



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC – UFABC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS**

**MICELAS POLIMÉRICAS TERMORREVERSÍVEIS COMO SISTEMAS PARA  
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS POR VIA TÓPICA**

**Aluno: Carolina Manoela Rodrigues Cuenca**  
**Orientadora: Profª. Dra. Daniele Ribeiro de Araujo**

Santo André  
2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC – UFABC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS**

**MICELAS POLIMÉRICAS TERMORREVERSÍVEIS COMO SISTEMAS PARA  
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS POR VIA TÓPICA**

*Trabalho de Conclusão de Curso,  
apresentado à disciplina NH-3201  
Trabalho de Conclusão de Curso em  
Química como requisito parcial à  
obtenção do título de Bacharel em  
Química.*

**Aluno: Carolina Manoela Rodrigues Cuenca**  
**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Daniele Ribeiro de Araujo**

Santo André  
2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC – UFABC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS**

**MICELAS POLIMÉRICAS TERMORREVERSÍVEIS COMO SISTEMAS PARA  
LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS POR VIA TÓPICA**

13 de Março de 2013

---

Carolina Manoela Rodrigues Cuenca

---

Profª Dra. Daniele Ribeiro de Araujo – Orientadora

## RESUMO

A nanotecnologia é um campo científico multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos. Um dos setores da nanotecnologia com maior potencial de aplicação são os sistemas de carreamento e liberação de drogas (fármacos e vacinas) para melhorar a sua eficácia terapêutica, apresentando várias vantagens frente aos sistemas convencionais. O Naproxeno (NPX) é anti-inflamatório não-esteroidal (AINEs), utilizado no tratamento de dor de moderada à severa intensidade, eficaz para uso clínico de diversas patologias. Embora apresente ampla utilização clínica, sua biodisponibilidade tópica ainda é um fator limitante para a eficácia terapêutica adequada no local de administração. Os poloxamers (PL) são copolímeros tribloco de poli(óxido de etileno) e poli(óxido de propileno) e têm gerado grande interesse como sistema para liberação de fármacos devido a sua propriedade de gelificação em temperaturas corporais e baixa toxicidade. O uso de PL com diferentes características físico-químicas é interessante na investigação das propriedades de sistemas binários como carreadores para liberação modificada de AINEs, usando o NPX como fármaco modelo. Assim, objetivou-se a preparação e a caracterização de formulações para liberação tópica de NPX disperso em hidrogéis à base de PL 407 e de seus sistemas binários contendo PL 403. Os resultados de tubo invertido mostraram que à temperatura da pele, todas as formulações apresentam-se no estado gel, o que reduz a possibilidade de escoamento rápido e de redução da área de contato da formulação com a pele. Os valores de coeficiente de partição, dados em  $\log K_{m,w}$ , do NPX nas formulações são semelhantes ao encontrado na literatura ( $2,55 \pm 0,08$ ). O naproxeno teve sua solubilidade aumentada nas formulações devido a sua incorporação nesses sistemas. Foram realizados ensaios de permeação *in vitro*, nos quais se pode verificar que a inserção de PL 403 no sistema diminuiu pela metade a velocidade de permeação do NPX, sugerindo a liberação controlada do mesmo e a possível maior permanência deste no local de inflamação.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	6
1.1. <i>Propriedades da Pele e Aplicação Tópica de Fármacos</i> .....	6
1.2. <i>Anti-inflamatórios Não-Esteroidais: Naproxeno</i> .....	8
1.3. <i>Copolímeros de Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno): Poloxamers</i> .....	10
2. OBJETIVOS .....	12
2.1. <i>Objetivos Específicos</i> .....	12
3. METODOLOGIA .....	13
3.1. <i>Materiais</i> .....	13
3.2. <i>Caracterização Espectrofotométrica do Naproxeno (NPX)</i> .....	13
3.3. <i>Preparação e Caracterização dos Hidrogéis Poliméricos Contendo Naproxeno</i> .....	14
3.4. <i>Determinação do Coeficiente de Partição Micela-Água (<math>K_{mw}</math>)</i> .....	15
3.5. <i>Ensaio de Permeação in vitro</i> .....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4.1. <i>Caracterização Espectrofotométrica do Naproxeno, NPX</i> .....	16
4.2. <i>Caracterização dos Hidrogéis Contendo Naproxeno</i> .....	17
4.3. <i>Determinação do Coeficiente de Partição, <math>K_{mw}</math></i> .....	20
4.4. <i>Ensaio de Permeação in vitro</i> .....	21
5. CONCLUSÕES .....	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25

## 1. INTRODUÇÃO

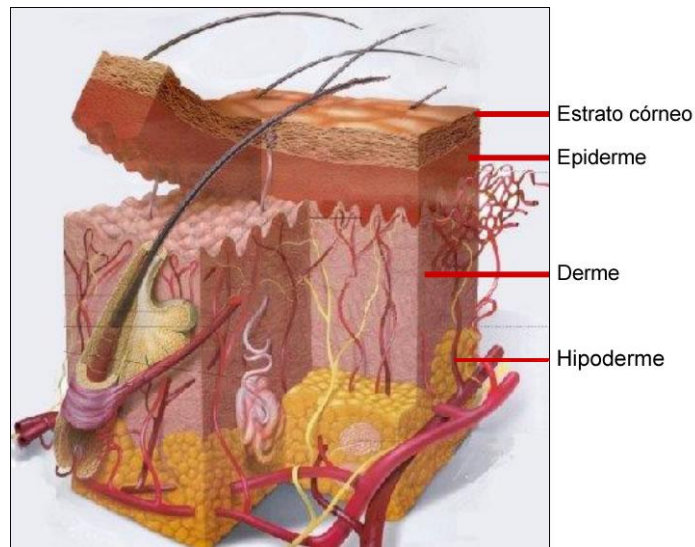
A inflamação é um fenômeno fisiológico em resposta à ocorrência de uma lesão tecidual ou celular. Contudo, essa resposta fisiológica, quando persistente, pode estar associada ao desenvolvimento de patologias como reumatismo, artrites e artroses, arteriosclerose, doenças degenerativas ou até mesmo câncer (MURAKANI e OHIGASHI, 2007).

O processo inflamatório envolve muitos mediadores, sendo essas moléculas sintetizadas e secretadas mediante um estímulo (lesão tecidual/celular). Com a lesão da membrana celular, a enzima fosfolipase A2 (PLA2) é ativada clivando os fosfolipídios de membrana em ácido araquidônico (AA), um ácido graxo insaturado (CALICH e VAZ, 2001). Posteriormente, o ácido araquidônico sofre ação das ciclooxigenases (COX) e das lipooxigenases (LOX), dando origem a prostaglandinas (PG), leucotrienos (LT), lipoxinas e outras quimiotaxinas (SMITH et al., 2000; BURDAN et al., 2006; VERRI JR et al., 2008).

Entre os fármacos mais utilizados no tratamento da dor de origem inflamatória encontram-se os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), administrados como terapia única ou em associações farmacoterapêuticas por meio das mais diversas vias (parenteral, oral, tópica), cujo mecanismo de ação envolve a inibição reversível da atividade das enzimas COX1 e COX2 com consequente redução da biossíntese e liberação de prostaglandinas e outros mediadores da inflamação (BOTTING, 2006).

### **1.1. Propriedades da Pele e Aplicação Tópica de Fármacos**

A pele é formada por três camadas: epiderme, derme e hipoderme, da mais externa para a mais profunda, respectivamente (Fig. 2) e é um órgão de grande importância, pois visa manter um equilíbrio com o meio externo, no sentido de manutenção vital do meio interior (AZULAY e AZULAY, 1999; DANIELO e FATTINI, 2005). Ela atua como barreira protetora contra ataques físicos, químicos, microbiológicos e de raios ultravioletas; além de manter a temperatura corporal, impedir a perda de água e possuir funções sensoriais (calor, frio, pressão, dor e tato).



