

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE
FACULDADE DE CEILÂNDIA

**ESTUDO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS SILOXANO-
POLIÉTER COMO DISPOSITIVOS DE LIBERAÇÃO
MODIFICADA DE PRINCÍPIOS ATIVOS**

MAC-KEDSON MEDEIROS SALVIANO SANTOS

ORIENTADOR: DR. JULIANO ALEXANDRE CHAKER

BRASÍLIA-DF

2015

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE
FACULDADE DE CEILÂNDIA

**ESTUDO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS SILOXANO-
POLIÉTER COMO DISPOSITIVOS DE LIBERAÇÃO
MODIFICADA DE PRINCÍPIOS ATIVOS**

MAC-KEDSON MEDEIROS SALVIANO SANTOS

Dissertação apresentada à Faculdade da Ceilândia da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologias em Saúde.

ORIENTADOR: DR. JULIANO ALEXANDRE CHAKER

BRASÍLIA-DF

2015

MEMBROS DA BANCA

A presente dissertação, intitulada “Estudo de nanocompósitos poliméricos siloxano-poliéter como dispositivos de liberação modificada de princípios ativos”, com autoria de Mac-Kedson Medeiros Salviano Santos, foi apresentada no dia 22 de abril de 2015 como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia em Saúde.

Aprovado por:

Prof. Dr. Juliano Alexandre Chaker. (presidente)
Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde

Prof. Dra. Leila Aparecida Chiavacci
UNESP – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” de Araraquara
Avaliador Externo

Prof. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto
Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília
Avaliador Interno

Prof. Dr. Marcelo Henrique Sousa
Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologias em Saúde
Avaliador Suplente

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente a minha família, ao meu pai José Antônio dos Santos e minha mãe Izanilde Medeiros Salviano dos Santos que mostraram o que é certo e pela total compreensão e dedicação e todo o apoio positivo direcionado para o término deste trabalho.

Ao meu irmão Mac-Swell M. S. Santos pelo auxílio com alguns dos softwares usados para confecções de figuras e gráficos deste trabalho.

Ao Professor amigo e orientador Dr^o. Juliano Alexandre Chaker, por sua dedicação, disposição, riqueza de conhecimentos transmitidos, companheirismo e todo seu apoio para que mais uma etapa acadêmica fosse trilhada buscando sempre adquirir experiência e conhecimento.

Ao Professor e amigo Dr^o Marcelo Henrique Sousa por sua riqueza de conhecimentos transmitidos para execução desta etapa acadêmica.

Aos grandes colegas do grupo de pesquisa do professor Juliano A. Chaker e Marcelo H. Sousa, por todos os momentos de contribuição mútua.

A Prof.^a Graziella Anselmo Joanitti pela disposição e parceria para efetuar as análises toxicológicas.

Ao grupo de pesquisa do Professor Guilherme Gelfuso (LTMAC) que auxiliaram na elaboração do método de ensaios de permeação, em especial a doutoranda Thaiene que se dispôs a auxiliar na realização dos ensaios.

A minha companheira, amiga e incrível namorada pelo apoio e compreensão em todas as etapas complicadas que tive que enfrentar nesse longo caminho.

Aos demais amigos que proporcionaram para que esta etapa acadêmica se desse da melhor forma possível.

A CAPES pelo apoio financeiro através da bolsa de Mestrado que me foi contemplada.

Dedicatória

*Dedico este trabalho a todos que fizeram
as impossibilidades serem possíveis.*

*Aos amigos, familiares.
E a minha maravilhosa namorada.*

Epígrafe

*“That is not dead
which can eternal lie,
And with strange aeons
even death may die!” (H.P. Lovecraft)*

SUMÁRIO

RESUMO	16
ABSTRACT	17
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Polímeros	19
1.1.1 Hidrogéis.....	20
1.1.2 Nanocompósitos Poliméricos Híbridos	21
1.2. Processo Sol-Gel.....	24
1.3. Fármaco de escolha.....	25
1.4. Piroxicam e Farmacologia dos AINEs	26
1.5. Via de administração transdérmica.....	28
1.6. Liberação Modificada	29
1.6.1 Modelo de Higuchi	31
1.6.2 Modelo de Korsmeyer-Peppas e Ritger-Peppas	32
1.6.3 Modelo de Gallagher-Corrigan.....	33
2. OBJETIVOS	34
CAPÍTULO II	
3. METODOLOGIA	37
3.1. Preparo das matrizes nanocompósitas de liberação	37
3.1.1 Preparação do precursor híbrido Siloxano-Poliéter 4000 (SP).....	37
3.1.2 Obtenção do anti-inflamatório Piroxicam.....	38
3.1.3 Preparo das soluções dos hidrogéis	38
3.1.3.1 Solução de Bis-Acrilamida	39
3.1.3.2 Solução de hidroxipropilmetilcelulose	39
3.1.3.3 Solução de Poli(Ácido Acrílico).....	39
3.1.3.4 Solução de Poli(acrilamida –co-ácido Acrílico).....	39
3.1.3.5 Solução de Polivinilpirrolidona	39
3.1.4 Preparo das matrizes nanocompósitas contendo o Piroxicam	40
3.1.4.1 SP-BIS	40
3.1.4.2 SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP	40
3.2. Caracterização das amostras	41

3.2.1 Caracterização molecular.....	41
3.2.2 Caracterização por difração de raios X.....	41
3.2.3 Caracterização nanoestrutural.....	42
3.3. Ensaio de Liberação.....	44
3.4. Ensaio preliminar de permeação.....	44
3.4.1 Preparo das amostras.....	44
3.4.2 Método analítico.....	45
3.4.3 Retenção cutânea.....	45
3.4.4 Teste de recuperação.....	45
3.5. Ensaio toxicológico.....	46
CAPÍTULO III	
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	48
4.1. Caracterização molecular.....	48
4.2. Caracterização por difração de raios X.....	50
4.3. Caracterização nanoestrutural.....	54
4.4. Ensaio de liberação.....	60
4.5. Ensaio de permeação transdérmica <i>in vitro</i>	69
4.6. Ensaio toxicológico.....	72
CAPÍTULO IV	
5. CONCLUSÃO.....	75
6. REFERÊNCIAS.....	77
APÊNDICE.....	84
1. Espectroscopia infravermelha.....	84
2. Difratomia de raios X.....	87
3. Espalhamento de raios X à baixo ângulo.....	89
3.1 Fractal de massa.....	91
ANEXO.....	93

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ATR	Reflectância Total Atenuada
BIS-Acm	Bis-Acrilamida
CMC	Carboximetilcelulose
COX-1	Cicloxygenase-1
COX-2	Cicloxygenase-2
DLCA	Agregação de cluster limitada pela difusão
DRX	Difratometria de Raio-X
Ds	Distância de Correlação
FTIR	Infravermelho Transformada de Furier
HEC	Hidroxietilcelulose
HPC	Hidroxipropilcelulose
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta eficiência
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IPN	Rede Polimérica de Interpenetração
IsoTrEOS	3-Isocianatotrietoxisilano
Lc	Limite de Correlação
LNLS	Laboratório Nacional de Luz Sncrontron
PAA	Poli cido Acrílico
PAM-co-AA	Poli(Acrilamida-co-cido Acrílico)
PEO	Poli(Etileno xido)
PPO	Poli(Propileno xido)
PRX	Piroxicam
PVP	Polivinilpirrolidona
Qmx	Altura máxima do Pico de Correlação
SAXS	Espalhamento de raio-x é baixo ângulo
SIL-PPO	Siloxano-Poli(Propileno xido)
SP	Siloxano-Poliéter
THF	Tetrahidrofurano
UV-Vis	Ultravioleta Visível
W ^{1/2}	Largura à meia altura

LISTA DE FIGURAS

Figura I.01.	Estrutura química do HPMC em cadeia de gel.....	20
Figura I.02.	Esquema de um polímero reticulável (a) seco (b) intumescido.....	21
Figura I.03.	Rede de interpenetração de polímeros. (a) Semi-IPN (b) IPN.	23
Figura I.04.	Esquema ilustrativo do processo sol-gel.....	24
Figura I.05.	Fórmula estrutural do Piroxicam.	26
Figura I.06.	Organograma do mecanismo básico de ação de alguns AINEs.....	27
Figura I.07.	Esquema anatômico da pele humana. Estrato córneo; epiderme, derme e hipoderme	28
Figura I.08.	Mecanismos de dissolução. (1) Meio de dissolução. Entrada de moléculas do meio de dissolução no dispositivos (←→). Saída das moléculas do princípio ativo (←→).....	30
Figura II.01.	Fórmula estrutural dos polímeros hidrogéis utilizados: Polivinilpirrolidona; Poli Acrilamida-co-Ácido Acrílico; Bis-Acrilamida; Poli Ácido Acrílico e Hidroxipropilmetilcelulose	38
Figura II.02.	Curva de espalhamento de raio-x à baixo ângulo mostrando três regiões: (I)Ajuste linear Porod (II)Ajuste da Dimensão fractal e (III)Pico de correlação.....	42
Figura II.03.	Esquema do Fit do pico de correlação utilizando a Equação 02, Psd. Voigt2 no programa no Origin Pro 7.0	43
Figura II.04.	Representação da distribuição dos objetos espalhadores na matriz ..	44
Figura III.01.	Espectro infravermelho do piroxicam com suas respectivas atribuições das vibrações moleculares e sua fórmula estrutural.	48
Figura III.02.	Representação ilustrativa das fases polimórficas do piroxicam, I e II, Cúbica e Agulha, respectivamente	49
Figura III.03.	Espectro infravermelho comparativo entre as amostras PPO, SP, PRX e: (a) SP-BIS e BIS; (b) SP-HPMC e HPMC; (c) SP-PAA e PAA; (d) SP-PAM e PAM; (e) SP-PVP e PVP.....	50
Figura III.04.	Difratograma de raios X do piroxicam.....	51
Figura III.05.	Difratograma da amostra úmida de SP-PAM.....	52
Figura III.06.	Difratograma das amostras secas de (a) SP-BIS; (b) SP-PAA; (c) SP-PAM; (d) SP-PVP e (e) SP-HPMC	53

Figura III.07.	Curva experimental de espalhamento de raios X à baixo ângulo da amostra SP com seus respectivos ajustes	54
Figura III.08.	Curvas experimentais de espelhamento de raios X das amostras de SP-PVP.....	56
Figura III.09.	Curvas experimentais de espelhamento de raios X das amostras de SP-PAM	56
Figura III.10.	Curvas experimentais de espelhamento de raios X das amostras de SP-BIS	57
Figura III.11.	Correlação dos valores de raio de giro (R_g) e Dimensão fractal (d_f) e função da porcentagem da concentração de hidrogel.....	58
Figura III.12.	Valores de L_c e d_s das curvas de SP-PAM; SP-BIS e SP-PVP em função da porcentagem de hidrogel	59
Figura III.13.	Curvas de absorvância na região UV-Vis de soluções aquosas de piroxicam, e sua curva de calibração e respectiva equação de correlação de absorvância e concentração.....	60
Figura III.14.	Cinética de liberação e gráfico da absorvância do Piroxicam da amostra SP.....	61
Figura III.15.	Valores de liberação máxima em função da concentração de hidrogel	62
Figura III.16.	Ajuste linear da curva experimental da cinética de liberação da amostra SP em escala bi-logarítmica	65
Figura III.17.	Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-BIS sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.....	66
Figura III.18.	Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-HPMC sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.....	67
Figura III.19.	Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PAA sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.....	67
Figura III.20.	Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PAM sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.....	68

Figura III.21.	Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PVP sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.....	68
Figura III.22.	Cromatograma do piroxicam na faixa de 370nm e sua curva de calibração com equação da regressão linear correspondente..	70
Figura III.23.	Gráfico representativo do ensaio de liberação com os valores das áreas dos picos cromatográficos das alíquotas retiradas em função do tempo de permeação das amostras SP-PVP-5(a) e (b); PRX; SP-PAA-5 e SP..	71
Figura III.24.	Fotografia das amostras SP-PVP, SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP (a) sem Flash e (b) com Flash	73
Figura III.25.	Fotografia dos meios de cultura após a incubação de 48 horas	73

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Classificação estrutural de IPNs	23
Quadro 2.	Expoente de difusão e seus respectivos mecanismos de liberação do fármaco para diferentes sistemas de liberação controlada	32
Quadro 3.	Quantidade dos materiais na preparação das matrizes	41
Quadro 4.	Estruturas polimorfas do piroxicam em função do solvente extrator	51
Tabela 1.	Porcentagem dos valores das liberações de piroxicam em 48 horas	62
Tabela 2.	Expoente de difusão e mecanismo de liberação dos nanocompósitos produzidos	69
Tabela 3.	Recuperação do piroxicam em metanol.....	71
Tabela 4.	Taxa de piroxicam retido na epiderme e no estrato córneo e taxa de permeação	72

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 01.	Hidrólise do precursor	24
Equação 02.	Processo de condensação e polimerização Olação	25
Equação 03.	Processo de condensação e polimerização Oxolação	25
Equação 04.	Expressão do modelo de Higuchi para matriz uniforme	31
Equação 05.	Expressão do modelo de Higuchi para matriz porosa	31
Equação 06.	Expressão do modelo de Higuchi simplificado	32
Equação 07.	Expressão do modelo de Korsmeyer-Peppas.....	32
Equação 08.	Expressão do modelo de Gallagher-Corrigan.....	33
Equação 09.	Equação química da reação do precursor SP.....	37
Equação 10.	Modelo de Distância de Correlação (d_s).....	43
Equação 11.	Modelo de Limite de Correlação (Lc).....	43
Equação 12.	Expressão da fórmula de Exatidão	46
Equação 13.	Expressão logarítmica do modelo de Korsmeyer-Peppas	64

LISTA DE APÊNDICE I

DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS	84
1. Espectroscopia infravermelha.....	84
2. Cristalografia de raios X.....	87
3. Espalhamento de raio-X à baixo ângulo.....	89
3.1 Fractal de massa.....	91

LISTA DE ANEXO I

A. Espectro de Infravermelho de Bis-Acrilamida e sua fórmula estrutural	93
B. Espectro de Infravermelho de Hidroxipropilmetilcelulose e sua fórmula estrutural	93
C. Espectro de Infravermelho de Poli Ácido acrílico e sua fórmula estrutural	94
D. Espectro de Infravermelho de Poli(acrilamida-co-Ácido acrílico) e sua fórmula estrutural	94
E. Espectro de Infravermelho de Polivinilpirrolidona e sua fórmula estrutural	95

RESUMO

A associação de polímeros na criação de novos sistemas de liberação modificada é um meio crescente entre os desenvolvimentos de tecnologias em saúde. Os polímeros híbridos formados por siloxano-poliéter estão entre os mais usados e estudados recentemente. O interesse está associado a capacidade de formação de filme sobre a pele com elevada bioadesão, a possibilidade de incorporação de compostos ativos a fim de controlar sua taxa de liberação. O filme pode assumir funções bacteriostáticas, antipruriginosa, antálgica e propriedades curativas, dependendo do composto ativo utilizado na formulação. O estudo proposto neste trabalho envolve a obtenção de um nanocompósito preparado através da mistura de um polímero híbrido orgânico-inorgânico do tipo siloxano poliéter (SP), com 5 tipos de hidrogéis (Bis-Acrilamida, Hidroxipropilmetilcelulose, Poli Ácido Acrílico, Poli Acrilamida - co - Ácido Acrílico e Polivinilpirrolidona) em seis proporções distintas 25%, 15%, 5%, 2,5%, 1,5% e 5% em relação a massa total do nanocompósito. Para cada nanocompósito preparado foi incorporado 1% em massa do anti-inflamatório não esteroide Piroxicam. A estrutura molecular das amostras foi estudada por meio de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), analisando o ativo incorporado nas matrizes nanocompósitas. Através da técnica de difração de raios X (DRX) obteve o perfil cristalino dos nanocompósitos determinando para uma das amostras do trabalho um limite de solubilidade do Piroxicam. A análise nanoestrutural foi realizada por Espalhamento de Raio-X a baixo ângulo (SAXS), avaliando o perfil da cinética de agregação dos agregados de siloxano em três diferentes amostras estudadas. Os ensaios de liberação foram realizados para elucidar os mecanismos de transporte do ativo através dos nanocompósitos formulados, onde observou uma taxa de liberação modulada para cada tipo de hidrogel e suas respectivas proporções. Assim como apresentou uma faixa de liberação entre 1,88 à 8,46 %. A partir do ensaio de permeação *in situ* observou que a forma do nanocompósito altera o resultado final. De acordo com ensaio toxicológico determinou-se a influência do pH das amostras ao meio de cultura. Todos os resultados apresentados neste trabalho contribuem para aos estudos de novos sistemas de liberação de ativo.

Palavras-chave: Siloxano-poliéter, Filme polimérico, Piroxicam, hidrogel, Sol-gel, Liberação modificada, SAXS.

ABSTRACT

The polymer association in creating new modified release systems is a growing middle between the development of health technologies. The hybrid polymers formed by siloxane-polyether are among the most used and studied recently. The interest is associated with the film-forming capacity on the skin with high bioadhesion, the possibility of incorporation of active compounds in order to control its release rate. The film may take bacteriostatic functions, antipruritic, analgesic and healing properties, depending on the active compound used in the formulation. The studies proposed in this work involves obtaining a nanocomposite prepared by mixing a polymer hybrid organic-inorganic siloxane-polyether (SP) with 5 types of hydrogels (bis-acrylamide, hydroxypropylmethylcellulose, poly acrylic acid, poly acrylamide - co - Acrylic acid and polyvinylpyrrolidone) in six proportions 25%, 15%, 5% 2.5%, 1.5% and 5% (w/w) relative to the total weight of the nanocomposite. For each nanocomposite prepared was incorporated 1% by weight of non-steroidal anti-inflammatory Piroxicam. The molecular structure of the samples was studied by spectroscopy in the infrared (FTIR), analyzing the active incorporated in nanocomposite arrays. By X-ray diffraction method (XRD) profile of the obtained crystalline nanocomposites determining for a sample from a work solubility of Piroxicam. The nanostructural analysis was performed by scattering X-ray small angle (SAXS), evaluating the profile of aggregation of siloxane aggregates kinetics in three different samples. The release assays were performed to elucidate the active transport mechanisms through formulated nanocomposites, where he observed a modulated release rate for each type of hydrogel and their respective proportions. As presented a range of between 1.88 to 8.46 percent release. From the permeation test *in situ* noted that the form of the nanocomposite change the final result. According to toxicological testing we determined the influence of pH in the culture medium. All data will contribute to the studies of new active release systems.

Keyword: Siloxane-polyether, polymeric film, piroxicam, hydrogel, Sol-gel, Modified release, SAXS.

Capítulo I

Introdução

- Polímeros
- Processo Sol-Gel
- Fármaco de escolha
- Piroxicam e Farmacologia dos AINEs
- Via de administração transdérmica
- Liberação modificada

1. INTRODUÇÃO

Dispositivos de liberação modificada de fármacos, bandagens líquidas e sistemas poliméricos para manutenção de medidas profiláticas e curativas se fazem necessário quando os sistemas de liberação usuais não suprem as necessidades das enfermidades atuais ou até mesmo visam a redução de efeitos adversos causados pela toxicidade de alguns fármacos. A pesquisa e desenvolvimento de dispositivos nanocompósitos poliméricos são discutidos neste trabalho, de forma a contribuir para o avanço científico de novos sistemas de liberação de princípios ativos.

1.1. POLÍMEROS

Segundo alguns autores (ANDRADE *et al.*, 2001) polímeros são substâncias constituídas de moléculas caracterizadas pela repetição de uma ou mais espécies de átomos ou grupos de átomos (monômeros) ligados uns aos outros em quantidade suficiente para fornecer um conjunto de propriedades que não variam acentuadamente com a adição ou remoção de uma ou algumas unidades constitucionais de suas moléculas. Estes compostos poliméricos possuem características químicas, estruturais, elásticas e eletrostáticas distintas que lhe conferem funções específicas e diversas possibilidades de aplicações na área de materiais e principalmente na área aplicada a produtos farmacêuticos.

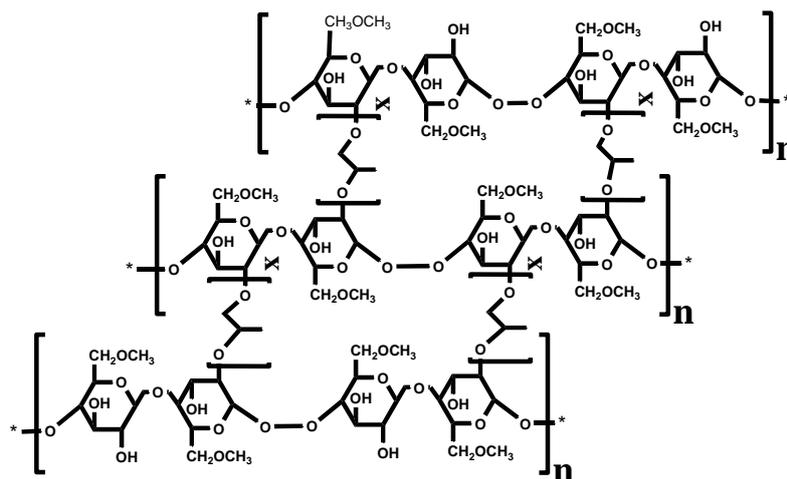
Na elaboração de dispositivos farmacêuticos os polímeros assumem um papel primordial atribuindo suas características distintas as funções dos produtos formulados. Os polímeros que possuem características de intumescimento/relaxamento de suas cadeias estruturais são ótimas escolhas para formulações contendo ativos hidrofílicos (SEO *et al.*, 2004; OZEROGLU *et al.*, 2009). Alguns outros polímeros possuem características de formação de filme, possibilitando assim a escolha destes para formulações tópicas (SCHROEDER *et al.*, 2007; STEWARD *et al.*, 2000). Em outros casos, polímeros com características elásticas (AGARWAL *et al.*, 2013) e condutoras (ATES *et al.*, 2012) contribuem para características de flexibilidade e condutividade do produto final. Todas essas funções são atribuídas aos produtos formulados no intuito de favorecer a maior gama de possibilidades para administração de ativos.

Além de polímeros puros usados como dispositivos de liberação modificada, estes também podem ser combinados com um ou mais polímeros, formando ligações através de reações de co-polimerização, dando assim origem a novos produtos com novas propriedades ou propriedades ampliadas das que as continham separadamente. A arquitetura destas combinações são importantes para definição de suas aplicações finais (QIU *et al.*, 2006), como a formação de ligações cruzadas, no qual o grau de reticulação pode alterar sua rigidez e flexibilidade, e modificar suas aplicações (DOMINGUES *et al.*, 2013). Estas propriedades de ligações cruzadas são observadas em alguns polímeros hidrofílicos denominados, hidrogéis.

1.1.1 Hidrogéis

Hidrogéis são polímeros estruturalmente formados por arranjos moleculares em um molde tridimensional contendo grupamentos químicos com alta afinidade por moléculas de água, como hidroxila (-OH), ácido carboxílico (-COOH) e demais grupamentos hidrofílicos (AHUJA *et al.*, 1997). Muitos destes arranjos poliméricos podem ser observados em derivados da celulose, como: Hidroxipropilmetilcelulose (HMPC), Hidroxietilcelulose (HEC), Hidroxipropilcelulose (HPC) e Carboximetilcelulose (CMC). Assim como ilustra a Figura I.01, que mostra a estrutura molecular para a HPMC em cadeia de gel.

Figura I.01 - Estrutura química do HPMC em cadeia de gel.

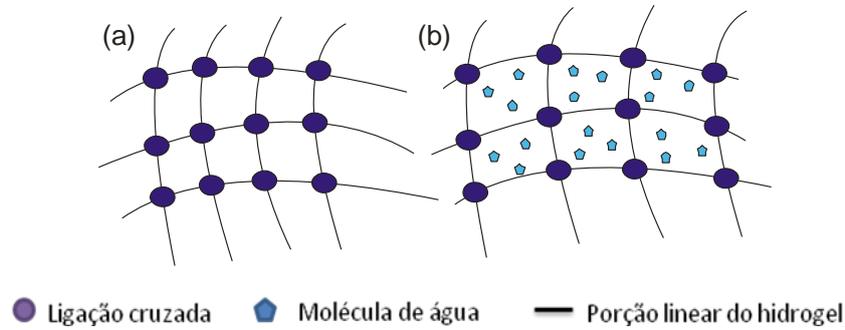


Fonte: Elaborada pelo Autor

Neste tipo de polímero, as redes poliméricas se distribuem em uma conformação definida, formando interstícios hidrofílicos entre as ligações cruzadas das cadeias, que

retêm as moléculas de água. A Figura I.02 a seguir mostra o esquema geral das ligações cruzadas em hidrogéis poliméricos na forma seca e intumescida.

Figura I.02 - Esquema de um polímero reticulável (a) seco (b) intumescido.



Fonte: Elaborada pelo autor

Alguns hidrogéis além de serem dotados de propriedades de intumescimento também conferem bioadesão e a capacidade de formar um filme polimérico quando aplicado sobre a pele. Esse fenômeno também é devido à seus grupamentos químicos que formam ligações ou interações intermoleculares com a camada superficial da pele (FELTON *et al.*, 1999).

Entre os diversos polímeros com propriedades de bioadesão são relatados na literatura o uso da Polivinilpirrolidona (PVP) associados a baixa toxicidade aplicados como dispositivos de liberação de fármacos (SEABRA *et al.*, 2004). Encontra-se também descritos polímeros derivados da celulose, como hidroxipropilmetilcelulose e e hidroxietilcelulose aplicados em formulações oftálmicas (EL-SOUSI *et al.*, 2007), com alto grau de intumescimento (ITOA *et al.*, 2007; TRITT-GOC *et al.*, 2005). São relatados também o Poli (Ácido Acrílico) e o Poli Acrilamida-co-Ácido Acrílico aplicados como filmes sobre a pele com elevada estabilidade química, flexibilidade e viscosidade (SEO *et al.*, 2004). Estas propriedades que os polímeros atribuem podem ser combinadas entre eles para obtenção de um material compósito.

1.1.2 Nanocompósitos Poliméricos Híbridos

Compósitos são materiais compostos por dois ou mais materiais que devem ser compatíveis quimicamente e terem propriedades mecânicas complementares. Sendo assim pode-se afirmar que os compósitos são multifásicos, onde as fases que os compõe devem ser quimicamente diferentes e devem ser separadas por uma interface distinta. As fases de um compósito são identificados como fase dispersa, que se encontra envolvida pela fase que dá estrutura, sendo esta última chamada de matriz. Para

compósitos de aplicação farmacêutica, os polímeros são os materiais utilizados com maior frequência como formadores de matriz. As propriedades do compósito são proporcionais a quantidade, tamanho, forma, distribuição e orientação das fases dispersas na matriz (CHAWLA, 1998). Quando o compósito é formado por componentes orgânicos e inorgânicos em uma escala nanométrica denomina-se este como, nanocompósito híbrido (JOSÉ et al., 2005).

