

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

MARIANA SOARES ALVES DE SOUZA

**Desenvolvimento de organogel injetável subcutâneo de Pluronic®-F127 e lecitina de soja (OPL) contendo meloxicam para uso veterinário.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de MESTRE em Ciências

Área de concentração: Fármaco e Medicamentos

Orientador: Prof.º Dr.º Humberto Gomes Ferraz

**SÃO PAULO**

**2022**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

MARIANA SOARES ALVES DE SOUZA

Versão Original

**Desenvolvimento de organogel injetável subcutâneo de Pluronic®-F127 e lecitina de soja (OPL) contendo meloxicam para uso veterinário.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de MESTRE em Ciências

Área de concentração: Fármaco e Medicamentos

Orientador: Prof.º Dr.º Humberto Gomes Ferraz

**SÃO PAULO**  
**2022**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

S719d	Souza, Mariana Soares Alves de Desenvolvimento de organogel injetável subcutâneo de Pluronic® F127 e lecitina de soja (OPL) contendo meloxicam para uso veterinário. / Mariana Soares Alves de Souza. - São Paulo, 2022. 173 p.
	Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Ferraz, Humberto Gomes
	1. Organogel. 2. Lecitina de Soja . 3. Desenvolvimento de Formulação . 4. Ensaio de dissolução . 5. Meloxicam . I. T. II. Ferraz, Humberto Gomes, orientador.

Mariana Soares Alves de Souza

**Desenvolvimento de organogel injetável subcutâneo de Pluronic®-F127 e lecitina de soja (OPL) contendo meloxicam para uso veterinário.**

Comissão Julgadora da Dissertação para a obtenção do Título de Mestre

---

Prof.º. Dr.º. Humberto Gomes Ferraz  
Orientador/Presidente

---

1º Examinador

---

2º Examinador

---

3º Examinador

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2022

## AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado, com muito estudo, esforço e empenho, eu gostaria de agradecer a algumas pessoas que foram fundamentais para a conclusão de mais essa etapa em minha vida. Por isso, expresso aqui, através de palavras sinceras, a importância que elas tiveram, e ainda têm, nesta conquista e também a minha sincera gratidão a todas. Primeiramente, agradeço a minha família Paulo, Verbenia, Marcela e Maria Luna pela compreensão, companheirismo e profundo apoio, me incentivando nos momentos mais difíceis. Obrigada por desejarem sempre o melhor para mim, pelo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegar aqui. A vocês, minha família, sou eternamente grata por tudo que sou, por tudo que consegui conquistar e pela felicidade que tenho.

Minha gratidão especial ao Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz, meu orientador e, sobretudo, um grande exemplo pelo excelente profissional que é. Obrigada por sua dedicação e paciência. E, principalmente, obrigada por ter acreditado e depositado sua confiança em mim ao longo de todos esses anos de trabalho. Sem sua orientação, apoio e confiança, não somente neste trabalho, mas em todo o caminho percorrido até aqui, nada disso seria possível. Um obrigado especial a toda equipe do DEINFAR, verdadeiros amigos do coração, pois foi com o apoio e auxílio de todos que esse trabalho pode se concretizar. Especialmente: Dra. Michele Issa, Rosana Pereira, Fanny Vereau, Yusara Ruiz, Dra. Josiane Daniel, Ana Carolina Almeida e Lucas Rodrigues, que me ajudaram nos momentos mais difíceis. Vocês foram imprescindíveis nessa jornada e serei eternamente grata por ter pessoas tão incríveis ao meu lado.

Para meus primos/irmãos, Bruno e Thais, agradeço pelo apoio e por acreditarem em mim até mesmo quando eu não acreditava, vocês tornaram essa caminhada, mais fácil, alegre e verdadeiramente única, nossa amizade foi um presente que desejo conservar por toda a vida.

Por fim, agradeço a Deus, meus guias, guardiões, mentores e mestres. Ao meu pai e minha mãe de coração e muito além desse mundo, sem suas palavras, ensinamentos, proteção e sem sua luz, eu não teria chegado até aqui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

*In the teeth of those stupefying odds it is you and I, in our ordinariness, that are here We privileged few, who won the lottery of birth against all odds how dare we whine at our inevitable return to that prior state from which the vast majority have never stirred?*

*There is grandeur in this view of life, with its several powers having been originally breathed into a few forms or into one and that whilst this planet has gone cycling on according to the fixed law of gravity. From so simple a beginning endless forms most beautiful and most wonderful have been and are being, evolved.*

*(Tuomas Holopainen, Nightwish e  
The Origin of Species)*

**SOUZA, M.S.A. Desenvolvimento de formulação veterinária de organogel contendo lecitina de soja, Pluronic® F-127 e meloxicam para o tratamento de dores agudas e crônicas em animais de pequeno porte.** 2022. 171 p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2022.

## **RESUMO**

O organogel é formado por uma matriz tridimensional composta de filamentos que se auto-organizam em uma rede entrelaçada e que, por seu tipo de estrutura, pode ser utilizado com o objetivo de atuar como um implante que se forma in situ, sendo capaz de se comportar como uma forma farmacêutica de liberação prolongada. Esse trabalho tem, por tanto, o objetivo desse trabalho foi desenvolver, caracterizar, quantificar e traçar perfis de dissolução para formulações de organogel contendo meloxicam como princípio ativo. O material está dividido em quatro capítulos, sendo apresentada inicialmente (I) revisão da literatura a respeito da lecitina de origem vegetal, com suas principais fontes de obtenção, como soja, girassol e colza, e também seu uso farmacêutico na obtenção de formulações como organogéis, microemulsões e lipossomas. Os demais capítulos abordam (II) desenvolvimento e otimização de uma formulação de organogel contendo lecitina de soja e Pluronic® F-127 como formadores da matriz tridimensional e meloxicam como princípio ativo. (III) Desenvolvimento e validação de um método de quantificação do teor de meloxicam por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). (IV) Desenvolvimento de um método de dissolução para formulações de organogel, que fosse capaz de ser utilizado na caracterização do perfil de dissolução de diferentes formulações. Com os resultados obtidos, foi possível desenvolver formulações de organogel contendo lecitina de soja, Pluronic® F-127 e meloxicam, assim como um método analítico validado para as análises de teor. Por fim, foram obtidos também os perfis de dissolução de duas formulações mais promissoras.

Palavras-chave: Lecitina, Organogel, Dissolução, Meloxicam



**SOUZA, M.S.A. Development of a veterinary organogel formulation containing soy lecithin, Pluronic® F-127 and meloxicam for the treatment of acute and chronic pain in small animals.** 2022. 171 p. Dissertation (Master's) Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo (USP), São Paulo, 2022.

### **ABSTRACT**

Organogels are formed by a three-dimensional matrix composed of filaments that self-organize in an interlaced network and that, due to its type of structure, can be used with the objective of acting as an implant that forms in situ, being able to behave as an extended-release dosage form. This work has, therefore, the objective of this work was to develop, characterize, quantify and trace dissolution profiles for organogel formulations containing meloxicam as active ingredient. The material is divided into four chapters, initially presented (I) review of the literature on lecithin of plant origin, with its main sources of production, such as soybean, sunflower and rapeseed, and also its pharmaceutical use in obtaining formulations such as organogels , microemulsions and liposomes. The remaining chapters address (II) development and optimization of an organogel formulation containing soy lecithin and Pluronic® F-127 as three-dimensional matrix formers and meloxicam as an active ingredient. (III) Development and validation of a method for quantification of meloxicam content by high performance liquid chromatography (HPLC). (IV) Development of a dissolution method for organogel formulations, capable of being used to characterize the dissolution profile of different formulations. With the results obtained, it was possible to develop organogel formulations containing soy lecithin, Pluronic® F-127 and meloxicam, as well as a validated analytical method for content analysis. Finally, the dissolution profiles of two more promising formulations were also obtained.

Keywords: Lecithin, Organogel, Dissolution, Meloxicam

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABINPET	Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação
ANVISA	Agencia nacional de vigilância sanitária
CO	Colesterol
DCB	Denominação comum brasileira
ED	Eficiência de dissolução
EU	European Union (União europeia)
FC	Fosfatidilcolina
FDA	Food and drug administration
FE	Fosfatidiletanolamina
FI	Fosfatidilinositol
FS	Fosfatidilserina
GRAS	Generally recognized as safe
ME	Microemulsão
MIP	Miristato de isopropila
MX	Meloxicam
PLO	Pluronic <sup>®</sup> Lecithin organogel
Q%	Porcentagem dissolvida
SEF	Solução estoque da Formulação
SEP	Solução estoque padrão
TACC	Triglicerídeos de ácido cáprico caprílico
TCM	Triglicerídeos de cadeia média

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Linha do tempo que retrata acontecimentos desde a descoberta da lecitina, incluindo a primeira patente depositada sobre seu método de produção, até a atualidade.....33
- Figura 2 - Fórmula estrutural da lecitina. Sua molécula inclui resíduos de colina, ácido fosfórico, glicerol e dois ácidos graxos. As cadeias de hidrocarbonetos dos resíduos de ácidos graxos formam a parte não polar de uma molécula de lecitina. Os demais resíduos constituem a região polar.....3
- Figura 3 - Lecitinas obtidas de diferentes fornecedores. Na imagem é possível observar duas das principais propriedades da lecitina natural, sua viscosidade sendo a lecitina A mais plástica enquanto a lecitina B apresenta um comportamento mais fluido. Já nas lectinias C e D é possível notar a diferença de cores, sendo a C mais escura em comparação a D.....36
- Figura 4 - Etapas do processo industrial para a obtenção de lecitina, óleo de soja e outros derivados. A etapa de número 5 indica a fase do processo onde a lecitina será extraída da mistura de óleo e gomas. Essa etapa recebe também o nome de degomagem.....38
- Figura 5 - Esquema detalhado do processo de degomagem utilizando água para a obtenção de lecitina.....39
- Figura 6 - Esquema que ilustra os lipídeos em suas diferentes estruturas e conformações espaciais.....41
- Figura 7 - Representação dos tipos de organogel mais estudados com destaque para a lecitina, que apresenta três tipos diferentes de métodos de obtenção do organogel. O primeiro utilizando somente lecitina natural, o segundo usando lecitina natural enriquecida com fosfolipídios específicos e o terceiro utilizando uma mistura de lecitina e polímero.....43
- Figura 8 - Formulação utilizando apenas lecitina, óleo vegetal de gergelim (G) e água. É possível notar a diferença em viscosidade, consistência e cor, se comparados a outras formulações contendo lecitina, principalmente as que contêm Pluronic®-F127 em sua composição.....45

Figura 9 - Exemplos de formulações utilizando lecitina e polímero para a obtenção de um organogel.....	46
Figura 10 - Exemplo de uma formulação de microemulsão, demonstrando um sistema estável, transparente, de baixa viscosidade.....	47
Figura 11 - Distribuição das diferentes espécies de animais que estão sob cuidados de tutores no Brasil. ....	62
Figura 12 - Demonstração do faturamento das indústrias relacionadas a animais no Brasil....	63
Figura 13 - Representação de uma estrutura de rede tridimensional estruturada por filamentos que se organizam formando microtúbulos. ....	64
Figura 14 - Estrutura molecular do Meloxicam. ....	65
Figura 15 - Diagrama de fase pseudoternário gerado pelo software XLSTAT (2020). Os números azuis marcam as formulações selecionadas para os testes preliminares.....	68
Figura 16 - Mistura da fase oleosa e da fase aquosa após pesagem (1) agitação em alta velocidade, em torno de 6x10000 RPM/min, por 20 minutos em ultraturrax (2). Após agitação é obtida uma mistura homogênea denominada organogel (3).....	70
Figura 17 - Histogramas de distribuição de tamanho de partículas das amostras de meloxicam.....	74
Figura 18 - Formulações a) 48, b) 48,1, c) 48,2 d) 49 e e) 39 Pluronic® F-127 não micronizado. As setas indicam a área de separação de fases. ....	79
Figura 19 - Teste de inversão do frasco para demonstrar a formação da matriz tridimensional pela gelificação da formulação. Formulações a) 48, b) 48,1, c) 48,2 d) 49 e) 39 com Pluronic® F-127 não micronizado. No fundo do frasco é possível ver a separação de fases reversível das formulações indicada pelas setas. ....	79
Figura 20 - Formulações a) 48,1, b) 48,2 c) 49 e d) 39 com Pluronic® F-127 micronizado.....	80
Figura 21 - Teste de inversão do frasco para demonstrar a formação da matriz tridimensional pela gelificação da formulação. Formulações a) 48,1, b) 48,2 c) 49 e d) 39 com Pluronic® F-127 micronizado. No fundo do frasco é possível notar que praticamente não há separação de fases. ....	80
Figura 22 - Formulações 48: a) 48 s/Colesterol; b) 48 com 0,1% de Colesterol e c) 48 com 0,5% de Colesterol. ....	80

Figure 23 - Formulações 49: a) 49 s/Colesterol; b) 49 com 0,1% de Colesterol e c) 49 com 0,5% de Colesterol. ....	81
Figura 24 - Comparação entre difratograma simulado (verde) e medido (azul).....	82
Figura 25 - Padrões de difração para amostras de organogel puro - amostra 321-4102 (linha amarela) e amostra 321-4103 (linha verde). ....	83
Figura 26 - Padrões de difração para amostras de organogel puro, formulações de colesterol e meloxicam puro.....	84
Figura 27 - Espalhabilidade da formulação em função do peso adicionado.....	86
Figura 28 - Microscopia da F48, demonstrando a distribuição das partículas de meloxicam dentro do organogel. Além dos pontos menores, há também pontos maiores e mais claros, que são bolhas formadas na formulação após agitação vigorosa.....	87
Figura 29 - Microscopia da F49 demonstrando a distribuição das partículas de meloxicam dentro do organogel. Além dos pontos menores, há também pontos maiores e mais claros, que são bolhas formadas na formulação após agitação vigorosa.....	88
Figura 30 - Matéria-prima (A) e estrutura molecular de meloxicam (B).....	96
Figura 31- Pico referente a análise cromatográfica utilizando a coluna Inertisil ODS 2 C18 5µm, 4,6x25mm. Amostra produzida utilizando a matéria prima.....	105
Figura 32 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 48 com 0, 2 e 4 mL de descarte.....	107
Figura 33 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 49 com 0, 2 e 4 mL de descarte.....	108
Figura 34 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 49 com 6, e 8 mL de descarte.....	108
Figura 35 - Gráfico de Daniel, nele é possível identificar os pontos ativos referentes à formulação 48.....	110
Figura 36 - Gráfico de Daniel, nele é possível identificar os pontos ativos referentes à formulação 49.....	111
Figura 37- Gráfico de Lenth, indicando os pontos ativos da formulação 48.....	112
Figura 38 - Gráfico de Lenth, indicando os pontos ativos da formulação 49.....	113
Figura 39 - Cromatogramas referente às análises de Hidrólise ácida, feitas para o estudo de seletividade do meloxicam.....	118

Figura 40 - Cromatogramas referente às análises de Hidrólise alcalina, feitas para o estudo de seletividade do meloxicam.....	120
Figura 41 - Cromatogramas referente às análises de Oxidação, feitas para o estudo de seletividade do meloxicam.....	121
Figura 42 - Diagrama da linearidade para Meloxicam com os valores ajustados dos resíduos.....	122
Figura 43 - Diagnostico de residuos para o modelo estatistico.....	123
Figura 44 - Figura 44 – Matriz tridimensional de organogel contendo meloxicam.....	135
Figura 45 - Aparato 5 pá sobre disco USP, o disco composto por um suporte de vidro semelhante a um vidro de relógio e uma rede, ambos do mesmo tamanho.....	140
Figura 46 - Copo de suspensão e weight holder.....	140
Figura 47 - Gráfico da Curva-Padrão do Meloxicam.....	143
Figura 48 - Teste de Filtro do Meloxicam.....	144
Figura 49 - Gráfico de Resíduos para o teste de filtro do Meloxicam.....	145
Figura 50 - Comparativo da solubilidade do Meloxicam em diferentes meios.....	146
Figura 51- Gráfico de Pareto obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos das variáveis independentes em relação ao ED no desenvolvimento do método de dissolução para organogel.....	149
Figura 52 - Gráfico de resíduos obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos dos resíduos em relação ao ED.....	150
Figura 53 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes velocidades de rotação e formulações.....	150
Figura 54 - Gráfico de superfície de resposta obtida através do software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes rotações e porta-amostras.....	150
Figura 55 - Gráfico de superfície resposta obtido através do software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes rotações e porta-amostras.....	151
Figura 56 - Gráfico de Pareto obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos das variáveis independentes frente a variável dependente Q%4 no desenvolvimento de um método de dissolução para organogel.....	152

Figura 57 - Gráfico de resíduos obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos dos resíduos em relação ao Q%4h.....	153
Figura 58 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4h em função das diferentes rotações e formulações.....	154
Figura 59 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4 em função das diferentes rotações e porta-amostras.....	154
Figura 60 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4 em função das diferentes formulações e porta-amostras.....	154
Figura 61- Aparato 5 contendo formulação de organogel.....	154
Figura 62 - Perfis de dissolução da formulação 48 utilizando aparato 5 a 50 e 75 RPM.....	156
Figura 63 - Perfis de dissolução da formulação 49 utilizando aparato 5 a 50 e 75 RPM.....	157
Figura 64 - Comparação dos perfis obtidos para ambas as formulações em 50 e 75 RPM.....	157
Figura 65 - Copo para suspensão contendo formulação de organogel.....	158
Figura 66 - Perfis de dissolução da formulação 48 utilizando copo para suspensão a 50 e 75 RPM.....	158
Figura 67: Perfis de dissolução da formulação 49 utilizando copo para suspensão a 50 e 75 RPM.....	159
Figura 68: Comparação dos perfis obtidos para ambas as formulações em 50 e 75 RPM.....	159
Figura 69: Perfil de dissolução para Formulação 49, aparato 5, 75 RPM, traçado utilizando os dados obtidos com o DDSolver.....	162
Figura 70 - Perfil de dissolução para Formulação 48, aparato 5, 75 RPM, traçado utilizando os dados obtidos com o DDSolver.....	163

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das lecitinas comerciais.....	37
Tabela 2 - Teor de fosfolipídios em três tipos diferentes de lecitina.....	44
Tabela 3 - Descrição dos experimentos selecionados a partir do diagrama de fases pseudoternário. ....	67
Tabela 4 - Descrição das concentrações dos novos experimentos realizados utilizando o diagrama de fases pseudoternário. As formulações selecionadas foram todas próximas da formulação que apresentou as melhores características.....	68
Tabela 5 - Composição da formulação após adição de meloxicam e triglicerídeos de cadeia média.....	69
Tabela 5a - Otimização da formulação 49 com a adição de diferentes concentrações de colesterol.....	69
Tabela 5b - Otimização da formulação 48 com a adição de diferentes concentrações de colesterol.....	69
Tabela 6 - Valores de d10%, d50% e d90%, média e $\pm$ desvio padrão e span obtidos a partir da análise de tamanho de partículas por via úmida do meloxicam.....	74
Tabela 7 - Resultados do teor de umidade em amostras de lecitina obtidos usando o analisador de halogênio HX204.....	75
Tabela 8 - Formulações do diagrama de fases pseudoternário usando Pluronic <sup>®</sup> F-127 micronizado, incluindo medições de pH (n=3).....	76
Tabela 9 - Formulações selecionadas do diagrama de fases pseudoternário usando Pluronic <sup>®</sup> F-127 micronizado, incluindo medições de pH.....	77
Tabela 10 - Formulações contendo Meloxicam e triglicerídeos de cadeia média na composição.....	77
Tabela 11 - Fase final de otimização para a F48 e F49 que consistiu na adição de colesterol.....	78
Tabela 12 - Comparação entre a viscosidade das três formulações e seu tempo de gelificação. Tal comportamento foi corroborado pelas análises e as respostas obtidas podem ser vistas abaixo (n=3).....	85



Tabela 13 - Espalhabilidade das formulações em função do peso adicionado. Como esperado, as formulações contendo menos lecitina na composição tiveram maior espalhabilidade por mm <sup>2</sup> .....	86
Tabela 14 - Variáveis e constantes do experimento na etapa de triagem do desenvolvimento do método.....	99
Tabela 15 - Combinação fatorial dos parâmetros analíticos para avaliação da robustez pelo teste de Youden.....	102
Tabela 16 - Condições cromatográficas dos métodos para o teste de Youden.....	103
Tabela 17 - Valores dos parâmetros de adequação do sistema obtidos utilizando a coluna Inertisil ODS 2 C18 5µm, 4,6x25mm.....	106
Tabela 18 - Recuperação do meloxicam durante o teste de Youden para a formulação 48.....	109
Tabela 19 - Recuperação do meloxicam durante o teste de Youden para a formulação 49...109	109
Tabela 20 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão sem degradação, e na formulação sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas à degradação por calor, por 48 horas.....	114
Tabela 21 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão sem degradação, e na formulação sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas às degradações de hidrólise ácida e alcalina em temperatura ambiente por 4 horas. ....	115
Tabela 22 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão sem degradação, e na formulação sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas à degradação por oxidação em temperatura ambiente por 4 horas. ....	116
Tabela 23 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão e formulação com proteção à luz (p/luz), com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações expostas à luz.....	117
Tabela 24 - Medida descritiva da qualidade do ajuste.....	122
Tabela 25 - Teste de Cochran para avaliar homocedasticidade.....	123
Tabela 26 - Resumo das Conclusões do estudo de Linearidade (Método dos Mínimos Quadrados Ponderados). ....	123

Tabela 27 - Repetitividade e precisão intermediária para Meloxicam com desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR). .....	124
Tabela 28 - Resultados da avaliação de exatidão do Meloxicam.....	126
Tabela 29 - Teor das formulações 48 e 49 do tempo zero ate o tempo de 60 dias.....	126
Tabela 30 - Formulações de organogéis para o desenvolvimento do método de dissolução in vitro.....	136
Tabela 31 - Fatores e níveis do delineamento experimental para o desenvolvimento do método de dissolução in vitro.....	141
Tabela 32 - Matriz do delineamento Fatorial Completo $2^3$ , três fatores e dois níveis.....	141
Tabela 33 - Equações utilizadas para o cálculo da cinética de dissolução.....	142
Tabela 34 - Resultados do teste de filtro expressos em Porcentagem de Recuperação.....	144
Tabela 35 - Resultados do Teste de Tukey.....	145
Tabela 36 - Análise da condição sink diversos meios.....	147
Tabela 37 - Resultados de porcentagem dissolvida para os 8 ensaios de dissolução contidos no delineamento experimental. ....	147
Tabela 38 - Delineamento experimental com os resultados de porcentagem dissolvida (Q%) em 4 horas e eficiência de dissolução (ED).....	148
Tabela 39 - Análise de variância (ANOVA) para avaliação do ED.....	148
Tabela 40 - Análise de variância (ANOVA) para avaliação do Q%4h.....	152
Tabela 41 - Valores de Rquadrado, Akaike e MSC referentes aos diferentes modelos matemáticos, calculados para o estudo liberação in vitro a partir da formulação 48 e 49.....	160
Tabela 42 - Porcentagem dissolvida para a formulação 48, aparato 5, 75 RPM, utilizando o modelo cinético de ordem zero no Ddsolver.....	161

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Condições cromatográficas utilizadas no método de quantificação.....	100
Quadro 2 - Parâmetros de adequação do sistema.....	101
Quadro 3 - Variações para avaliação da robustez do método.....	103

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I – USOS FARMACÊUTICOS DA LECITINA

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>27</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>31</b>
<b>4</b>	<b>LECITINA</b> .....	<b>32</b>
4.1	DEFINIÇÕES, PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS E SEU MÉTODO DE OBTENÇÃO.....	32
4.2	POLIMORFISMO DE LIPÍDIOS.....	37
4.3	LECITINA E SEU USO NO DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES.....	39
4.3.1	<i>Organogéis</i> .....	39
4.3.2	<i>Lecitina Premium</i> .....	42
4.3.3	<i>Lecitina e PLO (Polymer lecithin organogel)</i> .....	43
4.3.4	<i>Microemulsão</i> .....	44
4.3.5	<i>Lipossomas</i> .....	45
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>48</b>

### CAPÍTULO II - DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO VETERINÁRIA DE ORGANOGEL CONTENDO LECITINA DE SOJA E PLURONIC® F-127.

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>63</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>64</b>
3.1	AMOSTRAS.....	64
3.2	CARACTERIZAÇÃO DO MELOXICAM .....	64
3.2.1	<i>Tamanho de partícula</i> .....	64
3.3	CARACTERIZAÇÃO DA LECITINA.....	64
3.3.1	<i>Determinação de umidade</i> .....	64
3.4	DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO .....	64
3.4.1	<i>Produção de organogel</i> .....	67
3.5	CARACTERIZAÇÃO ORGANOLÉPTICA DO ORGANOGEL.....	68
3.5.1	<i>Caracterização física do organogel</i> .....	68

3.5.1.1	Difração de raios X.....	68
3.5.1.2	Determinação de pH.....	69
3.5.1.3	Análise de viscosidade.....	69
3.5.1.4	Determinação da temperatura de gelificação.....	69
3.5.1.5	Espalhabilidade.....	70
3.5.1.6	Microscopia de luz.....	70
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO MELOXICAM.....	71
4.1.1	<i>Tamanho de partícula.....</i>	71
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA LECITINA.....	72
4.2.1	<i>Determinação de umidade.....</i>	72
4.3	DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO.....	73
4.4	CARACTERIZAÇÃO ORGANOLÉPTICA DO ORGANOGEL.....	76
4.5	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DO ORGANOGEL.....	78
4.5.1	<i>Determinação de pH.....</i>	78
4.5.2	<i>Difração de raios X.....</i>	79
4.5.3	<i>Viscosidade.....</i>	81
4.5.4	<i>Determinação da temperatura de gelificação.....</i>	81
4.5.5	<i>Espalhabilidade.....</i>	82
4.5.6	<i>Microscopia.....</i>	83
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>85</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>86</b>

**CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE TEOR DE MELOXICAM NA FORMULAÇÃO DE ORGANOGEL DE LECITINA E PLURONIC<sup>®</sup> F-127, POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>92</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>95</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>96</b>
3.1	MATERIAL.....	96
3.2	MÉTODO.....	96
3.2.1	<i>Instrumentação.....</i>	96

3.2.2	<i>Condições analíticas</i> .....	96
3.2.3	<i>Preparo de amostra</i> .....	97
3.2.3.1	Padrão .....	97
3.2.3.2	Formulação de organogel .....	98
3.2.4	<i>Validação do método</i> .....	98
3.2.4.1	Adequação do sistema .....	98
3.2.4.2	Seletividade .....	99
3.2.4.3	Robustez .....	99
3.2.4.4	Teste de filtro .....	99
3.2.4.5	Teste de Youden .....	99
3.2.4.6	Linearidade .....	101
3.2.4.7	Precisão .....	101
3.2.4.8	Exatidão .....	101
3.2.5	<i>Avaliação do teor de meloxicam nas formulações de organogel</i> .....	102
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>103</b>
4.1	CONDIÇÕES ANALÍTICAS .....	103
4.2	ROBUSTEZ .....	104
4.2.1	<i>Teste de filtro</i> .....	104
4.2.2	<i>Teste de Youden</i> .....	106
4.3	SELETIVIDADE .....	110
4.4	LINEARIDADE .....	118
4.5	PRECISÃO .....	120
4.6	EXATIDÃO .....	121
4.7	AVALIAÇÃO DO TEOR DE MELOXICAM NAS FORMULAÇÕES DE ORGANOGEL .....	121
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>123</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>124</b>

## **CAPÍTULO IV - PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE ORGANOGEL DE PLURONIC® E LECITINA DE SOJA CONTENDO MELOXICAM**

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>130</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>132</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>133</b>
3.1	FÁRMACO .....	133
3.2	EXCIPIENTES .....	133
3.3	REAGENTES .....	133

3.4	MÉTODO .....	133
3.4.1	<i>Produção das formulações de organogéis</i> .....	133
3.4.2	<i>Teor das formulações de organogel</i> .....	134
3.4.3	<i>Solubilidade do meloxicam</i> .....	134
3.4.4	<i>Linearidade</i> .....	134
3.4.5	<i>Teste de Filtro</i> .....	135
3.4.6	<i>Ensaio de solubilidade</i> .....	135
3.4.7	<i>Desenvolvimento do método de dissolução</i> .....	136
3.4.7.1	Delineamento experimental para o desenvolvimento do método de dissolução.....	137
3.4.7.2	Análise do delineamento experimental .....	138
3.4.7.3	Comparação entre os perfis de dissolução .....	138
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>140</b>
4.1	LINEARIDADE.....	140
4.2	TESTE DE FILTRO .....	140
4.3	SOLUBILIDADE.....	142
4.4	ANÁLISE DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	144
4.4.1	<i>Comparação entre os perfis de dissolução</i> .....	156
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>160</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>161</b>

## **CAPÍTULO I – USOS FARMACÊUTICOS DA LECITINA**



## RESUMO

A lecitina é descrita como uma mistura de glicerofosfolipídeos obtidos de fontes animais, vegetais ou microbianas, contendo uma variedade de substâncias, como esfingosilfosfolipídeos, triglicerídeos, ácidos graxos e glicolípido. Ao longo dos anos, artigos científicos, patentes, livros e associações de pesquisadores ao redor do mundo estudaram a lecitina em todo o seu potencial, descobrindo não apenas métodos de obtenção e produção como também centenas de aplicações para um material tão diverso e multifacetado. Tais aplicações não se restringiram apenas a indústria de alimentos, que foi a precursora do uso de lecitina como agente emulsionante, mas também ao mercado farmacêutico, tendo sido introduzida em 1988 por Scartazzini e Luisi, que utilizaram a lecitina como agente formador de matriz em organogéis. Nos anos seguintes, pesquisas se estenderam para outras áreas, com princípios e aplicações semelhantes, passando a usar a lecitina como tensoativos de microemulsões e lipossomas.

Palavras-chave: Lecitina uso farmacêutico, Lecitina em formulações, Métodos de obtenção de lecitina

## **ABSTRACT**

Lecithin is known a mixture of glycerophospholipids obtained from animal, vegetable or microbial sources, containing a variety of substances, such as sphingosylphospholipids, triglycerides, fatty acids and glycolipids. Over the years, scientific articles, patents, books and associations of researchers around the world have studied lecithin to its full potential, discovering not only methods of obtaining and producing it, but also hundreds of applications for such a diverse and multifaceted material. Such applications were not restricted to the food industry, which pioneered the use of lecithin as an emulsifying agent, but also to the pharmaceutical market, having been introduced in 1988 by Scartazzini and Luisi, who used lecithin as a matrix-forming agent in organogels. . In the following years, research extended to other areas, with similar principles and applications, starting to use lecithin as surfactants for microemulsions and liposomes.

**Key words:** Lecithin pharmaceutical use, Lecithin in formulations, Methods of obtaining lecithin.

## 1 INTRODUÇÃO

A lecitina foi descrita pela primeira vez na França em 1847 quando foi isolada por Théodore Gobley a partir da gema do ovo de carpa. Essa descoberta pode ser encontrada em um artigo intitulado *Recherches chimiques sur les oeufs de carpe*, que caracterizou a substância como amarela alaranjada, contendo em sua estruturação um componente com nitrogênio. Em 1867 foi descoberto que o componente com nitrogênio se tratava de colina, uma base nitrogenada que teve seu primeiro relato em um experimento realizado por Strecker em 1849. Logo, essa descoberta fez com que, por anos, lecitina fosse considerada um sinônimo de fosfatidilcolina (FC) (HARRIS, 1971; WENDEL, 2000; VAN NIEUWENHUYZEN, 2010).

O que sabemos atualmente, é que a lecitina não é composta apenas por FC e sim por uma mistura complexa de fosfolipídios junto a outros componentes, sendo mais profundamente descrita pela International Lecithin and Phospholipid Society (ILPS) em 2013 como:

[...] lecitina é uma mistura de glicerofosfolipídeos obtidos de fontes animais, vegetais ou microbianas, contendo uma variedade de substâncias, como esfingosilfosfolipídeos, triglicerídeos, ácidos graxos e glicolipídeos. Os fosfolipídios puros, que podem ser isolados em última instância da mistura, são definidos como lipídeos contendo ácido fosfórico. O termo fosfolipídios não é mais recomendado, mas ainda é usado na literatura técnica.

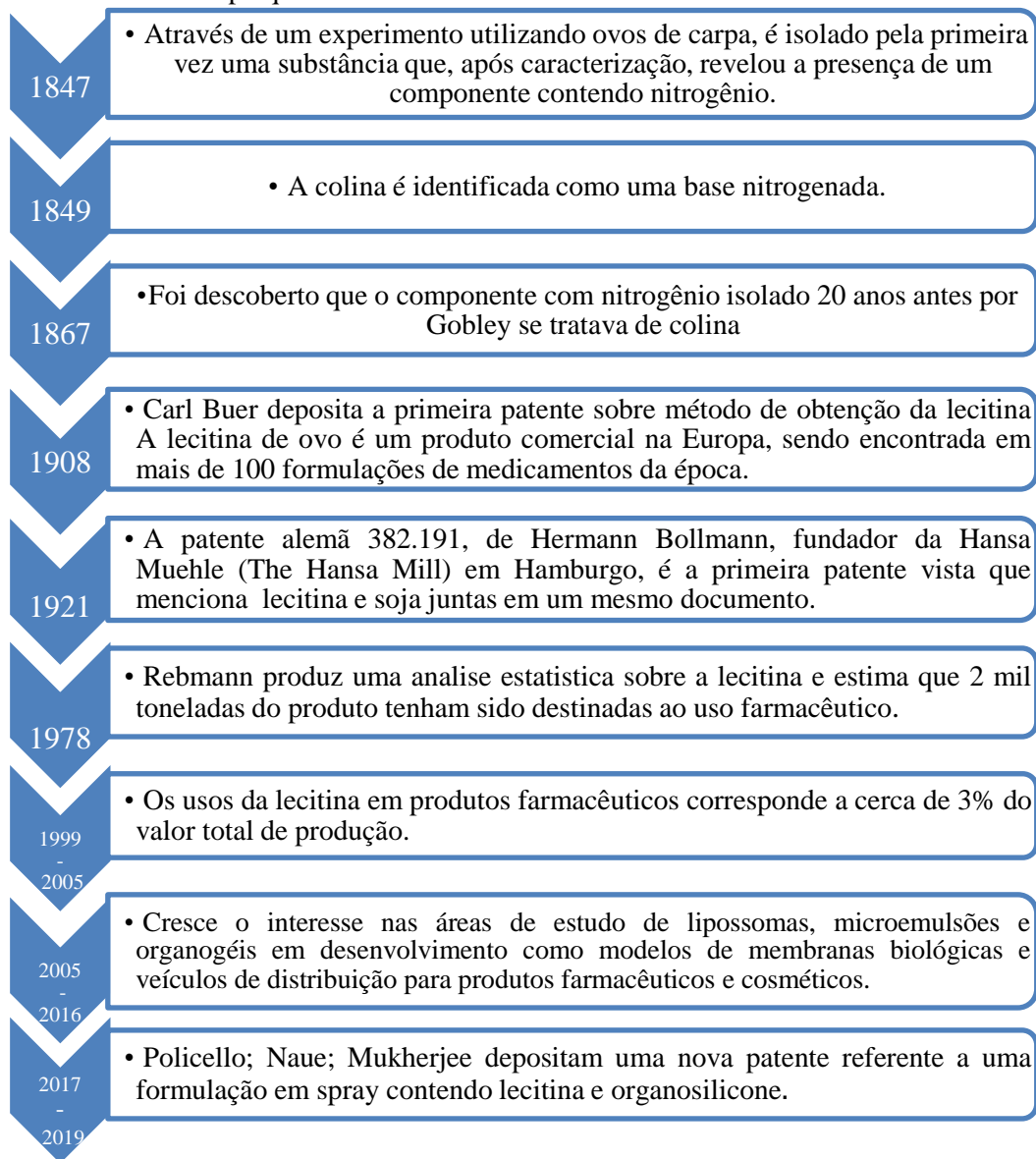
Por se tratar de uma mistura de diversos fosfolipídios formadores de membrana celular, foi descoberto posteriormente que a lecitina poderia ser obtida através de outras fontes como, por exemplo, uma grande variedade de grãos, descoberta essa que ganhou destaque com o rápido avanço da agricultura mundial. Outra possível fonte são os tecidos e estruturas provenientes de animais. Após essa revelação, a lecitina passou a ser mais profundamente estudada por pesquisadores de diferentes áreas, com os mais variados temas e abordagens científicas (LIST, 2015).

Além da área acadêmica, a lecitina (Figura 1) apresenta diversos usos e funções na indústria moderna, que vão desde produtos de caráter alimentício até materiais para pintura e

plastificantes, característica que lhe rendeu uma extensa quantidade de aplicações em patentes ao longo das décadas (POLICELLO et al., 2017).

Seu uso médico e farmacêutico avançou rapidamente, e a lecitina passou a ser compreendida não apenas como um multifacetado excipiente, mas também como princípio ativo em estudos que a utilizavam como precursora de colina para o tratamento de doenças neurológicas de caráter degenerativo (LITTLE et.al, 1985; SHURTTLEF; AOYAGI, 2016; BLUSZTAJN; MELLOTT, 2012).

Figura 1- Linha do tempo que retrata acontecimentos desde a descoberta da lecitina até a atualidade.



No campo do desenvolvimento de formulações farmacêuticas, o uso da lecitina é igualmente amplo. Pode fazer parte de formulações como: lipossomas, emulsões, microemulsões e, mais atualmente, em implantes, adesivos transdérmicos e organogéis de uso tópico (intravenoso e subcutâneo), atuando como um agente formador de matriz (LE; et.al, 2019; SHINODA et.al, 1991; THAKUR et.al, 2008).

## **2 OBJETIVO**

O objetivo desse trabalho é fazer uma revisão da literatura e atualizar o estado da arte abordando a lecitina, desde a sua descoberta e métodos de obtenção, até sua aplicação farmacêutica.

### **3 METODOLOGIA**

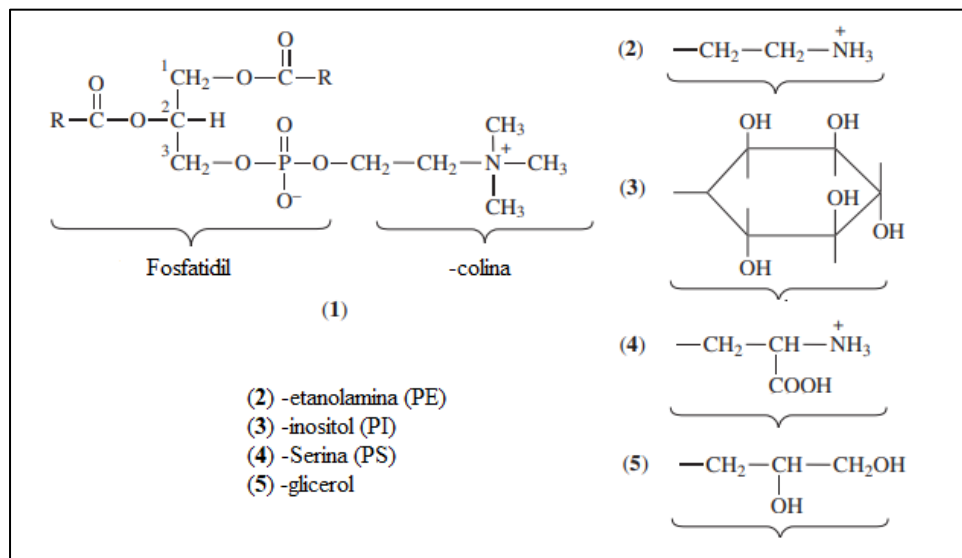
A metodologia de busca para a realização do levantamento bibliográfico, foi determinado utilizando os bancos de dados: PubChem, Scielo, Google, Portal CAPES, Science Research, Pubmed, SciFinder e Google Patents, além de livros, teses, dissertações, trabalhos apresentados em congressos. As palavras-chave utilizadas na busca foram: lecitina, lecithin; Lecitina de soja, soy lecithin, soja lecithin; Produção de lecitina de soja, soy lecithin Production, soja lecithin Produktion; Caracterização de lecitina; lecithin Characterization; lecithin-Charakterisierung; Revisões sobre lecitina; Lipídios, lipids; Degomagem, degumming; Microemulsão, microemulsion; Lipossomas, liposomes e organogéis, organogels. Os idiomas utilizados na pesquisa foram: português, inglês e alemão. As publicações analisadas contemplaram o período de 1847 a 2022 e os critérios de seleção da literatura utilizada para esse estudo foram artigos, capítulos de livros e outros materiais textuais que estivessem em acordo com as palavras-chave e tratassem da lecitina, de sua história, seu método de obtenção e seu uso farmacêutico ao longo do período analisado.