**Figura 2.** Representação da pele e suas camadas.

A epiderme é a camada mais externa da pele. Suas células não são todas iguais: a camada mais superficial é o estrato córneo ou camada córnea. Mais abaixo se encontram as camadas granulosa, espinhosa e basal. As diferentes camadas mostram as fases pelas quais passam as células, que, produzidas nos estratos mais profundos, sofrem processo de cornificação à medida que atingem os estratos mais superficiais (DANGELO e FATTINI, 2005).

O estrato córneo (EC) é a camada mais superficial, composta de células mortas, secas, alongadas, chamadas de corneócitos, produto final da diferenciação das células produzidas na epiderme viável (ZATZ, 1993). Com uma espessura de até 15  $\mu\text{m}$ , o estrato córneo é a principal barreira física à entrada da maioria das substâncias na pele e à perda de água (ELIAS, 1983; BOMMANNAN et al., 1990; POTTS e FRANCOLEN, 1991), embora seja levemente permeável a água. A queratina, depositada nos corneócitos, confere resistência química e física ao tecido (ZATZ, 1993).

O espaço entre as células é preenchido com lipídios, de forma que é possível observar na barreira da pele dois componentes: o componente hidrofílico (a queratina) e o componente hidrofóbico (os lipídios) (BEMVINDO, 2006).

Os lipídeos encontrados no EC são: ácidos graxos, colesterol e esfingolipídeos, como a ceramida (HADGRAFT, 2001). Eles são os responsáveis pela função de barreira à perda de água e entrada de substâncias do EC (ELIAS, 1983; BOMMANNAN et al., 1990).

A derme é constituída por tecido conjuntivo (fibras colágenas e elásticas envoltas por substância fundamental), vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e terminações nervosas (AZULAY e AZULAY, 1999). As fibras colágenas conferem capacidade de distensão à pele (DANGELO e FATTINI, 2005).

A hipoderme, também chamada de tecido celular subcutâneo, é constituída de lóbulos de lipócitos delimitados por septos de colágeno com vasos sanguíneos. Os lipócitos são arredondados e grandes. A estrutura da hipoderme fornece proteção contra traumas físicos, além de ser um depósito de calor (AZULAY e AZULAY, 1999).

Os produtos farmacêuticos aplicados na pele podem ser subdivididos em duas categorias: (i) sistemas transdérmicos, que têm como objetivo a absorção dos fármacos pela circulação sanguínea para tratamento de doenças sistêmicas e (ii) formulações dermatológicas, como cremes, pomadas, geles; para o tratamento local de doenças na pele (BEMVINDO, 2006). Apesar de possuírem características e objetivos distintos, a eficácia de ambos dependerá da liberação do fármaco da formulação que o contém e de sua penetração/difusão pelas camadas da pele (SHAH et al., 1991).

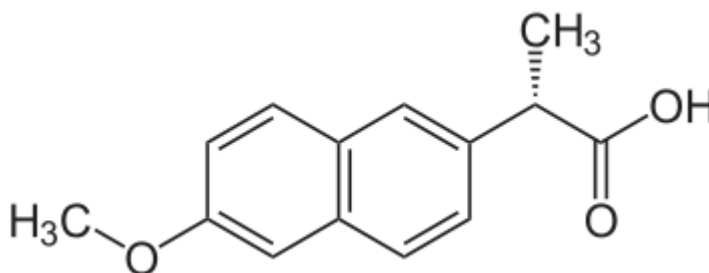
Produtos dermatológicos são comumente relacionados com formulações semisólidas, como pomadas, cremes e loções, e tratam de doenças nas diferentes camadas da pele ou em apêndices cutâneos; logo, sua eficácia dependerá da concentração do fármaco nesses locais (PERSHING et al., 1994). O fármaco deve vencer a barreira do EC para atingir as camadas mais profundas, sem que haja permeação e absorção sanguínea. Essas preparações incluem antibióticos, antifúngicos, agentes anti-inflamatórios, anestésicos locais e outros (ANSEL, 1999).

### **1.2. Anti-inflamatórios Não-Esteroidais: Naproxeno**

O Naproxeno (NPX) (Fig. 1) é um AINE utilizado para tratar a dor inflamatória de moderada à severa intensidade, sendo mais seletivo para inibição da COX2 do que da COX1 e mostrando-se eficaz para uso clínico em patologias reumatológicas, periarticulares, odontológicas e musculoesqueléticas (bursites, tendinites, distensões etc.) além de estar incluído no esquema terapêutico e profilático da migrânea (BOTTING, 2006, FITZGERALD e WALTERS, 2007; JANSSENS et al., 2008).



A nomenclatura oficial do NPX é ácido (2S)-2-(6-metóxi-2-naftil) propanoico, apresentando-se como um pó cristalino branco ou quase branco, com sabor amargo e inodoro; praticamente insolúvel em água (15,9 mg/L); solúvel em álcool, metanol e clorofórmio; valor de  $pK_a$  de 4,2 (a 25°C), ponto de fusão entre 154 e 158 °C e coeficiente de partição micela-água ( $K_{mw}$ ) igual a 355 (Merck Index, 1989; Martindale de Extra Pharmacopeia, 1993, SHARMA e BHATIA, 2004).



**Figura 1.** Estrutura química do naproxeno.

A biotransformação do NPX é hepática (via subfamília CYP 450 1A2), e aproximadamente 95% da concentração absorvida é excretada pela urina primariamente como fármaco inalterado (<1%), como 6-o-dimetilnaproxeno (<1%) ou seus conjugados com glicuronídeo e glicina (66-92%), sendo a taxa de excreção dos seus produtos de biotransformação (metabólitos) e conjugados proporcional à taxa de eliminação do fármaco no plasma (TODD e CLISSOLD, 1990; SHARMA e BHATIA, 2004).

Além das vias de administração oral e retal, o NPX também tem sido bastante utilizado em formas de aplicação cutânea, apresentando-se, de um modo geral, bem tolerado pela pele humana. No entanto, apesar da sua elevada lipofilicidade, o NPX apresenta uma baixa biodisponibilidade após aplicação tópica como resultado de sua alta interação e permanência excessiva nas camadas mais externas da pele, como o estrato córneo (ZACHER et al., 2008).

Dessa forma, a biodisponibilidade tópica do naproxeno ainda é um fator limitante para sua eficácia terapêutica adequada no local de administração e, por isso, diferentes formulações têm sido desenvolvidas com o objetivo de promover o aumento da absorção e da velocidade de permeação desse fármaco através da pele.

Atualmente, as formulações comercialmente disponíveis (por exemplo, Reuxen<sup>®</sup> e Momendol<sup>®</sup>) incluem géis à base de polímeros de ácido acrílico (como o Carbopol 940<sup>®</sup>) e de

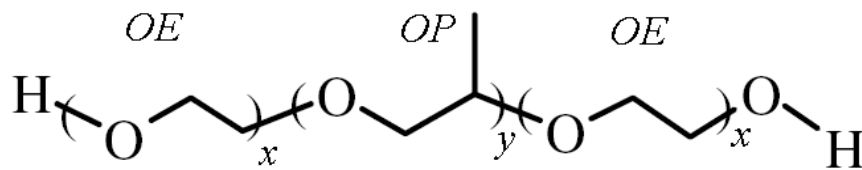
hidroxietilcelulose contendo NPX (10%) associado a diferentes promotores de absorção (substâncias químicas incorporadas às formulações farmacêuticas com o objetivo de desestabilizar a organização lipídica do estrato córneo e aumentar a velocidade de permeação de solutos através da pele) como mentol, glicerina e álcool isopropílico. No entanto, estudos na literatura propõem novas estratégias ou pré-formulações como, por exemplo, o uso de carreadores micelares (poloxamers, SUH e JUN, 1996; ESCOBAR-CHÁVEZ et al., 2005; TIONG e ELKORDY, 2009).