Neste material observa-se um sinergismo das funções entre as fases orgânicas e inorgânicas. Enquanto a fase orgânica confere propriedades de flexibilidade, transparência e capacidade de intumescimento, a fase inorgânica confere estabilidade química, resistência mecânica e bioadesão (MOLINA *et al.*, 2013). Estas características levam ao desenvolvimento de um material multifuncional com propriedades diferenciadas e vasta aplicação, como observa-se na indústria automobilística (PARK *et al.*, 2008), e na indústria farmacêutica.

No ramo farmacêutico, as características mais observadas nos nanocompósitos são hidrofiliicidade/hidrofobicidade, interações intermoleculares entre o princípio ativo e a matriz, viscosidade e temperatura de transição vítrea (LOPES; LOBO; COSTA, 2005), que influenciam diretamente na produção de um dispositivo de liberação de princípios ativos.

Alguns trabalhos descrevem polímeros sintéticos híbridos a base de poli(propileno óxido)(PPO) e o poli(etileno óxido)(PEO) (HALL *et al.*, 1986; FISH *et al.*, 1986; SPINDLER *et al.*, 1988) com um alcóxido de silício modificado e outros descrevem estes materiais aplicados como dispositivos de liberação de ativos e/ou bandagens oclusivas (SOUZA et al., 2013). Estes nanocompósitos híbridos poliméricos do tipo siloxano-poliéter possuem domínios de siloxano que atuam como pontos de reticulação das cadeias poliméricas de poliéter e são capazes de formar uma rede tridimensional. Estes materiais apresentam propriedades diferenciadas como a capacidade de formação de filme na pele. Trabalhos recentes (SOUZA et al., 2013; MOLINA *et al.*, 2013) mostram a possibilidade de incorporação de ativos nestas matrizes de siloxano-poliéter, no entanto o PPO apresenta um caráter mais hidrofóbico em relação ao PEO, sendo a combinação destas propriedades bastante exploradas na produção destes dispositivos de liberação.

As ligações cruzadas formadas neste tipo de material também são consideradas para o desenvolvimento de um sistema de liberação e podem ser classificadas de acordo

com a suas características químicas ou estruturais de rede polimérica de interpenetração (IPN). Quimicamente são classificados como IPN-sequencial ou IPN-Simultâneo. Quando a rede polimérica é formada a partir da polimerização de um polímero e subsequentemente da polimerização do segundo polímero, este grupo de IPN é determinado como IPN-sequencial. No entanto quando as redes polimérica são polimerizadas simultaneamente e reticuladas através de iniciadores não interferentes, são chamadas de IPN-simultâneos (MISRA *et al.*, 2009). Quanto a classificação estrutural os IPNs podem se apresentar das formas variadas que estão contidas e definidas no Quadro 1 abaixo.

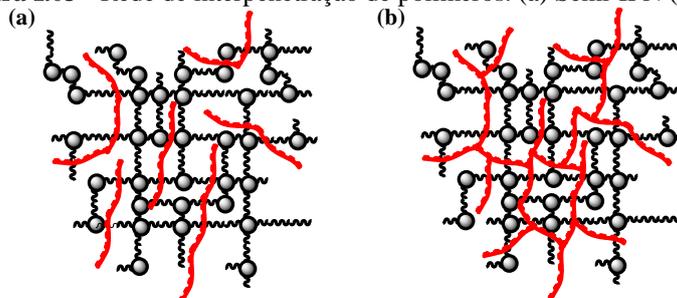
Quadro 1. Classificação estrutural de IPNs(Rede polimérica de interpenetração)

IPNs	Definição
IPN	Os dois polímeros são reticuláveis.
Semi-IPN	Um dos polímero é reticulável e outro é linear. Mistura obtida de forma sequencial.
Pseudo-IPN	Um dos polímeros é reticulável e outro é linear. Mistura obtida de forma simultânea.
Latex-IPN	É formada pela mistura de dois tipos de partículas de látex, seguido de formação de película e de reticulação de ambos os polímeros.
Termoplástico-IPN	Formado pela mistura de dois polímeros termoplásticos. Os polímeros podem conter ligações cruzadas físicas que surgem a partir de grupos iônicos, cristalinidade, ou domínios vítreos.
Millar-IPN	Mistura de dois polímeros quimicamente idênticos.

Fonte: Adaptado de MISRA *et al.*, 2009

A Figura I.03 mostra o esquema dos dois tipos mais usuais de redes poliméricas de interpenetração. Pode-se observar que na rede polimérica, representada por (a), há um polímero reticulável sendo interpenetrado por outro polímero linear na qual pode ser obtido quimicamente pelo modelo de IPN-sequencial. Na representação (b) observa-se a interpenetração do segundo polímero reticulado entre os interstícios do primeiro polímero também reticulável formando a rede polimérica de interpenetração clássica (IPN).

Figura I.03 - Rede de interpenetração de polímeros. (a) Semi-IPN (b) IPN

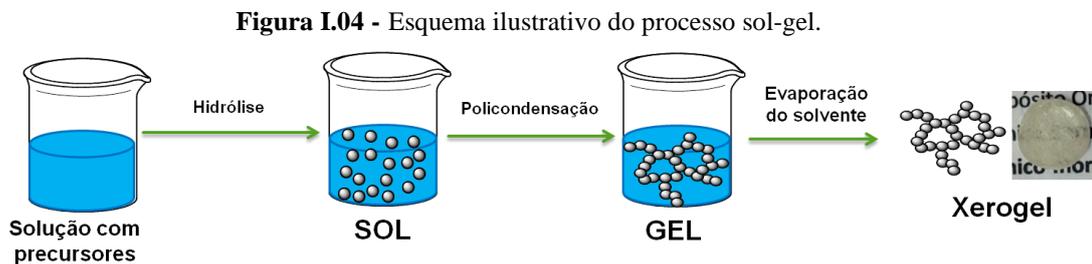


Fonte: Adaptada de MISRA *et al.*, 2009.

Um nanocompósito polimérico híbrido orgânico-inorgânico pode ser obtido através de diversas formas entretanto, o processo sol-gel é, geralmente, o mais utilizado para o preparo destes materiais. Segue-se abaixo o fundamentalismo teórico envolvido neste processo químico.

1.2 PROCESSO SOL-GEL

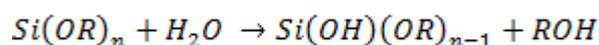
O processo sol-gel é um dos principais processos utilizados para obtenção de nanocompósitos poliméricos híbridos. O termo designado Sol envolve uma suspensão de partículas coloidais de dimensão entre 1 à 100 nm em um solvente. Já o termo gel envolve uma estrutura rígida de partículas coloidais ou cadeias poliméricas contendo água em seus interstícios (HIRATSUKA *et al*, 1995; JOSÉ *et al*, 2005). A transição sol-gel inicia-se com um sol e a partir do prosseguimento das reações de hidrólise e condensação evolui para formar um gel, com o solvente aprisionado em seus interstícios. O esquema apresentado na Figura I.04 mostra o processo sol-gel.



Fonte: Adaptada de BRINKER *et al.*, 1990.

No processo sol-gel utiliza-se frequentemente precursores orgânicos metálicos do tipo alcoóxidos, geralmente de silício, que podem ser modificados com cadeias orgânicas. As reações químicas envolvidas na formação do gel são divididas em duas etapas. Em uma primeira etapa os precursores organometálicos sofrem reação de hidrólise, que na sequência se interconectam por meio de reações de condensação. As equações químicas abaixo mostram o aspecto geral das reações envolvidas.

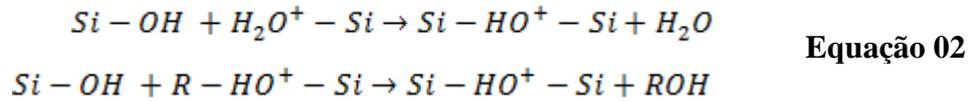
(a) Hidrólise do precursor silanol:



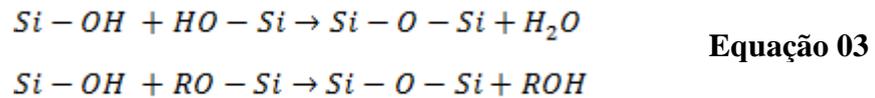
Equação 01

(b) Simultaneamente à hidrólise, ocorre o processo de condensação, por olação e oxolação, levando a condensação dos agregados e a formação do gel de siloxano:

Olação:



Oxolação:



As reações de condensação determinam a velocidade de formação do gel. Enquanto as reações de olação correspondem a uma reação de substituição nucleofílica, a reação de oxolação pode ocorrer via mecanismo de adição nucleofílica ou por substituição nucleofílica. Esta variação é dependente das esferas de coordenação do metal estar ou não saturada (BRINKER *et al*, 1990; HIRATSUKA *et al*, 1995).

Parâmetros como temperatura, tempo, concentração de catalisador, e concentração inicial de reagentes influenciam diretamente nas características do produto final. Por exemplo, um catalisador básico dá origem a um produto final com cadeias poliméricas ramificadas por favorecer o processo de hidrólise, enquanto um catalisador ácido dá origem a um produto final com cadeias poliméricas mais alongadas, por favorecer o processo de condensação (BRINKER *et al*, 1990; JOSÉ *et al*, 2005). A definição destes parâmetros de síntese são de extrema importância para a aplicação do produto final, seja um bio-sensor ou um sistema de liberação modificada de fármacos.

1.3 FÁRMACO DE ESCOLHA

Neste trabalho incorporou-se o fármaco Piroxicam nos nanocompósitos de siloxano-poliéter. A escolha deste fármaco se dá pelo pKa igual a 5,3 e quando incorporado, o ativo sofre baixa ionização, uma vez que os nanocompósitos possuem uma faixa de pH ácido. Outra justificativa é descrita através do seu valor de coeficiente de partição igual a 1,8, sendo ideal para liberação tópica. Como discutido na literatura, fármacos com valores de coeficiente de partição próximos a 2 têm grande eficiência na

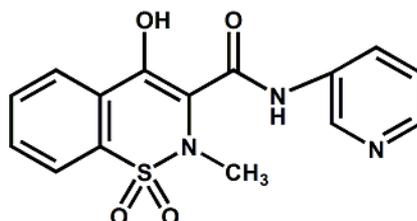
absorção tópica, parâmetro preponderante quando comparado a massa molecular e o pK_a (ABDULKARIM *et al.*, 2010).

A seguir são apresentados aspectos químicos e farmacológicos gerais para o piroxicam.

1.4 PIROXICAM E A FARMACOLOGIA DOS AINEs

Piroxicam ou 4-hidroxibenzotiazinacarboxamida dióxido é um anti-inflamatório não esteroideal (AINE) derivado dos ácidos enólicos (oxicams). Este fármaco é apresentado como um pó cristalino branco ou levemente amarelado, tendo seu ponto de fusão em 200°C. É praticamente insolúvel em água (23mg/L) (YALKOWSKY *et al.*, 1992), solúvel em cloreto de metileno, levemente solúvel em etanol absoluto e praticamente solúvel na maioria dos solventes orgânicos. A massa molecular do piroxicam é de 331,35 g/mol. Sua fórmula molecular é $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ e sua fórmula estrutural é mostrada na Figura I.06. Este fármaco possui um polimorfismo bem evidenciado, onde são observados dois arranjos cristalinos distintos, cúbico e na forma de agulha e podem ser obtidos de acordo com solventes utilizados em manipulações analíticas. Esta mudança ocorre pela formação de interações de hidrogênio inter e intramolecular (VREČER *et al.*, 2003).

Figura I.05 - Fórmula estrutural do Piroxicam



Fonte: Elaborada pelo Autor

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) em geral sempre foram objetos de estudos, tanto para elucidação de seus mecanismos (HIGGS, 1974) quanto para melhoria da farmacoterapia que os englobam (WYNNE; LONG, 1996).

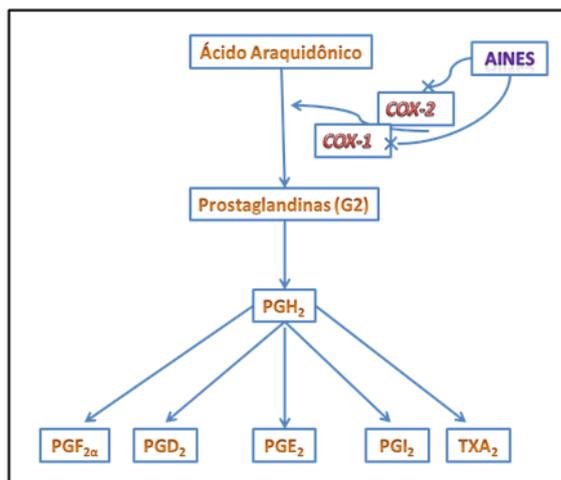
O mecanismo de ação dos AINEs está ligado as isoenzimas, Cicloxigenase - 1 (COX-1) (HEMLER, 1976) e Cicloxigenase -2 (COX-2) (LUONG, 1996), onde a COX-1 está relacionada às modulações de processos de regulação fisiológica, e a

enzima COX-2 está correlacionada com processos inflamatórios de resposta patológica (VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998).

Neste contexto, fármacos anti-inflamatórios como, diclofenaco, ibuprofeno, piroxicam entre outros, agem inibindo essas enzimas, não permitindo que elas convertam o ácido araquidônico em prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina entre outros eicosanoides que são mediadores inflamatórios (HERSCHMAN, 1996).

A classe dos oxicams agem com mais seletividade na inibição da síntese das prostaglandinas através da inibição reversível da enzima cicloxigenase 2 (COX-2) (LUONG, 1996), induzida em células inflamatórias ativadas causadoras dos efeitos de desregulação da homeostase (VANE; BAKHLE; BOTTING, 1998). Porém mesmo que apresente seletividade para inibição da COX-2 o ativo ainda exerce inibição da outra isoenzima, a cicloxigenase 1 (COX-1) (HEMLER, 1976). A Figura I.05 abaixo mostra um organograma ilustrativo simplificado da ação dos AINEs.

Figura I.06 - Organograma do mecanismo básico de ação de alguns AINEs.



Fonte: Adaptada de DUBOIS *et al.*, 1998.

O piroxicam é um fármaco de natureza ácida, e devido a presença do grupo enólico juntamente com estabilização da base conjugada, o perfil farmacocinético do piroxicam é regido pelo seu grau de ionização, o que influencia sua absorção em diversos tecidos biológicos. No caso de administração oral, o piroxicam apresenta 0,0005% de ionização na mucosa gástrica, 4,7% na mucosa intestinal e 92,6% no plasma. Em tecidos inflamados, devido a ação metabólica das proteases que reduzem o pH para em torno de 5, o piroxicam apresenta um grau de ionização de 4,7%, tendo

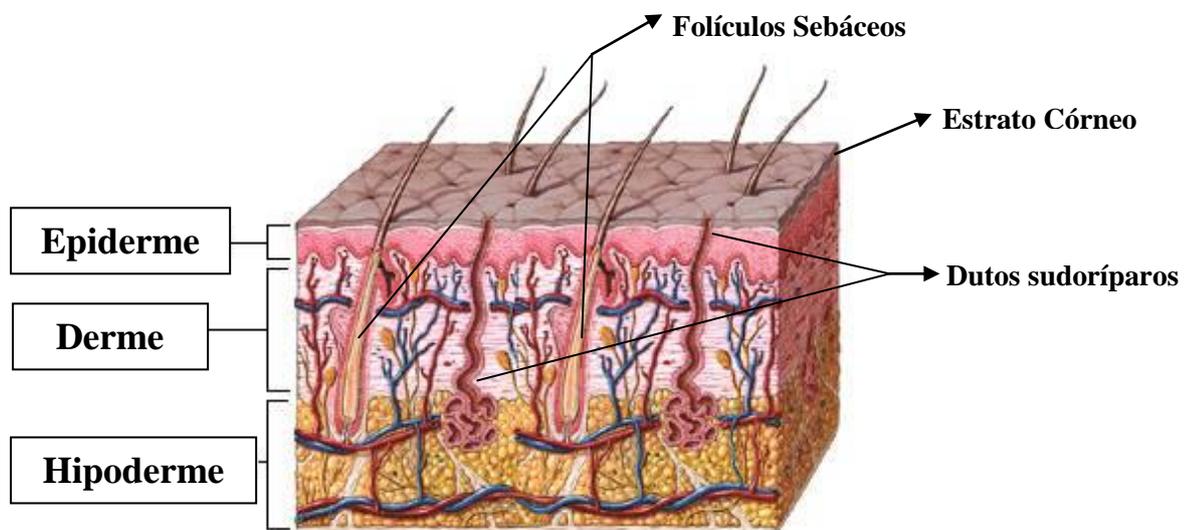
cerca de 95% de sua forma não ionizável sendo adequadamente absorvido pelo tecido (TSAI *et al.*, 2004; DALE; HAYLLET, 2010).

Alguns estudos correlacionam a eficácia entre vias tópicas e orais dos AINEs (ROTH *et al.*, 2011), uma vez que os efeitos adversos ocorrem através da porcentagem do fármaco livre na circulação atingindo diversas regiões que não sejam alvo específico da terapêutica. Ou seja, em usos prolongados de AINEs os efeitos adversos e maléficos são evidentes, a vetorização com uso de apresentações tópicas, transdérmicas e/ou de dispositivos de liberação controlada é alternativa realmente mais interessante.

1.5 VIA DE ADMINISTRAÇÃO TRANSDÉRMICA

As tecnologias aplicadas aos sistemas de liberação modificadas são dependentes das vias de administração do fármaco. A aplicação de fármacos pela via transdérmica vem sendo crescentemente explorada na qual se aplica o dispositivo de liberação na parte superficial da pele. Nesta via, a pele, formada por componentes que servem de proteção ao organismo e que dificultam a entrada de substâncias exógenas atuam como uma barreira, se opondo a entrada de fármacos. A absorção destes ativos dependerão da forma de aplicação e da lipossolubilidade dos mesmos, uma vez que terão que atravessar as barreiras lipofílicas da pele como o estrato córneo, epiderme e derme, e estes componentes são mostrados na Figura I.07.

Figura I.07 - Esquema anatômico da pele humana. Extrato córneo; epiderme, derme e hipoderme.



Fonte: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/images/ency/fullsize/8912.jpg>

O fármaco pode penetrar na pele pelo estrato córneo, pelos dutos sudoríparos ou pelos folículos sebáceos. O estrato córneo é camada mais superficial onde o fármaco entra em contato direto e se difunde para efetuar a ação nas camadas subsequentes, epiderme e derme, ou para agir sistemicamente após alcançar os vasos sanguíneos, sendo distribuído pelo organismo. Neste tipo de via de administração os fatores que regulam a absorção são o coeficiente de partição do fármaco e o coeficiente de difusão do fármaco através das camadas da pele. Assim as características físico-químicas de um fármaco envolvidos na administração transdérmica são a massa molecular e lipofilicidade, sendo o último preponderante. Fármacos muito hidrossolúveis e/ou ionizantes não atravessam o estrato córneo integralmente (BRUNTON *et al.* 2010).

É descrito na literatura que a via de administração transdérmica é mais vantajosa que a via de administração oral devido a facilidade de seu monitoramento, de evitar a degradação do ativo pelo trato gastrointestinal e facilitar a suspensão do tratamento em casos de reação adversa (ROTH *et al.*, 2011). Tendo em vista as limitações e as vantagens dos mecanismos envolvidos na administração transdérmica são vislumbradas modificações destes mecanismos visando o aumento da permeação do fármaco na pele, dentre elas, a aplicação do fármaco através de um veículo oleoso, a hidratação através de um filme oclusivo na pele que facilita a absorção (BRUNTON *et al.*, 2010), a irradiação com laser, entre outras alternativas (ALMEIDA *et al.*, 2012).

1.6 LIBERAÇÃO MODIFICADA

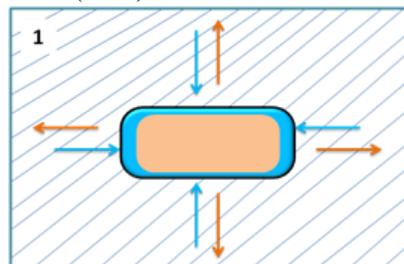
O termo “dispositivo de liberação modificada” refere-se a um dispositivo que fornece um perfil de liberação de substâncias ativas de forma retardada, repetida, controlada, sustentada ou prolongada (LYRA *et al.*, 2007). Os sistemas de liberação modificada visam o controle da distribuição temporal e espacial dos ativos incorporados (SHIBUYA *et al.*, 2000; LI, 1999). O controle temporal está associado à cinética de liberação do fármaco durante o tratamento, enquanto o controle espacial refere-se ao local de ação, ou seja, ambos os tipo de controle serão favorecidos pelas características dos compostos envolvidos na composição (ROSLER *et al.*, 2001). Os mecanismos de liberação por sua vez estão relacionados à processos de difusão, dissolução, partição, osmose, intumescimento e erosão (SIEGEL; RATHBONE, 2012).

As propriedades físico-químicas como hidrofiliicidade, lubrificidade, energia superficial (ANGELOVA; HUNKELER, 1999), durabilidade, permeabilidade (JACOBS; MASON, 1993), degradabilidade, adesão, solubilidade (PILLAI; PANCHAGNULA, 2001) e transição vítrea (ZHU, 2002) são determinantes para a biocompatibilidade do produto ao meio biológico, como tecidos e sangue (ANGELOVA; HUNKELER, 1999). Assim como os atributos de permeabilidade e difusão das moléculas ativas são importantes na determinação de liberação modificada.

A permeabilidade do princípio ativo através de um dispositivo polimérico é um processo que envolve dissolução, migração e difusão das moléculas do fármaco em função da solubilidade e coeficiente de difusão (ZHU, 2002). Se a estrutura polimérica se apresentar cristalina seu grau de empacotamento molecular é maior, gerando assim maior resistência de um fármaco à difusão em relação a polímeros que se apresentem amorfos com a mesma estrutura química (ZHU, 2002).

A dissolução é definida como a taxa de transferência de massa de uma superfície sólida em um meio de dissolução ou solvente sobre condições padrões como: a interface sólida/líquida, temperatura e composição do solvente (SINGHVI, 2011). A parte importante da dissolução de um princípio ativo é a reação entre o fármaco e o meio de dissolução. Esta reação ocorre na interface do dispositivo, no entanto, a cinética da dissolução é dependente de três fatores, como o fluxo de dissolução, a taxa de absorção do meio de dissolução e a difusão das moléculas do fármaco como ilustra a Figura I.08.

Figura I.08 - Mecanismos de dissolução. (1) Meio de dissolução. Entrada de moléculas do meio de dissolução no dispositivo (←). Saída das moléculas do princípio ativo (→).



Fonte : Elaborada pelo Autor

Para a caracterização e elucidação dos mecanismos de difusão e dissolução são descritos, por diversos autores, modelos matemáticos para definir como esta transferência de massa ocorre em cada material específico.

São apresentados a seguir a modelos que descrevem a cinética de liberação de uma substância por um material.

1.6.1 Modelo de Higuchi

Os modelos desenvolvidos por Takeru Higuchi são destinados a liberação de fármacos hidrossolúveis e pouco solúveis incorporados em matrizes semi-sólidas e/ou sólidas. Este modelo pode estabelecer correlações matemáticas para moléculas particuladas dos fármacos dispersos em uma matriz uniforme (HIGUCHI, 1961; HIGUCHI, 1963). Segundo este modelo, Higuchi determina que: (i) as concentrações do ativo devem ser muito maiores do que a solubilidade do fármaco; (ii) a difusão deve ocorrer em uma única dimensão; (iii) as moléculas do fármaco devem ser menores que a espessura do sistema; (iv) o intumescimento e a dissolução são insignificantes; (v) a difusão do fármaco seja constante e (vi) as condições perfeitas de imersão são sempre alcançadas (DASH *et al*, 2010). Tendo em vista estas hipóteses tem-se a Equação 04 da expressão deste modelo.

$$f_t = Q = A\sqrt{D(2C - C_s)C_s t} \quad \text{Equação 04}$$

Onde Q é a quantidade do fármaco liberado no tempo T por unidade de área A.

C é a concentração inicial do fármaco

C_s é a solubilidade do fármaco na matriz

D é o coeficiente de difusão fármaco na matriz

Higuchi acrescenta a este modelo a possibilidade de estudar a dissolução a partir de uma matriz planar, onde a difusão ocorra através dos poros da matriz e a concentração do fármaco seja menor que sua solubilidade, através da Equação 02 abaixo:

$$f_t = Q \sqrt{\frac{D\delta}{\tau}(2C - \delta C_s)C_s t} \quad \text{Equação 05}$$

Onde D é coeficiente de difusão da molécula do fármaco na matriz;

δ é a porosidade da matriz

τ é a tortuosidade da matriz

Q é a quantidade do fármaco liberado no tempo T por unidade de área A.

C é a concentração inicial do fármaco

Cs é a solubilidade do fármaco na matriz

Neste caso a tortuosidade da matriz segundo Higuchi é dado como as dimensões do raio e das ramificações dos poros e canais da matriz. O modelo de Higuchi pode ser simplificado de modo geral resultando em na Equação 06 abaixo.

$$f_t = Q = K_H x t^{1/2} \quad \text{Equação 06}$$

Onde KH é a constante de dissolução de Higuchi.

1.6.2 Modelo de Korsmeyer-Peppas e Ritger-Peppas

Este modelo descreve a liberação de fármacos em sistemas poliméricos. Segundo o modelo tem-se a expressão:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad \text{Equação 07}$$

Onde M_t/M_∞ é a fração do fármaco liberada no tempo t

K é a constante de liberação

n é o expoente de liberação

O valor de n determina os diferentes mecanismos de liberação dada através deste modelo para matrizes cilíndricas. O Quadro 2 mostra os valores dos expoentes e seus respectivos mecanismos (RITGER *et al*, 1987).

Quadro 2. Expoente de difusão e seus respectivos mecanismos de liberação do fármaco para diferentes sistemas de liberação controlada.

Expoente de difusão (n)	Mecanismo de Liberação de Fármaco
$n < 0,5$	Dissolução de materiais porosos
0,5	Difusão Fickiana
$0,5 < n < 0,89$	Difusão anômala (Não Fickiana)
0,89	Transporte Caso II(Intumescimento)
$n = 1$	Ordem zero

Fonte: Adaptada de MOLINA, 2010.