## 4 LECITINA

### 4.1 Definições, principais características e seu método de obtenção.

O termo lecitina tem sua raiz etimológica na palavra grega “λέκιθος,” (lê-se lekithos), que significa “ovo, o começo da vida”, mas é também o nome comercial atualmente dado a uma mistura complexa de fosfolipídios naturais, constituída principalmente de fosfatidilcolina (FC), fosfatidiletanolamina (FE), fosfatidilserina (FS) e fosfatidilinositol (FI) (Figura 2), além de triglicerídeos, carboidratos e outros componentes, comumente encontrados em células de plantas (soja, algodão, milho, girassol, canola etc.), e em estruturas animais (gema de ovo, tecidos cerebrais e medula espinal) em pequenas quantidades. Dada sua composição, atua como uma das formadoras de matriz das membranas biológicas, representando importante papel no metabolismo celular e está diretamente ligada a produção de colina e acetilcolina. Por muito tempo foi considerado também um sinônimo direto para a fosfatidilcolina (CHERRY; GRAY; JONES, 1981; CLARKE, 2007; KAPALKA, 2010).

Figura 2- A molécula de lecitina é composta por resíduos de colina, dois ácidos graxos, glicerol e ácido fosfórico. A parte não polar é composta por cadeias de hidrocarbonetos dos resíduos de ácidos graxos. Os demais resíduos constituem a região polar.



Fonte: Adaptado de WENDEL, 2014; STAFF, 2015.

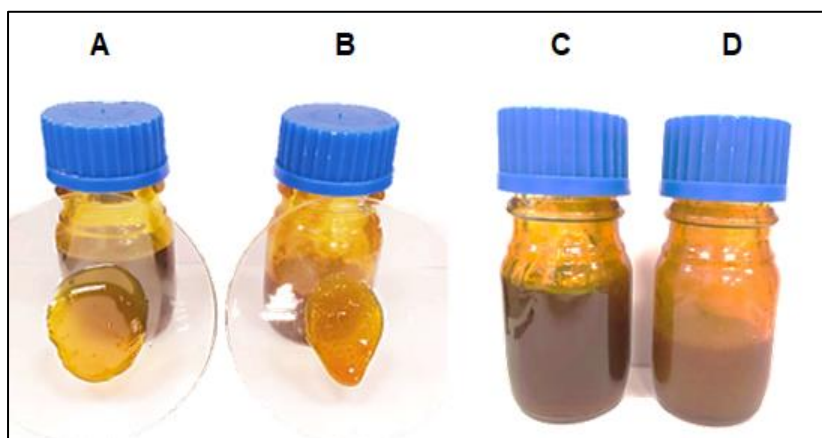


A principal característica da lecitina é a cor, podendo variar de marrom a amarelo claro, dependendo de sua fonte de origem e do processamento de clareamento ou a sua ausência, além do processo de filtração. Outro aspecto importante é a viscosidade, que pode variar de plástica a fluída, dependendo da quantidade de ácido graxos livres e óleo presentes, em sua composição (CLARKE, 2007).

Atualmente, mais de 40 variedades de lecitina são comercializadas ao redor do mundo, mas mesmo essa grande variedade pode ser classificada a partir do método de purificação com o qual são obtidas, se encaixando em três categorias principais: natural, refinada e modificada (EFSA 2016).

A lecitina natural tem como principais características sua viscosidade, podendo ser plástica ou fluída e sua cor, podendo variar de mais clara a mais escura dependendo do tipo de processamento que recebe após sua extração (Figura 3). A lecitina refinada tem como principal característica a presença ou ausência de óleo em sua composição, enquanto a lecitina modificada tem como principal característica apresentar alterações feitas após o refino, que tem como objetivo torná-la mais adequada a um fim específico, podendo variar de enriquecimento de um determinado fosfolípídio na composição, à mistura de diferentes categorias de lecitina. O detalhamento dessas informações pode ser visto na Tabela 1 (EFSA 2016).

Figura 3- Lecitinas obtidas de diferentes fornecedores. Na imagem é possível observar duas das principais propriedades da lecitina natural, sua viscosidade sendo a lecitina A mais plástica enquanto a lecitina B apresenta um comportamento mais fluído. Já nas lecitinas C e D é possível notar a diferença de cores, sendo a C mais escura em comparação a D.



Embora existam diferentes fontes pra a obtenção de lecitina, os óleos vegetais são os mais utilizados por sua facilidade de obtenção em larga escala (WENDEL, 2014).

Previamente o processo de obtenção de óleo, no caso do uso de grãos, como os de soja, por exemplo, devem ser preparados através de algumas etapas que visam condicioná-lo para maximizar a produção. Essas etapas são: pré-limpeza, descascamento, condicionamento, trituração ou laminação e cozimento (EMBRAPA, 2001).

Após a fase de preparo, dá-se início a produção do óleo vegetal (Figura 4), tal processo de obtenção começa com a moagem dos grãos, sementes ou plantas do qual o óleo vegetal será extraído. Esse processo resulta na remoção parcial dos óleos, obtidos através do esmagamento da parede celular dos grãos, sementes ou plantas, resultando em um produto primário, que contém de 2 a 3% de fosfolipídios. A etapa seguinte é a extração realizada com auxílio de solventes orgânicos como o hexano utilizado em quase toda a América Latina e Estados Unidos ou Tolueno utilizado na Europa. O fator que irá definir a velocidade de extração é a obtenção do equilíbrio no sistema óleo-micela-solvente, onde, o termo “micela” corresponde à solução composta pela mistura de óleo e solvente. (OBRIEN, 2008).

Tabela 1 - Composição das lecitinas comerciais.

<b>Natural</b>	<b>Refinada</b>	<b>Modificada</b>
<i>Plástica</i>		<i>Fisicamente</i>
Não clareada	<i>Sem óleo</i>	Mistura customizada
Clareada		Natural + refinada
Duplamente clareada		
<i>Fluida</i>		<i>Quimicamente</i>
Não clareada	<i>Fracionada</i>	
Clareada		
Duplamente clareada		<i>Enzimticamente</i>

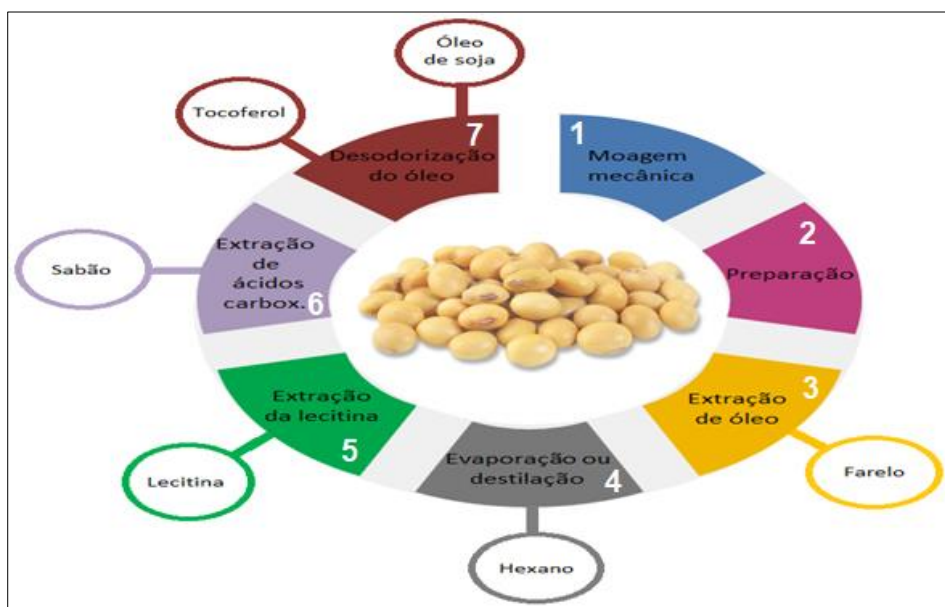
Fonte: Adaptado de WENDEL, 2014; EFSA 2016.

A mistura obtida na extração é filtrada para remover resíduos contaminantes (cascas e farelos). Em seguida, é transferida para um destilador contínuo, onde é feita a separação do óleo e do solvente através de aquecimento, à temperatura de 70 C a 90 °C. Nesse processo de

destilação é esperada a redução do conteúdo de solventes até 5%, o hexano residual é então destilado em um evaporador (VAN NIEUWENHUYZEN; TOMÁS, 2008).

O processo seguinte é a degomagem (Figura 5), etapa responsável pela remoção de fosfatídeos presente em óleos vegetais e que pode ser considerado um dos primeiros passos no refino de óleos e na obtenção da lecitina. Esse processo pode ser feito com o uso de ácidos, enzimas ou em água, sendo esse último o mais comumente aplicado por ser o método mais acessível e eficaz. Nesse processo, a água é misturada ao óleo através de agitação suave por aproximadamente 30 minutos a 70 °C, resultando na hidratação do material e posteriormente na formação de uma emulsão (EFSA 2016).

Figura 4- Etapas do processo industrial para a obtenção de lecitina, óleo de soja e outros derivados. A etapa de número 5 indica a fase do processo onde a lecitina é extraída da mistura de óleo e gomas. Essa etapa recebe também o nome de degomagem.

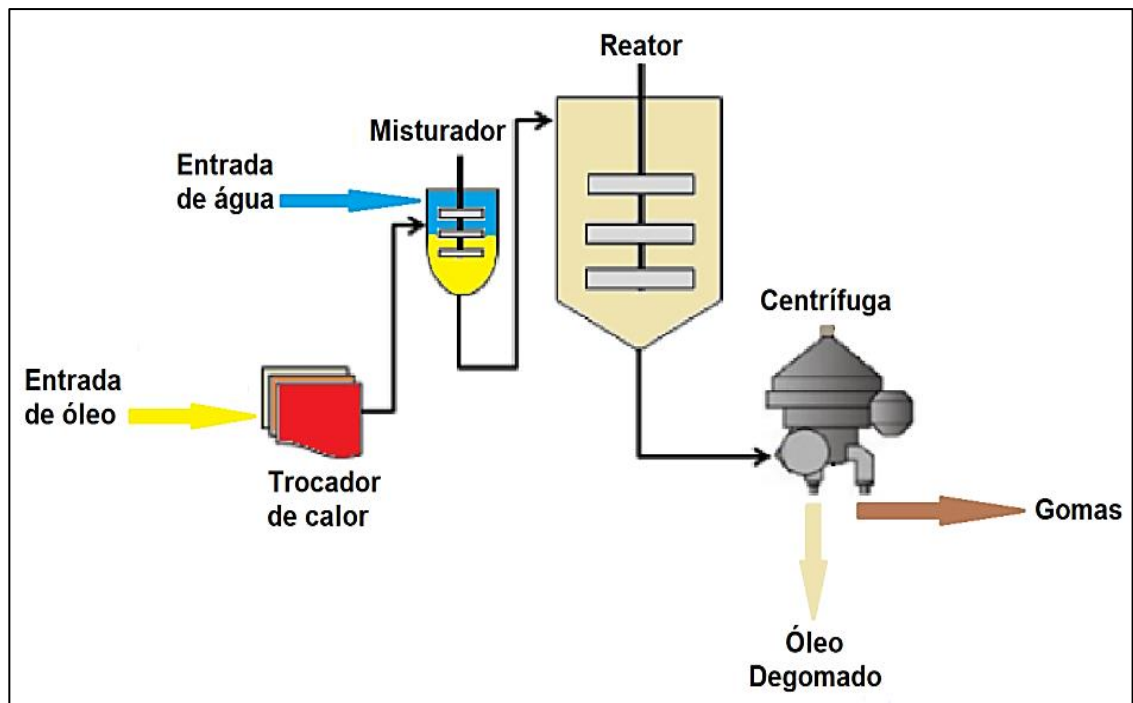


A remoção com água é favorável principalmente em casos de fosfatídeos hidratáveis, como: FC, FI e lisofosfatidilcolina, sendo essa última um produto de degradação da fosfatidilcolina, tendo em vista que essas moléculas tendem a se manter na fase aquosa, podendo ser removidas posteriormente através de constante decantação e secagem, desde que a goma esteja na faixa entre 20 a 50% de umidade (LIST, 2015).

A mistura de óleo e goma é centrifugada para a separação da fase aquosa, onde se encontra a lecitina. Após sua separação, o óleo degomado é extraído e encaminhado para a etapa de neutralização, enquanto a goma obtida segue para a homogeneização e logo após para a secagem, onde sua umidade deve ser reduzida a <1%. A lecitina é posteriormente resfriada para evitar escurecimento e pode ser armazenada (NUNES, 2013; LIST, 2015).

Além das moléculas hidratáveis, podem estar presentes os fosfatídeos não hidratáveis, incapazes de serem eliminados no processo de degomagem por água e que podem ser um indicio da baixa qualidade dos grãos utilizados na produção do óleo e consequentemente da lecitina obtida. No caso da soja, que é a mais comumente utilizado, se for de boa qualidade, 90% de seus fosfatídeos serão hidratáveis e o processo de degomagem será capaz de extraí-los para a produção de lecitina (VAN NIEUWENHUYZEN, 2014).

Figura 5- Esquema detalhado do processo de degomagem utilizando água para a obtenção de lecitina.



Fonte: Adaptado de Nunes, 2013.

Embora se possa obter lecitina de diversos tipos de grãos e sementes, o de soja, por sua produção mundial em larga escala é o mais utilizado, seguido por sementes de girassol e

flores de colza, esses por apresentarem valores consideráveis de fosfatídeos e ácidos graxos livres em sua composição (VAN NIEUWENHUYZEN, 2014; NUNES, 2013).

A lecitina é um produto majoritariamente utilizado como emulsificante em diversos setores (cosmético, alimentício e farmacêutico), mas também pode ser utilizada como agente modificador de viscosidade, agente molhante, suplementos nutricionais entre outros, por se tratar de uma substância reconhecida como segura (Generally Recognized As Safe, GRAS) segundo a organização americana 'Food and Drug Administration' (FDA), descrita no título 21, parte 184 nos itens § 184.1400 e § 184.1063; é o número E322 da lista de emulsificantes, estabilizantes, agentes gelificantes e promotores de viscosidade aprovado pela organização europeia Food Standards Agency (VAN NIEUWENHUYZEN; TOMÁS, 2008; UNIÃO EUROPÉIA, 2008; FDA, 1994).

No Brasil recebeu o número DCB (Denominação comum brasileira) 12397, na RDC 333 de 23 de dezembro de 2019. Atraiu, no entanto, a atenção da indústria farmacêutica graças a sua capacidade de formar sistemas nanocarreadores, géis, microemulsões e, principalmente, organogéis não irritantes (KUMAR; KATARE, 2005; VINTILOIU; LEROUX, 2008; ANVISA, 2019).

O interesse da indústria farmacêutica e cosmética pela lecitina surgiu principalmente por sua composição, sendo constituídas majoritariamente por fosfolipídios, moléculas polares com uma porção hidrofílica e uma porção lipofílica, que lhes permite se concentrar na interface entre a água e óleo, reduzindo a tensão interfacial e facilitando a obtenção de formulações como, por exemplo, emulsões, microemulsões, nanoemulsões e organogéis. Contudo, é interessante entender o comportamento dos fosfolipídios e das estruturas formadas por eles quando na presença de óleo e água, pois em contato com diferentes estruturas, é possível obter uma grande variedade de outras fases. Essas fases são conhecidas também como "fases sólidas" ou "fases em gel" e são favorecidas por baixas temperaturas ou pela presença de ácidos graxos saturados de cadeias longas. (PERUTKOVÁ; DANIEL; DOLINAR; RAPPOLT; KRALJ-IGLIČ; IGLIČ, 2009).

## **4.2 Polimorfismo de lipídios**

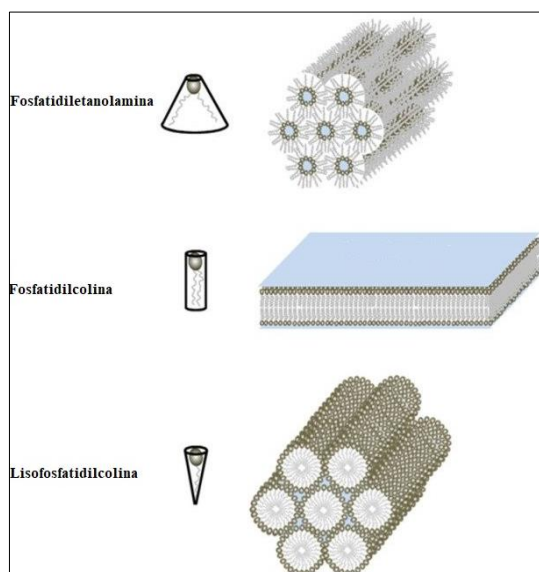
O polimorfismo nos lipídios consiste na habilidade dessas moléculas orgânicas de se agregarem de diferentes maneiras quando expostas a diferentes quantidades de água ou

alterações de temperatura, dando origem a estruturas de conformações variadas, também chamadas de fases. Essas fases podem variar entre esféricas (micelas), camadas (lamelar), arranjos tubulares (hexagonais I e II), diferentes fases cúbicas e outros agregados mais complexos que ainda são pouco estudados. (JOUHET, 2013; ALBERTS et al., 2002; VITTORIO, 1995).

Fases hexagonais são as mais amplamente estudadas e conhecidas até então, são divididas em: I, caracterizada pela formação de micelas onde a cabeça hidrofílica está voltada para fora, enquanto a calda hidrofóbica se mantém voltada para dentro e II, caracterizada pelo comportamento oposto, formando micelas inversas. Ambas as fases apresentam a formação de estruturas tubulares decorrente da ligação dessas micelas quando expostas a soluções aquosas. (STUART; BOEKEMA, 2007; ISRAELACHVILI; MITCHELL, 1975).

A FC, o primeiro fosfolipídio mais comum na lecitina, é capaz de formar camadas lamelares. A lisofosfatidilcolina forma estruturas hexagonais de Fase I (Figura 6), enquanto o segundo lipídio mais comum na lecitina, a fosfatidiletanolamina, é capaz de formar estruturas hexagonais de fase II. Em situações como mudanças de temperatura, alterações na proporção água:óleo ou na presença de outros solventes polares, é possível observar mudanças na conformação especial desses lipídios, podendo passar de Fase I para II ou de lamelar para Fase II (KRUIJFF, 1997).

Figura 6: Esquema que ilustra os lipídeos em suas diferentes estruturas e conformações espaciais.



Fonte: Adaptado de JOUHET, 2013.

Ainda sim, faz-se necessário um estudo mais detalhado dos fosfolipídios antes de adotá-los em uma formulação, pois estão sujeitos a alterações morfológicas em sua estrutura.

### **4.3 Lecitina e seu uso no desenvolvimento de formulações**

As lecitinas são utilizadas principalmente em produtos farmacêuticos como agentes de dispersão, emulsificação e estabilizantes. Está presente em formulações de injeções intramusculares e intravenosas, nutrição parenteral, e são muito encontradas em produtos tópicos, como cremes e pomadas. São usadas também em bases de supositórios, para reduzir a fragilidade da formulação e, foram investigadas por suas propriedades de aumento de absorção em uma fórmula de insulina intranasal. As lecitinas também são comumente usadas como um componente de e formulações de nutrição parenteral (NOVAK et.al, 1991; VARSHOSAZ et.al, 2006; NYANKSON et.al, 2015).

Fosfolipídios como os que estão presentes na lecitina, tem sido cada vez mais explorados como sistemas de *drug delivery*, criando para si um novo nicho a ser explorado, com funções que vão muito além da indústria alimentícia. O interesse em moléculas desse tipo se deu graças a sua capacidade de aumentar a permeabilidade através da pele, pela segurança que oferecem, visto que são semelhantes aos fosfolipídios encontrados na membrana celular e, conseqüentemente, pelos poucos efeitos adversos que apresenta em seu uso (PIERRE; COSTA, 2011).

As principais formas farmacêuticas que surgiram ao longo dos anos de pesquisa e desenvolvimento com o uso de lecitina estão listadas a seguir.

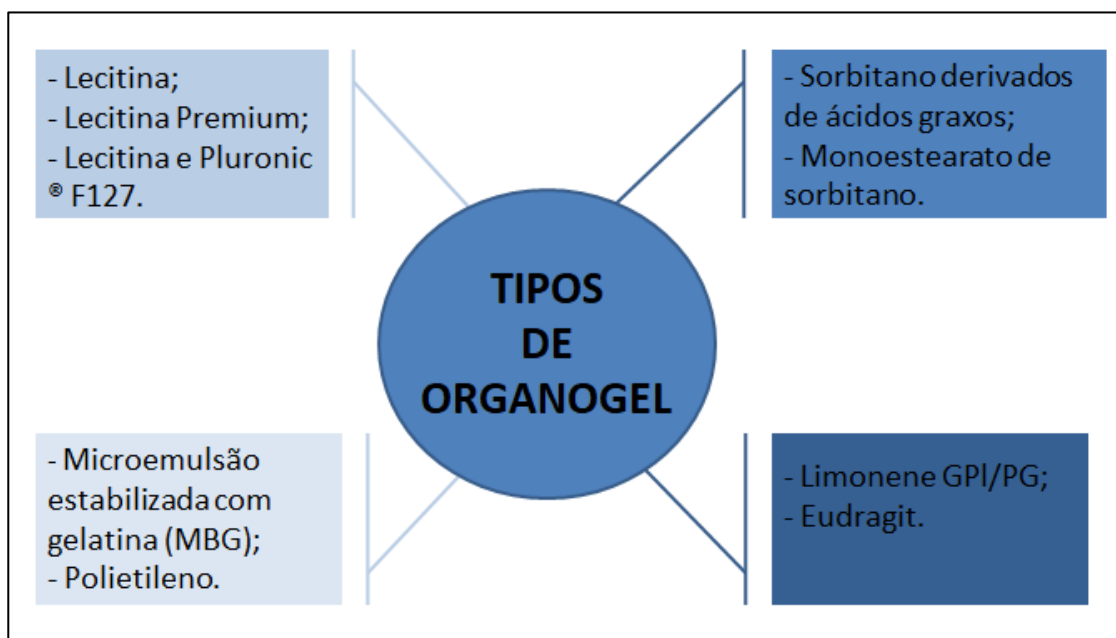
#### **4.3.1 Organogéis**

Existem diversos tipos de organogel disponíveis (Figura 7), todos com diferentes características (cor, odor, termo reversibilidade e viscosidade) e métodos de obtenção, dentre eles, a lecitina segue sendo a mais estudada (THAKUR; THAKUR; VOICU, 2018).

A descoberta da possibilidade de produzir organogéis, tendo a lecitina como agente formador de matriz foi descrita por Scartazzini e Luisi (1988). No estudo, foi demonstrado como uma opção viável para a produção de uma rede tridimensional, que se formava a partir da mistura de lecitina, um ou mais solventes e quantidade crítica de água, algo pouco

discutido até aquela data, mas que gerou um interesse crescente ao longo dos anos seguintes. (SCARTAZZINI; LUISI, 1988).

**Figura 7-** Representação dos tipos de organogel mais estudados com destaque para a lecitina, que apresenta três tipos diferentes de métodos de obtenção do organogel. O primeiro utilizando somente lecitina natural, o segundo usando lecitina natural enriquecida com fosfolipídios específicos e o terceiro utilizando uma mistura de lecitina e polímero.



Organogéis são definidos na literatura como um sistema sólido ou semissólido. É constituído por dispersões de partículas orgânicas interpenetradas por um líquido (fase dispersa), onde o agente espessante, normalmente um sólido ou semissólido, aparece em menor quantidade e tem como função imobilizar a fase dispersa em uma rede tridimensional (3D) elástica ou viscoelástica. Dessa forma, pode ser descrito como uma estrutura turva, não cristalina e termo reversível. Tem uso potencial em diversas áreas de aplicação: cosméticos, produtos oftálmicos, pomadas, produtos de aplicação tópica, transdérmicos, comprimidos de liberação modificada, supositórios, mas principalmente produtos injetáveis por permitirem a administração de fármacos que não podem ser ingeridos (AULTON; TAYLOR, 2016; THAKUR; THAKUR; VOICU, 2018).

Além do mais, os organogéis são divididos com base no tipo de ligação desempenhada pela molécula formadora de matriz com a fase dispersa e outros possíveis componentes. A



lecitina se mostrou como sendo capaz de se encaixar nesse esquema inicialmente como um sistema de crosslinking por ligação física (KEMPE; MÄDER, 2012).

Para a obtenção de um organogel tendo a lecitina como um agente formador de matriz, sua procedência deve ser de origem natural, ou seja, obtida principalmente de fontes animais ou vegetais, uma vez que apenas a lecitina natural apresenta resíduos de ácidos graxos insaturados em sua estrutura e quantidade importante de fosfolipídios, entre eles a fosfatidilcolina (Tabela 2). Lecitinas com baixíssimo grau de pureza, obtidas através de grãos com pouca qualidade, assim como lecitinas de origem sintéticas, não são capazes de formar organogéis por apresentarem resíduos de ácidos graxos saturados em sua composição, impedindo a gelificação (KUMAR; KATARE, 2005; VAN NIEUWENHUYZEN; TOMÁS, 2008).

Tabela 2- Teor de fosfolipídios em três tipos diferentes de lecitina. Os de maior interesse são principalmente a fosfatidilcolina e a fosfatidiletanolamina.

	Lecitina de Soja (%)	Lecitina de Girassol (%)	Lecitina de Canola (%)
Fosfatidilcolina	15	16	17
Fosfatidiletanolamina	11	8	9
Fosfatidilinositol	10	14	10
Ácido fosfatídico	4	3	4
Outros fosfolipídios	7	6	6

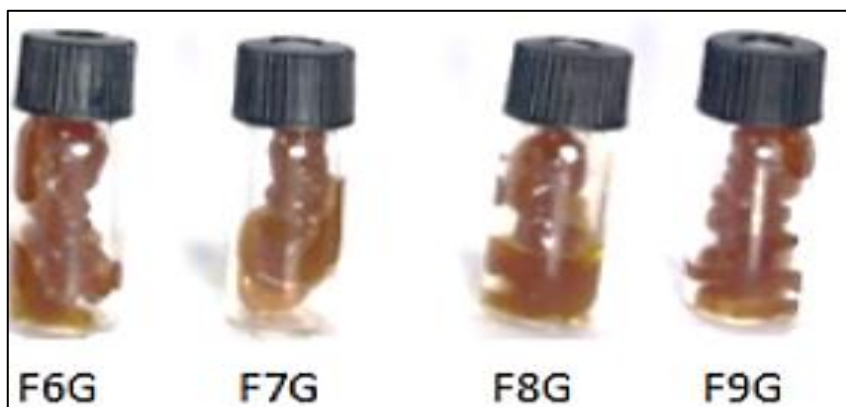
Fonte: Adaptado de VAN NIEUWENHUYZEN; TOMÁS, 2008.

Outro ponto de destaque ao se trabalhar com organogéis de lecitina é a escolha do solvente. Durante os primeiros estudos sobre formulações de organogéis, era comumente relatado o uso de solventes orgânicos, frequentemente alcanos, como hexano e ciclohexano, e estudos que envolviam o uso de óleos minerais ou vegetais. A escolha por óleos vegetais como o de girassol ou de soja para uma formulação farmacêutica costuma ser adotada levando em consideração o fato de que esses óleos são vistos como possíveis opções de maior biocompatibilidade. Solventes como miristato de isopropila, bis-2-etil-hexil-sulfossuccinato de sódio, palmitato de isopropila e alguns triglicerídeos de cadeia média (TCM), como os triglicerídeos de ácido cáprico caprílico são algumas das opções também consideradas seguras. Solventes polares como propilenoglicol, polietilenoglicol, hidroxietil-lactamida,

butanol, água ou etanol também podem fazer parte de uma mistura de solventes que levarão a formação de organogéis, atuando como co-solventes. Para organogéis que fazem uso da lecitina como agente espessante, foi encontrado cerca de 50 solventes diferentes capazes de alcançar a formação de rede tridimensional (SCARTAZZINI; LUISI, 1988; LUISI, et al, 1990; WILLIMANN, et al, 1992).

O organogel de lecitina (Figura 8) tem capacidade de transportar anti-inflamatórios não esteroidais, hormônios, antieméticos, opióides, antipsicóticos, bloqueadores de canais de cálcio e anestésicos locais. É não irritante, de fácil absorção e praticamente sem odor, capaz de transportar moléculas de até 400 Dalton<sup>1</sup>. Esta possibilidade é de particular interesse para aplicações farmacêuticas, uma vez que amplia a gama de medicamentos que podem ser aprisionados dentro de um organogel (MURDAN 2005, PANDEY; BELGAMWAR; GATTANI; SURANA; TEKADE, 2009).

Figura 8 - Formulação utilizando apenas uma mistura de lecitina, óleo vegetal de gergelim (G) e água. É possível notar a diferença em viscosidade, consistência e cor, se comparados a outras formulação contendo lecitina, principalmente as que contem Pluronic®-F127 em sua composição.



#### 4.3.2 Lecitina Premium

Produzido com lecitina de altíssima qualidade, muitas vezes enriquecida com fosfolipídios, principalmente fosfatidilcolina, a lecitina Premium é utilizada principalmente pela indústria cosmética, pois apresenta alta capacidade de termo reversibilidade, além de não

---

<sup>1</sup> Unidade de medida de massa utilizada para expressar a massa de partículas atômicas.

possuir sensação oleosa (SUDAXSHINA MURDAN, 2005). O pouco uso desse tipo de lecitina é justificado pelo alto custo que ela possui, além dos poucos fornecedores no mercado capazes de produzi-la.

#### 4.3.3 Lecitina e PLO (Polymer lecithin organogel)

Um problema constantemente enfrentado no desenvolvimento de formulações utilizando lecitina é o alto custo de mercado que ela alcança após passar por procedimentos como purificação ou enriquecimento com determinados fosfolipídios. Porém, para contornar essa questão, o uso de polímeros passou a ser associado à lecitina de qualidade comercial, comum e mais acessível, dando origem ao termo PLO, *Polymer lecithin organogel*, também, *Pluronic® lecithin organogel*, visto que grande parte dos artigos apresenta o Pluronic® F-127 como a opção de maior sucesso para a obtenção de organogéis com lecitina de grau comercial (DRAGICEVIC; MAIBACH, 2017).

Os organogéis obtidos dessa forma são termo reversíveis, ou seja, dependem da temperatura do local onde se encontram para que haja a formação da matriz tridimensional, nesse caso (Figura 9), o aumento da viscosidade até a formação da matriz ocorre em temperatura ambiente

**Figura 9:** Exemplos de formulações utilizando lecitina e polímero para a obtenção de um organogel. A imagem ilustra frascos invertidos contendo uma mistura de lecitina, Pluronic F127® e miristato de isopropila em diferentes concentrações. A inversão dos frascos serve para comprovar que em temperatura ambiente é formada a rede tridimensional que caracteriza um organogel.



#### 4.3.4 Microemulsão

Microemulsão (ME) (Figura 10) é o termo utilizado para denominar sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicos, transparentes, com baixa viscosidade e que apresenta comportamento newtoniano<sup>2</sup>, compostos por dois líquidos imiscíveis, comumente água e óleo, formando nano-domínios estabilizados por uma camada zwitteriônica<sup>3</sup> composta por tensoativos localizados na interface óleo/água. A manutenção da baixíssima tensão superficial observada nesse sistema pode ser reforçada com a adição de co-solventes e para que possa ser caracterizada como uma ME é necessário que o tamanho de gotícula seja formado durante o processo de obtenção e esteja entre a faixa de 10 a 100 nm (PASCOA, 2012). São formulações consideradas seguras para ingestão, pode ser utilizadas como injetáveis (SCHELLER et al., 2014), mas sua principal via de administração é tópica (CAO, et al, 2019).

**Figura 10:** Exemplo de uma formulação de microemulsão.



---

<sup>2</sup> Comportamento de um fluido cuja viscosidade, ou atrito interno, é constante para diferentes taxas de cisalhamento e não variam com o tempo.

<sup>3</sup> Camada eletricamente neutra, mas que possui cargas opostas em diferentes átomos.

Em formulações desse tipo, a lecitina atua como tensoativo, graças a sua natureza anfifílica, capaz de promover a formação de ME com ou sem a presença de um co-surfactante. É utilizada principalmente por suas propriedades de aumento da permeabilidade, pela compatibilidade com a membrana celular e por sua capacidade de transportar tanto moléculas hidrofílicas quanto lipofílicas, auxiliando no uso de fármacos de baixa permeabilidade ou de fármacos que não podem passar pelo processo de digestão, descartando a possibilidade do uso da via oral (WU *et al*, 2014; DUBEY, 2013).

Quando produzido, tendo lecitina como principal tensoativo de sua composição, a ME é considerada um sistema tradicional de vesículas à base de fosfolipídios (ELNAGGAR; EL-REFAIE; EL-MASSIK; ABDALLAH, 2014).

#### 4.3.5 Lipossomas

Lipossomas são vesículas nanométricas, formadas por fosfolipídios anfipáticos arranjados em uma ou mais bicamadas, orientadas concentricamente em torno de um compartimento aquoso. Por ser termodinamicamente estável, é uma estrutura lamelar que se forma espontaneamente quando lipídeos entram em contato com meios aquosos. São classificadas conforme o seu tamanho, grande ou pequeno e de acordo com a quantidade de camadas que apresentam, podendo ser unilamelar ou multilamelar (BATISTA; CARVALHO; MAGALHÃES, 2007).

Tais características os classificam como uma estrutura semelhante à membrana celular e por essa razão é utilizada como uma opção para transportar moléculas de fármacos, principalmente através da pele, uma vez que a dualidade da molécula de fosfolipídio a permite conter tanto compostos hidrofílicos no espaço aquoso encapsulado dentro do lipossoma, quanto compostos lipofílicos intercalados entre a bicamada lipídica (PIERRE; COSTA, 2011).

Os lipossomas foram uma das primeiras estruturas a serem estudadas usando a lecitina como fonte natural de fosfolipídios, comprovando sua capacidade de atuar como uma molécula anfipática, capaz de contribuir de forma majoritária para a produção desse tipo de estrutura (SHURTTLEF; AOYAGI, 2016). Entretanto, Sessa e Weissmann, (1970), levaram essa tecnologia a indústria farmacêutica, onde a lecitina tinha papel majoritário como principal fornecedor de fosfolipídios para a formação do lipossoma.

Desde seu primeiro uso com intuito farmacêutico, diversos trabalhos foram publicados sobre o assunto, evoluindo ainda mais a ação dos lipossomas e da lecitina, que passou a ser misturada a outros agentes como colesterol e outros esteróis, contribuindo para o estudo das formas de liberação prolongada e de nanopartículas de lipídios sólidos (SLN) (BADILLI; GUMUSTAS; USLU; OZKAN, 2018).

## 5 CONCLUSÃO

Desde sua descoberta ainda no século XIX, a lecitina logo se tornou um grande sucesso de mercado, tanto na indústria alimentícia quanto na indústria farmacêutica graças as suas propriedades e por sua composição formada majoritariamente por fosfolipídios. No mercado farmacêutico seu uso tem se mostrado cada vez mais multifacetado, que passa de simples formulações de emulsões, para formulações mais complexas como lipossomas, microemulsões, partículas sólidas lipídicas e organogéis. Sua capacidade de agir como precursora de colina também muda o foco de excipiente para princípio ativo, embora sua maior referência de uso principal ainda seja como um conjunto de fosfolipídios de diferentes conformações, capazes de mimetizar a membrana celular, de agir como tensoativos e também como formadores de matriz.

## 6 REFERÊNCIAS <sup>4</sup>

ALBERTS, B. *et al.* **Molecular Biology of the Cell**. 4. ed. New York: Garland Science, 1464 p. 2002.

AULTON, M. E., TAYLOR, K. M. G. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 4. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Cap. 31, p.1093-1154.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **RESOLUÇÃO - RDC Nº 333, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019**. Dispõe sobre a atualização da lista de Denominações Comuns Brasileiras (DCB). BRASÍLIA, v. 1, p. 97, 29 dez. 2019. Disponível em: [http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/U\\_RS-MS-ANVISA-RDC 333\\_231219.pdf](http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/U_RS-MS-ANVISA-RDC 333_231219.pdf).

BADILLI, U. *et al.* A. Lipid-based nanoparticles for dermal drug delivery. **Organic Materials As Smart Nanocarriers For Drug Delivery**, [S.L.], p. 369-413, jan 2018. DOI: 10.1016/B978-0-12-813663-8.00009-9. DOI: 10.1016/B978-0-12-813663-8.00009-9 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813663-8.00009-9>.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, [S.L.], v. 43, n. 2, p. 167-179, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s1516-93322007000200003 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322007000200003>.

BLUSZTAJN, J. K.; MELLOTT, T. J. Choline Nutrition Programs Brain Development Via DNA and Histone Methylation. **Central Nervous System Agents In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 82-94, jun. 2012. DOI: 10.2174/187152412800792706. DOI: 10.2174/187152412800792706. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/187152412800792706>.

CAO, Y. *et al.* Development and Evaluation of a Water-in-oil Microemulsion Formulation for the Transdermal Drug Delivery of Teriflunomide. **Chemical And**

---

<sup>4</sup>De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).



**Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 67, n. 8, p. 786-794, ago. 2019. DOI: 10.1248/cpb.c18-00930. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/cpb.c18-00930>.

CLARKE, Z. Lecithin. In *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. [S.L.], p. 1–3, mar. 2007. DOI: 10.1016/B978-008055232-3.62016-1 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62016-1>.

CHERRY, J. P.; GRAY, M. S.; JONES, L. A. A review of lecithin chemistry and glandless cottonseed as a potential commercial source. **Journal Of The American Oil Chemists' Society**, [S.L.], v. 58, n. 10, p. 903-913, out. 1981. DOI: 10.1007/bf02659656. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/bf02659656>.

DRAGICEVIC, N.; MAIBACH, H. I. Percutaneous Penetration Enhancers Drug Penetration Into/Through the Skin. [S.L.], p. 1 - 411, mai. 2017. DOI: 10.1007/978-3-662-53270-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-662-53270-6>.

DUBEY, R. Controlled-release injectable microemulsions: recent advances and potential opportunities. **Expert Opinion On Drug Delivery**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 159-173, dez. 2013. DOI: 10.1517/17425247.2014.870151. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.870151>.