### **1.3. Copolímeros de Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno): Poloxamers**

A nanotecnologia é um campo científico multidisciplinar que tem avançado rapidamente nos últimos anos, encontrando aplicações nas mais diversas áreas (DURÁN, 2006). O princípio é de que os materiais na escala nanométrica podem apresentar propriedades químicas, físico-químicas e comportamentais diferentes daquelas apresentadas em escalas maiores.

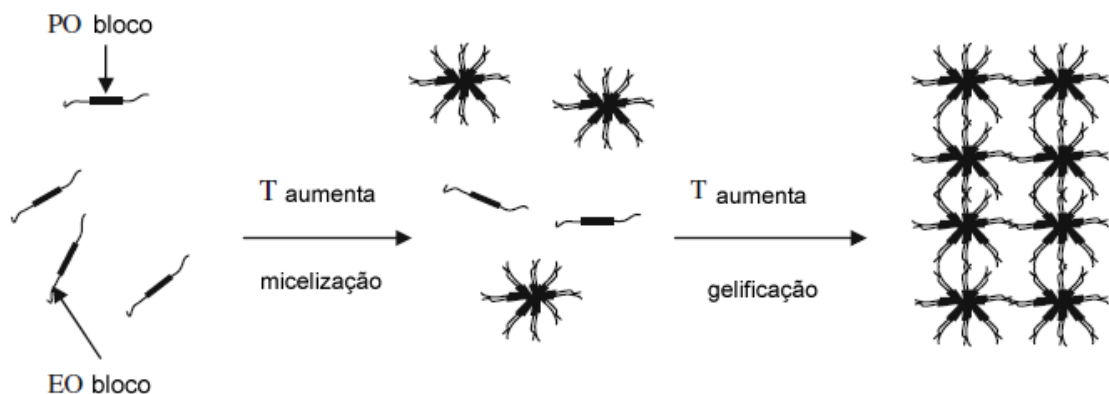
Um dos setores da nanotecnologia com maior potencial de aplicação são os sistemas de carregamento e liberação de drogas (fármacos e vacinas) para melhorar a sua eficácia terapêutica (SHAFFER, 2005). As vantagens apresentadas pelos diversos sistemas de liberação controlada de fármacos (lipossomas, ciclodextrinas e nanopartículas poliméricas) em relação aos convencionais são: a) maior controle da liberação do princípio ativo, diminuindo o aparecimento de doses tóxicas e subterapêuticas; b) utilização de menor quantidade do princípio ativo, resultando em menor custo; c) maior intervalo de administração; e) melhor aceitação do tratamento pelo paciente; f) possibilidade de direcionamento do princípio ativo para seu alvo específico.

Pluronic<sup>®</sup> F127 e Pluronic<sup>®</sup> P123 são dois membros de uma família de copolímeros tri-bloco de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno) (PPO)-poli(óxido de etileno) (PEO), genericamente chamados de poloxamers (Fig. 3) (SCHMOLKA, 1972) com tamanho > 100 nm. O segmento PPO é relativamente hidrofóbico comparado aos segmentos de PEO circundantes. Graças à relativa diferença de hidrofobicidade entre o PEO e o PPO, esse copolímero rapidamente configura-se em micelas quando em água, acima de certa concentração denominada concentração micelar crítica (CMC).



**Figura 3.** Estrutura química Poloxamers.

Os poloxamers (PL) exibem uma propriedade de transição sol-gel termorreversível em resposta a mudanças na temperatura (Fig. 4), favorecendo a aplicação tópica desses sistemas, uma vez que o contato com a pele promove a formação de um gel não-oclusivo, ou seja, sem alteração da perda de água transepidermal; em solvente aquoso a temperaturas próximas à corporal (DUMORTIER et al., 2006); além da sua relativa baixa toxicidade. Por isso, têm gerado grande interesse como um novo método para a liberação de drogas através de uma liberação controlada e, assim, diferentes composições de géis e pomadas contendo PL foram desenvolvidas relatando que a incorporação de fármacos como cetoprofeno (CHI e JUN, 1991; El Kattan et al., 2000), flurbiprofeno (EL GENDY et al., 2002) nesses sistemas, aumentaram a biodisponibilidade tópica e o efeito anti-inflamatório.



**Figura 4.** Representação do mecanismo de formação das micelas de poloxamers em água.

Especificamente para o NPX, os estudos iniciais de Suh e Jun (1996) relataram a caracterização físico-química da interação com copolímeros termorreversíveis da classe dos PL (PL 407) bem como o efeito do pH da formulação na cinética de liberação do NPX. Posteriormente, Escobar-Chávez e cols. (2005) finalizaram os estudos com a avaliação *in vivo* da influência de promotores de absorção como azona e transcutool na permeação do NPX através da pele humana.

Essas formulações, no entanto, foram delineadas para observar os efeitos da incorporação de promotores de absorção utilizando apenas um único tipo de PL (PL 407). Porém, não há relatos sobre a utilização de sistemas binários de PL (associação entre diferentes tipos de PL como PL 407 e PL 403, por exemplo), para a liberação de NPX através da pele.

Dessa forma, o uso de PL com diferentes características físico-químicas (sendo o PL 407 mais hidrofílico do que o PL 403, Tabela 1) é interessante no sentido de investigar as propriedades de sistemas binários como carreadores para liberação modificada de AINEs utilizando o NPX como fármaco modelo, uma vez que mudanças na constituição e na proporção desses copolímeros, em solução, alteram tanto a concentração micelar crítica quanto a temperatura de gelificação (transição sol-gel) e, conseqüentemente, a estrutura micelar, as propriedades reológicas e a razão de liberação do fármaco.

**Tabela 1.** Características físico-químicas dos copolímeros utilizados neste trabalho.

Copolímero	Massa Molar	Unidades de óxido de etileno	Unidades de óxido de propileno	Balço hidrofílico-lipofílico (HLB)	Relação de unidades OE: OP
<b>Poloxamer 407</b> (Pluronic® F127)	12600	200,5	65,2	22	3:1
<b>Poloxamer 403</b> (Pluronic® P 123)	5760	39,2	69,4	8	1: 1,75

(adaptado de: Chiapetta e Sosnik, 2007)

## 2. OBJETIVOS

Dessa forma, considerando-se as propriedades particulares dos carreadores micelares da classe dos poloxamers, este projeto teve por objetivos gerais a preparação e a caracterização de formulações para liberação tópica de naproxeno disperso em hidrogéis à base de poloxamer 407 e de seus sistemas binários contendo poloxamer 403.