Segundo Ritger-Peppas, são relacionados aos mecanismos de liberação do ativo das matrizes. Valores de n próximos 1,0 estão relacionados com mecanismos de liberação do tipo ordem zero onde a liberação do ativo é independente do tempo. Valores de n entre 0,89 e 1,0 estão relacionado a liberação de transporte caso II, que são regidas pelo fenômeno do intumescimento do polímero. Valores de n entre 0,5 e 0,89 são relacionadas a difusão anômala (não fickiana), ou seja, a combinação de mecanismos de difusão e transporte caso II, na qual o transporte do fármaco é associado com transição do estados vítreos dos polímeros hidrofílicos que intumescem na água e sofrem erosão. Para valores de n igual a 0,5, o mecanismo principal, que controla a liberação do ativo é a difusão Fickiana clássica onde a liberação é dependente do gradiente de potencial químico. Já para valores de n inferiores a 0,5, o mecanismo de liberação é regido por uma dissolução por poros.

Alguns processos são considerados neste modelo, como a difusão de água para dentro da matriz, o intumescimento da matriz com a entrada de água, a formação de gel, a difusão das moléculas do fármaco e a dissolução da matriz polimérica.

1.6.3 Modelo de Gallagher-Corrigan

Neste modelo proposto por Gallagher e Corrigan, é considerado que a liberação ocorre em duas etapas, onde no primeiro estágio ocorre um efeito de liberação chamado de “burst”, que significa uma dissolução rápida de uma parte do fármaco, o que pode significar que o ativo não está protegido efetivamente pela matriz, geralmente refere-se a fármacos que se encontram na área mais superficial do sistema de liberação. O segundo estágio está ligado a liberação subsequente ao efeito “burst” que pode ser correlacionado com degradação da matriz (BALCERZAK *et al*, 2010).

Neste modelo expresso pela Equação 08 abaixo.

$$f_t = f_{tmax} \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t}) + (f_{tmax} - f_B) \cdot \left(\frac{e^{k_2 \cdot t - k_2 \cdot t_{2max}}}{1 + e^{k_2 \cdot t - k_2 \cdot t_{2max}}} \right) \quad \text{Equação 08}$$

Onde f_t é a fração do fármaco liberada no tempo t

f_{tmax} é a fração máxima do fármaco liberado durante o processo

f_B é a fração do fármaco liberado durante o primeiro estágio, o efeito “burst”

k_1 é a constante de cinética de primeira ordem do primeiro estágio

k_2 é a constante de cinética do segundo estágio de liberação.

t_{2max} é o tempo máximo da taxa de liberação do fármaco

Todos os modelos podem elucidar a cinética de liberação modificada de um sistema específico, sendo considerados fatores gerais de difusão, intumescimento, erosão da matriz, dissolução, entre outros parâmetros descritos pelos modelos citados.

Tendo em vista todos os aspectos apresentados, as motivações para o estudo de um dispositivo de liberação modificada de ativos se baseia em melhorias na formulação de um nanocompósito híbrido de siloxano-poliéter. Onde a taxa de hidrogéis no dispositivo formulado pode auxiliar o controle de liberação do ativo. As vantagens do uso concomitante de um híbrido de siloxano-poliéter e um hidrogel são o maior controle de sua lipofilicidade e sua alteração no mecanismo de liberação (difusão ou dissolução) do mesmo, uma vez que os hidrogéis apresentam características físico-químicas variadas.

A adesão destes produtos formulados aos tecidos biológicos também é uma vantagem significativa uma vez que os hidrogéis são ferramentas viáveis e vastamente estudadas em formulações tópicas para liberação de insumos farmacologicamente ativos (PEPPAS, 1997; PEPPAS *et al.*, 2000; MAYOL *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2008; BIAZAR *et al.*, 2012; MAZZITELLI *et al.*, 2013).

O estudo da nanoestrutura formada é uma vantagem encontrada para elucidar e correlacionar este com sua eficácia no transporte do fármaco através do dispositivo formulado.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento de sistemas de liberação tipo nanocompósitos formados por híbridos siloxano poliéter e polímeros hidrofílicos do tipo hidrogel. Estudar a capacidade de liberação do ativo Piroxicam e estudar a influência dos tipos dos hidrogéis na nanoestrutura do produto final assim como nas

características macroscópicas da liberação. Pretendendo elucidar os comportamento e correlacionar propriedades finais com a estrutura dos materiais obtidos.

Seguindo os objetivos parciais durante o trabalho:

- Caracterizar a nanoestrutura formada através da técnica de espalhamento raio X à baixo ângulo (SAXS).
- Identificar as possíveis interações intermoleculares entre a matriz nanocompósita e o princípio ativo incorporado;
- Desenvolver a formulação adequada para incorporação do antiinflamatório Piroxicam nas matrizes;
- Estudar as taxas de liberação em função da composição das matrizes estudadas e determinar a cinética de liberação envolvida;
- Avaliar o perfil toxicológico das amostras estudadas;
- Avaliar a permeação do princípio ativo em ensaios *in vitro*.

Capítulo II

Metodologia

- Preparo das matrizes nanocompósitas de liberação
- Caracterização das matrizes nanocompósitas de liberação

3. METODOLOGIA

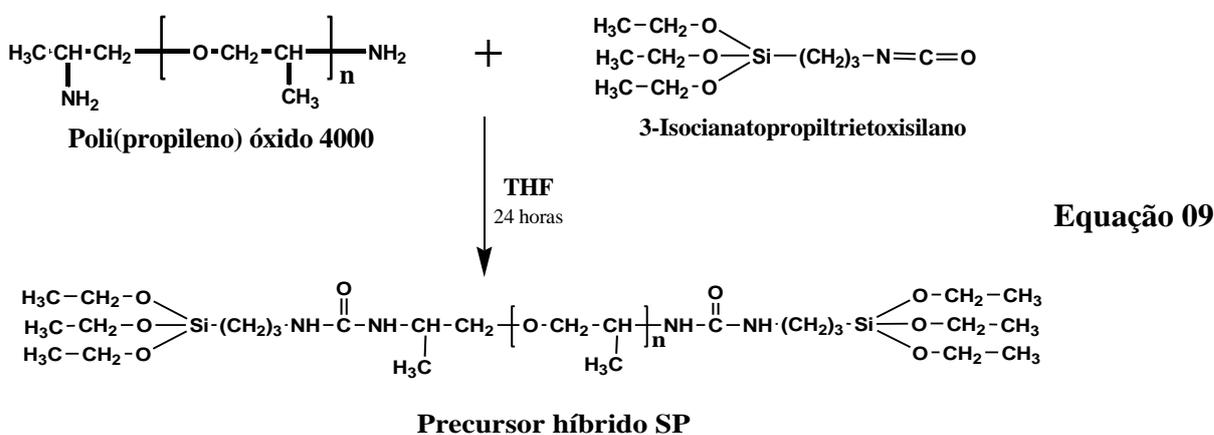
As matrizes foram preparadas em duas etapas principais. Inicialmente foi preparado o polímero híbrido siloxano poliéter, na sequência, soluções dos diferentes hidrogéis, a saber, Bis-Acrilamida (Bis-Acm), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), Poli(Ácido Acrílico) (PAA), Poli(Acrilamida-co-Ácido Acrílico (Pam-co-AA) e Polivinilpirrolidona (PVP), foram misturadas em condições adequadas na presença do fármaco piroxicam. Uma vez homogeneizada a mistura, adicionou-se catalisador a fim de promover a gelatinização do sistema. As amostras foram então caracterizadas estruturalmente quanto a seus perfis de liberação conforme descritos a seguir.

3.1 PREPARO DAS MATRIZES NANOCOMPÓSITAS DE LIBERAÇÃO

3.1.1 Preparação do precursor híbrido Siloxano-Poliéter 4000 (SP)

O polímero híbrido orgânico-inorgânico foi preparado a partir de polipropileno óxido (PPO), de massa molecular 4000 g/mol, contendo grupamentos amina terminais e 3-isocianatopropiltrióxido de silício (IsoTrEOS) em uma proporção molar de 1:2. Após a adição dos reagentes em um balão de fundo redondo contendo o solvente Tetrahydrofurano (THF), a mistura foi submetida a refluxo a 80°C por 24 horas. Após o término da reação, o solvente foi eliminado sob aquecimento em pressão reduzida em um evaporador rotativo à 60°C (DAHMOUCHE *et al.*, 1999).

A equação química abaixo mostra a reação envolvida neste processo. Observa-se o ataque nucleofílico do grupamento amina terminal do PPO ao grupamento isocianato do IsoTrEOS levando a formação de uma ligação tipo ureia que interconecta a porção orgânica com a inorgânica na molécula. Nomeia-se esse precursor como SP no decorrer do trabalho.



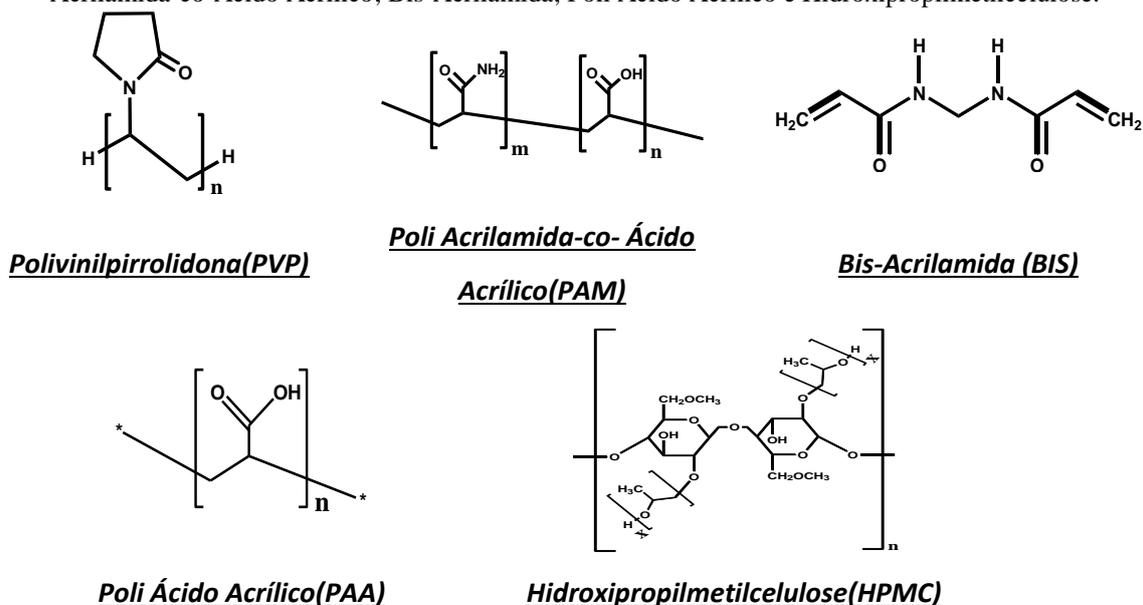
3.1.2 Obtenção do anti-inflamatório Piroxicam

Foram realizadas extrações do ativo de cápsulas comerciais com concentração de 20 mg, no intuito de isolar o Piroxicam dos seus excipientes. Foi dissolvido o pó branco contido em 10 cápsulas em uma solução de 500 mililitros de Etanol Absoluto, após a completa dissolução, notou-se a coloração amarelada da solução e a presença de precipitados. Esta foi filtrada para eliminação dos excipientes precipitados e em seguida a solução foi submetida a evaporação sob pressão baixa e aquecimento à temperatura de 60 °C em um evaporador rotatório. Resultando em um pó de coloração amarelada característico do ativo.

3.1.3 Preparo das soluções dos hidrogéis

Foram preparadas soluções dos hidrogéis Bis-Acrilamida (Bis-Acm), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), Poli Ácido Acrílico (PAA), Poli(Acrilamida-co-Ácido Acrílico (Pam-co-AA) e Polivinilpirrolidona (PVP) em solvente 70:30 de etanol :água, adicionados ao anti-inflamatório Piroxicam, previamente extraído de cápsulas comerciais, seguindo os procedimentos descritos a seguir. A fórmula estrutural dos hidrogéis são mostradas abaixo.

Figura II.01 - Fórmula molecular dos polímeros hidrogéis utilizados: Polivinilpirrolidona; Poli Acrilamida-co-Ácido Acrílico; Bis-Acrilamida; Poli Ácido Acrílico e Hidroxipropilmetilcelulose.



Fonte: Elaborada pelo Autor

3.1.3.1 Solução de Bis-Acrilamida

Solubilizou-se 1,0 grama de Bis-Acrilamida (Vetec) em 3 mililitros de água deionizada e 7 mililitros de etanol absoluto na proporção de 70:30 (etanol:água) totalizando uma concentração de 100 mg/ml. Acrescentou-se o fármaco (piroxicam) totalizando 1% (m/m) da massa total do compósito. Utilizou-se ultrassom a fim de promover melhor homogeneização.

3.1.3.2 Solução de Hidroxipropilmetilcelulose

O mesmo procedimento utilizado para o preparo da solução de Bis-Acrilamida foi empregado para o preparo da solução de Hidroxipropilmetilcelulose (Sigma-Aldrich).

3.1.3.3 Solução de Poli(Ácido Acrílico)

O mesmo procedimento utilizado para o preparo da solução de Bis-Acrilamida foi empregado para o preparo da solução de Poli(Ácido Acrílico) (Sigma-Aldrich).

3.1.3.4 Solução de Poli(acrilamida-co-Ácido Acrílico)

Solubilizou-se 1,0 grama de Poli(acrilamida-co-Ácido Acrílico) em 4,5 mililitros de água deionizada e 5,5 mililitros de etanol absoluto na proporção de 45:55 (etanol:água) totalizando uma concentração de 100 mg/ml. Acrescentou-se o fármaco (piroxicam) totalizando 1% (m/m) da massa total do compósito. Utilizou-se ultrassom a fim de promover melhor homogeneização.

3.1.3.5 Solução de Polivinilpirrolidona

O mesmo procedimento utilizado para o preparo da solução de Bis-Acrilamida foi empregado para o preparo da solução de Polivinilpirrolidona (Sigma-Aldrich).

3.1.4 Preparo das matrizes nanocompósitas contendo o Piroxicam

As amostras foram preparadas pela mistura do precursor híbrido siloxano-poliéter (SP), com diferentes proporções das soluções dos polímeros BIS, HPMC, PAA, Pam-co-AA e PVP. Para cada hidrogel do estudo foram preparadas diferentes porcentagens em massa, a saber: 25%, 15%, 5%, 2,5%, 1,5% e 0,5% (m/m). Obtendo cinco séries de seis amostras, uma série para cada mistura, de SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP. O método de preparo das matrizes será detalhado nos itens a seguir.

3.1.4.1 SP-BIS

Em um frasco de acrílico pesou-se aproximadamente 200 miligramas do precursor polimérico híbrido siloxano/poliéter e para cada amostra adicionou-se diferentes volumes da solução de BIS de maneira a atingir proporções em massa de 25%, 15%, 5%, 2,5%, 1,5% e 0,5% em relação a massa do híbrido (SP). Adicionou-se 100 µl de Triton-X 100 em cada uma das amostras, e agitou-se até a formação de uma solução homogênea. Ao final, acrescentou-se 50 µl de solução alcoólica de HCl 0,05 mol/l para catalisar as reações de hidrólise e condensação. Após 60 min observou-se a gelatinização do sistema com a formação do gel monolítico.

3.1.4.2 SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP

Para o preparo das amostras SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP utilizou-se a mesma metodologia experimental descrito no item 3.1.3.1 entretanto utilizando como solução de hidrogel a cada uma das soluções respectivas. Para o preparo das amostras de SP-PAM foi utilizado ultrassom para auxiliar a homogeneização.

O Quadro 3 a seguir mostra nomenclatura e o detalhamento das quantidades utilizadas em cada uma das amostras preparadas.

Quadro 3- Composição das matrizes nanocompósitas.

Nomenclaturas	SP	SP-BIS-0,5	SP-BIS-1,5	SP-BIS-2,5	SP-BIS-5	SP-BIS-15	SP-BIS-25
		SP-HPMC-0,5	SP-HPMC-1,5	SP-HPMC-2,5	SP-HPMC-5	SP-HPMC-15	SP-HPMC-25
		SP-PAA-0,5	SP-PAA-1,5	SP-PAA-2,5	SP-PAA-5	SP-PAA-15	SP-PAA-25
		SP-PAM-0,5	SP-PAM-1,5	SP-PAM-2,5	SP-PAM-5	SP-PAM-15	SP-PAM-25
		SP-PVP-0,5	SP-PVP-1,5	SP-PVP-2,5	SP-PVP-5	SP-PVP-15	SP-PVP-25
SP (mg)	200	200	200	200	200	200	200
Hidrogel (mg)	0	1	3	5	10	30	50
Hidrogel (%)	0	0,5	1,5	2,5	5	15	25
Massa total (mg)	200	201	203	205	210	230	250
Piroxicam (%)	1	1	1	1	1	1	1
Triton – X (µl)	100	100	100	100	100	100	100
Catalisador (µl)	50	50	50	50	50	50	50

Fonte: Elaborado pelo Autor

3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS NANOCOMPÓSITOS

3.2.1 Caracterização molecular

A fim de investigar as ligações químicas formadas, bem como avaliar as interações intermoleculares do fármaco e a matriz nanocompósita utilizou-se espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FTIR). As medidas foram realizadas em dois equipamentos distintos, uma da marca Shimadzu, modelo IRPrestige 21, obtidas das amostras de piroxicam em pó prensadas em forma de pastilhas com KBr. Utilizou-se resolução de 4 cm^{-1} , 32 scans e mediu-se em um intervalo de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$. Para as análises espectroscópicas na região do infravermelho dos nanocompósitos, os espectros foram obtidos diretamente por refletância difusa, em um aparelho marca Varian, modelo 640-IR, medidas no intervalo de $4000\text{ a }600\text{ cm}^{-1}$, com 16 scans e 4 cm^{-1} de resolução. Para essas medições, a amostra foi dividida transversalmente e disposta de forma a medir o interior do monolito obtido.

3.2.2 Caracterização por difração de raios X

Para se verificar a formação de cristais do fármaco nos materiais finais, fez-se o uso da difratometria de raios X. As medidas foram realizadas variando 2θ de 5° até 80° , com passo $0,02^\circ$ e velocidade de 10° por minuto. Utilizou-se um equipamento marca

Rigaku, modelo Miniflex 600.

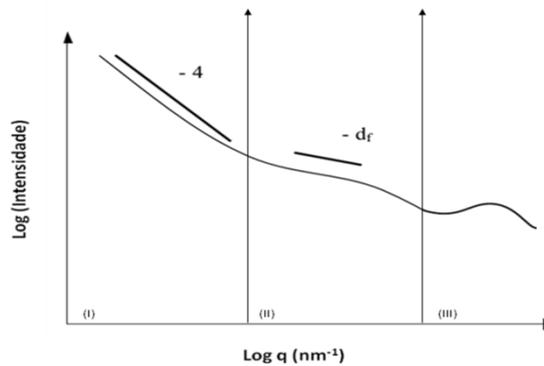
3.2.3 Caracterização nanoestrutural

Para caracterizar a nanoestrutura das amostras utilizou-se o Espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS). As medidas de SAXS foram realizadas na linha de feixe D11A do Laboratório Nacional de Luz-Síncrotron (LNLS) em Campinas-SP. A linha do feixe é equipada com um salto lateral W/B₄C multicamadas (500 camadas duplas), um monocromador em substrato de silício que produz um feixe monocromático horizontalmente focalizado (1,54 Å). Um detector Pilatus 2D operando em modo de contagem de fóton único, localizado a 540 nm das amostras que foi utilizada para registrar a intensidade de SAXS.

O princípio das técnicas citadas encontram-se no APÊNDICE I.

As curvas de SAXS obtidas experimentalmente foram divididas em 3 seções onde pôde se observar fenômenos específicos diferenciados. Como mostra a Figura II.02.

Figura II.02 - Curva de espalhamento de raio-x mostrando três regiões: (I) Ajuste linear Porod (II) Ajuste da Dimensão fractal e (III) Pico de correlação.



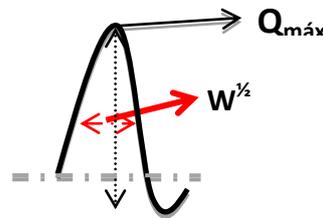
Fonte: Elaborado pelo Autor

Na seção (I) foi realizado um ajuste linear adequado a lei de potência de Porod utilizando o programa Origin Pro 7.0. Na seção (II) foi realizado um ajuste para determinar parâmetros como raio de giro (R_g) e a dimensão fractal (d_f). Uma vez que agregados podem ser descritos como fractal de massa (ver APÊNDICE I) e este fenômeno é observado nas amostras medidas. De acordo com o modelo de fractal de massa, a dimensão fractal é variante de ≥ 1 e ≤ 3 , e está relacionado com a dimensão do objeto espalhado. Assim define, por exemplo, a dimensão de um cilindro é dada como $d_f = 1$, pois apresenta apenas uma única dimensão, o comprimento. Do mesmo modo

para um disco e uma esfera tem-se $d_f = 2$ e 3 respectivamente. O raio de giro (R_g) pode ser definido como o quadrado da distância média do centro de gravidade onde a massa é vista pela densidade eletrônica (HYEON-LEE *et al.*, 1998). Estes parâmetros foram obtidos pelo ajuste da curva experimental de acordo com o modelo *DLC Aggregation* utilizando o programa SASfit.

As informações demonstradas na aparição de um pico de correlação das amostras na seção (III) foram retiradas com o uso do modelo de PseudoVoigt 2, disponível no programa Origin Pro 7.0. Onde pode-se extrair parâmetros como o Q máximo ($Q_{m\acute{a}x}$) do pico de correlação e a largura a meia altura ($W^{1/2}$), assim como ilustra a Figura II. 03 mostrada abaixo.

Figura II.03 - Esquema do Fit do pico de correlação utilizando a Equação 02, Psd. Voigt2 no programa no Origin Pro 7.0.



Fonte: Elaborada pelo Autor

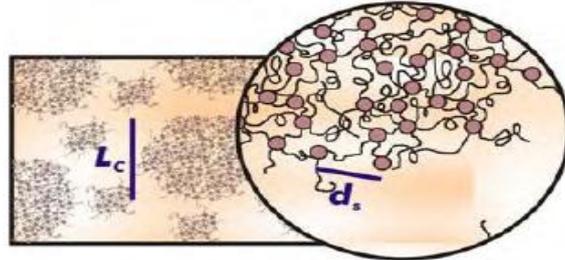
Estes valores aferidos das curvas determinam a distância de correlação (d_s) e o limite de correlação (Lc) dos nanocompósitos. As fórmulas para determinação do d_s e Lc são mostradas nas Equações 10 e 11 respectivamente:

$$D_s = \frac{2\pi}{Q_{m\acute{a}x}} \quad \text{Equação 10}$$

$$LC = \frac{4\pi}{W^{1/2}} \quad \text{Equação 11}$$

A Figura II.04 mostra a representação gráfica da distância de correlação (d_s) entre os objetos espalhadores de siloxano e o limite de correlação (Lc) do quanto esta distância se propaga pela matriz nanocompósita.

Figura II.04. Representação da distribuição dos objetos espalhadores na matriz. d_s = Distância de Correlação L_c = Limite de correlação.



Fonte: CHAKER *et al.*, 2004

3.3 ENSAIO DE LIBERAÇÃO

A fim de estudar a influência da composição da matriz compósita no perfil de liberação do fármaco Piroxicam foram realizadas estudos nas amostras SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP contendo 25, 15 e 5% em massa de cada um dos hidrogéis. Para realização das medidas utilizou-se a técnica de espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis). A partir de uma cubeta de quartzo de 10 mm adicionou-se a mistura realizada no item 3.1.3.1. onde foi respeitado o tempo de geilificação de 24 horas. Após a devida geilificação foi colocado 3 mililitros de água ultrapura. E através de um espectrofotômetro da marca Hitachi, modelo U-3900H spectrophotometer, foi medida a amostra na faixa de 200 à 410 nm em um ciclo de intervalos de 2 em 2 minutos por 3 horas e de 30 em 30 minutos por 45 horas sob temperatura controlada de 25° C. Determinando a quantidade de piroxicam liberada em um tempo de 48 horas.

As curvas de liberação obtidas foram estudadas de acordo com o modelo matemático postulado por Korsmeyer-Peppas, uma vez que as curvas obtidas pelo ensaio se assemelham com as definidas pelos modelos citados.

3.4 ENSAIO DE PERMEAÇÃO TRANSDÉRMICA *IN VITRO*

3.4.1 Preparo das amostras

Foi efetuada a análise de 4 amostras sendo elas; SP, SP-PAA-5, SP-PVP-5(a) e SP-PVP-5(b), em quadruplicatas. As amostras foram divididas em dois grupos distintos: (i) Amostra de SP, SP-PAA-5, SP-PVP-5(a) foram preparadas segundo descrito no item 3.1.3 em lamínulas, cortadas e depositadas em cima da pele de orelha de porco (frigorífico BONASA, Brasília) previamente hidratada na célula de difusão do tipo Franz. (ii) A amostra SP-PVP-5 (b) foi preparada em forma líquida sendo geilificada

sobre a pele durante o processo de permeação, a fim de simular uma aplicação do sistema. O meio receptor utilizado foi 14 mililitros de uma solução de 40:60 de Propilenoglicol com Tampão fosfato (PBS) com pH igual à 7,4. As alíquotas foram coletadas em intervalos de 1 hora até 12 horas e a última coleta realizada 24 horas após o início do ensaio.

3.4.2 Método analítico

Foram analisadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-UV), com validação do método para quantificação de Piroxicam sob as condições específicas descritas a seguir.

A fase móvel utilizada foi composta por acetato de sódio – acetonitrila (39:61). As medidas foram realizadas utilizando-se de uma coluna C-18, VP-ODS tamanho 150L x 4.6, sob a temperatura de 33°C e com fluxo de 1,5 mililitros por minuto.

3.4.3 Retenção cutânea

Após o término do ensaio os fragmentos de pele foram tratadas para remoção do estrato córneo, com técnica de “Adhesive-tape stripping” (JENKINS; TRESISE, 1969) armazenado para posterior extração do ativo. Assim como a epiderme e derme remanescentes que foram cortadas para extração do ativo com 5 mililitros de metanol por 48 horas. As soluções de extração obtidas foram submetidas à cromatografia (HPLC), determinando assim a quantidade de fármaco presente no estrato córneo, na epiderme e derme.

O processo de quantificação do ativo retido no estrato córneo, na epiderme e derme foi analisado a partir da referência do teste de recuperação.