EFSA European Food Safety Authority. Safety and efficacy of lecithins for all animal species. **EFSA Journal**, [S.L.], v. 14, jul. 2016. DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4561. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4561>.

ELNAGGAR, Y. *et al.* Lecithin-based nanostructured gels for skin delivery: an update on state of art and recent applications. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 180, p. 10-24, abr. 2014. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.02.004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.02.004>.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos**. Londrina, 2001. 40p. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPSO/18455/1/doc171.pdf>.

ESPOSITO, C. L.; KIRILOV, P.; ROULLIN, V. G. Organogels, promising drug delivery systems: an update of state-of-the-art and recent applications. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 271, p. 1-20, fev. 2018. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.12.019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.019>.

FDA, The Food and Drug Administration, EUA, 1994. Título 21, volume 3, capítulo 1 - Food and Drugs. EUA. Departamento de Saúde e Serviços Humanos, **Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER)**. Disponível em: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2011-title21-vol3/pdf/CFR-2011-title21-vol3-chapI.pdf>.

GUENET, J. Gels: A Definition. **Springerbriefs In Materials**, [s.l.], p. 7-15, 2016. DOI: 10.1007/978-3-319-33178-2\_2. Disponível em: 10.1007/978-3-319-33178-2\_2. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-33178-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33178-2_2).

HARRIS, R. S. CHOLINE. **The Vitamins**, [S.L.], p. 149-154, 1971.

ISRAELACHVILI, J. N.; MITCHELL, D.J. A model for the packing of lipids in bilayer membranes. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Biomembranes**, [S.L.], v. 389, n. 1, p. 13-19, abr. 1975. DOI: 10.1016/0005-2736(75)90381-8. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736\(75\)90381-8](http://dx.doi.org/10.1016/0005-2736(75)90381-8).

JOUHET, J. Importance of the hexagonal lipid phase in biological membrane organization. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 4, p. 1-5, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00494. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00494>. Acesso em: 22 dez. 2020

KAPALKA, G. M. **Mania and Agitation. In Nutritional and Herbal Therapies for Children and Adolescents**, [S.L.], p. 189–218, 2010.

KEMPE, S.; MÄDER, K. In situ forming implants — an attractive formulation principle for parenteral depot formulations. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 161, n. 2, p. 668-679, jul. 2012. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.04.016 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.04.016>.

KRUIJFF, B. Lipid polymorphism and biomembrane function. **Current Opinion In Chemical Biology**, [S.L.], v. 1, n. 4, p. 564-569, dez. 1997. DOI: 10.1016/s1367-5931(97)80053-1. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1367-5931\(97\)80053-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1367-5931(97)80053-1).

KUMAR, R.; KATARE, O. P. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: a review. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 298-310, jun. 2005. DOI: 10.1208/pt060240. Disponível em: <https://doi.org/10.1208/pt060240>.

LE, N. T. T. *et al.* . Soy Lecithin-Derived Liposomal Delivery Systems: surface modification and current applications. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 19, p. 2-27, 23 set. 2019. DOI: 10.3390/ijms20194706. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20194706>.

LITTLE, A. *et al.* A double-blind, placebo controlled trial of high-dose lecithin in Alzheimer's disease. **Journal Of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, [S.L.], v. 48, n. 8, p. 736-742, 1 ago. 1985. DOI: 10.1136/jnnp.48.8.736. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/jnnp.48.8.736>.

LONČAREVIĆ, I. *et al.* . The Influence of Lecithin from Different Sources on Crystallization and Physical Properties of Nontrans fat. **Journal Of Texture Studies**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 450-458, 2 ago. 2013. DOI: 10.1111/jtxs.12033. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jtxs.12033>.

LUISI, P. L. *et al.* Organogels from water-in-oil microemulsions. **Colloid & Polymer Science**, [S.L.], v. 268, n. 4, p. 356-374, abr. 1990. DOI: 10.1007/BF01411679. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01411679>.

LUISI, P. Solubilization of enzymes in apolar solvents via reverse micelles. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 4, n. 6, p. 153-161, jun. 1986. DOI: 10.1016/0167-7799(86)90166-6. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(86\)90166-6](https://doi.org/10.1016/0167-7799(86)90166-6). Acesso em: 17 dez. 2020.30. MURDAN, S. A review of pluronic lecithin organogel as a topical and transdermal drug delivery system. **Hosp Pharmacist**. [S.L.] v. 12, n. 1, p. 12: 267-270, 2005. DOI: 10.5958/0974-360X. Disponível em: <https://doi.org/10.5958/0974-360X>.

NOVAK, E. *et al.* Evaluation of Cefmetazole Rectal Suppository Formulation(s). **Drug Development And Industrial Pharmacy**, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 373-389, jan. 1991. DOI: 10.3109/03639049109043833. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/03639049109043833>.

NUNES, C. A. **Tecnologia de óleos e gorduras para engenharia de alimentos**. [S.L.] v.1, n.1 p. 1-70, 2013.

NYANKSON, E.; DECUIR, M.J.; GUPTA, R. B. Soybean Lecithin as a Dispersant for Crude Oil Spills. **Acs Sustainable Chemistry & Engineering**, [S.L.], v. 3, n. 5, p. 920-931, 7 abr. 2015. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5b00027. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00027>.

O'BRIEN, Richard D. Soybean Oil Purification. Soybeans, [S.L.], p. 377-408, 2008. **Elsevier**. DOI: 10.1016/b978-1-893997-64-6.50015-9. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-1-893997-64-6.50015-9>.

PANDEY, M. *et al.* Pluronic lecithin organogel as a topical drug delivery system. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 38-47, 16 dez. 2009. DOI: 10.3109/10717540903508961 Disponível em: <https://doi.org/10.3109/10717540903508961>.

PASCOA, H. Desenvolvimento e caracterização de microemulsão à base de óleo de sucupira (p. Emarginatus vog. *Fabaceae*) e avaliação da atividade anti-inflamatória tópica. 2012. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/7384/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Henrique%20Pascoa%20-%202012.pdf>.

PERUTKOVÁ, Š. *et al.* Chapter 9 - Stability of the Inverted Hexagonal Phase. **Advances In Planar Lipid Bilayers And Liposomes**, [S.L.], p. 237-278, 2009. DOI: 10.1016/S1554-4516(09)09009-7. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1554-4516\(09\)09009-7](https://doi.org/10.1016/S1554-4516(09)09009-7).

PIERRE, M. B. R.; COSTA, I. S. M.. Liposomal systems as drug delivery vehicles for dermal and transdermal applications. **Archives Of Dermatological Research**, [S.L.], v. 303,

n. 9, p. 607-621, jul. 2011. DOI: 10.1007/s00403-011-1166-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00403-011-1166-4>.

SCARTAZZINI, R.; LUISI, P. L. Organogels from lecithins. **The Journal Of Physical Chemistry**, [s.l.], v. 92, n. 3, p. 829-833, fev. 1988. DOI: 10.1021/j100314a047. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/j100314a047>.

SHELLER, K. J. et al. An improved method to prepare an injectable microemulsion of the galanin-receptor 3 selective antagonist, SNAP 37889, using Kolliphor® HS 15. **Methodsx**, [S.L.], v. 1, p. 212-216, 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mex.2014.09.003>.

SESSA, G.; WEISSMANN, G. Incorporation of lysozyme into liposomes. A model for structure-linked latency. **J. Biol. Chem**, Us, v. 245, n. 13, p. 3295-3301, jan. 1970. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)62994-1. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)62994-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)62994-1).

SHINODA, K. *et al.* Lecithin-based microemulsions: phase behavior and microstructure. **The Journal Of Physical Chemistry**, [S.L.], v. 95, n. 2, p. 989-993, jan. 1991. DOI: 10.1021/j100155a091. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/j100155a091>

SHURTTLEF, W.; AOYAGI, A. **History of Lecithin and Phospholipids (1850-2016)**. California: Soyinfo Center, 2016. 954 p. Disponível em: <https://www.soyinfocenter.com/pdf/193/Leci.pdf>.

STUART, M. C.A.; BOEKEMA, E. J.. Two distinct mechanisms of vesicle-to-micelle and micelle-to-vesicle transition are mediated by the packing parameter of phospholipid-detergent systems. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Biomembranes*, [S.L.], v. 1768, n. 11, p. 2681-2689, nov. 2007. DOI: 10.1016/j.bbamem.2007.06.024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.06.024>.

SUDAXSHINA MURDAN. Novel gels and their dispersions—oral drug delivery systems for ciclosporin. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 300, n. 1-2, p. 113-124, ago. 2005. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.06.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.06.002>.

THAKUR, R. K.; VILLETTE, C.; AUBRY, J.M.; DELAPLACE, G. Dynamic emulsification and catastrophic phase inversion of lecithin-based emulsions. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 315, n. 1-3, p. 285-293, fev. 2008. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2007.08.017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.08.017>.

THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K.; VOICU, S. I. Polymer Gels. **Gels Horizons: From Science to Smart Materials**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 1-419, jul 2018. DOI: 10.1007/978-981-10-6077-9 Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6077-9>.

UNIÃO EUROPÉIA, UN. Regulamentação No 1333/2008. On food additives. **Official Journal Of The European Union**, mar. 2008. Disponível em: [http://www.elma-eu.org/wp-content/uploads/2019/05/ELMAStatement\\_Regulation\\_EU\\_2018\\_1980\\_Lecithins-used-as-a-feed-additive\\_rev2019.pdf](http://www.elma-eu.org/wp-content/uploads/2019/05/ELMAStatement_Regulation_EU_2018_1980_Lecithins-used-as-a-feed-additive_rev2019.pdf)

VARSHOSAZ, J.; SADRAI, H.; HEIDARI, A. Nasal Delivery of Insulin Using Bioadhesive Chitosan Gels. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 31-38, jan. 2006. DOI:10.1080/10717540500309040. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10717540500309040>.

VAN NIEUWENHUYZEN, W. Lecithin and Other Phospholipids. **Surfactants From Renewable Resources**, [S.L.], p. 191-212, 2010. DOI: 10.1002/9780470686607.ch10. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470686607.ch10>

VAN NIEUWENHUYZEN, W. The changing world of lecithins. **International News on fats, oils, and related materials**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 254-259, abr. 2014. Disponível em: <http://neu.ilps.org/wp-content/uploads/2019/07/The-Changing-World-of-Lecithins-INFORM-4-2014.pdf>.

VAN NIEUWENHUYZEN, W.; TOMÁS, M. C. Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies. **European Journal Of Lipid Science And Technology**, [S.L.], v. 110, n. 5, p. 472-486, maio 2008. DOI: 10.1002/ejlt.200800041. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800041>.

VIANNA, J. F.; PIRES, D. X.; VIANA, L. Processo químico industrial de extração de óleo vegetal: um experimento de química geral. **Química Nova**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 765-768, set. 1999. DOI: 10.1590/S0100-40421999000500021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000500021>.

VITTORIO L. Polymorphism of Lipid-Water Systems: Epitaxial Relationships, Area-per-Volume Ratios, Polar-Apolar Partition. **Journal de Physique II**, EDP Sciences, 1995, 5 (11), pp.1649-1669. DOI: 10.1051/jp2:1995205ff. Disponível em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/jpa-00248261/document>.

WENDEL, A.; Updated. Lecithin. **Kirk-Othmer Encyclopedia Of Chemical Technology**, [S.L.], p. 1-19, 15 set. 2014. DOI: 10.1002/0471238961.1205030923051404.a01.pub2 Disponível em: <https://doi.org/10.1002/0471238961.1205030923051404.a01.pub>.

WILLIMANN, H. *et al.* Lecithin Organogel as Matrix for Transdermal Transport of Drugs. **Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 81, n. 9, p. 871-874, set. 1992. DOI: 10.1.1.608.3583 Disponível em: <https://doi.org/10.1.1.608.3583>.

WU, Z. *et al.* A study of microemulsions as prolonged-release injectables through in-situ phase transition. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 174, p. 188-194, jan. 2014. DOI:10.1016/j.jconrel.2013.11.022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.11.022>.

**CAPÍTULO II**  
**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO VETERINÁRIA DE ORGANOGELO**  
**CONTENDO LECITINA DE SOJA E PLURONIC® F-127.**



## RESUMO

Organogéis de Pluronic® F127 e lecitina de soja (OPL) são uma estrutura tridimensional constituída por micelas inversas que, ao se unirem, dão origem a microtúbulos capazes de formar uma matriz geliforme. Essa matriz vem sendo amplamente estudada por sua habilidade de atuar como um implante biodegradável que se forma *in situ*, passando da fase líquida para a fase gel dentro do local onde foi injetado. O meloxicam é um dos medicamentos mais utilizados para tratamento de dor crônica e aguda em animais. Isso acontece porque o meloxicam é mais seletivo à COX-2 e apresenta menos chances de causar ou agravar doenças renais, principalmente em felinos. O objetivo deste trabalho foi formular, otimizar e avaliar o organogel Pluronic® F127 e lecitina de soja, contendo meloxicam para aplicação subcutânea de uso veterinário. Diferentes formulações de organogéis foram preparadas com auxílio de um diagrama pseudoternário, utilizando Pluronic®-F127, lecitina, meloxicam, miristato de isopropila e água. Triglicerídeos de cadeia média e colesterol foram adicionados na fase de otimização, visando à estabilidade da matriz, e o aumento da solubilidade do fármaco. O estudo da temperatura de gelificação, uma das características mais importantes de um organogel, foi realizado para determinar a temperatura onde ocorre a transição líquido-gel. As viscosidades de diferentes formulações foram determinadas usando Brookfield Viscometer a 23°C e foi possível observar que a viscosidade das formulações aumenta à medida que a concentração de lecitina aumenta. As formulações também foram testadas quanto à aparência e suas características físicas e químicas, bem como seu pH, que ficou na faixa de 5,9-7,4. As interações entre os componentes do gel foram investigadas por difratometria de raios X. Espalhabilidade foi determinada pelo método das placas de vidro e foi capaz de corroborar os resultados obtidos nas análises de viscosidade. No geral, foi possível concluir que com a ajuda do diagrama de fases pseudoternário obteve-se uma boa base para a formulação de organogéis, que pode ser melhorada com o auxílio da etapa de otimização, gerando matrizes capazes de transportar o meloxicam de forma adequada.

Palavras-chave: Organogel Lecitina; Formulação; Lecitina de soja; Meloxicam; Uso veterinário.

## ABSTRACT

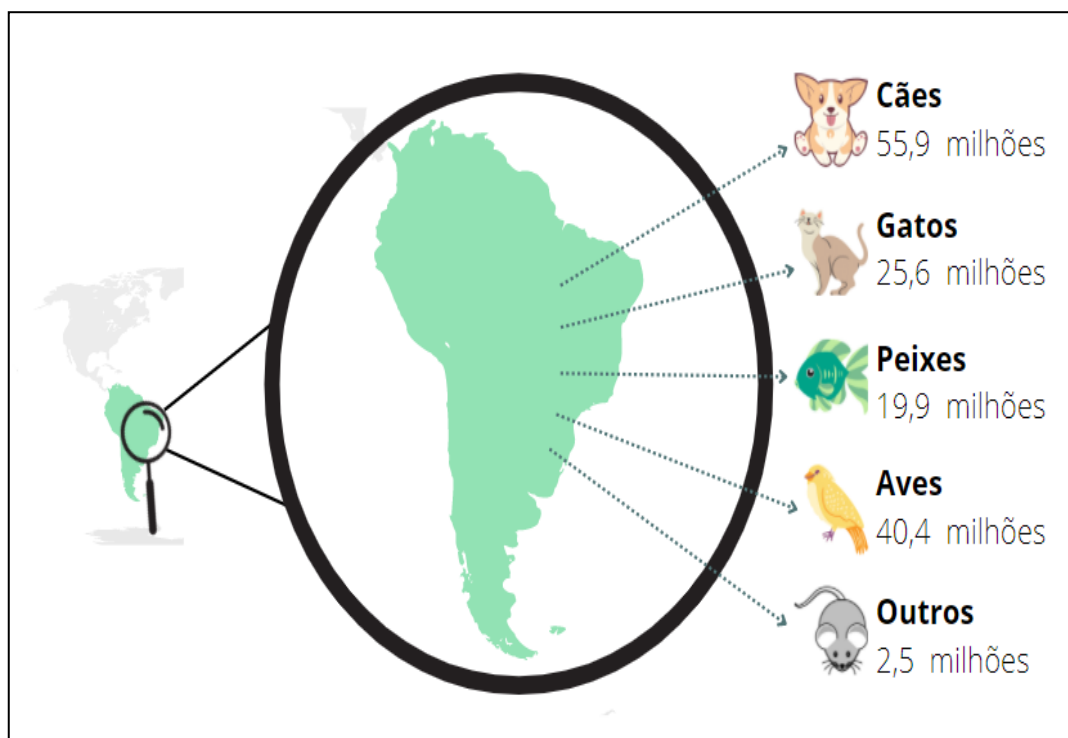
Pluronic® F-127- Lecithin organogels (PLO) are a three-dimensional structure constituted by inverse micelles that, when joined, give rise to microtubules capable of forming a gel-like matrix. This matrix has been widely studied for its ability to act as a biodegradable implant that forms in situ, passing from the liquid phase to the gel phase within the injection site. Meloxicam is one of the most used drugs for the treatment of chronic and acute pain in animals. This is because meloxicam is more selective for COX-2 and is less likely to cause or worsen kidney disease, especially in felines. The objective of this work was to formulate, optimize and evaluate the organogel Pluronic® F127 and soy lecithin, containing meloxicam for subcutaneous application and veterinary. Different organogel formulations were prepared using a pseudoternary diagram, using Pluronic®-F127, lecithin, meloxicam, isopropyl myristate and water. Medium chain triglycerides and cholesterol were added in the optimization phase, aiming at matrix stability and drug solubility increase. The study of the gelation temperature, one of the most important characteristics of an organogel, was carried out to determine the temperature where the liquid-gel transition occurs. The viscosities of different formulations were determined using Brookfield Viscometer at 23°C and it was possible to observe that the viscosity of the formulations increases as the concentration of lecithin increases. The formulations were also tested for appearance and their physical and chemical characteristics, as well as their pH, which was in the range of 5.9-7.4. The interactions between the components of the gel were investigated by X-ray diffractometry. Spreadability was determined by the glass plate method and was able to corroborate the results obtained in the viscosity analysis. Overall, it was possible to conclude that with the help of the pseudoternary phase diagram, a good basis for the formulation of organogels was obtained, which can be improved with the help of the optimization step, generating matrices capable of transporting meloxicam adequately.

Key words: Lecithin Organogel; Formulation; Soy lecithin; Meloxicam; Veterinary use.

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo senso realizado pela Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), em 2021, no Brasil cerca de 144,3 milhões de animais de diferentes espécies (Figura 11), está sob os cuidados de tutores ou Organizações Não Governamentais (ONG's), onde, 17% dessa estatística necessitaram ou ainda precisam de algum tipo de tratamento de saúde. A maior parte das residências no Brasil conta com, pelo menos, um animal de estimação, sendo, em sua maioria, cachorros (ABINPET, 2021).

Figura 11 - Distribuição das diferentes espécies de animais que estão sob os cuidados de tutores no Brasil.

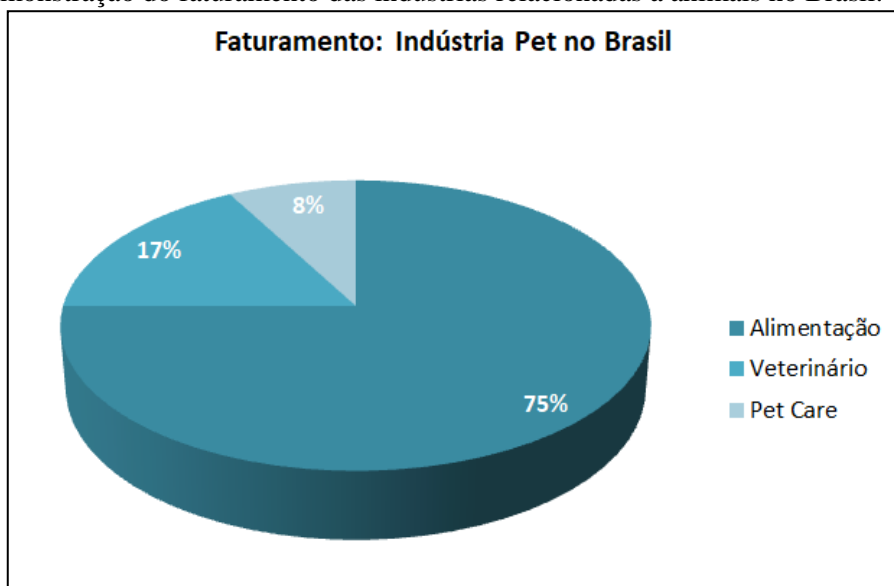


Fonte: Adaptado de ABINPET, 2021.

O setor de animais de companhia, atualmente, é uma das indústrias que mais fatura no Brasil. Em 2020, o faturamento estimado pela Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET) foi de 27,2 bilhões. Embora boa parte desse faturamento venha de produtos alimentícios, o setor veterinário vem logo em seguida, o que indica um aumento dos cuidados médicos por parte dos tutores. O setor de Pet Care também

figura na lista e vem crescendo mais a cada ano. A distribuição em porcentagens desse faturamento está descrita na Figura 12 (ABINPET, 2021).

Figura 12 - Demonstração do faturamento das indústrias relacionadas a animais no Brasil.



Fonte: Adaptado de ABINPET, 2021.

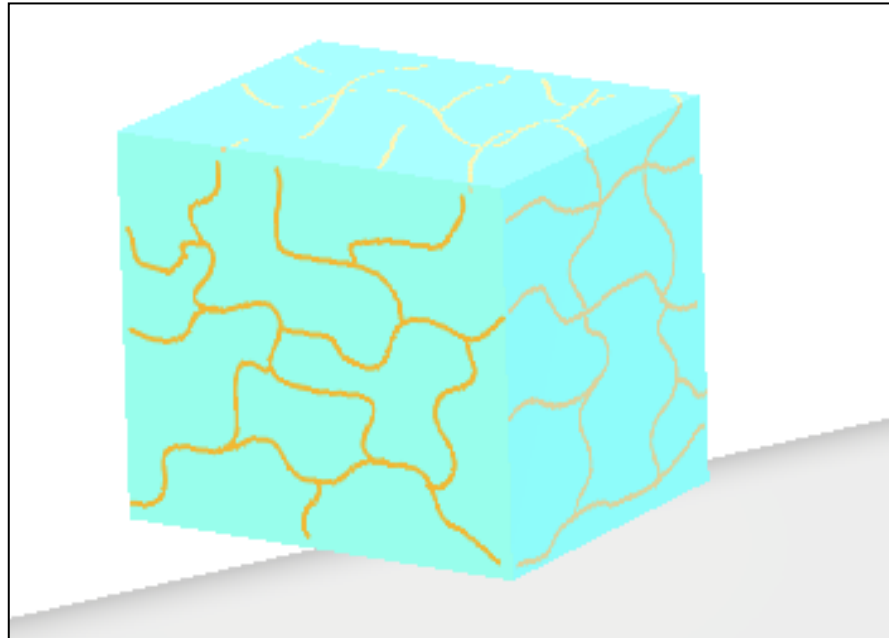
Atualmente, grande parte do grupo de animais sob a tutela de donos e cuidadores é composto por cães e gatos, considerados os animais de companhia mais comuns. Essas espécies dividem similaridades em relação a doenças agudas e males considerados crônicos que podem ser adquiridos durante a vida ou que surgem com o avanço da idade, mas acabam, em alguns casos, dividindo também os medicamentos receitados pelos veterinários (SOUSA, et al, 2017).

O constante desenvolvimento de tecnologias inovadoras para as formas farmacêuticas, entretanto, tem mudado a forma como os medicamentos são apresentados ao mercado veterinário. Nas últimas décadas, as formas farmacêuticas tiveram que se adaptar à evolução da vida moderna, tornando-se cada vez mais flexíveis e acessíveis a todos os tipos de consumidores. Essa premissa também se aplica ao amplo mercado veterinário (BARBOSA, 2017). Para a maioria dos proprietários, comprimidos e injetáveis é, por vezes, a única opção de administração para tratamentos com antibióticos, alguns anti-inflamatórios e hormônios (AHMED, KASRAIAN, 2002).

Entre as inúmeras propostas de tratamentos injetáveis conhecidas, os de ação prolongada surgiram pela primeira vez como implantes que requeriam pequenos procedimentos cirúrgicos para colocação e posterior remoção (KEMPE, MÄDER, 2012). Para superar essa necessidade, novas formas biodegradáveis surgiram ao longo dos anos, levando ao uso de implantes que se formam *in situ*. Esses implantes têm a vantagem de serem mais fáceis de aplicar e menos doloridos para o paciente, além de não precisarem ser removidos posteriormente (KEMPE, MÄDER, 2012; RUEL-GARIÉPY, LEROUX, 2004; PACKHAEUSER ET AL, 2004).

Um dos tipos de implantes que se formam *in situ* é o organogel de lecitina de soja, descrito como uma matriz tridimensional composta de filamentos que se auto-organizam em uma rede entrelaçada (Figura 13). Tal estrutura interna se deve a ligações físicas ou químicas que ocorrem a depender dos solventes utilizados. Apesar de sua composição ser majoritariamente formada por líquidos, organogéis apresentam o comportamento reológico e a aparência de um sólido (KUMAR; KATARE, 2005).

Figura 13 - Representação de uma rede tridimensional estruturada por filamentos que se organizam formando microtúbulos.

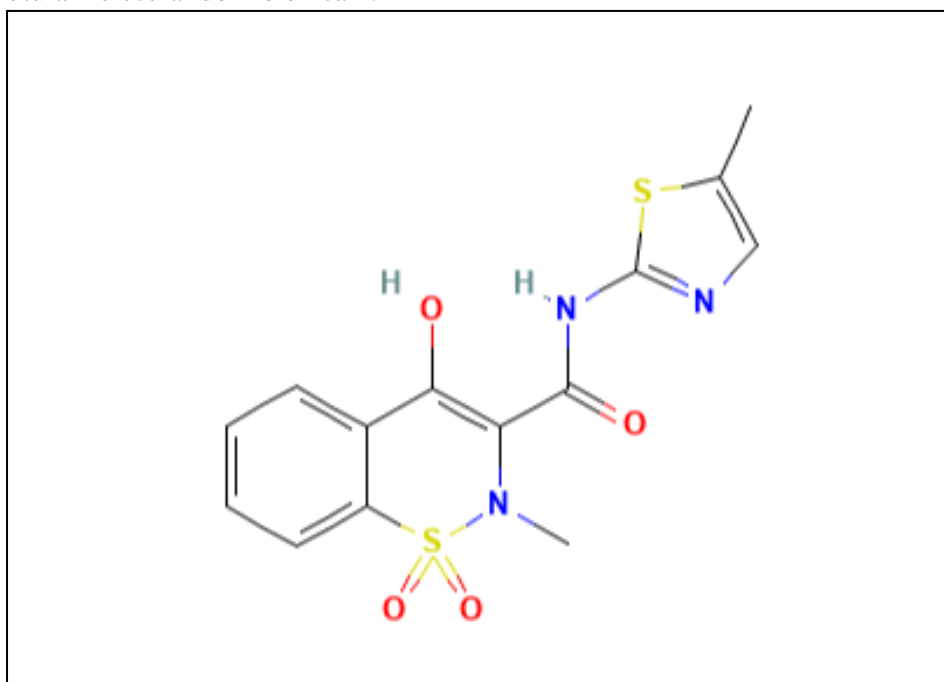


Nos últimos anos, o manejo da dor em animais evoluiu significativamente devido a vários fatores. Isso inclui o aumento de informações publicadas sobre a fisiopatologia da dor,

seus efeitos adversos, modalidades terapêuticas e a disponibilidade de vários medicamentos no mercado nacional (DASSANAYAKE, 2009).

O uso de anti-inflamatórios não esteroides em felinos é considerado contraditório, visto que está diretamente relacionado a problemas renais crônicos como um efeito adverso comum de seu uso prolongado. No entanto, o meloxicam (Figura 14) é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE), amplamente utilizado no tratamento de dores agudas e crônicas em animais de pequeno e médio porte, cuja eficácia e segurança foram extensivamente estudadas em cães e gatos em ensaios clínicos de dor aguda e crônica, bem como na ocorrência de efeitos adversos renais e gastrointestinais (BUTTERWOR, LASCELLES, WATERMAN, 1994; GUILLOT et al, 2013).

Figura 14- Estrutura molecular do Meloxicam.



Fonte: Pubchem, 2022.

## **2 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma formulação de organogel contendo Pluronic<sup>®</sup>-F127, lecitina natural de soja como principal formadora de matriz e meloxicam, para atuar no tratamento da dor em animais de pequeno porte.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Amostras**

Meloxicam (MX) L050000403; Lecitina de soja (LS) (IMCOPA, Brasil), miristato de isopropila (MIP) 133442 (SYNTH, Brasil), Pluronic<sup>®</sup> F-127 - Poloxamer 407 WPCI547B - (BASF, Alemanha), Pluronic<sup>®</sup> F-127 - Poloxamer 407 micronizado WPDI5867 (BASF, Alemanha), Triglicerídeos de ácido cáprico caprílico (TACC) 455219 (Engenharia das essências, Brasil), Colesterol (CO) CH072021 (CRODA<sup>™</sup>, Reino Unido).

#### **3.2 Caracterização do Meloxicam**

##### **3.2.1 Tamanho de partícula**

A determinação do tamanho de partícula das amostras foi realizada em equipamento de difração a laser Particle Size Analyser 1090 (Cilas, França), selecionado o método Fraunhofer por via úmida, sob uma pressão de 400-500 mb, tempo de 10-15 segundos e frequência de 20-35 Hz (Tabela 3). O resultado de diâmetro em d10%, d50%, d90% e d médio foram obtidos a partir da média de três corridas, calculados pelo software Kaliopé<sup>®</sup> (Anton Paar, Suíça).

#### **3.3 Caracterização da lecitina**

##### **3.3.1 Determinação de umidade**

A umidade foi determinada em um analisador halógeno HX204 (METTLER TOLEDO, Columbus, Ohio, EUA) com temperatura de secagem de 40 – 230 °C e capacidade de 200g. Os testes foram conduzidos para a obtenção de uma curva de secagem em tempo real, assim como valores precisos de umidade (%) presente nas amostras de lecitina.

#### **3.4 Desenvolvimento de formulação**



O diagrama de fases pseudoternário (XLSTAT 2020, Addinsoft, EUA) foi utilizado para auxiliar no desenvolvimento da base das formulações (Figura 15). Obteve-se um esquema triangular onde foram selecionados e testados dez pontos do diagrama, as concentrações utilizadas foram estabelecidas conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Descrição dos experimentos selecionados a partir do diagrama de fases pseudoternário.

<b>Formulação</b>	<b>Pluronic<sup>®</sup> F-127 (%)</b>	<b>Solvente (%)</b>	<b>Lecitina (%)</b>
F8	20	10	70
F17	40	10	50
F19	20	30	50
F30	60	10	30
F32	40	30	30
F35	20	50	30
F48	80	10	10
F50	60	30	10
F52	40	50	10
F54	20	70	10

Após análise das formulações indicadas pelo diagrama de fases pseudoternárias, foi possível observar que a área onde formulação 48 (F48) estava localizada parecia ser a mais promissora para a produção da base de organogel. Com isso, os pontos localizados na área próxima à formulação 48 foram testados. As concentrações utilizadas nos novos testes estão disponíveis na Tabela 4.

Após as análises organolépticas e físicas para encontrar a base adequada, o estudo procedeu-se aos testes de adição do meloxicam e dos triglicerídeos de cadeia média na fase oleosa. As concentrações utilizadas nos ensaios estão descritas na Tabela 5.

Figura 15- Diagrama de fase pseudoternário gerado pelo software XLSTAT (2020). Os números azuis marcam as formulações selecionadas para os testes preliminares.

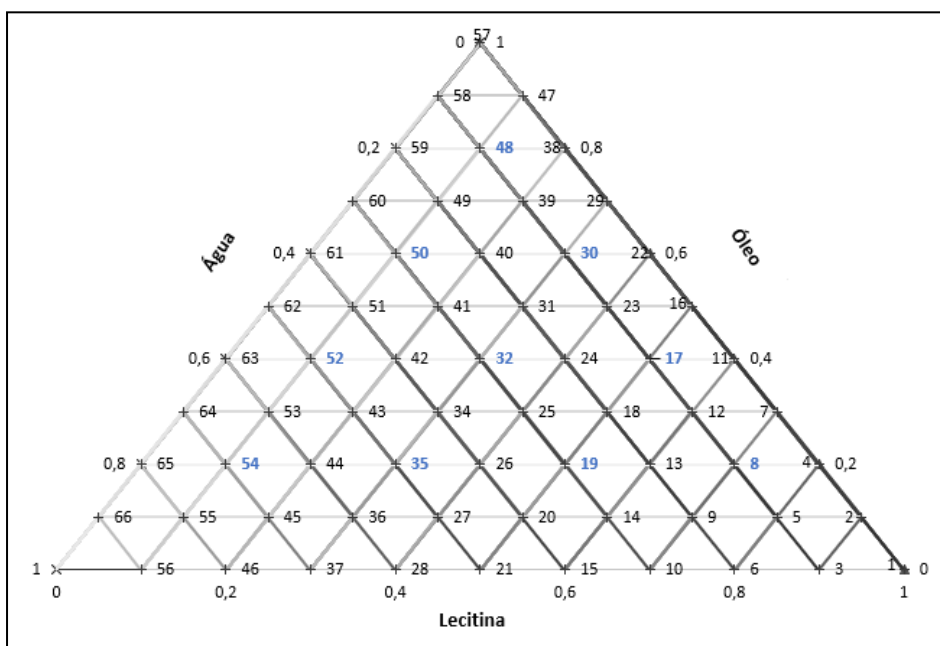


Tabela 4 – Descrição das concentrações dos novos experimentos realizados utilizando o diagrama de fases pseudoternário. As formulações selecionadas foram todas próximas da formulação que apresentou as melhores características.

Formulação	Pluronic® F-127 (%)	Solvente (%)	Lecitina (%)
F48	80	10	10
F48.1	80	5	15
F48.2	80	15	5
F39	70	20	10
F49	70	10	20

Tabela 5 - Composição da formulação após adição de meloxicam e triglicerídeos de cadeia média.

Formulação	Pluronic® F-127 (%)	MIP (%)	LS (%)	TACC (%)	MX (%)
F48	69	10	10	10	0,8
F49	59	10	20	10	0,8

F49.1	49	20	10	20	0,8
-------	----	----	----	----	-----

Com a adição bem-sucedida do fármaco e dos triglicerídeos de cadeia média, os testes prosseguiram para estabelecer a quantidade ideal de colesterol na formulação (Tabela 5a e 5b).

Tabela 5a - Otimização da formulação 49 com a adição de diferentes concentrações de colesterol.

Formulação	Pluronic® - F127 (%)	IPM (%)	SL (%)	TACC (%)	CH (%)	MX (%)
<b>F49.1</b>	59,8	10	20	10	0,1	0,8
<b>F49.2</b>	59,7	10	20	10	0,2	0,8
<b>F49.3</b>	59,6	10	20	10	0,3	0,8
<b>F49.4</b>	59,5	10	20	10	0,4	0,8
<b>F49.5</b>	59,4	10	20	10	0,5	0,8

Tabela 5b - Otimização da formulação 48 com a adição de diferentes concentrações de colesterol.

Formulação	Pluronic® - F127 (%)	IPM (%)	SL (%)	TACC (%)	CH (%)	MX (%)
<b>F48.1</b>	69,1	10	10	10	0,1	0,8
<b>F48.2</b>	69	10	10	10	0,2	0,8
<b>F48.3</b>	68,9	10	10	10	0,3	0,8
<b>F48.4</b>	68,8	10	10	10	0,4	0,8
<b>F48.5</b>	68,7	10	10	10	0,5	0,8

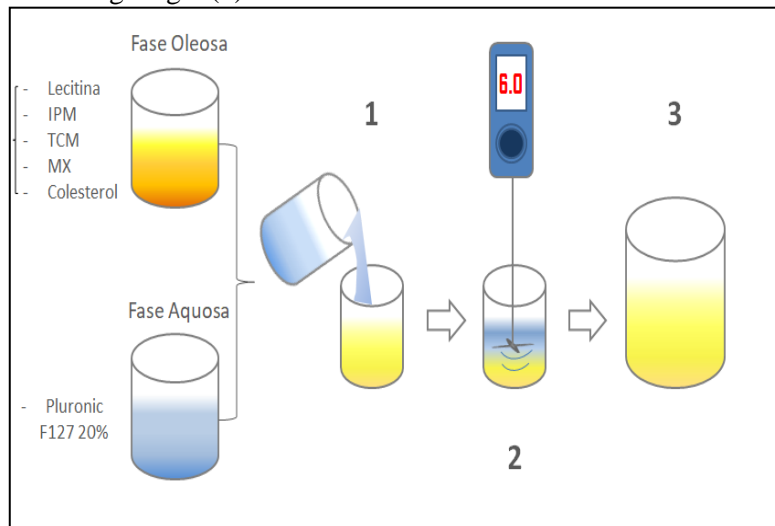
### 3.4.1 Produção de organogel

Uma formulação de organogel base foi obtida usando a proporção 70:10:20 Pluronic® - F127:Óleo:Lecitina p/p. A formulação base foi otimizada através da adição de triglicerídeos de cadeia média, colesterol. O meloxicam foi adicionado na concentração de 0,8%. Logo, foi determinado o processo ideal para o preparo da formulação do organogel.

Para o preparo do organogel, é feita a pesagem dos componentes da fase oleosa e também da fase aquosa. Após a pesagem, ambas as fases são misturadas e depois submetidas à alta agitação em torno de 6x10000 RPM/min, por 20 minutos em Ultra-turrax. Após

agitação, será obtida uma mistura homogênea de cor clara e aparência geliforme, que é denominada organogel. A produção do organogel está esquematizada na Figura 16.

Figura 16 - Mistura da fase oleosa e da fase aquosa após pesagem (1) agitação em alta velocidade, em torno de  $6 \times 10^4$  RPM/min, por 20 minutos em Ultra-turrax (2). Após agitação é obtida uma mistura homogênea denominada organogel (3).



### 3.5 Caracterização organoléptica do organogel

Foi realizada uma análise visual baseada nas características organolépticas das formulações que incluem formação da matriz tridimensional, termo reversibilidade, tempo de transição de líquido para sólido, cor obtida no tempo 0, sob luz “branca” natural, separação de fases reversível ou irreversível, comportamento em temperatura ambiente e retorno para o estado menos viscoso após o resfriamento (SILVA et al., 2019).

#### 3.5.1 Caracterização física do organogel

##### 3.5.1.1 Difração de raios X

As amostras foram espalhadas na célula com o auxílio de uma espátula e analisadas empregando um difratômetro Empyrean (Panalytical) com radiação CuK $\alpha$  1|2 ( $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$ ,  $1,5444 \text{ \AA}$ ) na configuração  $\theta$ - $2\theta$  e modo de reflexão. Os dados foram coletados de  $2,5^\circ$  a  $70,0^\circ$

( $2\theta$ ), com passo angular de  $0,02^\circ$  e tempo de coleta por passo de 400s. O refinamento pelo método de Rietveld foi realizado com o programa TOPAS –Academic V7 [12]. O fundo foi equipado com uma função polinomial de Chebyshev de 5 termos. Os parâmetros de rede e tamanho de cristalito foram refinados e a correção para orientação preferencial foi aplicada usando harmônicos esféricos nos ajustes. A estrutura cristalina utilizada na análise foi obtida do banco de dados de estruturas cristalinas Cambridge Structural Database (CSD)® usando o arquivo Crystallographic Information Framework (CIF).

