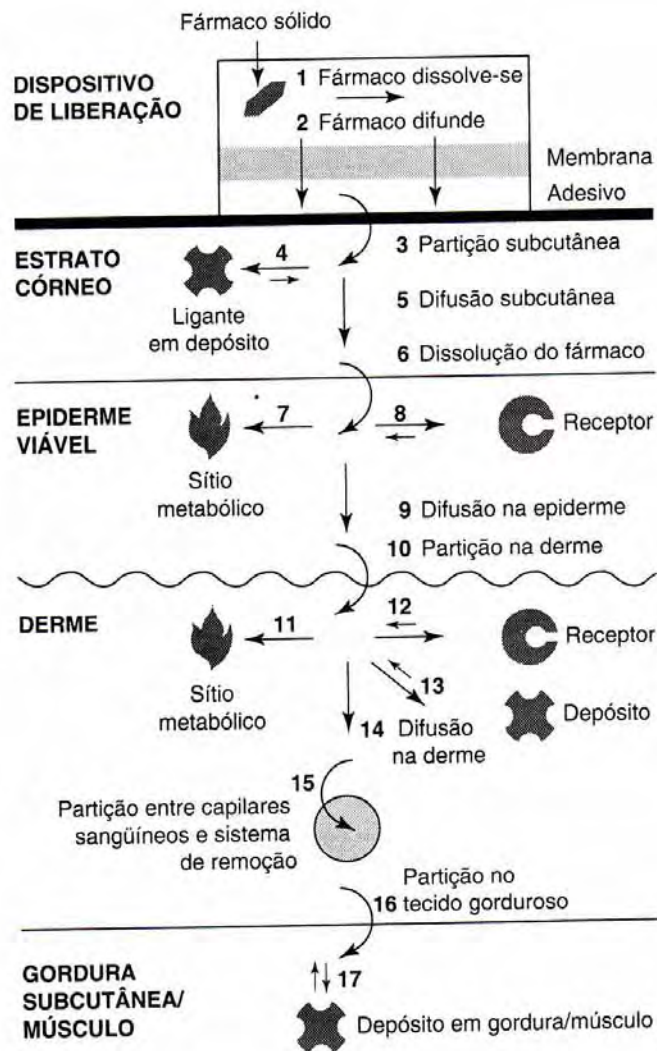


Figura 4. Alguns estágios na liberação do fármaco de um patch transdérmico^[15].

2.5 Propriedades que influenciam a liberação transdérmica

Quando uma preparação é aplicada à pele, o resultado clínico surge de uma sequência de processos: liberação do fármaco a partir do veículo; penetração pelas barreiras da pele; e ativação de resposta farmacológica^[15].

A terapia efetiva otimiza estes 3 passos, uma vez que são afetados por três componentes: o fármaco, o veículo e a pele. Tomando como exemplo um sistema de liberação transdérmico, que contém uma membrana de controle de velocidade, pode-se ilustrar a complexidade da absorção percutânea. Qualquer partícula do fármaco deve dissolver-se para que as moléculas possam difundir-se para a membrana do adesivo (“patch”). A substância penetrante sofre partição entre as membranas, difunde-se pelo polímero e sofre partição no adesivo. As moléculas difundem-se em direção à interface veículo/estrato córneo. Então, sofrem partição no estrato córneo e difundem-se por ele. Alguns fármacos podem ligar-se em um sítio de depósito; o produto remanescente permeia para além, encontra uma segunda interface e sofre partição dentro da epiderme viável. Para um espécime lipofílico, esse coeficiente de partição pode ser desfavorável, ou seja, menor que um. Dentro da epiderme, enzimas podem metabolizar o fármaco ou este pode interagir com um sítio receptor. Após atravessar a derme, regiões de depósito adicionais e sítios metabólicos podem intervir à medida que o fármaco move-se para um capilar, sofrendo partição entre a parede do vaso e o sangue para a remoção sistêmica. Uma fração do difusante pode sofrer partição dentro da gordura subcutânea, dando origem a outro depósito. Uma porção do fármaco pode alcançar camadas musculares mais profundas, como ilustrado, por exemplo, pela eficácia de fármacos antiinflamatórios não-esteroidais^[15-22].

Entretanto existem outras complicações. Os fatores seguintes podem ser importantes: não-homogeneidade dos tecidos; presença de vasos linfáticos; fluido intersticial, folículos pilosos

e glândulas sudoríparas, divisão celular; transporte celular para e pelo estrato córneo; e perda de superfície celular^[15,18].

A doença, o processo de cura, os componentes do fármaco e o veículo podem progressivamente modificar a barreira da pele. À medida que componentes do veículo se difundem dentro da pele, fragmentos celulares, suor, sebo e contaminantes de superfície passam para dentro da derme, modificando as características físico-químicas, tais como pH e constituição lipofílica/hidrofílica, por exemplo^[15,18].

2.6 Utilização de polímeros na indústria farmacêutica

Polímeros ganharam importância na indústria farmacêutica empregados em encapsulação de fármacos ou veículos em diferentes formulações: em ambos os casos atuavam protegendo fármacos durante sua passagem pelo corpo (ou em sua armazenagem prevenindo a entrada de umidade, garantindo assim a estabilidade de fármacos^[24], até sua liberação, ou controlando sua liberação).

2.6.1. Principais sistemas de liberação controlada de fármacos que utilizam polímeros

Existem numerosos trabalhos que relatam o desenvolvimento de carreadores e sistemas de liberação controlada utilizando polímeros. Alguns exemplos incluem:

- Fármacos incorporados em matrizes poliméricas^[25-27], chamados de dispositivos monolíticos;
- Dispositivos do tipo reservatório (“reservoir”)^[28];
- Partículas poliméricas coloidais ou microencapsuladas (micropartículas, microesferas ou nanopartículas) em dispositivos reservatórios (“reservoir”) ou matriciais^[26-27];

- Fármaco em dispositivos poliméricos contendo aditivo hidrofílico, como por exemplo, um segundo polímero, tensoativo ou plastificante, etc. para obtenção de um dispositivo poroso, ou um dispositivo no qual a liberação do fármaco pode ser controlada osmoticamente (ambos, dispositivos reservatório e matriciais)^[28-31];
- Revestimentos entéricos (ioniza-se e dissolve-se no pH apropriado)^[29];
- Polímeros solúveis com moléculas de fármacos “penduradas” covalentemente^[32-36];
- Dispositivos de taxa de liberação controlada dinamicamente, por exemplo, bomba osmótica^[37].

Os polímeros apresentam diversas vantagens no encapsulamento de pequenas partículas de fármaco ao invés de comprimidos individuais, dentre elas^[28]:

- Partículas encapsuladas irão se distribuir no estômago e intestino proporcionando uma liberação uniforme e reduzindo os efeitos devido às condições locais, tais como o pH;
- Fármacos podem ser encapsulados com diferentes revestimentos, ou espessura de revestimentos para garantir o perfil de liberação;
- Fármacos incompatíveis podem ser revestidos separadamente;
- O risco de superdose devido a falha no revestimento ou, alternativamente, liberação incompleta é reduzido.

Polímeros podem ainda ser utilizados no desenvolvimento farmacotécnico para modificar o tamanho da dosagem da forma farmacêutica ou o perfil de liberação da formulação. O tamanho da dosagem de apresentação da forma farmacêutica geralmente é controlado pela potência do fármaco, porém o uso de excipientes poliméricos permite aumentar ou dividir a

dose em mais de uma unidade para adequar o tamanho físico. O local e a duração da liberação do fármaco também podem ser modificados por polímeros (incluindo o tempo de trânsito do fármaco através do organismo ou até o local específico de sua liberação), como por exemplo, com polímeros de revestimento sensíveis ao pH para comprimidos.

Polímeros utilizados em revestimentos de liberação controlada tem que ser necessariamente biocompatíveis. A literatura mostra exemplos de polímeros naturais, tais como o Aquacoat[®] (FMC Corporation, Food & Pharmaceutical Products Division, Philadelphia, USA - etilcellulose micronizada em base aquosa), e também polímeros sintéticos, tais como o Eudragit[®] (Röhm Pharma, Weiterstadt) copolímero de poli(acrilato, metacrilato).

2.7 Híbridos orgânicos-inorgânicos do tipo polióxido etileno (POE) e polióxido propileno (POP)

A adequação de polímeros como materiais biomédicos e seu desempenho em dispositivos de liberação controlada de fármacos dependem, em grande parte, de sua estrutura global e de suas propriedades quando em interface com sistemas biológicos^[38]. Neste contexto, o poli(óxido etileno) (PEO) e suas inclusões de copolímeros em bloco ou em redes reticuladas (hidrogéis) apresentam boa compatibilidade biológica^[38-39]. De acordo com alguns autores^[1] a natureza hidrofílica do PEO pode inibir a adsorção de proteínas, a adesão de células, promovendo sua excreção completa. A alta solubilidade em água do PEO não permite prever o mecanismo de dissolução e de erosão do dispositivo que pode ocorrer em dispositivos pode sofrer o processo de liberação controlada de fármaco^[39]. Por causa desta limitação, um copolímero tribloco anfifílico, formado pela combinação de partes a base de um bloco mediano de poli(óxido propileno) (POP)

ou um bloco final de poli(lático) (PLA) e um bloco hidrofílico de POE com diferentes arquiteturas tem gerado grande interesse para uso em aplicações biomédicas^[40-42]. Outra abordagem para contornar este problema é fazer o cruzamento (“cross-link”) das cadeias do POE para formar uma rede insolúvel capaz de absorver grandes quantidades de água, resultando em um hidrogel intumescido^[38,43]. Geralmente, estes hidrogéis são preparados simultaneamente por copolimerização e ligações cruzadas (“crosslink”) de um ou dois grupos vinis. No entanto, estes agentes de ligações cruzadas são considerados inseguros para aplicações terapêuticas, porque os monômeros de vinil são altamente tóxicos, carcinogênicos e teratogênicos^[38]. Além disso, estes polímeros orgânicos reticulados apresentam uma heterogeneidade significativa, tais como agregados heterogêneos de pontos reticulados e uma ampla distribuição de comprimentos de cadeia intercruzadas transversalmente, resultando em baixa transparência óptica^[44]. Assim, os trabalhos recentes nesta área apontam para o desenvolvimento de novas abordagens para solucionar estes problemas, tais como substituir a função do vinil por poliuretano; ou por componentes inorgânicos à base de argila reticulada; ou promovendo reticulação por métodos de radiação^[44-46]. Pode-se ainda utilizar uma formulação composta por reagentes biologicamente seguros para sintetizar um material que possua simultaneamente a característica de ser flexível aliadas à transparência e à baixa solubilidade em água e fluídos biológicos. Este conjunto de propriedades são atrativas e convenientes para a formulação farmacêutica de lentes oftálmicas (lentes de contato), sistemas transdérmicos (“patches”) e implantes (tecidos moles) que liberem de forma controlada os fármacos^[1].

2.8 Bioadesivos

Bioadesão é o processo pelo qual um dispositivo polimérico adere reversivelmente a uma superfície externa ou interna de um substrato biológico. Desenvolvimento de novos bioadesivos têm sido objeto de intensa pesquisa por parte da indústria farmacêutica nas últimas décadas. Os materiais utilizados até então simplesmente como bioadesivos agora são explorados no sentido de avaliar seu potencial para serem utilizados também como sistemas de liberação controlada de fármacos^[47].

O termo bioadesão pode ser aplicado para qualquer ligação formada entre duas superfícies biológicas ou entre uma superfície biológica e uma superfície sintética. No caso de bioadesivos utilizados em sistemas de liberação controlada de fármacos, o termo de bioadesão é tipicamente utilizado para descrever a adesão entre dois polímeros, tanto sintético ou natural, como tecidos moles, como a pele, por exemplo. O alvo da maioria dos sistemas bioadesivos de liberação controlada é a camada de células dos tecidos moles (células epiteliais). Em geral bioadesão é um termo amplamente utilizado para descrever as interações entre adesivos com qualquer substância biológica ou derivada biologicamente^[47].

Os mecanismos responsáveis pela formação de ligações em bioadesivos não está completamente elucidado. Para desenvolver um bioadesivo ideal para um sistema de liberação de fármaco é importante descrever e entender as forças que são responsáveis pela formação da ligação adesiva. Muitas pesquisas têm sido direcionadas a analisar as interações entre hidrogéis poliméricos e tecidos moles. O processo de formação de uma ligação bioadesiva foi descrito em 3 partes: (a) Molhamento e entumescimento do polímero para permitir o contato mais profundo com o tecido biológico; (b) interpenetração das cadeias poliméricas do bioadesivo e emaranhamento das cadeias poliméricas; (c) formação de ligações fracas entre as cadeias

emaranhadas^[48-49]. A literatura cita que pelo menos uma das seguintes características poliméricas é requerida para obter bioadesão: (A) quantidade suficiente de grupos químicos capazes de formar pontes de hidrogênio (–OH e –COOH, por exemplo) com o substrato; (b) cargas aniônicas na superfície; (c) alto peso molecular, relacionado ao tamanho da cadeia polimérica; (d) alta flexibilidade da cadeia polimérica; (d) tensão de superfície que possa induzir a difusão através da camada de tecido epitelial^[47]. Cada uma destas características favorece a formação de ligações tanto químicas quanto mecânicas entre o polímero e o substrato biológico^[47].

2.9 Formadores de filme

As soluções poliméricas formadoras de filme representam uma nova abordagem nesta área que se apresenta como uma alternativa às formas farmacêuticas convencionais utilizadas para a proteção da pele ou para liberação de fármacos pela via transdérmica, tais como, pomadas, cremes, géis e “patches” transdérmicos. A solução polimérica é aplicada à pele na forma líquida e se transforma em um filme quase invisível após evaporação do solvente. Atualmente, soluções poliméricas formadoras de filme são bem conhecidas no campo da cirurgia, no tratamento de feridas e proteção da pele. No campo da cirurgia, por exemplo, são utilizadas como cola para tecidos em incisões^[50-52] ou como desinfetantes em preparação pré-operatória da pele^[26]. Soluções poliméricas formadoras de filme são também utilizadas com ou sem substâncias antimicrobianas para cuidados de pequenos cortes não cirurgicos^[53-55] ou no cuidado e proteção da pele que circunda a ferida de ostomia contra a agressão de fluidos corporais^[56]. Em contraste a isso, apenas poucos autores descrevem o uso de sistemas formadores de filme para a liberação de fármacos para liberação percutânea. Misra *et al.*^[57-58] mostraram uma solução polimérica formadora de filme para a liberação bifásica de testosterona, mas investigaram apenas uma

formulação contendo uma mistura de polivinilpirrolidona e polivinil álcool em isopropanol como matriz formadora de filme, sem realizar uma análise de varredura (“screening”) de polímeros. Os autores também não investigaram as propriedades mecânicas ou estéticas dos filmes formados, apenas focaram na permeação do fármaco deste sistema *in vitro* e *in vivo*. Outros sistemas formadores de filme descritos na literatura não são aplicados na forma de líquidos, mas sim na forma de géis^[59-60] ou cremes^[34]. Trabalhos similares aos de Misra *et al.*^[57-58], foram feitos por grupos que investigaram apenas um polímero em sua formulação sem testar uma ampla quantidade de formadores de filmes e focaram também principalmente na liberação do fármaco do sistema formador de filme^[32,33] ou na eficácia clínica da formulação^[61]. Soluções poliméricas formadoras de filme podem fornecer muitas vantagens sobre os “patches”, tais como: alta flexibilização da dosagem, alta adesão do paciente ao tratamento devido à melhora da aparência estética; e também apresentam vantagens em relação a preparações semi-sólidas, tais como: resistência ao atrito e maior período de permanência na região aplicada. O trabalho mais amplo encontrado na literatura foi o relatado por Schroeder *et al.*^[64], que teve como objetivo testar uma ampla variedade de materiais poliméricos e selecionar excipientes adequados, visando caracterizar as propriedades das formulações resultantes proporcionando ampla base tecnológica para o desenvolvimento desta nova forma farmacêutica. Na primeira fase dos experimentos realizados por Schroeder *et al.*^[64] foram utilizados 14 polímeros de diferentes classes químicas, basicamente polímeros formadores de filme dissolvidos em solventes voláteis. Outros excipientes, tais como, agentes plastificantes e agentes de ligação (“crosslinkers”) foram utilizados. Schroeder *et al.*^[64] desenvolveram ainda uma metodologia simples de pontuação visando avaliar as melhores formulações de soluções poliméricas formadoras de filme. O sistema de avaliação foi baseado em 5 critérios: viscosidade, tempo de secagem e formação do filme,

aderência a superfícies externas, atratividade estética e integridade do filme formado após 18 horas de uso. Estas propriedades foram consideradas requisitos chave na aplicação prática desta nova forma farmacêutica do ponto de vista dos pacientes. Segundo o trabalho realizado por Schroeder *et al.*^[64], a viscosidade das soluções poliméricas formadoras de filme deve ser baixa para possibilitar uma forma de dosagem como o spray, por exemplo, para que possa garantir confiabilidade na dose de aplicação, flexibilização da dose e ser o mais conveniente possível para o paciente. Com o objetivo de evitar que o paciente espere um longo tempo para a secagem da solução formadora de filme, esta deve secar rapidamente em contato com a pele, desejável tempo menor que 5 minutos. O filme formado não deve aderir à roupas do paciente e deve ter boa aderência à pele para que nela permaneça pelo tempo planejado de liberação do fármaco. Deve ter resistência ao atrito das roupas do paciente. Considerando o fato de que muitos pacientes reclamam da alta visibilidade dos patches transdérmicos, que são considerados esteticamente não atrativos, o filme formado deve ser o mais invisível possível. As formulações foram caracterizadas em relação às suas propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água^[62-63]. Nestes trabalhos acima citados não foi avaliada a incorporação de fármacos nas soluções poliméricas formadoras de filme analisadas^[64]. Além disso, a formação do filme ocorreu sempre pela evaporação do solvente, cuja velocidade depende de alguns fatores tais como temperatura e umidade do ambiente, o que dificulta o controle da velocidade de formação do filme considerando-se as condições de uso nas diversas zonas globais de temperatura, o que alteraria a estabilidade da formulação conforme a zona de temperatura em que fosse desenvolvido seu protocolo de estudo de estabilidade.

Por esta plataforma de tecnologia ser muito recente houve dificuldades para encontrar artigos científicos sobre o assunto que pudesse ser utilizado como suporte para a caracterização

do material formador de filme avaliado neste trabalho. Isso revela que existe um campo vasto para desenvolvimento de novos produtos nesta área tecnológica.

2.10 Reologia de polímeros

Reologia é a ciência que estuda o fluxo de deformação da matéria por meio da análise, entre outras, das respostas (na forma de deformações ou tensões) de um material à aplicação de uma tensão ou deformação. A matéria pode estar no estado sólido, líquido ou gasoso^[65].

A descrição fenomenológica das propriedades reológicas de um polímero tem por base a definição de dois tipos ideais de materiais: materiais puramente viscosos também conhecidos como líquidos Newtonianos (os quais durante a deformação dissipam todo o trabalho externo aplicado) e materiais puramente elásticos, também conhecidos como sólidos Hookeanos (os quais armazenam todo o trabalho externo aplicado). Materiais não ideais que apresentam comportamento intermediário entre esses dois extremos são chamados de materiais viscoelásticos^[65].

Os materiais poliméricos sólidos, fundidos ou em solução apresentam características viscoelásticas, inerentes aos materiais de elevado peso molecular, como os polímeros.

Quando um polímero é submetido a uma taxa de cisalhamento, este irá apresentar uma resistência ao fluxo. A grandeza que indica tal resistência é conhecida como viscosidade em regime permanente de cisalhamento ou simplesmente viscosidade, representada pelo símbolo η . A viscosidade é a propriedade reológica mais importante no processamento de polímeros fundidos, já que as vazões, quedas de pressão e aumentos de temperatura, que são parâmetros importantes nessas operações, dependem diretamente desta propriedade^[65].

A viscosidade de um polímero é função da taxa de cisalhamento, ao contrário de um fluido Newtoniano (puramente viscoso), cuja viscosidade é independente da taxa de cisalhamento, sendo função apenas da temperatura. Então, se para um fluido Newtoniano basta conhecer um único valor de viscosidade, para um polímero fundido é preciso obter uma função que descreva a dependência da viscosidade em relação à taxa de cisalhamento^[65].

Na maioria dos polímeros fundidos, a curva de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento apresenta duas regiões: uma a baixos valores de taxa de cisalhamento, chamada de platô Newtoniano, em que os valores de viscosidade independem da taxa de cisalhamento, e outra a altos valores de taxas de cisalhamento, em que a viscosidade decresce rapidamente com as taxas de cisalhamento, obedecendo a uma Lei de Potências. Nesta última região, a viscosidade pode ser descrita pela seguinte relação mostrada na Equação 8:

$$\eta(\dot{\gamma}) = m\dot{\gamma}^{n-1} \quad \text{Eq. 1}$$

Como a viscosidade é influenciada pela estrutura molecular do polímero, é possível obter correlações entre as propriedades reológicas e a estrutura do polímero, através de medidas reológicas oscilatórias. No regime oscilatório ou dinâmico de cisalhamento a tensão de cisalhamento (ou a deformação) aplicada varia com a frequência. A amplitude da tensão ou deformação de cisalhamento deverá ser pequena o suficiente para assegurar que as medidas ficarão dentro do regime de viscoelasticidade linear. O polímero é submetido a uma deformação (ou tensão) oscilatória de cisalhamento de pequena amplitude. Como os polímeros fundidos são viscoelásticos (ou seja, possuem uma resposta composta de uma parte elástica e outra viscosa) e as deformações são de pequenas amplitude, as tensões (ou deformações) irão oscilar com a mesma frequência ω , mas não estarão em fase com a deformação (ou tensão), exibindo então, um comportamento viscoelástico linear. O ângulo de defasagem entre as curvas de tensão e

deformação permitirá calcular os parâmetros reológicos conhecidos como módulo elástico (G') e módulo viscoso (G''), associados às características elásticas e viscosas, respectivamente, do polímero^[65].

Nas operações convencionais de processamento de polímeros, como a extrusão e a moldagem por injeção, esses materiais ficam sujeitos a vários tipos de deformações, em virtude da complexidade da geometria desses equipamentos. Por exemplo, durante o processo de extrusão, o polímero sofre cisalhamento no interior da extrusora pela rotação do parafuso e sofre alongação no início da matriz, pela convergência da mesma; esta termodinâmica promove o aparecimento de tensões normais e, conseqüentemente, o fenômeno de inchamento do extrudado. Na moldagem por injeção também são observadas deformações de cisalhamento e alongação em regime transiente recíproco, além de cisalhamento elevado dentro dos canais de alimentação e cavidades dos moldes. Essas deformações podem provocar aparecimento e armazenamento de tensões internas no moldado ou defeitos dimensionais na peça^[65].

A morfologia e, conseqüentemente, as propriedades mecânicas finais desses materiais e de suas misturas serão determinadas por estas deformações e tensões. Assim, torna-se necessário conhecer o comportamento desses materiais, quando em situações de fluxo, para poder prever e compreender a sua morfologia final^[65].

Neste trabalho foi utilizada a análise reológica do tempo de gel com o objetivo de estabelecer uma metodologia de determinação não visual do tempo de formação do filme, uma vez que esta metodologia é bastante utilizada na determinação do tempo de gelatinização em alimentos, sistemas coloidais e poliméricos, na determinação do tempo de cura de polímeros utilizados como colas, entre outros^[42]. O tempo de gel deve ser determinado por análise reológica, a tensão e frequência fixas, que avaliam a evolução

temporal do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G''), e no ponto em que estes se cruzam obtivemos o ponto gel ou ponto de filme^[68].

2.11 Cloridrato de Pramoxina

O cloridrato de pramoxina é um fármaco com ação anestésica. É um anestésico local sintético que bloqueia a iniciação e a condução dos impulsos nervosos mediante a diminuição da permeabilidade da membrana neuronal aos íons sódio. Assim, a fase de despolarização desaparece originando um potencial de ação de propagação insuficiente e, portanto, bloqueando a condução. É bem absorvido através das mucosas e a velocidade de absorção depende da vascularização ou da velocidade do fluxo sanguíneo no local da aplicação e da dose administrada. Tem como indicações: Anestesia local, supressão do refluxo da náusea, tratamento de transtornos anorretais, dor esofágica, transtornos da cavidade oral, dor da faringe, uretrite^[66].

Sua estrutura química pode ser representada pela fórmula apresentada pela Figura 5^[67].

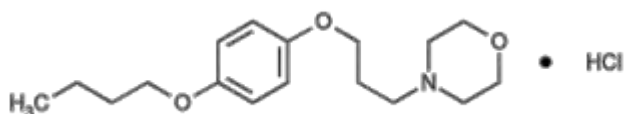


Figura 5. Molécula do fármaco cloridrato de pramoxina^[67].

Este fármaco é um bom candidato para ser administrado via cutânea por sua extensa utilização em preparações farmacêuticas para uso tópico, tais como: pomadas, cremes e soluções.

III ESTADO DA ARTE

Em trabalhos recentes^[1] a utilização de materiais híbridos siloxano-poliéter em sistemas de liberação controlada de fármacos tem sido avaliada em nosso grupo de pesquisa. Os resultados revelaram que a matriz híbrida permite a incorporação de grandes quantidades de fármacos com ação antiinflamatória, tais como o diclofenaco de sódio, o piroxicam e o naproxeno; e o anticancerígeno, como a doxorrubicina. No caso do diclofenaco de sódio, cerca de 60 vezes mais fármaco pode ser incorporado à matriz híbrida em comparação com uma matriz polimérica de mesma natureza e massa molecular. Além disso, a escolha dos componentes da fase orgânica e o controle da estrutura desses materiais permitiram modular o perfil de liberação. No caso do diclofenaco de sódio, o uso de polioxietileno (hidrofílico) ou polioxipropileno (hidrofóbico) permite obter híbridos capazes de liberar o fármaco em algumas horas ou em alguns dias, respectivamente, como mostra a Figura 6. Como as duas matrizes poliméricas híbridas não são solúveis em água, ao contrário dos poliéters puros, não houve influência da solubilidade da matriz no mecanismo de liberação do fármaco. As mudanças no perfil de liberação devem-se à diferença de comportamento hidrofílico/hidrofóbico existente entre os dois tipos de cadeia polimérica, que determina o processo de transporte da água e do fármaco pela matriz. No caso dos híbridos siloxano-polioxietileno, o transporte é controlado pela osmose associada ao rápido intumescimento da matriz e a formação de um hidrogel na sua superfície. Por outro lado, o processo de difusão em estado sólido controla o perfil de liberação nos híbridos siloxano-polioxipropileno. Estes comportamentos associados às características ópticas e mecânicas únicas dos polímeros híbridos indicam que o controle do balanço hidrofílico/hidrofóbico, a partir da confecção de híbridos contendo misturas siloxano-polioxietileno e siloxano-polioxipropileno, permitirá o desenvolvimento de dispositivos com potencial aplicação

na administração cutânea de diversos fármacos, e um ajuste fino e controlado do perfil de liberação. O grupo de pesquisa conseguiu trabalhar com as matrizes híbridas orgânica-inorgânicas, em formas retangulares e circulares com potencial aplicação em implantes sobre a pele; e em formas de filmes finos e transparentes com potencial aplicação para ataduras oclusivas e sistemas transdérmicos como mostra este trabalho.