3.4.4 Teste de recuperação

Foi realizado a impregnação da pele de orelha de porco com concentrações conhecidas em triplicatas. Esperou 24 horas para a solução adicionada à pele secar e em seguida foi realizado a adição de 5 mililitros de metanol a fim de alcançar concentrações finais da solução de fármaco de 0,5µg/ml, 1µg/ml e 2µg/ml. Após 48 horas de extração

em metanol retirou alíquotas destes frascos em todas as triplicatas e submeteu-se estas à cromatografia (HPLC). Sob os mesmos parâmetros descritos no item 3.4.3. Após as leituras submeteu-se estes valores a fórmula de exatidão.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad \text{Equação 12}$$

3.5 ENSAIO TOXICOLÓGICO

Os ensaios de toxicidade foram efetuados nas amostras nanocompósitas de SP-PVP, SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA e SP-PAM nas concentração de 25% e na amostra SP, todas geilificadas em lamínulas, para avaliar a influencia dos filmes na viabilidade de células de queratinócitos normais, *in vitro*. Os filmes foram cuidadosamente depositados em uma placa de cultura de 6 poços. Foram depositados 300µL de meio de cultura contendo uma suspensão de 10⁵ células de queratinócitos normais (linhagem HACAT) sobre os filmes e mantidos 20 minutos. Após isto mais 1700µL de meio de cultura foram adicionados em cada poço e a placa foi levada para estufa a 37°C e 5% CO₂. Também foram depositadas células sobre lamínulas sem filme denominadas grupo controle. As características gerais foram observadas após 48 horas.

Capítulo III

Resultados & Discussões

- Caracterização molecular
- Caracterização por difração de raios X
- Caracterização nanoestrutural
- Ensaio de liberação
- Ensaio de permeação transdérmica *in vitro*
- Ensaio toxicológico

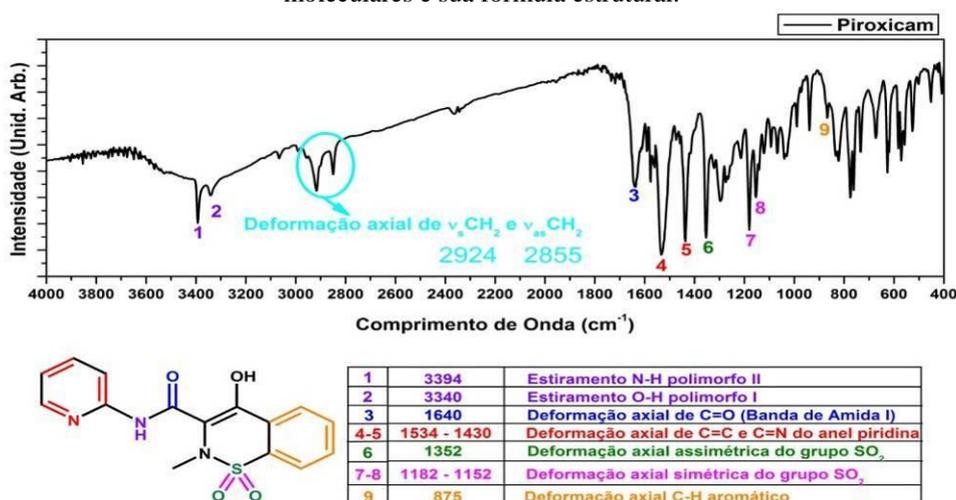
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

Foram realizadas análises de espectroscopia vibracional região do infravermelho para confirmar a presença do fármaco nos materiais finais. O estudo foi realizado em amostras com diferentes porcentagens em massa de hidrogel, de acordo com o método de preparo descrito no Capítulo II.

A Figura III.01 apresenta o espectro de absorção no infravermelho do princípio ativo piroxicam isolado de amostras comerciais. A sua estrutura química com as principais atribuições das bandas referentes as suas vibrações moleculares de estiramentos e deformações também são mostradas na figura.

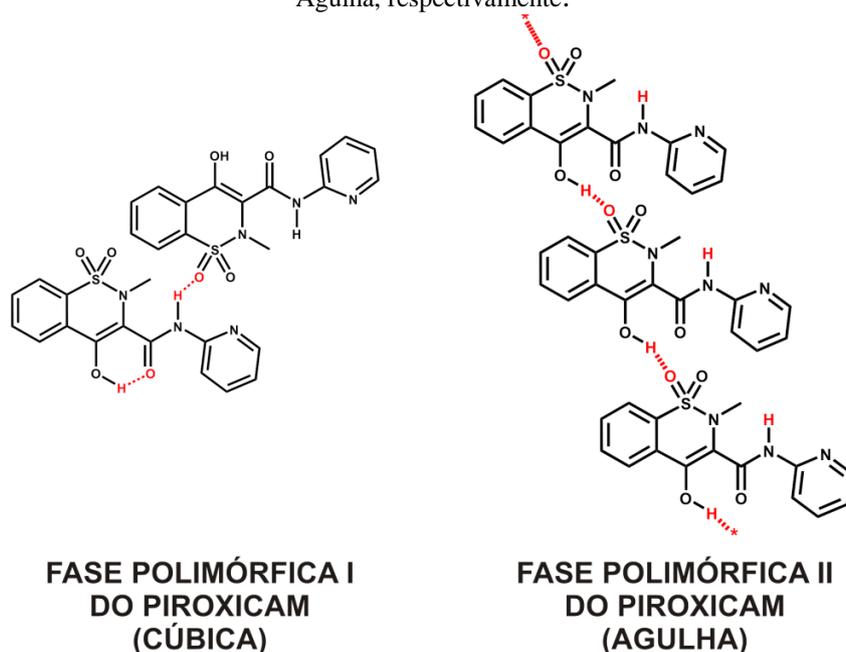
Figura III.01 - Espectro infravermelho do piroxicam com suas respectivas atribuições das vibrações moleculares e sua fórmula estrutural.



Fonte: Elaborada pelo Autor

Pode-se observar bandas de absorção relativas ao estiramento O-H e ao estiramento N-H representadas pelos números 1 e 2, e referentes aos estiramentos vibracionais dos estados polimorfos II e I respectivamente. Este resultado mostra a coexistência das duas fases polimórficas do piroxicam quando extraído do excipiente das cápsulas comerciais. De fato conforme apresentado por autores (WU *et al.*, 2009; MIHALIC *et al.*, 1986) a presença das bandas de absorção 1 e 2 centradas em 3340 e 3394 cm⁻¹, respectivamente confirmam a coexistência dos estados polimorfos I e II do piroxicam conforme apresentado na Figura III.02. Este resultado corrobora com resultados das análises cristalográficas que estarão sendo discutidas no item 4.2 a seguir.

Figura III.02 - Representação ilustrativa das fases polimórficas do piroxicam, I e II, Cúbica e Agulha, respectivamente.

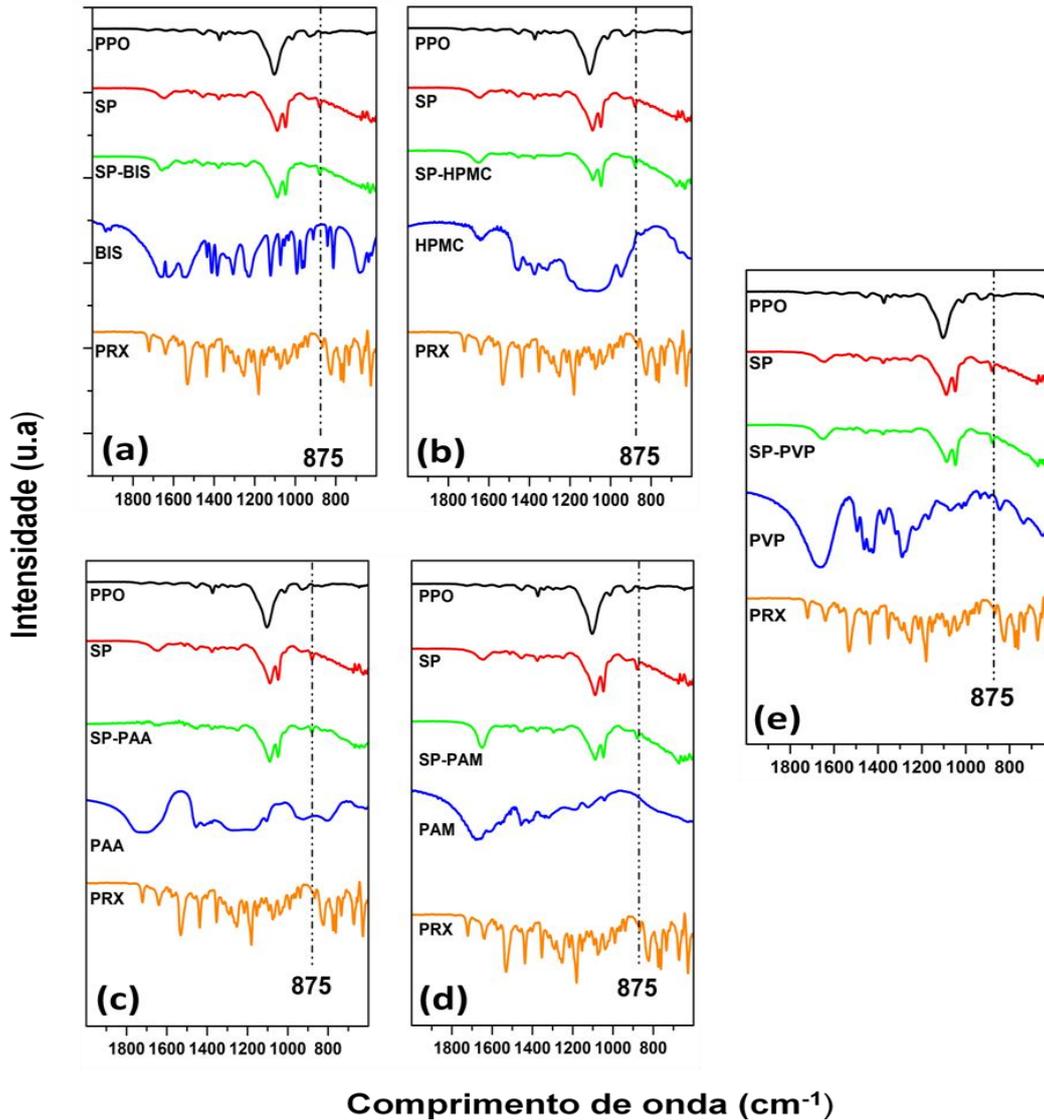


Fonte: Adaptada de TADDEI *et al.*, 2001.

A Fig. III.01 mostra ainda as bandas das vibrações moleculares do grupamento SO_2 do piroxicam. A banda indicada com o número 6 e centrada em 1352 cm^{-1} corresponde a deformação axial assimétrica do SO_2 , enquanto que as indicadas pelos números 7 e 8, centradas em 1182 e 1152 cm^{-1} , correspondem as deformações axiais simétrica para o mesmo grupamento. Outras bandas observadas na figura são características dos grupamentos presentes no fármaco como: (i) Em 1534 e 1430 cm^{-1} atribuídas a deformação axial de $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ do anel de piridina respectivamente; (ii) Centrada em 1640 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação $\text{C}=\text{O}$; (iii) Em 875 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação de $\text{C}-\text{H}$ do anel aromático (SHARMA *et al.*, 2010) (JABBAR *et al.*, 2013) (VARMA *et al.*, 2012) (TANTISHAIYAKUL *et al.*, 2009)

A Figura III.03 mostra o espectro de absorção na região do infravermelho das amostras nanocompósitas preparadas com 25% em massa dos diferentes hidrogéis do estudo contendo o fármaco piroxicam. As curvas de absorção das amostras são comparadas na figura a curva de absorção do fármaco piroxicam e dos seus respectivos hidrogéis. Pode-se observar nas curvas de absorção das amostras a presença a banda centrada em 875 cm^{-1} relativa a deformação axial da ligação de $\text{C}-\text{H}$ do anel aromático do fármaco, confirmando a presença do piroxicam nas amostras nanocompósitas preparadas.

Figura III.03 - Espectro infravermelho comparativo entre as amostras PPO, SP, PRX e: (a) SP-BIS e BIS; (b) SP-HPMC e HPMC; (c) SP-PAA e PAA; (d) SP-PAM e PAM; (e) SP-PVP e PVP.



Fonte: Elaborada pelo Autor

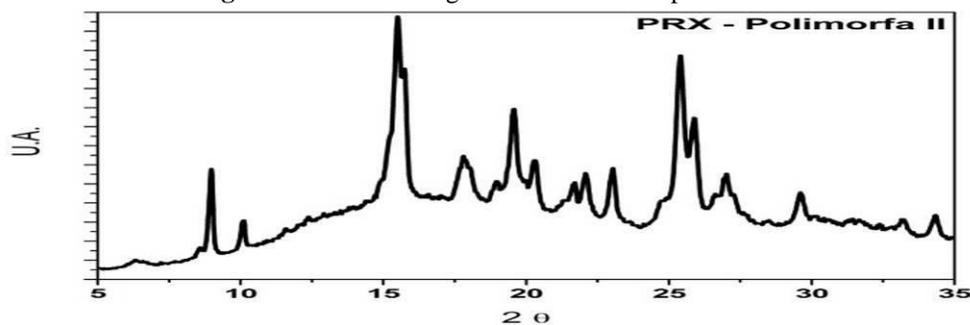
Também são observadas na Fig. III.03 as bandas centrada em 1100 e 1079 cm⁻¹ relativas aos estiramentos assimétricos do grupamento Si-O-Si (HAMELMANN *et al.*, 2005) (AL-OWEINI *et al.*, 2009). A presença da banda em 1100 cm⁻¹ nas amostras revela que as reações de policondensação dos grupamentos siloxano ocorreram.

4.2 CARACTERIZAÇÃO POR DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A caracterização cristalográfica das amostras foi realizada para confirmar a fase cristalina do fármaco nas amostras bem como verificar o estado amorfo das matrizes nanocompósitas poliméricas.

A Figura III.04 mostra a curva de difração de raios X com $5^\circ \leq 2\theta \leq 35^\circ$, para a amostra de piroxicam. Autores descrevem (JANIK, *et al.*, 1991) que o perfil cristalográfico obtido é referente à fase cristalina polimórfica II do piroxicam em forma de agulha. Apesar dos resultados de espectroscopia de infravermelho mostrarem a coexistência das fases cristalinas polimórficas I e II do piroxicam, os resultados de difração revelam a presença apenas da fase polimórfica II. Adicionalmente conforme descrito por autores (RECK, *et al.*, 1988) os picos cristalográfico obtidos em nossas amostra são referentes a forma α_2 do polimórfico II. Na realidade é discutido na literatura (VREČER *et al.*, 2003) que o solvente de extração do princípio ativo influencia a formação das diferentes fases polimórficas. No caso de extração com etanol espera-se encontrar majoritariamente a fase polimórfica II. O Quadro 4 abaixo mostra as principais fases polimórficas obtidas comm diferentes solventes de extração (JANIK *et al.*, 1991) (VREČER *et al.*, 2003).

Figura III.04 - Difratoograma de Raio-X do piroxicam.



Fonte: Elaborado pelo Autor

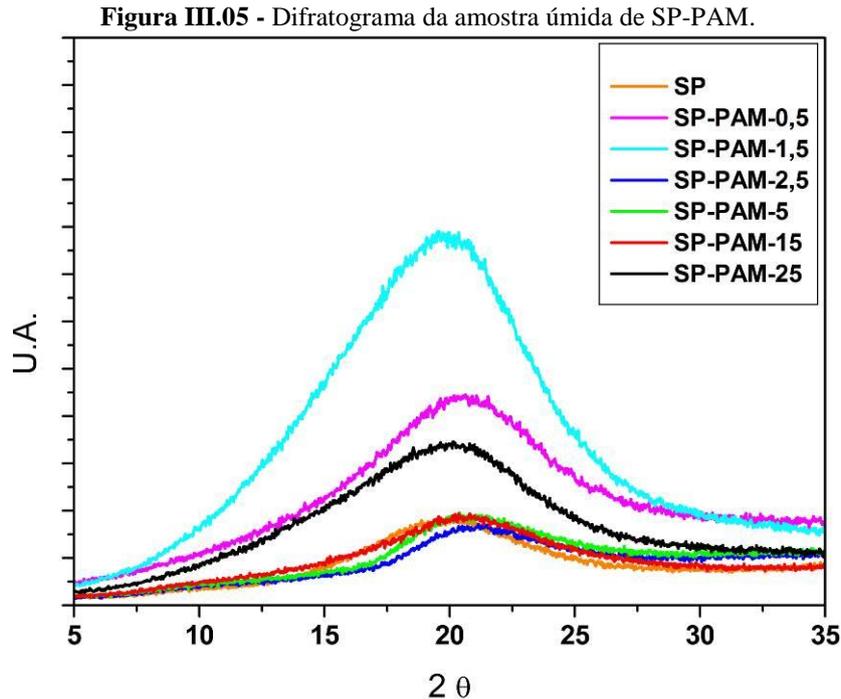
Quadro 4. Estruturas polimorfas do Piroxicam em função do solvente extrator .

Solvente	Poliformo I	Polimorfo II	Polimorfo III	Monohidratado
Etanol		+		
Metanol		+		
Isopropanol				
Benzeno	+	+		
Água deionizada				+

Fonte: Adaptada de VREČER *et al.*, 2003.

A Figura III. 05 mostra a curva de difração de raios X com $5^\circ \leq 2\theta \leq 35^\circ$, para a amostra SP-PAM úmida. A difração observada nesta amostra é a mesma da observada para as demais amostras no estado úmido, ou seja, as curvas apresentam um pico alargado em $2\theta = 22^\circ$. Esta contribuição é associada a presença de agregados amorfos de siloxano nos materiais estudados. Na realidade trabalhos com amostras similares mostram o mesmo tipo de atribuição (CHAKER, 2004). Infere-se também que a largura a meia altura para todas as amostras não varia com o aumento do teor de hidrogel,

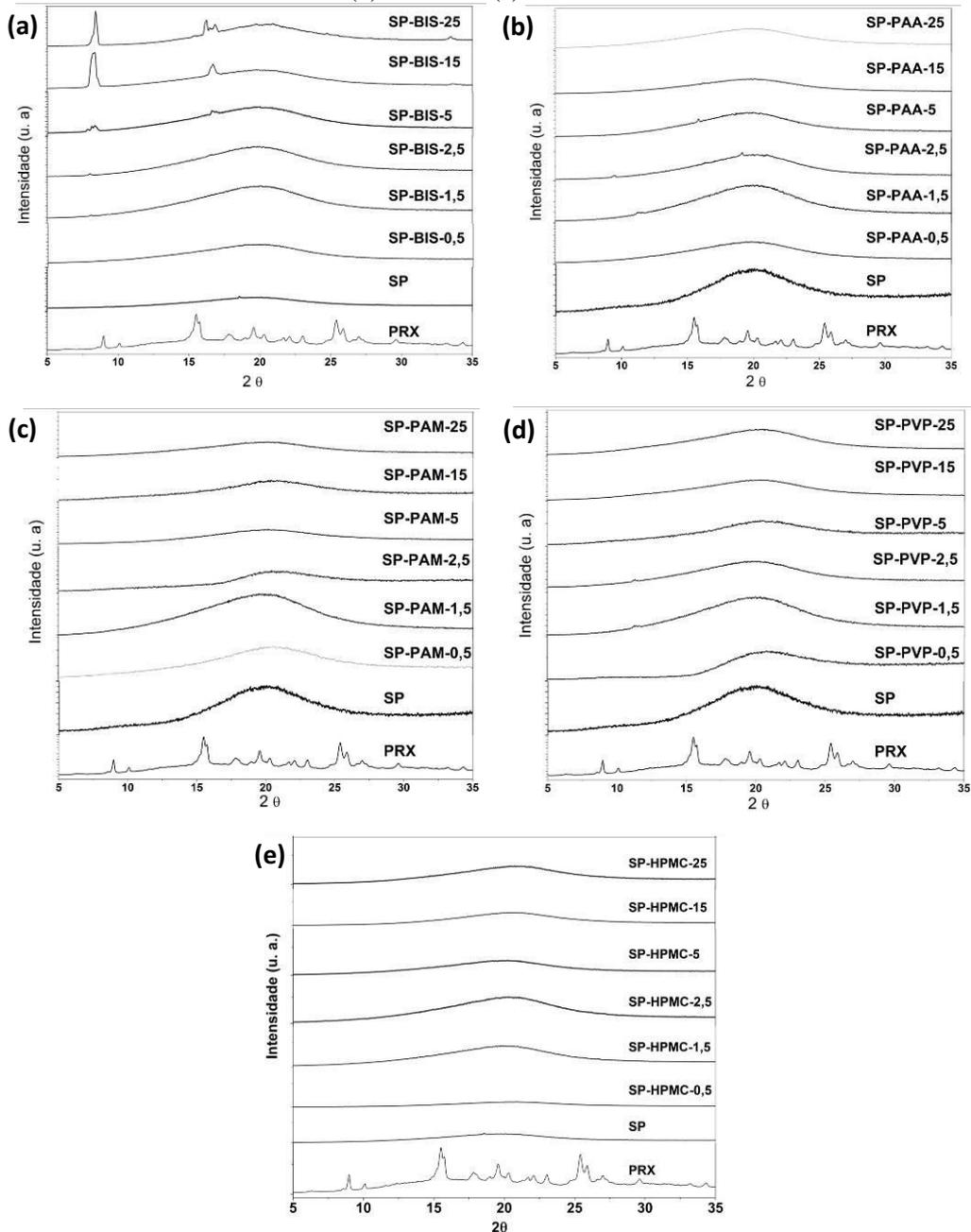
mostra que o teor de hidrogel não altera a formação dos agregados amorfos de silício. Os picos relativos ao piroxicam não são observados, e revela que o fármaco encontra-se idssocido na matriz nanocompósita ou até mesmo em cristalitos não mensuráveis. As curvas das amostras preparadas com SP-BIS; SP-PAA; SP-PAM; SP-PVP e SP-HPMC não são mostradas e revelaram o mesmo perfil cristalográfico da amostra SP-PAM no estado úmido.



Quando as amostras são submetidas ao processo de secagem à 40°C em estufa, por 48 horas, observa-se a formação de piroxicam cristalino em função do hidrogel utilizado para a amostra SP-BIS, conforme observado na Figura III.06 (a), (b), (c), (d) e (e). A figura, com $5^\circ \leq 2\theta \leq 35^\circ$ mostra que independente do tipo de hidrogel utilizado observa-se a presença do pico alargado centrado em torno de $2\theta = 22^\circ$ referente a contribuição dos agregados amorfos de siloxano. Porém, pode-se observar a presença de picos de difração para amostras SP-BIS, os picos, centrados em $2\theta = 8,29^\circ$ e $2\theta = 16,1^\circ$ são verificados para amostras com quantidade de BIS superiores a 2,5%. Estas contribuições podem ser indexadas como a fase polimórfica II do piroxicam (VREČER et al., 2003). Este resultado permite avaliar a solubilidade do princípio ativo PRX nas amostras preparadas com BIS. A medida que se aumenta a quantidade de BIS na constituição do compósito uma maior quantidade de PRX cristalino é formado, revelado

pelo aumento da intensidade destas contribuições nos difratogramas. Nos difratogramas das amostras SP-PAA; SP-PAM; SP-PVP e SP-HPMC não são observados picos de difração relativos ao fármaco, mostrando uma maior solubilidade deste princípio ativo nestas amostras comparadas as amostras preparadas com BIS. Este resultado pode indicar maior facilidade de difusão do fármaco através da matriz, uma vez que se apresenta na forma dissociada.

Figura III.06 - Difratograma das amostras secas de (a) SP-BIS; (b) SP-PAA; (c) SP-PAM; (d) SP-PVP e (e) SP-HPMC.



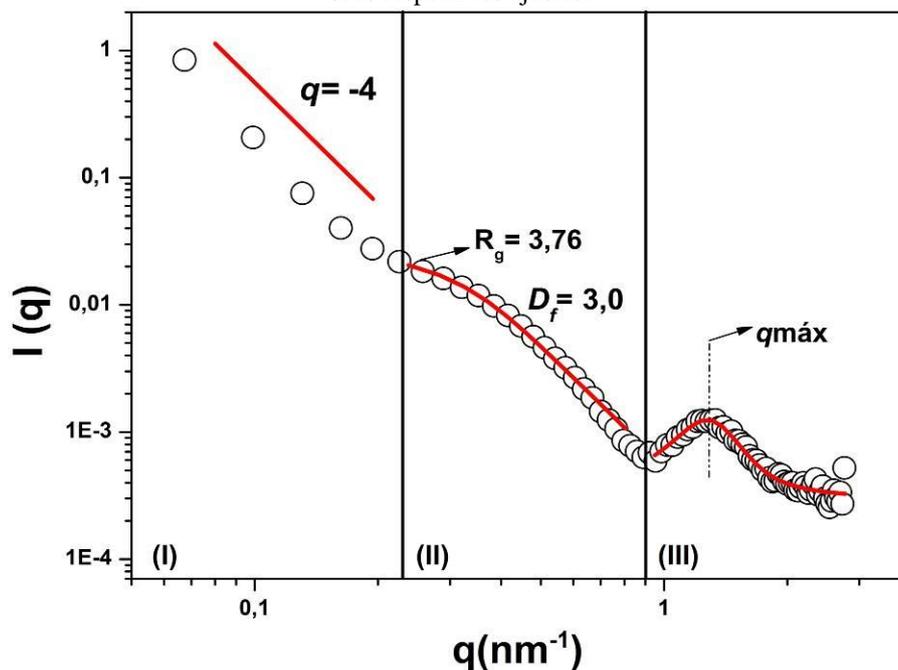
Fonte: Elaborado pelo Autor

4.3 CARACTERIZAÇÃO NANOESTRUTURAL

A caracterização por Espalhamento de raios X à baixo ângulo foram realizadas no intuito de verificar o caráter dos nanocompósito SP; SP-PVP; SP-PAM e SP-BIS relativo a sua organização nanoestrutural.

A Figura III.07 mostra a curva de espalhamento de raios X à baixo ângulo no intervalo entre $0,05 \leq q \leq 2,70 \text{ nm}^{-1}$ para a amostra SP. De maneira geral pode-se observar na curva três regiões principais, numerados na figura: (I) Para $q \leq 0,18 \text{ nm}^{-1}$ um regime linear relativo aos domínios de partículas maiores; (II) para q entre $0,18 \leq q \leq 0,8$ um regime tipo fractal de massa e (III) para $q \geq 0,8$, um pico de correlação devido ao espalhamento dos agregados de siloxano.

Figura III.07 - Curva experimental de espalhamento de raios x à baixo ângulo da amostra de SP com seus respectivos ajustes.