Com base na estrutura cristalina encontrada (arquivo CIF), o padrão de difração esperado foi simulado utilizando o programa Mercury V 2020.2.0 e assim procedeu-se a análise qualitativa (comparativa) entre o padrão observado (medido) e simulado para avaliar a fase presente na amostra. Uma vez identificada a fase, foi realizado o refinamento pelo método de Rietveld (1969).

#### 3.5.1.2 Determinação de pH

O pH das formulações foi determinado utilizando o medidor de pH PG 2000 (GEHAKA, São Paulo, Brasil) acoplado a um eletrodo diferenciado para determinação de pH de materiais viscosos.

#### 3.5.1.3 Análise de viscosidade

Para avaliar a viscosidade, tubos de 10 mL foram preenchidos com as formulações. Parte desses tubos foi armazenada em geladeira, enquanto outra parte foi mantida em bancada por 20 minutos, até ser confirmada a completa gelificação do organogel pelo teste de inversão do tubo. Para a avaliação da viscosidade (cps) foi utilizado um viscosímetro digital Brookfield (modelo: RV DV-E 230), com spindle nº 7 a 100 rpm com torque de 7,0.

#### 3.5.1.4 Determinação da temperatura de gelificação

Foram pesadas 0,25 gramas das formulações e colocadas em um tubo de 10 mL. As formulações foram observadas na faixa de temperatura de 2 a  $30^\circ\text{C}$ . A mudança de fase líquida para gel foi detectada quando o menisco não se moveu imediatamente após a

inclinação do tubo em 90°. A temperatura foi alterada a uma taxa de 2°C/10 min e a temperatura na qual o estado físico da formulação demonstrou alteração foram consideradas como a temperatura de gelificação.

#### 3.5.1.5 Espalhabilidade

Para avaliar a espalhabilidade das amostras, colocou-se uma placa base de vidro (20 cm x 20 cm) e posicionou-se sob essa placa uma folha de papel milimetrado e uma fonte luminosa. Um grama da formulação foi depositado sobre a placa e a superfície foi nivelada com espátula. Em seguida, outra placa de vidro (20 cm x 20 cm) de peso pré-determinado foi depositada sobre a amostra. Após um minuto, foi calculada a superfície abrangida, através da medição do diâmetro em duas posições opostas, com auxílio da escala do papel milimetrado e um paquímetro, com posterior cálculo do diâmetro médio. Este procedimento foi repetido três vezes, acrescentando-se novos pesos de valores conhecidos, em intervalos de um minuto, registrando-se a superfície abrangida pela amostra. A espalhabilidade das formulações foi determinada a 23°C, sendo calculada pela equação:

$$Ei = \frac{d^2 \cdot \pi}{4}$$

Onde:

Ei = espalhabilidade da amostra para peso *i* (mm<sup>2</sup>);

d = diâmetro médio (mm).

#### 3.5.1.6 Microscopia de luz

Para a obtenção do diâmetro e aspecto das partículas, as imagens foram analisadas através da câmera digital Moticam10, CMOS (Motic, China) acoplada ao microscópio Motic SMZ-168 (Motic, China), utilizando uma magnificação de 50 vezes. O tratamento das imagens foi realizado no software Motic ImagesPlus 2.0 ML empregando n=3.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização Meloxicam

#### 4.1.1 Tamanho de partícula

Os resultados obtidos por difração a laser para o tamanho de partícula estão expressos na Tabela 6. É possível observar que a média de tamanho das partículas varia de 5,525 até 29,400  $\mu\text{m}$ , com um tamanho médio de 16,607  $\mu\text{m}$ . Para o organogel o tamanho de partícula é importante por ser um dos fatores que influencia na capacidade da matriz de solubilizar, manter e também entregar o fármaco no local de ação. O tamanho médio de 16,607  $\mu\text{m}$  indica que a matriz será capaz de solubilizar e manter o fármaco dentro de sua rede de microtúbulos de forma homogênea (VARSHOSAZ *et al*, 2013).

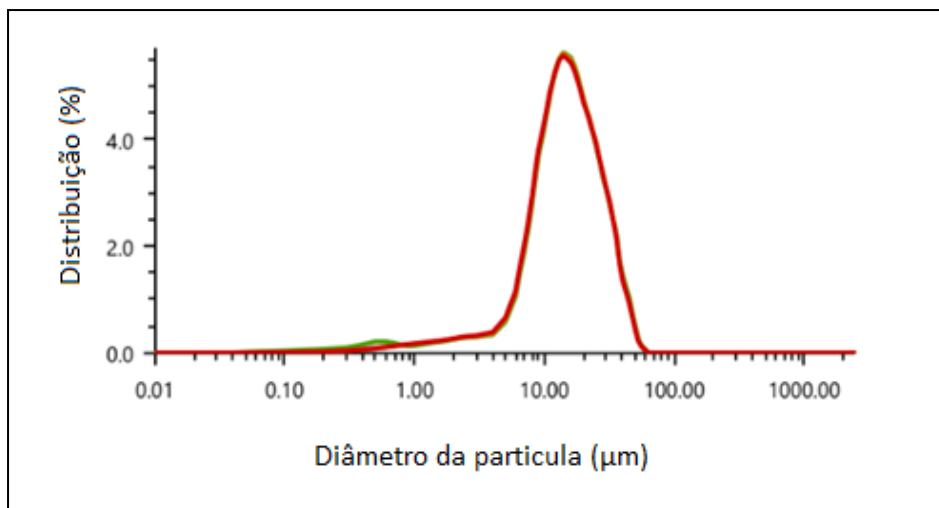
O valor de Span, que é um indicativo da distribuição granulométrica da amostra, apresentou um resultado médio de 1,713, que indica uma homogeneidade nas partículas, visto que quanto mais próximo de 1 o valor, mais monodispersa é a amostra.

Tabela 6 - Valores de d10%, d50% e d90%, média e  $\pm$  desvio padrão e span obtidos a partir da análise de tamanho de partículas por via úmida do meloxicam.

Amostra	d10%	d50%	d90%	Média ( $\mu\text{m}$ )
1	5,216	13,940	29,565	16,572 $\pm$ 0,28
2	5,767	13,993	29,375	16,685 $\pm$ 0,060
3	5,591	13,872	29,259	16,595 $\pm$ 0,15

Como é possível observar na figura 17, existe apenas um único pico, indicando a presença de somente uma população de partículas, corroborando a resposta obtida através do cálculo de Span, que indica a homogeneidade das partículas presentes na amostra.

Figura 17- Histogramas de distribuição de tamanho de partículas das amostras de meloxicam



## 4.2 Caracterização da lecitina

### 4.2.1 Determinação de umidade

Os resultados do teor de umidade (TU) da lecitina são apresentados na Tabela 7. Todas as amostras tiveram o mesmo comportamento, com 0,5% de teor de umidade em sua constituição. Um comportamento já esperado, visto que um dos principais processos de obtenção da lecitina consiste na remoção da água presente na massa de gomas após o processo de degomagem<sup>5</sup>.

Tabela 7- Resultados do teor de umidade em amostras de lecitina obtidos usando o analisador de halogênio HX204.

Amostra	Peso inicial (g)	Peso Final (g)	TU (%)
1	20,009	19,999	0,5
2	20,017	20,007	0,5
3	20,093	20,083	0,5

<sup>5</sup> Processo de remoção de gomas contidas no óleo vegetal. Essas gomas removidas no processo de produção do óleo vegetal passam por processos que dá origem a lecitina.



### 4.3 Desenvolvimento da formulação

O diagrama de fases pseudoternário foi selecionado devido suas características serem determinadas pelas proporções dos excipientes utilizados na formulação. Nos casos em que este tipo de diagrama é aplicado, espera-se que a soma das proporções dos valores utilizados seja sempre 1 (um). Para investigar diferentes áreas do diagrama, foram selecionados 10 (dez) pontos em sua área interna, evitando intencionalmente as arestas, pois os pontos localizados nos extremos significariam que pelo menos um dos componentes da formulação seria igual a 0 (zero).

Dois tipos de Pluronic<sup>®</sup> F-127 também foram testados e foi possível identificar a área de formação de organogel no diagrama. Os resultados obtidos em cada experimento sobre a primeira etapa de desenvolvimento estão expressos na tabela 8.

A partir dos resultados da Tabela 8 foi possível observar que a área onde está localizada a F48 apresentou melhor desempenho quando comparada às demais. O Pluronic<sup>®</sup> F-127 micronizado também apresentou melhor desempenho quando comparado ao Pluronic<sup>®</sup> F-127 não micronizado.

Tabela 8 - Formulações do diagrama de fases pseudoternário usando Pluronic<sup>®</sup> F-127 micronizado, incluindo medições de pH (n=3).

Formulação	Não micronizado		Micronizado	
	Características	pH	Características	pH
<b>F8</b>	Emulsão	5.82 ±0.208	Emulsão	5.85 ±0.027
<b>F17</b>	Emulsão	6.41 ±0.361	Emulsão	6.25 ±0.025
<b>F19</b>	Emulsão	6.32 ±0.576	Emulsão	6.16 ±0.059
<b>F30</b>	Emulsão	6.82 ±0.019	Emulsão	6.82 ±0.091
<b>F32</b>	Separação de fase irreversível	6.41 ±0.437	Separação de fase reversível	6.4 ±0.045
<b>F35</b>	Separação de fase irreversível	6.04 ±0.097	Separação de fase irreversível	6.08 ±0.130
<b>F48</b>	Separação de fase reversível	6.91 ±0.084	Separação de fase reversível	7.04 ±0.099
<b>F50</b>	Separação de fase irreversível	6.57 ±0.013	Separação de fase irreversível	6.47 ±0.038

<b>F52</b>	Separação de fase irreversível	6.51 ±0.086	Separação de fase irreversível	6.89 ±0.025
<b>F54</b>	Separação de fase irreversível	5.85 ±0.047	Separação de fase irreversível	5.85 ±0.047

Ao lado de F48 estavam as seguintes formulações: 38, 39, 47, 49, 58 e 59. No entanto, podemos descartar as formulações 38, 47, 58 e 59 por estarem nos extremos do diagrama, o que significa que haveria um componente com da formulação com 0, o que impossibilitaria a produção do organogel. Algumas alterações também foram realizadas na F48 (Tabela 9), como teste prévio, caso fosse necessário criar um novo desenho experimental ou passar para outra possibilidade estatística. Para tanto, foram criadas as formulações 48.1 e 48.2 por meio de um procedimento exploratório. Os pontos mais promissores dessa área foram selecionados e testados conforme a tabela abaixo.

Tabela 9 - Formulações selecionadas do diagrama de fases pseudoternário usando Pluronic® F-127 micronizado, incluindo medições de pH.

<b>Formulação</b>	<b>Características</b>	<b>pH</b>
<b>F48</b>	Separação de fase reversível	7,4 ±0.023
<b>F48.1</b>	Separação de fase reversível	7,02 ±0.034
<b>F48.2</b>	Separação de fase reversível	7,04 ±0.038
<b>F39</b>	Separação de fase reversível	6,16 ±0.025
<b>F49</b>	Organogel	7,01 ±0.045

Nos testes seguintes foram adicionados meloxicam e triglicerídeos de cadeia média na fase oleosa, sendo este último utilizado para aumentar o tempo de permanência do implante no subcutâneo (KHAN; TUCKER; OPDEBEECK, 1991). A quantidade de triglicerídeos de cadeia média na formulação foi determinada inicialmente por meio de informações de artigos e patentes (TARANTINO, 1993; PANDEY ET AL, 2009), o resultado dos experimentos é demonstrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Formulações contendo Meloxicam e triglicerídeos de cadeia média na composição.

<b>Formulação</b>	<b>Características</b>
<b>F48</b>	Separação de fases reversível
<b>F49</b>	Organogel
<b>F49.1</b>	Emulsão

Com a observação de suas características organolépticas e físicas foi possível observar três diferentes comportamentos, a separação reversível de fases, organogel e emulsão. A formulação 49 (F49) obteve o resultado esperado, apresentando todas as características organolépticas de um organogel, sem separação de fases, com boa aceitação do princípio ativo, assim como boa termoreversibilidade. Por outro lado, a F48, mesmo com uma pequena separação de fases reversível, também apresentou as mesmas características de textura, cor e termoreversibilidade daquelas observada na F49, mas com um aumento do tempo de gelificação, o que pode vir a ser justificado pela menor concentração de lecitina.

Para diminuir o tempo de gelificação em temperatura ambiente e aumentar o tempo *in situ* do implante, foram utilizados triglicerídeos de cadeia média e colesterol para otimizar as duas formulações selecionadas (PANDEY ET AL, 2009). Os resultados para o uso isolado de triglicerídeos de cadeia média podem ser vistos na Tabela 9, enquanto os resultados da combinação de triglicerídeos de cadeia média e colesterol podem ser vistos na Tabela 11. Nessa fase foi possível observar que, como esperado, a quantidade de lecitina na formulação tem influência na boa aceitação do colesterol, sem causar separação irreversível de fases.

Tabela 11- Fase final de otimização para a F48 e F49 que consistiu na adição de colesterol.

<b>Formulação</b>	<b>Características</b>	<b>Formulação</b>	<b>Características</b>
<b>F48.1</b>	Organogel	<b>F49.1</b>	Organogel
<b>F48.2</b>	Separação de fases reversível	<b>F49.2</b>	Organogel
<b>F48.3</b>	Separação de fases irreversível	<b>F49.3</b>	Separação de fases reversível
<b>F48.4</b>	Separação de fases irreversível	<b>F49.4</b>	Separação de fases reversível

#### 4.4 Caracterização organoléptica do organogel

Das propriedades organolépticas do organogel, em relação à cor, todas as formulações variaram em tons de amarelo (Figura 18), que ocorreram graças à presença da lecitina na formulação. Formulações contendo mais lecitina tem tom mais escuro de amarelo e são visivelmente mais viscosas. Não apresentam odor e a textura é lisa e de aspecto brilhante tanto na temperatura de refrigeração (2 - 4°C), quanto em temperatura ambiente.

As formulações com maior concentração de lecitina na composição apresentaram tempo de gelificação inferior quando comparadas com as formulações com menor concentração de lecitina. As formulações com maior concentração também não apresentaram separação de fases, ou demonstram o comportamento de separação mais facilmente reversível.

Como pode ser visto nas Figuras 19 e 21, o tamanho de partícula do Pluronic® F-127 também parece ter afetado a intensidade da separação de fases, visto que as amostras produzidas com Pluronic micronizado praticamente não apresentaram separação de fases, ou houve uma separação bem discreta, quando comparado às formulações produzidas com Pluronic®-F127 não micronizado.

Figura 18 - Formulações a) 48, b) 48,1, c) 48,2 d) 49 e e) 39 Pluronic® F-127 não micronizado. As setas indicam a área de separação de fases.

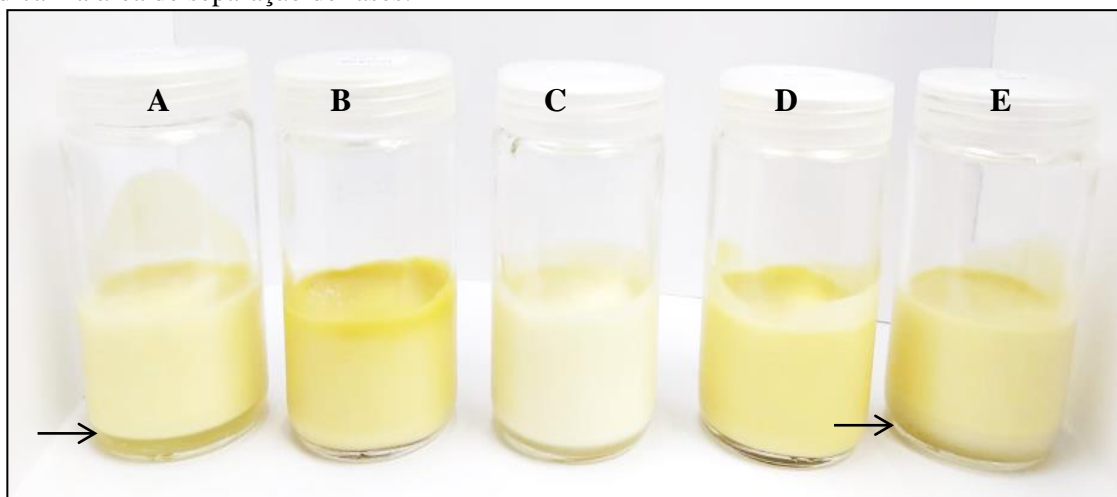


Figura 19 - Teste de inversão do frasco para demonstrar a formação da matriz tridimensional pela gelificação da formulação. Formulações a) 48, b) 48,1, c) 48,2 d) 49 e) 39 com Pluronic® F-127 não micronizado. No fundo do frasco é possível ver a separação de fases reversível das formulações indicada pelas setas.

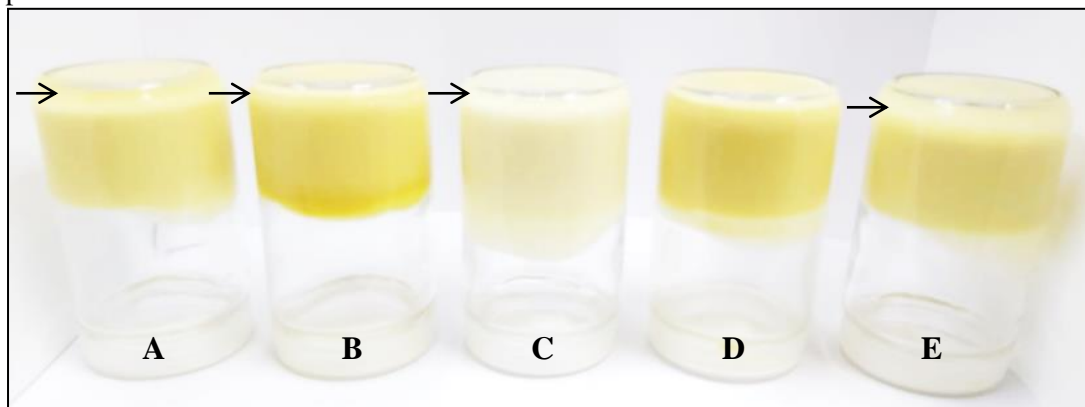


Figura 20 - Formulações a) 48,1, b) 48,2 c) 49 e d) 39 com Pluronic® F-127 micronizado.

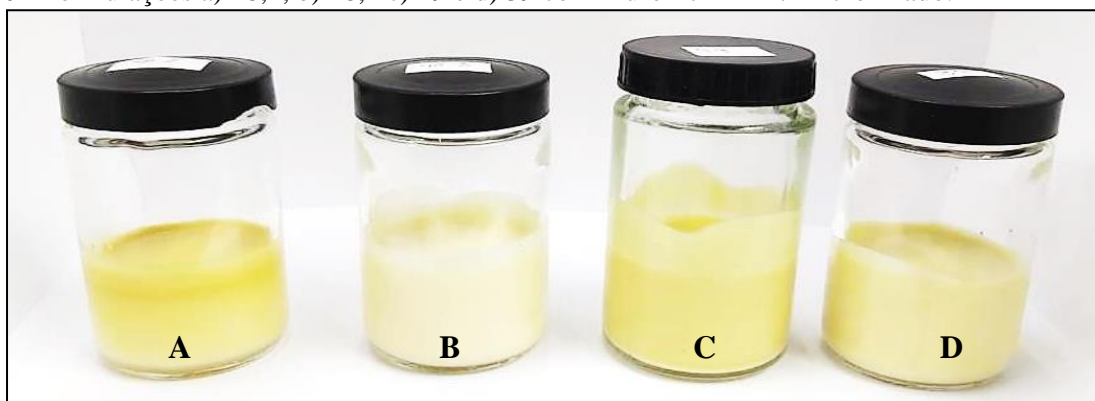


Figura 21 - Teste de inversão do frasco para demonstrar a formação da matriz tridimensional pela gelificação da formulação. Formulações a) 48,1, b) 48,2 c) 49 e d) 39 com Pluronic® F-127 micronizado. No fundo do frasco é possível notar que praticamente não há separação de fases.



Figura 22 - Formulações 48: a) 48 s/Colesterol; b) 48 com 0,1% de Colesterol e c) 48 com 0,5% de Colesterol.



Figure 23- Formulações 49: a) 49 s/Colesterol; b) 49 com 0,1% de Colesterol e c) 49 com 0,5% de Colesterol.



#### 4.5 Caracterização física do organogel

##### 4.5.1 Determinação de pH

O pH de todas as formulações se encontra na faixa de 5,9 – 7,4. Este resultado indicou que as formulações estavam próximas a faixa de pH fisiológico, o que as tornam adequadas para serem injetadas no meio subcutâneo, visto que a faixa de pH aceitável para injetáveis subcutâneos vai de 4,5 – 8,0 (SHIMIZU, 2012). Isso indica que ao, ser injetada, a formulação causaria um menor desconforto em seu local de aplicação.

#### 4.5.2 Difração de raios X

A fase identificada para a amostra 3585/2021 indicou a presença da fase anidra com fórmula molecular  $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$  (meloxicam). A Figura 24 demonstra a comparação entre o padrão calculado com base na estrutura cristalina encontrada no banco de dados (linha verde) e o padrão medido (linha azul), onde é possível verificar que os picos coincidem em sua posição e intensidade.

Já a figura 24a apresenta o gráfico de Rietveld referente ao refinamento para a amostra de meloxicam. A estrutura cristalina foi encontrada na base de dados com o código SEDZOQ (FABIOLA *et al*, 1998), identificada como 100% na amostra e que possui sistema cristalino triclinico, grupo espacial P. Não foram identificadas outras fases cristalinas. Por meio do refinamento utilizando o arquivo CIF SEDZOQ foi possível verificar que a amostra não apresenta misturas de fases, e não apresenta possíveis contaminantes cristalinos ou diferentes polimorfos.

Os padrões de difração para as amostras de organogel puro são mostrados na Figura 25. Alguns picos estão presentes nos padrões indicando a natureza semicristalina do organogel. Esses padrões foram utilizados para identificar as fases presentes em amostras contendo organogel e meloxicam. Por outro lado, a Figura 26 mostra os difratogramas referentes a amostras de Organogel puro e Meloxicam puro. As setas incluídas na figura representam a posição dos principais picos referentes às fases puras, indicando que as formulações possuem fases de meloxicam (cristalina) e organogel (semicristalina) em uma mistura.

Figura 24 - Comparação entre difratograma simulado (verde) e medido (azul).

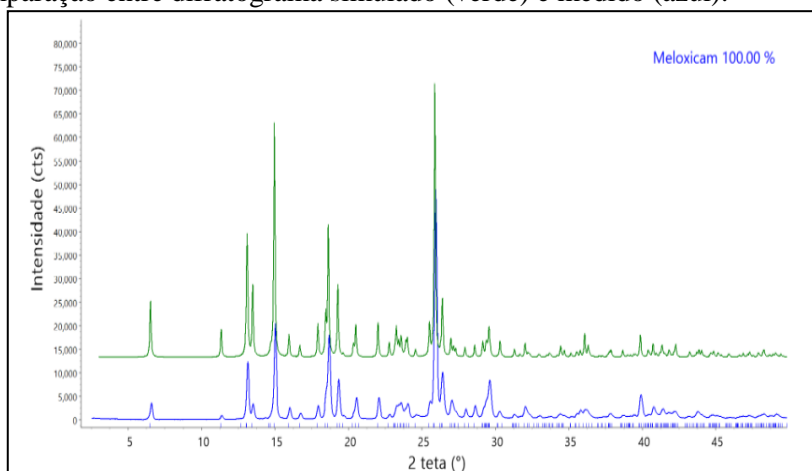


Figura 24a - Gráfico de Rietveld referente à amostra de meloxicam.

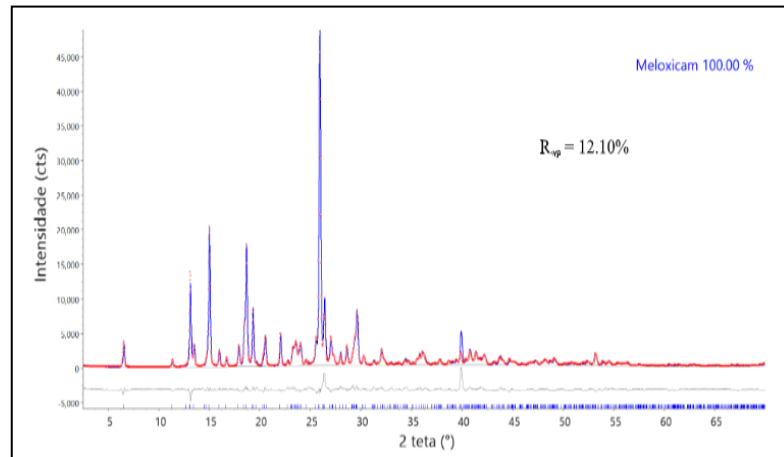


Figura 25: Padrões de difração para amostras de organogel placebo- amostra F48 (linha amarela) amostra F49 (linha verde).

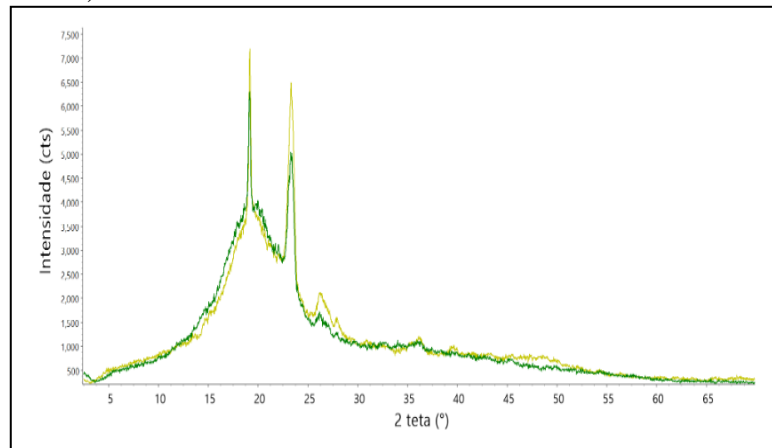
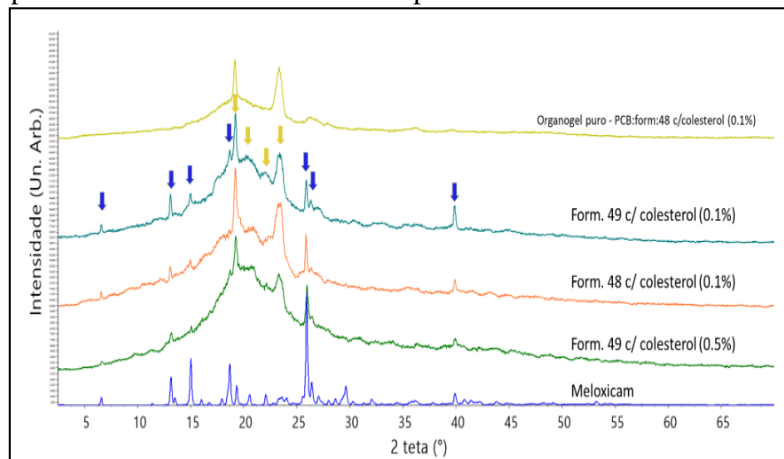


Figura 26 - Padrões de difração para amostras de organogel puro, formulações de colesterol e meloxicam puro. As setas azuis indicam os picos característicos referentes ao meloxicam e as setas amarelas indicam picos característicos referentes ao placebo.





#### 4.5.3 Viscosidade

A viscosidade de uma formulação não afeta somente a liberação do princípio ativo contido nela, mas também seu fluxo, sua espalhabilidade e, no caso de injetáveis, pode prejudicar a injetabilidade da formulação (CHORILLI, 2007). Pode influenciar também na adesão ao tratamento, visto que fórmulas mais viscosas são consideradas dolorosas a depender do local de aplicação.

Na Tabela 12, é possível observar os resultados da análise de viscosidade das formulações de organogel. Ambas as formulações comprovaram seu comportamento termo dependente, onde a viscosidade está diretamente relacionada à temperatura na qual a formulação se encontra. As formulações armazenadas em geladeira, a aproximadamente 5°C, apresentaram menor viscosidade quando comparadas a mesma formulação a 20°C. Outro detalhe que pode ser observado com o auxílio da análise de viscosidade foi que as formulações contém uma porcentagem maior de lecitina em sua composição tendem a ter uma maior viscosidade, algo que foi observado também com a avaliação das características organolépticas e em outros testes como o de espalhabilidade.

Tabela 12- Comparação entre a viscosidade das três formulações e seu tempo de gelificação. Tal comportamento foi corroborado pelas análises e as respostas obtidas podem ser vistas abaixo (n=3).

Amostra	Viscosidade		Temperatura de Gelificação (°C)
	5°C	20°C	
<b>F 48 c/ 0,1%</b>	420,6±0,58	2693±0,50	18,96±0,15
<b>F 49 c/ 0,1%</b>	416,3±0,8	2897±0,6	16,69±0,01
<b>F 49 c/ 0,5%</b>	425,3±0,98	2967±1,5	15,66±0,05

Era esperado que as formulações apresentando maior quantidade de lecitina e colesterol em sua composição apresentassem maior viscosidade e menor temperatura de gelificação quando comparada a formulação com menos lecitina.

#### 4.5.4 Determinação da temperatura de gelificação

Os resultados para análise da temperatura de gelificação podem ser vistos na Tabela 12. Como esperado através do estudo da literatura (PANDEY ET AL, 2009) e corroborado pela análise de viscosidade, foi possível observar que formulação contendo uma maior porcentagem de lecitina em sua composição, não só são mais viscosas, como também possuem uma temperatura de gelificação mais baixa, comprovando mais uma vez que a quantidade de lecitina na formulação é um fator de extrema importância na modulação das características do organogel, principalmente a viscosidade e a gelificação.

#### 4.5.5 Espalhabilidade

Os resultados das análises de espalhabilidade estão listados na Tabela 13. Com base na equação apresentada, foram obtidos os resultados em  $\text{mm}^2$  para cada formulação avaliada. A quantidade de lecitina presente na formulação demonstrou grande impacto na espalhabilidade, corroborando com os dados obtidos em análises prévias.

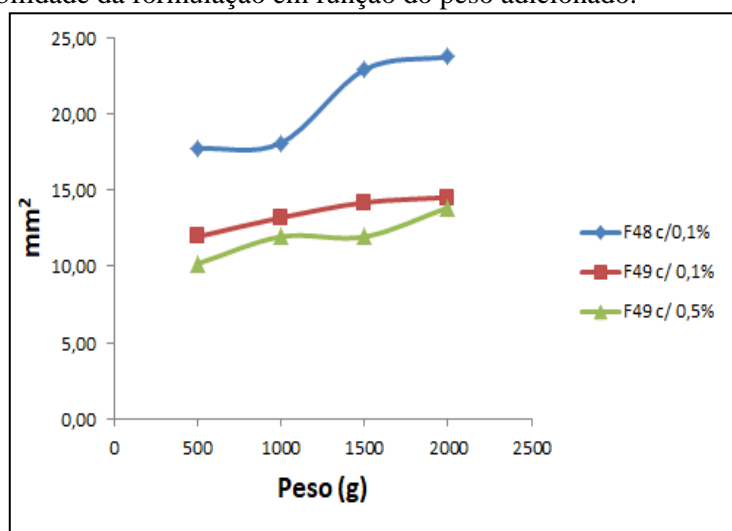
A formulação 48, que contém menos lecitina em sua composição, apresenta uma área final muito maior se comparada às demais. Essa diferença pode ser melhor compreendida no gráfico comparativo da Figura 12. As formulações 49 c/ 0,1% e 49 c/ 0,5% apresentaram áreas finais relativamente próximas, ainda que, nesse caso, a quantidade de colesterol presente na formulação tenha sido determinante para fazer com que a F49 c/ 0,5% tenha uma menor espalhabilidade quando comparada com as outras formulações.

**Tabela 13:** Espalhabilidade das formulações em função do peso adicionado. Como esperado, as formulações contendo menos lecitina na composição tiveram maior espalhabilidade por  $\text{mm}^2$ .

Peso (g)	Espalhabilidade ( $\text{mm}^2$ )		
	Amostra		
	F48 c/0,1%	F49 c/ 0,1%	F49 c/ 0,5%
<b>500</b>	17,71	11,94	10,17
<b>1000</b>	18,09	13,20	11,94
<b>1500</b>	22,89	14,18	11,94

Em forma de gráfico (figura 27), é possível, observar a diferença de espalhabilidade da formulação contendo menos lecitina, quando comparada as formulações contendo mais lecitina. Já a comparação em relação às formulações 49, é possível notar que a concentração de colesterol também influencia na espalhabilidade da formulação.

Figura 27- Espalhabilidade da formulação em função do peso adicionado.



#### 4.5.6 Microscopia

A análise microscópica das amostras (Figura 28 e 29) permitiu corroborar os resultados obtidos nas análises de tamanho de partícula, onde foram observadas partículas de 5,29 a 29,56  $\mu\text{m}$ . Ambas as formulações apresentaram partículas que se mantiveram dentro dessa faixa. Entretanto, por ser uma formulação que passa por um processo intenso de agitação em alta rotação, é possível notar também a presença de bolhas de ar em algumas das leituras, sendo elas as responsáveis por comprimentos que estão acima de 29,59  $\mu\text{m}$ .

Figura 28 - Microscopia da F48, demonstrando a distribuição das partículas de meloxicam dentro do organogel. Além dos pontos menores, há também pontos maiores e mais claros, que são bolhas formadas na formulação após agitação vigorosa

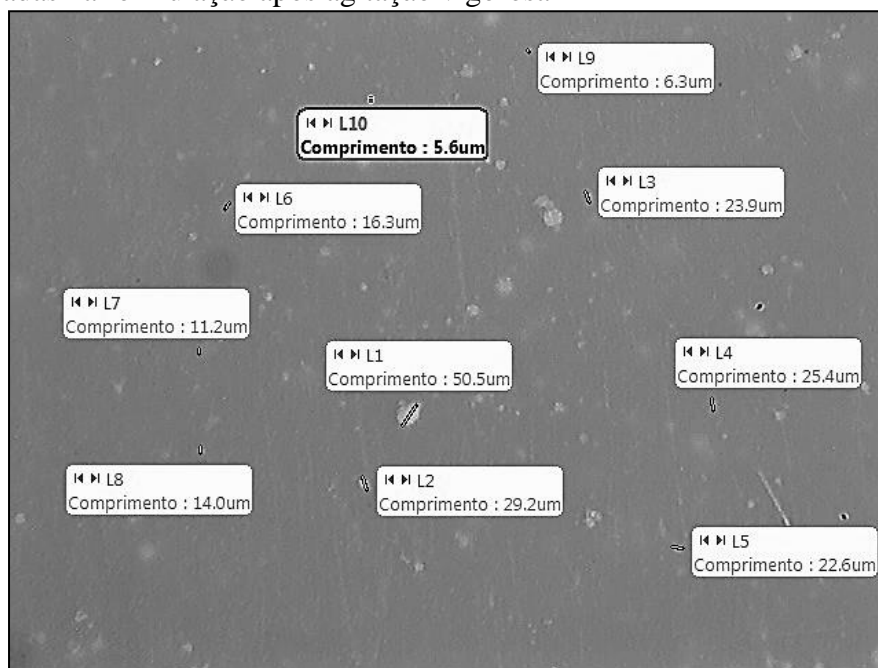
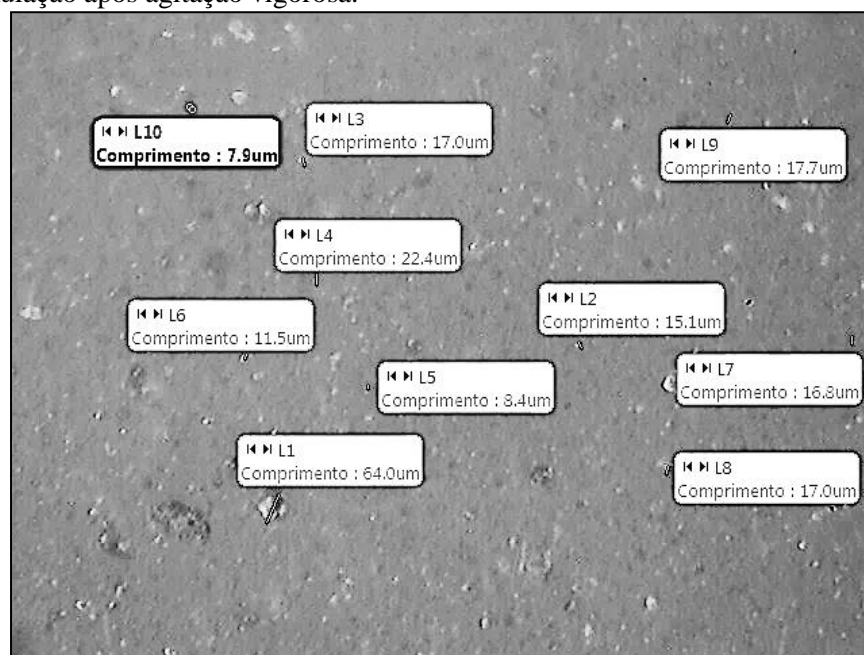


Figura 29 - Microscopia da F49 demonstrando a distribuição das partículas de meloxicam dentro do organogel. Além dos pontos menores, há também pontos maiores e mais claros, que são bolhas formadas na formulação após agitação vigorosa.



## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados aqui obtidos, conclui-se que é possível obter uma formulação de organogel contendo lecitina de soja, solvente, água e polímero. Os testes realizados durante o estudo mostram que a quantidade de lecitina é, como esperado, muito importante na obtenção de uma matriz tridimensional. Formulações contendo mais lecitina também apresentaram um melhor comportamento de termo reversibilidade, assim como pouca ou nenhuma separação de fases e uma melhor formação e manutenção da matriz geliforme.

Os componentes de otimização utilizados neste desenvolvimento, também têm importante ação quando se trata da viscosidade e espalhabilidade da matriz, com destaque para o colesterol, que foi capaz de auxiliar na rigidez da estrutura e para os triglicerídeos de ácido cáprico e caprílico que auxiliam na solubilização e integração do fármaco ao organogel. No geral, mesmo apresentando visíveis diferenças entre si, tanto físicas quanto organolépticas, as duas formulações obtidas através do delineamento se destacam de forma positiva, pois cumprem o objetivo quanto à obtenção de da matriz.

Entretanto, é possível dizer que a F49 demonstra um comportamento mais adequado em relação a termo reversibilidade, formação da matriz, além de ser capaz de demonstrar uma melhor estabilidade em se tratando da separação de fases.

## 6 REFERÊNCIA

ABINPET (São Paulo). Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. In: **2021 Mercado pet Brasil**. São Paulo: ABINPET, 15 maio 2021. Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

AHMED I, KASRAIAN K. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. **Adv Drug Deliv Rev.** 2002 Oct 4;54(6):871-82. DOI: 10.1016/s0169-409x(02)00074-1. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(02\)00074-1](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00074-1).

BARBOSA, C. C. Perfil de inovação farmacêutica veterinária no Brasil. Dissertação. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74134/tde-27112017-110751/pt-br.php>.