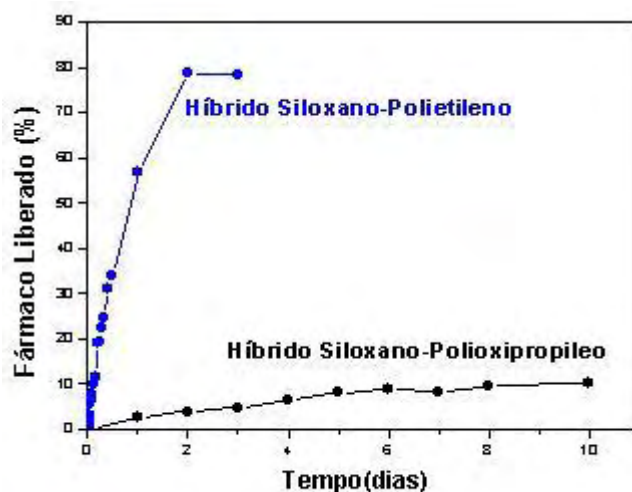


Figura 6. Perfis de liberação para o diclofenaco de sódio a partir de uma matriz híbrida siloxano-polioxietileno e siloxano polioxipropileno^[1].

IV Objetivos

O objetivo deste trabalho foi desenvolver materiais formadores de filmes constituídos por polímeros híbridos orgânico-inorgânicos do tipo siloxano poliéter contendo o anestésico local cloridrato de pramoxina, para proteção da pele e feridas, visando estabelecer uma potencial plataforma de tecnologia para a substituição dos transdérmicos existentes atualmente no mercado. Para atingir este objetivo foram realizados os seguintes passos:

- Avaliação da influência da natureza química do polímero utilizado na obtenção do formador de filme a partir da matriz híbrida.
- Avaliação da influência da natureza química do polímero utilizado no tempo de formação dos filmes.
- Controle da razão precursor híbrido/catalisador visando a obtenção de um tempo adequado de formação de filme;
- Avaliação da influência da natureza química do polímero utilizado nas características mecânicas e de bioadesão dos filmes obtidos.
- Avaliação da influência da natureza química do solvente utilizado nas propriedades reológicas e mecânicas dos filmes obtidos;
- Avaliação da capacidade de incorporação do cloridrato de pramoxina nas matrizes híbridas;

V MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Material

- Polióxido etileno – POE 500 – o,o'-Bis- (2-aminopropyl) poluethylene glycol 500, FLUKA.
- Polióxido etileno – POE1900 – o,o'-Bis- (2-aminopropyl) poluethylene glycol 1900, FLUKA.
- Polióxido propileno – POP400 – Poly(propylene glycol) bis (2-amino-propylether) 400, FLUKA.
- Polióxido propileno – POP2000 – Poly(propylene glycol) bis (2-amino-propylether) 2000, FLUKA.
- Solução de HCl 1,37 M.
- Cloridrato de pramoxina 100%, USP, Dastech International, Inc.
- Etanol absoluto, Synth, Diadema, SP.
- Tetrahidrofurano, Synth, Diadema, SP.
- MRC-5(CCL-171 - código da linhagem celular na ATCC): Fibroblastos de pulmão humano, ATCC (American Type Culture Collection) - USA.
- Meio de cultura DMEM (Modified Dulbecco's Minimum Media) – Cultilab - Campinas, SP
- Soro fetal bovino (FBS) – (Cultilab) Campinas, SP
- L-glutamina Sigma-Aldrich Inc. St. Louis, MO 63103
- Anfotericina-B Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, USA
- Penicilina-estreptomicina Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, USA
- Placa de 96 poços, fundo chato – Corning, NY 14831 USA

- Tampão PBS (phosphate-buffered saline).
- MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol2yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue) – Sigma-Aldrich Inc. St. Louis, MO 63103.
- Álcool isopropílico, Synth, Diadema, SP.
- 3-(Trithoxysilyl)Propyl Isocyanate, 95%, Sigma-Aldrich, USA

5.2 Equipamentos

- Agitador mecânico, Fabbe;
- Balança Analítica, OHAUS[®] Corporation, modelo AS200;
- Reômetro, Haake Rheostress , modelo RS-1;
- Equipamento medidor de tração, EMIC, DL-500;
- Texturômetro TA.TXPlus Texture Analyser, Stable Micro Systems;
- Aquecedor Fisatom (Modelo 752A);
- PERMATRAN-W Model 101K;
- MPA 5 (Multiple Probe Adapter) - Tewameter[®] 300, Courage-Khazaka (Colônia, Alemanha);
- Espectrofotômetro, Ocean Optics, USB2000/USB-LS-LED;
- Espessímetro, Pantec/Mitutoyo;
- Leitor de placas Dynex.

5.3 Métodos

5.3.1 - PREPARAÇÃO DAS MATRIZES HÍBRIDAS COM O USO DO SOLVENTE TETRAHIDROFURANO (THF)

Os precursores híbridos orgânico-inorgânicos foram preparados pela reação de um alcoóxido modificado (3-isocianatopropiltrietoxissilano (IsoTrEOS)) e de um polímero modificado ($\text{NH}_2\text{-POE-NH}_2$ ou $\text{NH}_2\text{-POP-NH}_2$) com massas moleculares de 500 e 1900 g mol^{-1} . Essa mistura foi mantida sob refluxo com tetrahydrofurano (THF) a temperatura de 80 °C por 24 horas seguindo metodologia bem descrita na literatura^[1], conforme esquematizado na Figura 7. Posteriormente eliminou-se o THF sob aquecimento e pressão reduzida (roto-evaporador), obtendo-se desta maneira o precursor.

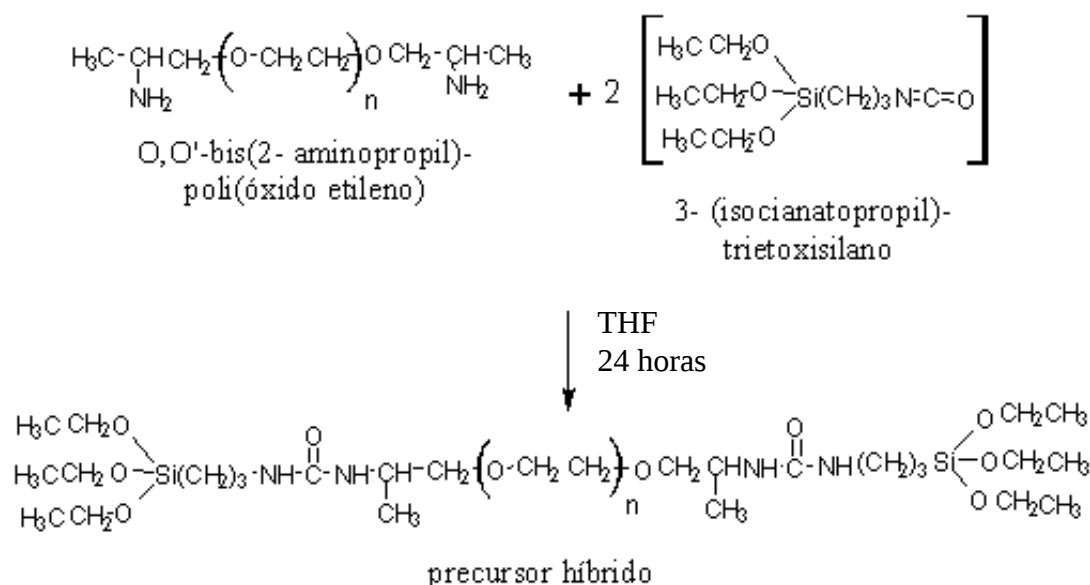


Figura 7. Esquema de obtenção do precursor híbrido siloxano-POE.

5.3.2 - PREPARAÇÃO DAS MATRIZES HÍBRIDAS COM O USO DO SOLVENTE ETANOL

Com a preocupação de possíveis questionamentos em relação a resíduos do solvente orgânico Tetrahidrofurano (THF), conhecido como uma das substâncias nocivas à pele, foi desenvolvido um processo de síntese do precursor híbrido com etanol absoluto, que em baixas concentrações não apresenta restrições ao uso em pele. A preparação dos precursores híbridos orgânico-inorgânicos foi feita pela reação de um alcoóxido modificado (3-isocianatopropiltrietoxissilano (IsoTrEOS) e de um polímero modificado (NH₂-POE-NH₂) com massa molecular 1900 g mol⁻¹. Essa mistura foi mantida sob refluxo com etanol absoluto a temperatura de 80 °C por 24 horas, conforme esquematizado na Figura 8. Posteriormente eliminou-se o etanol sob aquecimento e pressão reduzida (rota-evaporador), obtendo-se desta maneira o precursor.

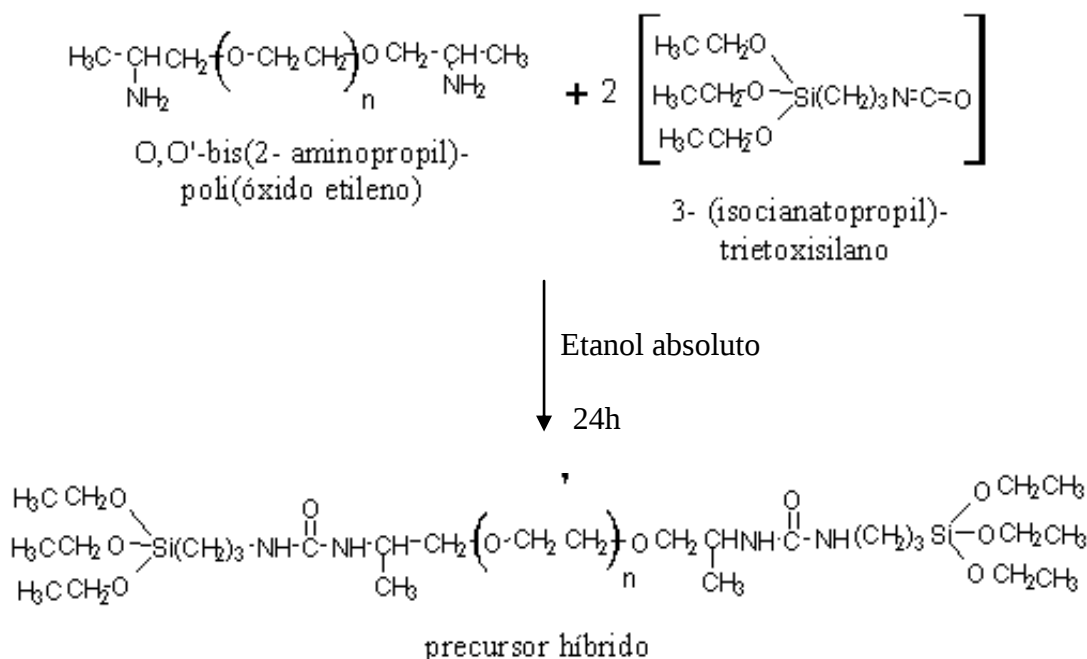


Figura 8. Esquema de obtenção do precursor híbrido siloxano-POE com solvente etanol absoluto.

5.3.3 - CARACTERIZAÇÃO VISUAL DO TEMPO DE GEL EM FILMES NÃO SUPORTADOS

Após obtenção do precursor híbrido de acordo com o item 5.3.1., apresentado anteriormente, foram adicionados água, etanol e diferentes proporções de catalisador para promover as reações de hidrólise e condensação responsáveis pela formação do filme. Imediatamente após essa adição espalhou-se a solução polimérica formadora de filme sobre uma placa acrílica recoberta com teflon com um extensor de filmes (cavidade de 10 mils) conforme mostra a Figura 10. Nas amostras em que o fármaco cloridrato de pramoxina foi incorporado, este foi adicionado e solubilizado em mistura de etanol e água utilizada nas reações de hidrólise e condensação para a obtenção de um filme pelo processo sol-gel representado pela Figura 9. Visualmente foi acompanhado o tempo necessário para que o filme não aderisse a uma placa de vidro colocada sobre a sua superfície.

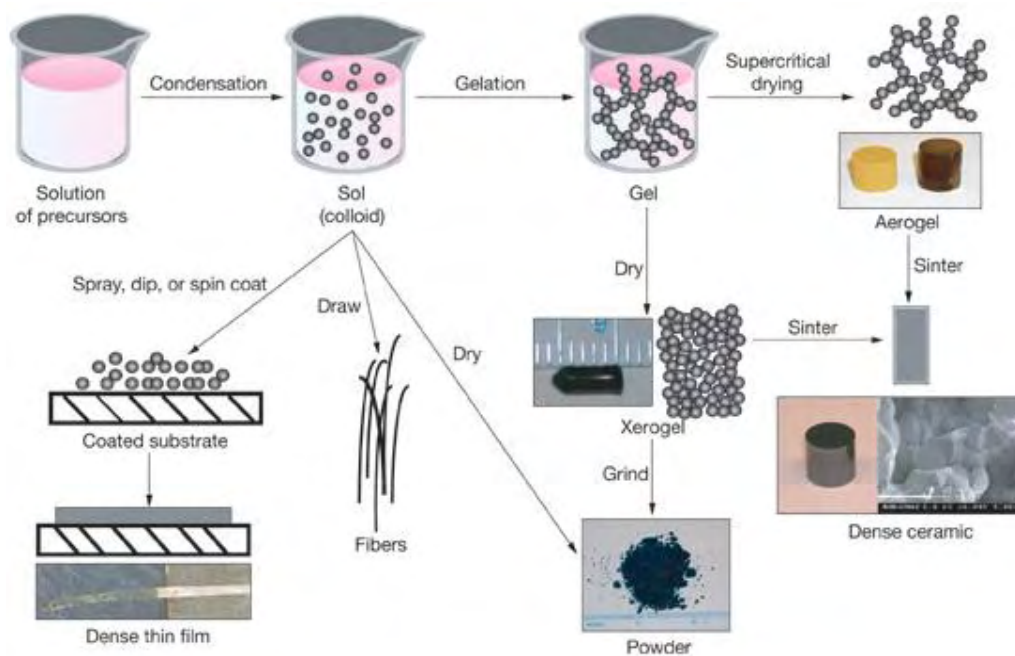


Figura 9. Representação esquemática do processo sol-gel e possíveis tipos de processamento de materiais que podem ser obtidos.

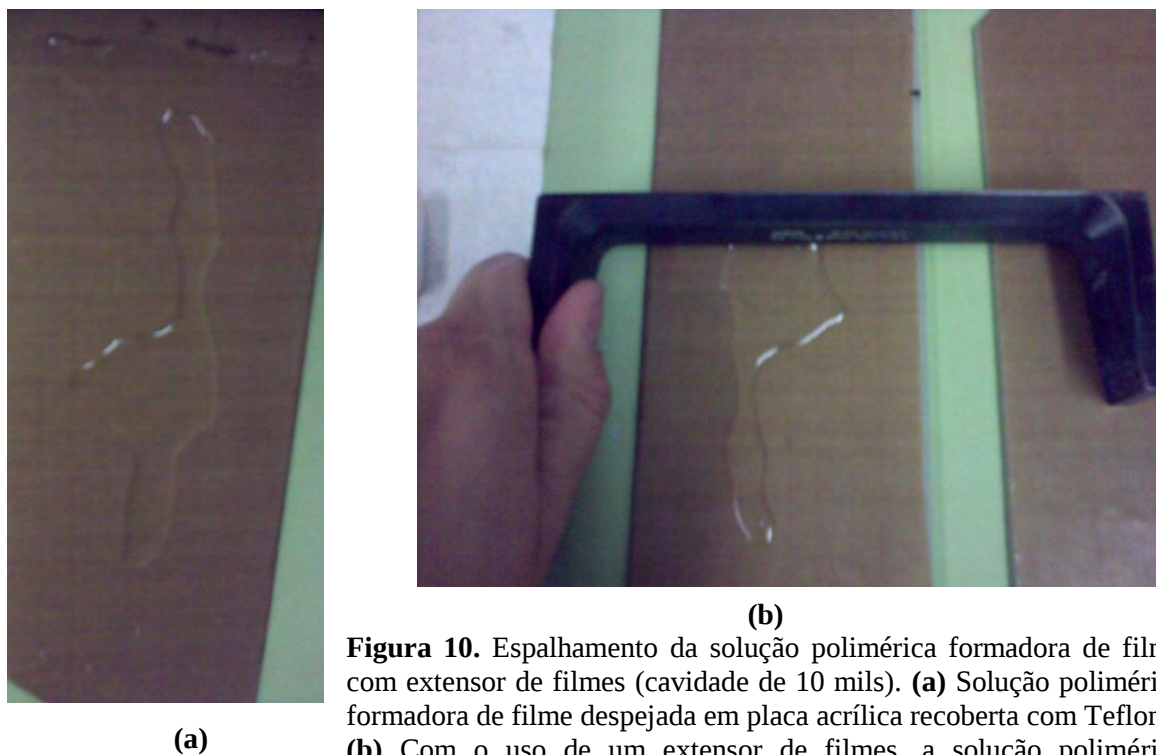


Figura 10. Espalhamento da solução polimérica formadora de filme com extensor de filmes (cavidade de 10 mils). **(a)** Solução polimérica formadora de filme despejada em placa acrílica recoberta com Teflon[®]. **(b)** Com o uso de um extensor de filmes, a solução polimérica formadora de filme foi espalhada sobre uma placa acrílica recoberta

5.3.4 - CARACTERIZAÇÃO MECÂNICA E REOLÓGICA DE FILMES NÃO SUPORTADOS

5.3.4.1 Determinação do tempo de gel através de medidas reológicas

As medidas reológicas foram feitas em modo de cisalhamento oscilatório com o Reômetro, Haake Rheostress , modelo RS-1, utilizando a geometria cone-placa (diâmetro de 35 mm). Antes da determinação dos reogramas para avaliar a evolução temporal de G' e G'' , foi realizada uma variação da tensão, na faixa de 0 a 100 Pa, mantendo-se fixas as frequências de 0,1; 0,2 e 0,5 Hz, com objetivo de analisar a região de viscoelasticidade linear dos módulos G' e G'' . Observou-se nestas medidas que a região de viscoelasticidade linear é mais ampla para as medidas realizadas com frequência de 0,5 Hz. Por este motivo, foi feita uma varredura de tensão

a frequência fixa de 0,5 Hz. Observou-se que a região de viscoelasticidade linear encontra-se aproximadamente entre 20 e 60 Pa, por este motivo foi escolhida a tensão de 40 Pa, que é um valor intermediário, para a execução dos testes de reologia para avaliar a evolução temporal de G' e G'' .

As medidas foram feitas durante a fase de transição sol-gel, quando a temperatura foi mantida constante de 25°C (variação de $\pm 0,1^\circ\text{C}$). De acordo com literatura^[68], os valores de G' e G'' mudam durante a formação do gel (neste caso reticulação do polímero) até que seus valores se cruzem num dado tempo, obtendo o ponto de gel.

5.3.4.2 Caracterização mecânica dos filmes não suportados

5.3.4.2.1 Testes mecânicos de ruptura e alongação em filmes não suportados

Para a determinação das propriedades mecânicas dos filmes, as soluções foram preparadas de acordo com o item 5.3.1. As soluções foram então espalhadas em molde de acrílico recoberto com teflon. Os filmes foram secos à 25°C por 24 horas em dessecador para a evaporação dos solventes água e etanol. Os filmes secos foram cortados em amostras retangulares com a ajuda de um bisturi com as dimensões de 10 mm x 40 mm. As propriedades mecânicas foram testadas em um equipamento EMIC baseado no método de teste ASTM D882-02 com uma modificação no tamanho da amostra de acordo com o trabalho de Schroeder et al^[64]. A célula de carga utilizada no equipamento foi de 50 N. Os filmes foram cuidadosamente colocados entre as duas garras verticais do equipamento EMIC para evitar que o filme se soltasse durante a execução do teste. A garra móvel foi então movimentada para cima com velocidade de 200 mm/min até a ruptura do filme.

A força de tração (σ) foi calculada como:

$$\sigma = \frac{F_{\max}}{A} \text{ (N/m}^2\text{)} \quad \text{Eq 2}$$

onde $F_{\max}$ (N) é a força máxima e A (m²) é a área cross-seccional.

Os valores de porcentagem e alongação na quebra foram calculados de acordo com a equação abaixo:

$$\varepsilon = \frac{L_R}{L_0} * 100 \text{ (\%)} \quad \text{Eq 3}$$

onde L_R (m) é a extensão da amostra no momento da ruptura e L_0 (m) é o tamanho inicial da amostra. Cada experimento foi repetido 3 vezes.

5.3.4.2.2 Análise de bioadesividade

Um método de teste padrão (ASTM) extensivamente utilizado em indústria farmacêutica de dispositivos médicos para verificar a bioadesão é o teste de força de tração (“Peel Strength Test”). Na primeira fase deste teste o material a ser analisado é fixado no substrato biológico ou artificial e uma probe do equipamento aplica uma força conhecida por um período fixo. Na segunda fase do teste o probe é removido de uma maneira controlada do substrato. A resistência à remoção é tomada como um índice de capacidade de bioadesão do material em teste^[69].

Para a realização do teste de resistência à remoção foi utilizado o texturômetro modelo TA.XT Plus Texture Analyser Systems, Stable Micro Systems equipado com o Mucoadhesion Test Rig e probe cilíndrica de 10 mm de diâmetro (Figuras 11 e 12).

Para este teste foi montado no texturômetro TA.XT Plus aparato que inclui o texturômetro TA.XTPlus, aquecedor, bequer, água à 32°C, Anel de teste de mucoadesão (“Mucoadhesion Test Rig”) e probe cilíndrica de 10 mm de diâmetro (Figura 12).

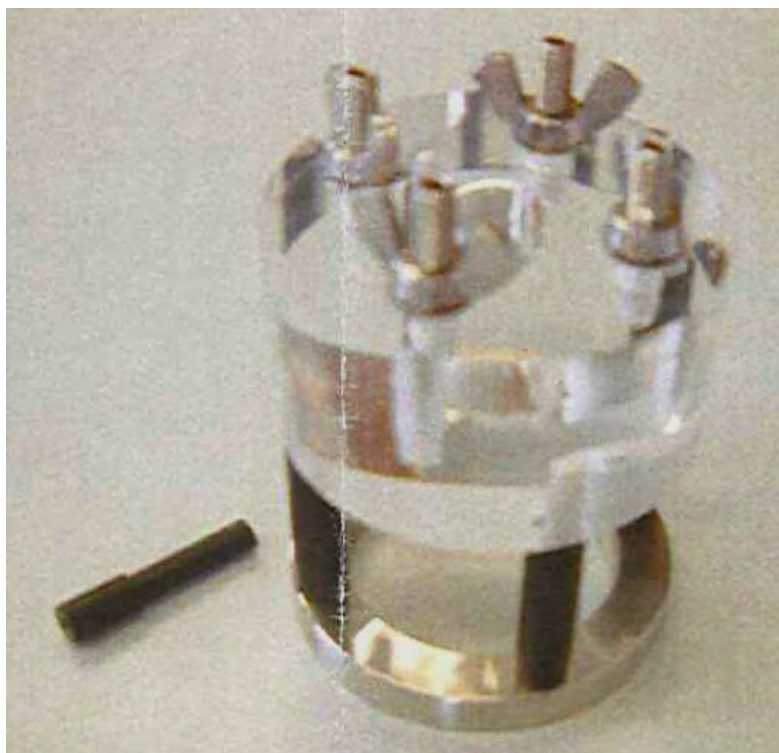


Figura 11. Anel de teste de mucoadesão e probe cilíndrico de 10 mm.



Figura 12. Texturômetro TA.XT2 com o conjunto de anel de teste de mucoadesão e aquecedor.

Para a realização do teste de resistência à remoção foi utilizado como substrato biológico pele de orelha de porco recém sacrificado. As peles foram dissecadas de maneira que tivessem espessura uniforme e foram mantidas em freezer a 0°C.

Entre as duas partes acrílicas do aparato Anel de Teste de Mucoadesão (“Mucoadhesion Test Rig”) foi colocada pele da orelha de porco de maneira que ficasse bem esticada e uniforme. As duas placas acrílicas foram presas uma à outra pelos quatro parafusos (Figuras 13 e 14).



Figura 13. Mucoadhesive test rig preparado para o teste de resistência à remoção com a pele de orelha de porco.



Figura 14. Pele de orelha de porco presa no Anel de Teste de Mucoadesão (“Mucoadhesive Test Rig”).

O conjunto foi então colocado em um béquer com água a 32°C, temperatura próxima da temperatura da pele humana. A água ficou em contato apenas com a superfície da placa acrílica inferior para condicionar o conjunto. Foram adicionados, com micropipeta, 36 μ L de solução polimérica formadora de filme à pele de porco, quantidade suficiente para formar uma fina camada de filme sobre a pele. Em seguida, o probe foi levado ao contato com a solução polimérica formadora de filme à velocidade de 0,5 mm/seg, tendo ficado em contato com a solução polimérica formadora de filme sob força de 100g por 330 segundos, tempo máximo desejável para uma solução polimérica formadora de filme efetivamente formar um filme fino sobre a pele^[64]. Após este tempo, o probe foi removido com velocidade de 0,5 mm/seg, sendo medida então a resistência à remoção do probe aderido ao filme polimérico, formado sobre a pele de porco, obtendo assim valor indicativo da bioadesividade do material. Na Figura 15 observa-se a aparência intacta da pele após teste de resistência à remoção do filme.

Foram testados os sistemas poliméricos híbridos formadores de filme que continham os seguintes polímeros: POP400, POP2000, POE500, POE1900 (precursores sintetizados com solvente THF) e POE1900 (precursor sintetizado com solvente etanol). Também foram testados os seguintes produtos comerciais para comparação de bioadesividade: “New Skin[®]”, “Band-Aid[®] Liquid Bandage”, “Band-Aid[®] Tough Strip Bandage” e “Band-Aid[®] Flexible Fabric Bandage”.