Fonte: Elaborado pelo Autor

O comportamento da nanoestrutura da amostra sem presença de hidrogel é similar ao encontrado em sistemas compósitos contendo pigmentos orgânicos (AGASHE, 2001). Também pode ser encontrado em sistemas formados por partículas de sílica e de titânio preparadas em spray de arco voltaico (HYEON-LEE *et al.*, 1998). Em geral descreve-se o sistema como bifásico, constituído por partículas de alta densidade eletrônica, dispersas em uma fase de menor densidade eletrônica. Neste tipo

de sistema, partículas maiores coexistem com partículas menores na forma de agregados interconetados ou não.

A coexistência de grandes partículas com partículas menores pode ser constatado pela forma da curva de espalhamento destacadas como regiões (I) e (II) na figura. Enquanto que a região (II) pode ser descrita com o modelo teórico tipo fractal de massa, a região (I) possui coeficiente angular proporcional a q^{-4} , e pode ser considerado como uma interface bem definida. O ajuste da região (II) com modelo teórico descrito no Capítulo II, item 3.2, resultou em dimensionalidade fractal (d_f) igual a 3,0 e raio de giro (R_g) igual a 3,67 nm. Segundo o modelo, quando temos $d_f = 3,0$, a cinética de agregação pode ser entendida como crescimento monômero-cluster limitado pela reação, que leva a formação de agregados densificados. Adicionalmente, o coeficiente angular da região (I) igual a -4 revela uma interface definida entre a massa do agregado e o meio dispersante. Este comportamento é resultado dos agregados de siloxano dispersos na matriz de poliéter.

Os agregados dispersos no polímero estão espaçados regularmente no volume e geram uma interferência construtiva, que resulta na formação do pico de correlação observado na região (III) da figura.

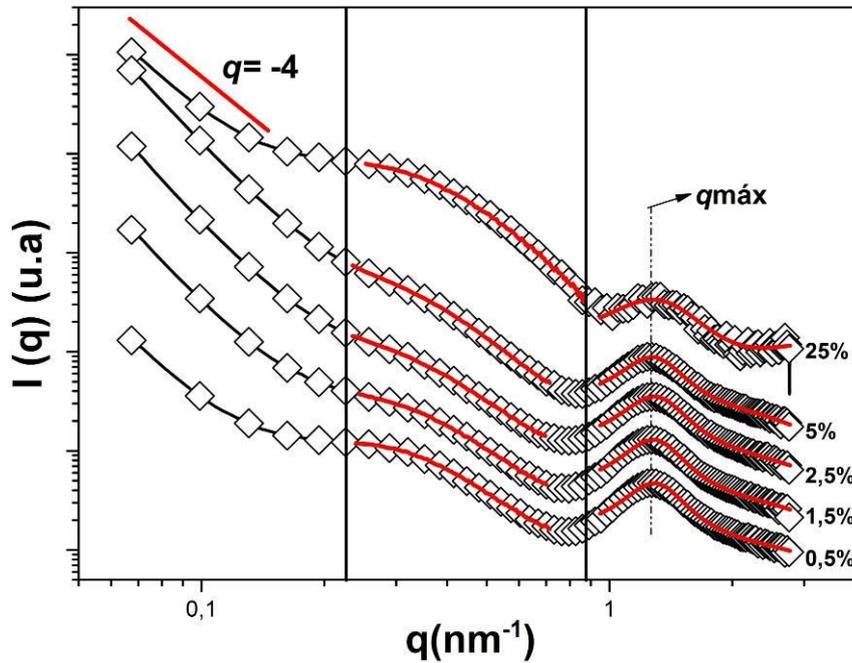
Enquanto que o valor de $q_{\text{máx}}$ do pico de correlação presente na região (III) da Fig. III.07 está envolvido com a distância entre os agregados de siloxano (d_s), a largura a meia altura do pico se relaciona com o limite do tamanho do ordenamento entre os agregados (L_c). O ajuste da curva experimental da região (III) com o modelo descrito no Capítulo II, item 3.2, resultou em $d_s=4,92$ nm e $L_c=24,23$ nm, de acordo com amostras similares obtidas por autores (DAHMOUCHE *et al.*, 1999).

Foi descrito acima o comportamento da nanoestrutura da matriz SP pura. Foram identificados diferentes comportamentos da nanoestrutura observados nas regiões (I), (II) e (III) na curva de SAXS. Apresenta-se a seguir seram os resultados de SAXS para amostras SP-PVP; SP-PAM e SP-BIS seguindo o mesmo formalismo utilizado acima.

As Figuras III.08, III.09 e III.10 mostram as curvas experimentais de espalhamento de raios X à baixo ângulo no intervalo entre $0,05 \leq q \leq 2,70 \text{ nm}^{-1}$ das amostras preparadas com diferentes porcentagem em massa de três diferentes hidrogéis: SP-PVP; SP-PAM e SP-BIS, respectivamente. São mostrados também, com linhas contínuas, os ajustes segundo modelos teóricos. De maneira geral o comportamento das amostras contendo hidrogel é similar a amostra pura, ou seja, pode-se observar três

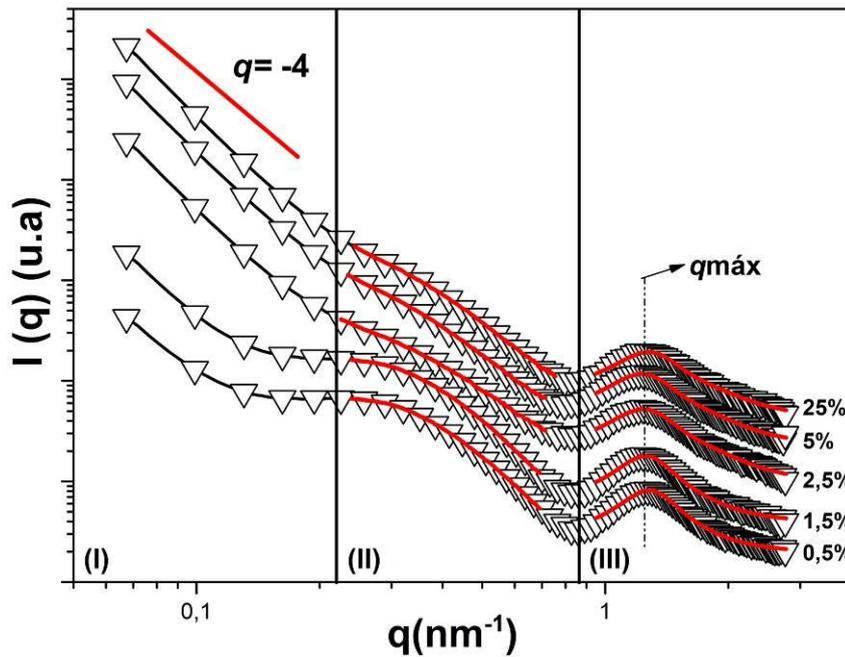
regiões principais: (I) Para $q \leq 0,18 \text{ nm}^{-1}$ um regime linear relativo aos domínios de partículas maiores; (II) para q entre $0,18 \leq q \leq 0,8$ um regime tipo fractal de massa e (III) para $q \geq 0,8$, um pico de correlação devido ao espalhamento dos agregados de siloxano.

Figuras III.08 - Curvas experimentais de espalhamento de raios X das amostras de SP-PVP.



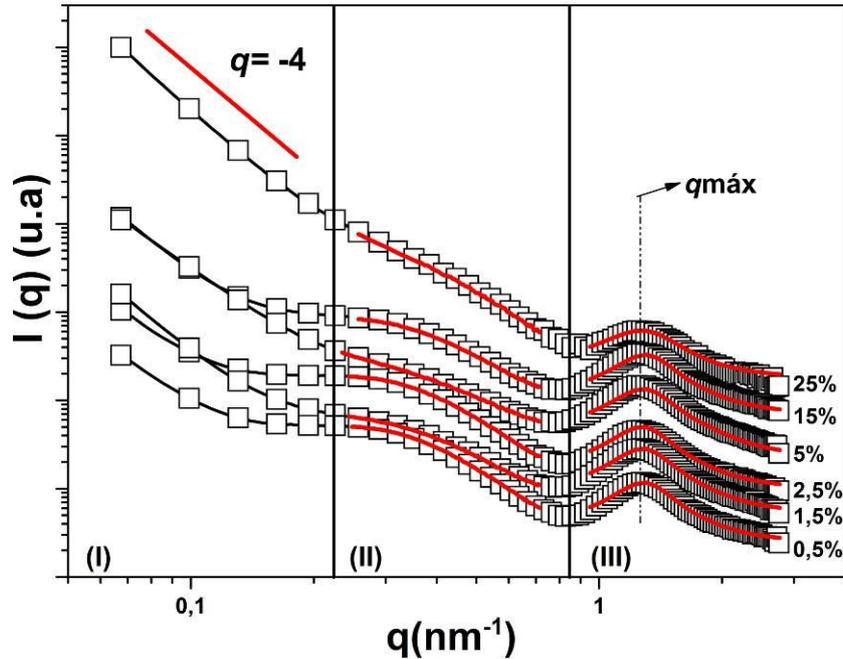
Fonte: Elaborado pelo Autor

Figuras III.09 - Curvas experimentais de espalhamento de raios X das amostras de SP-PAM.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Figuras III.10 - Curvas experimentais de espalhamento de raios X das amostras de SP-BIS.



Fonte: Elaborado pelo Autor

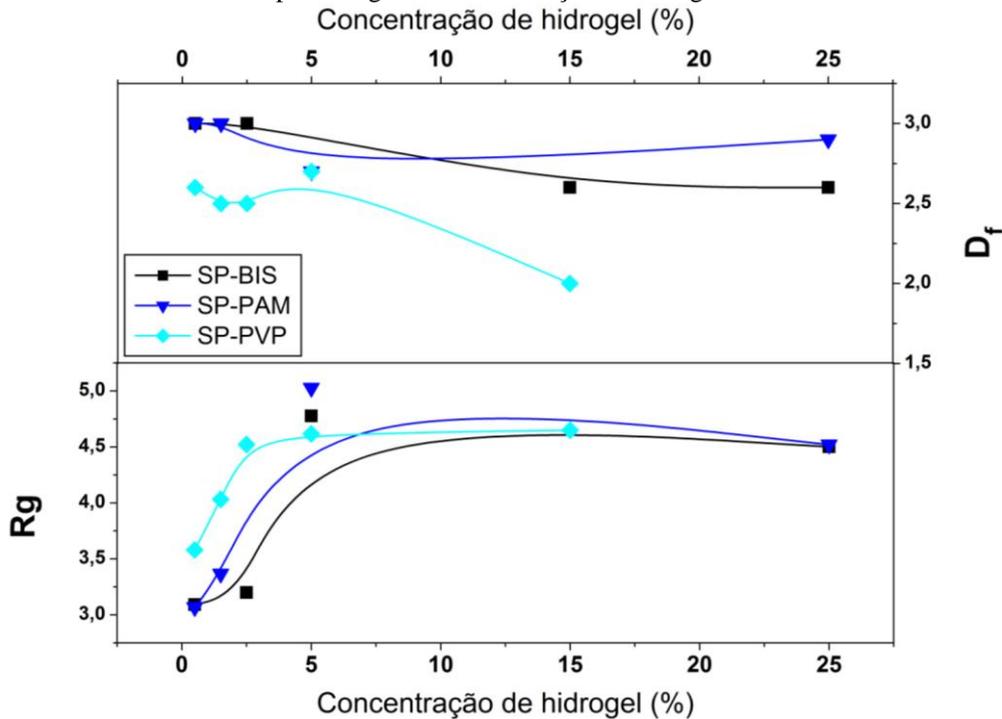
Os resultados do ajuste das curvas experimentais com o modelo de fractal de massa é mostrado na Figura III.11 abaixo. Observa-se que para todas as amostras o ajuste resultou em valores de d_f entre 2,0 e 3,0. É descrito que as cinéticas de crescimento são classificadas de acordo com os valores de dimensão fractal (SCHAEFER, 1988). Sistemas com dimensões fractais próximas a 3,0 se relacionam com o modelo de crescimento típico monômero-cluster limitado pela reação, enquanto que dimensões fractais próximas a 2,0 se relacionam com modelo de crescimento monômero-cluster ou cluster-cluster limitadas pela difusão. No primeiro caso a cinética de crescimento dos agregados gera estruturas densas e pouco ramificadas, já o segundo modelo leva a formação de estruturas mais abertas, menos densas e mais ramificadas. O aspecto de cada uma das estruturas pode ser observado na Figura A-07 do anexo I, item 1.3.1.

Outro fato interessante observado na Fig. III.11, é o comportamento distinto dos valores de d_f em função do hidrogel utilizado no preparo da amostra. O aumento do teor de hidrogel nas amostras SP-PAM e SP-BIS resultam em valores de d_f praticamente invariantes e próximos a 3,0, já nas amostras SP-PVP o aumento do teor de hidrogel leva a uma diminuição dos valores de d_f . Observe que mesmo em teores baixos de PVP (0,5%), o valor de d_f é menor do que os observados nas amostras preparadas com PAM ou BIS. Este resultado mostra que a cinética de crescimento dos agregados está

diretamente relacionada com o tipo de hidrogel utilizado na preparação do nanocompósito. Enquanto que nas amostras SP-PVP o modelo de crescimento dos agregados de siloxano é limitado pela difusão nas amostras SP-PAM e SP-BIS o crescimento é preponderantemente limitado pela reação.

Adicionalmente a Figura III.11 mostra que para todas as amostras observa-se o valor do R_g entre 3,0 e 5,0 nm. Observa-se ainda que o raio de giro aumenta exponencialmente em função do teor de hidrogel nos nanocompósitos e mostra que independentemente do hidrogel utilizado na síntese, o aumento de sua concentração altera os mecanismos de formação e crescimento das partículas primárias de siloxano. Nota-se ainda que para amostra preparada com PVP mesmo em baixos teores de hidrogel (0,5%) os valores de R_g são maiores dos observados para as amostras preparadas SP-PAM e SP-BIS.

Figura III.11 - Correlação dos valores de raio de giro (R_g) e Dimensão fractal (d_f) e função da porcentagem da concentração de hidrogel.



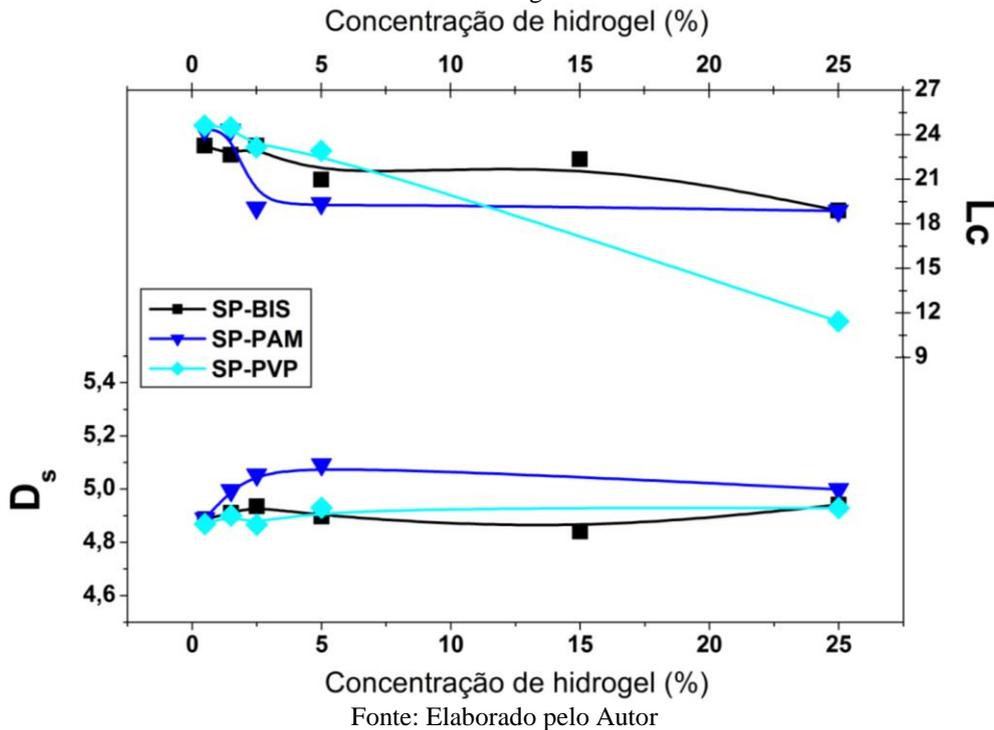
Fonte: Elaborado pelo Autor

Os resultados dos ajustes da curvas experimentais da região (III) com o modelo descrito no item 3.2. é mostrado na Figura III.12. Para todas as amostras o valor de d_s é praticamente constante e próximo a 5,0. Na realidade os valores de d_s , distância entre os agregado de siloxano, estão correlacionados com o tamanho da cadeia de poliéter do

precursor híbrido (SP), que por estar ligado covalentemente com siloxano, impõe a distância entre os agregados.

Pode-se observar na Figura III.12 que o aumento do teor de hidrogel perturba o limite de correlação espacial entre os agregados (L_c). Nota uma diminuição dos valores de L_c em função da concentração de hidrogel. Este efeito é mais pronunciado na amostra de SP-PVP e pode estar relacionado a diferença nas características físico-químicas do hidrogel.

Figura III.12 - Valores de L_c e d_s das curvas de SP-PAM; SP-BIS e SP-PVP em função da porcentagem de hidrogel.



Conforme observado na Figura II.01, a fórmula molecular dos hidrogéis PAM e BIS mostram grupamentos químicos (hidroxila, carbonila e amina) capazes de realizar ligações de hidrogênio, enquanto que o PVP é formado basicamente por cadeias de hidrocarboneto. A diferença nas estruturas químicas dos hidrogéis pode explicar a diferença de comportamento da cinética de crescimento dos agregados de siloxano em cada um dos casos (PAM e BIS limitados pela reação e PVP limitado pela difusão). De acordo com as equações químicas 01 à 03 (Capítulo I, item 1.2), as etapas de formação do agregado de siloxano envolvem reações de hidrólise e de condensação. Deste modo, ao final da reação de hidrólise nas amostras contendo PAM e BIS, os precursores silanóis (monômeros), interagem com os grupamentos hidrofílicos destes hidrogéis,

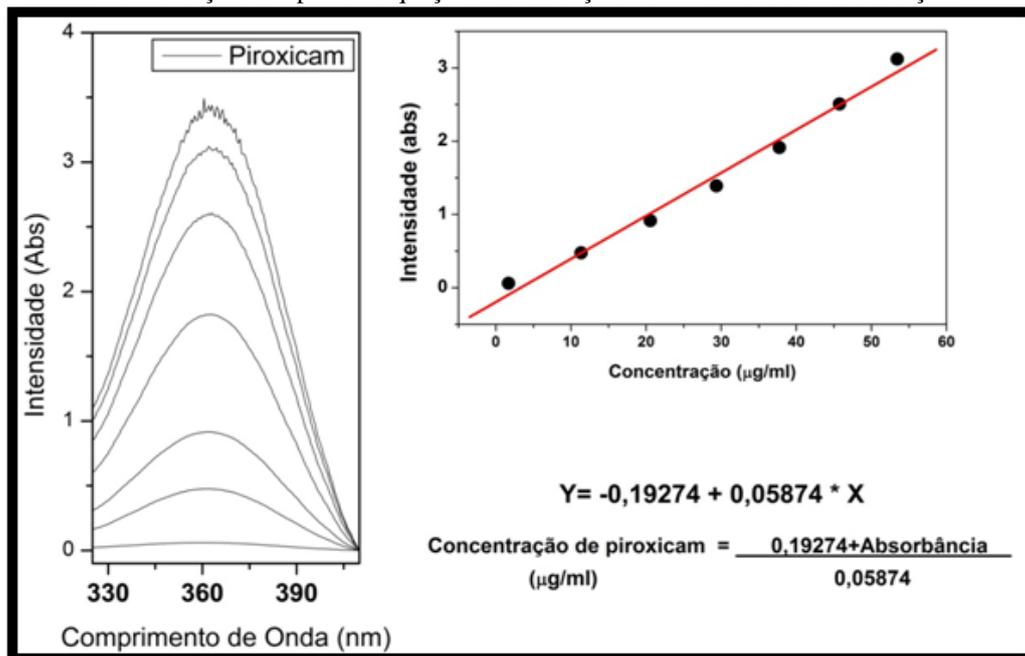
gerando uma menor disponibilidade de silanóis para a reação de condensação, o que resulta em um mecanismo de crescimento limitado pela reação. No caso do PVP, por se tratar de um polímero com características mais hidrofóbicas quando comparado ao PAM e ao BIS, a interação com silanóis é menos intensa, alterando o mecanismo de crescimento dos agregados como limitado pela difusão. Este efeito pode estar relacionado a menor difusão dos monômeros silanóis no ambiente menos hidrofílico contendo PVP.

4.4 ENSAIO DE LIBERAÇÃO

Os ensaios de liberação foram realizados conforme descrito no Capítulo II, no item 3.3. O estudo foi realizado com intuito de avaliar o perfil de liberação do fármaco piroxicam em amostras SP; SP-PVP, SP-BIS; SP-PAM; SP-PAA e SP-HPMC com diferentes porcentagens em massa do hidrogel (25%, 15% e 5%).

A Figura III.13 abaixo mostra a curva de calibração do piroxicam monitorada em 360 nm, da intensidade absorvida em função da concentração de piroxicam em µg/ml. Observa-se uma boa linearidade dos pontos de absorbância obtendo um coeficiente de regressão de 0,9933. Pode-se observar na figura a equação que correlaciona a absorbância com a concentração do ativo.

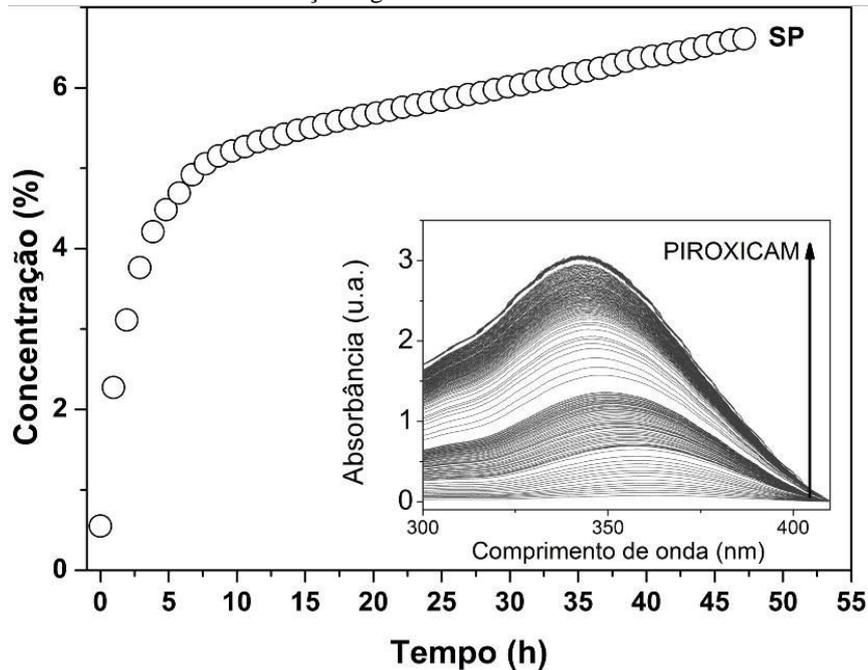
Figura III.13 - Curvas de absorbância na região UV-Vis de soluções aquosas de piroxicam, e sua curva de calibração e respectiva equação de correlação de absorbância e concentração.



Fonte: Elaborado pelo Autor

A Figura III.14 mostra a porcentagem de piroxicam liberado em função do tempo para amostra sem hidrogel SP. O *in-set* na figura destaca as curvas de absorção registrada em 354 nm em função do tempo. Pode-se observar que a liberação máxima do fármaco para amostra SP é de 6,63% e é sustentada por até 48 horas. Nota-se na curva dois comportamento distinto no perfil de liberação, inicialmente para $t < 6$ h observa-se uma cinética de liberação rápida e para $t > 6$ h uma cinética de liberação mais lenta.

Figura III.14 - Cinética de liberação e gráfico da absorbância do Piroxicam da amostra SP.



Fonte: Elaborado pelo Autor

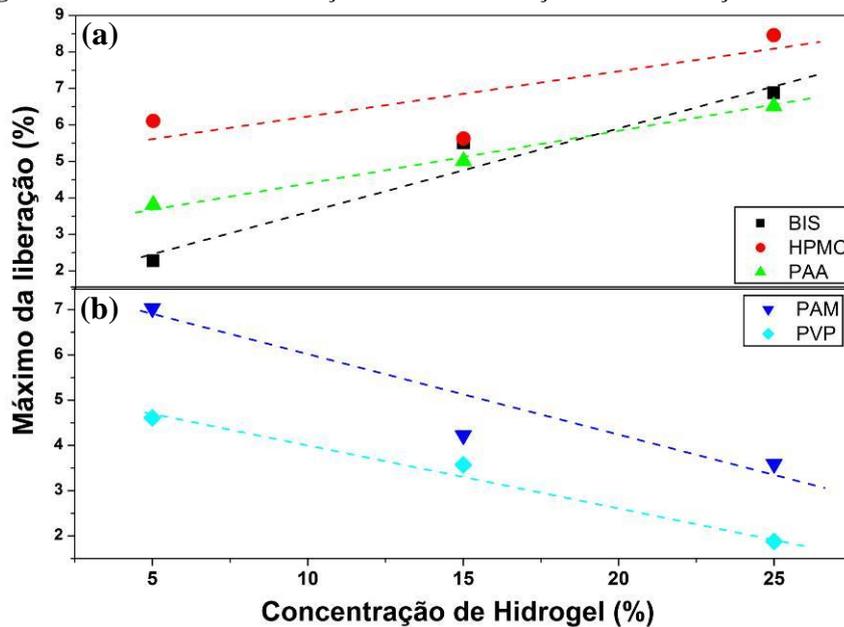
As amostras SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP foram monitoradas seguindo o mesmo método da amostra SP pura. A Tabela 1 mostra a quantidade máxima do fármaco liberada após 48 horas de monitoramento para as diferentes amostras estudadas. Observa-se que a concentração máxima liberada está entre 1,88 e 8,46 % e depende fortemente do tipo do hidrogel bem como da sua porcentagem em massa nas amostras. Os valores de máximo de liberação em 48 horas encontram-se traçados na Figura III.15 para melhor visualização.

Tabela 1. Porcentagem dos valores das liberações de piroxicam em 48 horas.