### 2.1. Objetivos Específicos

- Preparar formulações em gel-base de poloxamer 407 e de poloxamer 403 (carreadores micelares) contendo naproxeno;

- Caracterizar a interação fármaco-micela por estudos de solubilidade e determinação do coeficiente de partição;
- Realizar ensaios de permeação *in vitro* e determinar os parâmetros de permeação (tempo para início de liberação ou *time lag*, fluxo) do fármaco.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Materiais

Os instrumentos e materiais utilizados no projeto foram: Naproxeno - Nutrifarm, Cloreto de sódio – Vetec Química Fina, Hepar - Sigma-Aldrich Chem.Co, Miristato de isopropila – Lab. Synth, Poloxamer 407 (Pluronic® F-127) - Sigma-Aldrich Chem.Co, Poloxamer 403 (Pluronic® P-123) - Sigma-Aldrich Chem.Co, Agitador Magnético - Spencer®, Balança - Shimadzu®, células de difusão vertical do tipo Franz (área de permeação de 1,76 cm<sup>2</sup>) (sistema Microette Plus, Hanson Research®), Centrífuga Micro Processada - Quimis®, Espectrofotômetro UV-VIS (Thermo Sci.), Membrana VM em Nitrato de Celulose (0,05 µm de poro; 25mm de diâmetro) Millipore®, Micropipetas – Gilson, Seringas (1mL) – Injex®, Tubos Falcon – Global Trade®, Vórtex - IKA®, Tubos de ensaio, Banho Ultratermostático - Quimis®, Solução do banho ultratermostático 0,9% EtOH + 0,2% Glicerina.

#### 3.2. Caracterização Espectrofotométrica do Naproxeno (NPX)

Primeiramente, preparou-se uma solução estoque 400 µM de NPX em solução tampão Hepar 20 mM/NaCl 154mM pH 7,4. Em seguida, foram realizadas diluições sucessivas em intervalos de 50 µM. As concentrações foram feitas em triplicata (n=3).

Para a determinação da constante de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) do NPX, construiu-se uma curva de calibração utilizando concentrações de fármaco na faixa de 25 a 350 µM. Os valores de absorvância (Abs) foram medidos na forma *scan* (200 a 500 nm) para uma das amostras, e em comprimento de onda fixo para as outras duas, para cada concentração. Todos os valores foram obtidos no comprimento de absorção máxima do fármaco ( $\lambda = 331$  nm). Os valores de absorvância das soluções de NPX foram medidos uma vez por semana durante três semanas de forma a verificar algum tipo de modificação no sistema.

### **3.3. Preparação e Caracterização dos Hidrogéis Poliméricos Contendo Naproxeno**

Soluções de Poloxamer (PL) 407 foram preparadas em concentrações de 30% isoladamente, e em sistemas binários adicionando-se PL 403 na concentração de 5 ou 10 % de forma que a concentração final de polímero em solução fosse de 30%. Para tanto, pesou-se a massa de polímero referente a cada concentração descrita para um volume de 10 mL de gel. Então, em cada uma das concentrações, adicionou-se 10 mL de H<sub>2</sub>O milliQ. Enfim, as soluções foram armazenadas durante 24 horas em agitação constante e em banho de gelo, para a formação do gel.

Os sistemas poloxamer-naproxeno foram preparados por dispersão direta do fármaco (na concentração de 25 mg/g de gel) nas soluções de PL 407 isolado e nos sistemas binários contendo PL 403, mantidos a 4°C, sob agitação (100 rpm) por pelo menos 6 horas (SCHOMOLKA, 1972) até ocorrer a total solubilização do fármaco. Após a preparação, as amostras foram armazenadas a 4°C até posterior uso. O pH permaneceu por volta de 5,0 em todas as formulações.

Posteriormente, as formulações a 30%, 20:10% e 25:5% foram caracterizadas quanto à transição sol-gel pelo método de inversão dos tubos, que consiste na determinação da temperatura de transição sol-gel da solução de PL 407 e de seus sistemas binários contendo PL 403 na presença e na ausência de naproxeno. Amostras de 1 mL foram incubadas em banho de água a 0°C por 20 minutos; em seguida, a temperatura era aumentada em 2°C, gradualmente, até 50°C. A cada variação de temperatura, as amostras foram retiradas do banho (por no máximo 30 segundos, para prevenir alterações no resultado decorrentes da temperatura ambiente) e analisadas visualmente, sendo classificadas em três categorias:

- Líquida: inversão completa da amostra no sentido da gravidade;
- Líquido-viscosa ou soft-gel: inversão lenta da amostra no sentido da gravidade, onde parte permanece no fundo do tubo e;
- Semi-sólida ou hard-gel: a amostra permanece completamente posicionada no fundo do tubo, mesmo após sua inversão.

### 3.4. Determinação do Coeficiente de Partição Micela-Água ( $K_{mw}$ )

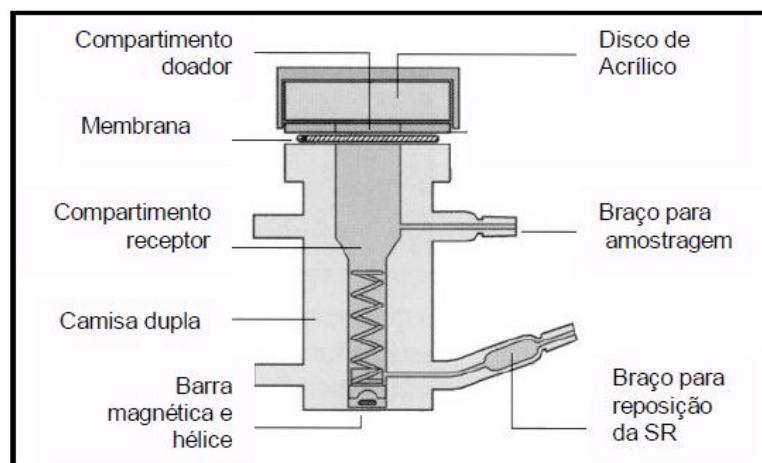
Para a determinação do coeficiente de partição, 0,5 g de todas as formulações foram pesadas em tubos falcon onde foram acrescentados 5 mL de solução tampão Hepes/NaCl, seguido de agitação vigorosa em vórtex por 5 min, até completa dissolução do gel. O sistema foi deixado em repouso por 24 horas ao abrigo de luz. Após isso, as amostras foram centrifugadas durante 5 min a 3500 rpm. Retirou-se, então, uma alíquota de 1 mL da porção sobrenadante e filtrou-se em dispositivo de filtração por seringa. O filtrado foi novamente centrifugado durante 10 min em 13500 x g. Em seguida, 100  $\mu$ L do filtrado foi diluído em tampão Hepes/NaCl na proporção 1:20. Enfim, as amostras foram agitadas no vórtex de modo que o naproxeno presente na fase aquosa fosse quantificado por espectroscopia UV-Vis ( $\lambda = 331$  nm). O coeficiente de partição ( $K_{micela/água}$ ) foi determinado a partir da equação abaixo (1) (HARRIS, 1991):

$$K_{mw} = \frac{[NPX]_{micelar}}{[NPX]_{aquosa}} \quad (1)$$

onde  $[NPX]_{micelar}$  é a concentração de NPX na fase hidrofóbica (núcleo micelar) e  $[NPX]_{aquosa}$  é a concentração de NPX na fase hidrofílica (i.e., no solvente aquoso). As determinações foram feitas em triplicata para cada concentração.

### 3.5. Ensaios de Permeação *in vitro*

Para os ensaios de permeação *in vitro* foram utilizadas células de difusão vertical do tipo Franz com área de permeação de 1,76 cm<sup>2</sup> usando sistema Microette Plus (Fig. 5), e como modelo de barreira, uma membrana de nitrocelulose com poro de 0,05  $\mu$ m (Millipore®) impregnada com 100  $\mu$ L de isopropilmiristato (IPM) (JANTHARAPRAPAP E STAGNI, 2007). Em cada ensaio, realizado em triplicata para cada formulação, o compartimento doador da célula era preenchido com 1,0 g de cada formulação de gel - NPX em PL 407 30% ou nos sistemas binários: PL 407 25% + PL 403 5% e PL 407 20% + PL 403 10% -, enquanto que o compartimento receptor era preenchido com 4 mL de solução tampão Hepes 20mM/NaCl 154 mM.