BUDSBERG S. C.; STOKER A. M.; JOHNSTON S. A.; LISKA W.; RENO L. R.; COOK J. L. In vitro effects of meloxicam on metabolism in articular chondrocytes from dogs with naturally occurring osteoarthritis. **Am J Vet Res.** 2013. <https://doi.org/10.2460/ajvr.74.9.1198> . 20 fev. 2022

CHORILLI, M. C. INFLUÊNCIA DA VISCOSIDADE DO VEÍCULO NA LIBERAÇÃO IN VITRO DA CAFEÍNA. **Revista Eletrônica de Farmácia**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-9, 24 out. 2007. Universidade Federal de Goiás. <http://dx.doi.org/10.5216/ref.v4i1.2121>

DASSANAYAKE, L.S.K., KODALI D.R., UENO S., SATO K. Physical properties of rice bran wax in bulk and organogels. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 86 (12), 2009, pp. 1163-1173, <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1464-6>.

FABIOLA, G. et al. 4-Hydroxy-2-methyl-N-(5-methyl-1,3-thiazol-2-yl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide 1,1-Dioxide. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, [S.L.], v. 54, n. 12, p. 2001-2003, 15 dez. 1998. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s0108270198008452>.

GUILLOT M. *et al.* Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools, **The Veterinary Journal** v. 196, p. 360-367, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.009>.

KHAN, M. ZAHIRUL I.; TUCKER, I. G.; OPDEBEECK, J. P.. Cholesterol and lecithin implants for sustained release of antigen: release and erosion in vitro, and antibody response in mice. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 76, n. 1-2, p. 161-170, set. 1991. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(91\)90354-q](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(91)90354-q).

KEMPE, S.; MÄDER, K. In situ forming implants — an attractive formulation principle for parenteral depot formulations. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 161, n. 2, p. 668-679, jul. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.04.016>.

KUMAR, R.; KATARE, O. P. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: a review. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 298-310, jun. 2005. <http://doi.org/10.1208/pt060240>.

LASCELLES, S. J.; BUTTERWOR, T. H.; WATERMAN, A. E. Postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and phetidine in dogs. **Veterinary Record**, 134, 187-190, 1994. [:https://doi.org/10.1007/s11746-009-1464](https://doi.org/10.1007/s11746-009-1464).

PACKHAEUSER C.B.; SCHNIEDERS J.; OSTER C.G.; KISSEL T. In situ forming parenteral drug delivery systems: an overview. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, 58. 2004, pp. 445-455. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.003>.

PANDEY, M; BELGAMWAR, V; GATTANI, S; SURANA, S; Tekade, A. Pluronic lecithin organogel as a topical drug delivery system. **Drug Delivery**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 38-47, 16 dez. 2009. <https://doi.org/10.3109/10717540903508961>.

RIETVELD, H.M. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **J Appl Crystallography**, v. 2 (2), p. 65-71, June 1969. <https://doi.org/10.1107/S0021889869006558>

RUEL-GARIÉPY, E.; LEROUX, J. C. In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 58(2), 409–426. 2004.<https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2004.03.019>.

SHIMIZU, S. **Handbook of Experimental Animals: routes of administration**. 2. ed. Tsukuba, Japan: Academic Press, 2012. 2217 p.

SILVA, F. V. F. et al. Desenvolvimento e controle de qualidade de um gel-creme antiacneico a base do óleo da *Copaífera officinalis* L. (copaíba). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [S.L.], n. 30, p. 974, 13 ago. 2019. <http://dx.doi.org/10.25248/reas.e974.2019>

SOUSA A., *et al.* Tratamento da dor em pequenos animais: classificação, indicações e vias de administração dos analgésicos (revisão de literatura: parte II). **Medicina Veterinária (UFRPE)**, [S.L.], v.11, n.1, p. 29–40, 2017. <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1596>

TARANTINO, R.. **Injectable lecithin gel**. Titular: F Hoffmann La Roche Ag. DE n. 0620740B1. Depósito: 05 out. 1992. Concessão: 12 out. 93.

VARSHOSAZ, J.; ANDALIB, S.; TABBAKHIAN, M.; EBRAHIMZADEH, N.. Development of Lecithin Nanoemulsion Based Organogels for Permeation Enhancement of Metoprolol through Rat Skin. *Journal Of Nanomaterials*, [S.L.], v. 2013, p. 1-10, 2013. **Hindawi Limited**. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/139437>.



### **CAPÍTULO III**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE TEOR DE MELOXICAM NA FORMULAÇÃO DE ORGANOGELO DE LECITINA E PLURONIC9® F-127, POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

## RESUMO

Formulações inovadoras estão cada vez mais presentes no mercado atual. No caso de géis, organogéis e implantes são comuns e tais formulações não são mais restritas ao uso exclusivamente humano, visto que as inovações têm avançado rapidamente para englobar também o grande mercado veterinário. Ainda assim, mesmo com o surgimento de novas formas farmacêuticas, é necessário que existam formas de avaliar sua segurança, estabilidade e eficácia, e uma dessas formas é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O meloxicam é um analgésico, antipirético e anti-inflamatório com ação seletiva para a COX-2, amplamente utilizado no tratamento de dores agudas e crônicas em animais de variados portes, recomendado até mesmo para felinos por não apresentarem um agravamento das condições renais desses animais. O objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento e a validação de um método cromatográfico específico, capaz de quantificar o meloxicam nas formulações de organogel. A etapa inicial consistiu em uma triagem que teve como principais pontos selecionar uma coluna adequada, um pH de fase móvel compatível assim como fluxo, entre outros parâmetros. Com essas condições estabelecidas, obteve-se a Inertisil ODS 2, com fluxo 1 ml/min e metanol: tampão fosfato pH 6,0 como fase móvel para ser realizado o processo de validação. Por intermédio do Guia de validação e controle de qualidade para registro em uso animal (MAPA), foram avaliados parâmetros de robustez, seletividade, linearidade, precisão e exatidão, obtendo-se no final um método com todas as características necessárias para a quantificação de meloxicam na formulação de organogel.

Palavras chaves: Organogel; HPLC; Meloxicam; Validação.

## ABSTRACT

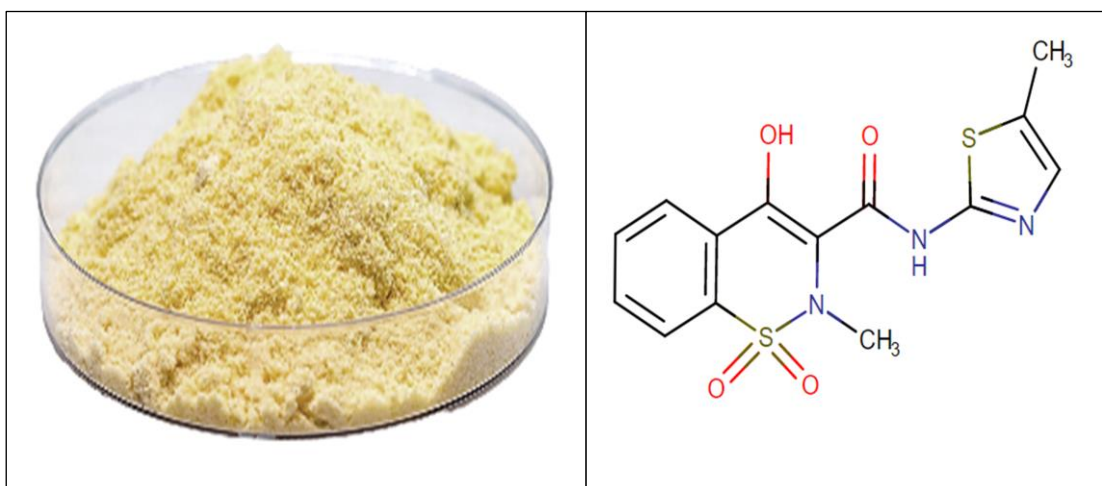
Innovative formulations are increasingly present in the current market. In the case of gels, organogels and implants are common and such formulations are no longer restricted to exclusively human use, as innovations have advanced rapidly to also encompass the large veterinary market. Even so, even with the emergence of new pharmaceutical forms, it is necessary that there are ways to assess their safety, stability and efficacy, and one of these ways is high performance liquid chromatography (HPLC). Meloxicam is an analgesic, antipyretic and anti-inflammatory with selective action for COX-2, widely used in the treatment of acute and chronic pain in animals of different sizes, recommended even for felines because they do not present a worsening of the renal conditions of these animals. . The objective of this work was the development and validation of a specific chromatographic method, capable of quantifying meloxicam in organogel formulations. The initial stage consisted of a screening whose main points were to select an appropriate column, a compatible mobile phase pH as well as flow, among other parameters. With these conditions established, Inertisil ODS 2 was obtained, with a flow rate of 1 ml/min and methanol: phosphate buffer pH 6.0 as the mobile phase to carry out the validation process. Through the Validation and Quality Control Guide for Registration in Animal Use (MAPA), parameters of robustness, selectivity, linearity, precision and accuracy were evaluated, obtaining in the end a method with all the necessary characteristics for the quantification of meloxicam in the formulation of organogel.

Keywords: Organogel; HPLC; Meloxicam; Validation.

## 1 INTRODUÇÃO

O meloxicam ( $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ ), quimicamente denominado 4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida 1,1-dioxano é um derivado relacionado aos oxicanos. Apresenta-se como um pó cristalino fino, de cor amarelada, baixa solubilidade e que com ponto de fusão aproximado de  $250,5^{\circ}C$  (SHOORMEIJ; TAHERI; HOMAYOUNI, 2018), (Figura 30). É considerado um fármaco de classe II, no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), significando que possui baixa solubilidade e alta permeabilidade. Além disso, tem ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória, sendo um dos medicamentos mais recomendados para o tratamento da dor tanto em humanos quanto em animais (NAGAI; OGATA; OTAKE; KAWASAKI, 2020).

Figura 30 - Matéria-prima (A) e estrutura molecular de meloxicam (B).



Fonte: DrugBank, 2022.

Está dentro da categoria de anti-inflamatório não esteroidais (AINEs), que concede maior seletividade para a cicloxigenase 2 (COX-2) do que pela cicloxigenase 1 (COX-1). Isto confere certa vantagem em relação as classes dos anti-inflamatórios mais antigos, enquanto a inibição da COX-1 pode levar a problemas gástricos, renais e a sangramentos, visto que essa enzima é responsável pela manutenção das funções fisiológicas renais, gastrintestinais e vasculares, através da síntese de prostaglandinas; a COX-2. Entretanto, ocorre apenas em

casos de lesões teciduais ou inflamações que levam a produção de prostaglandinas (ALEIXO *et al*, 2017; HILÁRIO; TERRERI; LEN, 2006).

Outra vantagem no uso do meloxicam para o tratamento da dor aguda ou crônica quando comparado a outros fármacos, é que seu uso, principalmente em animais de pequeno porte é mais sensível ao tratamento para dor, a exemplo dos felinos, que apresenta pouco ou nenhum efeito adverso ante o uso de meloxicam (GUILLOT, M, *et al*, 2013)

Com o aumento do desenvolvimento de formulações cada vez mais diversificadas e sofisticadas, assim como a modernização constante das regulações que regem a indústria farmacêutica, faz-se cada vez mais necessário a existências de métodos analíticos capazes de contemplar todos os aspectos científicos e técnicos necessários para garantir a segurança e a eficácia de qualquer produto que venha a alcançar o mercado, seja ele para o consumo humano ou animal (DANIEL, 2018).

Uma das técnicas mais utilizadas para avaliar as formulações no nível de teor e presença de produtos de degradação que possam surgir ao longo do tempo é a cromatografia líquida de alta eficiência, também conhecida por CLAE (HPLC, do inglês High Performance Liquid Chromatography) (DOMINGOS, 2011). Entretanto, o desenvolvimento de qualquer método quantitativo nesse tipo de equipamento exige uma validação capaz de assegurar que o método desenvolvido seja adequado para quantificar de forma seletiva o analito de interesse (LEON, 2019).

A validação de um método é descrita como uma série de análises ao qual a amostra que se pretende quantificar é submetida. Essas análises estão descritas em legislações específicas, sejam do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) ou da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Ambas são divididas em parâmetros sendo eles: robustez, seletividade, linearidade, precisão, repetibilidade e exatidão. A metodologia pode ser completa ou parcial, dependendo da fonte de origem, ou seja, métodos desenvolvidos pelo analista ou com auxílio da literatura necessitam de uma validação completa, enquanto métodos compendiais podem passar por uma validação parcial (BRASIL, 2017; DANIEL, 2018).

No Brasil a regulamentação, assim como os parâmetros utilizados para análises de teor e estabilidade de formulação são ditados por órgão e guias, sendo eles a ANVISA pelas resoluções RDC 166/17 e RDC 318/19 e o MAPA através do guia de validação e controle de

qualidade para registro em uso animal (BRASIL, 2017; BRASIL, 2019). Nesse contexto, há também a implementação do guia ICH (International Council for Harmonisation) Q2 (R1).

## **2 OBJETIVO**

O objetivo deste estudo foi desenvolver um método de extração e de quantificação do meloxicam contido na formulação de organogel.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Material**

Meloxicam (Medley, Brasil), Metanol grau HPLC (Merck, Brasil), Hidróxido de sódio (LabSynth, São Paulo, Brasil), Fosfato de potássio monobásico (LabSynth, São Paulo, Brasil), Água ultrapurificada (Millipore, Alemanha), Filtro Nylon FILTRILO 25mm e 45µm (Colombo, Paraná, Brasil), Filtro PVDF CROMAFIL<sup>®</sup> Xtra 25mm e 45µm (Marcherey, Alemanha), Formulação de organogel (Produzida no Deinfar, São Paulo).

#### **3.2 Método**

##### **3.2.1 Instrumentação**

O desenvolvimento da metodologia ocorreu no sistema de HPLC Shimadzu<sup>®</sup> Prominence, equipado com um detector de arranjo de fotodiodos (DAD), composto por uma bomba modelo LC-20AT, injetor automático de amostras modelo SIL-10AD, forno de coluna modelo CTO-10A e unidade de controle modelo CDM-20A. Os dados foram coletados com o auxílio do software LC Solution. Para testes iniciais foram avaliadas as colunas Eclipse XDB C18 5µm, 4,6x150mm e Intertisil ODS 2 C18 5µm, 4,6x250mm, X-Terra 5µm, 4,6x250mm e Ace C18 5µm, 4,6x150mm.

##### **3.2.2 Condições analíticas**

O método foi desenvolvido em duas etapas: na primeira foi realizado os testes com as diferentes colunas, dois diferentes pH e alterações nas proporções de solventes orgânico e polar na composição da fase móvel afim de encontrar a condição ideal para a quantificação do meloxicam. A segunda etapa consistiu na validação do método analítico.

Variáveis como pH e diferentes comprimentos de coluna, tiveram suas alterações realizadas de acordo com a literatura. O desenvolvimento do método foi baseado principalmente nas farmacopeias Americana (USP) (USP, 2021) e Britânica (BP, 2020), além



do artigo (SAHOO et al., 2014). As variáveis e constantes utilizadas na primeira etapa estão descritas na Tabela 14.

Tabela 14 - Variáveis e constantes do experimento na etapa de triagem do desenvolvimento do método.

Variáveis		Constantes	
<b>pH</b>	6,0 e 9,0	<b>Temperatura da coluna</b>	45° C
<b>Tipo de coluna</b>	Inertisil ODS ; X-terra Eclipse XDB	<b>Revestimento da Coluna</b>	C18
<b>Tamanho da coluna</b>	150 e 250 mm	<b>Volume de injeção</b>	10 µL
<b>Fluxo</b>	0,8 e 1 mL/min	<b>Comprimento de onda</b>	360 nm
<b>Tempo de corrida</b>	10 e 15 mim	<b>Proporção fase móvel</b>	48:52

Após a primeira etapa de avaliação, as condições do método foram estabelecidas conforme apresentado no Quadro 1.

Quadro 1- Condições cromatográficas utilizadas no método de quantificação.

<b>Coluna</b>	Inertisil ODS 2 250 mmL x 4,6 mmL.D
<b>Fase Móvel</b>	Tampão fosfato de potássio pH 6,0 : Metanol (48:52)
<b>Modo</b>	Isocrático
<b>Fluxo</b>	1,0 mL/min
<b>Temperatura</b>	45° C
<b>Injeção</b>	10 µL
<b>Comprimento de onda</b>	360 nm

### 3.2.3 Preparo de amostra

#### 3.2.3.1 Padrão

A solução padrão de Meloxicam foi preparada pesando 10 mg de matéria prima, que em seguida foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL (concentração de 0,20 mg/mL). O balão foi completado com diluente composto por metanol:NaOH 1N na proporção de 250:1ml. A solução obtida foi chamada de solução estoque padrão (SEP).

Da SEP, foi retirada uma alíquota de 4 mL, que foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL (concentração de 0,08 mg/mL) e que teve seu volume completado com diluente. As soluções resultantes da diluição foram filtradas através de filtros PVDF de 25mm e membrana de 0,45 mm antes de serem submetidas a análise cromatográfica.

#### 3.2.3.2 Formulação de organogel

Para determinar o teor do fármaco presente na formulação, foi pesado 0,5g de organogel para um balão volumétrico de 50 ml (concentração de 0,08 mg/mL). Para solubilizar a matriz foi utilizado diluente composto por metanol:NaOH 1N na proporção de 250:1ml. A solução foi submetida a ultrassom por 30 minutos e após a sonicação foi chamado de solução estoque formulação (SEF).

#### 3.2.4 Validação do método

##### 3.2.4.1 Adequação do sistema

A adequação do sistema foi avaliada a partir dos resultados da análise da solução padrão realizada em quintuplicata. Os critérios de aceitação estabelecidos estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2 - Parâmetros de adequação do sistema (USP, 2021).

<b>Parâmetro</b>	<b>Recomendação</b>
<b>Fator de capacidade (K')</b>	Pico bem resolvido dos demais e do volume morto, com $k' > 2,0$
<b>Repetibilidade</b>	Desejável DPR < 2%
<b>Resolução</b>	-
<b>Fator de calda (T)</b>	$T < 2$

<b>Pratos teóricos (N)</b>	<b>N &gt; 2000</b>
----------------------------	--------------------

#### 3.2.4.2 Seletividade

Para avaliar a seletividade, amostras da matéria prima, da formulação de organogel subcutâneo 0,8% e placebo foram submetidas a reações de degradação forçada, conforme descrito no manual de garantia da qualidade do MAPA. Essas reações foram: hidrólise ácida, hidrólise alcalina, oxidação, calor por 24 e 48 horas e exposição à luz até que seja atingido 60 e 120 milhões de lux de exposição.

#### 3.2.4.3 Robustez

Robustez é descrita como a capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. Foi realizada para avaliar o quanto as condições de análise influenciam no resultado final e quais condições devem ser controladas com mais rigor. Para o ensaio de robustez do método de análise do teor de meloxicam, foram realizados os seguintes testes: compatibilidade de filtros e teste de Youden.

#### 3.2.4.4 Teste de filtro

O experimento foi realizado utilizando filtros de seringa de PVDF e Nylon, todos com 45 µm de tamanho de poro e 25 mm de diâmetro. O teste de filtro foi realizado em triplicata com soluções padrão de Meloxicam e com amostras das formulações, ambos na concentração de 0,08 mg/mL. Os volumes de descarte testados foram 0 mL, 2 mL, 4 mL, 6 mL e 8 mL.

#### 3.2.4.5 Teste de Youden

No teste de Youden, a combinação fatorial dos sete parâmetros avaliados está descrita na Tabela 15, onde o valor “1” representa as condições nominais dos parâmetros testados e o valor “-1” representa a variação (CÉSAR; PIANETTI, 2009).

Tabela 15 - Combinação fatorial dos parâmetros analíticos para avaliação da robustez pelo teste de Youden.

<b>Corrida</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1
3	1	-1	1	-1	1	-1	-1
4	1	-1	-1	-1	-1	1	1
5	-1	1	1	-1	-1	1	-1
6	-1	1	-1	-1	1	-1	1
7	-1	-1	1	1	-1	-1	1
8	-1	-1	-1	1	1	1	-1

Tabela 16 - Condições cromatográficas dos métodos para o teste de Youden.

<b>Método</b>	<b>Proporção Tampão: MeOH</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Coluna</b>	<b>Comp. Onda</b>	<b>Tempo Extração (min)</b>	<b>Fluxo (mL/min)</b>
<b>1</b>	52/48	6,0	45	Coluna 1	360	30	1,0
<b>2</b>	52/48	6,0	35	Coluna 1	357	20	1,2
<b>3</b>	52/48	5,8	45	Coluna 2	360	20	1,2
<b>4</b>	52/48	5,8	35	Coluna 2	357	30	1,0
<b>5</b>	60/40	6,0	45	Coluna 2	357	30	1,2
<b>6</b>	60/40	6,0	35	Coluna 2	360	20	1,0
<b>7</b>	60/40	5,8	45	Coluna 1	357	20	1,0
<b>8</b>	60/40	5,8	35	Coluna 1	360	30	1,2

Quadro 3 - Variações para avaliação da robustez do método.

<b>Coluna</b>	Inertisil ODS 2 250 mmL x 4,6 mmL.D lote: 8ES10197	Inertisil ODS 2 250 mmL x 4,6 mmL.D lote: 3KSI1010
<b>Proporção Fase Móvel Tampão:MeOH</b>	52:48	60: 40
<b>pH</b>	6,0	5,8
<b>Fluxo</b>	1,0 mL/min	1,2 mL/min

<b>Temperatura</b>	45° C	35° C
<b>Comprimento de onda</b>	360 nm	357 nm
<b>Tempo de extração</b>	30 min	20 min

#### 3.2.4.6 Linearidade

A partir de uma solução estoque de 0,2 mg/mL, foram realizadas em triplicata diluições utilizando o diluente metanol:NaOH (250:1) de tal forma que se obtiveram concentrações na faixa de 0,064 a 0,096 mg/mL para Meloxicam, que compreende 80 a 120% da concentração de trabalho. Todas foram feitas em triplicata. Em seguida, foram injetadas no sistema HPLC. A curva de calibração foi construída com as áreas dos picos resultante a cada concentração avaliada.

#### 3.2.4.7 Precisão

A precisão teve como objetivo avaliar a capacidade do método de produzir respostas próximas entre si para amostras de mesma concentração. Esse teste se divide em Repetibilidade 1, feita por um analista em determinado dia; Repetibilidade 2, feita com o auxílio de outro analista em dias diferentes e equipamentos diferentes; e precisão intermediária, que considera os resultados das duas repetibilidades em conjunto. Para ambos os testes, foram utilizados os pontos: baixo – médio – alto (80% - 100% -120%).

#### 3.2.4.8 Exatidão

A exatidão visa demonstrar o quão próximo os valores obtidos pelo método estão do valor real, para tal é utilizado o método de adição de padrão, onde a recuperação deve ser calculada com base no padrão adicionado a uma amostra de placebo. A exatidão do método foi avaliada utilizando amostras de placebo adicionado de padrão nas concentrações 0,064; 0,08 e 0,096 mg/mL, cada solução foi produzida em triplicata e analisada pelo método desenvolvido.

### 3.2.5 Avaliação do teor de meloxicam nas formulações de organogel

Após a validação do método, seguiram-se as análises de acompanhamento de teor das formulações produzidas ao longo do estudo. O preparo das amostras avaliadas no teor segue o mesmo preparo de amostra listada no item 3.2.3.2 Formulação de organogel.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Condições analíticas

Embora todas as colunas tenham sido capazes de detectar o meloxicam aproximadamente no mesmo tempo de retenção, cerca de 10 minutos, nem todas apresentaram os fatores necessários para seguirem para a fase de otimização. A coluna X-Terra apresentou um número de pratos teóricos ( $N$ )  $< 2000$ , enquanto a coluna Ace apresentou um elevado desvio na linha de base e isso pode ser decorrente de alteração/flutuação de temperatura da coluna. A coluna Eclipse XDB resultou em pico dividido e com pratos teóricos ( $N$ ) inferiores a 2000.

A coluna Inertisil ODS foi a que apresentou melhores resultados de tailing, fator de capacidade ( $k'$ ), pratos teóricos ( $N$ ) e pureza de pico (Figura 31). Os valores obtidos estão descritos na Tabela 17.

Figura 31- Pico referente a análise cromatográfica utilizando a coluna Inertisil ODS 2 C18 5 $\mu$ m, 4,6x25mm extraído do Software LC Solution. Amostra produzida utilizando a matéria prima (MP).

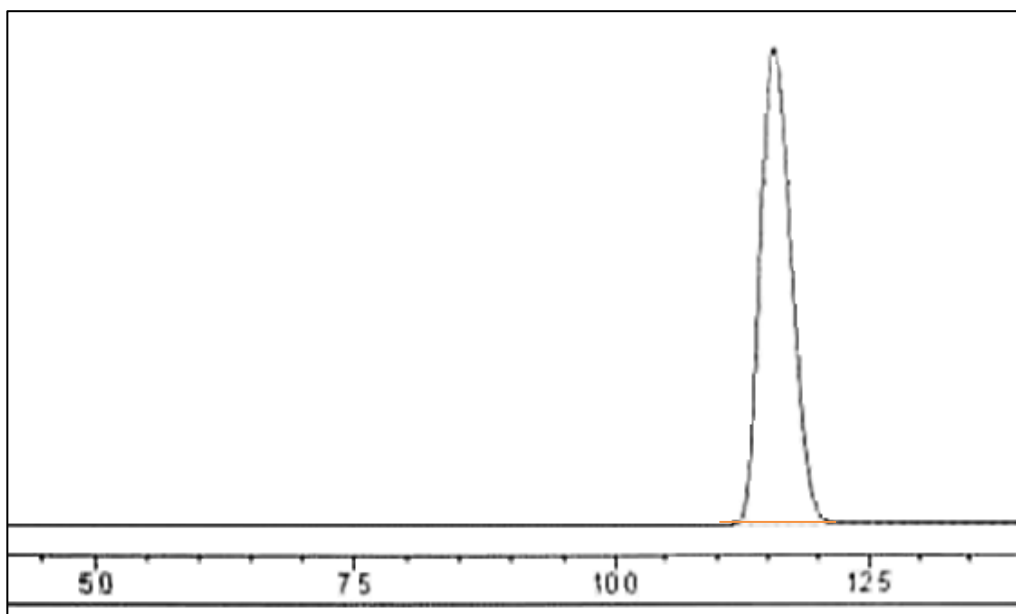


Tabela 17 - Valores dos parâmetros de adequação do sistema obtidos utilizando a coluna Inertisil ODS 2 C18 5µm, 4,6x25mm.

<b>Parâmetros</b>	<b>Resultados</b>
<b>Amostra</b>	Meloxicam MP
<b>Tailing</b>	1,413
<b>Fator de capacidade</b>	3.608
<b>Pratos teóricos</b>	6175
<b>Pureza de pico</b>	1,00

Com base nas análises preliminares e seus resultados, a coluna selecionada para o desenvolvimento do método foi a Inertisil ODS 2 C18 5µm, 4,6x25mm.

## **4.2 Robustez**

### **4.2.1 Teste de filtro**

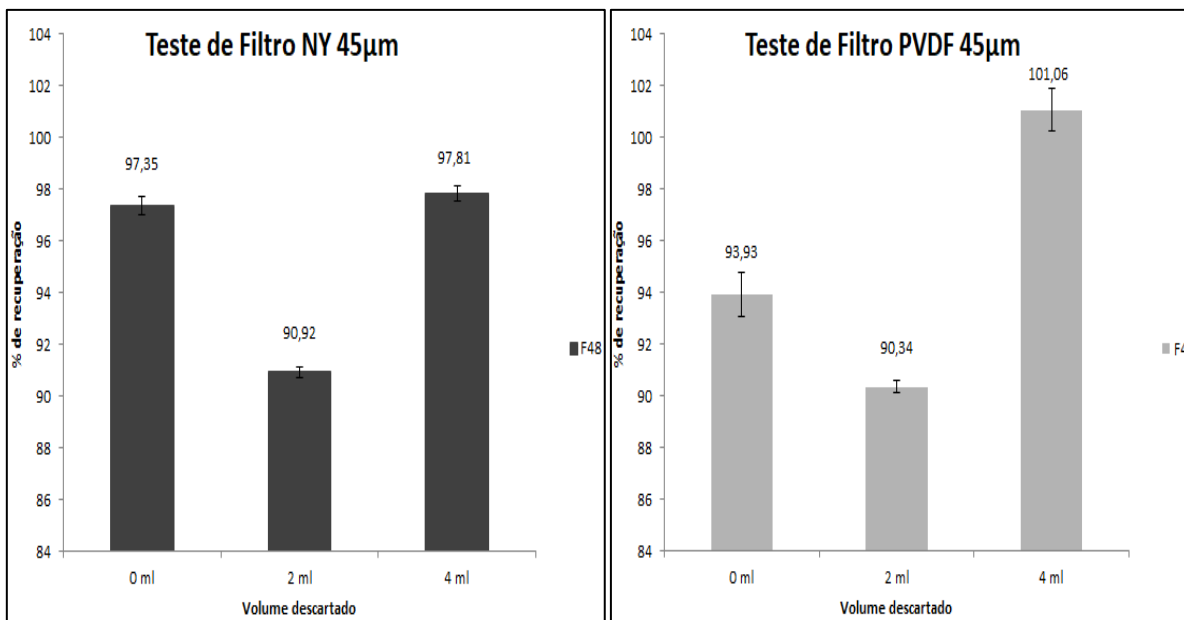
Ambas as formulações de organogel passaram pelo teste de filtro e foram submetidas as mesmas condições de preparo e análise, embora já fosse esperado que apresentassem comportamentos diferentes visto que, mesmo com sua composição semelhante, as quantidades de excipiente variam entre uma formulação e outra.

Em se tratando da F48, observou-se que o filtro de Nylon reteve cerca de 2,6% com 0 mL de descarte, retenção que aumentou para 9% com 2 mL de descarte e retornou para cerca de 2% com 4 mL de descarte. Já em PVDF, o comportamento da formulação foi diferente, embora a recuperação tenha sido menor em 0 e 2 mL, 4 mL foi o suficiente para recuperar cerca de 100% do fármaco (Figura 32).

A F49 apresentou um comportamento distinto da F48. Em nenhum dos testes iniciais foi possível recuperar 100% e o filtro nylon apresentou uma retenção de cerca de 3% com 0 mL de descarte e nos volumes seguintes a retenção aumentou, chegando a cerca de 9% com 4 mL de descarte. O mesmo comportamento ocorreu com o filtro de PVDF, que reteve cerca de 43% com 0 mL de descarte e foi reduzindo até cerca de 7% com 4 mL de descarte (Figura 33). Como não foi possível alcançar o 100% de recuperação nessas condições, novos testes foram realizados com volumes maiores de descarte, 6 e 8 mL.



Figura 32 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 48 com 0, 2 e 4 mL de descarte.



Mesmo com a alteração no volume de descarte, o filtro de Nylon manteve uma retenção de cerca de 20%, com um desvio padrão elevado entre as amostras, enquanto o filtro PVDF foi capaz de alcançar 100% de liberação com o descarte de 8 mL (Figura 34)

De acordo com a análise estatística ANOVA, a média de recuperação para a F48 com filtro de Nylon foi de  $95,36 \pm 3,85\%$  e com PVDF foi de  $95,11 \pm 5,46\%$ . Para a F49 a média de recuperação com o filtro de Nylon foi de  $80,85 \pm 4,99\%$  e com PVDF foi de  $95,54 \pm 4,36\%$ . Em ambas as formulações, os valores de p calculado foram menores que 0,05 indicando que há diferenças significativas entre as recuperações do fármaco nesses dois filtros.

Além das análises realizadas, foi necessário considerar também as informações fornecidas pelo fabricante dos filtros no certificado de análises, onde havia a indicação de que o filtro de Nylon poderia não ser compatível com alguns dos componentes da formulação. Por essa razão e pelo resultado das análises, o filtro PVDF foi eleito como o mais adequado para o meloxicam, pois foi capaz de garantir a recuperação completa do fármaco quando utilizado o volume de descarte adequado.

Figura 33 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 49 com 0, 2 e 4 mL de descarte.

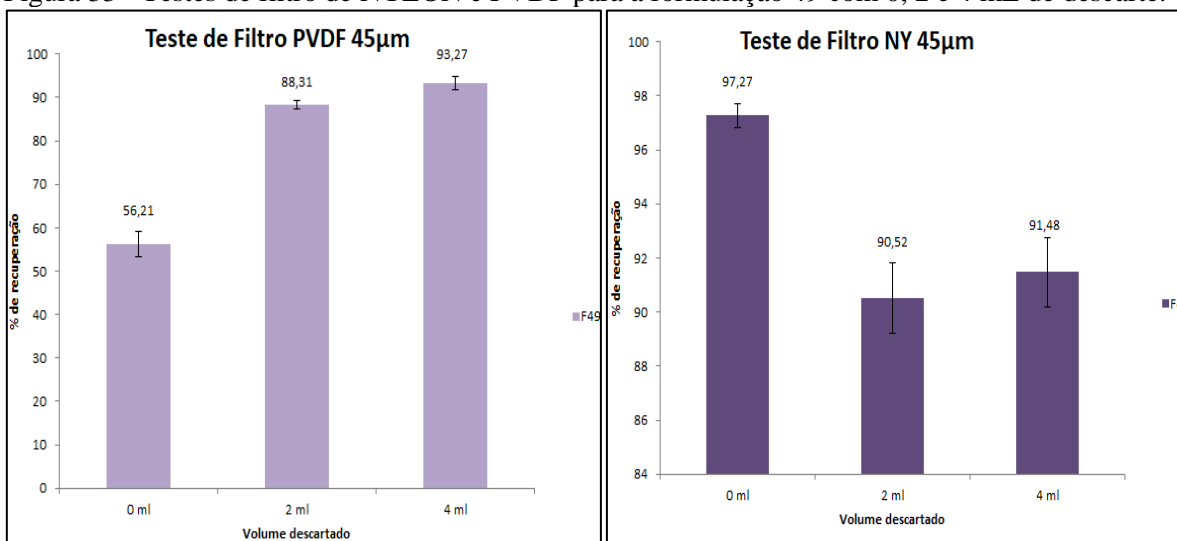
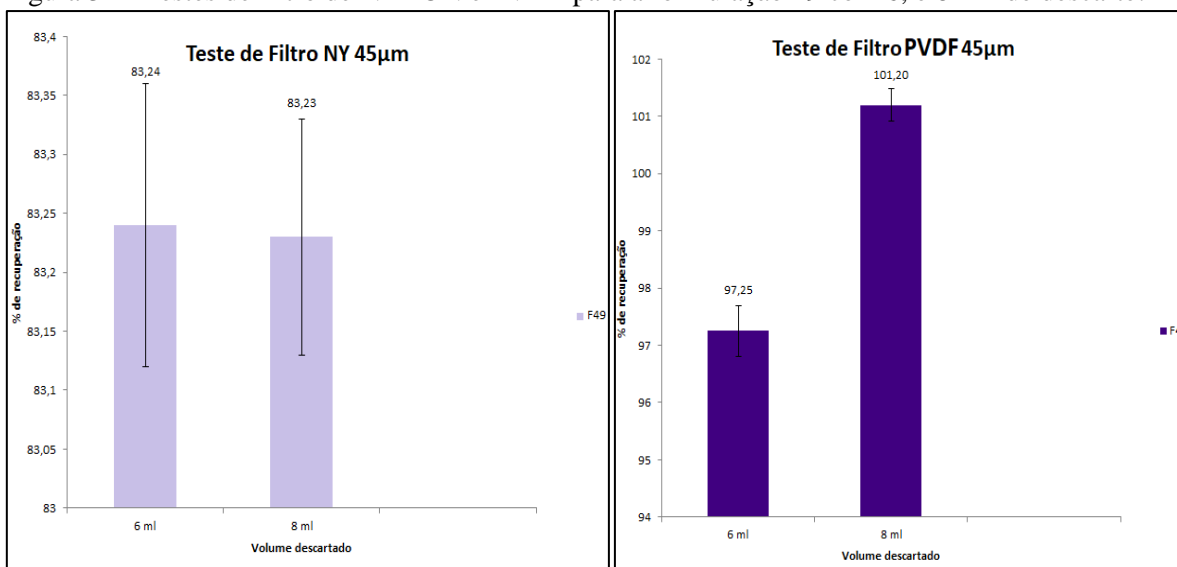


Figura 34 - Testes de filtro de NYLON e PVDF para a formulação 49 com 6, e 8 mL de descarte.



#### 4.2.2 Teste de Youden

Os resultados de recuperação obtidos com o uso dos métodos obtidos através do teste de Youden estão listados a seguir nas tabelas 18 e 19.

Tabela 18 - Recuperação do meloxicam durante o teste de Youden para a formulação 48.

Método	Fase móvel	pH	Temp. (°C)	Coluna	Comp. Onda	Tempo Extração	Fluxo (mL/min)	Recuperação (%)
--------	------------	----	------------	--------	------------	----------------	----------------	-----------------

(min)								
<b>1</b>	52/48	6,0	45	Coluna 1	360	30	1	101,5
<b>2</b>	52/48	6,0	35	Coluna 1	357	20	1,2	99,98
<b>3</b>	52/48	5,8	45	Coluna 2	360	20	1,2	101,3
<b>4</b>	52/48	5,8	35	Coluna 2	357	30	1	85,24
<b>5</b>	60/40	6,0	45	Coluna 2	357	30	1,2	103,2
<b>6</b>	60/40	6,0	35	Coluna 2	360	20	1	101,07
<b>7</b>	60/40	5,8	45	Coluna 1	357	20	1	93,14
<b>8</b>	60/40	5,8	35	Coluna 1	360	30	1,2	101,45

Tabela 19 - Recuperação do meloxicam durante o teste de Youden para a formulação 49.

<b>Método</b>	<b>Fase móvel</b>	<b>pH</b>	<b>Temp. (°C)</b>	<b>Coluna</b>	<b>Comp. Onda</b>	<b>Tempo Extração (min)</b>	<b>Fluxo (mL/min)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>1</b>	52/48	6	45	Coluna 1	360	30	1	97,5
<b>2</b>	52/48	6	35	Coluna 1	357	20	1,2	97,83
<b>3</b>	52/48	5,8	45	Coluna 2	360	20	1,2	98,67
<b>4</b>	52/48	5,8	35	Coluna 2	357	30	1	80,45
<b>5</b>	60/40	6	45	Coluna 2	357	30	1,2	95,2
<b>6</b>	60/40	6	35	Coluna 2	360	20	1	85,17
<b>7</b>	60/40	5,8	45	Coluna 1	357	20	1	92,99
<b>8</b>	60/40	5,8	35	Coluna 1	360	30	1,2	98,87

Uma das técnicas mais utilizadas na prática para experimentos sem réplicas é o gráfico de probabilidade Half-Normal para identificar efeitos possivelmente ativos (efeitos não nulos do ponto de vista estatístico). No estudo de experimentos fatoriais sem réplicas Cuthbert Daniel (1959) propôs um método que avalia estes efeitos ativos.

Para a formulação 48 (Figura 35), é possível notar os efeitos claramente afastados da reta, formada pela nuvem de pontos, que são os pontos pH e fluxo. Logo, estes pontos são julgados como pontos ativos, já para a formulação 49 (Figura 36) tem como pontos ativos pH, fluxo e coluna.

Figura 35 - Gráfico de Daniel extraído do Software ActionState®. Nele é possível identificar os pontos ativos referentes à formulação 48.