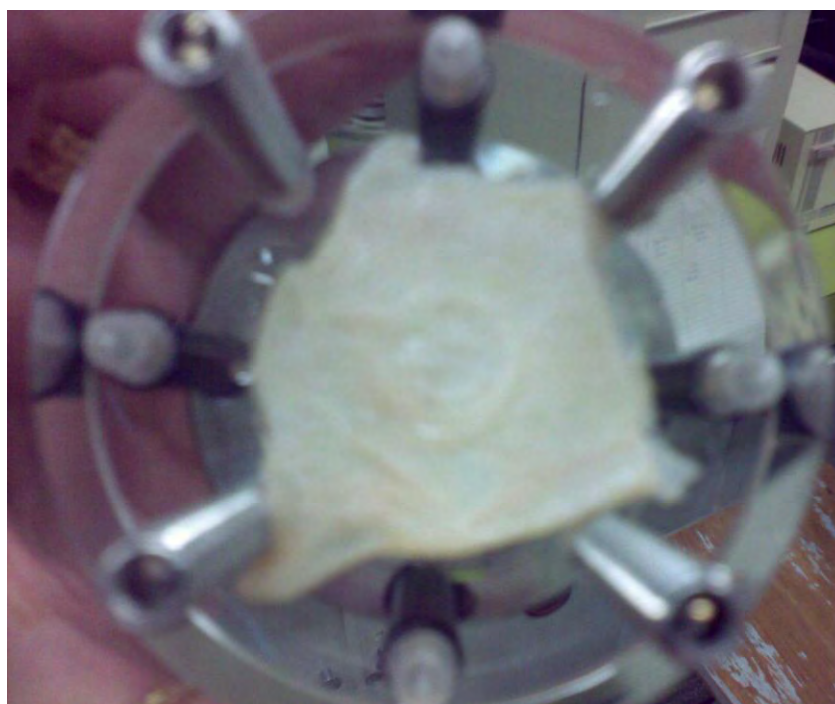
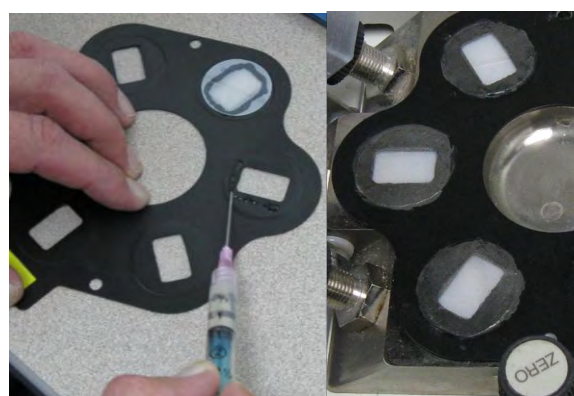


Figura 15. Aparência da pele após teste de resistência à remoção.

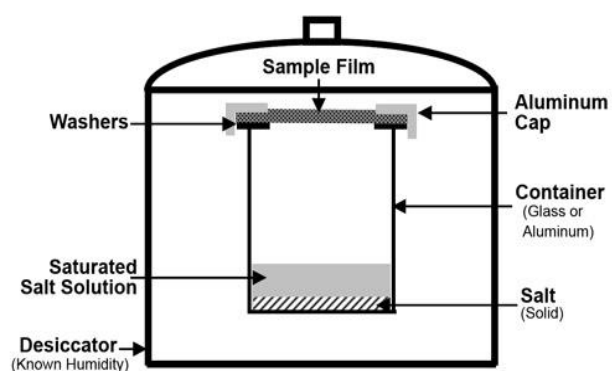
5.3.5 – Medida da taxa de transmissão de vapor de água (MVTR – “Moisture Vapor Transmitting Rate”)

Os filmes formados pelas matrizes híbridas orgânica-inorgânicas foram preparados de acordo com o item 5.3.1. As soluções foram então espalhadas em molde de acrílico recoberto com teflon. Os filmes foram secos a 25°C por 24 horas em dessecador para a evaporação dos

solventes água e etanol. Os filmes secos foram cortados em amostras retangulares e colocados no equipamento PERMATRAN-W Model 101K de acordo com Figura 16(a). O equipamento PERMATRAN – W – Model 101K, possui sensores que medem a temperatura, a taxa de fluxo gasoso, a pressão barométrica e a umidade relativa do fluxo gasoso. A partir destes valores captados pelos sensores e das informações da célula de calibração, o software do equipamento calcula a taxa de transmissão de vapor de água. A Figura 16(b) apresenta uma representação esquemática do compartimento do equipamento em que o teste foi realizado, onde observa-se que o filme é colocado no fechamento de um compartimento que comunica um recipiente que contém uma solução salina saturada e outro compartimento dessecador de umidade conhecida. A pressão de vapor favorece que o vapor de água migre do recipiente que contém a solução salina para o recipiente dessecador. Quando se testa a permeabilidade ao vapor de água de um material, mede-se a quantidade de água que consegue atravessar este dado material migrando do compartimento que contém a solução salina para o compartimento dessecador. Esta quantidade de vapor de água que o material permite permear em um determinado tempo de teste, geralmente a taxa de permeação é dada em 24 horas de teste, o classificará como um material: oclusivo, semi-oclusivo ou respirável.



(a)



(b)

Figura 16. (a) Preparação para o teste de permeabilidade ao vapor de água. (b) Representação esquemática da câmara de teste de permeabilidade ao vapor de água.

As amostras foram condicionadas a $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $50\% \pm 2\%$ de umidade relativa por no mínimo 4 horas antes do teste. As amostras foram colocadas em uma placa de $2,5\text{cm}^2$. Um adesivo de posicionamento foi utilizado para afixar a amostra na placa de teste, uma fita adesiva também foi utilizada para garantir a selagem em todo o entorno da amostra, como mostra a Figura 16. O modo de teste utilizado foi o convergência em ciclos e o tempo de teste foi de 5 minutos. Os parâmetros da amostras foram: área/célula: $2,5\text{cm}^2$ e espessura: 0,25 mm. Cada célula foi analisada por 5 minutos, uma após a outra até que a diferença do resultado das últimas cinco avaliações fossem inferior à 1%. Os resultados foram calculados pelo software do aparelho e foram apresentados na unidade de g/m^2 por um período de 24 horas.

5.3.6 – Medida da taxa de Perda de Água Transepidérmica (TEWL – “Trans Epidermal Water Loss”)

A perda de água transepidérmica (TEWL) foi medida através do gradiente de pressão do vapor de água adjacente à superfície da pele. As medidas de TEWL foram feitas com o equipamento MPA 5 (Multiple Probe Adapter) - Tewameter[®] 300, em Courage-Khazaka (Colônia, Alemanha) que é mostrado pela Figura 17. O estudo foi realizado de acordo com o seguinte protocolo: 3 voluntárias do sexo feminino, entre 25 e 35 anos de idade, sem histórico de doenças dermatológicas e mediante consentimento realizaram o teste. Antes do experimento, como pré-condicionamento, foi solicitado às voluntárias que não aplicassem nenhum produto hidratante na pele por 2 dias antes do teste. A temperatura e umidade do laboratório foram monitoradas durante o teste mostrando pequena variação ($T = 20 \pm 4^{\circ}\text{C}$ / U.R. $\sim 50\%$). Para a determinação do TEWL foi determinada como área teste o antebraço na região volar, que apresenta região ideal para este teste com pouco crescimento de pelos, especialmente em

voluntários do sexo feminino como os selecionados para este teste. As voluntárias antes de iniciarem o teste repousaram no laboratório condicionado nas condições descritas acima por 30 minutos. Foram determinados 3 sítios de teste por braço, cada um com dimensão de 4 x 4 cm. Os sítios de teste foram marcados e identificados de acordo com as amostras a serem testadas. Antes de aplicar os produtos a serem testados, mediu-se a TEWL basal como referência para todos os sítios de aplicação, Figura 18 (a). Os produtos utilizados para o teste foram: Band-Aid® Liquid Bandage; New Skin® Liquid Bandage; POP2000, POP400, POE1900 E POE500. As amostras foram aplicadas de maneira aleatória. Uma alíquota de 500µL de cada formulação foi aplicada na região determinada para o teste, Figura 18 (b). As medidas de TEWL foram feitas em 30 minutos e após 1 hora da aplicação. Para cada tempo de análise foram feitas 15 medidas por voluntário.



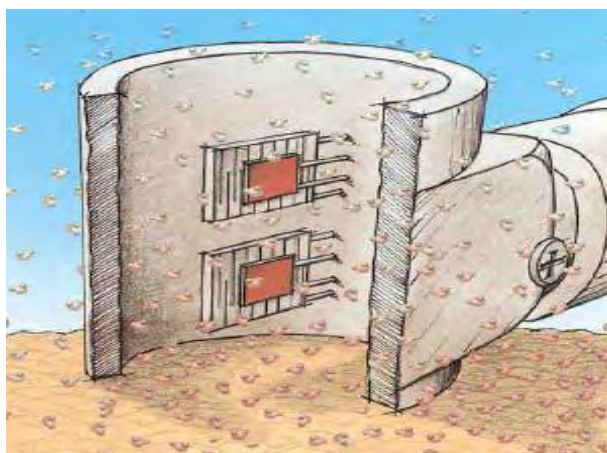
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 17. Equipamento Tewameter® 300 - MPA 5. (a) e (b) mostram o equipamento Tewameter® 300 - MPA 5. (c) mostra o probe Tewameter® 300 utilizado para as leituras de TEWL e (d) mostra esquema gráfico dos sensores presentes no probe.



(a)



(b)

Figura 18. (a) Leitura basal de TEWL. (b) Filme aplicado sobre a área teste.

A medida da perda de água transepidérmica (TEWL) foi realizada pelo método de câmara aberta. O método de medida de câmara aberta é o único método de medir TEWL continuamente, o que é necessário para muitas aplicações sem influenciar a superfície da pele. O

probe, devido ao seu design e recursos eletrônicos modernos permite a geração de resultados precisos e estáveis rapidamente, de acordo com a equação 11 descrita a seguir:

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx} \quad \text{Eq. 4}$$

Onde: A = área da superfície em m², m = massa de água transportada (g), t = tempo (h), D = coeficiente de difusão constante (=0.0877 g/m (h (mmHg)), p = pressão de vapor atmosférico (mmHg), x = distância da superfície da pele em relação ao ponto de medida (B).

A densidade do gradiente é medido indiretamente por dois pares de sensores (temperatura e umidade relativa) localizados na cavidade do cilindro e analisado com um microprocessador (Figura 17(c e d)). Foi utilizado um probe de tamanho pequeno para minimizar a influência das turbulências de ar dentro do probe. O probe utilizado no teste era muito leve para não influenciar a superfície da pele e facilitar o manuseio durante o teste.

5.3.7 Espectroscopia de Reflectância Difusa (DSR – Diffuse Spectroscopy Reflectance)

A avaliação do grau de danos causados à barreira protetora da pele após a utilização dos formadores de filmes foi avaliada com um método de teste que utilizou um espectrofotômetro acoplado a uma fonte de luz que emite uma radiação no comprimento de onda do visível sobre a pele e, esta por sua vez, absorve parte desta radiação, e também reflete parte desta radiação que é captada pelo espectrofotômetro. Este método de teste é bastante sensível e adequado para avaliar alterações na barreira protetora da pele (estrato córneo). A pele danificada por algum agente químico irá apresentar padrão de reflexão diferente da pele intacta. Devido a isto foi realizada uma medida basal (medida da perda de água transepidérmica na pele antes do teste) como controle, e outra medida foi feita após 24 horas do início do teste de TEWL. Quando o estrato córneo é danificado ou removido, observa-se um aumento dos níveis de oxihemoglobina (HbO₂),

que apresenta bandas de absorção na região de 500-600nm, na região da pele onde o estímulo foi provocado, isto porque os vasos sanguíneos ficam mais evidentes provocando alterações na intensidade da banda de absorção localizada na região de 500 – 600 nm. Os espectros DSR foram obtidos após 24h do início do teste de TEWL descrito no item 5.3.5., com as mesmas voluntárias e nas mesmas regiões teste onde os produtos foram aplicados, quando o produto já não estava mais aderido à pele, visando identificar alterações no espectro de absorção da pele principalmente na faixa de 500-600nm, que constituem evidências de irritação da pele, pois com o aumento do nível de irritação ocorre também o aumento na intensidade da banda de absorção em 540nm e 580nm em relação à banda de 560nm. Para a realização do teste novamente as voluntárias repousaram em sala climatizada por 30 minutos ($T = 20 \pm 4^\circ\text{C}$ / U.R. ~ 50%).

5.3.8 – Avaliação de citotoxicidade “*in vitro*”

As células utilizadas neste teste são de fibroblastos de pulmão humano com código de linhagem de células MRC5-V e foram cedidas pelo Prof. Dr. Carlos Frederico Martins Menck - Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas – USP – São Carlos.

5.3.8.1 Cultivo das células

As células da linhagem de fibroblastos humanos foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 10mM de L-glutamina, 2,5 µg de anfotericina-B e 10mL da mistura de penicilina-estreptomicina. A cultura foi mantida em estufa a 37 °C, em presença de 5% de CO₂. Após atingirem aproximadamente 90% de confluência, as células foram tripsinizadas (descoladas da placa de cultura com solução de Tripsina-Versene) e a viabilidade foi avaliada.

5.3.8.2 Ensaio de Citotoxicidade “*in vitro*”

Para o ensaio de citotoxicidade, as células MRC5-V foram adicionadas ($2,4 \times 10^5$ células/poço em meio DMEM com 10% de soro fetal bovino – 100 μ L/poço) à placa de 96 poços (fundo chato – Corning® – Figura 19) e incubadas a 37 °C por 24 horas. Decorrido o tempo, o meio de cultura foi aspirado e os poços lavados com tampão PBS (phosphate-buffered saline) pH 7,4. Em seguida, os meios tratados com as amostras de blendas poliméricas foram adicionados aos poços (100 μ L/poço) e as placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C com 5% de CO₂. Após as 24 horas, os meios tratados foram aspirados e foi adicionado 50 μ L da solução de 1mg/mL de MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue), seguida de incubação por 3 horas a 37 °C. O precipitado formado foi então solubilizado com álcool isopropílico e a leitura feita em leitor de placas Dynex a uma absorvância de 595 nm e filtro de 690 nm. Como controle positivo foi utilizada a doxorrubicina, e como controle negativo, foi utilizado o DMEM sem soro fetal bovino.

O MTT penetra na célula viável e dentro desta ocorre a redução do MTT, formando assim o sal de tetrazólio, produto colorido que pode então ser quantificado pelo leitor de placas (método colorimétrico). Quanto maior a intensidade da cor, maior a absorvância, maior o número de células viáveis.

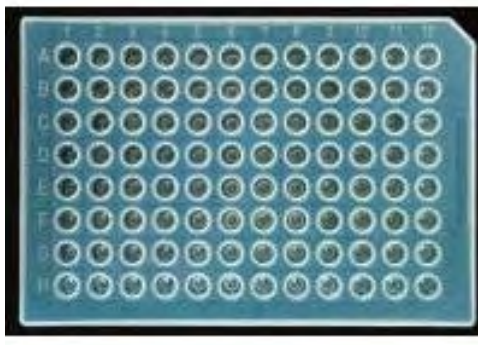


Figura 19. Placa de 96 poços com fundo chato – Corning®

5.3.8.3 Viabilidade celular por exclusão do Azul de Trypan[®]

Após a tripsinização das células, estas foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos, o meio sobrenadante foi retirado e o “pellet” celular ressuspensionado em 1 mL de PBS. Alíquota de 10,0 µL da suspensão celular foi diluída com 90,0 µL de PBS, transferida para um eppendorf e diluída novamente com solução de Azul de Trypan[®] (1:2). Foram aplicados 20 µL desta mistura à Câmara de Neubauer e observada ao microscópio. As células viáveis permaneceram refringentes e incolores enquanto que as mortas foram coradas em azul. Em seguida, foi realizada a contagem das células mortas nos 04 quadrantes da Câmara de Neubauer, Figura 20. Os cálculos de viabilidade celular foram feitos de acordo com as equações 12 e 13.

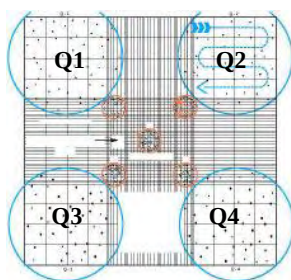


Figura 20. Representação esquemática da câmara de Neubauer.

A câmara de Neubauer possui o desenho de uma grade, a qual é visualizada apenas ao microscópio. Esquematicamente, esta grade é composta por 4 quadrantes localizados um em cada extremidade. No esquema aqui representado, os quadrantes estão nos círculos grandes. Cada quadrante possui 16 quadrados menores. Cada quadrante possui área de $0,1 \text{ mm}^2$. Ao adaptar uma lamínula de vidro à câmara de Neubauer, obtém-se altura de 0,1 mm. A capacidade de volume é, portanto, de $0,1 \text{ mm} \times 0,1 \text{ mm}^2 = 0,1 \text{ mm}^3$ ($0,1 \text{ mm}^3 = 0,0001 \text{ cm}^3 = 0,0001 \text{ mL}$ ou 10^{-4} mL). Esta medida padronizada possibilita a quantificação da suspensão celular. Para isto deve-se contar as células presentes nos 4 quadrantes (círculos grandes), no sentido sugerido pela

seta para cada quadrante. Em seguida, o número total de células obtido nos 4 quadrantes é dividido por 4 (média) e multiplicado pelo valor da diluição realizada. Ao final, o valor encontrado é multiplicado por $1 \times 10^4/\text{mL}$ (ordem de grandeza da câmara).

Número de células mortas

$$\Sigma = \frac{Q1+Q2+Q3+Q4}{4} \times \text{dil} \times 1 \times 10^4 / \text{mL} = \text{n}^\circ \text{ de células azuis (mortas)/mL} \quad \text{Eq. 5}$$

Porcentagem de viabilidade

$$\text{Viabilidade(\%)} = \frac{\text{vivas}}{\text{totais}} \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Certas características mecânicas são essenciais para a proposição do uso de um material na preparação de uma solução formadora de filme, tais como: tempo de formação do filme entre 2 e 5 minutos, formar um filme transparente, ter boa bioadesividade e ter capacidade de incorporação de fármacos^[64,69]. No caso de soluções poliméricas formadoras de filme o tempo de formação do filme depende da evaporação do solvente. Em sistemas preparados pelo processo sol-gel, o filme será formado à medida que as reações de hidrólise e condensação avançam, dando a origem a um gel. Assim sendo, parâmetros que controlam a velocidade de ocorrência dessas reações podem alterar o tempo de formação do filme.

6.1 – Determinação do tempo de formação do filme

6.1.1- Determinação Visual do tempo de gel

Na primeira etapa do desenvolvimento deste projeto, foram realizados testes visuais para determinar o ponto de gel ou ponto de formação dos filmes para as matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina. O objetivo destes testes foi obter a proporção ideal entre o precursor híbrido e o agente catalisador das reações de hidrólise e condensação, preparadas de acordo com o procedimento descrito no item 5.3.3.1. Os tempos de gel assim determinados encontram-se listados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 41,6 (v/v).

Proporção híbrido precursor/catalisador 41,6 (v/v)	Tempo de gel para filmes sem adição de cloridrato de pramoxina /(min)	Tempo de gel para filmes com adição de 5% cloridrato de pramoxina /(min)
POE 1900	15	17
POE 500	14	16
POP400	14	15
POP2000	15	16

Tabela 2. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 20,8 (v/v).

Proporção híbrido precursor/catalisador 20,8 (v/v)	Tempo de gel para filmes sem adição de cloridrato de pramoxina /(min)	Tempo de gel para filmes com adição de 5% cloridrato de pramoxina /(min)
POE 1900	4	5
POE 500	4	5
POP400	5	4
POP2000	4	5

Tabela 3. Determinação visual do tempo de gel para matrizes híbridas com e sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina em função da relação proporção precursor híbrido/catalisador 10,4 (v/v).

Proporção híbrido precursor/catalisador 10,4 (v/v)	Tempo de gel para filmes sem adição de cloridrato de pramoxina /(min)	Tempo de gel para filmes com adição de 5% cloridrato de pramoxina /(min)
POE 1900	1	2
POE 500	1	2
POP400	1	2
POP2000	1	2

Observa-se que para as soluções formadoras de filme preparadas com a maior proporção híbrido precursor/catalisador (41,6, Tabela 1) o tempo de gel foi de aproximadamente 15-17 minutos, dependendo da adição ou não do fármaco cloridrato de pramoxina. Esse tempo é muito grande para que o sistema seja utilizado como formador de filme, uma vez que após a aplicação sobre a pele, o paciente deve esperar até que o filme se forme e seque. O tempo elevado de

formação do filme deve-se à baixa quantidade de catalisador das reações de hidrólise e condensação, responsáveis pela formação do filme. Além disso, quando a solução foi espalhada com extensor de filmes em placa de teflon, durante o processo de gelificação e secagem ocorreu contração da solução resultando na formação lenta de um filme com forma e espessura irregulares como mostra a Figura 21.



Figura 21. Filme preparado com a relação híbrido precursor/catalisador de 41,6.

Para as soluções formadoras de filme preparadas com a menor proporção híbrido precursor/catalisador (10,4, Tabela 3), o tempo de gel determinado foi de aproximadamente 1-2 minutos, dependendo da adição ou não do fármaco cloridrato de pramoxina, que embora seja bastante rápido em razão do alto teor de catalisador, não é considerado ideal de acordo com Schroeder et al^[64], pois nem sempre permite que o paciente espalhe adequadamente o produto antes que ele seque completamente. Quando a solução foi espalhada com extensor de filmes em placa de teflon, devido ao curto tempo de formação de gel houve interferência no processo de espalhamento na placa de teflon, resultando em um filme bastante irregular em forma e espessura.

Para as soluções formadoras de filme preparadas com a proporção intermediária híbrido precursor/catalisador (20,8, Tabela 2), o tempo de gel determinado foi de aproximadamente 4-5, dependendo da adição ou não do fármaco cloridrato de pramoxina, tempo considerado ideal para a utilização do material como formador de filme, uma vez que permite que o material seja adequadamente espalhado sobre a área desejada e que o filme se forme rapidamente. Além disso, durante o espalhamento da solução com extensor de filmes em placa de teflon, com esta proporção híbrido precursor/catalisador foi possível realizar o processo de espalhamento de maneira uniforme, durante o processo de secagem a contração do gel/filme foi mínima, resultando em filmes uniformes, como mostram as Figuras 22 (a) e (b), 23 e 24. Na Figura 22(b) pode-se observar que com a adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina o processo de contração da solução polimérica é maior durante a etapa de secagem, resultando em um filme irregular. Esse comportamento pode ser explicado por interações fármaco-matriz que alteram a conformação das cadeias poliméricas, provocando a retração do filme durante o processo de secagem.



(a)



(b)

Figura 22. (a) Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. **(b)** Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador e adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.

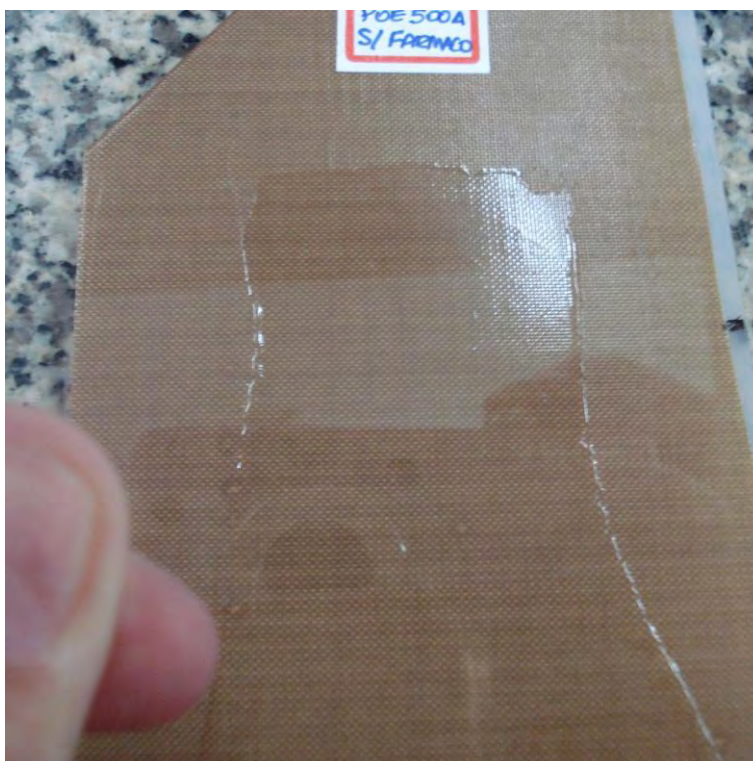


Figura 23. Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. Teste com placa de vidro de acordo com Schroeder et al, mostrando que após 5 minutos o filme estava seco e não aderiu à placa de vidro.

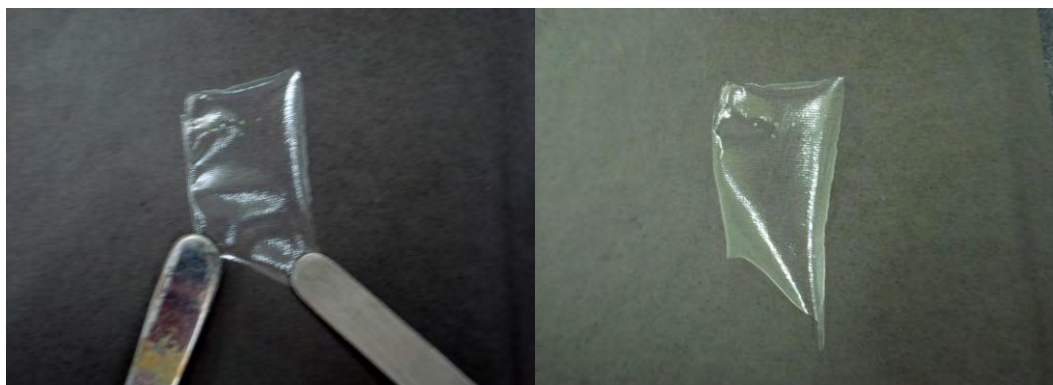


Figura 24. Filme preparado com proporção 20,8 de híbrido precursor/catalisador. Filme seco por 24 horas a 25°C em dessecador.

6.1.2 Determinação do tempo de gel através de medidas reológicas

As propriedades reológicas de um polímero têm por base três tipos de materiais: material puramente viscoso, também conhecido como líquido Newtoniano (os quais durante a deformação dissipam todo trabalho externo aplicado), material puramente elástico, também chamado de sólido Hookeano (os quais armazenam todo o trabalho externo aplicado) e os viscoelásticos (os quais dissipam parte e armazenam parte do trabalho externo aplicado) ^[70].

Na viscoelasticidade linear, a deformação sofrida e a tensão aplicada ao material apresentam uma relação linear, ou seja, a deformação é, em qualquer tempo, proporcional à tensão aplicada e não há alteração da estrutura original da amostra. Geralmente, as tensões que mantêm as amostras dentro de sua faixa de viscoelasticidade linear são pequenas ^[70].

Na viscoelasticidade não-linear, a amostra é deformada até o ponto em que as ligações internas temporárias de moléculas ou agregados são destruídas, ocorre perda de viscosidade e grande parte da energia introduzida é irreversivelmente perdida como calor. Os dados obtidos não são absolutos e, desta forma, não serão reproduzíveis em outro reômetro ^[70].

Para amostras desconhecidas, os testes dinâmicos devem começar com uma varredura de tensão, onde poderá ser determinada a amplitude em que se mantém a região de viscoelasticidade

linear para a amostra e, assim, torna-se possível proceder outros testes reológicos para verificar o comportamento da mesma^[70].