**Figura 5.** Representação da célula de difusão vertical do tipo Franz. Fonte: Adaptado de BEMVINDO, Carolina Soares, 2006.

Os ensaios de permeação foram realizados durante um período de seis horas, a 32,5°C e sob agitação constante (350 rpm). Em intervalos pré-estabelecidos, foram retiradas alíquotas de 0,5 mL da solução receptora e estas analisadas por espectrofotometria UV-Vis a 331 nm. A cada retirada de alíquota, o mesmo volume era repostado com solução tampão 20 mM HEPES/154 mM NaCl.

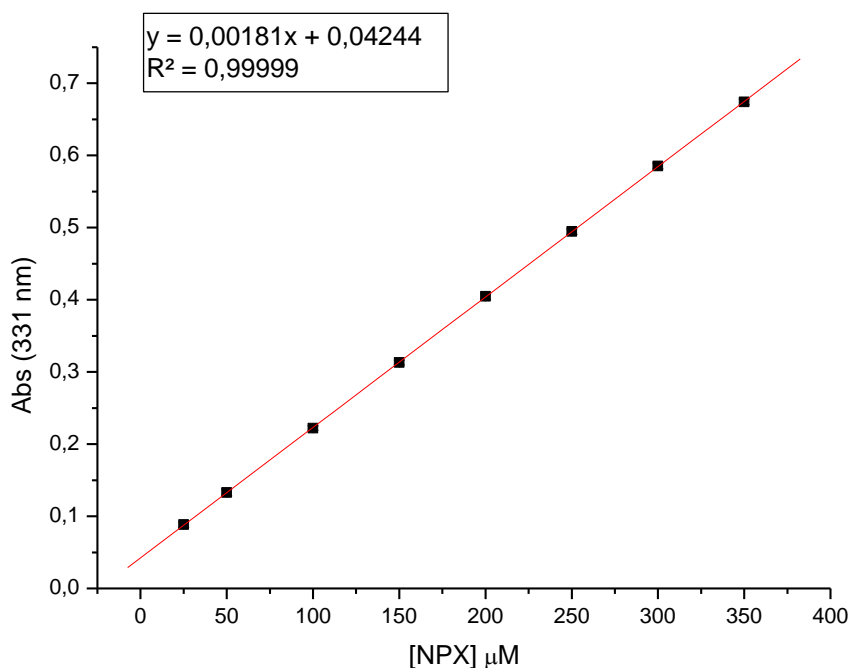
Os dados obtidos foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão ( $n = 3$ ) das quantidades cumulativas de NPX permeado em função do tempo e analisados utilizando o programa Origin 6.0 (Microcal™ Software, Inc., Northampton, MA, USA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização Espectrofotométrica do Naproxeno, NPX.

Os valores de absorvância obtidos ao longo das três semanas foram relativamente próximos, possibilitando a construção da curva padrão para o NPX (Fig. 6). O NPX apresentou espectro de absorção na região do ultravioleta, com comprimento de onda de absorção máxima em 331 nm.





**Figura 6.** Curva de calibração para o Naproxeno, NPX.

A partir da equação da reta obtida descrita na Fig. 6, pode-se calcular a absorvidade molar ( $\epsilon$ ) em 331 nm do NPX em solução tampão, por meio da Lei de Lambert-Beer, uma vez que o coeficiente angular da reta é igual ao produto da absorvidade com o caminho óptico da cubeta utilizada. Desta forma,  $\epsilon = 1810 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ .

#### **4.2. Caracterização dos Hidrogéis Contendo Naproxeno**

O estudo do comportamento de gelificação das formulações contendo os copolímeros carreadores de drogas é interessante no sentido de estabelecer parâmetros para a aplicação das mesmas, uma vez que a transição sol-gel é extremamente dependente de uma temperatura específica. A temperatura na qual o gel é formado costuma ser referida como *temperatura de transição sol-gel*,  $T_{\text{sol-gel}}$ . Em temperaturas mais elevadas, soluções de poloxamers se liquefazem novamente, sendo referidas como *temperatura de transição gel-sol*,  $T_{\text{gel-sol}}$  (DUMORTIER, 2006).

O mecanismo de formação do gel em PL 407 tem sido discutido por diversos autores e ainda é um tema em debate na literatura. Fisicamente, a formação do gel deve estar relacionada ao empacotamento micelar e à fração de volume. À medida que a temperatura é aumentada acima da temperatura micelar crítica, micelas são formadas, inevitavelmente aumentando a fração de volume

ocupada pelos grupos constituintes das micelas. Um novo aumento na temperatura tem mostrado aumentar a fração de volume micelar, até que se atinja um valor crítico (SONG et al., 2000). Os pesquisadores atribuem a gelificação à desidratação dos grupos PPO no núcleo micelar (WANKA et al., 1994), à variação do volume micelar (SONG et al., 2000) ou a uma diminuição na concentração micelar crítica e um aumento no número de agregação (BOHORQUEZ et al., 1999).

Já para a transição gel-sol, sugere-se que a razão de sua ocorrência seja graças à interação desfavorável entre a água e o grupo PEO a temperaturas mais elevadas, resultando na desidratação e encolhimento das coroas micelares (SONG et al., 2000). Isto iria efetivamente diminuir o volume micelar e reduzir a fração de volume total para um valor inferior ao valor crítico (SHARMA e BHATIA, 2004). Neste trabalho, avaliou-se apenas a transição sol-gel já que a temperatura na qual a transição gel-sol ocorre é bem acima daquele de interesse farmacêutico (32,5°C, considerada a temperatura da superfície da pele).

Assim, a temperatura de transição sol-gel do PL 407 isolado e de seus sistemas binários contendo PL 403, com e sem NPX, foi caracterizada. O efeito dos sistemas binários e da adição de NPX é mostrado na Tabela 2.

O método mostrou que quanto maior a concentração de PL 407 existente na formulação, menor é a temperatura relativa à gelificação. Assim, com um aumento na concentração de PL 407, menor a  $T_{\text{sol-gel}}$  e maior a  $T_{\text{gel-sol}}$ , ou seja, maior é o intervalo em que as formulações se encontram na fase gel, o que pode ser utilizado para fazer inferências a respeito da estabilidade desses sistemas frente às variações de temperatura (em caso de armazenamento ou transporte das formulações).

Na temperatura de aplicação na pele (32,5°C), todas as formulações apresentaram-se na forma de gel tanto para aquelas com NPX quanto para as sem; o que é vantajoso na aplicação do gel, evitando escoamento da formulação e a possível perda da área de aplicação, e indicando estabilidade da estrutura gel também em temperaturas elevadas.

Além disso, a inserção de PL 403 nas formulações analisadas não alterou de forma significativa as  $T_{\text{sol-gel}}$  (Tabela 2). Dessa forma, a associação com copolímeros mais hidrofóbicos, como o PL 403, favoreceu a gelificação, sendo possível a utilização de menores concentrações de PL 407 e a futura redução da toxicidade da formulação.

Os valores de  $T_{\text{sol-gel}}$  para a formulação de PL 407 isolado - contendo ou não NPX -, diferem daqueles descritos por Sharma e Bhatia (2004). Enquanto neste trabalho encontrou-se uma  $T_{\text{sol-gel}}$  média de 19°C, a descrita na literatura encontra-se por volta de 12°C. Essa diferença pode ser devida, por exemplo, à forma de aplicação da formulação, sendo para uso tópico neste trabalho e parenteral na literatura. Já o comportamento sol-gel é válido para todas as formulações independentemente do fármaco, inclusive para sistemas contendo outros fármacos que apresentam baixa solubilidade aquosa.