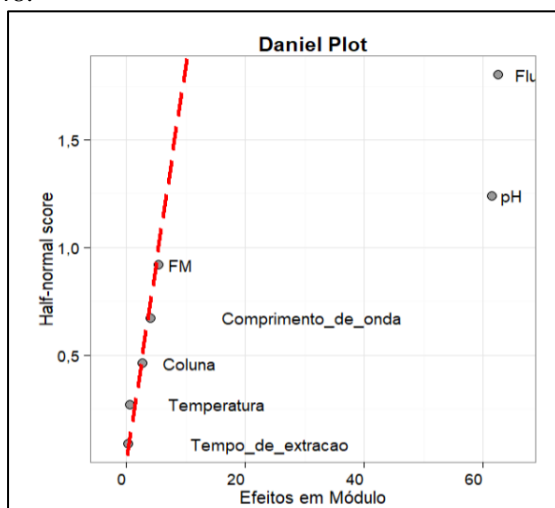
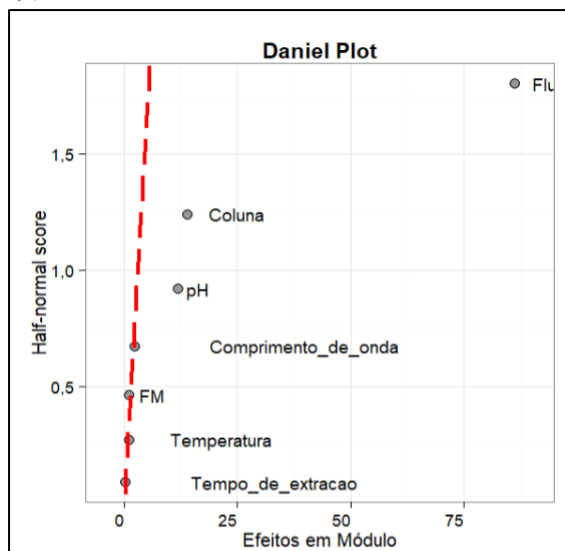


Figura 36: Gráfico de Daniel extraído do Software ActionState®. Nele é possível identificar os pontos ativos referentes à formulação 49.



O método de Lenth foi utilizado com o objetivo de trabalhar com análises de experimentos fatoriais sem réplicas. Para a formulação 48 foram obtidos P-valor(es) pH, fluxo (0,002, 0,002 respectivamente) e para a formulação 49 foram obtidos pH, fluxo e coluna (0,0125, 0,0087, 1e-04 respectivamente), ambos através do teste t-Student do Método Lenth. Como os valores obtidos são menores que 0,05, rejeitamos a hipótese de efeitos nulos ao nível de significância de 5%.

No gráfico de Lenth (Figuras 37 e 38) é possível observar os parâmetros ativos, que quando variados causam alterações na resposta obtida pelo método.

Tanto o método de Lenth quando o método de Daniel apresentou resultados semelhantes sobre o que consideraram como pontos ativos ao qual se deve levar em maior consideração e cautela no momento da análise, com destaque para o pH da fase móvel, fluxo e no caso da formulação 49 a coluna. Observados os cromatogramas, é possível notar que houveram mudanças no pico obtido quando comparados ao método considerado nominal. Tais mudanças foram principalmente o fator de cauda, o tempo de retenção e o número de pratos teóricos.

Figura 37 - Gráfico de Lenth extraído do Software ActionState®, indicando os pontos ativos da formulação 48.

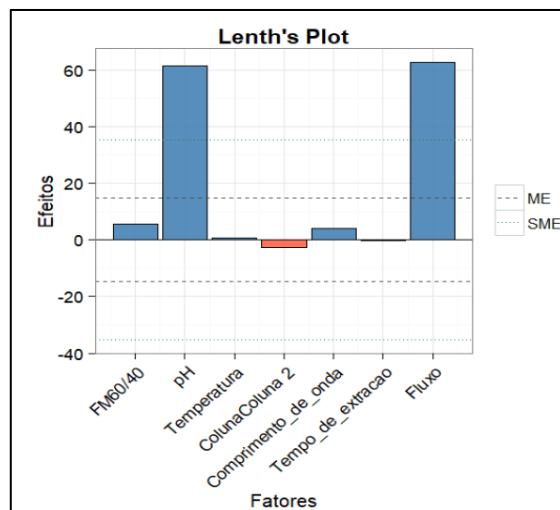
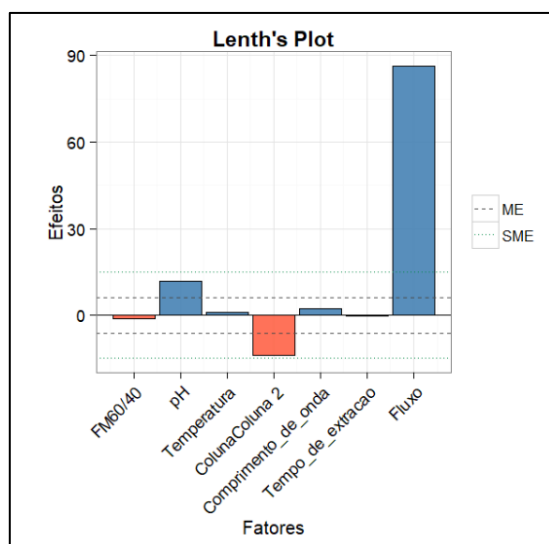


Figura 38 - Gráfico de Lenth extraído do Software ActionState®, indicando os pontos ativos da formulação 49.



A coluna também aparece como um ponto a se ter atenção, mas somente na Formulação 49 e isso pode ter ocorrido graças aos componentes da formulação, ou da própria coluna, já que foram utilizadas colunas de lotes diferentes, embora do mesmo fabricante.

Utilizando do teste de Youden foi possível concluir que o método apresentou robustez para as condições de fase móvel, temperatura, comprimento de onda e tempo de extração para as duas formulações, e coluna apenas para a F48. Enquanto, se mostrou sensível para as variações de pH e fluxo para ambas as formulações e coluna para a F49, demonstrando que essas condições necessitam de controle rigoroso durante as análises.

### 4.3 Seletividade

A seletividade é descrita como a capacidade que um método tem de produzir resposta inequívoca para o(s) componente(s) de interesse na presença de outros componentes que possam estar presentes na amostra (excipientes, impurezas, compostos relacionados, diluentes). Portanto, nesta etapa foram executados diversos testes, tanto em amostras de matéria-prima como de formulação, para verificar se a resposta obtida para o meloxicam era de alguma forma afetada pelas respostas obtidas nas condições de degradação forçada.

O teste de degradação forçada teve início com as análises de calor, com as amostras sendo expostas a temperaturas de 80°C por 24 e 48 horas, as áreas obtidas na análise estão disponíveis na Tabela 20. É possível notar que houve uma diminuição na área da amostra quando comparada ao padrão, indicando a ocorrência de uma degradação. Ainda assim, não houve interferências nos picos dos cromatogramas que mantiveram sua pureza em 1,000, pratos teóricos acima de 7678,3, % desvio padrão relativo (%DPR) de 1,593, média de fator de cauda de 1,4. O mesmo comportamento foi observado tanto na matéria-prima, quanto nas amostras de formulação.

Tabela 20 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão e formulações sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas à degradação por calor, por 48 horas.

---

#### CALOR (80°C)

---

<b>Amostra</b>	<b>Área</b>	<b>% Área do Pico das amostras em relação ao Padrão 100%</b>	<b>% Área do Pico das amostras em relação a T0</b>
<b>Padrão</b>	2385959	-	-
<b>Padrão</b>	2382073	-	-
<b>Padrão</b>	2381480	-	-
<b>M.P. sem Deg.</b>	2525194	105,96	-
<b>M.P. 24 h</b>	2461584	103,29	97,48
<b>M.P. 48 h</b>	2418858	101,50	95,79
<b>Formulação 48</b>	2338651	98,13	-
<b>F48 24 h (calor)</b>	2113415	88,68	90,37
<b>F48 48 h (calor)</b>	2084270	87,46	89,12
<b>Formulação 49</b>	2324377	97,53	-
<b>F49 24 h (calor)</b>	2005042	84,13	86,26
<b>F49 48 h (calor)</b>	1950848	81,86	83,93

Após as análises de calor, foram realizadas as reações de hidrólise ácida e alcalina (Figura 38 e 39). No geral, ambas as reações produziram resultados semelhantes, para a matéria-prima, apresentando uma queda na área em comparação ao padrão como pode ser observado na Tabela 21. Por outro lado, a formulação se mostrou capaz de proteger o fármaco das reações de hidrólise, tanto ácida quanto alcalina, demonstrando uma menor degradação se comparada à matéria-prima isolada. Ainda assim, novamente não houve picos interferentes que pudessem comprometer a seletividade do método. O meloxicam manteve sua pureza de pico em 1,000 e os pratos teóricos em 7678,3, % desvio padrão relativo (%DPR) de 0,675, média de fator de calda de 1,3.

Tabela 21- Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão sem degradação, e na formulação sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas às degradações de hidrólise ácida e alcalina em temperatura ambiente por 4 horas.

#### **HIDRÓLISE**

<b>Amostra</b>	<b>Área</b>	<b>% Área do Pico das amostras em relação ao Padrão 100%</b>	<b>% Área do Pico das amostras em relação a T0</b>
<b>Padrão</b>	2014311	-	-
<b>Padrão</b>	2164917	-	-
<b>Padrão</b>	2089614	-	-
<b>Hidrolise AC MP T0</b>	2171338	103,91	-
<b>Hidrolise AC MP T1</b>	2173832	104,03	100,11
<b>Hidrolise AC MP T2</b>	2098597	100,43	96,65
<b>Hidrolise AC MP T4</b>	1969900	94,27	90,72
<b>Hidrolise ALC MP T0</b>	2142063	102,51	-
<b>Hidrolise ALC MP T1</b>	2161858	103,46	100,92
<b>Hidrolise ALC MP T2</b>	2051530	98,18	95,77
<b>Hidrolise ALC MP T4</b>	1781681	85,26	83,18
<b>Formulação 48</b>	2338651	111,92	-
<b>Hidrolise AC 48 T0</b>	2102793	100,63	-
<b>Hidrolise AC 48 T1</b>	1942328	92,95	92,37
<b>Hidrolise AC 48 T2</b>	2038906	97,57	96,96
<b>Hidrolise AC 48 T4</b>	1819100	87,05	86,51
<b>Hidrolise ALC 48 T0</b>	2156581	103,20	-
<b>Hidrolise ALC 48 T1</b>	2125006	90,86	88,04
<b>Hidrolise ALC 48 T2</b>	2024976	86,58	83,9
<b>Hidrolise ALC 48 T4</b>	1775341	84,43	81,81
<b>Formulação 49</b>	2324377	111,23	-
<b>Hidrolise AC 49 T0</b>	2171338	103,91	-
<b>Hidrolise AC 49 T1</b>	2146662	102,73	98,86
<b>Hidrolise AC 49 T2</b>	2099564	100,48	96,69
<b>Hidrolise AC 49 T4</b>	2011872	89,12	98,86
<b>Hidrolise ALC 49 T0</b>	2241662	107,28	-
<b>Hidrolise ALC 49 T1</b>	2192780	104,94	97,82
<b>Hidrolise ALC 49 T2</b>	2143897	102,60	97,77



<b>Hidrolise ALC 49 T4</b>	1992780	88,9	82,86
----------------------------	---------	------	-------

As reações de oxidação (Figura 40) demonstraram uma diferença significativa nas áreas obtidas, quando comparadas às outras análises de degradação, mas não houve interferentes que pudessem comprometer a seletividade do método ou reduzir a pureza do pico de meloxicam, que se manteve em 1,000, com pratos teóricos acima de 4534,2 % desvio padrão relativo (%DPR) de 0,592, média de fator de calda de 1,3. Os resultados de oxidação podem ser observados na Tabela 22.

Tabela 22: Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão sem degradação, e na formulação sem degradação, com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações submetidas à degradação por oxidação em temperatura ambiente por 4 horas.

<b>OXIDAÇÃO</b>			
Amostra	Área	% Área do Pico das amostras em relação ao Padrão 100%	% Área do Pico das amostras em relação a T0
<b>Padrão</b>	2385959	-	-
<b>Padrão</b>	2382073	-	-
<b>Padrão</b>	2381480	-	-
<b>Oxidação MP T0</b>	1038767	43,59	-
<b>Oxidação MP T1</b>	1203964	50,52	115,90
<b>Oxidação MP T2</b>	1221662	51,26	117,61
<b>Oxidação MP T4</b>	1220282	51,20	117,47
<b>Formulação 48</b>	2338651	98,13	-
<b>Formulação 48 T0</b>	1205309	50,58	-
<b>Formulação 48 T1</b>	1227754	51,52	101,86
<b>Formulação 48 T2</b>	1216449	51,04	100,92
<b>Formulação 48 T4</b>	1225027	51,40	101,64
<b>Formulação 49</b>	2324377	97,53	-
<b>Formulação 49 T0</b>	1231271	51,67	-
<b>Formulação 49 T1</b>	1239382	52,01	100,66
<b>Formulação 49 T2</b>	1246951	52,32	101,27

<b>Formulação 49 T4</b>	1237830	51,94	100,53
-------------------------	---------	-------	--------

Por ultimo foi realizada a degradação fotolítica, com amostras que foram expostas a 120 milhões/lux. As alterações de área foram baixas, quando comparadas as que ficaram expostas à luz com formulações que não foram expostas. A pureza do pico de meloxicam se manteve em 1,000, com pratos teóricos acima de 4534,2 % desvio padrão relativo (%DPR) de 0,592, média de fator de cauda de 1,3. Os resultados podem ser observados na Tabela 23.

Tabela 23 - Comparação entre as áreas do pico da meloxicam na solução padrão e formulação com proteção à luz (p/luz), com as áreas das soluções amostra de matéria-prima e das formulações expostas à luz.

<b>FOTÓLISE</b>			
<b>Amostra</b>	<b>Área</b>	<b>% Área do Pico das amostras em relação ao Padrão 100%</b>	<b>% Área do Pico das amostras s/Luz</b>
<b>Padrão</b>	2547443	-	-
<b>M.P. (s/luz)</b>	2466070	96,81	-
<b>M.P. 60</b>	2424002	95,15	98,29
<b>M.P. 120</b>	2410247	94,61	97,74
<b>F48 (s/luz)</b>	2528194	99,24	-
<b>F 48 60</b>	2461584	96,63	97,37
<b>F 48 120</b>	2418858	94,95	95,68
<b>F49 (s/luz)</b>	2672638	104,91	-
<b>F 49 60</b>	2501401	98,19	93,59
<b>F 49 120</b>	2615282	102,66	97,85

Através das análises de degradação, foi possível comprovar que a matriz do organogel, mesmo quando exposta a degradação forçada, não apresentou nenhuma alteração ou interferência ao pico do meloxicam. Essa ausência de interferência indica que o método pode ser utilizado nas análises de teor sem qualquer comprometimento na detecção do meloxicam.

Figura 39 - Cromatograma extraído do Software LC Solution, referente às análises de Hidrólise ácida, realizadas para o estudo de seletividade do meloxicam.

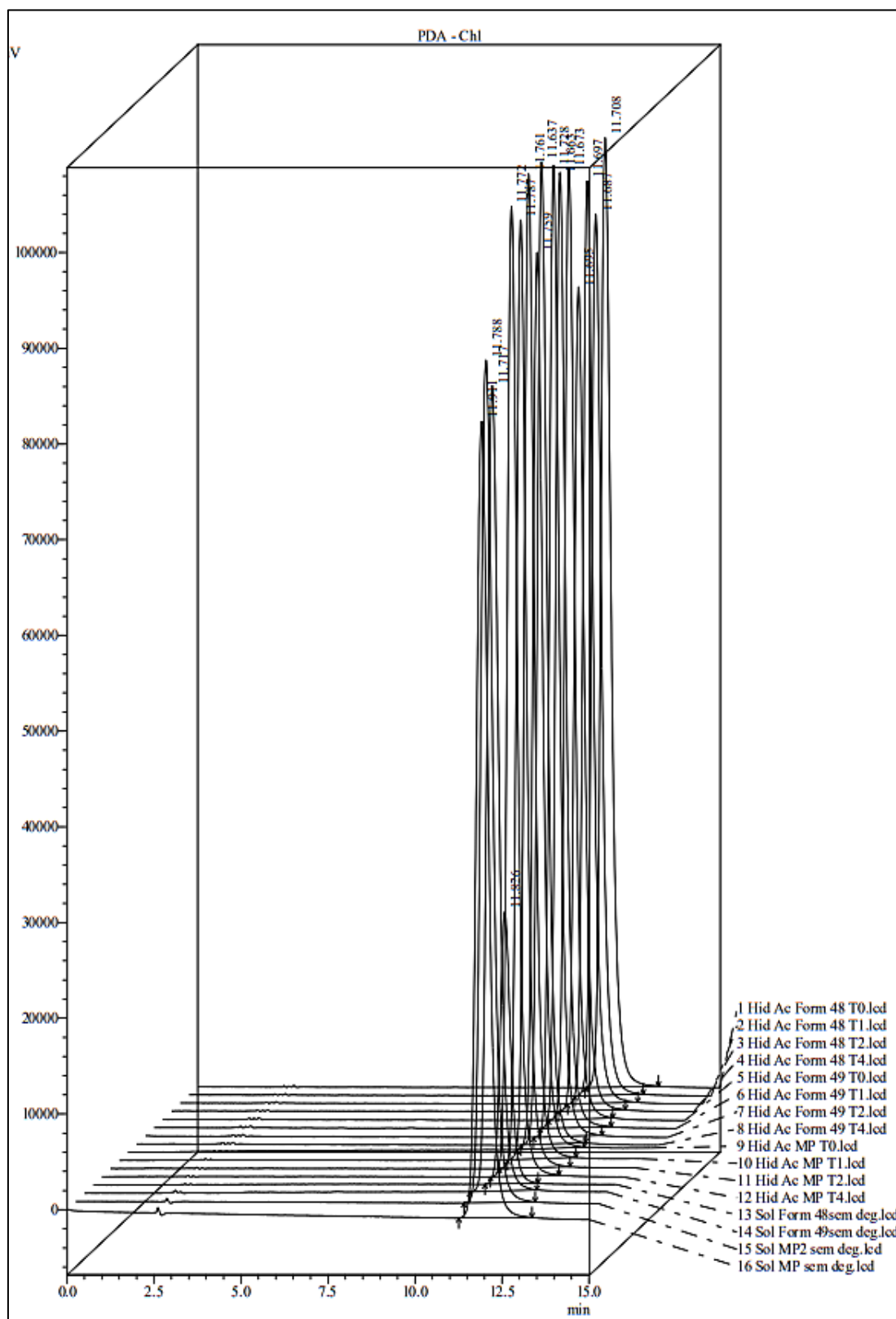
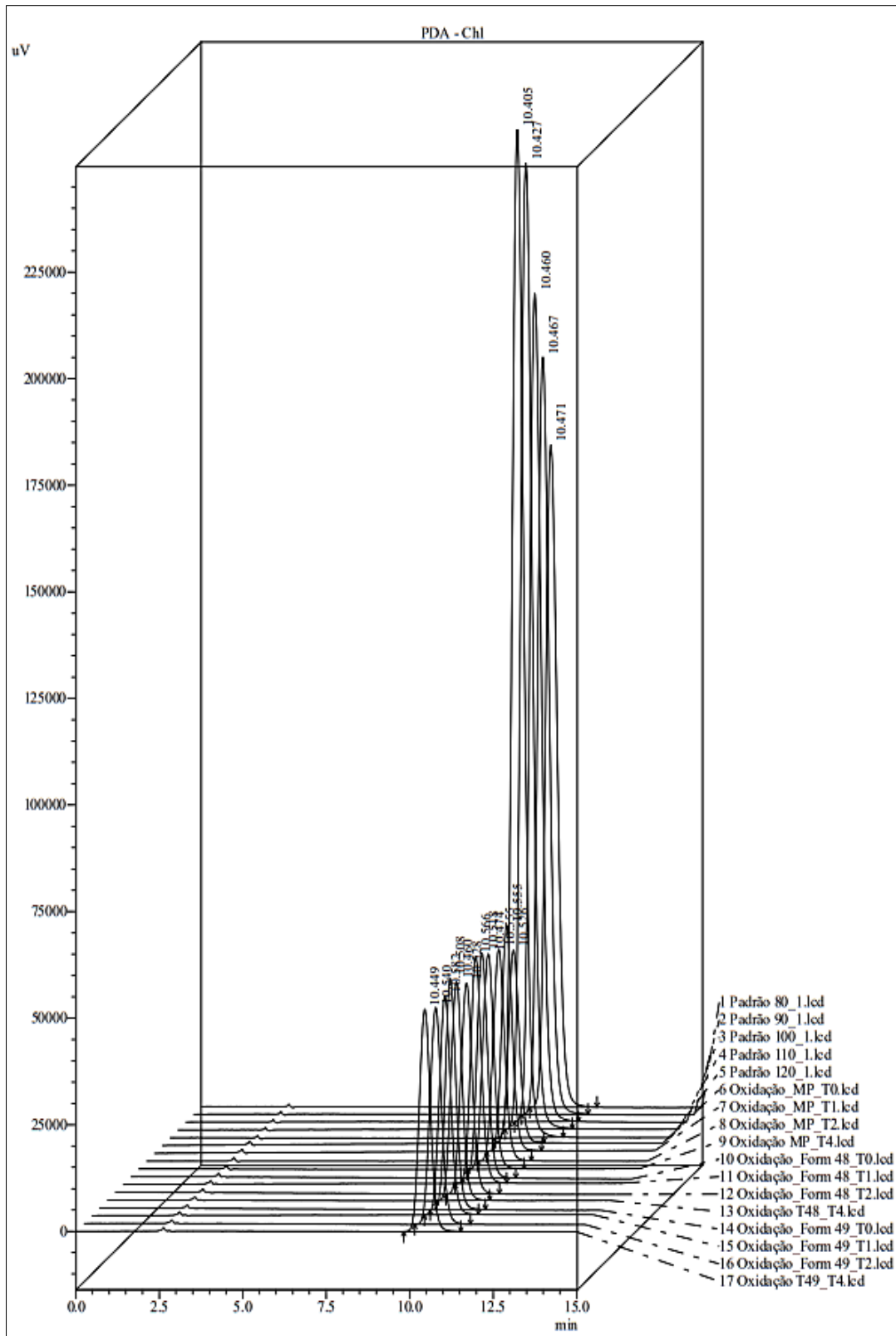




Figura 41- Cromatograma extraído do Software LC Solution, referente às análises de Oxidação, feitas para o estudo de seletividade do meloxicam.



#### 4.4 Linearidade

A curva de calibração do meloxicam apresentou um valor de coeficiente de correlação de 0,9999. Nesse caso, é possível concluir que existe uma correlação linear adequada. O teste de intercepto (coeficiente linear) na Tabela 24, realizado através do t de Student, resultou em um P-valor de 0 significando que rejeitamos a hipótese nula, de o intercepto ser igual a 0, ao nível de significância de 5%. A análise de resíduos resultou em um P-valor de 0,4484, superior a 0,05, o que indica uma distribuição normal dos resíduos. O P-valor 1 indicou que os dados analisados no teste de Cochran são homocedásticos.

Tabela 24: Medida descritiva da qualidade do ajuste

Medidas	Resultados
Desvio Padrão dos Resíduos	0,0023
Graus de Liberdade	13
$R^2$	0,9999
Coefficiente de Correlação	0,999

Figura 42: Diagrama da linearidade extraído do ActionStat Software para Meloxicam com os valores ajustados dos resíduos.

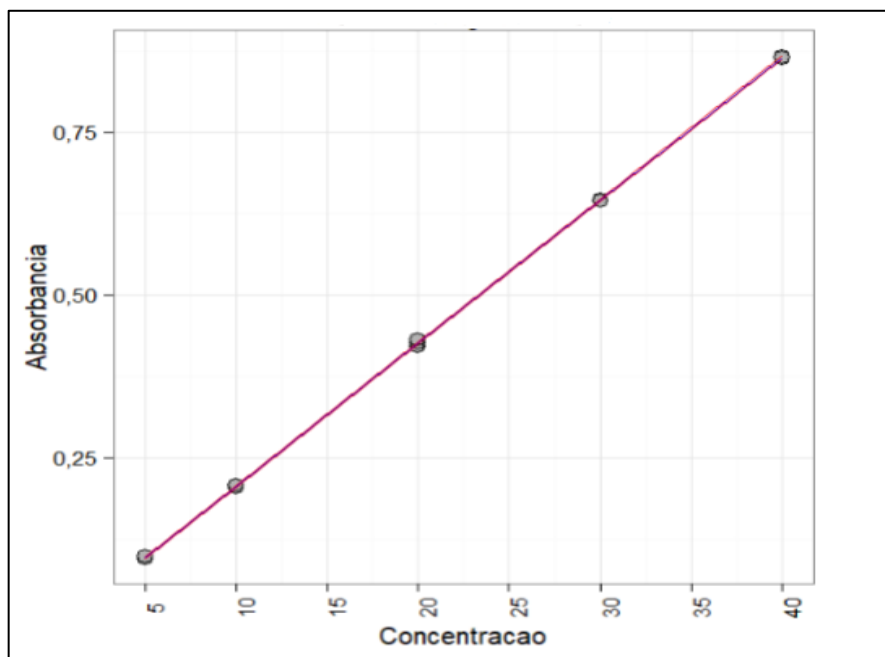


Figura 43 - Diagnóstico de resíduos para o modelo estatístico extraído do ActionStat Software.

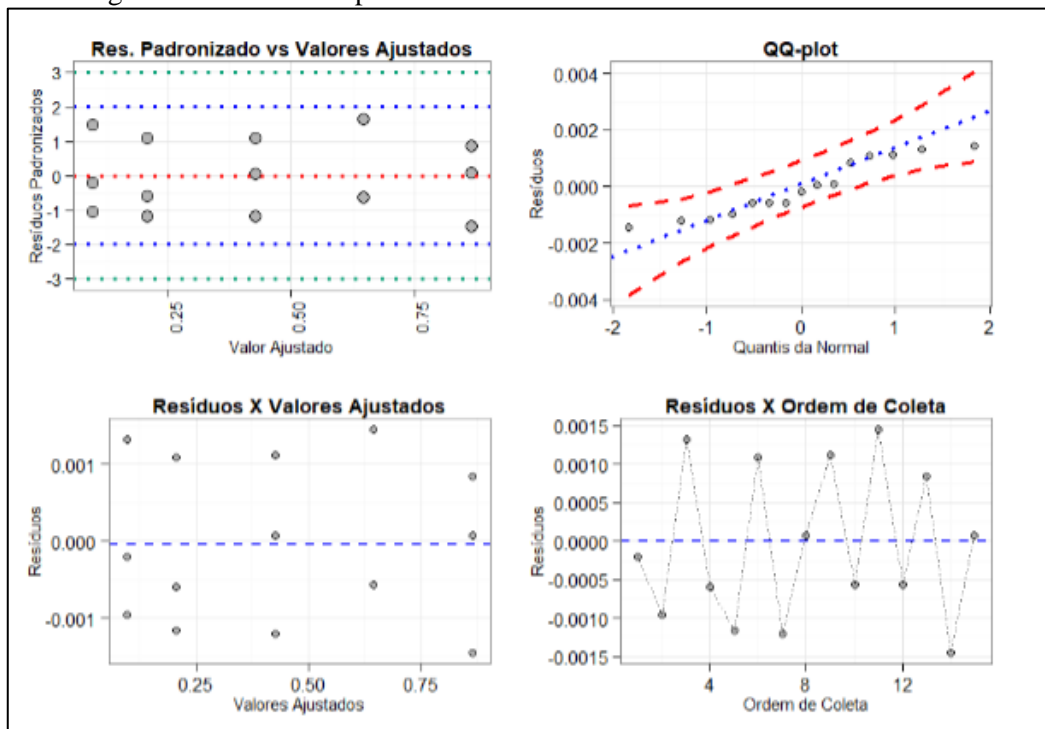


Tabela 25 - Teste de Cochran para avaliar homocedasticidade.

Estatística	Número de Réplicas	P.valor
0,2	3	1

Tabela 26 - Resumo das Conclusões do estudo de Linearidade (Método dos Mínimos Quadrados Ponderados).

Teste	Conclusão
<b>Teste F da ANOVA</b>	Não rejeitamos a significância do modelo linear
<b>Teste do Intercepto</b>	Intercepto significativo
<b>Coefficiente de Correlação de Pearson</b>	$R = 1$ que é maior que o proposto (0,99)
<b>Teste de Normalidade dos Resíduos</b>	Não rejeitamos a hipótese de normalidade dos resíduos
<b>Teste de Homocedasticidade</b>	Não rejeitamos a homocedasticidade da variância
<b>Valores extremos na resposta</b>	Não detectamos pontos extremos
<b>Teste de independência das observações</b>	Detectado dependência das observações

#### 4.5 Precisão

Os dados obtidos através dos experimentos de precisão estão listados na Tabela 27. Os níveis testados foram baixo, médio e alto (80 – 100 - 120), todos em triplicata.

Os valores de DPR obtidos, tanto na Repetibilidade 1, quanto na Repetibilidade 2 e na precisão intermediária, foram menores que 2,0%. O critério de aceitação foi de 5,3%, definido levando em conta a concentração de trabalho do meloxicam e a recomendação da literatura (AOAC, 2016). Dessa forma, os resultados obtidos atenderam ao critério de aceitação, portanto o método pode ser considerado preciso para a quantificação de meloxicam no organogel.

Tabela 27: Tabelas de Repetitividade e precisão intermediária para Meloxicam com desvio padrão (DP).

Concentração (%)	Repetibilidade 1			Repetibilidade 2		
	80	100	120	80	100	120
<b>Concentração teórica (mg/mL)</b>	<b>0.064</b>	<b>0.08</b>	<b>0.096</b>	<b>0.064</b>	<b>0.08</b>	<b>0.096</b>
<b>Concentração real (mg/mL)</b>	0.0649	0.0803	0.0966	0.0644	0.0807	0.0967
	0.0646	0.0797	0.0968	0.0651	0.0794	0.0958
	0.0641	0.0800	0.0963	0.0647	0.0800	0.0967
<b>Média</b>	0.0645	0.0800	0.0966	0.0647	0.0800	0.0964
<b>Desvio Padrão (±)</b>	0.0004	0.0003	0.0002	0.0003	0.0006	0.0005

Concentração (%)	Precisão intermediária		
	80	100	120
<b>Concentração teórica (mg/mL)</b>	<b>0.064</b>	<b>0.08</b>	<b>0.096</b>
<b>Concentração real (mg/mL)</b>	0.0644	0.0807	0.0967
	0.0651	0.0794	0.0958
	0.0647	0.0800	0.0967



	0.0649	0.0803	0.0966
	0.0646	0.0797	0.0968
	0.0641	0.0800	0.0963
<b>Média</b>	0.0646	0.0800	0.0965
<b>Desvio Padrão (±)</b>	0.0003	0.0004	0.0004

#### 4.6 Exatidão

Para o teste de exatidão, o placebo utilizado foi uma mistura dos excipientes que compõem o organogel, sendo eles: lecitina de soja, triglicerídeos de cadeia média, colesterol, miristato de isopropila e Pluronic<sup>®</sup> F-127. Para saber a quantidade de meloxicam que deveria haver na amostra, usou-se como base o valor conhecido de 4 mg em 0,5g de organogel, que corresponde a 0,8% da formulação.

Dessa forma, as amostras foram preparadas levando em consideração que a formulação possui 0,8% de meloxicam e 99,2% de placebo em sua composição. Com isso, foi possível calcular as concentrações nos níveis baixo (0,064 mg/mL), médio (0,08 mg/mL) e alto (0,096 mg/mL) de meloxicam. Os resultados dos cálculos de recuperação estão disponíveis na Tabela 28. O critério de aceitação foi de 90% a 107%, definido levando em conta a concentração de trabalho do meloxicam e a recomendação da literatura (AOAC, 2016). Dessa forma, os resultados obtidos atenderam ao critério de aceitação, portanto o método pode ser considerado exato para a quantificação de meloxicam no organogel.

Tabela 28 - Resultados da avaliação de exatidão do Meloxicam.

<b>Concentração Teórica (mg/mL)</b>	<b>Área (u. a)</b>	<b>Concentração real (mg/mL)</b>	<b>Recuperação + DP (%)</b>
0,064	1645662	0,0659	102,9 ± 0,14
0,08	1963368	0,078	97,5 ± 0,88
0,096	2364266	0,0946	98,62 ± 0,91

#### 4.7 Avaliação do teor de meloxicam nas formulações de organogel

Com o método validado, foi possível avaliar o teor das formulações de organogel. As amostras de formulação e o padrão analítico foram preparados conforme descrito nos itens 3.2.3.1 e 3.2.3.2.

Foram avaliadas amostras de formulação logo após a produção, 10 dias após a produção, 30 dias após a produção. Os resultados desse estudo estão listados na Tabela 29.

Tabela 29: Teor das formulações 48 e 49 a 30 °C do tempo zero até o tempo de 30 dias.

<b>Tempo (Dias)</b>	<b>Amostra</b>	<b>Área</b>		<b>Concentração (%)</b>
		<b>Amostra</b>	<b>Padrão</b>	
0	F48	2157984	2126615	101,5 ± 0,21
	F49	2075497		97,5 ± 0,36
10	F48	2507199	2471244	101,45 ± 0,16
	F49	2443466		98,87 ± 0,66
30	F48	2409061	2426270	99,29 ± 0,5
	F49	2417393		99,63 ± 0,37

## **5 CONCLUSÃO**

Com todas as análises realizadas, mostrou-se possível à obtenção de um método específico, exato, preciso e robusto para as formulações de organogel contendo meloxicam. A extração feita com o diluente mostrou-se bastante eficiente para as duas matrizes, com boa recuperação e bom desempenho utilizando coluna Intertisil ODS 2 C18 5 $\mu$ m, 4,6x250mm, fase móvel tampão fosfato pH 6,0 e metanol, com fluxo de 1 mL/min a 45°C e 361 nm.

## 6 REFERÊNCIAS

ALEIXO, G. A. S. *et al.* Tratamento da dor em pequenos animais: classificação, indicações e vias de administração dos analgésicos (revisão de literatura. *Medicina Veterinária (Ufrpe)*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 29, 5 set. 2017. **Medicina Veterinária (UFRPE)**. <http://dx.doi.org/10.26605/medvet-n1-1596>.

BRASIL. Guia de validação e controle de qualidade analítica. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada nº166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Seção 141. ed. Brasília, DF, 25 jul. 2017. p. 87.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada nº 318, de 6 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. Seção 216. ed. Brasília, DF, 07 nov. 2019. p. 97.

BRITISH PHARMACOPEIA. The Stationary Office: Pharmacopeia Commission British, 2020.

CÉSAR, I.C.; PIANETTI, G. A. Robustness evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using Youden's test. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 45, n. 2, p. 235-240, jun. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-82502009000200007>.

DANIEL, J. S. P. **Eritromicina e claritromicina: pré-formulação, estabilidade e validação analítica**. 2018. 119 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2018.

DOMINGOS, C. R. M. **Validação de um método de HPLC para análise de conteúdo em comprimidos**. 2011. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2011. [https://run.unl.pt/bitstream/10362/19455/1/Silva\\_2016.pdf](https://run.unl.pt/bitstream/10362/19455/1/Silva_2016.pdf).

DRUGBANK. Meloxicam. Canada: Drugbank, 2005. Disponível em: < <https://go.drugbank.com/structures/DB00814/image.svg>, acesso em 10 de julho de 2022.

GUILLOT, M. *et al.* Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. **The Veterinary Journal**, [S.L.], v. 196, n. 3, p. 360-367, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.009>.

HILÁRIO, M. O. E; TERRERI, M. T.; LEN, C. A.. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 82, n. 8, p. 206-212, 6 nov. 2006. <http://dx.doi.org/10.2223/jped.1560>.

LEON, R. M. **Combinação dose fixa de hidroclorotiazida ( 12,5 mg) e valsartana (160 mg): Desenvolvimento de metodologia de dissolução in vitro e in silico para avaliar os perfis de dissolução dos produtos comercializados no Brasil e no Perú**. 2019. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

NAGAI, N.; OGATA, F.; OTAKE, H.; KAWASAKI, N. Oral Administration System Based on Meloxicam Nanocrystals: decreased dose due to high bioavailability attenuates risk of gastrointestinal side effects. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 313, 1 abr. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12040313>.

SAHOO, Nalini Kanta et al. Validation of assay indicating method development of meloxicam in bulk and some of its tablet dosage forms by RP-HPLC. SpringerPlus, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-10, 18 fev. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/2193-1801-3-95>.

SHOORMEIJ, Z.; TAHERI, A.; HOMAYOUNI, A. Preparation and physicochemical characterization of meloxicam orally fast disintegration tablet using its solid dispersion. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 1-9, 5 mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902017000400176>.

USP. **United States Pharmacopeia 44; National Formulary 39**. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, 2021

## **CAPÍTULO IV**

### **PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE ORGANOGEL DE PLURONIC® E LECITINA DE SOJA CONTENDO MELOXICAM**

## RESUMO

O objetivo desse capítulo consiste no desenvolvimento de um método de dissolução para formulações de organogel e utilizá-lo na caracterização do perfil de dissolução de diferentes formulações de organogel obtidas no capítulo II deste trabalho. Para realizar os ensaios de dissolução, foi construído um delineamento experimental fatorial completo ( $2^3$ ), tendo como fatores o porta-amostra (aparato 5 ou copo de suspensão), a velocidade de agitação (50 ou 75 RPM) e as formulações previamente obtidas (F48 e F49). Além do ensaio de dissolução foram feitos também ensaios de solubilidade, a fim de obter o meio mais adequado para o ensaio de dissolução, e teste de filtro, para que fosse possível selecionar o melhor filtro para ser utilizado no ensaio de solubilidade. Com os resultados obtidos nos ensaios de dissolução, foi possível usar o software Statistica® para fazer a análise de variância (ANOVA), teste de Tukey, gráfico de Pareto, e outras análises estatísticas que destacaram a porcentagem dissolvida em 4h como um ponto importante a ser estudado. Usou-se o DDSolver para calcular a eficiência de dissolução (ED) dos perfis obtidos e também para auxiliar na escolha de uma cinética adequada capaz de descrever o comportamento de uma matriz tão complexa quanto o organogel. Por fim, ficou determinado através do tratamento estatístico que o melhor método de dissolução para o organogel seria 500 mL de meio com pH 7,4, aparato 5 como porta-amostra e 75 RPM como velocidade de agitação.

Palavras-chave: Perfil de dissolução, meloxicam, organogel, DDSolver, modelo cinético.



## ABSTRACT

The objective of this chapter is to develop a dissolution method for organogel formulations and use it to characterize the dissolution profile of different formulations. The formulations obtained in Chapter II of this work were evaluated, and for the dissolution tests a complete 23 factorial experimental design was constructed, having as factors the sample holder (apparatus 5 or suspension cup), the stirring speed (50 or 75 RPM) and the formulations previously obtained (F48 and F49). In addition to the dissolution test, solubility tests were also carried out, in order to obtain the most suitable medium for the dissolution test, the filter test was also carried out, so that it was possible to select the best filter to be used in the solubility test. With the results obtained in the dissolution tests, it was possible to use the Statistica® software to perform the analysis of variance (ANOVA), Tukey test, Pareto chart, and other statistical analyzes that highlighted the Q%4h as an important point to be evaluated. The DDSolver was used to calculate the dissolution efficiency (ED) of the profiles obtained and also to assist in choosing an adequate kinetics capable of describing the behavior of a matrix as complex as organogel. Finally, it was determined through the performed analyzes that the best dissolution method for the organogel would be 500 mL of medium with pH 7.4, apparatus 5, 75 RPM.