Amostras	Hidrogel (%)	Ativo liberado em 48 horas (%)
SP-BIS	25	6,88
	15	5,51
	5	2,28
SP-HPMC	25	8,46
	15	5,63
	5	6,11
SP-PAA	25	6,51
	15	5,01
	5	3,81
SP-PAM	25	3,59
	15	4,22
	5	7,03
SP-PVP	25	1,88
	15	3,57
	5	4,61
SP	0	6,63

Fonte: Elaborado pelo Autor

Figura III.15 - Valores de liberação máxima em função da concentração de hidrogel.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Observa-se na Figura III.15(a) e (b), que compara as porcentagens máximas de ativo liberado após as 48 horas, comportamentos distintos dependendo do tipo de hidrogel utilizado na preparação das amostras. Pode-se observar um comportamento linear do máximo da liberação com o teor de hidrogel, este efeito permite agrupar as amostras em dois grupos. No primeiro grupo, mostrado na Fig. III.15(a) as amostras SP-BIS, SP-HPMC e SP-PAA o máximo de ativo liberado em 48 horas aumenta com concentração de hidrogel. No segundo grupo, constituídos pelas amostras SP-PAM e

SP-PVP, observadas na Fig. III.15(b), observa-se a diminuição do máximo de ativo liberado com o aumento da concentração de hidrogel. Este resultado mostra que, assim como os mecanismos de crescimento dos agregados de siloxano são influenciados pelas características dos hidrogéis, os perfis de liberação também sofrem a influência das características hidrofílicas/hidrofóbicas destes polímeros.

Segundo autores os perfis de liberação de um dado fármaco dependem, dentre eles de fatores relacionados com as interações do fármaco e sua matriz (BHATTARAI *et al.*, 2010; HOARE *et al.*, 2008). Conforme apresentado no Capítulo I, item 1.3, o logaritmo do coeficiente de partição para o piroxicam é igual a 1,8, o que mostra uma característica bastante hidrofóbica, de fato a solubilidade do piroxicam em água é igual a 23mg/L. Deste modo, no caso das amostras preparadas com hidrogéis de características mais hidrofílicas, ou seja, com BIS, HPMC e PAA, a interação do fármaco com a matriz resultante é baixa, o que leva a um maior número de moléculas de piroxicam disponíveis para o meio receptor nos ensaios de liberação. Por outro lado a diminuição do máximo liberado do ativo com o aumento da concentração de PVP pode ser entendida pelo efeito contrário, a maior interação do fármaco com a matriz resultante mais hidrofóbica contendo PVP diminui o número de moléculas liberadas para o meio receptor.

A influência da característica do hidrogel é similar tanto para cinética de crescimento dos agregados de siloxano quanto para liberação do fármaco de estudo. Nas contendo PVP, de características mais hidrofóbicas, foi constatado uma menor interação com os grupamentos silanóis e uma maior interação com a fármaco alterando os mecanismo de agregação e o perfil de liberação. Nas amostras contendo BIS, de características menos hidrofóbicas, observou-se o comportamento inverso, uma maior interação com os grupamentos silanóis favorecendo cinéticas limitadas pela reação e uma menor interação com o fármaco favorecendo a liberação com o aumento do seu teor. Este resultado revela a correlação entre as propriedades resultantes de liberação com as características nanoestruturais e de interações moleculares no sistema. Entretanto as amostras preparadas com PAM revelaram comportamento anômalo, o que pode estar relacionado a diferentes interações moleculares do PAM com o silanóis e do PAM com o fármaco. Conforme descrito no modelo de liberação de Korsmeyer-Peppas (KORSMEYER *et al.*, 1983) o aumento da viscosidade do sistema influencia diretamente o retardo da liberação de um dado ativo por uma matriz polimérica hidrofílica.

Para facilitar a determinação dos parâmetros da liberação segundo o modelo de Korsmeyer-Peppas optou-se para uma simplificação logarítmica da equação determinada pelo modelo. Resultando na Equação 13 descrita a seguir.

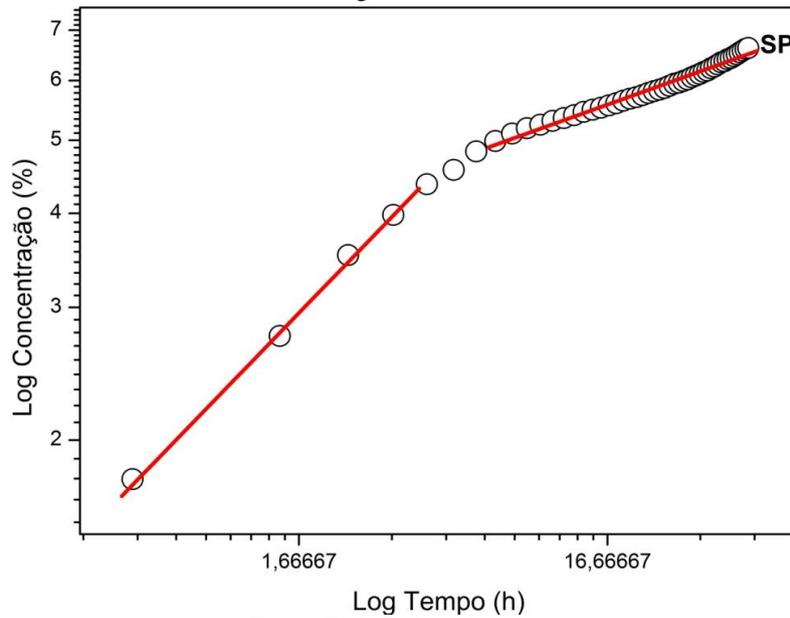
$$\log(M_t/M_\infty) = \log k + n \log t \quad \text{Equação 13}$$

Esta simplificação é uma equação de regressão linear onde n é o coeficiente angular e o $\log k$ é o coeficiente linear.

A Figura III.16 mostra a curva experimental em escala bi-logarítmica do perfil de liberação da amostra SP. É mostrada também os ajustes lineares de acordo com a Equação 13, no qual o expoente n se relaciona com o mecanismo de liberação. Observa-se na figura dois regimes distintos de liberação, o inicial com valores de n próximos a 0,40 e o final com valores de n próximos a 0,15. Segundo apresentado na Tabela 2 os valores de n segundo modelo de Ritger-Peppas (RITGER *et al.*, 1987) estão relacionados com o mecanismo de liberação do ativo de uma dada matriz. Valores de n próximos 1,0 estão relacionados com mecanismos de liberação do tipo ordem zero onde a liberação do ativo é independente do tempo. Valores de n entre 0,89 e 1,0 estão relacionados a liberação de transporte caso II, que são regidas pelo fenômeno do intumescimento do polímero. Valores de n entre 0,5 e 0,89 são relacionadas a difusão anômala (não fickiana), ou seja, a combinação de mecanismos de difusão e transporte caso II (erosão e intumescimento). Para valores de n igual a 0,5, o mecanismo principal, que controla a liberação do ativo é a difusão Fickiana clássica. Já para valores de n inferiores a 0,5, o mecanismo de liberação é regido por uma dissolução por poros. Na realidade segundo autores, os mecanismos de liberação nestas matrizes poliméricas, podem ser explicadas pela relação complexa entre intumescimento, dissolução, difusão e erosão (KORSMEYER *et al.*, 1983).

Neste caso, os mecanismos de liberação da amostra SP refere-se, a primeira fase, a dissolução dos componentes constituintes na matriz (álcool e Triton-X) juntamente com fármaco e a segunda relaciona-se a dissolução do fármaco regido unicamente pelos poros formados pelos agregados de siloxano e sua cadeia de poliéter. No entanto os mecanismos de liberação no nanocompósito estudado ocorre simultaneamente definindo valores de n que se aproximam aos mecanismos citados de forma difusa.

Figura III.16 - Ajuste linear da curva experimental da cinética de liberação da amostra SP em escala bi-logarítmica.



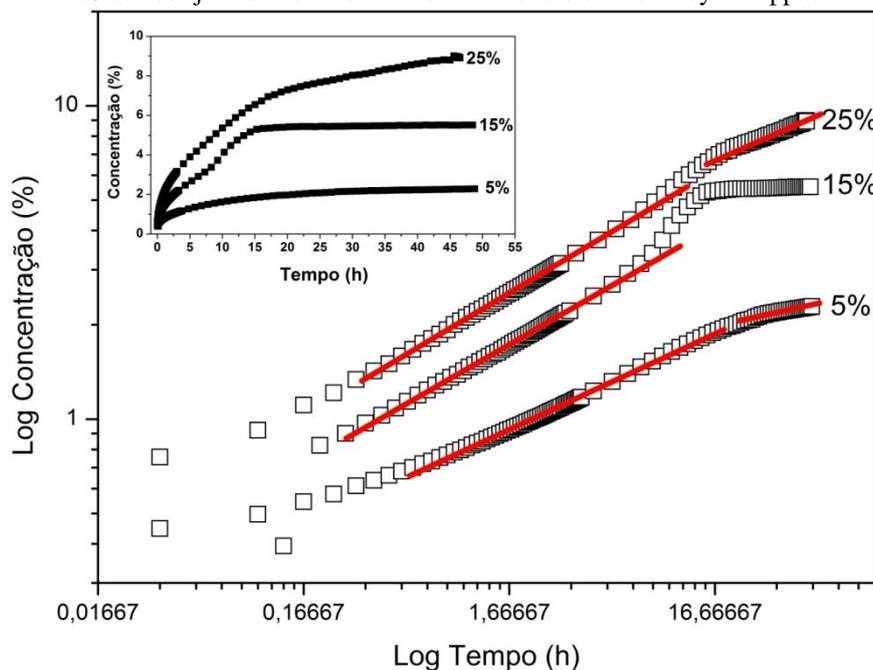
Foi descrito acima o comportamento da amostra SP pura. A seguir serão analisados as amostras preparadas com diferentes porcentagem em massa dos demais hidrogéis estudados: SP-BIS; SP-HPMC; SP-PAM; SP-PAA e SP-PVP em três diferentes concentrações 25%, 15% e 5% seguindo o mesmo formalismo descrito acima.

As Figuras III.17, III.18, III.19, III.20 e III.21 mostram as curvas experimentais em escala bi-logarítmica do perfil de liberação das amostras SP-BIS, SP-HPMC e SP-PAA, SP-PAM e SP-PVP respectivamente. São mostradas também na figura os ajustes lineares das curvas e o in-set na figura mostra as curvas da porcentagem de ativo liberada em função do tempo para cada teor do hidrogel utilizado. Observa-se nas figuras os dois mecanismos de liberação distintos observados nas matrizes nanocompósitas sendo definidas pela inclinação das curvas da região inicial e final. Para todas as curvas o primeiro regime de liberação é majoritariamente regido pela dissolução dos componentes da matriz (álcool e Triton-X) assim como erosão dos hidrogéis e o segundo regime relacionado unicamente com a dissolução por poros formados pela matriz de siloxano-poliéter.

A Tabela 2, mostra os valores de n , definidos pelas curvas experimentais, assim como os seus respectivos mecanismos de liberação que regem as matrizes nanocompósitas estudadas. Os valores de n , do primeiro regime, aumentam proporcionalmente ao teor de hidrogel nas amostras SP-BIS, SP-HPMC e SP-PAA. E

para as amostras SP-PAM e SP-PVP o valor de n , para o primeiro regime, diminui conforme o teor de hidrogel. Este resultado corrobora com os valores apresentados de liberação máxima, apresentando o mesmo comportamento, e está relacionado com o mecanismo de liberação por dissolução e erosão do hidrogel. Observa-se que os valores de n são menores aos definidos pelo modelo unicamente por estes mecanismos ocorrerem simultaneamente e demonstrando assim que a matriz nanocompósita produzida é regida majoritariamente por dissolução por poros da matriz de siloxano-poliéter, podendo ser modulada pelos hidrogéis e seus respectivos teores. No caso dos valores do segundo regime observa-se que os valores de n são menores para todas as amostras mostrando que após a erosão e dissolução do hidrogel no meio receptor, o mecanismo de liberação preponderante é a dissolução por poros.

Figura III.17 - Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-BIS sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Figura III.18 - Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-HPMC sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.

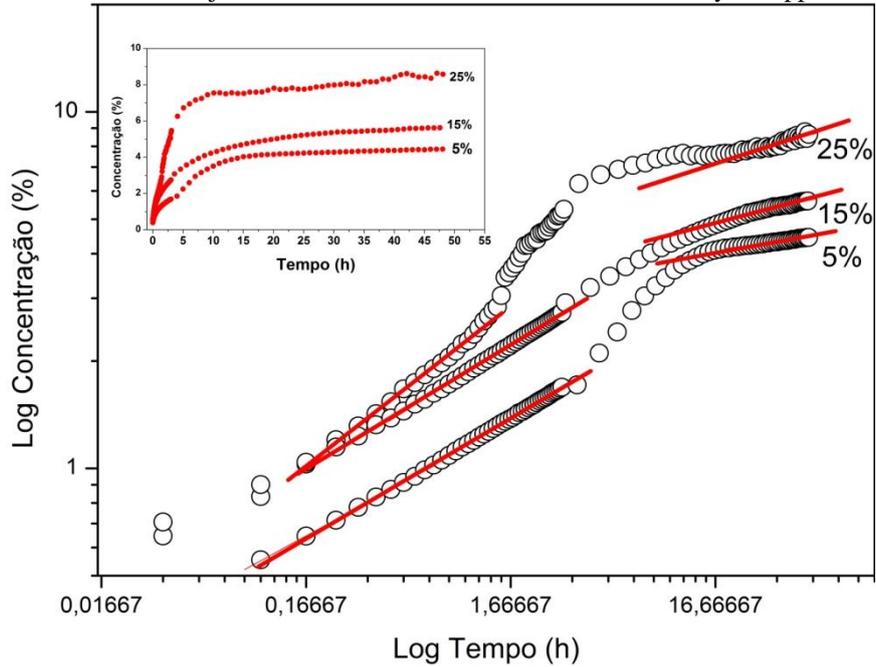


Figura III.19 - Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PAA sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.

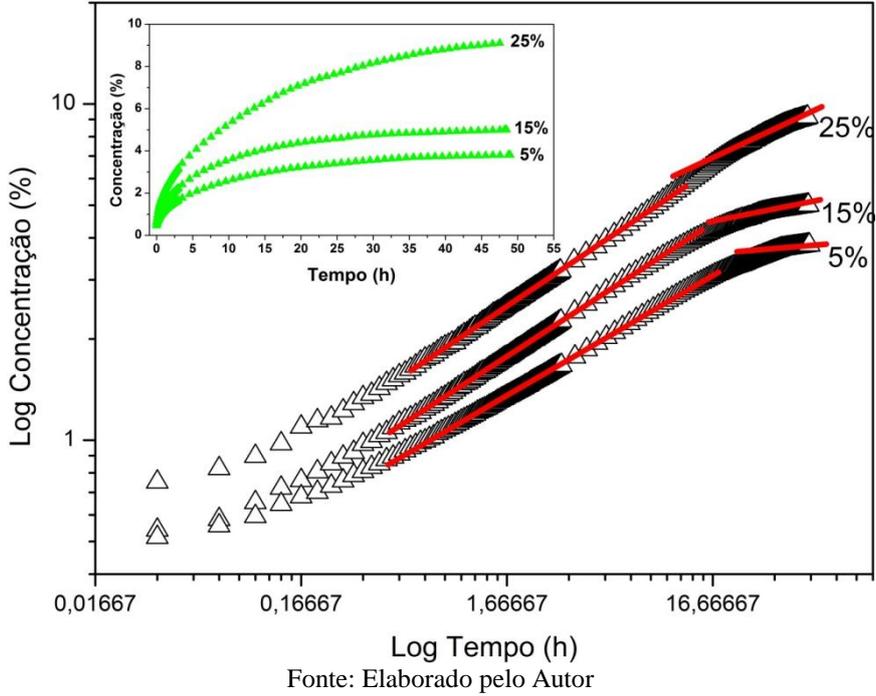
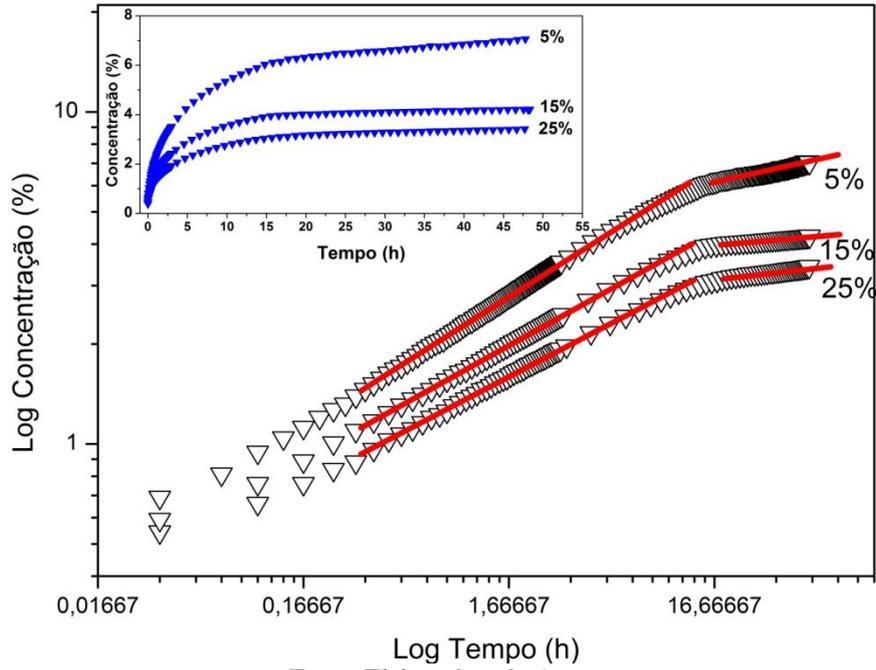
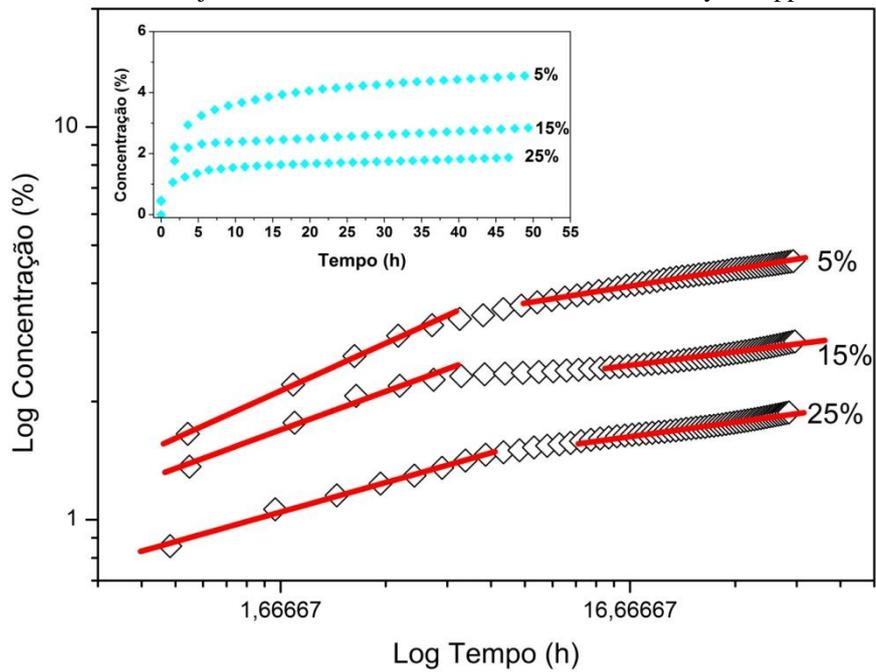


Figura III.20 - Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PAM sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Figura III.21 - Curvas experimentais da cinética de liberação em escala bi-logarítmica das amostras SP-PVP sob os ajustes linear de acordo com modelo de Korsmeyer-Peppas.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Tabela 2. Expoente de difusão e mecanismo de liberação dos nanocompósitos produzidos

<i>Amostras</i>	<i>n</i> <i>Primeiro regime</i>	<i>n</i> <i>Segundo regime</i>	<i>Mecanismos de liberação</i>
SP-BIS	25%	0,39	Dissolução materiais porosos e Dissolução/erosão dos hidrogéis.
	15%	0,38	
	5%	0,31	
SP-HPMC	25%	0,45	
	15%	0,35	
	5%	0,34	
SP-PAA	25%	0,41	
	15%	0,40	
	5%	0,36	
SP-PAM	25%	0,32	
	15%	0,34	
	5%	0,39	
SP-PVP	25%	0,25	
	15%	0,32	
	5%	0,40	
SP	0,42	0,14	

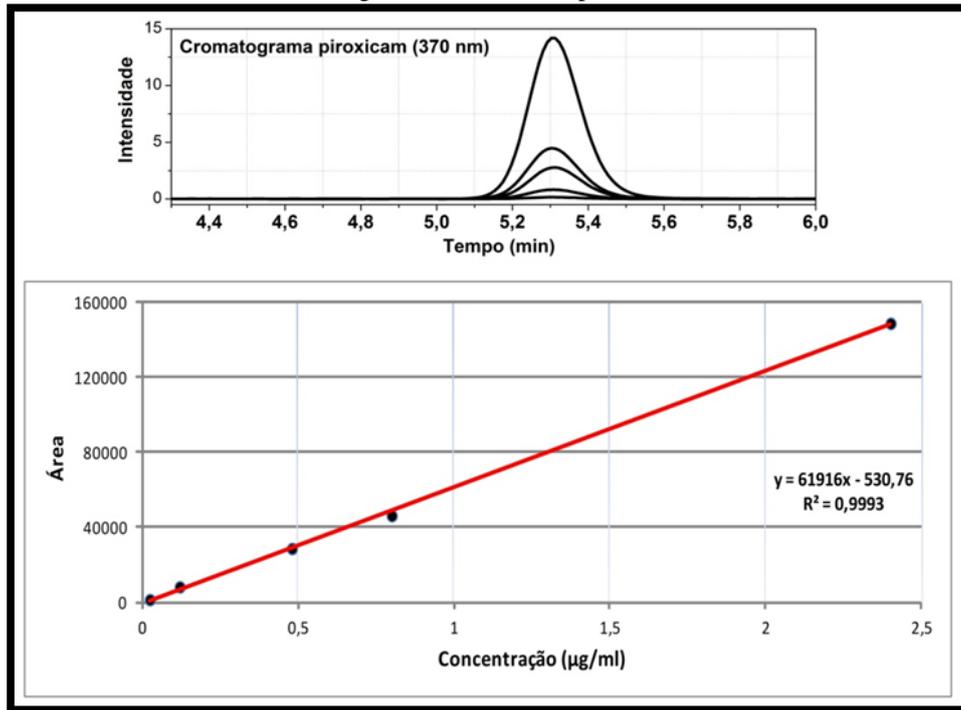
Fonte: Elaborado pelo Autor

Os valores apresentados revelam que todas as amostras respeitam os mesmos mecanismos de dissolução de materiais porosos com influência da dissolução e erosão dos hidrogéis e mostra ainda que o teor de hidrogel modula mesmo que sutilmente estes mecanismos de liberação.

4.5 ENSAIO DE PERMEAÇÃO TRANSDÉRMICA *IN VITRO*

Os ensaios preliminares de permeação foram realizados conforme descrito no Capítulo II no item 3.4. A Figura III.22 mostra a curva de calibração do piroxicam do método realizado para quantificação das medidas de permeação através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e seu respectivo cromatograma com absorbância observada do piroxicam, no detetor UV, em 370nm. Nota-se na figura uma boa linearidade entre as concentrações de 0,024 à 2,4 µg/ml de princípio ativo, com um coeficiente de regressão igual à 0,9993. Observa-se também na figura o tempo de retenção de 5,305 minutos usado para avaliar as alíquotas retiradas durante o ensaio de permeação.

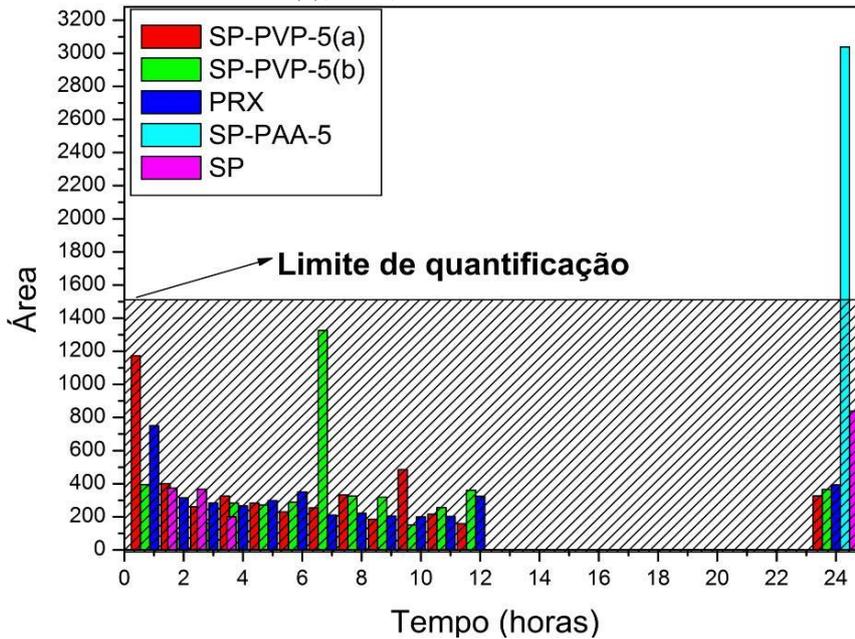
Figura III.22 - Cromatograma do piroxicam na faixa de 370nm e sua curva de calibração com equação da regressão linear correspondente.



Fonte: Elaborado pelo Autor

A Figura III. 23 mostra o gráfico com o limite de quantificação do método utilizado para as análises preliminares de permeação, assim como os valores das áreas obtidas dos cromatogramas das alíquotas coletadas em função do tempo. Como mostrado na Figura, as alíquotas de SP-PVP-5(a) e (b), PRX e SP apresentaram valores de áreas abaixo do limite de detecção, evidenciando que através do método de quantificação determinado para o piroxicam neste trabalho, houve, qualitativamente, permeação mas não pode ser quantificado. Somente a amostra SP-PAA-5 mostrou-se capaz de ultrapassar o limite de quantificação determinado pelo método assim como observa-se no gráfico expresso na figura.

Figura III.23 - Gráfico representativo do ensaio de liberação com os valores das áreas dos picos cromatográficos das alíquotas retiradas em função do tempo de permeação das amostras SP-PVP-5(a) e (b); PRX; SP-PAA-5 e SP.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Além do ensaio preliminar de permeação nos fornecer resultados qualitativos e quantitativos da eficácia da permeação, podemos quantificar também o ativo retido no estrato córneo e na epiderme. A quantificação do ativo no estrato córneo e na epiderme foi realizado seguindo a correlação estatística do teste de recuperação do piroxicam em metanol. A Tabela 3 mostra o resultado do teste de recuperação de piroxicam em metanol, mostrando valores considerados bons, entre 103 e 120%, seguindo recomendação da ANVISA (70-120%). (BRASIL, 2003).