**Tabela 2.** Temperaturas de gelificação das formulações ( $T_{\text{sol-gel}}$ ) contendo polaxamer (PL) 407 e seus sistemas binários com PL 403.

Formulações (w/w%)		$T_{\text{sol-gel}}$ (°C)	
PL 407	PL 403	sem NPX	com NPX
30	0	20,7	18,0
25	5	20,7	18,7
20	10	21,3	18,7

*Nota: A menor temperatura na qual as amostras foram classificadas como hard-gel foi definida como sendo a temperatura de transição sol-gel,  $T_{\text{sol-gel}}$ . As amostras foram feitas em triplicata para cada formulação ( $n=3$ /formulação).*

De acordo com a Tabela 2, nota-se que a inserção de NPX na formulação causou uma pequena mudança de aproximadamente 2°C na temperatura de gelificação,  $T_{\text{sol-gel}}$ . O efeito da adição de um fármaco hidrofóbico nas formulações mudou as  $T_{\text{sol-gel}}$  para temperaturas mais baixas.

Os resultados encontrados para as formulações contendo NPX assemelham-se àqueles descritos por Sharma et al. (2008) para formulações envolvendo PL 407 contendo diferentes fármacos (dibucaína, tetracaína e lidocaína). Neste caso, o comportamento pode ser devido a várias razões: *i)* os fármacos analisados eram hidrofóbicos e, portanto, estariam em grande parte localizados no interior do núcleo micelar, em oposição à coroa; e, uma vez que tais moléculas hidrofóbicas teriam interações desfavoráveis com as moléculas de água no interior dos núcleos de PPO, sua presença nas micelas poderia ter resultado em um maior grau de desidratação dos núcleos micelares (o que se sugere como sendo uma das principais causas da gelificação nestes sistemas (WANKA e HOFFMANN, 1994); *ii)* Solutos hidrofóbicos muito provavelmente promoveriam a estruturação da água do lado de fora das micelas e causariam a agregação do polímero (KWON et

al., 2001; MALMSTEN e LINDMAN, 1992), levando a um aumento na fração total de volume micelar e permitindo que a transição sol-gel ocorra em temperaturas mais baixas (SHARMA e BHATIA, 2004).

#### 4.3. Determinação do Coeficiente de Partição, $K_{mw}$

Sistemas à base de poloxamers exigem conhecimento da solubilidade e da partição das moléculas de fármaco para o interior das micelas dos copolímeros. Esses valores têm sido estimados por meio do cálculo do coeficiente de partição,  $K$ , das moléculas incorporadas aos sistemas (SHARMA e BHATIA, 2004). Ademais, a hidrofobicidade de um fármaco pode ser quantificada pelo  $K$ , o qual é um indicador físico-químico da capacidade com a qual o fármaco atravessará as membranas celulares e como ele poderá exercer seu mecanismo de ação (PATRICK, 1995).

A concentração total de NPX foi dada considerando a concentração de fármaco (2,5 %) presente em 0,5 mL de gel (pois 1g de gel é equivalente a 1 mL). A partir da equação da reta, Fig. 5, pode-se calcular os valores de concentração de NPX na fase aquosa. A concentração de NPX presente na fase micelar é a diferença entre essas duas concentrações. Portanto, de acordo com a equação 1 (*Item 3.4. Determinação do coeficiente de partição fármaco-micela*), calculou-se o coeficiente de partição micela-água do NPX descrito na Tabela 3 (dado em  $\log K_{mw}$ ).

Uma vez calculadas as concentrações de NPX na fase micelar de todas as formulações, verificou-se sua solubilidade no sistema PL-NPX. Os resultados de solubilidade encontram-se apresentados também na Tabela 3.

**Tabela 3.** Valores do coeficiente de partição médio do naproxeno, dado em  $\log K_{mw}$ , para todas as formulações preparadas (n=3).

Formulações de Poloxamer (w/w %)	30	20:10	25:5
<b>Log <math>K_{mw}</math></b>	2,20 ± 0,05	2,72 ± 0,14	3,06 ± 0,13
<b>Solubilidade nas formulações (mg/mL)</b>	1,10 ± 0,09	1,26 ± 0,20	1,32 ± 0,13

*Nota: 20:10 e 25:5 correspondem às concentrações de PL 407:PL 403 nos sistemas binários.*

Fármacos hidrofóbicos, como o NPX, que são difíceis de dissolver em solventes aquosos podem ser solubilizados em grande extensão com a adição dos copolímeros. Os valores de solubilidade encontrados descritos na Tabela 3 mostram um aumento de aproximadamente 100 vezes na solubilidade do NPX nesses sistemas em comparação a sua solubilidade aquosa (15,6

$\mu\text{g/mL}$ ); mostrando uma vantagem do sistema PL-NPX, pois, assim, uma menor quantidade de fármaco será necessária nas formulações administradas.

O valor de  $\log K_{mw}$  descrito por Sharma e Bhatia (2004) ( $2,55 \pm 0,08$ ) se aproxima dos valores encontrados para os sistemas desenvolvidos nesse trabalho. Além disso, não há diferença estatística nos valores de  $\log K_{mw}$ . Ademais, a inserção de PL 403 na formulação não altera de forma significativa o valor de  $\log K_{mw}$ , indicando que os resultados encontrados são satisfatórios e os sistemas desenvolvidos apresentam possibilidade de implementação como pré-formulações.

Considerando conceitos de farmacocinética, uma molécula hidrofílica tem maior probabilidade de ser, mais eficientemente, removida por meio dos processos de biotransformação e excreção. Por outro lado, moléculas hidrofóbicas também são suscetíveis a isso, embora a maioria delas necessite de dois diferentes processos de biotransformação para eliminá-las, sendo: reações de Fase I (oxidação/redução/hidrólise) pelas oxidases, redutases e esterases, e reações de Fase II (conjugação). Os metabólitos resultantes são altamente polares, o que facilita a eliminação dessas moléculas do organismo. Dessa forma, uma boa partição nos polaxamers pode proteger tais moléculas hidrofóbicas destes e outros processos de degradação; além da proteção de elas serem, preferencialmente, absorvidas ou armazenadas no tecido adiposo subcutâneo, no caso de administração na pele (SHARMA e BHATIA, 2004).

A inclusão de moléculas hidrofóbicas nas micelas visa o aumento da solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade das drogas. Assim, os valores relativamente altos de  $K_{mw}$  encontrados mostram que, possivelmente, o NPX possui boa partição no núcleo micelar, indicando os PL como novos sistemas de liberação de NPX.

#### **4.4. Ensaios de Permeação in vitro**

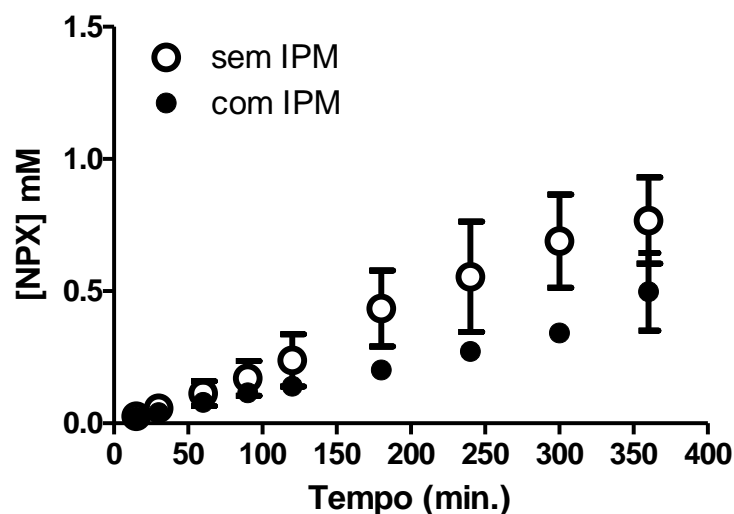
A penetração cutânea envolve a transferência do fármaco da superfície da pele através do estrato córneo (EC), regida, entre outros fatores, pela diferença de concentração. O fármaco pode então atravessar a epiderme, chegar à derme e ser absorvido pelos vasos sanguíneos presentes nessa camada. A denominação permeação cutânea é utilizada quando todos esses processos são realizados (BEMVINDO, 2006).