Keywords: Dissolution profile, meloxicam, organogel, DDSolver, kinetic model.

## 1 INTRODUÇÃO

O meloxicam (MX) é um anti-inflamatório não esteroidal (AINEs) pertencente ao grupo dos ácidos enólicos, utilizado no tratamento de dores crônicas, causadas por doenças reumáticas e osteoartrites ou no tratamento de inflamações agudas, edemas, dores e febre (GUILLOT et al., 2013; PAPICH, 2021). Atua principalmente através da inibição específica das cicloxigenases (COX-1 e COX-2), que tem como consequência redução da conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas.

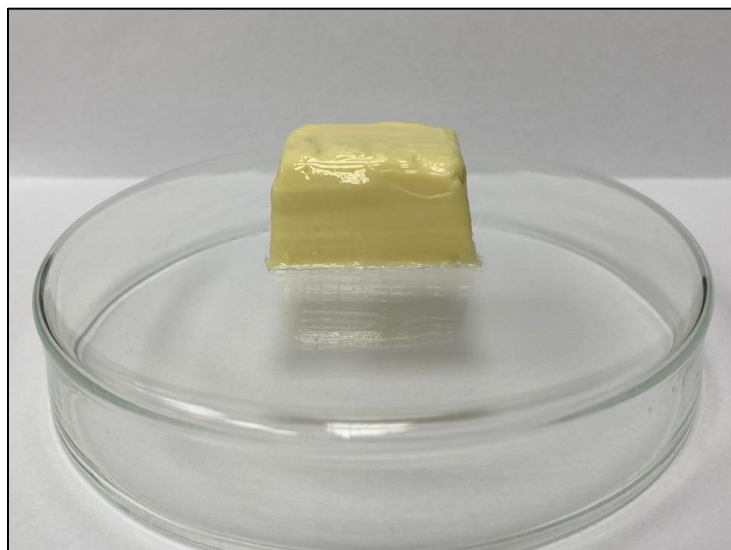
Considerado inibidor parcialmente seletivo da COX-2, causa menos sintomas gastrointestinais como úlceras e sangramento quando comparados a outros fármacos (HAWKEY et al., 1998; GAYNOR, 2015). O meloxicam é também um potente inibidor de tromboxanos, apresentando boa ação antipirética e analgésica. Está comercialmente disponível na forma de comprimido, solução oral e injetável, variando em diferentes doses (ALENCAR et al., 2003; SHOORMEIJ; TAHERI; HOMAYOUNI, 2018).

Quanto ao sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), o MX é um fármaco considerado de classe II, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade, tornando a dissolução uma etapa crucial no desenvolvimento de qualquer formulação contendo meloxicam em sua composição. (JACON, 2014; COPPI; SANMARTI; CLAVO, 2005).

O organogel (Figura 44) é formado por uma matriz tridimensional composta de filamentos que se auto-organizam em uma rede entrelaçada e que, por seu tipo de estrutura, pode ser utilizado com o objetivo de atuar como um implante que se forma *in situ*, sendo capaz de se comportar como uma forma farmacêutica de liberação prolongada. (KUMAR; KATARE, 2005, KEMPE, MÄDER, 2012).

Esse tipo de forma farmacêutica tem como vantagens a diminuição do número de doses diárias a ser aplicada, a queda no índice de interrupção do tratamento, consequentemente levando a uma redução na ocorrência de picos plasmáticos, já que a liberação do fármaco contido na matriz é lenta e constante (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007). No entanto, sua cinética de liberação pode requerer modelos mais complexos, visto que a liberação depende de fatores como tamanho, composição, exposição, solubilidade e integridade da matriz utilizada, assim como o tipo de método de dissolução desenvolvido (DÜRIG; FASSIHI, 2002, PEPPAS; SAHLIN, 1989).

Figura 44 – Matriz tridimensional de organogel contendo meloxicam.



## **2 OBJETIVO**

O objetivo desse capítulo consiste no desenvolvimento de um método de dissolução para formulações de organogel e utilizá-lo na caracterização do perfil de dissolução de diferentes formulações.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Fármaco**

Meloxicam (MX) L050000403.

#### **3.2 Excipientes**

Os excipientes utilizados nas formulações foram: lecitina de soja (SL) 0000936 (IMCOPA, Brasil), miristato de isopropila (IPM) 133442 (SYNTH, Brasil), Pluronic® F-127 - Poloxamer 407 WPCI547B - (BASF, Alemanha), Triglicerídeos de ácido caprílico (CAT) 455219 (Engenharia das essências, Brasil), Colesterol (CH) CH072021 (CRODA™, Reino Unido).

#### **3.3 Reagentes**

Para o ensaio de solubilidade foram empregados reagentes de grau analítico, fosfato de potássio monobásico, hidróxido de sódio, ácido clorídrico P.A. e ácido acético glacial. Para o preparo do meio de dissolução foram utilizados cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato de sódio dibásico anidro e fosfato de potássio monobásico. Todos estes reagentes são provenientes da Labsynth Produtos para laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil.

Para a fase móvel foram empregados os reagentes descritos no item de material e métodos do Capítulo III, item 3.1 Materiais.

#### **3.4 Método**

##### **3.4.1 Produção das formulações de organogéis**

Foram preparadas duas formulações diferentes com o objetivo de obter um método de dissolução com potencial discriminatório. Os componentes das formulações disponíveis na Tabela 30 foram pesados em balança analítica AUW220D (Shimadzu, Kyoto, Japão) e

misturados no Ultra-turrax (IKA® Brasil, São Paulo, Brasil). Todo o processo de preparo das formulações está listado no capítulo II, item 3.4.1.

Tabela 30 - Formulações de organogéis para o desenvolvimento do método de dissolução in vitro.

	<b>F48</b>	<b>F49</b>
<b>Pluronic(R) F-127</b>	69,1	58,7
<b>Miristato de Isopropila</b>	10	10
<b>Lecitina</b>	10	20
<b>TCM</b>	10	10
<b>Meloxicam</b>	0,8	0,8
<b>Colesterol</b>	0,1	0,5

\*Quantidades em porcentagem

#### 3.4.2 Teor das formulações de organogel

O teor foi quantificado por método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) descrito no Capítulo III no item 7.7. O conteúdo do meloxicam foi expresso em mg e como porcentagem.

#### 3.4.3 Solubilidade do meloxicam

A solubilidade do meloxicam foi obtida pelo método do equilíbrio, e a quantificação do fármaco foi realizada por espectroscopia UV-Vis, realizando-se previamente a linearidade e teste de filtros.

#### 3.4.4 Linearidade

Para a construção da linearidade do meloxicam, assim como para a obtenção da varredura para este composto, foram feitas soluções mães com concentração de 50 µg/ml, em

triplicata, por meio da adição de 0,005 g de meloxicam, pesados em balança analítica AUW220D (Shimadzu, Kyoto, Japão), a balões de 100 mL, o diluente utilizado foi tampão fosfato pH 7,4.

A partir das soluções-mãe, foram obtidas soluções padrão com concentrações de 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18 µg/ml. Por meio de uma destas soluções, foi feita a varredura no espectrofotômetro (ThermoFisher SCIENTIFIC, Massachusetts, USA). Assim, todas as soluções foram lidas no comprimento de onda determinado e, por meio do valor das absorvâncias obtidas, foi construída a curva-padrão para o meloxicam. Para todas as leituras foi utilizada uma cubeta de quartzo de 10 mm.

#### 3.4.5 Teste de Filtro

Para o teste de filtro, foram obtidas soluções-padrão, em triplicata, de 6 µg/mL, 12 µg/mL e 16 µg/mL, da mesma forma descrita no item 3.4.3.1, e foram feitas 4 leituras para cada amostra no espectrofotômetro, uma sem passar pelo filtro, e as outras com o filtro saturado com 0 mL, 2 mL e 4 mL da própria solução.

Com os dados de absorvância obtidos, foi calculada a concentração em cada leitura, e a porcentagem de recuperação, admitindo-se a concentração da amostra que não filtrada como 100%. A partir das porcentagens de recuperação, foi construído um gráfico de barras, e com o auxílio do Minitab® 18 (LLC, Pensilvânia, Estados Unidos), foi feito o teste de análise de variância (ANOVA), e teste de Tukey.

#### 3.4.6 Ensaio de solubilidade

A solubilidade foi obtida por meio do método do equilíbrio, ou *shake-flask*, sendo assim, o ensaio foi realizado com as seguintes soluções: água ultrapura, HCl 0,1M, tampão acetato de sódio pH 4,5, tampão fosfato pH 6,8 e tampão fosfato pH 7,4 preparados conforme farmacopeia americana (USP 40).

Neste método, 20 mL das soluções foram transferidos para frascos “schott” e saturadas com o meloxicam, sendo submetidas à agitação de 150 rpm 37 °C +/- 2 °C por 72 horas em incubadora orbital TE – 420 (Tecnal, Piracicaba, Brasil). Todas as amostras foram feitas em triplicata. Seguidamente, foram coletadas amostras de cada frasco, com o auxílio de um filtro

de cânula saturado conforme os resultados do teste de filtro. Para quantificação do meloxicam foi empregada espectroscopia UV-Vis em equipamento Evolution 201 (ThermoFisher SCIENTIFIC, Massachusetts, USA), no comprimento de onda de 361 nm.

#### 3.4.7 Desenvolvimento do método de dissolução

Cada ensaio foi realizado em triplicata, utilizando o aparato 5 (pá sobre disco) (Figura 45) da Farmacopéia Americana (USP 39 NF 34) e o copo de suspensão (Figura 46), em equipamento de dissolução Agilent Technologies 708 DS (Agilent Technologies, Santa Clara, United States), em cubas com 500 mL de meio de dissolução tampão PBS (phosphate buffered saline) pH 7,4 a 37 °C de temperatura. As coletas foram realizadas com amostrador automático VK 8000 - Dissolution sampling station (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, Estados Unidos) nos tempos 0,5, 1, 2, 4, 6, 18 e 24 h e as amostras foram filtradas com membrana PVDF de 25 mm e 45µm. A quantificação do fármaco dissolvido foi realizada segundo o item 3.4.2.

Para a realização desse teste, 3 gramas de formulação foram pesados em cada porta-amostra (aparato 5 e copo de suspensão) antes de ser submetida ao ensaio de dissolução. Com as porcentagens dissolvidas de cada uma das alíquotas de amostra, foram construídos os perfis de dissolução do meloxicam, a partir desses perfis foram calculadas a porcentagem dissolvida (Q%) em 0,5, 1, 2, 4, 18 e 24h e a eficiência de dissolução (ED), com auxílio do suplemento do Excel® chamando DDsolver.

Figura 45 - Aparato 5 pá sobre disco USP, o disco composto por um suporte de vidro semelhante a um vidro de relógio e uma rede, ambos do mesmo tamanho.

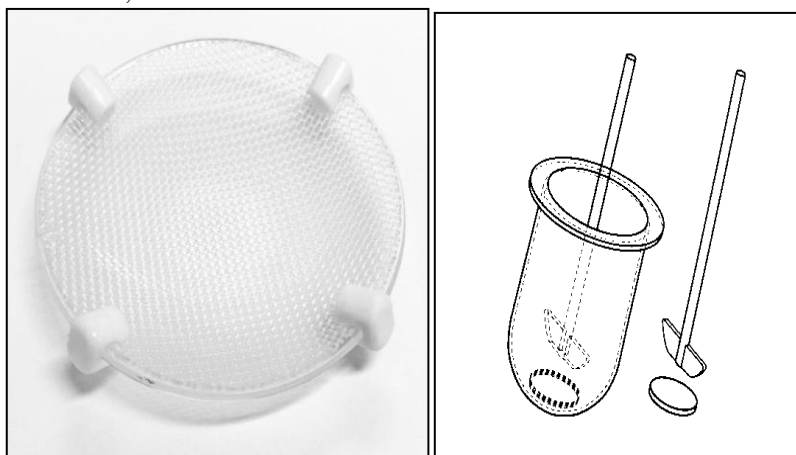
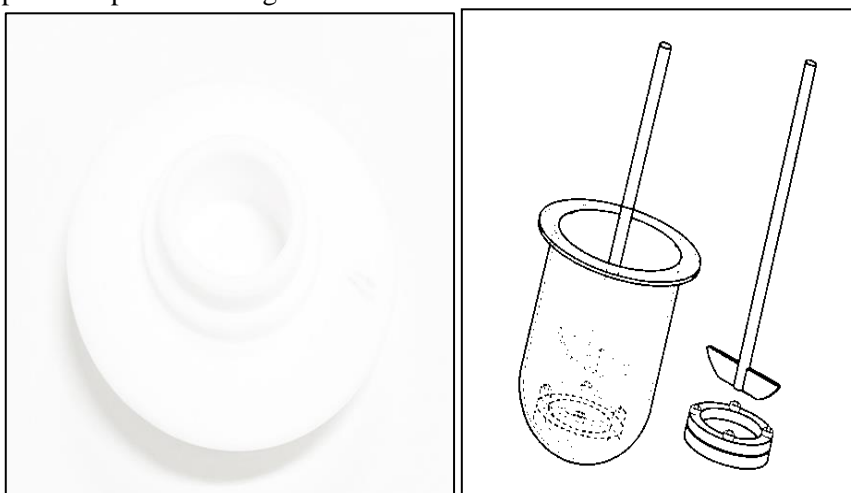




Figura 46 - Copo de suspensão e weight holder.



### 3.4.7.1 Delineamento experimental para o desenvolvimento do método de dissolução

Foi elaborado um delineamento experimental do tipo fatorial completo  $2^3$  para o desenvolvimento do método de dissolução utilizando como ferramenta o software Statistica® 18.0 (Statsoft Inc, Tulsa, Estados Unidos), foram definidos três fatores: velocidade de rotação, formulações e o porta-amostra, em dois níveis cada um (Tabela 31), sendo gerados oito ensaios apresentados na Tabela 32.

Tabela 31- Fatores e níveis do delineamento experimental para o desenvolvimento do método de dissolução in vitro.

Fatores	Níveis	
	Inferior	Superior
Velocidade de rotação	50	75
Formulações	48	49
Porta-amostra	Aparato 5	Copo de Suspensão

Tabela 32 - Matriz do delineamento Fatorial Completo  $2^3$ , três fatores e dois níveis.

<b>Experimento</b>	<b>RPM</b>	<b>Formulações</b>	<b>Porta-amostra</b>
1	50	48	Aparato 5
2	50	49	Copo de Suspensão
3	75	48	Aparato 5
4	50	48	Copo de Suspensão
5	50	49	Aparato 5
6	75	48	Copo de Suspensão
7	75	49	Aparato 5
8	75	49	Copo de Suspensão

#### 3.4.7.2 Análise do delineamento experimental

Para avaliar as respostas obtidas foi utilizado o software Statistica® 13 (Statsoft Inc, Tulsa, Estados Unidos). Como variáveis dependentes foram utilizadas a eficiências de dissolução (ED) e a porcentagem dissolvida em 4 horas. A ED foi calculada utilizando o suplemento do Excel® - DDsolver (ZHANG et al., 2010).

#### 3.4.7.3 Comparação entre os perfis de dissolução

Com o objetivo de comparar os mecanismos de liberação do fármaco em ambas as formulações, a cinética de dissolução foi avaliada em relação a diferentes modelos empregando as equações descritas na Tabela 33, como auxílio do suplemento do Excel® - DDsolver (ZHANG et al., 2010).

Tabela 33 - Equações utilizadas para o cálculo da cinética de dissolução.

<b>Modelo</b>	<b>Equação</b>
---------------	----------------

<b>Peppas-Sahlin</b>	$F = k_1 \cdot T^m + k_2 \cdot t^{(2 \cdot m)}$
<b>Gompertz</b>	$F = F_{\max} \cdot \text{Exp}\{-a \cdot \text{Exp}[-\beta \cdot \log(T)]\}$
<b>Weibull</b>	$F = 100 \cdot \{1 - \text{Exp}[-(t/\alpha)^\beta]\}$

---

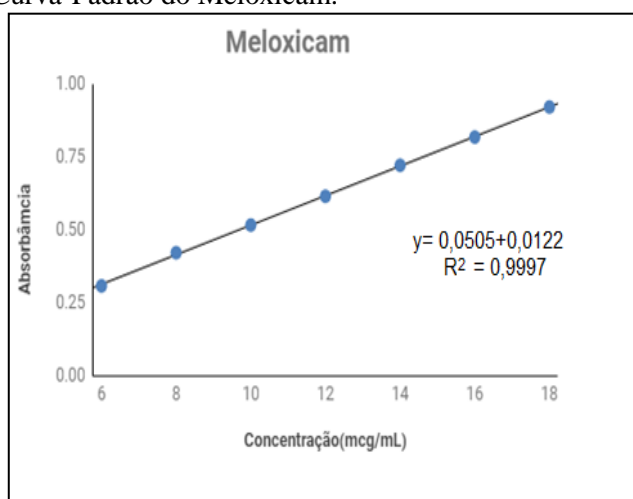
F= quantidade dissolvida no tempo t, k1= constante de liberação relacionada à lei de Fick, m= é o expoente difusional aplicada a qualquer forma geométrica que iniba a liberação controlada, α= fator de escala referente à constante de taxa aparente; β = forma parâmetro que caracteriza a curva como exponencial (b = 1), parabólica (b < 1) ou sigmóide (b > 1), k2= constante de relaxamento, T= tempo lag, t= tempo em horas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Linearidade

A partir dos resultados obtidos nas leituras das amostras, foi construída a linearidade que relaciona a concentração de meloxicam com a sua absorvância no comprimento de 361nm (comprimento de onda escolhido após a análise da varredura). Na Figura 47 é apresentada a curva analítica e a respectiva equação da reta.

Figura 47 - Gráfico da Curva-Padrão do Meloxicam.



### 4.2 Teste de filtro

Os resultados obtidos no teste de filtro estão expressos na Tabela 34 abaixo e a partir deles foi construído o gráfico expresso na Figura 48.

Tabela 34- Resultados do teste de filtro expressos em Porcentagem de Recuperação.

Saturação	Recuperação								
	6 mcg/mL			12 mcg/mL			16 mcg/mL		
	Mãe A	Mãe B	Mãe C	Mãe A	Mãe B	Mãe C	Mãe A	Mãe B	Mãe C
<b>0 mL</b>	96.5	95.4	96.5	101.8	98.6	99.0	97.4	97.6	97.6
<b>2 mL</b>	105.0	100.0	99.6	101.3	102.0	100.6	99.8	100.5	100.0

4 mL    99.5    99.2    100.4    100.5    100.0    99.6    99.8    99.8    99.3

Com o auxílio de Minitab® 18 (LLC, Pensilvania, Estados Unidos), foi realizada a ANOVA, um Valor-P de 0,079, ou seja, maior que 0,05. Assim, não se pode descartar a hipótese nula, indicando que todas as médias são iguais. Foram obtidos os Gráficos de Resíduo expressos na Figura 49.

Figura 48 - Teste de Filtro do Meloxicam

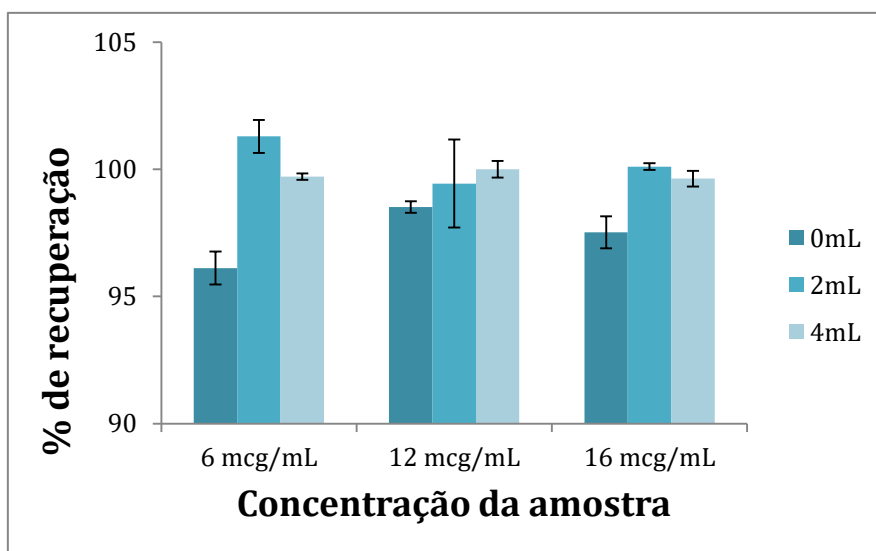
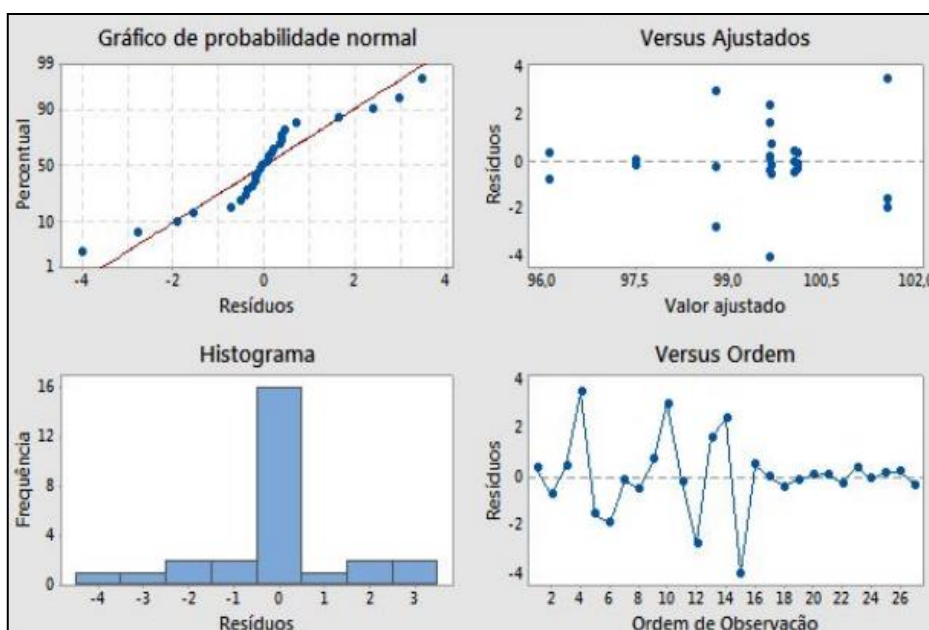


Figura 49 - Gráfico de Resíduos para o teste de filtro do Meloxicam.



Como analisado nos gráficos de Valor ajustado e de Ordem de Observação, não se verifica nenhuma tendência ou padrão na distribuição dos pontos, demonstrando uma aleatoriedade. Já o gráfico de probabilidade normal e o histograma dos resíduos indicam a distribuição normal dos dados, seja pela proximidade dos pontos a linha vermelha no gráfico de probabilidade normal e pela maior barra do histograma estar localizada em zero.

Por último, os resultados do teste de Tukey estão expressos na Tabela 35.

Tabela 35 - Resultados do Teste de Tukey.

<b>Comparações Emparelhadas de Tukey</b>			
<b>Descarte</b>	<b>Nº de Amostras</b>	<b>Média</b>	<b>Agrupamento</b>
6 µg 2/des	3	101,54	A
16 µg 2/des	3	100,089	A B
12 µg 4/des	3	100,040	A B
6 µg 4/des	3	99,675	A B
16 µg 4/des	3	99,650	A B
12 µg 2/des	3	99,64	A B
12 µg 0/des	3	98,78	A B
16 µg 0/des	3	97,506	A B
6 µg 0/des	3	96,120	B

Embora a análise de variância não tenha indicado nenhuma diferença estatística entre os resultados, a partir da análise de Tukey, pode-se perceber que há diferença estatística considerável entre as amostras coletadas com saturação de 0 mL e de 2 mL na concentração de 6 mcg/mL, assim, pode-se concluir que deve-se saturar o filtro com 2 mL antes de realizar as coletas de Meloxicam para que não haja interferência do filtro com os resultados.

### **4.3 Solubilidade**

Foi realizado o ensaio de solubilidade e com os resultados obtidos, foi construído um gráfico, expresso na imagem abaixo (figura 50). Com os valores de solubilidade obtidos, foi

calculada a quantidade de princípio ativo que é possível se dissolver em 500 mL de meio para se identificar quais meios que atingem a condição sink, que para o organogel de meloxicam, é de 72 mg. A amostra de organogel utilizada no ensaio de dissolução contém 24 mg de meloxicam. Estes resultados estão expressos na Tabela 36.

Figura 50 - Comparativo da solubilidade do Meloxicam em diferentes meios.

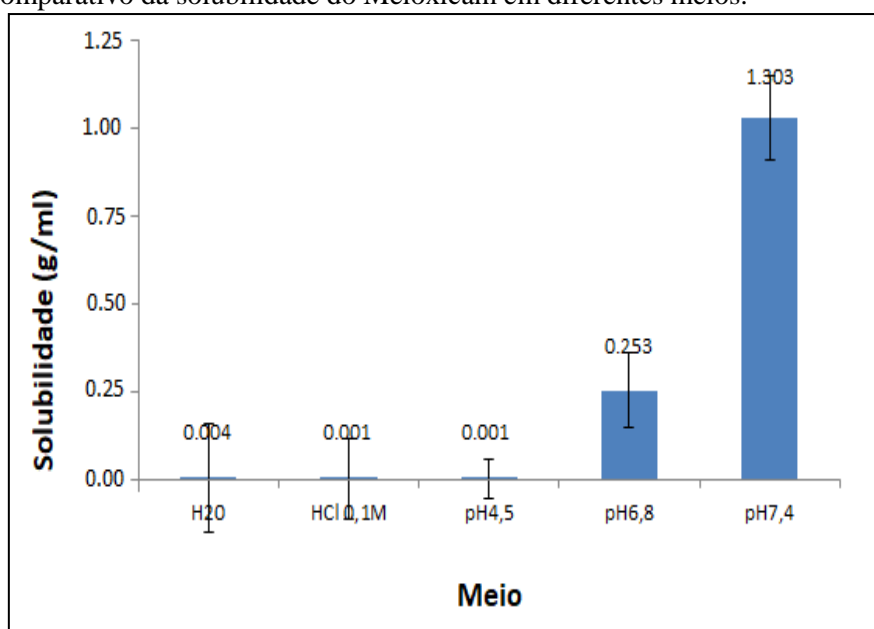


Tabela 36 - Análise da condição sink diversos meios

Meio	mg de fármaco	Condição sink
Água	2.1	Não Atinge
HCl 0,1M	0.3	Não Atinge
pH4,5	0.6	Não Atinge
pH6,8	126.5	Atinge
pH7,4	517.3	Atinge

A partir dos resultados da solubilidade, dois meios atingiram a condição, sendo eles tampão fosfato pH 6,8 e pH 7,4 este último apresentou uma solubilidade maior além de ser o pH de valor mais próximo ao líquido presente no interstício, razão pela qual foi escolhido para continuar com o desenvolvimento da metodologia de dissolução.

#### 4.4 Análise do delineamento experimental

Em seguida, com auxílio do delineamento experimental, foi possível avaliar o perfil de dissolução das formulações 48 e 49, assim como seu comportamento diante de diferentes agitações e porta-amostra. Os resultados de porcentagem dissolvida obtidos em cada ensaio estão listados na tabela 37.

Tabela 37 - Resultados de porcentagem dissolvida para os 8 ensaios de dissolução contidos no delineamento experimental.

Tempo (h)	EXPERIMENTOS – % Dissolvida							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0.5	14.6	2.7	19.4	1.9	11.65	2.0	18.35	2.2
1	36.5	2.9	35.15	3.5	30.2	4.1	30.45	2.66
2	42.5	3.3	47.95	5.45	32.3	5.25	42.9	4.65
4	51.8	5.1	52.4	6.05	49.6	5.75	46.25	19.5
6	54.1	20.1	54.6	41.7	53.3	48.2	50.2	30.7
18	57.1	40.1	56.65	52.4	54.65	52.7	54.35	32.25
24	63.8	47.6	66.75	59.3	56.75	61.7	59.95	40.05

A partir das porcentagens dissolvidas foram calculadas as eficiências de dissolução (ED) e esses dados junto com a porcentagem dissolvida no tempo de 4 horas (Q%4) foram utilizados como resposta (tabela 38) para análise do DOE.

Tabela 38 - Delineamento experimental com os resultados de porcentagem dissolvida (Q%) em 4 horas e eficiência de dissolução (ED).

Corrida	RPM	Formulação	Porta-amostra	ED	Q%4h
1	50	48	Aparato 5	53.6	58.1
2	50	49	Copo Suspensão	27.6	5.1
3	75	48	Aparato 5	54.4	52.4
4	50	48	Copo Suspensão	40.2	6.1
5	50	49	Aparato 5	50.5	49.6
6	75	48	Copo Suspensão	42.5	5.8



7	75	49	Aparato 5	50.4	46.3
8	75	49	Copo Suspensão	28.1	19.5

Na Tabela 39 são apresentados os resultados de ANOVA para a resposta ED.

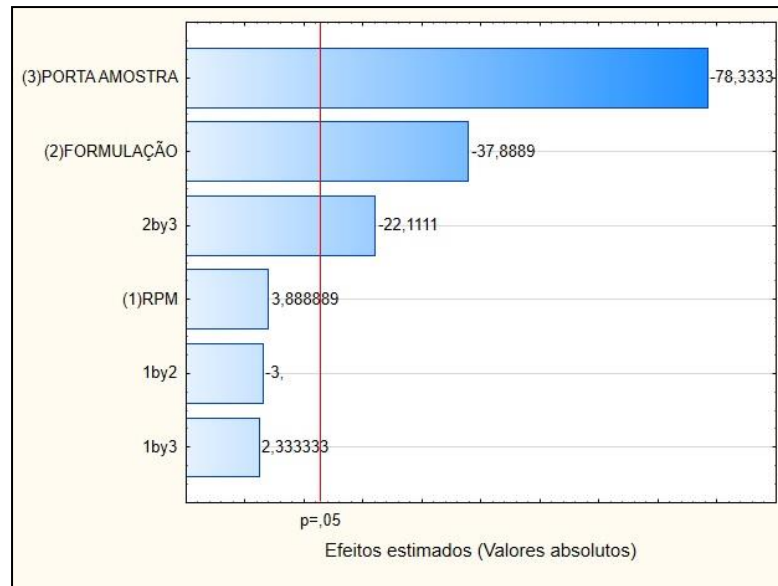
Tabela 39: Análise de variância (ANOVA) para avaliação do ED.

<b>Fator</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
RPM	1.5312	1	1.5312	15.123	0.160231
Formulação	145.3513	1	145.3513	1435.568	0.016798
Porta-amostra	621.2813	1	621.2813	6136.111	0.008127
1 by 2	0.9113	1	0.9113	9	0.204833
1 by 3	0.5512	1	0.5512	5.444	0.257762
2 by 3	49.5012	1	49.5012	488.901	.028772
Error	0.1013	1	0.1013		
Total SS	819.2288	7			

Na figura 51, apresenta-se o diagrama de Pareto, que permite a visualização da influência das variáveis independentes frente a ED no processo de desenvolvimento do método de dissolução.

Nos resultados determinou-se que existem duas variáveis que apresentam uma influência significativa, ordenando-as segundo seu impacto essas variáveis foram o porta-amostra e a formulação, já que o p-valor que apresentaram foi  $<0,05$  (0,016798; 0,008127 respectivamente), também indicado pelas maiores barras no gráfico de Pareto. Estes resultados foram verificados nos perfis dos ensaios de dissolução onde se mostrou uma diferença significativa entre os porta-amostras, independente da velocidade de agitação empregada nos ensaios, e como as formulações tinham uma variação na sua composição também foi um fator que precisou ser avaliado com cuidado e no momento de execução dos ensaios se corroborou sua influência no desenvolvimento do método de dissolução, influencia que pode ser observada nos perfis de liberação.

Figura 51- Gráfico de Pareto obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos das variáveis independentes em relação ao ED no desenvolvimento do método de dissolução para organogel.



Na figura 52, se apresenta o diagrama de Resíduos, que mostra a variação natural dos dados analisados, é avaliado através da diferença entre os valores observados e os valores preditos. Nos resultados foi observado que os resíduos se encontram muito próximos da reta, indicando que estamos frente a uma relação linear e os dados analisados (variáveis dependentes) em relação ao ED são considerados de distribuição normal.

Figura 52 - Gráfico de resíduos obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos dos resíduos em relação ao ED.

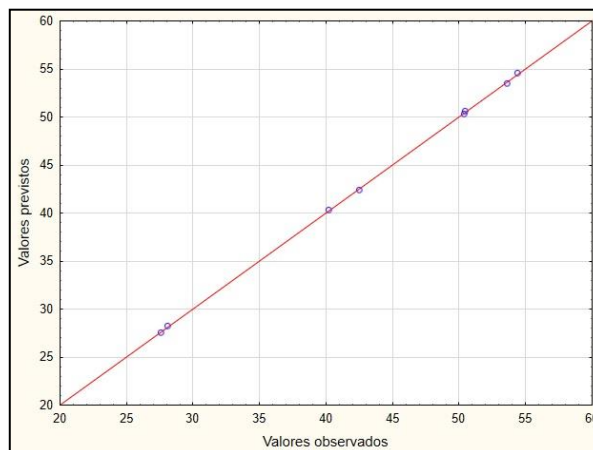


Figura 53 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes velocidades de rotação e formulações.

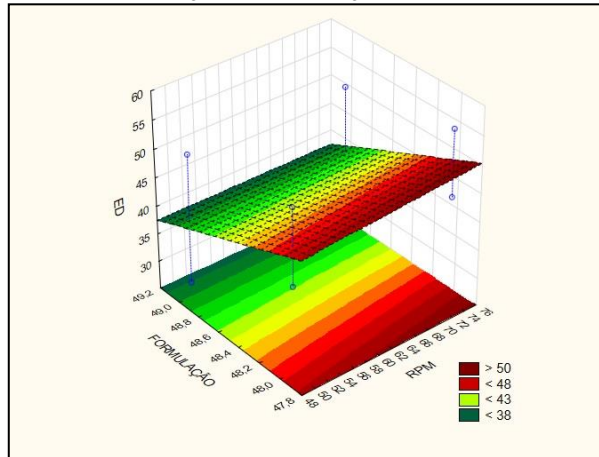


Figura 54 - Gráfico de superfície de resposta obtido através do software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes rotações e porta-amostras.

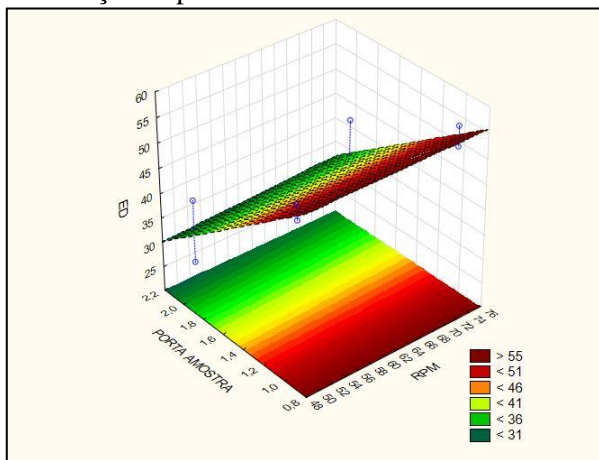
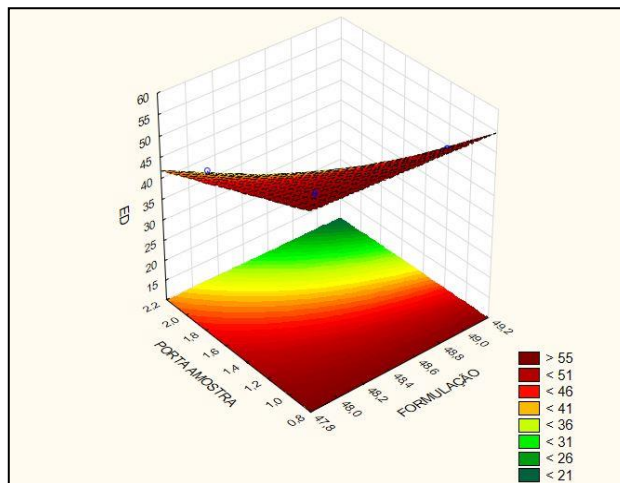


Figura 55 - Gráfico de superfície resposta obtido através do software Statistica® 13, para avaliar a ED em função das diferentes rotações e porta-amostras.



Nas figuras 53, 54 e 55, são apresentados os gráficos de superfície de resposta, que consiste em fixar uma variável dependente relacionando-a com duas variáveis independentes observando a interação entre elas, serve para nos mostrar as condições ideais na execução de um ensaio.

Na figura 53 avaliou-se a ED através das variáveis RPM e formulação, onde foi possível observar que a formulação 48 tem uma maior ED indiferentemente das rotações empregadas no ensaio.

A figura 54 mostra a avaliação da ED a traves das variáveis RPM e porta-amostra, onde se conseguiu observar que ao utilizar como porta-amostra o aparato 5 indiferente das rotações empregadas, uma maior ED será obtida, o que indica que o fármaco nessas condições alcançou uma maior porcentagem de liberação em comparação ao copo de suspensão.

Na figura 55 avaliou-se a ED através das variáveis formulação e porta-amostra, onde se observou que a diferença significativa se estabelece entre os porta-amostra, já que nas duas formulações testadas o uso do aparato 5 demonstrou uma maior liberação quando comparado ao copo de suspensão. Todas estas condições foram corroboradas nos ensaios de dissolução.

Após avaliação da ED, avaliou-se o Q%4h. Os resultados da avaliação estatística obtidos estão listados a seguir, na tabela 40.

Tabela 40 - Análise de variância (ANOVA) para avaliação do Q%4h.

<b>Fator</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
RPM	3.251	1	3.251	0.1719	0.749771
Formulação	0.451	1	0.451	0.024	0.902432
Porta-amostra	3,608.2510	1	3,608.2510	190.7992	0.046008
1 by 2	36.551	1	36.551	1.9328	0.396971
1 by 3	66.701	1	66.701	3.5271	0.311487
2 by 3	93.161	1	93.161	4.9262	0.269488
Error	18.911	1	18.911		
Total SS	3,827.2790	7			

Na figura 56, se apresenta o diagrama de Pareto, que permite avaliar o impacto das variáveis independentes em relação ao Q%4h.

Nos resultados determinou-se que uma única variável (porta-amostra) apresenta uma influência significativa, o p-valor que apresentou foi  $>0,05$  (0,046008) estes resultados foram verificados ao realizar a quantificação das 4h nos ensaios de dissolução onde se mostrou uma diferença significativa entre os porta-amostras indiferente das velocidades de agitação e as formulações usadas nos ensaios.

Na figura 57, se apresenta o diagrama de resíduos em relação ao Q%4 este diagrama consiste em uma linha reta onde os resíduos precisam estar alinhados nela para determinar sua distribuição normal.

Nos resultados foi observada uma distribuição normal já que os resíduos se encontram muito próximos da reta por tanto se pode dizer que o modelo foi bem ajustado para os ensaios de dissolução que foram feitos.

Na Figura 58 avaliou-se a Q%4 através das variáveis RPM e formulação, onde se conseguiu observar que a formulação 48 às 4h de ensaio apresentou maior liberação com 50 RPM, na formulação 49 houve uma diferença nas 4h de ensaio, conseguindo liberar mais com 75 RPM.

A Figura 59 mostra a avaliação da Q%4h através das variáveis RPM e porta-amostra, se observou que em Q%4h a velocidade de rotação adotada é indiferente, enquanto o porta-amostra apresentou uma visível diferença na porcentagem de liberação nas 4h, já que o aparato 5 tem uma superfície de contato maior, o que explicaria essa diferença de liberação em relação ao copo de suspensão.