Tabela 3. Recuperação do piroxicam em metanol

Concentração teórica (µg/ml)	Concentração obtida (µg/ml)	Recuperação	Média (%)
0,5	0,60	120	120
	0,59	118	
	0,61	122	
1	1,13	113	111
	1,06	106	
	1,16	116	
2	2,14	107	106
	2,07	103	
	2,16	108	

Fonte: Elaborado pelo Autor

A quantidade de ativo retido no estrato córneo, na epiderme e a quantidade permeada na pele está descrito na Tabela 4 abaixo. Observa-se que o ativo foi permeado e quantificado apenas na amostra SP-PAA-5 após 24 horas com cerca de 790 nanogramas do ativo, representando 0,83 % da porção liberada do fármaco que permeou a pele. A quantidade de piroxicam retido na pele foi superior em todas as amostras comparadas com a solução de piroxicam livre, usado como controle para este tipo de teste. Este resultado mostrou que todas as matrizes nanocompósitas auxiliam a penetração do ativo na pele. Observa-se também que a amostra contendo PVP preparado sobre a pele (SP-PVP-5(b)) mostrou uma maior penetração na pele comparada com todas as amostras, com valores de retenção do ativo na epiderme e derme de 1,69% e no estrato córneo de 2,59 %.

Tabela 4. Taxa de piroxicam retido na epiderme e no estrato córneo e taxa de permeação.

	Epiderme (%)	Estrato Córneo (%)	Permeado (ng)	Permeado (%)
SP-PVP-5(a)	1,31	1,43	x	x
PRX	0,35	0,74	x	x
SP-PVP-5(b)	1,69	2,59	x	x
SP	1,26	0,92	x	x
SP-PAA-5	0,85	2,35	790	0,83

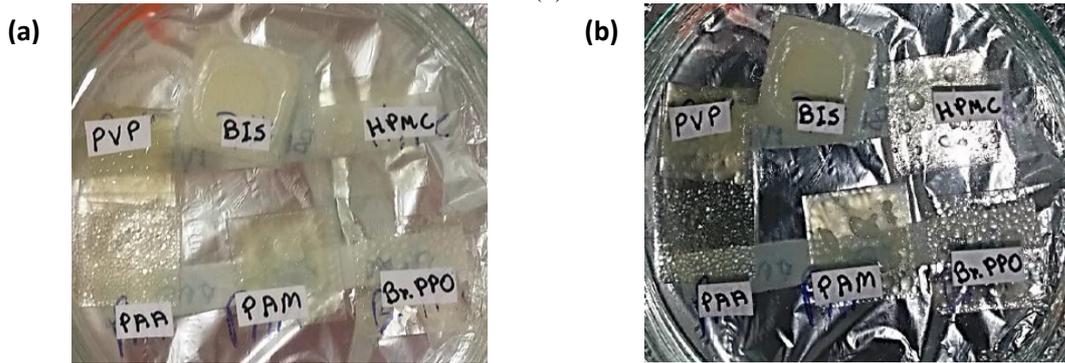
Fonte: Elaborado pelo Autor

4.6 ENSAIO TOXICOLÓGICO

Os ensaios de toxicidade foram realizados conforme descrito no Capítulo II no item 3.5.

A Figura III.24 mostra as características gerais dos filmes antes de iniciar o ensaio. Observa-se nas figuras o grau de hidratação dos filmes quando em contato com o ar. Após as 48 horas de incubação das amostras após o processo descrito no Capítulo II, item 3.5 observou-se que as culturas não apresentaram contaminação. Porém não foi possível observar as células que estavam sobre o filme ao microscópio, uma vez que a superfície não permitia a passagem de luz adequadamente. No entanto células observadas fora da superfície (havia escorrido para as demais áreas do poço) apresentavam morfologia de células mortas, com exceção do grupo controle que apresentavam a morfologia usual dessa linhagem.

Figura III.24 - Fotografia das amostras SP-PVP, SP-BIS, SP-HPMC, SP-PAA, SP-PAM e SP (a) sem Flash e (b) com Flash.



Fonte: Elaborado pelo Autor

A Figura III.25 mostra a foto dos meios de cultura e suas colorações após a incubação de 48 horas. Observa-se na figura a coloração diferenciada para cada grupo. O meio de cultura do grupo controle (dois últimos poços à direita da imagem) apresentam coloração rosada característica que indica pH na faixa de 7,4. Os demais poços apresentam uma coloração mais avermelhada que indicada mudança de pH para valores próximos a 7,0. Os grupos SP-PAA e SP-PAM apresentaram meio com coloração mais amarelada indicando pH abaixo de 6,5. Alterações no pH influenciam a viabilidade das células. Portanto, a observação de células mortas em alguns grupos pode ser indicativo da mudança de pH e não diretamente um efeito causado pela composição do filme.

Figura III.25 - Fotografia dos meios de cultura após a incubação de 48 horas.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Capítulo IV

Conclusão

5. CONCLUSÃO

Na caracterização molecular dos nanocompósitos de siloxano-poliéter, observou-se uma banda característica da ligação de Si-O-Si mostrando que houve reações de policondensação. A presença do Piroxicam é somente identificada na região em 875 cm^{-1} , que representa a deformação axial da ligação de C-H do anel aromático do PRX.

A caracterização de difração de raios X mostrou apenas a presença da fase polimórfica II, sendo definido pelo solvente extrator utilizado, etanol. Os difratogramas dos nanocompósitos preparados com diferentes frações dos hidrogéis mostraram que nas matrizes úmidas não houve cristalização do princípio ativo, porém nas matrizes secas de SP-BIS houve a presença do PRX cristalino. Através dessa análise pode se observar que o limite de solubilidade do PRX está relacionando com a fração de BIS nas amostras, apresentando-se abaixo da concentração de 2,5% de BIS. Para as demais amostras não houve picos de difração relativos ao PRX cristalino nas amostras úmidas e secas revelando excelente solubilidade do PRX nas matrizes.

A caracterização nanoestrutural revelou que o nanocompósito apresenta-se por um sistema bifásico, onde há uma distribuição de massa fractal de partículas menores e maiores coexistindo em uma fase de eletronegatividade distinta. Revelou-se que há influencia do hidrogel e o seu teor em função do regime de crescimento dos agregados fractais. As amostras apresentaram valores de d_f variantes de 3,0 a 2,0 sendo definido como um sistema com cinética de crescimento entre monômero-cluster limitado pela reação (SP-BIS e SP-PAM) e limitado pela difusão (SP-PVP), controlado pelas interações das porções hidrofílicas/hidrofóbicas dos hidrogéis nos grupamentos silanóis hidrolisados.

O ensaio de liberação mostrou dois regimes de liberação distintos, onde primeiro é regido pela dissolução e erosão dos hidrogéis no meio receptor e o segundo regime o mecanismo preponderante é o de dissolução por poros da matriz de siloxano-poliéter. O maior teor de PVP (mais porções hidrofóbicas) indicou menor taxa de liberação do ativo piroxicam (cerca de 1,88%). A maior taxa de liberação foi obtida na matriz nanocompósita com o maior teor de HPMC (mais hidrofílico), sendo este fenômeno atribuído a menor interação com o fármaco (hidrofóbico).

Nos ensaios de permeação pode-se evidenciar qualitativamente que houve permeação de piroxicam na pele e retenção do ativo nas camadas superficiais da pele

estrato córneo, epiderme e derme. Foi definido que para essas análises a forma com que o filme nanocompósito é aplicado sobre a pele influencia no ensaio. A amostra SP-PAA-5 foi a única que possibilitou a quantificação da taxa de permeação do piroxicam. Sendo encontrado cerca de 791 nanogramas de ativo permeado através da pele.

Os ensaios toxicológicos mostraram que o meio de cultura depositado nas amostras não se manteve em cima da superfície, escorrendo para fora. Comportamento que pode ser atribuído a característica hidrofóbica do nanocompósito. As células que se mostraram disponíveis para caracterização após a incubação dos meios de cultura com células de queratinócitos normais mostraram-se com morfologia de células mortas. No entanto observou-se que as amostras SP-PAA e SP-PAM o pH sofre variação para abaixo de 6,5, mostrando que para aplicação na pele não são adequados, uma vez que o pH da pele é em torno de 6,5. Para as demais amostras o pH variou de 7,4 para em torno de 7,0 o que define os filmes SP-HPMC, SP-PVP, SP-BIS e SP bons candidatos a aplicação tópica para liberação do ativo Piroxicam na pele.

No entanto conclui-se neste trabalho que o desenvolvimento de nanocompósitos de liberação modificada de ativo foi efetuado. Podendo correlacionar seus comportamentos nanoestruturais aos mecanismos de liberação do ativo Piroxicam.

6. REFERÊNCIAS

- Abdulkarim MF, Abdullah GZ, Chitneni M, Salman IM, Ameer OZ, Yam MF, Mahdi ES, Sattar MA, Basri M, Noor AM. Topical piroxicam in vitro release and in vivo anti-inflammatory and analgesic effects from palm oil esters-based nanocream. *International journal of nanomedicine*. 2010;5: 915-924.
- Agarwal R, Roy K. Intracellular delivery of polymeric nanocarriers: a matter of size, shape, charge, elasticity and surface composition. *Ther. Deliv*. 2013;4: 705-723.
- Agashe NR. Implications of aggregation and mass fractal nature of aggregates on the properties of organic pigments and polymer composites. Dissertação (Mestrado) Cincinnati, 2001.
- Ahuja A, Khar R, Ali J. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1997;23: 489-515.
- Almeida H, Amaral MH, Lobão P, Lobo JMS. Pluronic F-127 and Pluronic Lecithin organogel (PLO): Main Features and their applications in topical and transdermal administration of drugs. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2012; 15:(4) 592-605.
- Al-Oweini R, El-Rassy H. Synthesis and characterization by FTIR spectroscopy of silica aerogels prepared using several $\text{Si}(\text{OR})_4$ and $\text{R}'\text{Si}(\text{OR}')_3$ precursors. *J. Mol. Struct.* 2009;919: 140-145.
- Andrade CT, Coutinho FMB, Dias ML, Lucas EF, Oliveira CMF, Tabak D. Dicionário de polímeros. Rio de Janeiro: *Interciência*, 2001.
- Angelova N, Hunkeler D. Rationalizing the design of polymeric biomaterials. *Trends Biotechnol.*, Amsterdam, 1999;17: 409-421.
- Ates M, Karazehir T, Sarac AS. Conducting polymers and their applications. *Current Phys. Chem*. 2012;2: 224-240.
- Balcerzak J, Mucha M. Analysis of model drug release kinetic from complex matrices of polylactide-chitosan. *Progress on chemistry and application of chitin and Its*. 2010;15: 117-126.
- Bhattarai N, Gunn J, Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2010;62: 83-99.
- Biazar E, Roveimiab Z, Shahhosseini G, Khataminezhad M, Zafari M, Majdi A. Biocompatibility Evaluation of a New Hydrogel Dressing Based on Polyvinylpyrrolidone/Polyethylene Glycol. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012; 1-5.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

- Brinker CJ, Scherer GW. Sol-gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, *Academic Press*, San Diego, LA, 1990.
- Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica. Rio de Janeiro: *McGraw-Hill*, 2010.
- Chaker JA. Correlações entre estrutura e propriedades de condução iônica em materiais híbridos siloxano-poli (propileno óxido), dopados com sais de sódio e potássio. 2004. 160 f. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Instituto de Química. Araraquara.
- Chawla KK. Composite Materials - Science and Engineering, *Springer-Verlag*, N. York, 1998.
- Craievich AF, Kellermann G, Oliveira-Neto M, Lamas DG. Difração e espalhamento de raios-X por nanomateriais. Técnicas de nanocaracterização. 1ed.: *Elsevier*, 2015, v.3 , p. 129-196. In: Craievich AF *et al.*, (org) Róz AL *et al.* Técnica de nanocaracterização. 1ed.: *Elsevier*, 2015.
- Dahmouche K, Santili CV, Pulcinelli SH, Craievich AF. Small-angle X-ray scattering study of sol-gel derived siloxane-PEG and siloxane-PPG hybrid materials. *J. Phys. Chem.* 1999;B 103: 4937-4942.
- Dale MM, Haylet DG. Farmacologia condensada. Rio de Janeiro: *Elsevier*, 2010.
- Dash S, Murthy PN, Nath L, Chowdhury P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Res.* 2010;67: 217-223.
- Domingues JAL, Bonelli N, Giorgi R, Fratini E, Gorel F, Baglioni P. Innovative hydrogels based on Semi-Interpenetrating p(HEMA)/PVP Networks for the Cleaning of water-sensitive cultural Heritage Artifacts. *Langmuir* 2013;29: 2746-2755.
- Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LB, *et al.* Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb J.* 1998 Sep;12(12):1063-73.
- El-Sousi S, Nacher A, Mura C, Catalan-Latorre A, Merino V, Merino-Sanjuan M, *et al.* Hydroxypropylmethylcellulose films for the ophthalmic delivery of diclofenac sodium. *J Pharm Pharmacol.* 2013 Feb;65(2):193-200.
- Felton LA, McGinity JW. Adhesion of polymeric films to pharmaceutical solids. *European J. Phrm and Biopharm.* 1999;47: 3-14.
- Fish D, Khan IM, Smid J. Conductivity of solid complexes of lithium perchlorate with poly{[-methoxyhexa(oxyethylene)ethoxy]methylsiloxane}. *Macromol. Chem. Rapid. Commun.* 1986 Mar;7: 115-120.
- Hall PG, Davies GR, McIntyre JE, Ward IM, Bannister DJ, Le Brocq KMF. Ion conductivity in polysiloxane comb polymers with ethylene glycol. *Polym. Commun.* 1986 Feb;27: 98-100.

- Hamelmann F, Heinzmann U, Szekeres A, Kirov N, Nikolova T. Deposition of silicon oxide thin films in teos with addition of oxygen to the plasma ambient: ir spectra analysis. *J. Optoelectr. Adv. Mater.* 2005;7(1): 389-392.
- Hemler M, Lands WE. Purification of the cyclooxygenase that forms prostaglandins. Demonstration of two forms of iron in the holoenzyme. *J Biol Chem.* 1976 Sep 25;251(18):5575-9.
- Herschman HR. Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta.* 1996 Jan 5;1299(1):125-40.
- Higgs GA, Vane JR, Hart FD, Wojtulewski JA. Effects of anti-inflammatory drugs on prostaglandins in rheumatoid arthritis. In Prostaglandin Synthase Inhibitors Robinson HJ, Vane JR (eds). New York, **Raven Press**, 1974; 165-173.
- Higuchi, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.*, New York 1963;52: 1145-1149.
- Higuchi, T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *J. Pharm. Sci.*, New York 1961;50: 874-875.
- Hiratsuka RS, Santilli CV, Pulcinelli SH. O processo sol-gel: Uma visão físico-química. *Quim. Nova* 1995;18: 171-180.
- Hoare TR, Kohane DS. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer* 2008;49: 1993-2007.
- Hyeon-Lee J, Beaucage G, Pratsinis SE, Vemury S. Fractal analysis of flame-synthesized nanostructured silica and titania powders using small-angle x-ray scattering. *Langmuir* 1998;14: 5751-5756.
- Itoa T, Yeoa Y, Highleya CB, Bellasa E, Benitezb CA, Kohanec DS. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronic acid and cellulose derivatives. *Biomater Sci.* 2007;28:975-83.
- Jabbar ASA, Hussein AA. Formulation and evaluation of Piroxicam liquid solid compacts. *Int. J. of Phar. And Pharma. Scien.* 2013;5.
- Jacobs IC, Mason NS. Polymer delivery systems concepts, in Polymers delivery systems: properties and applications, B. A. Charpentier, Editor, **American Chemical Society**: Washington, DC. 1993; 1-17.
- Janik M, Malarski Z, Mrozinski J, Wajcht J, Zborucki, Z. Influence of solvent effect on polymorphism of 4-hydroxy-2-methyl-N-2-pyridyl-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1dioxide(piroxicam). *J. Crystallogr. Spec. Res.* 1991;21: 519-522.
- Jenkins HL, Tresise JA. An adhesive-tape stripping technique for epidermal histology. *J. Soc. Cosmetic Chemists* 1969;20: 451 - 466.

- José NM, Prado LASA. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. *Quim Nova*. 2005;28(2):281-8.
- Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 1983;15: 25-35.
- Lopes CM, Lobo JMS, Costa P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Braz J Pharm Sci*. 2005;41(2):143-154.
- Luong C, Miller A, Barnett J, Chow J, Ramesha C, Browner MF. Flexibility of the NSAID binding site in the structure of human cyclooxygenase-2. *Nat Struct Biol*. 1996, Nov;3(11):927-33.
- Lyra MAM, Soares-Sobrinho JL, Brasileiro MT, Roca MF, Barraza JA, Viana OS, *et al*. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. *Lat Am J Pharm*. 2007;26(5):784-93.
- Mayol L, Quaglia F, Borzacchiello A, Ambrosio L, Rotonda MILa. A novel poloxamers/hyaluronic acid in situ forming hydrogel for drug delivery: Rheological, mucoadhesive and in vitro release properties. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008;70 199-206.
- Mazzitelli S, Pagano C, Giusepponi D, Nastruzzi C, Perioli L. Hydrogel blends with adjustable properties as patches for transdermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013;454:47-57.
- Mihalic M, Hofman H, Kuftinec J, Krile B, Caplar V, Kajfež F, Blažević N. Piroxicam. In: Florey K. (Ed.), *Analytical Profiles of Drug Substances* 1986;15: 509–531.
- Misra GP, Gil ES, Lowe TL. In the biomedical arena. In: Bhattacharya A, Rawlins, JW, Ray P. Polymer grafting and crosslinking. New Jersey: *John Wiley & Sons*, Inc; 2009. 145-175.
- Mistry BD. A Handbook of Spectroscopic Data Chemistry: *Oxford Book Company*; 2009.
- Molina EF, Marçal L, Carvalho HWP, Nassara EJ, Ciuffia KJ. Tri-ureasil gel as a multifunctional organic–inorganic hybrid matrix. *Polym Chem*. 2013;4:1575-82.
- Molina EF. Matrizes Híbridas Siloxano-Poliéter Para Liberação Controlada de Fármacos. Dissertação (doutorado) Araraquara, 2010.
- Molina, EF, Pulcinelli SH, Santilli CV, Blanchandin S, Briois V. Controlled Cisplatin Delivery from Ureasil–PEO1900 Hybrid Matrix. *J. Phys. Chem. B* 2010;114 (10): 3461-3466.
- Moura MR, Rubira AF, Muniz EC. Hidrogéis Semi-IPN Baseados em Rede de Alginato-Ca²⁺ com PNIPAAm Entrelaçado: Propriedades Hidrofílicas, Morfológicas e Mecânicas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*. 2008;18(2):132-137

- Nakamoto K. Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds: **Wiley**; 1986.
- Ozeroglu O, Birdal A. Swelling properties of acrylamide-N,N'-methylene bis(acrylamide) hydrogels synthesized by using meso-2,3-dimercaptosuccinic acid-cerium(IV) redox couple. *Polymer Letters* 2009;3: 168-176.
- Park JM, Kim PG, Jang JH, Wang Z, Hwang BS, Devries KL. Interfacial evaluation and durability of modified jute fibers/ Polypropylene composites using micromechanical test and acoustic emission. *Composites: Part B* 2008;39: 1042 – 1061.
- Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000;50:27-46.
- Peppas NA. Hydrogels and drug delivery. *Biological aspects*.1997;2:531-537
- Pillai O, Panchangnula R. Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, London 2001;5: 447-451.
- Qiu LY, Bae YH. Polymer Architecture and drug delivery. *Pharm Res*. 2006;23(1): 1-30.
- Reck G, Dietz G, Laban G, Gunther W, Bannier G, Hohne E. X-ray studies on piroxicam modifications. *Pharmazie* 1988;23: 477-481.
- Ritger PL, Peppas NA. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Controlled Release* 1987;5: 37-42.
- Rosler A, Vandermeulen GWM, Klok HA. Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001;53: 95-108.
- Roth SH, Fuller P. Diclofenac topical solution compared with oral diclofenac: a pooled safety analysis. *J Pain Res*. 2011;4: 159-167.
- Schaefer DW. Fractal Models and the Structure of Materials. *MRS Bulletin*. 1988;13: 22.
- Schroeder IZ, Franke P, Schaefer UF, Lehr, CM. Development and characterization of film forming polymeric solutions for skin drug delivery. *European J. Phrm and Biopharm*. 2007;65: 111-121.
- Seabra AB, Oliveira MG. Poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl pyrrolidone) blended films for local nitric oxide release. *Biomater Sci*. 2004;25: 773-82.
- Seo KW, Kim DJ, Park KN. Swelling properties of poly(AM-co-AA)/chitosan pH sensitive superporous hydrogels. *J Ind Eng Chem*. 2004;10(5):794-800.

- Sharma DK, Gupta VB, Purohit S. Industry feasible method to improve solubility of Piroxicam with Crospovidone: Preparation, characterization and tableting consideration. *Der Pharmacia Lettre* 2010;2(3): 123-135.
- Shibuya I, Akaike T, Watanabe Y. Design of a temporally and spatially controlled drug delivery system for the treatment of liver diseases in mice. *Hepatology*. 2000 Dec;32(6):1300-8.
- Siegel RA, Rathbone MJ. Overview of controlled release mechanisms. In: Siepmann J, Siegel RA, Rathbone MJ, editores. Fundamentals and applications of controlled release drug delivery (Advances in delivery science and technology). New York: *Springer-Verlag*; 2012, 19-43.
- Silverstein RM, Webster FX. Identificação de compostos orgânicos. 6ª Ed. *LTC*, Rio de Janeiro 2000; 68-101.
- Singhvi G, Singh M. Review: In-vitro drug release characterization models. *Inter. J. Pharm Studies and Res.* 2011;2: 77-84.
- Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Princípios de análise instrumental. *Bookman*; 2002.
- Smirnov BM. *The Physics of Fractal Clusters*. Nauka, 1991.
- Souza LK, Bruno CH, Lopes L, Pulcinelli SH, Santilli CV, Chiavacci LA. Ureasilpolyether hybrid film-forming materials. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013;101:156-61.
- Spindler R, Shriver DF. Investigations of a siloxane-based polymer electrolyte employing carbon-13, silicon-29, lithium-7, and sodium-23 solid-state NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 1988 May;10: 3036-3046.
- Steward PA, Hearn J, Wilkinson MC. An overview of polymer látex film formation and properties. *Adv. Colloid and Inter. Scien.* 2000;86: 195-267.
- Taddei P, Torreggiani A, Simoni R.. Influence of Environment on Piroxicam Polymorphism: Vibrational Spectroscopic Study. *Biopolymers*.2001;62:68-78.
- Tantishaiyakul V, Songkro S, Suknuntha K, Permkum P, Pipatwarakul P. Crystal structure transformations and dissolution studies of cimetidine-Piroxicam coprecipitates and physical mixtures. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 2009;10(3): 789-795.
- Tritt-Goc J, Kowalczyk J, Piślewski N. Hydration of hydroxypropylmethyl cellulose: effects of pH and molecular mass. *Act Phys.Polon A.* 2005;108(1):197-205.
- Tsai RS, Carrupt PA, El-Tayar N, Giroud Y, Andrade P, Testa B, *et al.* Physicochemical and structural properties of non-steroidal anti-inflammatory oxicams. *Helv Chim Acta.* 2004;76: 842-54.
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38:97-120.

- Varma V, Sowmya C, Tabasum SG. Formulation and Evaluation of Piroxicam solid dispersion with suitable Carrier. *Res. J. of Pharma Bio and Chem.* 2012;3: 929-940.
- Vrečer F, Vrbinc M, Meden A. Characterization of piroxicam crystal modifications. *Int. J. Pharmaceutics.* 2003;256: 3-15.
- Wu K, Li J, Wang, W, Winstead DA. Formation and Characterization of solid dispersions of Piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent. *J. Pharm. Scien.* 2009;98.
- Wynne HA, Long A. Patient awareness of the adverse effects of non-steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). *Br J Clin Pharmacol* 1996; 42: 253–256.
- Yalkowsky SH, Dannenfelser RM. Aquasol Database of Aqueous Solubility, Version 5, PC Version, College of Pharmacy, Univ. of Ariz. - Tucson, AZ (*SRC Database*), 1992.
- Zhu Y. Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion. 2002. Tese (Doutorado)-Faculty of the graduate School of the University of Texas, Austin, 2002.

APÊNDICE

DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS

As técnicas a seguir descritas são parte de uma tríade de caracterização (molecular, de difração e nanoestrutural) dos produtos obtidos e apresentados no trabalho.

1. ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHA

A radiação infravermelha está localizada entre o espectro eletromagnético do visível e da microonda (NAKAMOTO, 1986). As regiões de grande interesse para desenvolvedores de tecnologia de novos materiais orgânicos, inorgânicos dentre outros produtos químicos são as entre 14.290 à 200 cm^{-1} . Sendo definidas de 14.290 à 4.000 cm^{-1} como região do infravermelho próximo. E a parte de 700 à 200 cm^{-1} como região do infravermelho distante (SKOOG *et al.*, 2002). Neste trabalho foi estudada os espectros na região da região intermediária de 4.000 à 400 cm^{-1} .

Segundo a teoria da espectroscopia infravermelha consiste em um processo de absorção que é quantizado. Uma molécula quando absorve a radiação a converte em energia de vibração molecular. A quantificação em ser dado como uma série de bandas chamado de espectro vibracional. Estas bandas são as utilizadas para caracterizar as substâncias pois estes espectros vibracionais são característicos dos grupamentos de átomos que compõem estas substâncias (SILVERSTEIN *et al.*, 2007). Sendo o infravermelho uma técnica de identificação de compostos, a priori.

A posição das bandas no espectro infravermelho são geralmente apresentadas como número de onda representada com a unidade de cm^{-1} que é uma unidade proporcional à energia de vibração. O número de onda são o inverso dos comprimentos de ondas. Uma vez que a unidade que comprimento de onda é (λ) e dada em micrômetros ($1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{m}$) (NAKAMOTO, 1986).

$$\text{cm}^{-1} = 10^4/\mu\text{m}$$

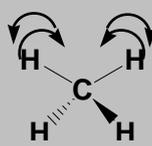
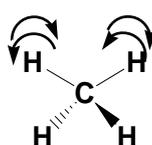
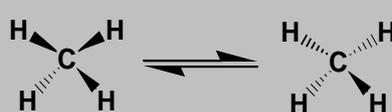
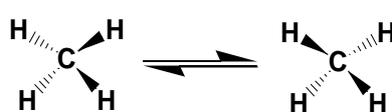
Então numero de onda (em cm^{-1}) é igual a $1 \times 10^4/\lambda$ em micrômetros. Neste trabalho todos os espectros foram definidos devido estas unidades.