A difusão em sistemas com multicamadas como a pele tem como etapa limitante a camada com maior resistência à difusão, sendo que a principal resistência à passagem de compostos através da pele está na estrutura compacta do EC (BEMVINDO, 2006).

Experimentos de permeação *in vitro* são um complemento valioso no estudo *in vivo* de absorção percutânea, e fornecem meios convenientes para avaliar as características de permeação das drogas (BRONAUGH e MAIBACH, 1991).

Uma membrana de nitrocelulose foi utilizada para simular as camadas da pele, enquanto que a impregnação da mesma com miristato de isopropila (IPM) foi realizada para simular as propriedades hidrofóbicas do EC (JANTHARAPRAPAP e STAGNI, 2007).

Os ensaios de permeação - usados para avaliar os indicadores cinéticos de cada formulação - utilizando células de Franz em sistema Microette também foram realizados sem a aplicação de IPM para que fosse possível comparar os perfis de permeação do fármaco no sistema com e sem a simulação do EC. Após a adição de IPM, observou-se que os valores de concentração de fármaco permeado são menores, confirmando a utilidade deste composto na simulação das propriedades hidrofóbicas do estrato córneo (Figura 7).



**Figura 7.** Perfis de permeação do Naproxeno (NPX) a partir de uma das diferentes formulações de poloxamer 407 (PL 407-30 %), obtido após testes em Microette com e sem IPM.

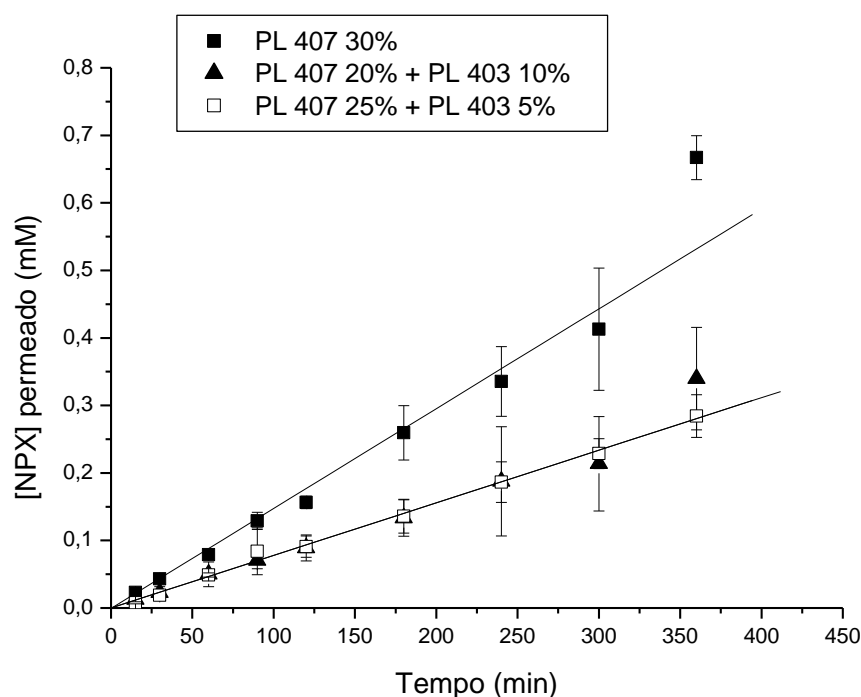
Os parâmetros que podem influenciar na taxa de liberação *in vitro* são as características da membrana sintética empregada e a composição da solução receptora (SHAH et al., 1999). O gráfico

de quantidade de fármaco no meio receptor em função do tempo fornece o perfil de permeação, e o fluxo de passagem do fármaco a partir da formulação para a solução receptora é dado pelo coeficiente angular das retas obtidas no gráfico. Os perfis de permeação obtidos com IPM (Fig. 8) permitiram a determinação do fluxo (ou velocidade de permeação) do NPX para todas as formulações (Tabela 4).

**Tabela 4.** Dados obtidos por meio do perfil de permeação do naproxeno (NPX) nas diferentes formulações de poloxamer (PL).

Formulações	R <sup>2</sup>	Velocidade de permeação (mM.cm <sup>-2</sup> .min <sup>-1</sup> )
PL 407 30%	0,9845	$14,80 \times 10^{-4} \pm 9,958 \times 10^{-5}$
PL 407 20% + PL 403 10%	0,99325	$7,788 \times 10^{-4} \pm 3,439 \times 10^{-5}$ *
PL 407 25% + PL 403 5%	0,99797	$7,789 \times 10^{-4} \pm 1,879 \times 10^{-5}$ **

Nota: \*  $p < 0,05$  e \*\*\*  $p < 0,01$  – One way ANOVA com teste posterior de Tukey-Kramer



**Figura 8.** Perfis de permeação do naproxeno (NPX) a partir de diferentes formulações de poloxamer (PL), obtido após testes em Microette.

As formulações contendo PL 407 associado ao PL 403 apresentaram menores valores de fluxo ( $7,788 \times 10^{-4} \pm 3,439 \times 10^{-5}$  mM.cm<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup> e  $7,789 \times 10^{-4} \pm 1,879 \times 10^{-5}$  mM.cm<sup>-2</sup>.min<sup>-1</sup>) em

relação à formulação contendo PL 407 isolado ( $14,80 \times 10^{-4} \pm 9,958 \times 10^{-5} \text{ mM.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ ) com  $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente, mostrando que a inserção de PL 403, um copolímero mais hidrofóbico (HLB=8) que o PL 407 (HLB=22) (DUMORTIER et al, 2006), diminuiu a velocidade de permeação do NPX.

O fluxo expresso pelas formulações de PL 407 associado ao PL 403 mostra um possível grau penetração satisfatório através da pele. Houve uma redução na velocidade de permeação do naproxeno a partir das formulações contendo a associação PL 407 e PL 403, resultado relevante para a possível utilização desta como um sistema para liberação através da pele.

Clinicamente, esse é um aspecto relevante na potencialização do efeito anti-inflamatório induzido pelo NPX, já que o gel, e, portanto o fármaco, encontrar-se-á por mais tempo no local da inflamação; resultando em uma liberação controlada e contínua e, possivelmente, utilizando uma menor concentração do princípio ativo na formulação.