Dessa forma, antes da determinação dos reogramas para avaliar a evolução temporal de G' e G'' , foi realizada uma experiência onde a tensão foi variada, na faixa de 0 a 100 Pa, mantendo-se fixas as frequências de 0,1; 0,2 e 0,5 Hz, com objetivo de analisar a região de viscoelasticidade linear dos módulos G' e G'' . Esses reogramas obtidos com valores de frequência de 0,1, 0,2 e 0,5 Hz estão apresentados nas Figuras 25, 26 e 27, respectivamente. Observa-se que a região de viscoelasticidade linear é mais ampla para as medidas realizadas com frequência de 0,5 Hz conforme pode-se observar na Figura 27. Por este motivo, foi feita uma varredura de tensão a frequência fixa de 0,5 Hz, que é apresentada pela Figura 28. Observa-se que a região de viscoelasticidade linear encontra-se aproximadamente entre 20 e 60 Pa, por este motivo foi escolhida a tensão de 40 Pa, que é um valor intermediário, para a execução dos testes de reologia para avaliar a evolução temporal de G' e G'' , visando obter o ponto de cruzamento de G' e G'' , o que nos fornecerá o tempo de gel ou tempo de formação do filme.

As análises de varredura de tensão e frequência que se apresentam a seguir foram feitas com o híbrido POE1900, pois todos os outros os híbridos demonstraram o mesmo comportamento para tais análises.

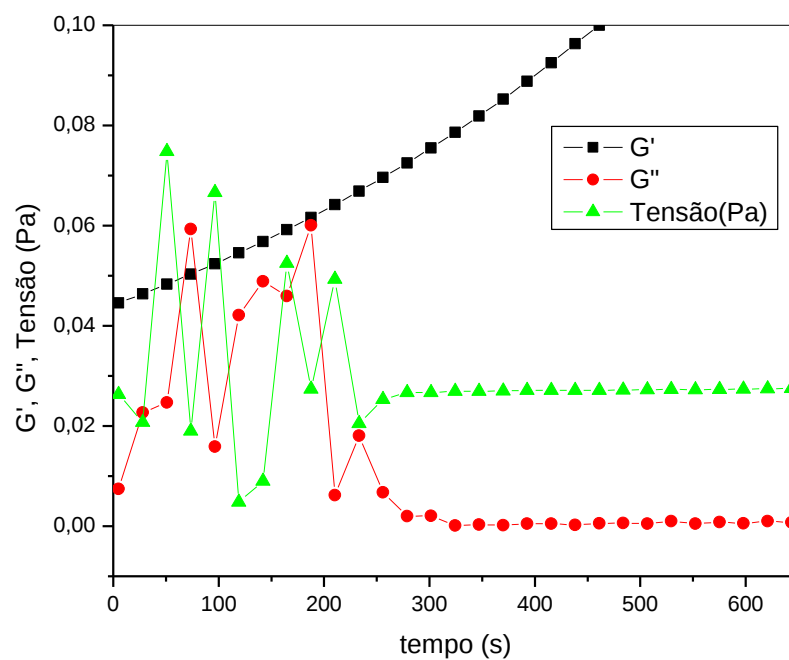


Figura 25. Varredura de tensão a frequência fixa de 0,1 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.

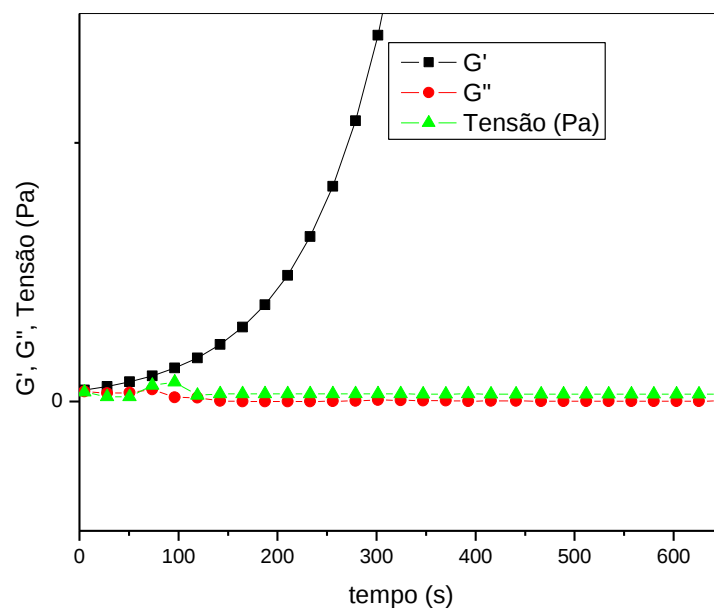


Figura 26. Varredura de tensão a frequência fixa de 0,2 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.

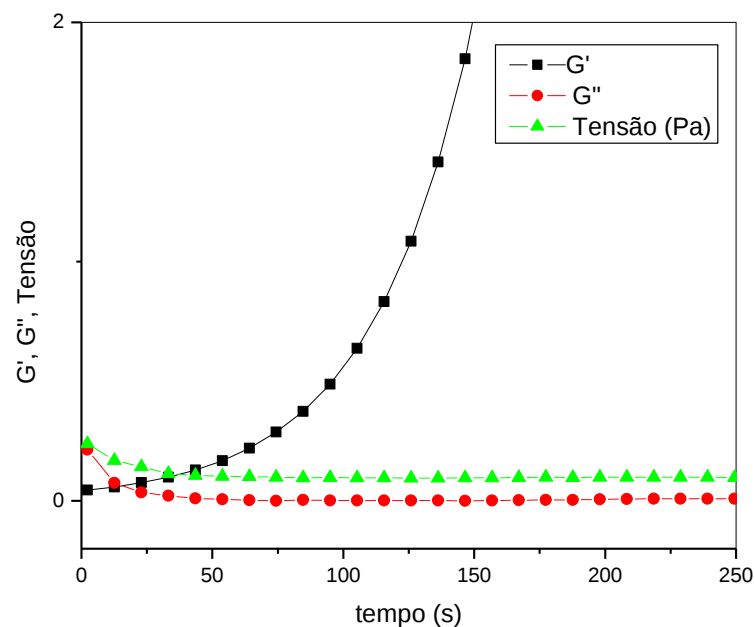


Figura 27. Varredura de tensão a frequência fixa de 0,5 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.

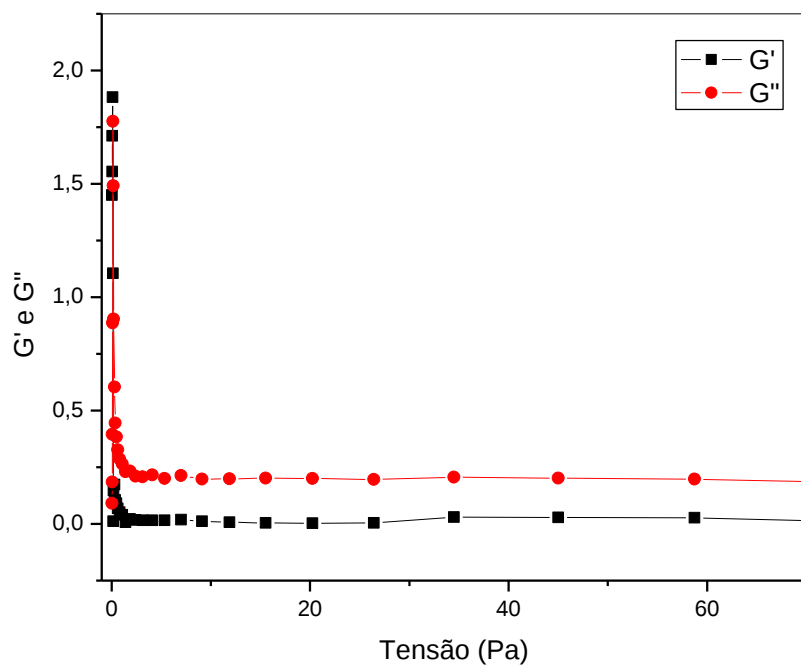


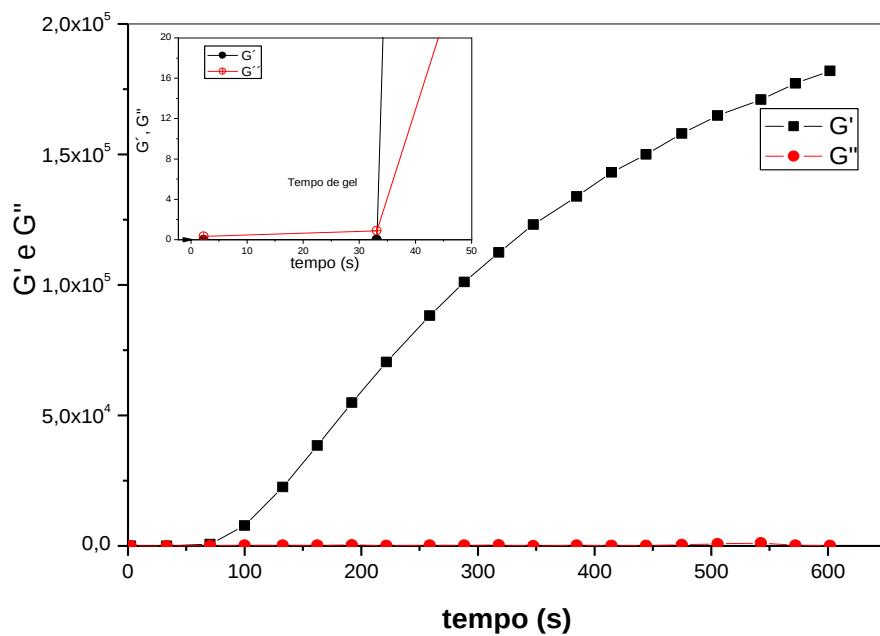
Figura 28. Varredura de tensão a frequência fixa de 0,5 Hz realizada com a solução polimérica formadora de filme contendo o polímero POE 1900 sintetizado com solvente THF. Relação precursor / catalisador 20,8.

6.1.2.1- Evolução Temporal dos Módulos de estocagem e de perda das matrizes sintetizadas com o solvente THF

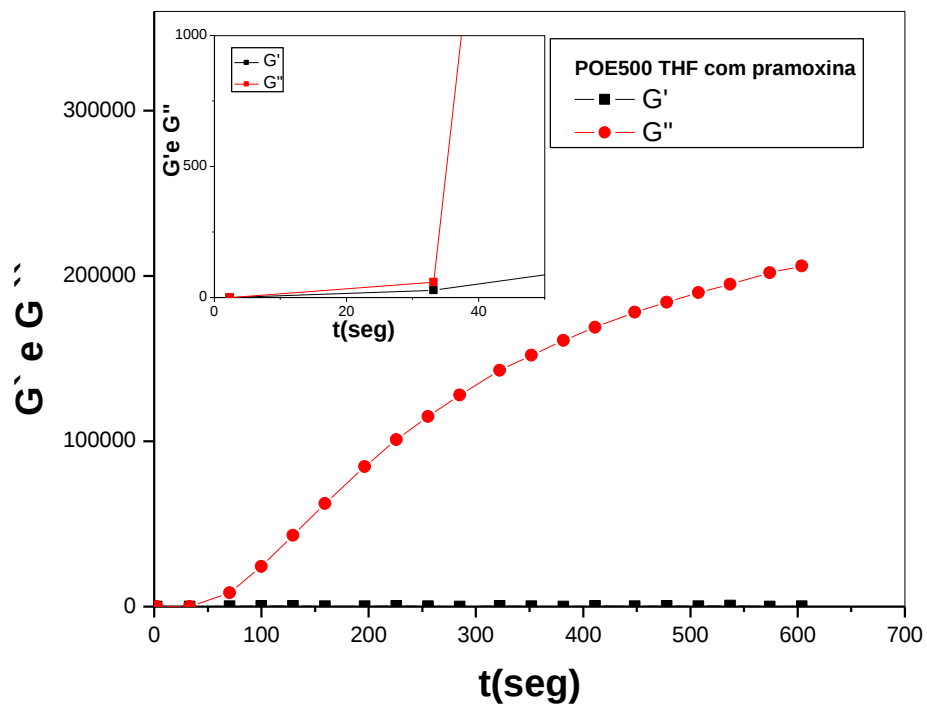
A caracterização reológica do tempo de gel foi realizada com o objetivo de estabelecer uma metodologia de determinação não visual do tempo de formação do filme, uma vez que esta metodologia é bastante utilizada na determinação do tempo de gelatinização em alimentos, sistemas coloidais e poliméricos, na determinação do tempo de cura de polímeros utilizados como colas, entre outros^[42]. O tempo de gel foi determinado por análises reológicas, à tensão e frequência fixas, que avaliou a evolução temporal do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G''), e no ponto em que estes se cruzam obtivemos o ponto gel ou ponto de filme^[68].

Para a caracterização reológica do tempo de gel dos precursores híbridos sintetizados com o solvente THF foram escolhidas como descrito acima a tensão de 40 Pa e frequência de 0,5 Hz, e à tensão e frequência fixa executamos a reometria para obtenção da evolução temporal do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G''), visando obter o ponto de cruzamento de G' e G'' , o qual nos forneceu o tempo de gel ou tempo de formação do filme.

As Figuras 29(a), 30(a), 31(a) e 32(a) apresentam a evolução temporal dos módulos de estocagem (G') e de perda (G'') para as matrizes híbridas POE500, POP2000, POP400 e POE 1900 sem adição do fármaco cloridrato de pramoxina. As Figuras 29(b), 30(b), 31(b) e 32(b) apresentam a mesma evolução para as matrizes POE500, POP2000, POP400 e POE 1900 com adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). Com o avanço das reações de hidrólise e condensação, observa-se um aumento no valor de G' para todas as amostras analisadas, uma vez que à medida que a passagem de sol para gel ocorre, a componente elástica do sistema (G') aumenta. Em um determinado momento, os valores de G' e G'' tornam-se iguais, ponto este chamado de ponto de gel ou ponto de filme. A partir deste ponto, G' torna-se maior que G'' , uma vez que o gel é um sistema que apresenta componente elástica maior que a do sol.

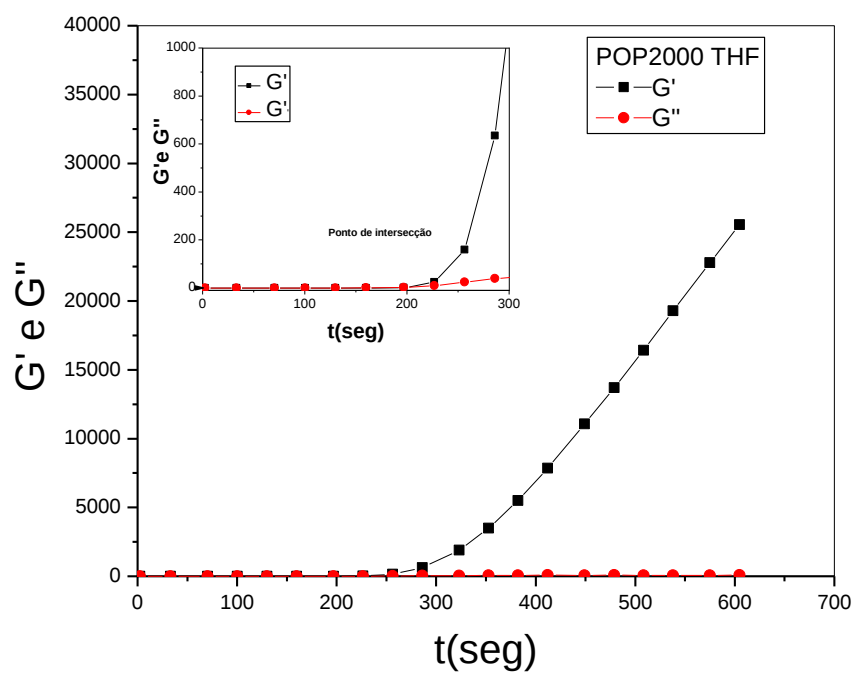


(a)

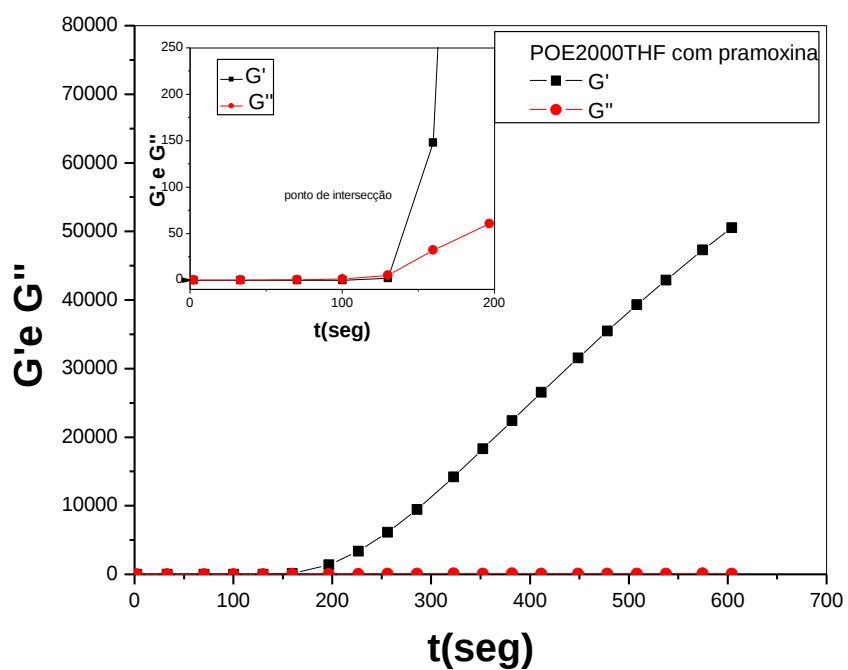


(b)

Figura 29. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE500 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). O inset mostra uma ampliação da região do ponto de gel para ambos os gráficos.

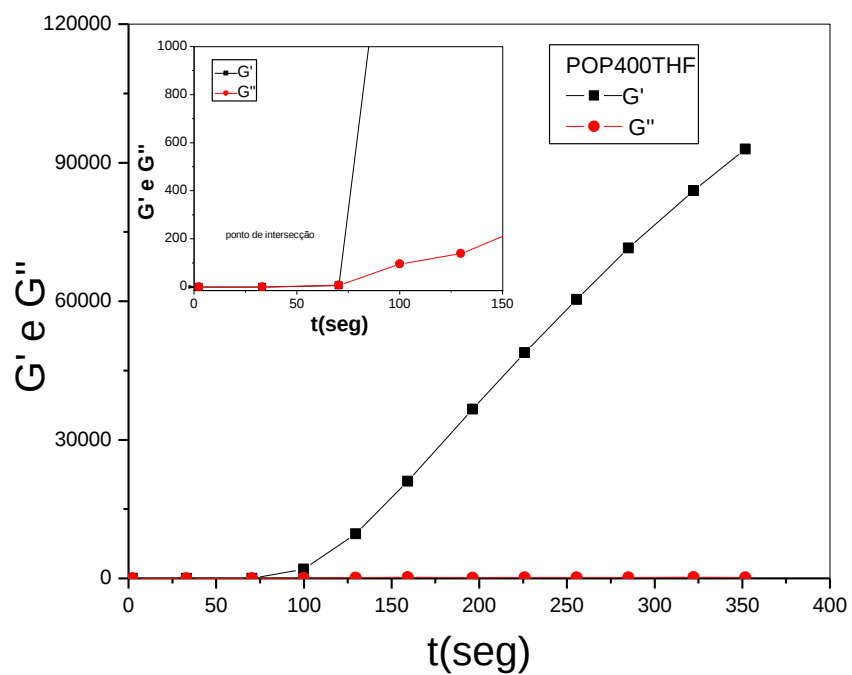


(a)

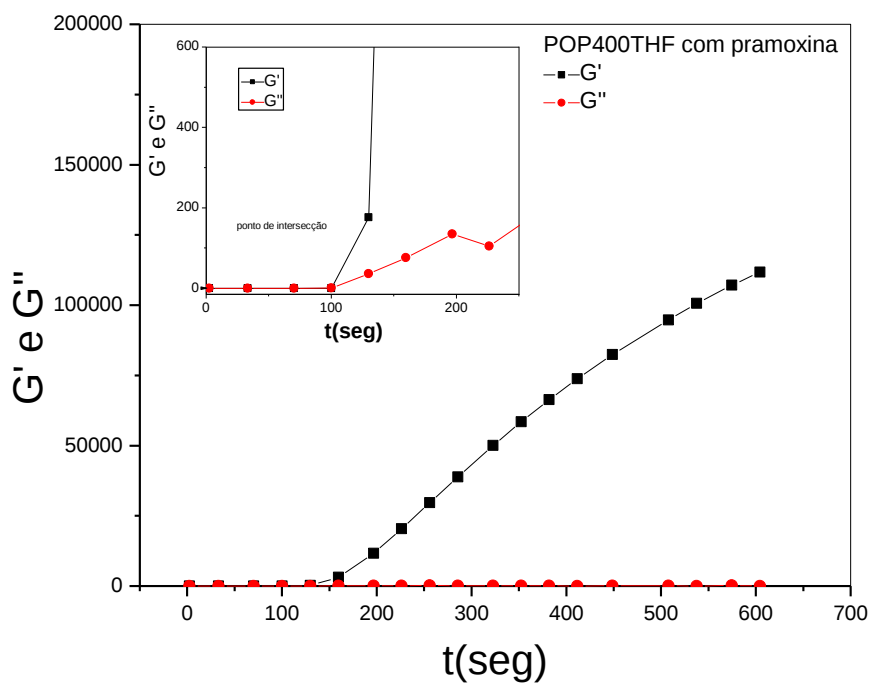


(b)

Figura 30. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POP2000 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). O inset mostra uma ampliação da região do ponto de gel para ambos os gráficos.

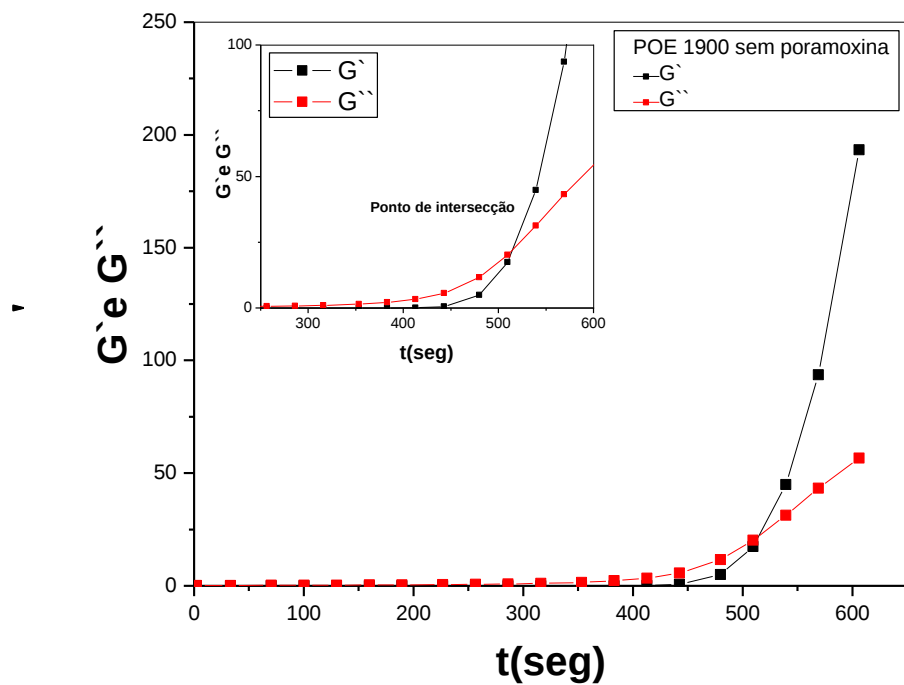


(a)

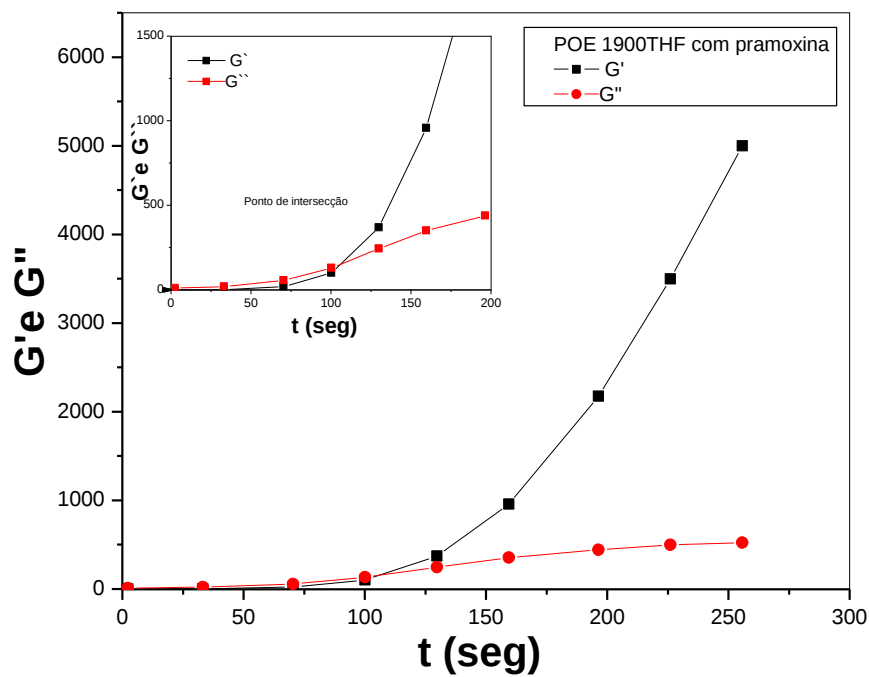


(b)

Figura 31. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POP400 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). O inset mostra uma ampliação da região do ponto de gel para ambos os gráficos.



(a)



(b)

Figura 32. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE1900 sem (a) e com (b) adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). O inset mostra uma ampliação da região do ponto de gel para ambos os gráficos.

Os valores de ponto de gel calculados a partir da intersecção entre as curvas de evolução temporal de G' e G'' estão listados na Tabela 4.

Tabela 4 – Tempo de gel/ tempo de filme obtidos por análise reológica dos híbridos precursores sintetizados com solvente THF: POE500, POE1900, POP400 e POP2000, solução polimérica formadora de filme preparada com proporção 20,8 híbrido/catalisador.

Tipo de polímero constituinte da cadeia híbrida	Tempo de Gel (min)	Figura correspondente
POE 500	0,55	Figura 29 (a)
POE 500 + Cloridrato de pramoxina	0,33	Figura 29 (b)
POP2000	2,16	Figura 30 (a)
POP 2000 + Cloridrato de pramoxina	3,3	Figura 30 (b)
POP 400	1,16	Figura 31 (a)
POP 400 + Cloridrato de pramoxina	1,67	Figura 31 (b)
POE 1900	1,28	Figura 32 (a)
POE 1900 + Cloridrato de pramoxina	1,8	Figura 32 (b)

Podemos observar que a adição do cloridrato de pramoxina aumenta o tempo de gel. A diferença entre os valores de tempo de gel medidos visualmente e por métodos reológicos é pequena e deve-se principalmente à subjetividade experimental associada às medidas visuais e à aplicação de uma tensão durante as medidas reológicas, que pode alterar o tempo de reticulação do polímero híbrido. Como durante o processo de espalhamento sobre a pele, haverá a aplicação de uma pequena tensão para que o formador de filme seja espalhado adequadamente, acredita-se que os valores de tempo e formação dos filmes obtidos por reologia sejam bastante adequados e próximos do valor real.