Figura 56 - Gráfico de Pareto obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos das variáveis independentes frente a variável dependente Q%4 no desenvolvimento de um método de dissolução para organogel.

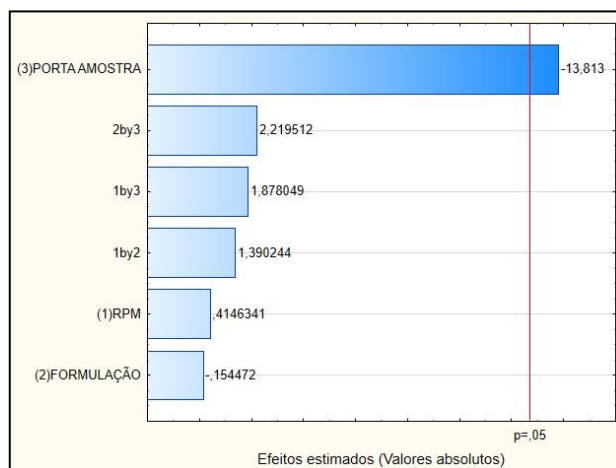


Figura 57 - Gráfico de resíduos obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar os efeitos dos resíduos em relação ao Q%4h.

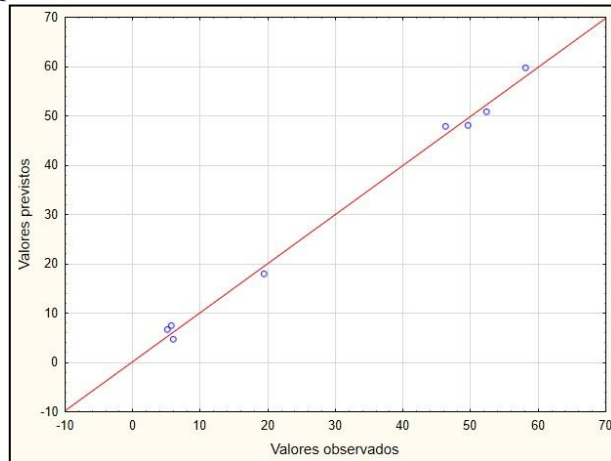


Figura 58 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4h em função das diferentes rotações e formulações.

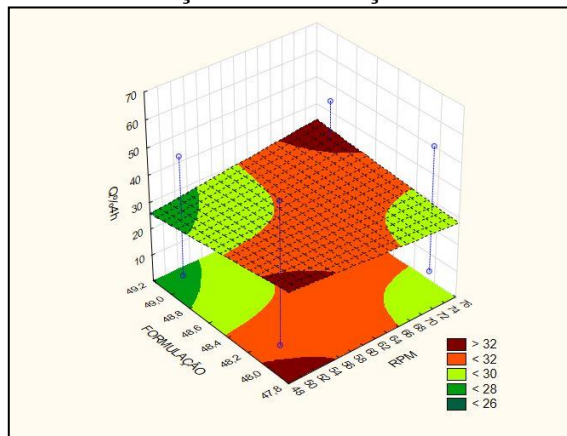


Figura 59 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4 em função das diferentes rotações e porta-amostras.

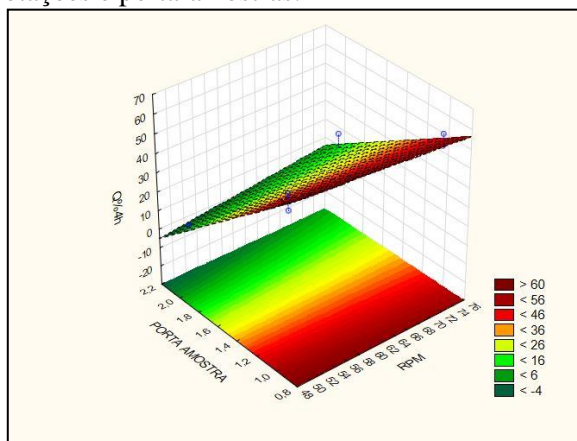
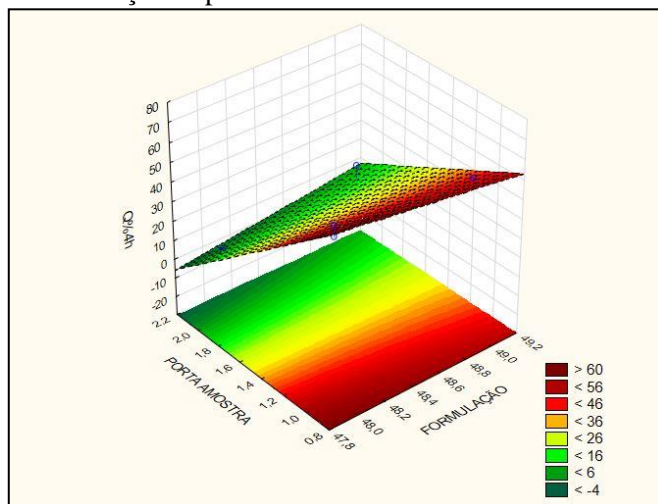


Figura 60 - Gráfico de superfície de resposta obtido pelo software Statistica® 13, para avaliar o Q%4 em função das diferentes formulações e porta-amostras.



Na Figura 60 avaliou-se a Q%4h através das variáveis formulação e porta-amostra, onde se observou que ambas as formulações apresentaram um mesmo comportamento quando foram avaliadas frente ao porta-amostras, ambas nas 4h de ensaio conseguiram liberar mais quando utilizado o aparato 5.

Nas figuras 62, 63, 64, 66, 67 e 68 são apresentados os perfis de dissolução dos ensaios realizados.

Quando comparados aos resultados estatísticos, é possível notar uma influência da formulação nos perfis obtidos, mas há também uma influência direta do porta-amostra no perfil final de dissolução. Em se tratando da formulação, a F48 apresenta uma tendência a liberar mais rapidamente seu conteúdo em menos tempo quando em comparação a F49, tal comportamento pode estar associado à composição da F48, que apresenta uma maior quantidade de polímero em sua formulação, assim como uma menor quantidade de lecitina e colesterol, levando a crer que essa diferença de aproximadamente 10% a menos na quantidade de polímero e lecitina possa ter contribuído para a liberação mais expressiva de seu conteúdo de meloxicam.

Entretanto, um parâmetro que se mostrou determinante foi à escolha do porta-amostra. A literatura indica que a forma com a qual a matriz de organogel é exposta ao meio de dissolução é de extrema importância, pois é capaz de alterar drasticamente o perfil de liberação do fármaco nele contido (ZHANG; FASSIHI, 2020). Quanto maior a área de

contato da amostra com o meio, mais rapidamente seu conteúdo será liberado, tal comportamento fica evidente ao comparar a liberação de um porta-amostra ao outro.

O aparato 5, também denominado pá sobre disco, apresenta uma área superficial de amostra maior (figura 61), o que facilita a exposição ao meio de dissolução e leva a uma liberação um pouco mais rápida no início. O perfil de liberação para F48 e F49, utilizando o aparato 5 como porta-amostra, podem ser vistos nas figura 62 e 63. Como esperado, quando comparadas, a formulação 48 apresenta uma melhor liberação inicial.

Figura 61: Aparato 5 contendo formulação de organogel.

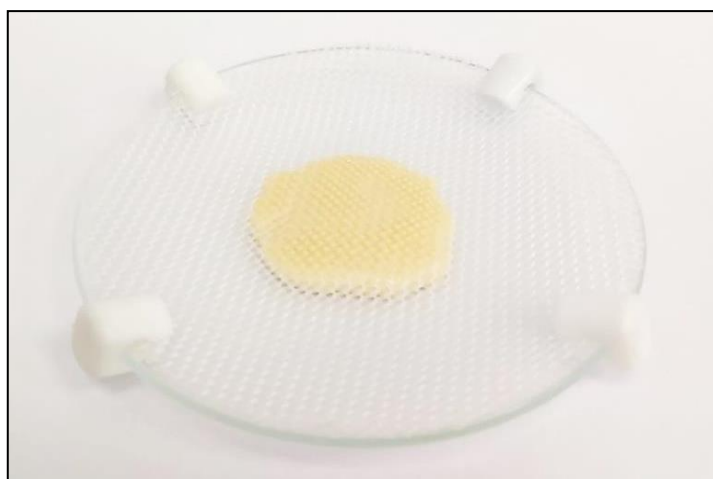


Figura 62 - Perfis de dissolução da formulação 48 utilizando aparato 5 a 50 e 75 RPM.

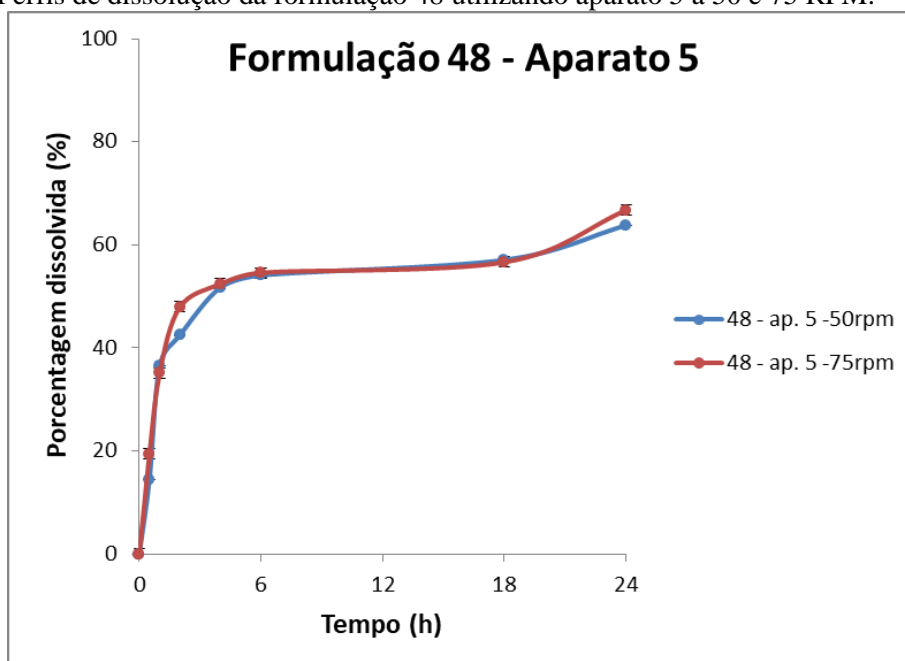




Figura 63 - Perfis de dissolução da formulação 49 utilizando aparato 5 a 50 e 75 RPM.

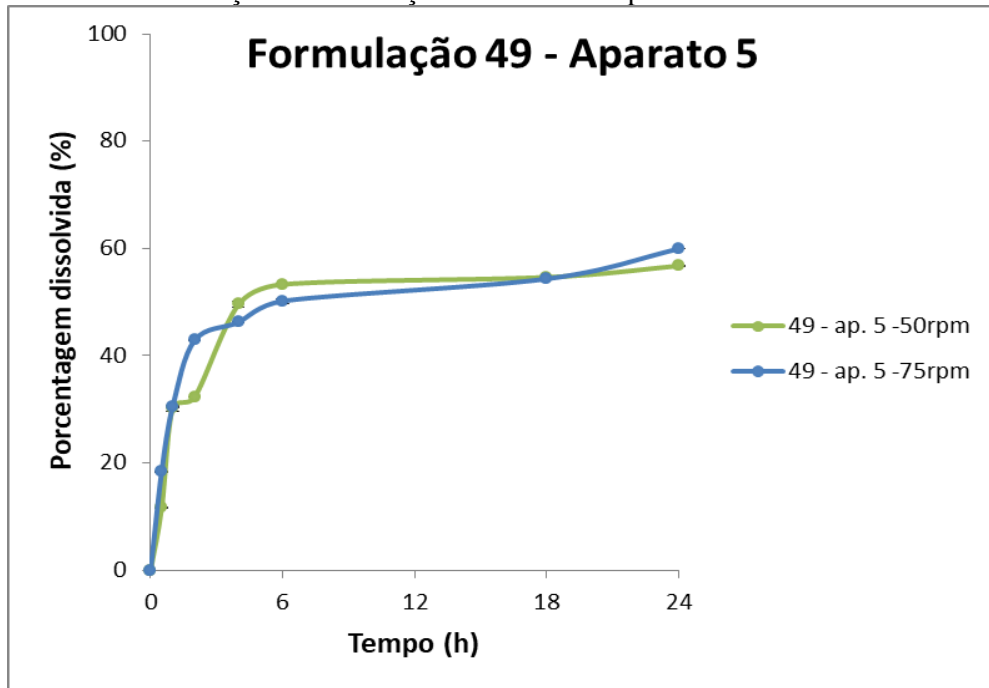
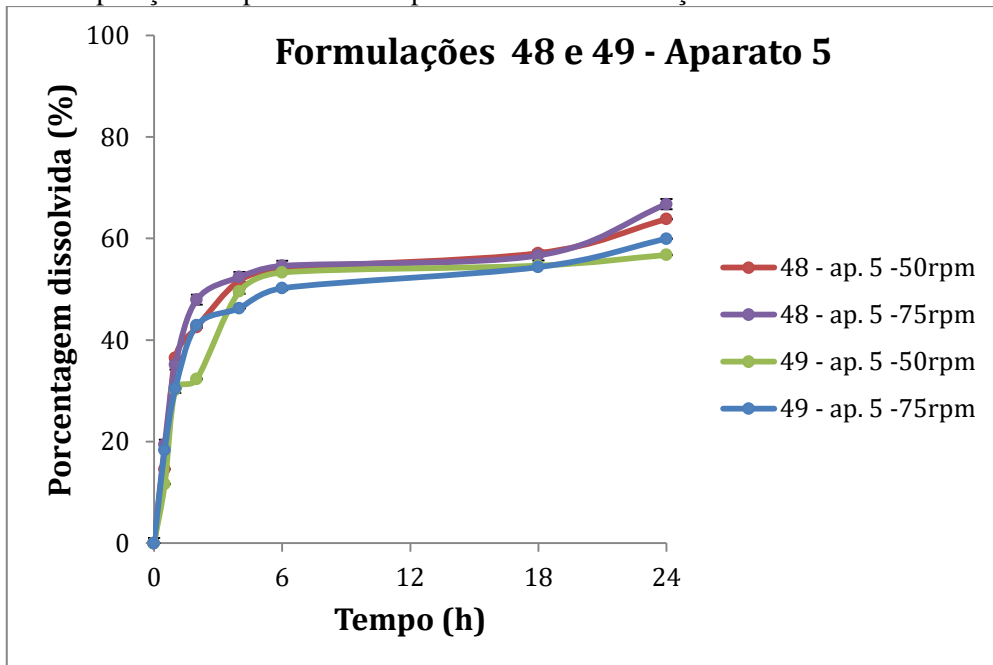


Figura 64 - Comparação dos perfis obtidos para ambas as formulações em 50 e 75 RPM.



Já o copo de suspensão, possui uma menor área superficial livre de amostra em contato com o meio (20 x 8.2mm) (Figura 65), além de um formato diferente quando comparada ao aparato 5, o que faz com que, mesmo tendo praticamente o mesmo peso, os perfis sejam tão

diferentes entre si em relação a velocidade de liberação. Os perfis de dissolução obtidos com o copo de suspensão podem ser visto nas figuras x e x, como observado anteriormente, a F48 foi capaz de liberar pouco mais de seu conteúdo quando comparada a F49, uma comparação entre as duas formulações pode ser vista na figura x.

Figura 65 - Copo para suspensão contendo formulação de organogel.



Figura 66 - Perfis de dissolução da formulação 48 utilizando copo para suspensão a 50 e 75 RPM

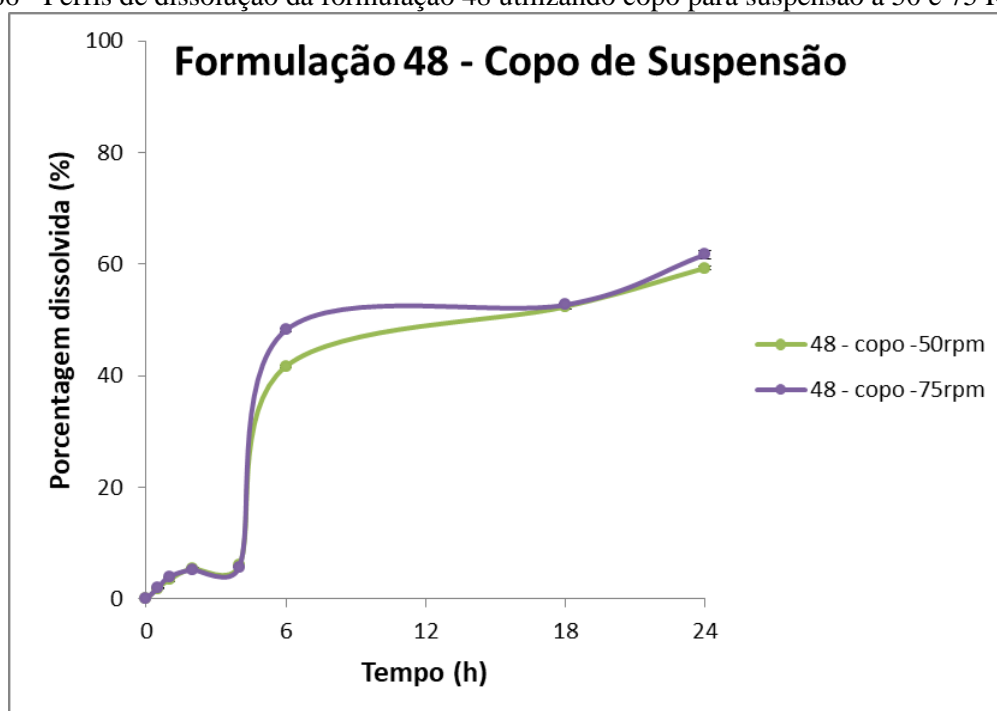


Figura 67- Perfis de dissolução da formulação 49 utilizando copo para suspensão a 50 e 75 RPM

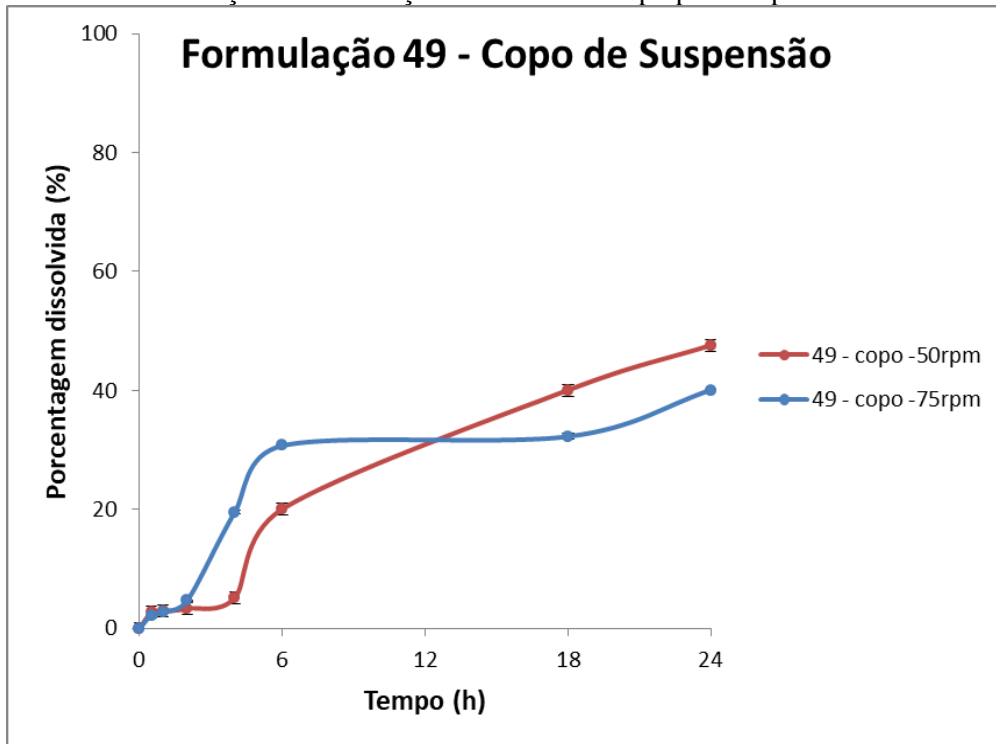
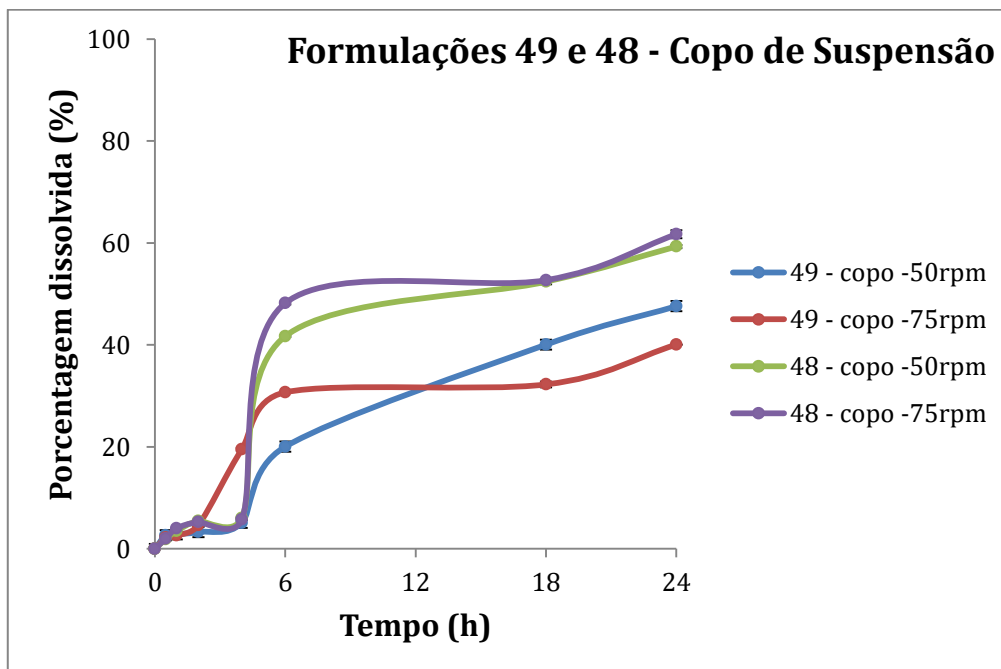


Figura 68 - Comparação dos perfis obtidos para ambas as formulações em 50 e 75 RPM.



A partir dessa avaliação e com base na análise estatística, entende-se que o método de dissolução adequado para as formulações de organogel é utilizando o aparato 5, 75 RPM, 500 mL de tampão PBS pH 7,4

#### 4.4.1 Comparação entre os perfis de dissolução

Dessa forma para a avaliação da cinética de dissolução foram considerados os perfis de dissolução das formulações 48 e 49 nessas condições. Para isso foram utilizados três diferentes modelos previamente listados (Tabela X, item 3.4.4.3). Os resultados obtidos estão listados na Tabela 41.

Para compreender melhor qual modelo é capaz de explicar a cinética de dissolução do fármaco a partir do organogel, são utilizados alguns parâmetros, entre eles estão o Coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{adj}$ ), os critérios de avaliação Akaike (AIC) e de seleção do modelo (MSC) (ISSA et al., 2022).

Tabela 41 - Valores de  $R^2$ , Akaike e MSC referentes aos diferentes modelos matemáticos, calculados para o estudo liberação in vitro a partir da formulação 48 e 49.

<b>Peppas-Sahlin</b>	<b>48 - ap. 5 -75rpm</b>	<b>49 - ap. 5 -75rpm</b>
Rsqr_adj	0.9571	0.9696
AIC	36.4983	32.9424
MSC	1.9423	2.3118
<b>Gompertz</b>	<b>48 - ap. 5 -75rpm</b>	<b>49 - ap. 5 -75rpm</b>
Rsqr_adj	0.9861	0.9959
AIC	28.5924	18.8535
MSC	3.0717	4.3244
<b>Weibull</b>	<b>48 - ap. 5 -75rpm</b>	<b>49 - ap. 5 -75rpm</b>
Rsqr_adj	0.9771	0.9688
AIC	32.1049	33.1280
MSC	2.5699	2.2852

Com base nos dados obtidos, é possível dizer que Gompertz é o modelo que melhor se aplica a formulação, já que apresenta um melhor  $R^2_{adj}$ , menor número de Akaike e maior resultado de seleção do modelo. Entretanto, essas cinéticas se aplicam até as 18 h de ensaio,

que correspondem a porcentagem de fármaco dissolvidos de até 60%. De acordo com a literatura para formas farmacêuticas onde não há uma forma geométrica definida a cinética deve ser avaliada até esse limite (DASH et al., 2010). Esse modelo descreve uma liberação mais intensa no início do ensaio, que pode estar relacionada á difusão do fármaco presente na superfície da formulação próxima ao meio de dissolução, seguido de uma liberação mais lenta relacionada à composição do polímero (ZHANG, FASSIHI, 2020; DASH et al., 2010).

Até às 18 horas de ensaio é possível notar um comportamento padrão nos ensaios de dissolução, onde a formulação apresentando um período de estabilidade para só então passar a liberar mais do fármaco. Isso pode ocorrer graças ao fenômeno denominado relaxamento. O relaxamento polimérico consiste em como os materiais viscoelásticos, especialmente os materiais poliméricos, aliviam a tensão sob stress constante. Os materiais viscoelásticos se comportam de maneira não linear e não-hookeano. A não linearidade desses materiais é indicada pelo relaxamento da tensão e também por outro fenômeno conhecido como fluência viscoelástica, que descreve como a deformação de um material viscoelástico muda sob tensão constante (WANG; WANG, 2019).

Pode-se supor, com base nos resultados obtidos nos perfil de dissolução, que o polímero contido no organogel passa primeiro por uma fase de relaxamento, que se estende até aproximadamente 18 horas no ensaio de dissolução e então é seguido por uma fase de erosão, onde ocorre uma maior liberação do fármaco contido na matriz (PIRONI, 2019).

Entretanto só seria possível avaliar com a realização de um experimento onde fosse possível obter 100% do fármaco dissolvido.

Tabela 42 - Porcentagem dissolvida para a formulação 48, aparato 5, 75 RPM, utilizando o modelo cinético de ordem zero no DDsolver.

<b>Tempo (H)</b>	<b>F48 - ap. 5 75 rpm</b>	<b>F49 - ap. 5 75 rpm</b>
<b>0.5</b>	19.4	18.35
<b>1</b>	35.15	30.45
<b>2</b>	47.95	42.9
<b>4</b>	52.4	46.25
<b>6</b>	54.6	50.2
<b>18</b>	56.65	54.35
<b>24</b>	66.75	59.95

<b>30</b>	76.85	65.55
<b>36</b>	86.95	71.15
<b>42</b>	97.05	76.75
<b>48</b>	-	82.35
<b>54</b>	-	87.95
<b>60</b>	-	93.55
<b>66</b>	-	99.15

Com a obtenção desses dados, novos perfis foram traçados. O Perfil da formulação 49 utilizando aparato 5 a 75 RPM (Figura 69) demonstrou a necessidade de um ensaio de aproximadamente 66 horas para atingir aproximadamente 100% de liberação, enquanto a formulação 48 (Figura 70), 42 horas.

Figura 69 - Perfil de dissolução para Formulação 49, aparato 5, 75 RPM, traçado utilizando os dados obtidos com o DDSolver.

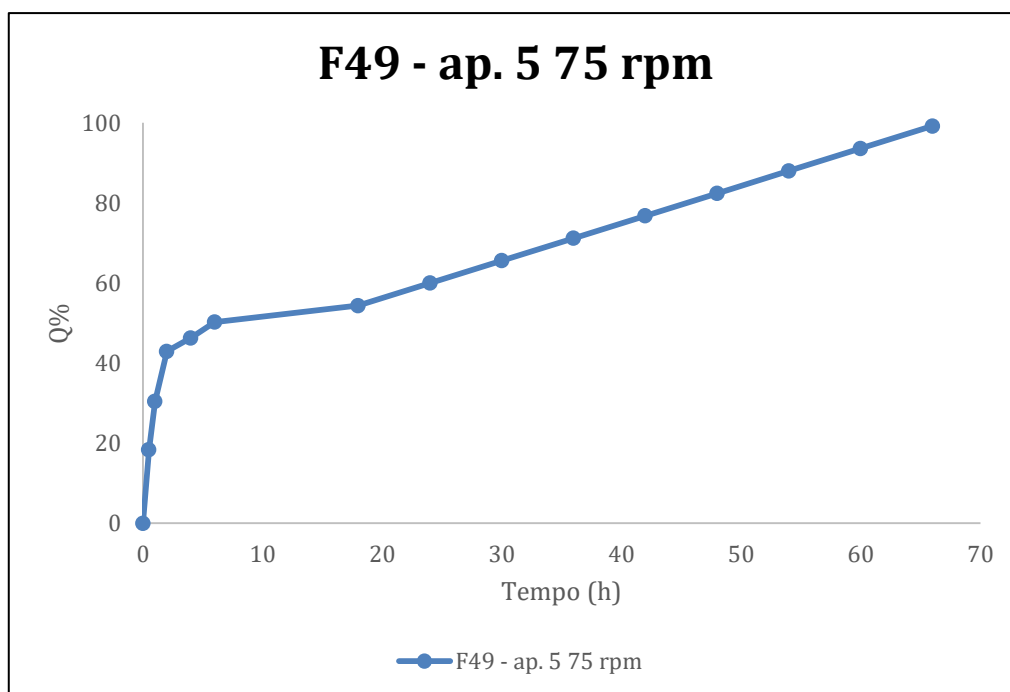
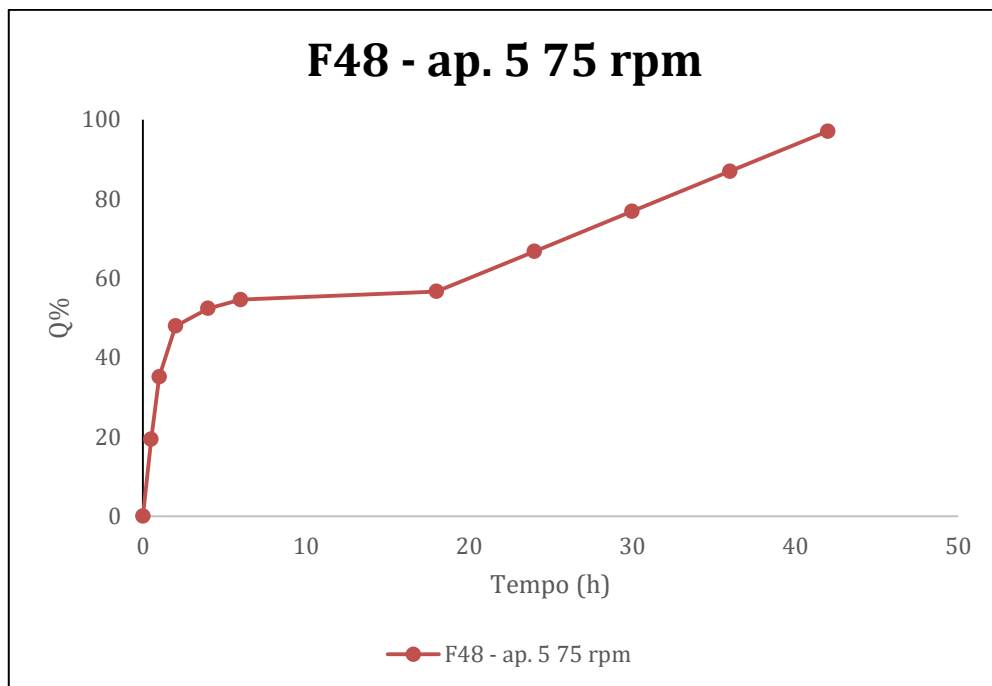


Figura 70 - Perfil de dissolução para Formulação 48, aparato 5, 75 RPM, traçado utilizando os dados obtidos com o DDSolver.



## 5 CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver um método de dissolução para as formulações de organogel com o auxílio do delineamento experimental. Com o uso do DDSolver foi possível também estabelecer um modelo cinético para as primeiras 18 horas de ensaio, onde observou-se um fenômeno comum em polímeros, que é o relaxamento seguido de erosão, levando a liberação do fármaco. No geral, com todos os dados analisados, pode-se dizer que a principal influência na liberação está no porta-amostras, seguido então da formulação e por último a velocidade de agitação.

Dessa forma, propõem-se que um método adequado para o ensaio de dissolução do organogel de meloxicam seja realizado utilizando aparato 5, com velocidade de agitação de 75 rpm, 500 mL de meio, sendo ele o tampão PBS pH 7,4 a 37 °C.



## 6 REFERÊNCIAS

ALENCAR, M. M. A. *et al.* Margem de segurança do meloxicam em cães: efeitos deletérios nas células sanguíneas e trato gastrointestinal. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 525-532, jun. 2003. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782003000300021>.

DASH, S. *et al.* Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. **Acta Pol Pharm** ., [s. l], v. 3, n. 67, p. 217-223, maio 2010.

DÜRIG, T.; FASSIHI, R. Guar-based monolithic matrix systems: effect of ionizable and non-ionizable substances and excipients on gel dynamics and release kinetics. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 80, n. 1-3, p. 45-56, abr. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-3659\(01\)00546-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-3659(01)00546-6).

GAYNOR, J. S. (ed.). Handbook of Veterinary Pain Management. **Elsevier**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 1-532, 2015. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/c2010-0-67083-0>.

GUILLOT, M. *et al.* Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. **The Veterinary Journal**, [S.L.], v. 196, n. 3, p. 360-367, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.009>.

HAWKEY, C. *et al.* Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenac in osteoarthritis patients. International MELISSA Study Group. Meloxicam Large-scale International Study Safety Assessment [published erratum appears in Br J Rheumatol 1998 Oct;37(10): 1142]. **Rheumatology**, [S.L.], v. 37, n. 9, p. 937-945, 1 set. 1998. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/37.9.937>.

ISSA, M. G. *et al.* Development of Extended-Release Mini-Tablets Containing Metoprolol Supported by Design of Experiments and Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 892, 19 abr. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14050892>.

JACON, J. T. **Ocorrência de polimorfismo em matérias-primas de famotidina e meloxicam e avaliação de sua influência na qualidade físico-química de fármacos e medicamentos.** 2014. 93 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2014.

KEMPE, S.; MÄDER, K. In situ forming implants — an attractive formulation principle for parenteral depot formulations. **Journal Of Controlled Release**, [S.L.], v. 161, n. 2, p. 668-679, jul. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.04.016>.

KUMAR, R.; KATARE, O. P. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: a review. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 298-310, jun. 2005. DOI: 10.1208/pt060240. <https://doi.org/10.1208/pt060240>.

PAPICH, M. G. Papich Handbook of Veterinary Drugs. **Elsevier**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-1026, 2021. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/c2018-0-04649-6>.

PEPPAS, N. A.; SAHLIN, J. J. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 57, n. 2, p. 169-172, dez. 1989. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173\(89\)90306-2](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5173(89)90306-2).

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, Humberto Gomes. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 1-10, dez. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322007000400002>.

RAZA, K. Polymorphism: the phenomenon affecting the performance of drugs. **Soj Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], p. 1-10, dez. 2014. Symbiosis Group. <http://dx.doi.org/10.15226/2374-6866/1/2/00111>.

SHOORMEIJ, Z.; TAHERI, A.; HOMAYOUNI, A. Preparation and physicochemical characterization of meloxicam orally fast disintegration tablet using its solid dispersion. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 1-9, 5 mar. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902017000400176>.

WANG, M.; WANG, C.. Bulk Properties of Biomaterials and Testing Techniques. **Encyclopedia Of Biomedical Engineering**, [S.L.], p. 53-64, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.99861-1>.

ZHANG, Q.; FASSIHI, R. Release rate determination from in situ gel forming PLGA implant: a novel "shape-controlled basket in tube" method. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 72, n. 8, p. 1038-1048, 27 abr. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/jphp.13277>.

ZHANG, Y. *et al.* DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **The Aaps Journal**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 263-271, 6 abr. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1208/s12248-010-9185-1>.

## **ANEXOS**



Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
FICHA DO ALUNO

---

9139 - 11022162/1 - Mariana Soares Alves de Souza

Email: mari.soares@usp.br  
Data de Nascimento: 06/04/1993  
Cédula de Identidade: RG - 39.499.959-9 - SP  
Local de Nascimento: Estado do Rio de Janeiro  
Nacionalidade: Brasileira  
Graduação: Farmacêutica - Universidade Anhembi Morumbi - São Paulo - Brasil - 2019

---

Curso: Mestrado  
Programa: Fármaco e Medicamentos  
Área: Produção e Controle Farmacêuticos  
Data de Matrícula: 23/07/2019  
Início da Contagem de Prazo: 23/07/2019  
Data Limite para o Depósito: 22/07/2022  
Orientador: Prof(a). Dr(a). Humberto Gomes Ferraz - 23/07/2019 até o presente. Email: sferraz@usp.br  
Proficiência em Línguas: Inglês, 23/07/2019  
Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 17/03/2021  
Data do Depósito do Trabalho:  
Título do Trabalho:  
Data Máxima para Aprovação da Banca:  
Data de Aprovação da Banca:  
Data Máxima para Defesa:  
Data da Defesa:  
Resultado da Defesa:  
Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 23/07/2019

---

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 21/03/2022

Impresso em: 14/07/2022 00:29:24



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**FICHA DO ALUNO**

**9139 - 11022162/1 - Mariana Soares Alves de Souza**

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBF5805-2/7	Delimitação de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	20/08/2019	28/10/2019	90	6	100	A	N	Concluída
FBF5766-4/2	Biodisponibilidade de Medicamentos	01/10/2019	02/12/2019	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBF5833-1/2	Qualidade por Design Analítica (AQbD) Aplicado às Análises Farmacêuticas	02/03/2020	10/05/2020	90	6	100	A	N	Concluída
FBF5777-4/3	Tópicos Gerais de Fármacos e Medicamentos	05/03/2020	18/06/2020	45	3	100	A	N	Concluída
FBF5800-2/3	Patentes em Fármaco e Medicamentos	02/09/2020	03/11/2020	45	3	100	A	N	Concluída
FLM5612-3/1	Ensino e Fundamentos Pedagógicos da Prática Docente na Educação Superior (Preparação Pedagógica) (Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas - Universidade de São Paulo)	24/09/2020	14/10/2020	30	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBF5821-2/1	Tópicos Avançados em Fármaco e Medicamentos (Avanços e Desafios no Desenvolvimento de Sistemas Nanoestruturados para a Liberação Modificada de Fármacos)	12/10/2020	25/10/2020	30	0	-	-	N	Turma cancelada
FBF5821-2/2	Tópicos Avançados em Fármaco e Medicamentos (Avanços e Desafios no Desenvolvimento de Sistemas Nanoestruturados para a Liberação Modificada de Fármacos)	23/03/2021	05/04/2021	30	2	100	A	N	Concluída
FBF5837-1/2	Tecnologia do estado-sólido na indústria farmacêutica	26/03/2021	02/04/2021	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBF5779-3/7	Preparo de Artigos Científicos na Área de Farmácia	13/08/2021	14/10/2021	90	6	100	B	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
<b>Disciplinas:</b>	0	25	26
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	0	25	26

**Créditos Atribuídos à Dissertação: 71**

**Conceito a partir de 02/01/1997:**

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

**Última ocorrência:** Matrícula de Acompanhamento em 21/03/2022