A intensidade das bandas dadas nos espectros vibracionais do infravermelho podem ser expressas em absorbância (Abs) ou em transmitância (T). A transmitância é a

razão entre a energia que a amostra transmite pela energia da radiação que incide sobre ela. Já absorvância é o logaritmo decimal do inversa da transmitância, ou seja $Abs = \log_{10}(1/T)$ (SILVERSTEIN *et al.*, 2000).

As vibrações das moléculas mais comuns se classificam como mostra a Quadro A-1 abaixo:

Quadro A-1. Principais modos de vibração molecular.

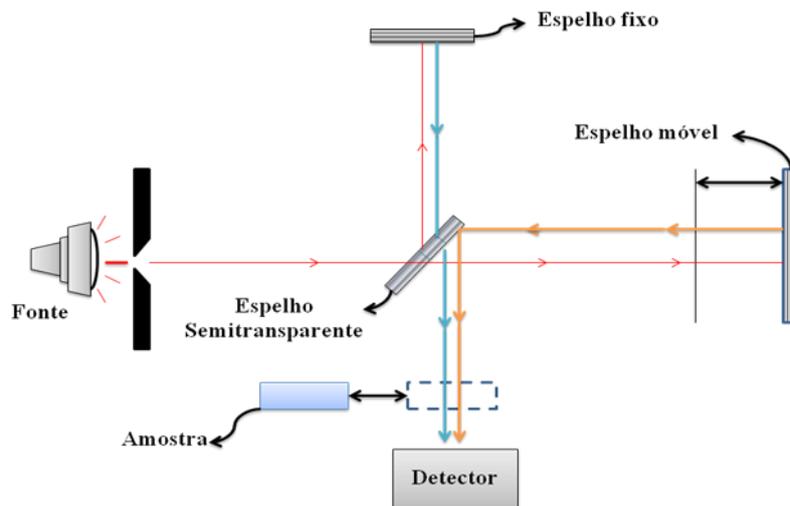
Vibrações moleculares	Representação gráfica do movimento	Símbolo
Estiramento axial simétrico		ν_a
Estiramento axial assimétrico		ν_{as}
Deformação angular simétrica no plano (Tesoura)		$\delta_{s(\sigma)}$
Deformação angular assimétrica no plano (Rocking)		$\delta_{as(\rho)}$
Deformação angular simétrica fora do plano		$\delta_{s(\omega)}$
Deformação angular assimétrica fora do plano		$\delta_{as(\tau)}$

Fonte: Adaptado de MISTRY, 2009.

Neste trabalho foi utilizado um FT-IR da Shimadzu, modelo Prestige 21 e FT IR da Varian, modelo 640-IR, a instrumentação dos equipamentos utilizados nesta dissertação fazem uso de espectrometria com transformada de Fourier, onde o feixe de radiação possui os comprimentos de onda que são separadas em dois feixes. Um é de distância fixa e outro móvel. A variação da distância percorrida pelo feixe gera interferências destrutivas e construtivas com variações de radiação recebida pelo detector, interferograma de Michelson (SILVERSTEIN *et al.*, 2000). Assim a

transformada em posições diferentes do espelho de forma sucessiva contempla o espectro infravermelho completo. Este esquema do interferograma de Michelson é representado pela Figura A-01.

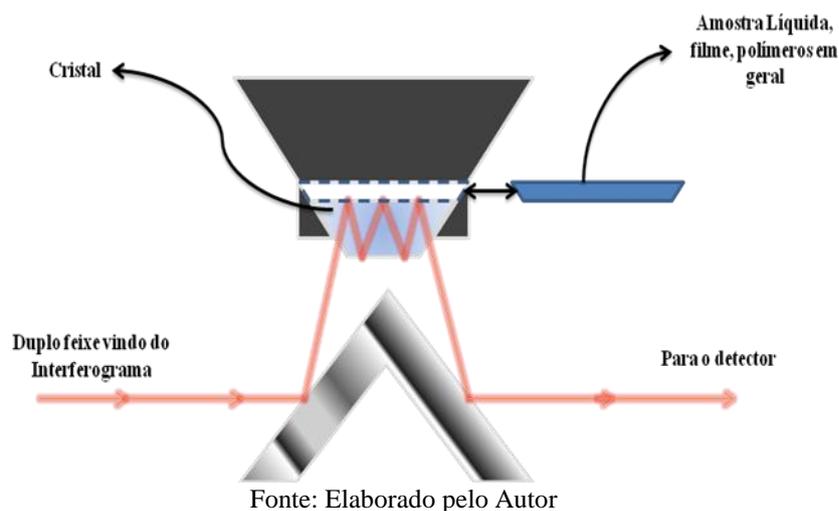
Figura A-01 - Representação esquemática do Interferograma de Michelson de um espectrômetro de FT-IR.



Fonte: Adaptado de SILVERSTEIN *et al.*, 2000.

No equipamento da Varian de modelo 640 IR foi utilizado para este trabalho o módulo de medida por ATR (Attenuated Total Reflectance). Este módulo permite que obtenha espectros infravermelho de líquidos (orgânicos e aquosos) e sólidos tais como os polímeros e filmes. Neste módulo o feixe passa pela amostra não de forma contínua e reta mas da maneira a refletir internamente através do cristal interagindo com a amostra que se encontra em contato com a superfície do cristal. Assim como ilustrado pela Figura A-02.

Figura A-02 - Representação esquemática do módulo de medida de ATR de espectrômetro

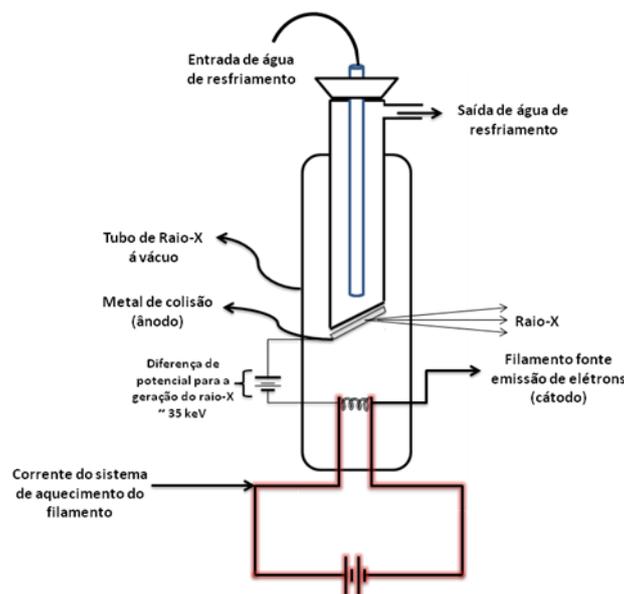


Fonte: Elaborado pelo Autor

2. DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

A difratometria de raios X é uma técnica usada para caracterização microestrutural, afim de conhecer a estrutura cristalina de materiais distintos. A fonte da radiação para utilização desta técnica advem de um tubo que se mantém em alto vácuo com um cátodo e um anodo depositos paralelamente em uma pequena distância. O filamento do catodo é aquecido fazendo assim a aceleração dos elétrons que emitirão fótons. Sua intensidade emitida é controlada pelo aquecimento. Já o anodo consiste em um bloco de cobre com superfície podendo variar com alguns metais como: Volfrâmio, Cromo, cobre, molibdênio, ródio, escândio, prata, ferro e cobalto. Este anodo está depositado paralelo ao catodo porém com uma inclinação conhecida que define o comprimento de onda do feixe o seu caminho a seguir até a amostra. A Figura A-03 mostra uma esquema ilustrativo de um tubo de raios X.

Figura A-03 - Ilustração esquemática de um tubo fonte de Raio-X.

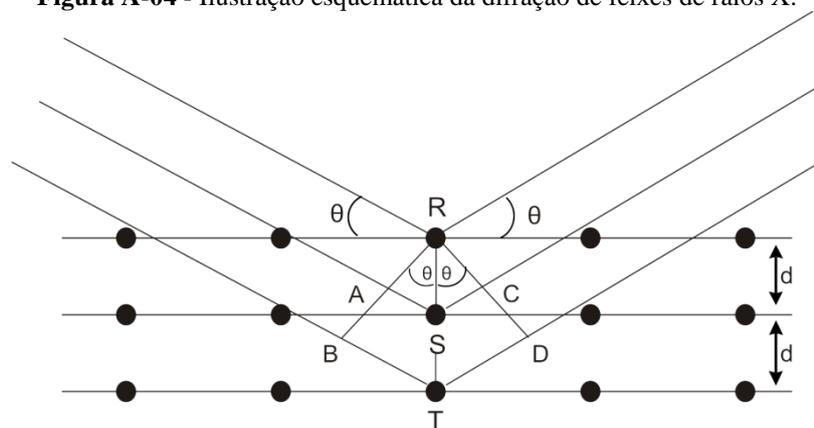


Fonte: Elaborado pelo Autor

Os elétrons ejetados pelo cátodo aquecido são lançados em direção ao ânodo. Esses elétrons se chocam ao ânodo desaceleram e emitem radiação determinada como raios-X. Para a geração do raio-x a diferença de potencial entre cátodo e ânodo tem que ser entorno de 35 KeV e para alcançar o comprimento de onda (λ) igual a 0,1 nm de acordo com a lei de Bragg.

A lei de Bragg postula que quando um feixe de raio x se choca contra a superfície de um cristal formando um ângulo θ (Theta), uma porção do feixe é dispersada pela primeira camada de átomos da superfície. A parte do feixe que não é dispersada penetra até a segunda camada de átomos e assim outra fração do feixe é dispersada e outro passa para terceira camada. O efeito acumulativo desta dispersão produzida pelos centros espalhadores distribuídos na estrutura de um cristal é a difração do feixe (CRAIEVICH *et al.*, 2015). Em um exemplo clássico pode-se observar na Figura A-04 o fenômeno da difração.

Figura A-04 - Ilustração esquemática da difração de feixes de raios X.



De acordo com a figura mostrada, um feixe de radiação incide sobre a superfície de um cristal que formam um ângulo θ . A dispersão ocorre devido a interação com a radiação dos átomos situados em R, S e T. Quando a distância:

$$AS = SC = n\lambda$$

Onde n é um número inteiro, a radiação dispersa em R C D e o cristal parece refletir a radiação X. Mas:

$$AS = SC = d \text{ sen } \theta$$

Em que d representa a distância interplanar do cristal. Assim, podemos escrever que as condições para a ocorrência de um feixe de interferência construtiva formando um ângulo θ com a superfície do cristal são:

$$n\lambda = 2d \text{ sen } \theta$$

A equação é chamada de Equação de Bragg e é primordial. Nota-se que os raios X são refletidos pelo cristal se se o ângulo de incidência satisfaz a condição

$$\text{sen } \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

Para todos os outros ângulos, ocorrem interferências destrutivas.

3. ESPALHAMENTO DE RAIOS X À BAIXO ÂNGULO

Esplhamento de raio-x à baixo ângulo é uma técnica analítica não destrutiva que permite analisar nanoestruturalmente as formas e tamanhos de partículas distribuídas em um material. O princípio se fundamenta no uso de radiação de raio-x para observar comportamentos dos sistemas à serem analisados tais como, densidade eletrônica, definindo assim propriedades (agregação, policondensação) do material desconhecido.

Dependendo da variação do comprimento de onda da radiação (λ) e do ângulo do espalhamento do feixe θ se tem o vetor de espalhamento, no intervalo observado.

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \text{sen} \left(\frac{\theta}{2} \right)$$

Sendo q inversamente proporcional a escala de comprimento.

O espalhamento de raio-x à baixo ângulo resulta da diferença de densidades eletrônicas entre objetos espalhadores e a matriz ou solvente. A intensidade de espalhamento, $I(q)$, se produzida por um sistema isotrópico composto por uma matriz homogênea na qual objetos idênticos são depositos aleatoriamente. Tem-se:

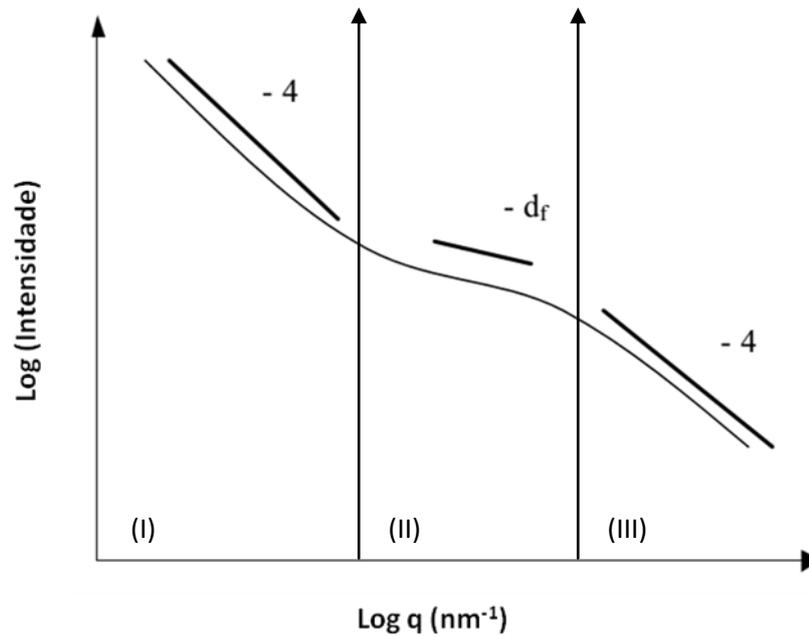
$$I(q) = \phi P(q)^2 \cdot S(q)$$

Onde $P(q)$ representa o fator de forma das partículas espahadoras e $S(q)$ fator de estrutura que representa a correlação espacial entre elas. O ϕ da equação representa a expressão $\phi = N/V$, onde N é o número de partículas por unidade de volume.

O vetor de q determina funções distintas dadas pelas curvas de espalhamento, assim como modelos distintos para obter informações pertinentes a melhor caracterização e comportamentos do material.

A técnica de SAXS é geralmente utilizada para descrever o comportamento fractal de agregados de polímeros em sistemas nanocompósitos. A natureza da curva de espalhamento nos dá informações sobre a dimensão da massa da estrutura e superfície das partículas. Se caracteriza fractal de massa quando a sua dimensão fractal encontra-se $-1 \leq m \leq -3$ em uma escala bi-logarítima da intensidade do espalhamento pelo valor de q (nm^{-1}) (HYEON-LEE *et al.*, 1998). Assim como mostra a Figura A-05.

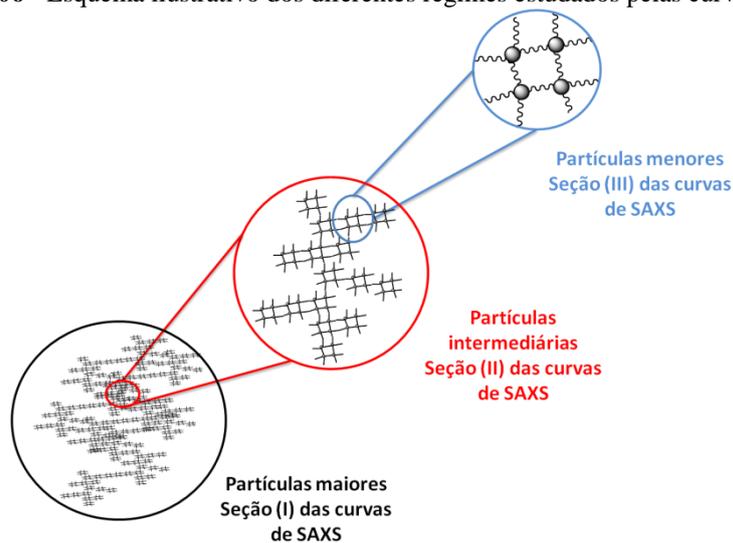
Figura A-05 - Curva de espalhamento de raio-x mostrando três regiões: (I) Partículas primárias (II) Agregados e (III) Aglomerados.



Fonte: Elaborado pelo Autor

Pode-se observar, na Figura A-06, que dependendo do valor de q da curva de espalhamento podemos extrair informações das partículas primárias, alto valor de q (I), dos agregados, em valor de q intermediário (II) e dos aglomerados, em baixo valor de q (III). Caracterizando assim o material nanocompósito bifásico.

Figura A-06 - Esquema ilustrativo dos diferentes regimes estudados pelas curvas de SAXS.



Fonte: Elaborado pelo Autor

3.1 Fractal de massa

A estrutura de uma partícula agregada é parcialmente responsável pelas propriedades do nanocompósito produzido de uma dispersão coloidal. O regime de agregação depende das forças de interação entre partículas, o estado do meio de dispersão e a interface entre o meio e as partículas (SMIRNOV, 1991).

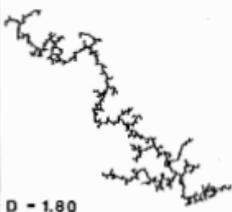
Os agregados podem apresentar três possibilidades estruturais de formação. Através das partículas primárias ou monômeros se juntam para formar um agregado, chamado de agregado monômero-monômero. Estes agregados de monômeros por sua vez podem se agregarem com outros formando uma estrutura de agregados maior sendo definido como Agregado “Cluster-Cluster”. A terceira forma de agregação consiste da interação de um monômero em um conjunto de agregado de monômeros já formados (cluster), definido pelo termo Agregado monômero-cluster.

Estas formações de aglomerados de partículas são descritos por três tipos de regimes de agregação, sendo eles:

- Agregação limitada pela difusão, onde a reação entre as partículas é instantânea comparada com o transporte, onde a difusão é fator de limitação na formação dos agregados.
- Agregação limitada pela reação, condiz com a taxa de reacional entre as partículas que é mais lenta do que o transporte para o crescimento do agregado e do controle da formação dos agregados.
- Agregação de regime intermediário, ambas os fatores tanto a difusão e a reação contribuem para o controle do crescimento do agregado.

A Figura A-07 mostra uma tabela ilustrativa mostrando os modelos de agregados e seus possíveis regimes de formação.

Figura A-07 - Quadro ilustrativo de modelos estruturais de agregados e seus regimes de agregação com seus respectivos valores de dimensão fractal.

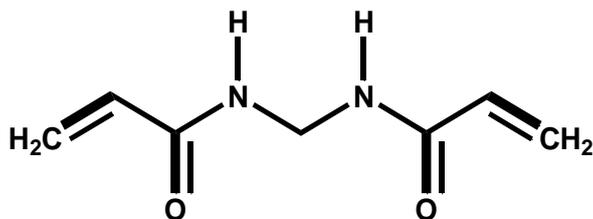
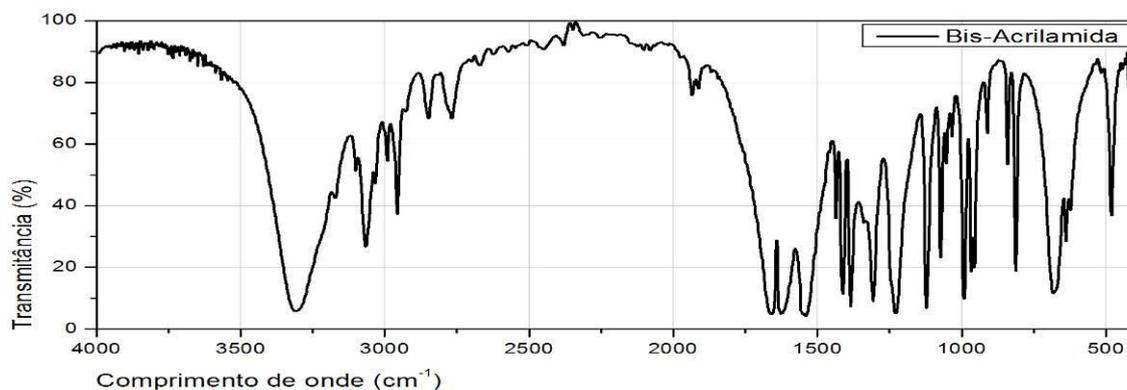
	REACTION-LIMITED	BALLISTIC	DIFFUSION-LIMITED
MONOMER-CLUSTER	<p>EDEN</p>  <p>D = 3.00</p>	<p>VOLD</p>  <p>D = 3.00</p>	<p>WITTEN-SANDER</p>  <p>D = 2.50</p>
CLUSTER-CLUSTER	<p>RLCA</p>  <p>D = 2.09</p>	<p>SUTHERLAND</p>  <p>D = 1.95</p>	<p>DLCA</p>  <p>D = 1.80</p>

Fonte: BRINKER *et al.*, 1990.

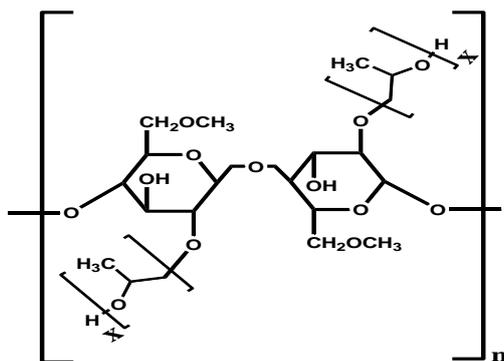
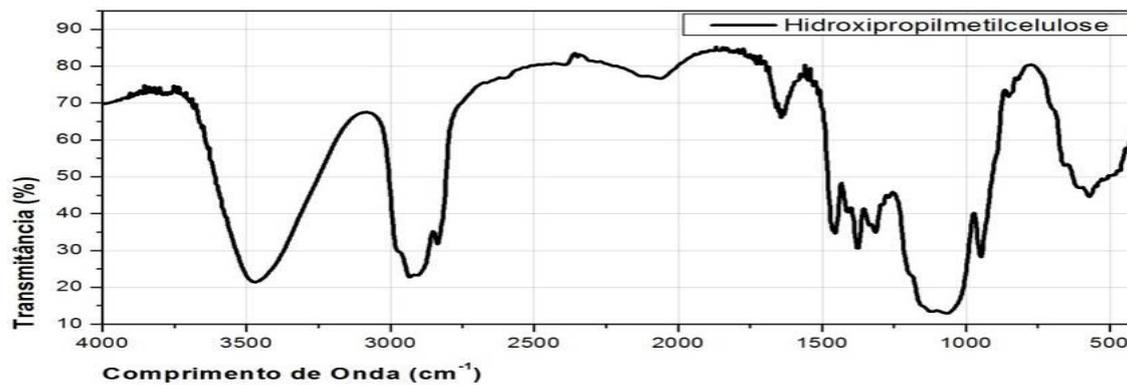
ANEXO

Espectros de absorção de infravermelho e fórmulas estruturais dos hidrogéis utilizados neste trabalho.

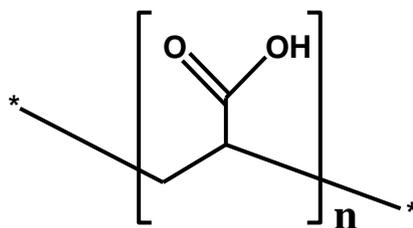
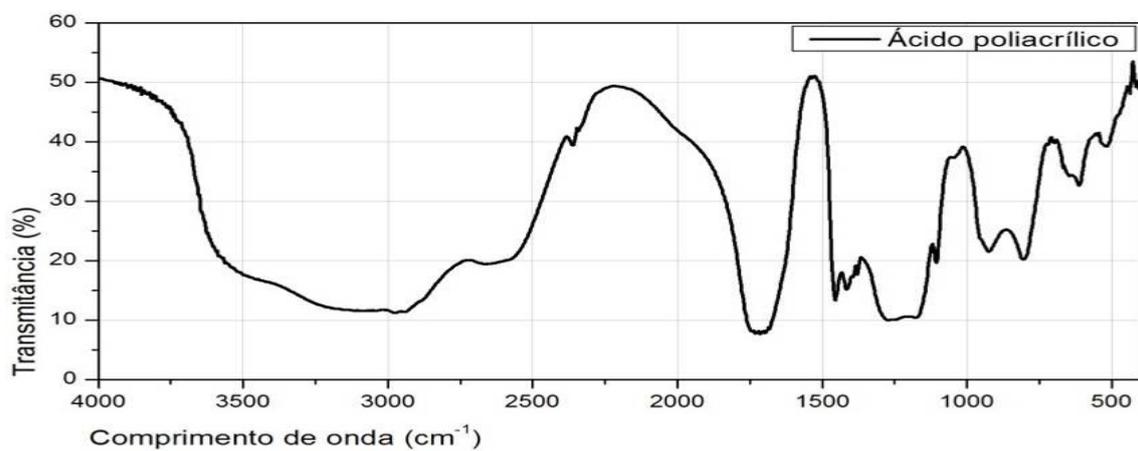
A



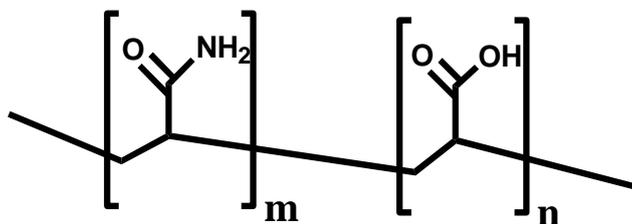
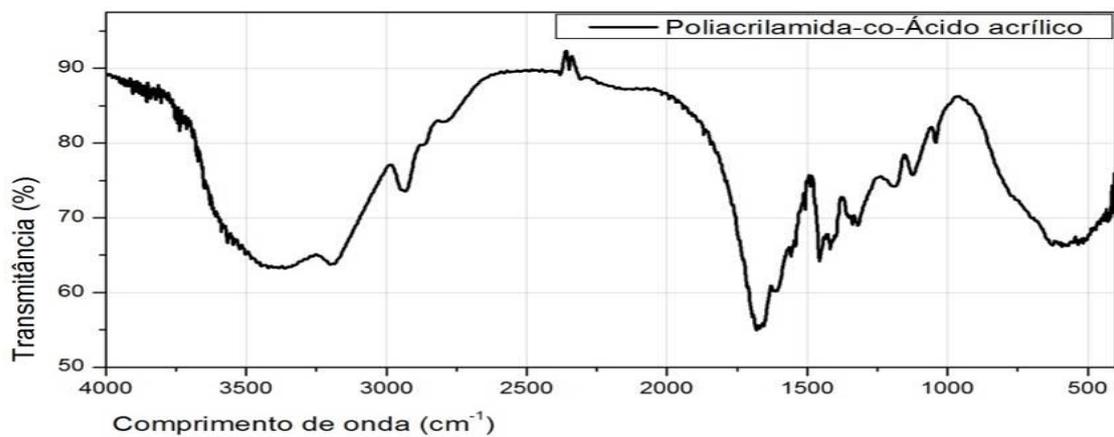
B



C



D



E