Com base na Tabela 4 pode-se observar que a natureza química dos híbridos poliméricos influenciam no tempo de ponto de gel, sendo necessárias análises estruturais que possam confirmar os fatores que influenciam este comportamento.

6.1.2.2- Evolução Temporal dos Módulos de estocagem e de perda das matrizes sintetizadas com o solvente etanol

A caracterização reológica do tempo de gel (tempo de filme) foi realizada também para os precursores híbridos sintetizados com o solvente etanol com o objetivo de estabelecer uma metodologia de determinação não visual do tempo de formação do filme. O tempo de gel foi determinado por análises reológicas, à tensão e frequência fixa, que avaliou a evolução temporal do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G''), e no ponto em que estes se cruzam obtivemos o ponto gel ou ponto de filme.

Para a caracterização reológica do tempo de gel dos precursores híbridos sintetizados com o solvente etanol foram utilizados os mesmos valores de tensão de 40 Pa e frequência de 0,5 Hz que os usados para os precursores híbridos sintetizados com THF. À tensão e frequência fixa executou-se a reometria para obtenção da evolução temporal do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G''), visando obter o ponto de cruzamento de G' e G'' que nos forneceu o tempo de gel ou tempo de formação do filme.

A Figura 33 mostra a evolução temporal dos módulos de estocagem e de perda (G' e G'' , respectivamente) do híbrido POE 1900, sintetizado com o solvente etanol, com a mesma proporção de etanol, água e catalisador utilizada para a preparação das soluções poliméricas formadoras de filme com híbridos sintetizados com THF (razão precursor híbrido/catalisador=20,8 e proporção etanol/água =15). A Figura 34 apresenta evolução temporal dos módulos de estocagem e de perda (G' e G'' , respectivamente) para a mesma amostra acima citada, com incorporação de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina. Embora esta formulação tenha sido escolhida por atender ao requisito de formar filme em tempo inferior a 5 minutos, como pode-se observar pela análise da Figura 33 (sem a incorporação do fármaco) que após 10 minutos não foi observada a inteseccção entre G' e G'' em sua evolução temporal, que se

refere ao tempo de gel da solução polimérica formadora de filme. Com a adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina à formulação (Figura 34), observou-se o tempo de gel na intersecção da evolução temporal de G' e G'' em 6,6 minutos. Esses resultados revelam que interações fármaco-matriz ocorreram alterando o tempo de formação do gel. No caso das amostras preparadas com THF como solvente, a adição do cloridrato de pramoxina também altera o tempo de formação do filme, mas naquele caso a adição do fármaco reduz esse tempo. Esse comportamento distinto observado para as amostras preparadas com diferentes solventes revela que a natureza química do solvente utilizado provavelmente altere as características físico-químicas da matriz polimérica.

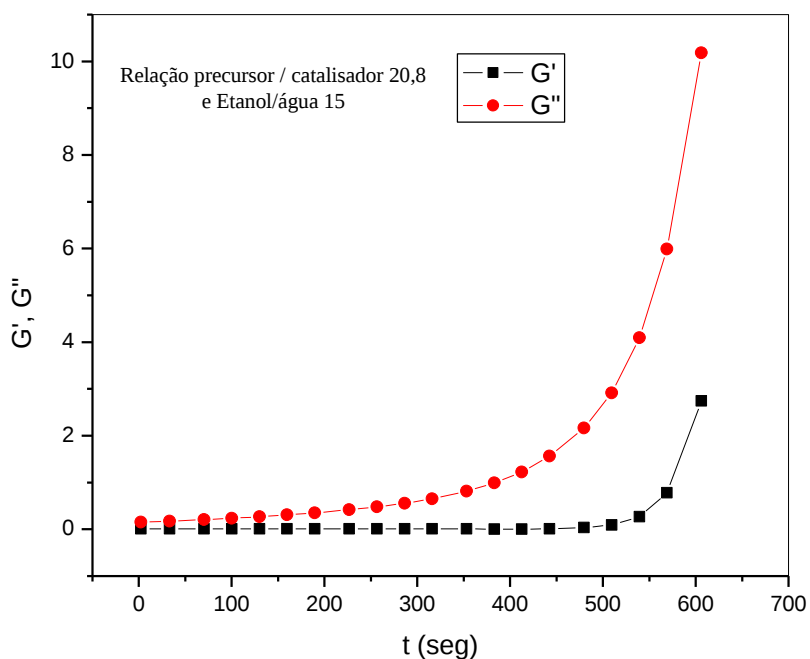


Figura 33. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE1900 preparado com etanol contendo razão precursor híbrido/catalisador de 20,8 e proporção etanol/água igual a 15.

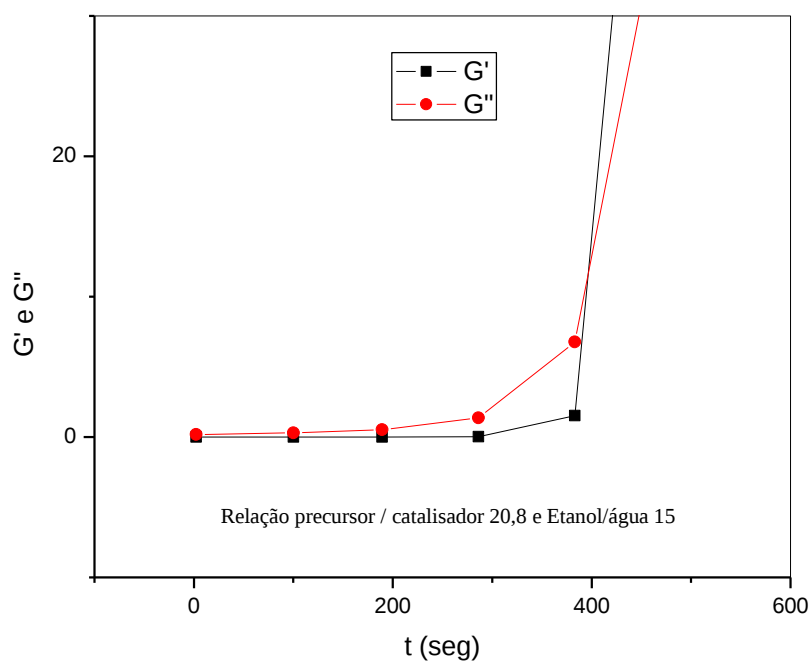


Figura 34. Evolução temporal de G' e G'' para o híbrido POE1900 preparado com etanol contendo razão precursor híbrido/catalisador de 20,8 e proporção etanol/água igual a 15 com adição de 5% de cloridrato de pramoxina.

Em razão do diferente comportamento em relação ao tempo de formação do filme para as amostras preparadas com o solvente etanol em relação às preparadas com solvente THF, realizou-se um estudo da influência da variação tanto do teor de etanol quanto de catalisador adicionado às amostras durante a etapa de hidrólise e condensação, visando obter também para os sistemas formadores de filmes preparados com etanol a condição ideal de tempo de formação do filme entre 2-5 minutos.

A Tabela 5 descreve a composição das formulações que foram testadas. As Figuras 32, 33 e 34 apresentam, respectivamente, as evoluções temporais de G' e de G'' para as formulações nomeadas A, B e C. Observamos pela análise das Figuras 32 e 33 que durante o tempo de medida (10 minutos) não houve inteseção entre as curvas de G' e G'' em sua evolução temporal,

que se refere ao tempo de gel. Isso ocorreu provavelmente em razão do baixo teor de catalisador utilizado no preparo dessas amostras. Aumentando-se o teor de catalisador e mantendo-se a razão etanol/água, observou-se pela análise da Figura 34, que mostra a evolução temporal de G' e G'' para a amostra C, a intersecção das curvas de G' e G'' durante o intervalo de tempo em que o experimento foi realizado, mostrando a influência do teor de catalisador no tempo de formação do filme. O tempo de gel obtido por essa intersecção para as amostras obtidas com solvente etanol encontram-se listadas na Tabela 6. Para a amostra C sem adição de fármaco esse tempo foi de 3,2 minutos, tempo considerado ideal para a utilização deste sistema como formador de filme.

Tabela 5 – Descrição das fórmulas das soluções poliméricas formadoras do híbrido precursor POE1900 sintetizado com etanol utilizadas nas análises reológicas.

Fórmulas	Proporção precursor/catalisador (v/v)	Proporção etanol/água
A	20,8	5
B	10,41	5
C	6,94	5
C + Cloridrato de Pramoxina	6,94	5
D	6,94	3

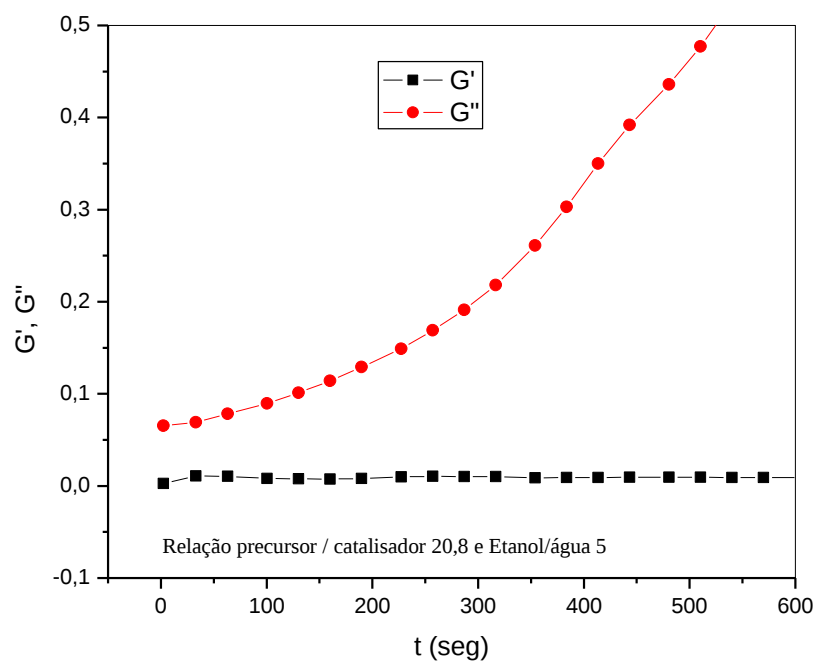


Figura 35. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, formulação A.

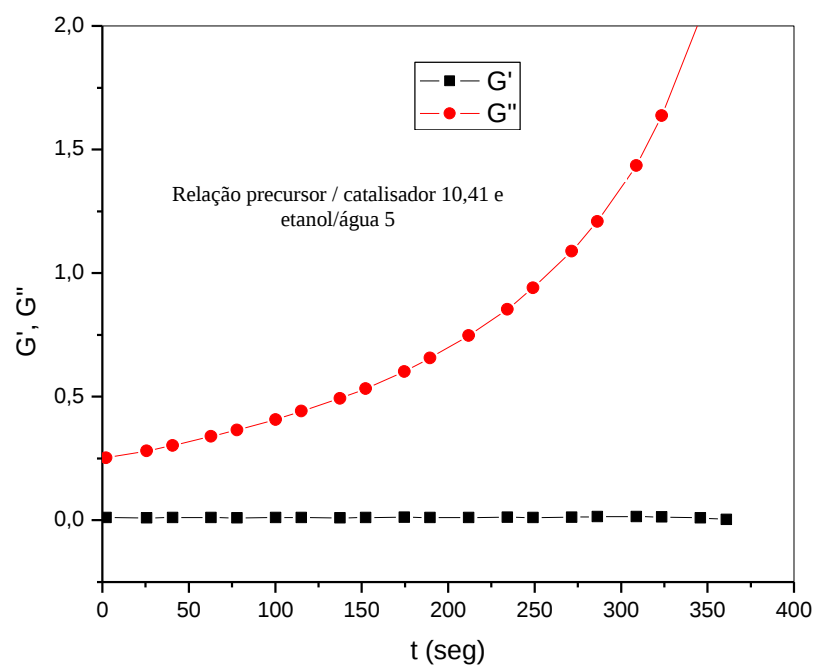


Figura 36. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, formulação B.

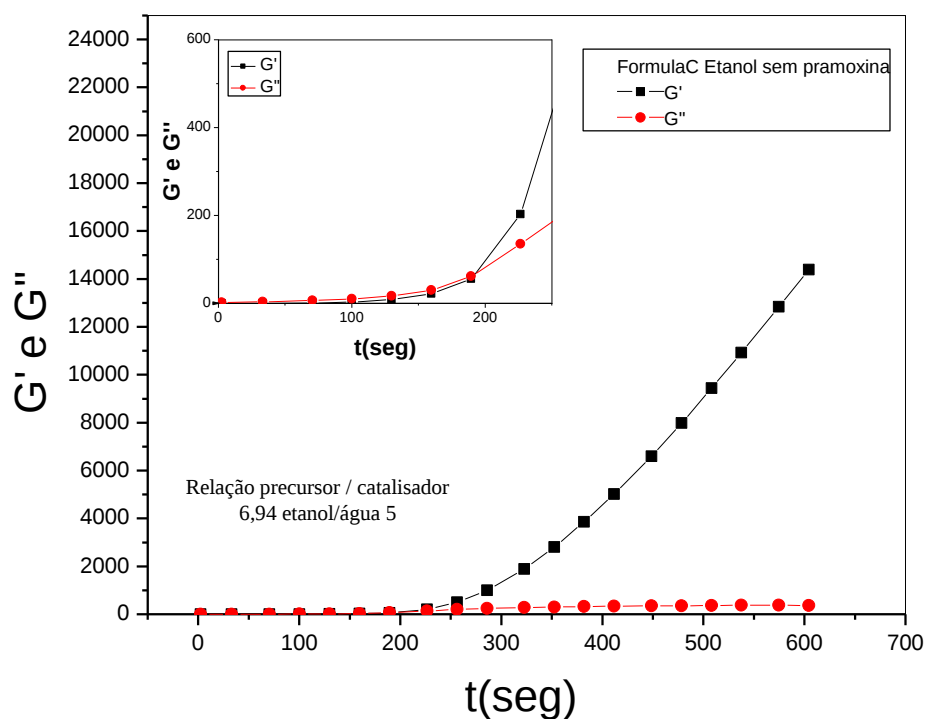


Figura 37. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, formulação C.

Tabela 6 – Tempo de gel/ tempo de filme obtidos por análise reológica do híbrido precursor obtido com solvente etanol: POE1900.

Tipo de polímero constituente da cadeia híbrida – Fórmula	Tempo de Gel (min)	Figura correspondente
POE 1900 – Fórmula A	Não houve intersecção de G' e G'' em 10 minutos de teste	Figura 33
POE 1900 – Fórmula B	Não houve intersecção de G' e G'' em 10 minutos de teste	Figura 34
POE 1900 – Fórmula C	3,2	Figura 35
POE 1900 – Fórmula C + Cloridrato de pramoxina	2,7	Figura 36
POE 1900 – Fórmula D	2,8	Figura 37

A Figura 38 apresenta a evolução temporal de G' e de G'' para a amostra C com adição do fármaco cloridrato de pramoxina (5%). Pode-se observar pela análise da Figura 38 e da Tabela 6 que a adição do fármaco diminui o tempo de gel para 2,7 segundos, tempo ainda considerado bom para a utilização do sistema como formador de filme. A influência da variação do proporção etanol/água no tempo de gel também foi avaliada. A Figura 39 mostra a evolução temporal de G' e G'' para a amostra D, cuja composição apresenta a mesma razão precursor híbrido/catalisador, mas com maior teor de água, que tem também a função de promover as reações de hidrólise e condensação. Pela análise da Figura 39 e da Tabela 6 pode-se observar que o tempo de gel diminui com o aumento do teor de água, passando de 3,2 (proporção etanol/água=5) para 2,8 (proporção etanol/água=3).

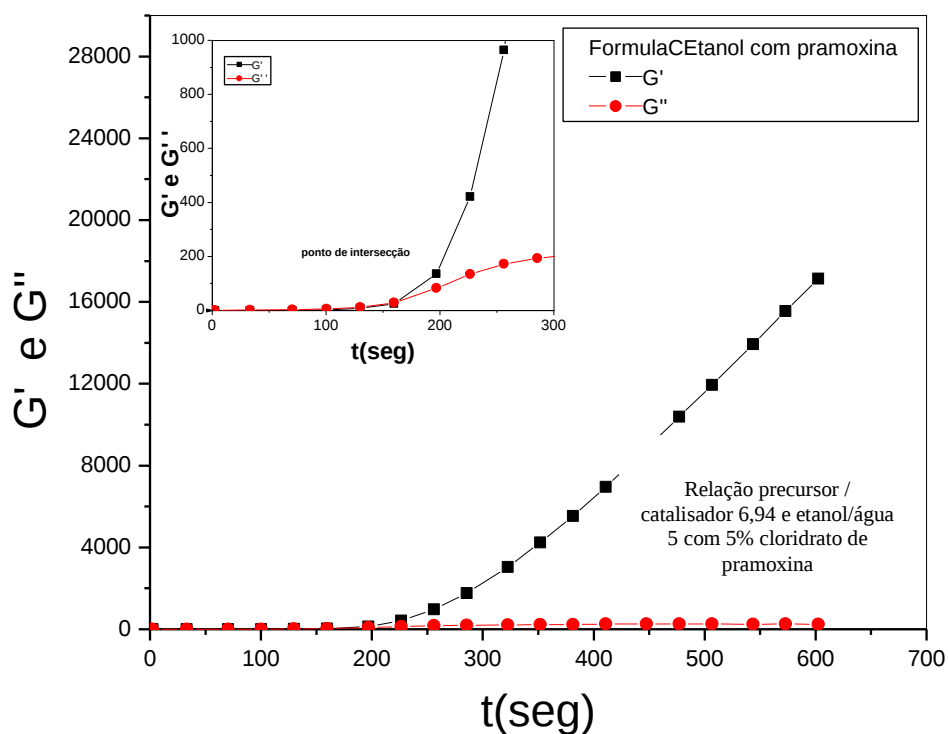


Figura 38. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, formulação C com adição do fármaco cloridrato de pramoxina.

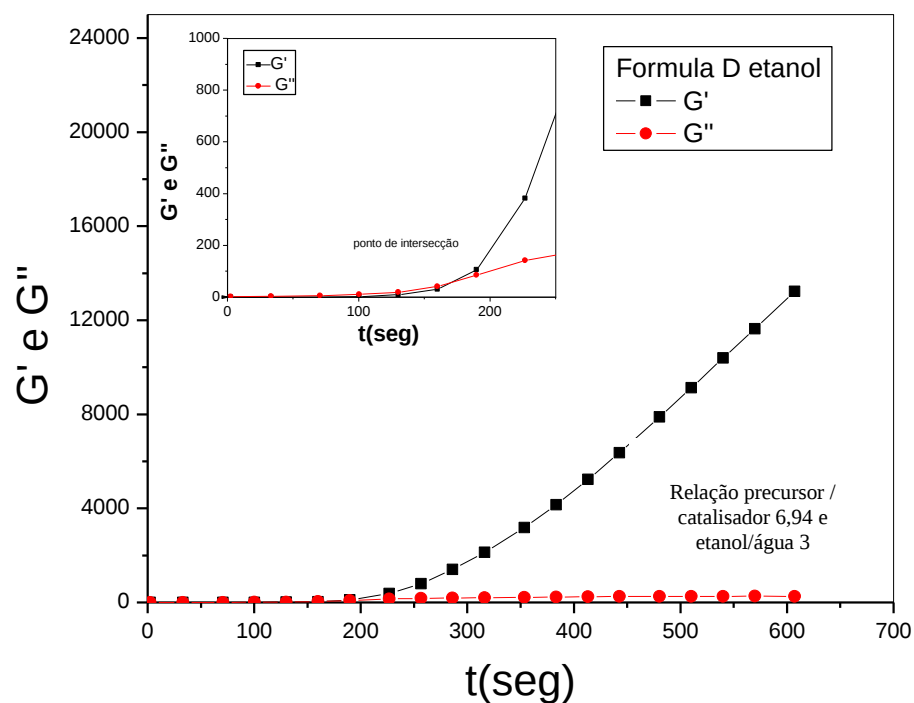


Figura 39. Evolução temporal de G' e G'' do híbrido POE1900, fórmula D.

Com base nestes resultados pode-se concluir que a síntese do precursor híbrido com solvente etanol interfere no tempo de gel, ou seja, alterou o perfil da evolução temporal de G' e G'' , mudando seu ponto de intersecção. Para obter a mesma performance dos precursores híbridos sintetizados com o solvente THF, ou seja, tempo de formação de filme da solução polimérica formadora de filme menor que 5 minutos, foi necessário aumentar a quantidade de água ou de catalisador das reações de hidrólise e condensação. Uma análise estrutural mais aprofundada se faz necessária para que o comportamento diferenciado das amostras sintetizadas em etanol sejam compreendidas. Essa análise está prevista para trabalhos futuros.

6.2 – Caracterização mecânica do formador de filme

6.2.1- Testes mecânicos de ruptura e alongação

As propriedades mecânicas, tais como força de resistência à tração e porcentagem de alongação de ruptura para os filmes obtidos a partir das matrizes híbridas formadoras de filme foram determinadas para caracterizar os filmes poliméricos obtidos, avaliando a resistência ao atrito e a flexibilidade. Para a aplicação de um sistema polimérico para uso tópico visando a liberação de fármacos, é importante que os filmes sejam flexíveis o suficiente para acompanhar os movimentos da pele sem se desprender ou quebrar e ao mesmo tempo tenham suficiente resistência ao atrito causado, por exemplo, pelo contato com as roupas do usuário.

A Tabela 7 apresenta os valores de força de resistência à tração e alongamento de ruptura para os híbridos POE500, POE1900, POP2000 e POP400. Pode-se observar por estes resultados que os precursores híbridos POE 500 e POE1900 devido aos seus valores de força de tração e porcentagem de alongação de ruptura apresentam propriedades de flexibilidade e resistência ao atrito que o torna um potencial candidato para o uso na pele como formador de filme^[64], porém, de acordo com Schroeder et al^[64], estes resultados devem ser confirmados *in vivo*.

Os resultados de força de resistência à tração e alongação de ruptura mostram que os híbridos POP400 e POP2000 apresentam propriedades de resistência superiores às dos híbridos do tipo polióxido etilenos (POE), porém menor flexibilidade. Essas matrizes híbridas podem ser sintetizadas combinando-se polímeros de diferentes naturezas químicas e pesos moleculares, dando origem a novas matrizes formadas por misturas das que já foram anteriormente apresentadas. Em trabalhos recentes realizados em nosso grupo, essas misturas forneceram padrões de liberação controlada de fármacos manipuláveis, através do controle do balanço hidrofílico/hidrofóbico da matriz, permitindo modular a taxa de intumescimento, que controla a

liberação do fármaco. Pode-se inferir que misturas destes híbridos podem ser desenvolvidas também com o objetivo de obter propriedades mecânicas melhoradas, que deverão apresentar maior resistência combinada com maior flexibilidade, atendendo aos requisitos para o desenvolvimento de uma plataforma de tecnologia farmacêutica. Os precursores híbridos produziram filmes transparentes, que secaram rapidamente e não aderiram a superfícies externas, atendendo aos requisitos de atratividade estética que podem qualificá-los como potencial candidato a um sistema formador de filme sobre a pele para liberação controlada de fármacos.

Tabela 7. Força de resistência à tração e alongamento de ruptura dos híbridos POE500, POP400, POE1900 e POP2000.

Polímero	Força de tração (N/m²)	Elongação de ruptura (%)
POE 500	4.0 (±0.3)	143.4 (± 42.5)
POP 400	11.7 (±0.8)	94.5 (± 19.1)
POE 1900	6.3 (±0.6)	93.2 (± 22.3)
POP2000	9.8 (±0.3)	82.8 (± 18.5)

Após síntese do precursor híbrido POE1900 em solvente etanol (item 5.3.2 e Figura 8), foram realizadas as mesmas análises de força de resistência de tração e alongação de ruptura, porém este material assumiu características semelhantes às de um hidrogel, que lhe conferiu características quebradiças que impossibilitaram que se obtivesse valores semelhantes aos obtidos anteriormente com os híbridos precursores sintetizados com o solvente THF. No entanto, as características de hidrogel são bastante desejáveis para aplicação em feridas, como por exemplo, em cortes não-cirúrgicos, queimaduras ou em lesões como a da herpes labial.

6.2.2- Testes de bioadesão

6.2.2.1- Testes de bioadesão para matrizes híbridas obtidas com solvente THF

As forças necessárias para separar o material formador de filme do substrato biológico (pele de orelha de porco) foram obtidas a partir de medidas de adesão. A Figura 40 mostra variação da força em função do tempo para uma análise realizada sem o sistema polimérico híbrido formador de filme, que foi utilizada como uma análise controle. A intensidade da força de adesão (ou trabalho de adesão) pode ser obtida pelo cálculo da área sob o pico de força máxima, apresentado na Figura 40. Nota-se que nesta figura a intensidade e a área sob o pico são muito pequenas, revelando que a força de adesão entre o probe utilizado e a pele não é significativa e, portanto, não deve interferir nos resultados dos testes realizados com a matriz polimérica.

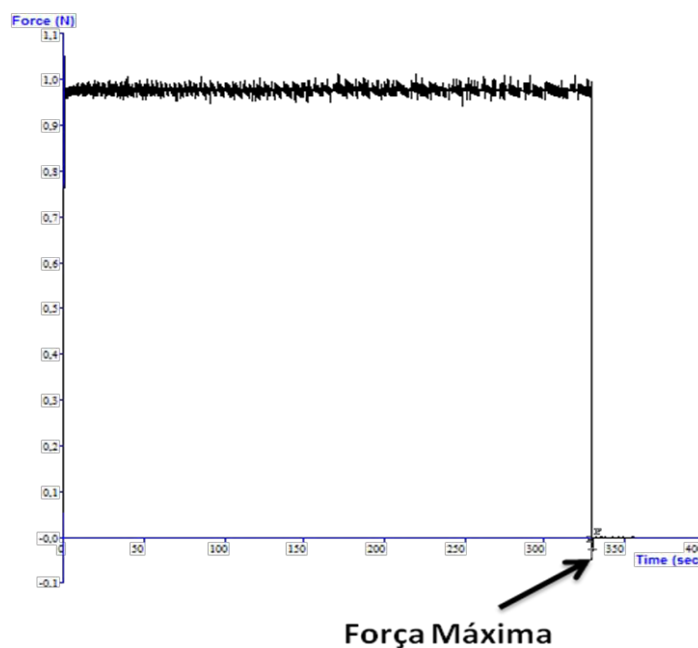


Figura 40. Curva controle (sem adição de solução polimérica formadora de filme) de força versus tempo. A altura do pico é a força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) e o total de forças envolvidas na remoção do probe do substrato biológico (trabalho de adesão, W_{ad}) é calculada pela área sob a curva.