## 5. CONCLUSÕES

O uso de sistemas binários dos copolímeros mostrou-se uma alternativa interessante, apresentando resultados satisfatórios para a possível implementação desses carreadores micelares em formulações farmacêuticas, principalmente nas que contenham fármacos mais hidrofóbicos, como o naproxeno (NPX). Não houve diferenças significativas na temperatura de transição sol-gel entre as formulações contendo poloxamer 407 isolado ou seus sistemas binários com poloxamer 403, sendo que à temperatura da pele, todas as formulações apresentavam-se no estado gel; o NPX teve sua solubilidade aumentada nas formulações devido a sua incorporação nesses sistemas. Além disso, os resultados mostraram uma redução na velocidade de permeação do NPX a partir de formulações contendo a associação PL 407 e PL 403, sendo relevante para a possível utilização desta como um sistema para liberação através da pele. Assim, a difusão de fármacos através das micelas é consideravelmente mais lenta, resultando em uma liberação controlada e continuada. Este comportamento tem mostrado ser vantajoso na aplicação para liberação de fármacos que induzem efeitos colaterais indesejados e/ou que apresentam baixa eficácia terapêutica por limitações de biodisponibilidade tópica.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSEL, H.C., ALLEN, L.V., POPOVICH, N.G. *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 7. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilking, 1999.
- AZULAY, R.D.; AZULAY, D.R. *Dermatologia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara- Koogan, 1999.
- BEMVINDO, Carolina Soares. *Estudo Comparativo da Liberação e Penetração Cutânea de Nitrato de Miconazol de Emulsões Tópicas Comerciais*. Rio de Janeiro, 2006. 110 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006.
- BOMMANNAN, D., POTTS, R.O., GUY, R. H. *Examination of Stratum Corneum Barrier Function In Vivo by Infrared Spectroscopy*. The Journal for Investigative Dermatology, v.95, n. 4, p. 403-408, 1990.
- BOTTING, R. M. *Inhibitors of cyclooxygenases: mechanisms, selectivity, and uses*. J. Physiol. Pharmacol., v. 53, n. 57, p. 113–124, 2006.
- BRONAUGH, R.L., MAINBACH, H.I. *In vitro Percutaneous Absorption: Principles, Fundamentals, and Applications*. CRC Press, Florida, 1991.
- BURDAM F., CHALAS A., SZUMILO. Cyclooxygenase and prostanoids – biological implications J. Postepy Hig. Med. Dosw. 60, p. 129-141, 2006.
- CALICH V., VAZ C. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter, 2001.
- CHI, S. C., JUN, H. W. J. *Release rates of ketoprofen from poloxamer gels in a membraneless diffusion cell*. Pharm. Sci, v. 80, p. 280-283, 1991.
- DANGELO, J.G., FATTINI, C. A. *Anatomia humana sistêmica e segmentar*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2005.
- DUMORTIER G., GROSSIORD, J.L., AGNELY, F., CHAUMEIL, J.C. *A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics*. Pharm Res, v. 23, p. 2709-2728, 2007.
- DURÁN, N., Mattoso, L. H. C., Morais, P. C. *Nanotecnologia*. São Paulo, Art Liber, p. 1-201, 2006.
- EL GENDY, A. M., JUN, H. W., KASSEM, A. A. *In vitro release studies of flurbiprofen from different topical formulations*. Drug Dev. Ind. Pharm, v. 28, p. 823-831, 2002.
- EL-KATTAN, A.F., ASBILL, C.S., KIM, N., Michniak, B.B. *Effect of formulation variables on the percutaneous permeation of ketoprofen from gel formulations*. Drug Deliv. 7, p. 147–153, 2000.
- ELIAS, P.M. *Epidermal lipids, barrier function and desquamation*. The Journal of Investigative Dermatology, v. 80, p. 44s-49s, 1983.
- ESCOBAR-CHÁVEZ, J.J., QUINTANAR-GUERRERO, D., GANEM-QUINTANAR, A. *In vivo skin permeation of sodium naproxen formulated in pluronic F-127 gels: effect of Azone and Transcutol*. Drug Dev. Ind. Pharm. v. 31, p. 447-54, 2005.
- FITZGERALD, R. R., WALTERS, J. D. *Accumulation of topical naproxen by cultured oral epithelium*. J. of Dental Research, v. 86, p. 775-779, 2007
- HADGRAFT, J. *Skin, the final frontier*. International Journal of Pharmaceutics, v. 224, p. 1-18, 2001.
- JANSSENS, H. J. E. M., et al. *Use of oral prednisolone or naproxen for the treatment of gout arthritis: a double-blind, randomised equivalence trial*. The Lancet, v. 371, p. 1854-1860, 2008.
- JANTHARAPRAPAP, R., STAGNI, G. *Effects of penetration enhancers on in vitro permeability of meloxicam gels*. Int J. Pharm, 343, p. 26-33, 2007.
- KWON, K.W., et al. *Effects of Alcohol Addition on Gelation in Aqueous Solution of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymer*. Polym. J. v. 33, p. 404-410, 2001.

- MALMSTEN, M., LINDMAN, B. *Self-assembly in aqueous block copolymer solutions*. *Macromolecules* v. 25, p. 5440- 5445, 1992.
- Martindale de Extra Pharmacopeia, 30th Edition, p. 25-26, 1993.
- The Merck Index, 19th Edition, Merck & Co. Inc., 6330, 1989.
- MURAKAMI, A., OHIGASHI, H. *Targeting NOX, INOS and COX-2 in inflammatory cells: Chemoprevention using food phytochemicals*. *Int. J. Cancer*, v. 121, p. 2357-2363, 2007.
- PATRICK, G. L. *An Introduction to Medical Chemistry*. Oxford University Press, New York, 1995.
- POTTS, R.O., FRANCOEUR, M.L. *The influence of stratum corneum morphology on water permeability*. *The Journal for Investigative Dermatology*, v. 96, n. 4, p. 495-499, 1991.
- SCHMOLKA, I. R. *Artificial Skin I: Preparation and properties of Pluronic-127 gels for treatment of burns*. *J. Biomed. Mater. Res.*, 6, p. 571-582, 1972.
- SHAFFER, C. *Nanomedicine transforms drug delivery*. *Drug Discovery Today*, 10 (23-24), p. 1581-1582, 2005.
- SHAH, V. P., *et al.* *In vivo percutaneous penetration / absorption*. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 74, p. 1-8, 1991.
- SHARMA, *et al.* *Effect of pharmaceuticals on thermoreversible gelation of PEO-PPO-PEO copolymers*. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, p. 1-7, 2008.
- SHARMA, P.K., BHATIA, S.R., *Effect of anti-inflammatories on Pluronic F127: micellar assembly, gelation and partitioning*. *Int J. Pharm.* 278, p. 361-77. 2004
- SUH H., JUN H. W. *Physicochemical and release studies of naproxen from Poloxamer gels*. *Int. J. Pharm.* 129, p.13-20, 1996.
- TIONG, N., ELKORDY, A. A. *Effects of liquisolid formulations on dissolution of naproxen*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 73, p. 373-384, 2009.
- TODD, P. A., CLISSOLD, S. P. *Naproxen. A reappraisal of its pharmacology, and therapeutic use in rheumatic diseases and pain states*. *Drugs*. v. 40, p. 91-137, 1990.
- VERRI JR., W. A., CUNHA, T. M., MAGRO, D. A., DOMINGUES, A. C., VIEIRA, S. M., SOUZA, G. R., LIEW, F. Y., FERREIRA, S. H., CUNHA, F. Q. *Role of IL-18 in overt pain-like behaviour in mice*. *Eur. J. Pharmacol*, v. 558, p. 207-212, 2008.
- WANKA, G., HOFFMANN, H., ULBRICHT, W. *Phase Diagrams and Aggregation Behavior of Poly(oxyethylene)-Poly(oxypropylene)-Poly(oxyethylene) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions*. *Macromolecules*, v. 27, p. 4145-4159, 1994
- ZACHER, J., ALTMAN, R., BELLAMY, N., BRÜHLMANN, P., DA SILVA, J., HUSKISSON, E., TAYLOR, R. S. *Topical diclofenac and its role in pain and inflammation: an evidence-based review*. *Curr Med Res Opin.* v. 24, p. 925-50, 2008.
- ZATZ, J. L. *Skin Permeation - Fundamentals and Application*. Wheaton: Allured Publishing Corporation, 1993.