As Figuras 41 e 42 apresentam ao gráfico de variação da força em função do tempo, para a matriz POE 500 sem e com pramoxina, respectivamente. Pode-se observar que tanto a intensidade quanto a área sob o pico são bem maiores que as observadas para o pico apresentado pela Figura 40, sugerindo uma força de adesão alta entre o substrato e a pele. A força máxima ($F_{\text{máx}}$) requerida para separar o probe do substrato biológico foi obtida pelo valor em grama-força (gf) relativo à posição no eixo y do pico máximo^[69], calculada com a ajuda do software Texture Exponent Software, do próprio equipamento de análise. Esses valores para todas as amostras analisadas encontram-se listados na Tabela 8. O valor de $F_{\text{máx}}$ determinado para esta amostra foi de 322,91 gf para a matriz polimérica híbrida sem adição de fármaco e de 198,06 gf para a matriz polimérica com adição de fármaco. Essa diminuição no valor de $F_{\text{máx}}$ implica consequentemente na diminuição do caráter bioadesivo do material, que deve-se possivelmente devido ao fato do fármaco ligar-se em sítios de ligação existentes na cadeia polimérica responsáveis pela formação de ligações adesivas entre o sistema híbrido e a pele.

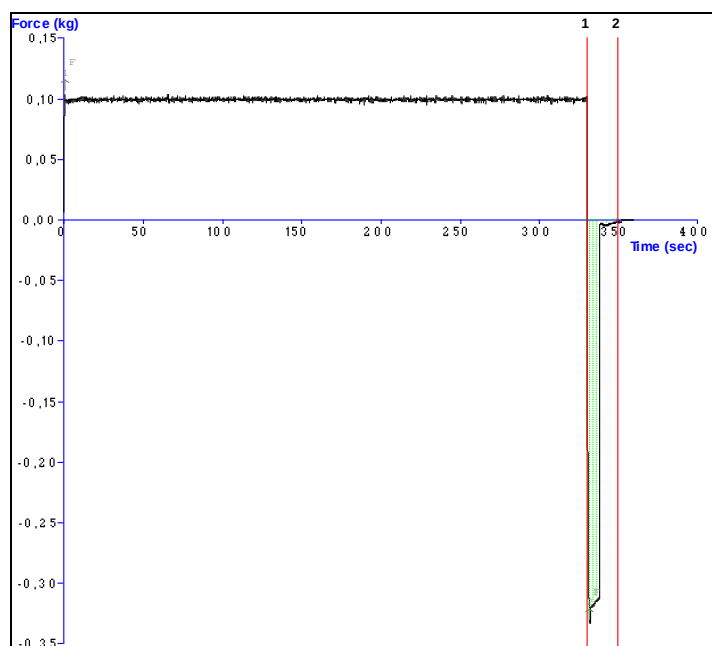


Figura 41. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE500.

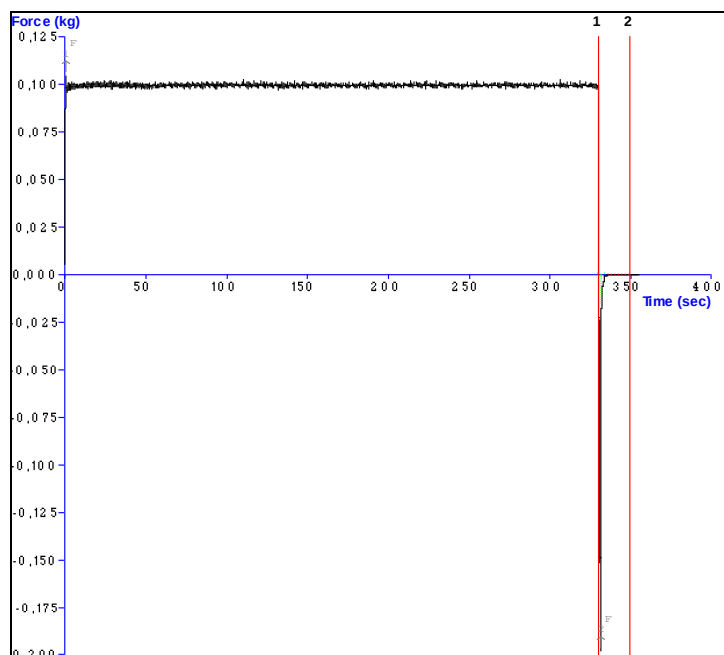
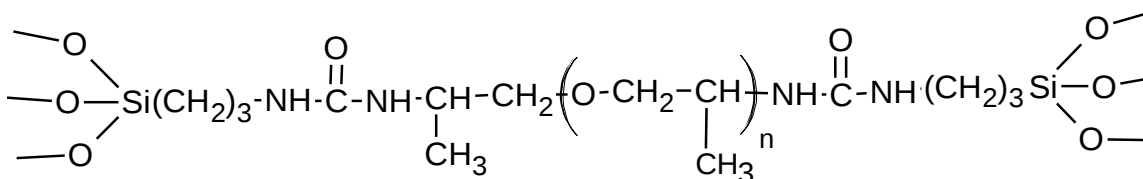


Figura 42. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE500 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.

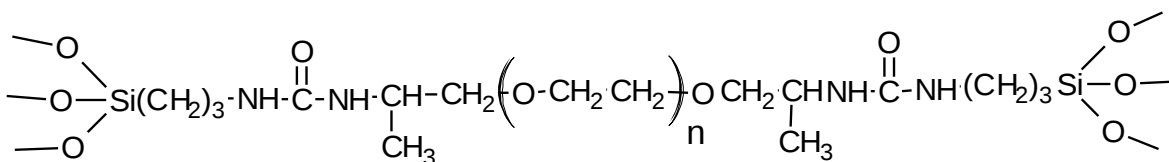
Tabela 8. Força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) dos híbridos precursores em teste de resistência à remoção do filme do substrato biológico.

Polímero	F_{max} (g)	W_{ad} (g.sec)
POE 500 (THF)	322,91	2507,40
POE 500 (THF) + Fármaco cloridrato de pramoxina 5%	198,06	142,79
POP 400 (THF)	316,51	224,80
POP 400 (THF) + Fármaco cloridrato de pramoxina 5%	176,74	128,91
POE 1900 (THF)	317,33	677,80
POE 1900 (THF) + Fármaco cloridrato de pramoxina 5%	314,25	794,82
POP 2000 (THF)	320,12	1672,78
POP 2000 (THF) + Fármaco cloridrato de pramoxina 5%	112,73	196,14

Algumas características da matriz polimérica influem no seu caráter bioadesivo, dentre elas, presença na molécula polimérica de grupos químicos capazes de formar pontes de hidrogênio com o substrato biológico, presença no substrato biológico de grupos químicos capazes de formar pontes de hidrogênio com a matriz polimérica, cargas iônicas na superfície tanto da matriz polimérica quanto do substrato biológico, alto peso molecular (e alta flexibilidade) da cadeia polimérica além de valores adequados de tensão superficial que possa induzir a difusão através da camada de tecido epitelial. As fórmulas estruturais das moléculas dos materiais híbridos siloxano-POP e siloxano-POE encontram-se apresentadas pela Figura 43.



POP



POE

Figura 43. Fórmulas estruturais dos compostos híbridos siloxano-POP e siloxano-POE.

Podemos observar que ambas as moléculas apresentam grupos químicos terminais (OH) e (C=O) capazes de formar pontes de hidrogênio com substratos biológicos. Além disso, pode ser possível a formação de ligações entre os hidrogênios e os oxigênios do tipo éter da cadeia polimérica com a pele. Para os híbridos do tipo siloxano-POE de baixo peso molecular o número de grupos (OH) e (C=O) é maior que para os de alto peso molecular, entretanto o número de (H)

e de (O) do tipo éter é maior para os híbridos siloxano-POE de alto peso molecular. Os híbridos siloxano-POP apresentam um grupo (CH_3), de caráter hidrofóbico, que deve dificultar as interações entre a cadeia polimérica e o substrato biológico. Acreditamos também que o caráter hidrofílico da molécula híbrida do tipo siloxano-POE possa favorecer as interações entre a matriz híbrida e a pele.

As Figuras 44 e 45 apresentam a variação dos valores de força em função do tempo para a matriz POP 400 sem e com o fármaco cloridrato de pramoxina, respectivamente. A área sob a curva fornece o trabalho de adesão (W_{ad}) e a posição no eixo y do pico máximo de força fornece o valor de força máxima ($F_{m\acute{a}x}$). Pode-se observar por esta figura e pela análise da Tabela 8, que os valores de $F_{m\acute{a}x}$ são pouco influenciados pela mudança da natureza química da cadeia polimérica quando estas apresentam pesos moleculares semelhantes, tanto para a matriz sem fármaco quanto para a matriz contendo o fármaco.

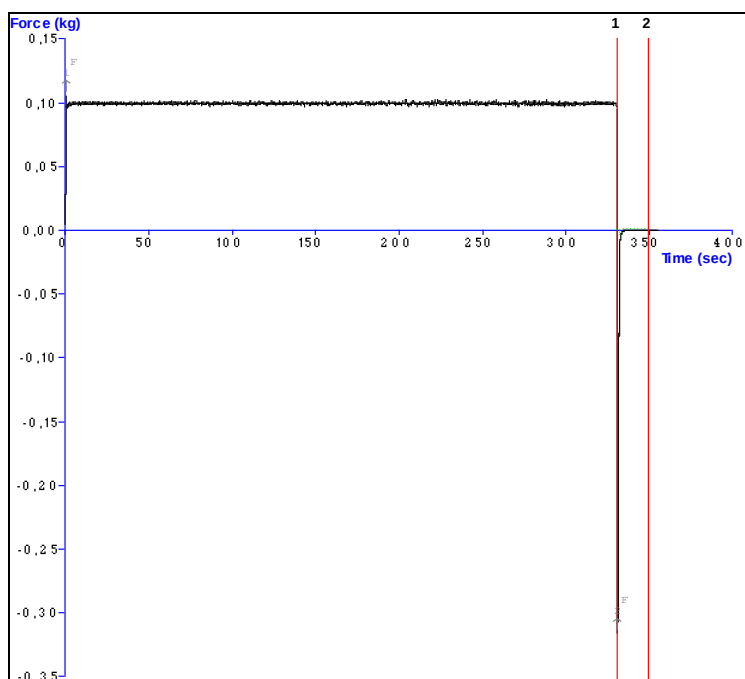


Figura 44. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP400.

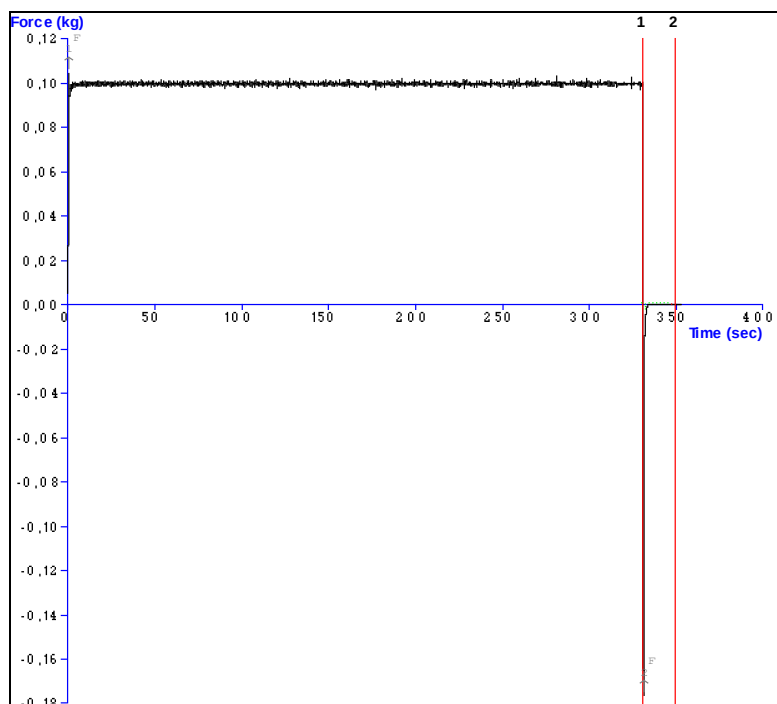


Figura 45. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP400 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.

As Figuras 46 e 47 apresentam a variação dos valores de força em função do tempo para a matriz POE 1900 sem e com o fármaco cloridrato de pramoxina, respectivamente. Os valores de força máxima ($F_{\text{máx}}$) e trabalho de adesão (W_{ad}) foram obtidos da mesma forma descrita para as Figuras 44 e 45. Comparando as curvas mostradas pelas Figuras 46 e 47 (POE 1900) com àquelas apresentadas pelas Figuras 41 e 42 (POE500) e observando os resultados apresentados na Tabela 8 podemos concluir que os valores para F_{max} determinadas para as duas amostras formadas por polímeros de mesma natureza química e diferentes pesos moleculares, sem adição de fármaco são bastante próximos, sugerindo que o peso molecular da cadeia polimérica tem pouca influência no caráter bioadesivo do material híbrido obtido com POE como polímero.

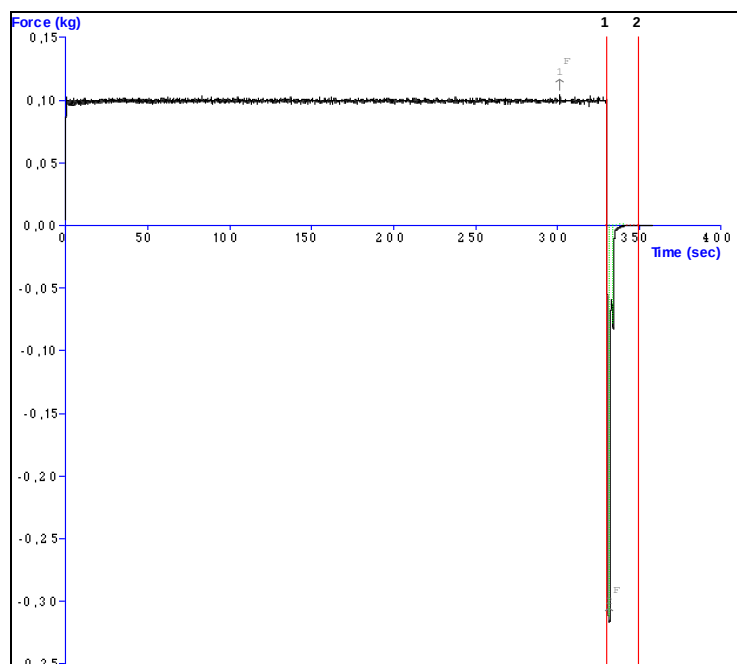


Figura 46. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE1900.

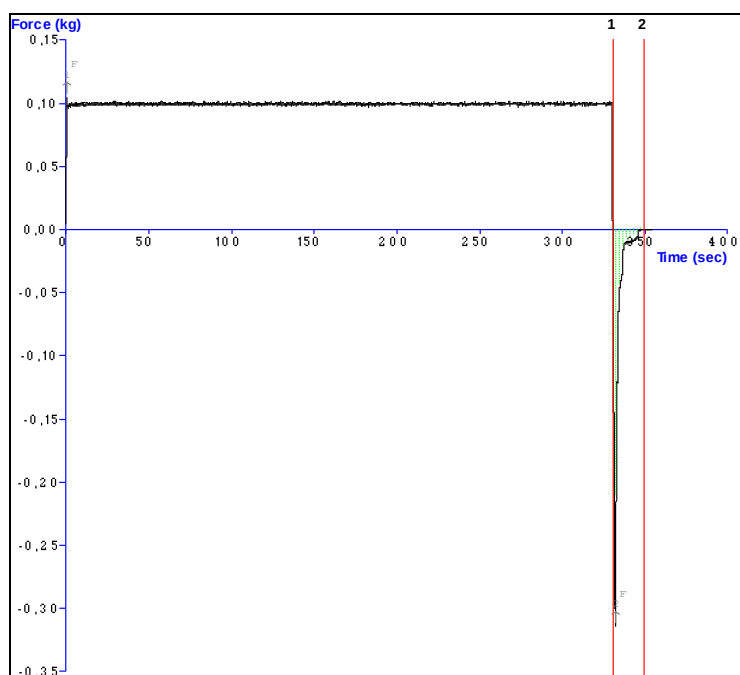


Figura 47. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE1900 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.

Por outro lado, ao compararmos os valores de $F_{\max}$ para os materiais híbridos obtidos com o polímero de maior peso molecular (POE 1900, Figura 47) àquele obtido para o polímero de menor peso molecular (POE500, Figura 42), ambos com adição de cloridrato de pramoxina, observamos que o fármaco produz uma redução significativa no caráter adesivo das matrizes híbridas, especialmente para a formada a partir do POE500. Já para a matriz híbrida formada a partir do POE1900 o fármaco altera de forma pouco significativa o caráter adesivo da matriz. A acentuada diminuição do caráter bioadesivo com a adição do fármaco na matriz híbrida de menor peso molecular, pode estar relacionada ao fato do fármaco ter interagido com grande parte dos sítios de ligação disponíveis (OH, C=O, H, O tipo éter) responsáveis pela formação das forças de adesão matriz-substrato biológico. Além disso, o fármaco pode ter causado mudanças na flexibilidade da matriz polimérica, notadamente na de menor peso molecular, que possui flexibilidade menor.

As Figuras 48 e 49 apresentam os gráficos de força em função do tempo para a matriz POP 2000 sem e com o fármaco cloridrato de pramoxina, respectivamente. Os valores de força máxima ($F_{\max}$) e trabalho de adesão (W_{ad}) foram obtidos da mesma forma descrita para as Figuras 43-46. Comparando-se a Figura 48 e o valor de $F_{\max}$ para a matriz POP2000 (ver tabela 8) com àquele observado para a amostra POE1900 sem cloridrato de pramoxina (Figura 46), podemos observar que a natureza química do polímero não afeta significativamente o caráter adesivo das matrizes de alto peso molecular na ausência de fármaco. Quando o fármaco é adicionado, entretanto, observa-se um comportamento distinto entre as duas matrizes com alto peso molecular (POE1900, Figura 47) e (POP2000, Figura 49). Para ambas, há uma diminuição no valor de $F_{\max}$ que pode ser explicada pela ocupação de alguns dos sítios de ligação responsáveis pela formação das forças de adesão híbrido-substrato biológico pelas moléculas do

fármaco. Essa diminuição no valor de força máxima e trabalho de adesão com adição de fármaco é mais acentuada para a matriz formada por POP2000. O material híbrido siloxano-POE é muito mais hidrofílico que o formado por siloxano-POP, podendo esse fato, aliado à maior flexibilidade da matriz siloxano-POE e à ocupação dos sítios responsáveis pela formação de ligações substrato entre a pele e a matriz híbrida, ser responsável pela significativa redução no caráter adesivo do POP-2000 contendo cloridrato de pramoxina.

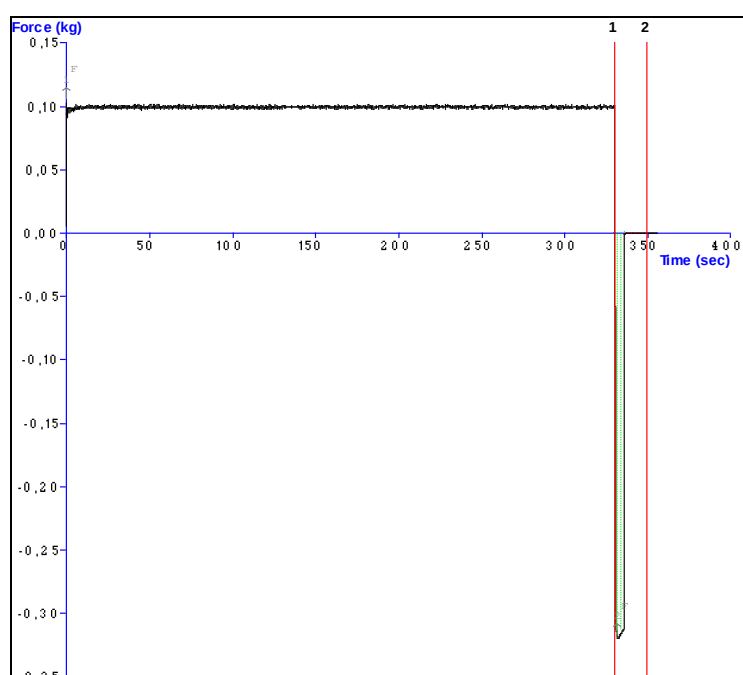


Figura 48. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP2000.

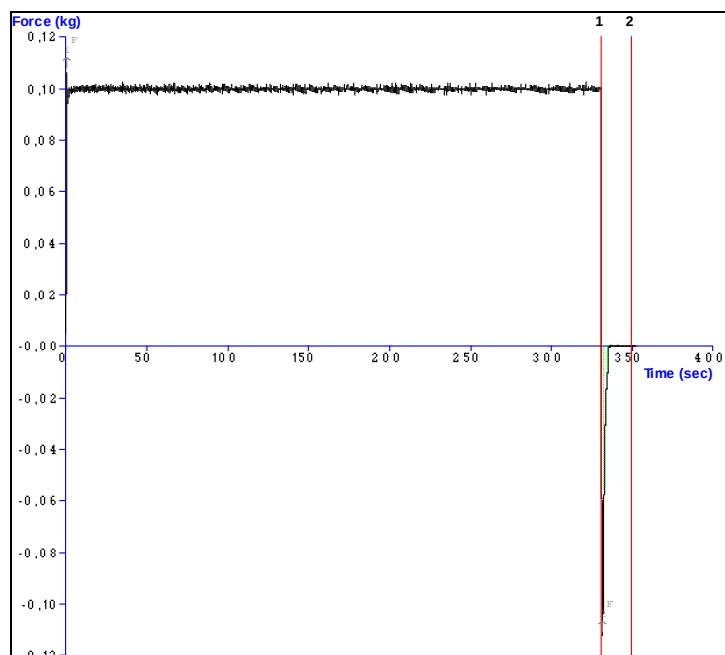


Figura 49. Curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POP2000 com adição de 5% do fármaco cloridrato de pramoxina.

6.2.2.2 Testes de bioadesão para matrizes híbridas obtidas com solvente etanol

As Figuras 50 e 51 apresentam a variação da força em função do tempo para a matriz siloxano-POE1900 (híbrido precursor sintetizado com o solvente etanol) sem e com o fármaco cloridrato de pramoxina, respectivamente. A área sob a curva fornece o trabalho de adesão (W_{ad}) e a posição no eixo y do pico máximo o valor de força máxima ($F_{máx}$). A Tabela 9 apresenta os valores de força máxima ($F_{máx}$) requerida para separar o probe do substrato biológico obtida pelo valor em gf relativo à posição em y do pico máximo^[69] para para a matriz POE 1900 (híbrido precursor sintetizado com o solvente etanol) sem e com pramoxina. A Tabela 9 também mostra os resultados do trabalho de adesão (W_{ad}) calculados. Pela análise dos resultados apresentados pelas Figuras 50 e pela Tabela 9 e pela comparação com os reultados de bioadesão obtidos para a mesma matriz híbrida sintetizada em THF (ver Figura 46 e Tabela 8) podemos concluir que a natureza química do solvente utilizado não altera significativamente o comportamento adesivo da

matriz híbrida sem adição de fármaco. Entretanto, quando o fármaco é adicionado, observamos pela Figura 51 e pelos valores de força máxima e de trabalho de adesão listados na Tabela 9 um grande aumento no valor de $F_{\text{máx}}$ e consequentemente no caráter adesivo da matriz POE1900 sintetizada em etanol. É importante lembrar que essa diminuição significativa do caráter adesivo com adição de fármaco não é observada para a mesma matriz POE1900 sintetizada em THF (ver Figura 47 e tabela 8). Esses resultados revelam que a matriz híbrida sintetizada com etanol deve apresentar características físico-químicas diferentes daquelas observadas para as matrizes sintetizadas em THF, confirmando as observações realizadas por reologia. Para melhor compreender a influência do solvente utilizado na síntese dos materiais híbridos em suas propriedades finais, um estudo mais avançado da estrutura, comportamento térmico, mecânico e das propriedades finais do material se fazem necessário e estão previstos para trabalhos futuros.

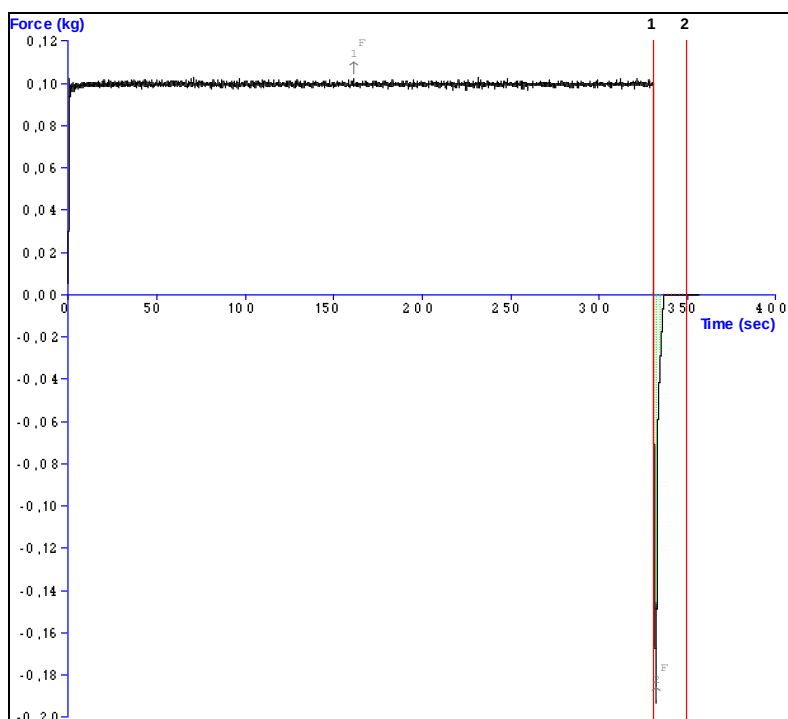


Figura 50. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE 1900 (precursor híbrido sintetizado com o solvente etanol).

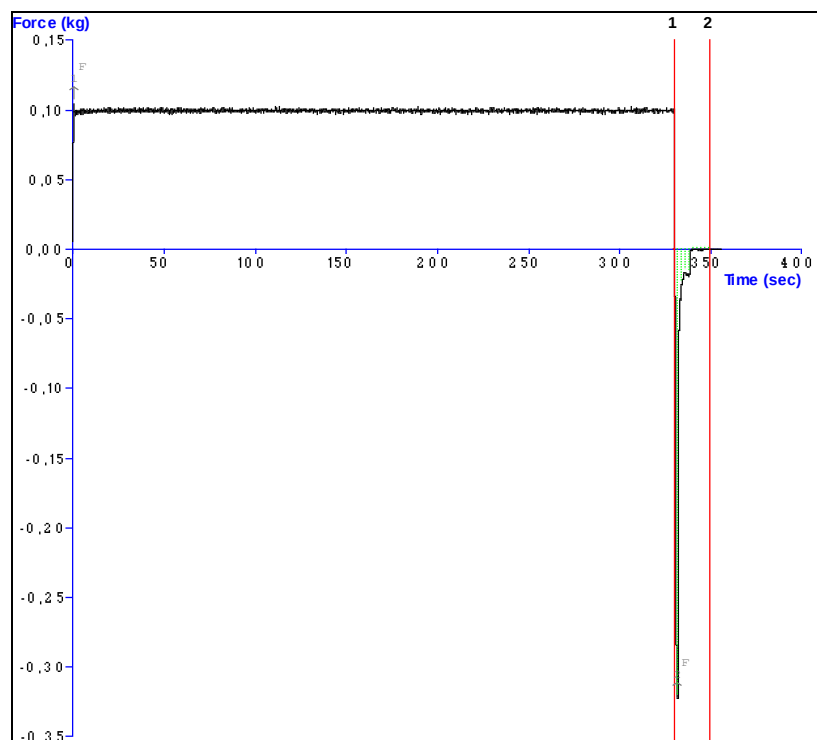


Figura 51. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do filme formado pelo polímero POE 1900 (precursor híbrido sintetizado com o solvente etanol) com adição de 5% de fármaco cloridrato de pramoxina.

Tabela 9. Força máxima necessária para separar o probe do tecido (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) dos híbridos precursores em teste de resistência à remoção do filme do substrato biológico.

Polímero	$F_{\text{máx}}$ (g)	W_{ad} (g.sec)
POE 1900 (Etanol)	193,10	380,11
POE 1900 (Etanol) + Fármaco cloridrato de pramoxina 5%	323,10	665,80

6.2.2.3 Testes de bioadesão para produtos comerciais

Para efeito comparativo, realizou-se o teste de bioadesão para produtos comerciais. As Figuras 52 e 53 mostram a evolução da força em função do tempo para 2 formulações de materiais formadores de filme existentes no mercado norte-americano: “New Skin[®]” e “Band-

Aid[®] Liquid Bandage”, que quando comparados à matriz híbrida mostraram ter bioadesividade muito menor, embora sejam comercializados com o apelo de serem bastante aderentes e de permanecerem por no mínimo 24 horas na pele.

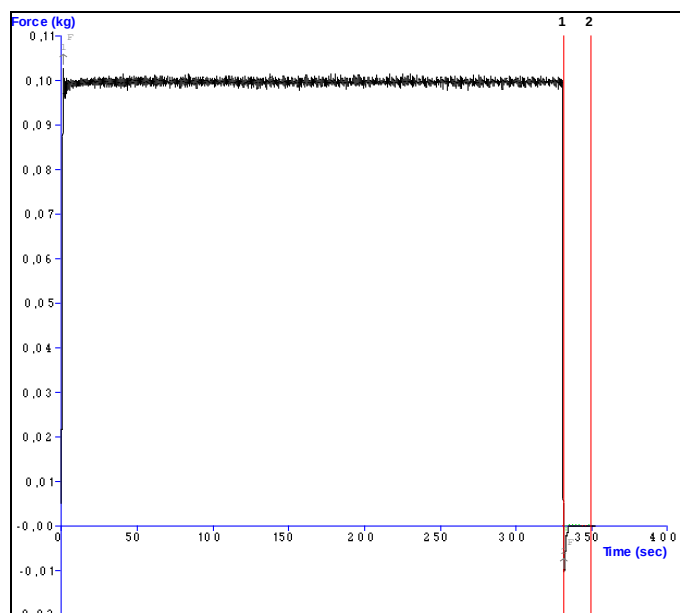


Figura 52. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do formador de filme New Skin[®] do substrato biológico.

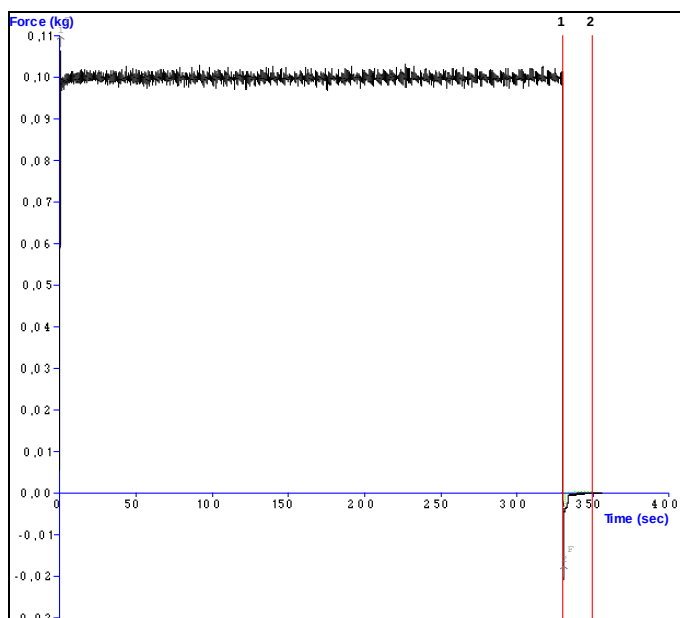


Figura 53. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do formador de filme Band-Aid[®] Liquid Bandage do substrato biológico.

A Figura 54 mostra a evolução da força em função do tempo para uma formulação comercial de um curativo adesivo, o “Band-Aid® Tough Strip Bandage”, que possui um adesivo acrílico com alta bioadesão posicionado no mercado como ultra resistente. A Figura 55 mostra a variação da força em função do tempo para uma formulação comercial de um tipo de adesivo “hot-melt” sensível à pressão comumente utilizado em curativos adesivos desenvolvidos para ficarem aderidos à pele por no mínimo 24 horas. A Tabela 10 apresenta dos valores de força máxima e de trabalho de adesão para todas as formulações comerciais analisadas. Podemos observar pelos valores de força e trabalho de adesão obtidos para os materiais híbridos (tabelas 8 e 9) são bastante superiores àqueles obtidos para as formulações comerciais.

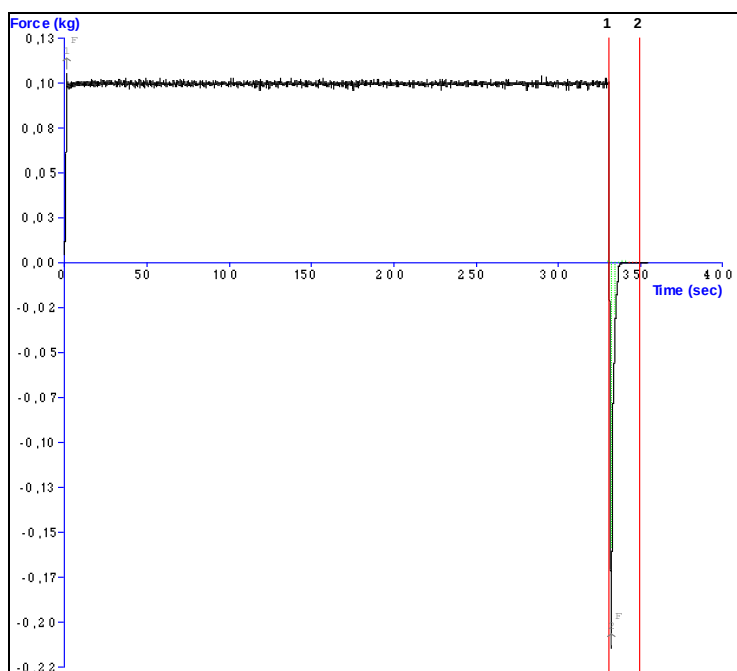


Figura 54. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do curativo adesivo Band-Aid® Tough Strip do substrato biológico.

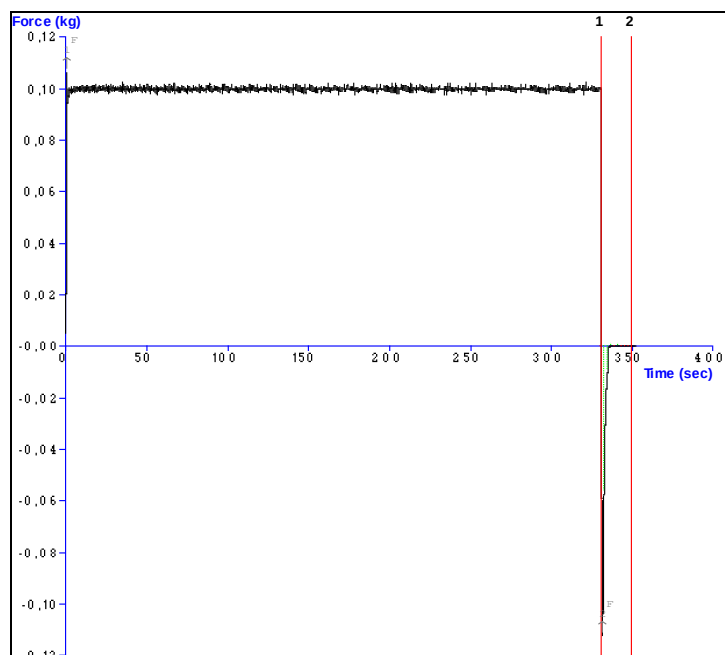


Figura 55. O gráfico mostra uma curva de força versus tempo para medida de descolamento do curativo adesivo Band-Aid® Flexible Fabric do substrato biológico.

Tabela 10. Força máxima necessária para separar o probe do substrato (força máxima de descolamento, $F_{\text{máx}}$) de produtos comerciais.

Polímero	$F_{\text{máx}}$ (g)	W_{ad} (g.sec)
New Skin®	10,43	16,14
Band-Aid® Liquid Bandage	20,88	19,26
Band-Aid® Tough Strips	214,82	413,65
Band-Aid® Flexible Fabric	112,72	196,14

Todos os produtos comerciais aos quais as matrizes híbridas orgânico-inorgânicas foram comparadas são comercializados com o apelo de serem altamente aderentes e de possuírem permanência mínima de 24 horas em uso na pele de consumidores, o que permite inferir que as matrizes híbridas estudadas neste trabalho possuem excelente bioadesividade, reforçando sua proposição para aplicação como ataduras oclusivas ou em sistemas transdérmicos. Além disso, observamos para todas as amostras híbridas analisadas que com a adição do fármaco cloridrato

de pramoxina (5%) a bioadesividade diminui, mas mesmo assim os valores de $F_{\text{máx}}$ e de W_{ad} continuam superiores aos valores obtidos para a maioria dos adesivos comerciais.

6.3 – Medida da taxa de transmissão de vapor de água (MVTR – “Moisture Vapor Transmitting Rate”)

O corpo humano está constantemente perdendo água para o ambiente por evaporação de água pela pele. Este processo é chamado de perda de água transepidérmica (TEWL – Trans Epidermal Water Loss), que é um processo de difusão passiva muito importante para a manutenção da homeostase do nosso corpo, como por exemplo o controle da temperatura corporal. A oclusão, que resulta em uma diminuição da medida de TEWL, influencia muitas propriedades da pele, tais como, hidratação do estrato córneo, temperatura da pele, fluxo sanguíneo e também aumento da absorção percutânea de alguns fármacos dependendo de fatores anatômicos da região aplicada e formulação^[71-72]. Alguns parâmetros da pele, tais como pH e flora bacteriana são também influenciados por tratamentos oclusivos, resultando em aumento do risco de infecção e irritação da pele^[73-74]. Portanto, a determinação do poder oclusivo é um fator importante a ser considerado no desenvolvimento de um sistema de liberação controlada proposto para ser utilizado por longo período de tempo em condições oclusivas, assim como este estudo se propõe. O ideal para a proteção da pele ou para favorecer a absorção de fármacos seria um material com características semi-oclusivas, ou seja, capaz de diminuir o TEWL mas permitindo que haja trocas gasosas com ao ambiente.

A Figura 56 mostra a porcentagem de vapor de água permeada através das matrizes híbridas de diferentes naturezas químicas e diferentes pesos moleculares em 24 horas. Existe na literatura uma controvérsia quanto aos valores de porcentagem de água permeada e o caráter

oclusivo de uma membrana. Segundo a Farmacopéia Britânica um material pode ser considerado permeável ao vapor de água quando deixa permear valor que exceda $500 \text{ g/m}^2/24\text{h}$ ^[63]. Porém de acordo com a William Hart^[75], valores de permeabilidade ao vapor de água dentro de intervalo de $200 - 6000 \text{ g/m}^2/24\text{h}$ em filmes finos com espessura entre $10 - 1000$ microns, podem ser considerados não-oclusivos, pois parte do vapor de água é capaz de permear o filme, quantidade suficiente para hidratar o estrato córneo sem que sejam armazenadas grandes quantidades de exsudato/umidade. Devido à alta evaporação, a capacidade total de hidratação será alta da pele em contato com o filme será alta. Os híbridos orgânico-inorgânicos apresentaram valores de permeabilidade ao vapor de água entre $430 - 490 \text{ g/m}^2/24\text{h}$. Associando-se estes valores de permeabilidade ao vapor de água e a espessura dos filmes formados, e analisando as referências acima citadas, pode-se propor que o material apresenta propriedades semi-oclusivas, pois deixam parte do vapor de água permear e retém parte desta umidade que irá hidratar o estrato córneo. A espessura dos filmes formados sobre a pele foi medida com o espessímetro, e os valores encontrados estão dentro do intervalo de $10 - 1000$ microns, que de acordo com Bill Hart^[75] são considerados filmes não-oclusivos. Estes resultados aliados ao fato de que em estudos anteriores do grupo de pesquisa foi mostrado que a liberação de fármacos incorporados nas matrizes em questão se dá por intumescimento devido à hidratação, este fluxo de água através do filme pode favorecer a liberação dos fármacos incorporados.

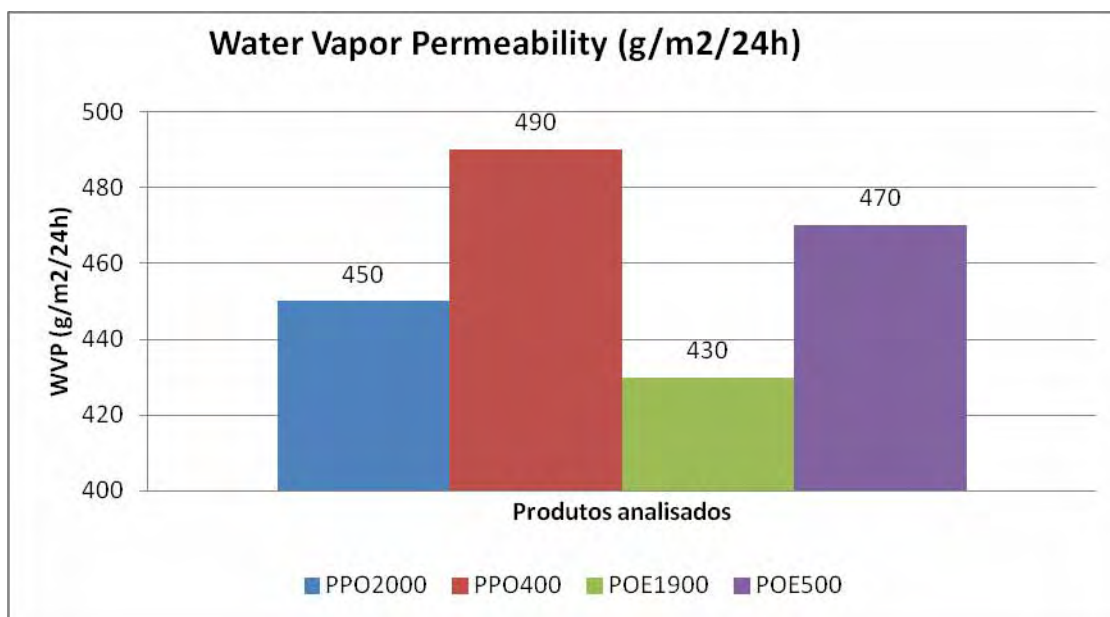


Figura 56. Taxa de permeabilidade ao vapor de água para as matrizes híbridas orgânicas-inorgânicas POP2000, POP400, POE1900 e POE500.

6.4 – Medida da taxa de Perda de Água Transepidérmica (TEWL – “Trans Epidermal Water Loss”)

O estrato córneo tem um papel importante na aparência da pele como resultado de sua capacidade de reter água e conteúdo lipídico. Além disso, ele atua como uma barreira protetora para a permeação de uma variedade de xenobióticos, desidratação, e agressões à pele por uma variedade de condições ambientais^[76].

Muitos pesquisadores se dedicaram à elucidação da estrutura e função desta barreira, mostrando que o estrato córneo consiste em um conjunto de queratinócitos ricos em proteínas envoltos em bicamadas intercelulares ricas em lipídeos, que conferem propriedades únicas ao estrato córneo^[76-78].

Das camadas mais profundas e hidratadas, epiderme e derme, um fluxo passivo de água emerge para as camadas mais superficiais do estrato córneo, que possuem relativo baixo teor de

água. Este processo é chamado de perda de água transepidérmica (TEWL – TransEpidermal Water Loss), que pode ser medido por métodos biofísicos e não invasivos^[77].

Parte da água difusante é evaporada através da superfície do estrato córneo, dependendo das condições climáticas, e parte será retida no estrato córneo devido aos fatores de hidratação, e possui papel crucial na hidratação da pele. O mais importante é a integridade desta barreira funcional. Quando esta barreira é danificada, a água pode escapar facilmente e a perda de água transepidérmica (TEWL) aumenta^[76-78].

Existe uma relação entre o (TEWL) e o grau de ruptura desta barreira protetora, devido à isso, medidas de TEWL é uma ferramenta importante para avaliar os efeitos nesta barreira funcional de um grande número de produtos e condições^[76].

Muitas técnicas são baseadas no método de câmara aberta, equipados com termosensores e higroscopios localizados em um dispositivo a uma distância constante da pele, responsáveis pela medida do gradiente de água evaporado através do estrato córneo^[78].

Medidas de perda de água transepidérmica são utilizadas para estudar a função da barreira aquosa na pele^[76]. Quanto mais perfeita a barreira protetora da pele, maior é o conteúdo de água e menor o valor de TEWL. A Figura 57 apresenta uma ilustração esquemática da barreira protetora (estrato córneo). A parte externa da pele é o estrato córneo, que forma uma barreira contra a difusão de água e também é uma barreira efetiva contra micróbios e substâncias químicas. O estrato córneo saudável contém muita água e é flexível, mas se torna rígido e quebradiço quando desidratado. Várias técnicas tem sido desenvolvidas para avaliar as propriedades da pele que são influenciadas pelo teor de água. Medidas de TEWL é um método bem estabelecido para caracterizar a influência de substâncias químicas na barreira funcional da pele. Um aumento de TEWL geralmente indica distúrbios nesta barreira protetora seja por

trauma físico, tratamento químico ou oclusão que pode causar irritação na pele. A pele normal permite a perda de água em pequenas quantidades. No caso de pele distúrbios na pele a perda de água é muito maior que na pele normal. Consequentemente medidas de TEWL são comumente conduzidas para caracterizar as propriedades oclusivas de preparações farmacêuticas, tais como patches transdérmicos^[76-78].

O Tewameter[®] é o dispositivo mais aceito e vendido mundialmente para medidas de TEWL. Há muitos campos de aplicação, além de testes de eficácia e suporte de claims na indústria farmacêutica e cosmética, testes de alergia, medicina ocupacional, observação em recém-nascidos, supervisão de processos de cicatrização da pele, efetividade de tratamento de queimaduras e biocompatibilidade de produtos cosméticos. Outro campo de utilização das medidas de TEWL é no campo de investigação do poder oclusivo de formulações. Oclusão é muito importante para formulações que visam tratar a pele danificada, evitando a perda de água e restabelecendo a barreira protetora da pele. Oclusão também é importantíssima para a cicatrização de feridas pela via úmida, que promove uma cicatrização mais rápida e com cicatriz menos aparente^[78].

Além disso a oclusão pode ser um fator importante para a liberação de fármacos incorporados em formulações como a da matriz orgânica-inorgânica objeto deste estudo, uma vez que estudos anteriores publicados pelo grupo de pesquisa mostraram que a matriz libera o fármaco incorporado por intumescimento, ou seja, um estrato córneo hidratado e perda transepidérmica baixa possivelmente irá favorecer o processo de liberação.

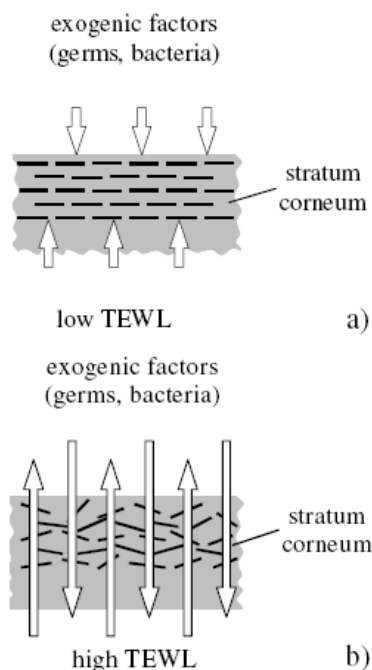


Figura 57. Ilustração esquemática da barreira protetora do estrato córneo. a) Pele saudável, b) pele danificada^[76].

A Figura 58 apresenta os valores de porcentagem de vapor de água permeada em 24 horas através das matrizes híbridas de diferentes naturezas químicas e diferentes pesos moleculares comparados com os valores obtidos para as formulações comerciais de materiais formadores de filmes obtidos pela realização de testes “*in vivo*” em voluntárias, de acordo com o procedimento descrito no item 5.3.6. Os resultados obtidos nestes testes de TEWL (Figura 58) confirmam que as matrizes híbridas orgânica-inorgânicas apresentam propriedades semi-oclusivas o suficiente para hidratar o estrato córneo. Em trabalhos anteriores, observou-se que essas matrizes ao entrarem em contato com água entumescem, o que favorece a liberação de fármacos a ela incorporados, portanto, podemos dizer que a matriz híbrida é uma boa candidata não somente para garantir a umidade adequada da pele em processos de cicatrização por via

úmida, mas também para liberar fármacos de uso transdérmico. Além disso os resultados de TEWL mostram que o material permite a permeação de vapor de água. Todas as matrizes híbridas testadas apresentaram valores de permeação de no mínimo 60% de vapor de água, o que pode prevenir a maceração, irritação, vermelhidão e sensibilidade da pele. A observação visual das matrizes siloxano-POP2000, siloxano-POP400 e siloxano-POE500 após 6 horas em contato com a pele das voluntárias revelou que as matrizes híbridas permaneceram intactas. Apenas a matriz siloxano-POE1900 apresentou rachaduras.

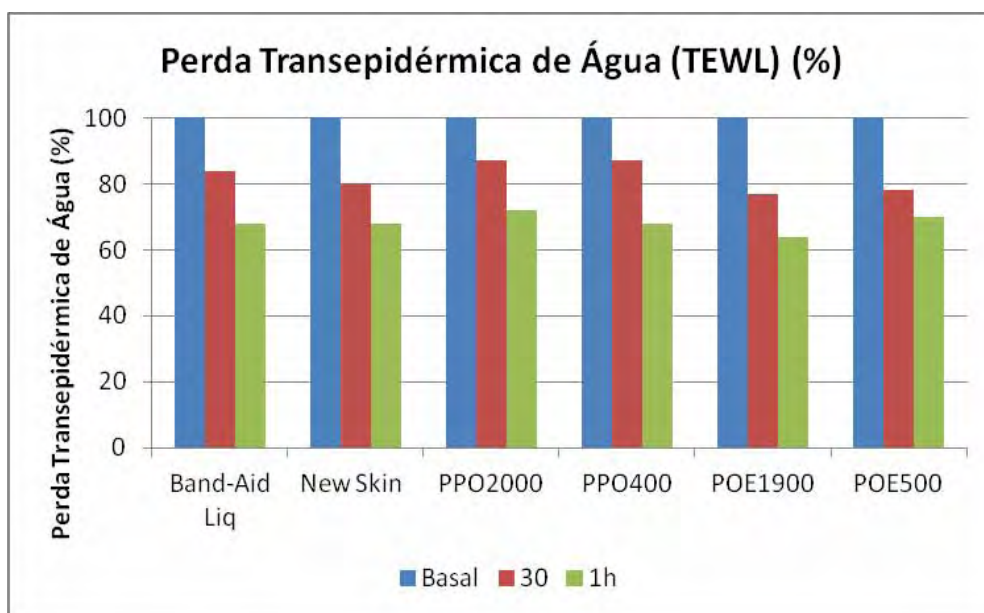


Figura 58. Perda de água transepidermica (TEWL).

6.5 DRS – Espectroscopia de Reflectância Difusa (DSR – Diffuse Spectroscopy Reflectance)

A análise do potencial poder irritante dos diferentes materiais analisados como adesivos ou formadores de filmes foram avaliados por um método que utiliza a espectroscopia de reflectância difusa. A avaliação do grau de danos causados à pele após a utilização dos

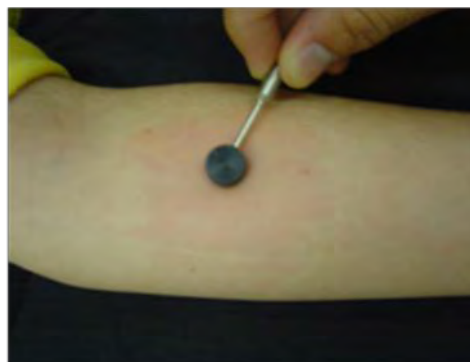
formadores de filmes foi feita com um espectrofotômetro acoplado a uma fonte de luz que emite uma radiação no comprimento de onda do visível sobre a pele e, esta por sua vez, absorve parte desta radiação, e também reflete parte desta radiação que é captada pelo espectrofotômetro. Este método de teste é bastante sensível para avaliar alterações na barreira protetora da pele (estrato córneo). Para avaliar alterações nas bandas de absorção localizadas na região de 500 – 600 nm, alterações estas que são indicativas de aumento dos teores de oxihemoglobina causados por processos de irritação da pele, como por exemplo dilatação de vasos sanguíneos e aumento do fluxo sanguíneo na região do insulto aplicado, neste caso, no local de aplicação do produto. A Figura 59 (c) mostra uma curva de calibração revelando que o método é sensível para captar inclusive diferenças na saturação de hemoglobina no sangue. A Figura 59 (d) mostra a diferença da absorção de luz na faixa de 500-600nm, que é utilizada na quantificação do teor de HbO₂ antes e após o insulto à pele, que neste caso foi causado pelo uso dos produtos testados.

A Figura 59 (a) apresenta uma medida basal e a Figura 59 (b) apresenta uma medida após insulto. A vermelhidão provocada pela irritação da pele por um material é resultado do aumento da concentração de HbO₂ medida na superfície da pele que altera a reflectância da radiação aplicada na leitura por espectroscopia de reflectância difusa. Esse aumento de HbO₂, por sua vez, altera as intensidades das bandas de absorção da pele na região de 500 – 600 nm. O objetivo ao realizar este teste foi mostrar que após 24 horas da aplicação dos filmes formados pelas matrizes orgânico-inorgânicas não foram observados aumentos significativos na intensidade das bandas de absorção localizadas na região de 500-600nm, e portanto, nos níveis de oxihemoglobina na região da pele onde as preparações foram aplicadas, que é indicativo de baixo poder irritante do material. E para comparar o grau de irritação causado pelas matrizes híbridas àqueles causados por formulações comerciais, aprovadas para comercialização pelo FDA, foram testados

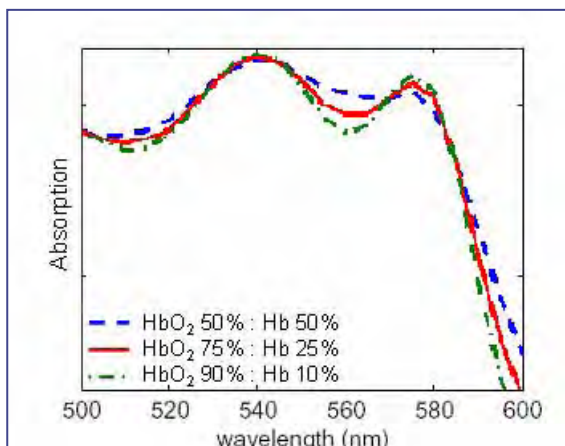
juntamente com as matrizes alguns produtos comerciais: o curativo Band-Aid[®], os formadores de filme Band-Aid[®] Liquid Bandage e o New Skin[®] Liquid Bandage. A Figura 60 mostra uma comparação entre todos os produtos testados em porcentagem do aumento de absorção na região entre 500 – 600 nm (chamado de porcentagem de poder irritante), sendo esses valores foram comparados aos da medida basal. Podemos observar que as matrizes híbridas possuem menor poder irritante à pele do que o curativo Band-Aid[®]; menor também quando comparadas ao New Skin[®] Liquid Bandage; e similar ao Band-Aid[®] Liquid Bandage. Além disso, podemos concluir que as matrizes híbridas orgânica-inorgânicas quando comparadas aos produtos comerciais afetam em menor proporção a barreira protetora da pele (estrato córneo), visto que apresentam menor poder irritante como mostra a Figura 60. Este dado é muito importante para uma formulação à qual pretende-se utilizar na pele em um regime de tratamento contínuo.



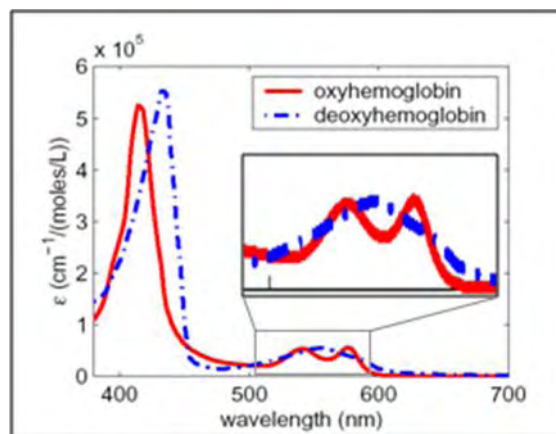
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 59. (a) Leitura basal. (b) Leitura após remoção do produto. (c) Espectros de diferentes proporções de HbO₂ e Hb. Com o aumento da proporção de HbO₂ tem-se a diminuição na absorbância em 560nm. (d) Espectros característicos da oxihemoglobina (HbO₂) e deoxihemoglobina (Hb).

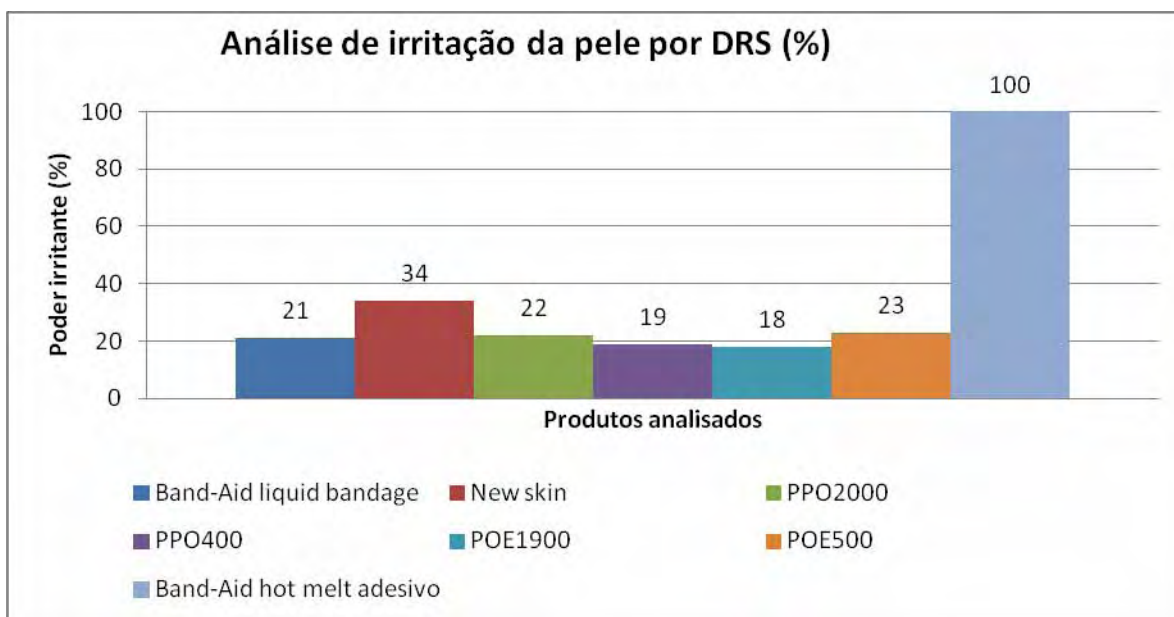


Figura 60. Análise de irritação da pele por DRS após uso das matrizes híbridas orgânica-inorgânica POP2000, POP400, POE1900 e POE500; além de produtos comerciais: Band-Aid Liquid Bandage, New Skin Liquid Bandage e Band-Aid adesivo curativo.

6.6 Ensaios de citotoxicidade “*in vitro*”

As matrizes híbridas orgânica-inorgânicas foram colocadas em meio de crescimento de células de fibroblastos humanos (MRC5-V) para avaliar seu potencial citotóxico e após teste descrito na metodologia 5.3.7, foi medida a porcentagem de viabilidade celular. Estes valores de porcentagem de viabilidade celular são mostrados na Figura 61, comparando-se os valores podemos observar que as amostras apresentam baixa citotoxicidade quando comparadas ao controle negativo. Como controle negativo foi utilizado meio de cultura DMEM acrescido de soro fetal bovino (FBS), que é o meio utilizado para as células crescerem normalmente. Como controle positivo, ou seja, um meio onde altere a viabilidade celular, foi utilizada a doxorubicina, antineoplásico cuja toxicidade é bastante alta e é utilizado comumente como controle para comparação do grau de citotoxicidade. O ensaio de citotoxicidade foi realizado em triplicata.

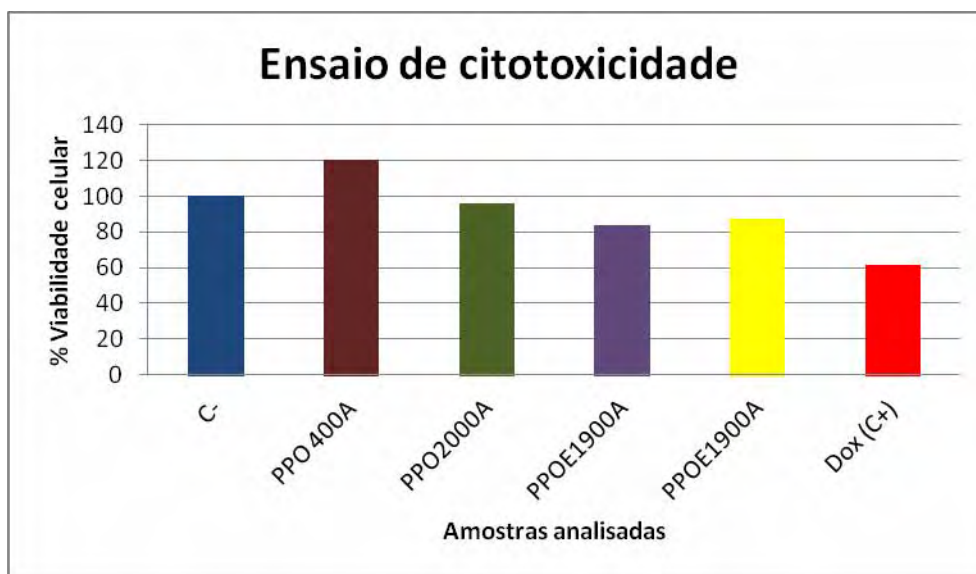


Figura 61. Ensaio de citotoxicidade em linhagem de Fibroblastos humanos (MRC5-V).

VII CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi possível observar que as matrizes híbridas orgânico-inorgânicas apresentaram propriedades interessantes que potencializam seu uso em diversas aplicações.

Nos testes para determinar o tempo de gel por método visual ou reológico os híbridos se mostraram capazes de formar filmes finos e transparentes em tempo menor que 5 minutos, propriedades estas descritas na literatura como requisitos para um bom formador de filme.

Nos testes mecânicos os híbridos mostraram bons resultados de força de tração e alongação de ruptura. Além disso, estas propriedades podem ser melhoradas pela combinação de polímeros de diferentes naturezas químicas (POE e POP).

Nos testes de adesão os híbridos mostraram adesividade superior às de produtos comerciais formadores de filme. Se mostraram também superiores em adesividade inclusive à adesivos acrílicos posicionados no mercados como ultrasistente.

Associando-se os valores obtidos de permeabilidade ao vapor de água e a espessura dos filmes formados, pode-se propor que o material apresenta propriedades semi-oclusivas, pois deixam parte do vapor de água permear e retém parte desta umidade que irá hidratar o estrato córneo. Estes resultados aliados ao fato de que em estudos anteriores do grupo de pesquisa foi mostrado que a liberação de fármacos incorporados nas matrizes em questão se dá por intumescimento devido à hidratação, este fluxo de água através do filme pode favorecer a liberação dos fármacos incorporados. No teste de potencial irritante por espectroscopia de reflectância difusa pode-se observar que as matrizes híbridas orgânica-inorgânicas quando comparadas aos produtos comerciais afetam em menor proporção a barreira protetora da pele (estrato córneo), visto que apresentaram menor potencial irritante. Além disso, apresentam baixa

citotoxicidade em teste com fibroblastos humanos. O conjunto de resultados apresentado neste trabalho mostra o potencial das matrizes híbridas orgânico-inorgânicas para aplicação em formadores de filme para uso no tratamento de feridas, devido à sua capacidade absorção de água (ou exsudato) e hidratação do estrato córneo favorecendo a cicatrização por via úmida e também como potenciais sistemas de liberação controlada de fármacos^[1], recomenda-se pesquisa complementar para desenvolver estas aplicações.

VIII CONCLUSÕES

Com as análises realizadas neste trabalho envolvendo principalmente a caracterização mecânica, reológica, permeabilidade ao vapor de água e de bioadesão das matrizes híbridas orgânico-inorgânicas concluímos que elas atendem aos requisitos para sua aplicação na forma de soluções poliméricas formadoras de filme, apresentando-se em muito aspectos superiores a sistemas similares já existentes no mercado. Além disso, os resultados promissores deste trabalho recomenda a continuação deste trabalho para futuramente desenvolver este material como uma nova plataforma de tecnologia para liberação controlada de fármacos como ataduras oclusivas ou como sistemas transdérmicos.

IX REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Santilli, C. V., Chiavacci, L. A., Lopes, L., Pulcinelli, S. H., Oliveira, A. G. Controlled Drug Release from Ureasil-Polyether Hybrid Materials. *Chemistry of Materials*, v.21, p.463 - 467, 2009.
- [2] Nori A., Kopecek J. Intracellular targeting of polymer-bound drugs for cancer chemotherapy; *Adv. Drug Deliv. Rev.* v.57 (4) p.609-636, 2005.
- [3] Ning W., Wang L.S., Tan D. C.W., Moochala S.M., Yang, Y.Y. Mathematical modeling and in vitro study of controlled drug release via a highly swellable and dissoluble polymer matrix: polyethylene oxide with high molecular weights; *J. Control. Rel.* v.102, p.569-581, 2005.
- [4] Sujja-Areevath J., Munday D.L., Cox P.J., Khan K.A. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations; *Eur. J. Pharm. Sci.* v.6, p.207-217, 1998.
- [5] Kataoka, K.; Kabanov, A.V. Special Issue: Polymeric Micelles in Biology and Pharmaceutics, *Colloids and Surfaces, B: Bio-interfaces*, Elsevier, Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Tokyo, 1999.
- [6] Schmolka, I.R. Poloxamers in the pharmaceutical industry In: Tarcha, P.J. (Eds.), *Pol. Control. Drug Deliv.* p. 189–214, 1991.
- [7] Kabanov, A.V.; Alakhov, V.Y. Pluronic block copolymers in drug delivery: from micellar nanocontainers to biological response modifiers; *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* v.19 (1) p.1 –73, 2002.
- [8] Kyung, T.; Bronich, T.K.; Kabanov, A.V. Micellar formulations for drug delivery based on mixtures of hydrophobic and hydrophilic PluronicR block copolymers; *J. Control. Rel.* v.94, p. 411– 422, 2002.

- [9] Chiang Chin-Lung, Ma Chen-Chi.; Synthesis, characterization and thermal properties of novel epoxy containing silicon and phosphorus nanocomposites by sol –gel method. J. Eur. Polym v.38, p.2219-2224, 2002.
- [10] Sanchez C., Julián B., Belleville P., Popall M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites; J. Mater. Chem. v.15, p.3559-3592, 2005.
- [11] Rekondo, A.; Fernandez-Berridi, M.; Irusta, L. Photooxidation and stabilization of silanised poly(ether-urethane) hybrid systems. J. Eur. Pol., v. 42, n. 9, p. 2069-2080, 2006.
- [12] Judeinstein P., Brik M.E., Bayle J.P., Courtieu J., Rault J.. Mobility Range in Hybrid Materials; M. R. S. Proc. P.346-937, 1994.
- [13] Ansel, H. C., Popovich N. G., Allen, L. V. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed. Artmed.
- [14] Eaglstein, W. H. Dermatologic Surgery: 2001; 27; 175-181. Moist Wound Healing with Occlusive Dressings: A Clinical Foccus. 27:2 February 2001.
- [15] Aulton, M.E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ªed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.
- [16] Chien, W.Y. Novel drug delivery systems, 2ª edi. M. Dekker. New York, 1992.
- [17] Bouwstra, J.A.; Honeywell-Nguyen, P. L.; Gooris, G. S.; Poncet, M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. Progress in lipid research, v. 42, p.1-36, 2003.
- [18] Kanitaks, J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. European Journal of Dermatology, v.12, n.4, p. 390-401, 2002.
- [19]. Prost-Squarcioni, C. Histology of skin and hair follicle. Medical Science, v. 22, n.2, p. 131-137, 2006.

- [20] Wysocki, A. B. Skin anatomy, physiology and pathophysiology. The Nursing Clinics of North America, v.34, n. 4, p 777-797, 1999.
- [21] Hoat, S. B.; Leahy, D. G. The organization of human epidermis, functional epidermal units and phi proportionality. Human Epidermis organization, v. 121, n. 6, p. 1440 – 1446, 2003.
- [22] Meidan, V. M.; Bonner, M. C.; Michiniak, B.B. Transfollicular drug delivery – is it a reality? International Journal of Pharmaceutics, v. 306, p. 1-14, 2005.
- [23] blog.educacional.com.br/eltonbio/
- [24] Udeala O.K., Aly S.A.S., Degradation Kinetics of Thiamine Hydrochloride in Directly Compressed Tablets III. Water Vapour Transmission Through Free and Applied Eudragit Films., Drug Dev. Ind. Pharm., 15 (11), 1797-1825, 1989.
- [25] Davis S.S., Illum L., Polymeric Microspheres as Drug Carriers., Biomaterials, 9 (1), 111-115, 1988.
- [26] Douglas S.J., Davis S.S., Illum L., Nanoparticles in Drug Delivery., CRC Critical Review Ther. Drug Carr. Syst., 3 (3), 233-261, 1987.
- [27] Oppenheim R.C., Solid Colloidal Drug Delivery Systems: Nanoparticles., Int. J. Pharm., 8, 217-234, 1981.
- [28] Lehmann K.O.R., Bossler H.M., Dreher D.K., Controlled Drug Release From Small Particles Encapsulated with Acrylic Resin., Niol Macromol. Monogr., 5, Polym. Delivery Systems, 111-119, 1979.
- [29] Fites A.L., Banker G.S., Smolen V.F., Controlled Drug Release Through Polymeric Films., J. Pharm. Sci., 59 (5), 610-613, 1970.
- [30] Muhammad N.A. Boisvert W., Harris M.R., Weiss J., Modifying the Release Properties of Eudragit L30D., Drug Dev. & Ind. Pharm., 17 (18), 2497-2509, 1991.

- [31] Samuelov Y., Donbrow M., Friedman M., Sustained Release of Drugs From Ethylcellulose-Polyethylene Glycol Films and Kinetics of Drug Release., J. Pharm. Sci., 68 (3), 325-329, 1979.
- [32] Zentner G.M., Rork G.S., Himmelstein K.J., Osmotic Flow Through Controlled Porosity Films: An Approach to Delivery of Water Soluble Compounds., J. Controlled Release, 2, 217-229, 1985.
- [33] Chafi N., Montheard J.P., Vergnaud J.M., Dosage Form with Drug Attached to Polymer (Polyanhydride) Dispersed in a Eudragit Matrix: Preparation and Release of Drug in Gastric Liquid., Int. J. Pharm., 45 (3), 229-236, 1988.
- [34] Chafi N., Kolli M., Vergnaud J.M., Montheard J.P., Amines Release from Schiff Bases Polymers and Diffusion from Dosage Forms with Eudragit RL in Acidic Medium. J. Appl. Polym. Sci., 43 (10), 1837-1847, 1991.
- [35] Chafi N., Montheard J.P., Vergnaud J.M., Release of 2-Aminothiazole from Polymeric Carriers., Int. J. Pharm., 67 (3), 265-274, 1992.
- [36] Duncan R., Kopacek J., Soluble Synthetic Polymers as Potential Drug Carriers., Adv. Polym. Sci., 57, 51-101, 1984.
- [37] Scholsky K.M., Fitch R.M., Controlled Release of Pendant Bioactive Materials from Acrylic Polymer Colloids., J. Controlled Release, 3, 87-108, 1986.
- Theeuwes F., Elementary Osmotic Pump., J. Pharm. Sci., 64 (12), 1987-1991, 1975.
- [38] Peppas, N. A.; Hilt, J. Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. Adv. Mater. 2006, 18, 1345–1360.
- [39] Uhrich, K. E.; Cannizzaro, S. M.; Langer, R. S.; Shakesheff, K. M. Chem. Rev. 1999, 99, 3181–3198.
- [40] Jeong, B.; Bae, Y. H.; Doo Sung Lee, D. S.; Kim, S. W. Nature 1997, 388, 860–862.

- [41] Kabanov, A. V.; Batrakova, E.V.; Alakhov, V. Y. *J. Controlled Release* 2002, 82, 189–212.
- [42] Bromberg, L.; Temchenko, M.; Alakhov, V.; Hatton, T. A. *Int. J. Pharm.* 2004, 282, 45–60.
- [43] Kim, S. W.; Bae, Y. H.; Okano, T. *Pharm. Res.* 1992, 9, 283–290.
- [44] Haraguchi, K.; Takehisa, T. *AdV. Mater.* 2002, 14, 1120–1123.
- [45] Shekunov, B. Y.; Chattopadhyay, P.; Tong, H. H. Y.; Chow, A. H. L.; Grossmann, J. G. J. *Pharm. Sci.* 2007, 96, 1320–1331.
- [46] Abd El-Rehim, H. A.; Hegazy, E. A.; Abd El-Mohdy, H. L. *Polym. AdV. Technol.* 2004, 15, 544–550.
- [47] Peppas, N.A., Buri, P.A. Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissue. *Journal of controlled release* 2:257-275, 1985.
- [48] Duchêne, D., Touchard, F., Peppas, N.A. Pharmaceutical and medical aspects of the bioadhesive systems for drug administration. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 14 (2&3):283-318,1998.
- [49] Ponchel, G., Duchêne, D. Development of a bioadhesive tablet. In: M. Szycher, ed. *High Performance Biomaterials*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, 1991, pp231-242.
- [50] Donkerwolcke, M., Burny, F., Muster, D. Tissues and bone adhesives – historical aspects, *Biomaterials* 19 (1998) 1461–1466.
- [51] Hall, L.T., Bailes, J.E. Using Dermabond for wound closure in lumbar and cervical neurosurgical procedures, *Neurosurgery* 56 (2005) 147– 150.
- [52] Ritterband, D.C., Meskin, S.W., Shapiro, D.E., Kusmierczyk, J., Seedor, J.A., Koplin, R.S., Laboratory model of tissue adhesive (2-octylcyanoacrylate) in sealing clear corneal cataract wounds, *Am. J. Ophthalmol.* 140 (2005) 1039–1043.
- [53] Jeng, D.K. A new, water-resistant, film-forming, 30-second, one-step application iodophor preoperative skin preparation, *Am. J. Infect. Control* 29 (2001) 370–376.

- [54] Foroutan, S.M., Ettehadi, H.A., Torabi, H.R. Formulation and in vitro evaluation of silver sulfadiazine spray, *Iran. J. Pharm. Res.* 1 (2002) 47–49.
- [55] Eaglstein, W.H., Sullivan, T.P., Giordano, P.A., Miskin, B.M. A liquid adhesive bandage for the treatment of minor cuts and abrasions, *Dermatol. Surg.* 28 (2002) 263–267.
- [56] Campbell, K., Woodbury, M.G., Whittle, H., Labate, T. A. Hoskin, A clinical evaluation of 3M No Sting Barrier Film, *Ostomy Wound Manage.* 46 (2000) 24–30.
- [57] Misra, A., Raghuvanshi, R.S., Ganga, S., Diwan, M., Talwar, G.P., Singh, O. Formulation of a transdermal system for biphasic delivery of testosterone, *J. Control. Release* 39 (1996) 1–7.
- [58] Misra, A., Pal R., Majumdar, S.S., Talwar, G.P., Singh, O. Biphasic testosterone delivery profile observed with two different transdermal formulations, *Pharm. Res.* 14 (1997) 1264–1268.
- [59] An, N.M., Kim, D.D., Shin, Y.H., Lee, C.H. Development of a novel soft hydrogel for the transdermal delivery of testosterone, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29 (2003) 99–105.
- [60] Maffei, P., Sforzini, A., Lombardi Borgia, S., Ronchi, C., Festo, N., Ceschel, G.C. Design and evaluation of a new transdermal formulation containing Estradiol, *Pharm. Ind.* 65 (2003) 1279–1282.
- [61] Bryan, H.A., Alster, T.S. The S-Caine Peel: a novel topical anesthetic for cutaneous laser surgery, *Dermatol. Surg.* 28 (2002) 999–1003.
- [62] American Society for Testing and Materials, D 882-02 Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, P.O. Box C700, West Conshohocken, USA, 2002.
- [63] Water-vapor Permeability, in: *British Pharmacopoeia*, 1993, Appendix XXJ.

- [64] Schroeder, I. Z., Franke, P., Schaefer, U. F., Lehr, C. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65 (2007) 111–121.
- [65] Bretas, R., D'Ávila, M. A. . Reologia de polímeros fundidos. 2a. edição. Editora: Edufscar. São Carlos, 2005.
- [66] Brunton, L. L., Lazo, J. S., Parker, K. L. Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica. Ed. 11, 2006. ISBN 8577260011.
- [67] USP Pharmacopeia USP 32–NF 27, 2010.
- [68] Chiavacci, L. A., Pulcinelli, S. H., Santilli, C. V. Structural and Phenomenological Characterization of the Thermoreversible Sol-Gel Transition of a Zirconyl Aqueous Precursor Modified by Sulfuric Acid. *Chemical of Materials*, 1998, 10 (4), 986 – 993.
- [69] Thirawong, N.; Nunthanid, J.; Puttipatkhachorn, S.; Sriamornasak, P. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An *in vitro* evaluation using the texture analyzer. *European journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 67 (2007) 132-140.
- [70] Schramm, G.; Reologia e Reometria. Fundamentos Teóricos e Práticos. São Paulo: Artliber, 2006, 232p.
- [71] Treffel, P., Muret P., Muret-D'Aniello, P., Coumes-Marquet, S., Agache, P. Effect of occlusion on in vitro percutaneous absorption of two compounds with different physicochemical properties, *Skin Pharmacol.* 5 (1992) 108–113.
- [72] Qiao, G.L., Chang, S.K., Riviere, J.E. Effects of anatomical site and occlusion on the percutaneous absorption and residue pattern of 2, 6-(ring-14C)Parathion in vivo in pigs, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 122(1993) 131–138.

- [73] Hotchkiss, S.A., Miller, J.M., Caldwell, J. Percutaneous absorption of benzyl acetate through rat skin in vitro. 2. Effect of vehicle and occlusion, Food Chem. Toxicol. 30 (1992) 145–153.
- [74] Zhai, H., Maibach, H. Effects on skin occlusion on percutaneous absorption: an overview, Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol. 14(2001) 1–10.
- [75] William Hart. Patent US 2006/0269591 A1. Data de publicação 30, Novembro, 2006.
- [76] Mündlein, M., Valentin, B., Chabicovsky, R., Nicolics, J., Weremczuk J., Tarapata, G., Jachowicz, R. Transepidermal water loss (TEWL) measurements with two novel sensors based on different sensing principles. Special Issue: Eurosenors XX the 20th European conference on Solid-State Transducers - Eurosenors 2006, Eurosenors 20th Edition, Volume 142, Issue 1, 10 March 2008, Pages 67-72.
- [77] van der Valk, P.G.M., Kucharekova, M., Tupker, R.A. Transepidermal water loss and its relation to barrier function and skin irritation, Chapter 8 in Bioengineering of the Skin. Water and the Stratum Corneum, edited by J. Fluhr, P. Elsner, E. Berardesca, H.I. Maibach, Second edition, CRC Press, Boca Raton, 2005, pp. 97-104.
- [78] Rogiers, V., Houben, E., De Paepe, K. Transepidermal Water Loss Measurements in Dermato-Cosmetic Sciences , Chapter 5 in Bioengineering of the Skin. Water and the Stratum Corneum, second edition, edited by J. Fluhr, P. Elsner, E. Berardesca, H.I. Maibach, Second edition, CRC Press, Boca Raton, 2005, pp. 63-76.

Araraquara, 16 de setembro 2010.

Orientada: Leiliane Kelline de Souza

Orientadora: Leila Aparecida Chiavacci