



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA - DEFA

GENUÍNA STEPHANIE GUIMARÃES CARVALHO

**HIDROGEL À BASE HIDROXIETILCELULOSE (HEC) COM LIPOSSOMAS
CONTENDO 5-FLUOROURACIL: CARACTERIZAÇÃO DE ESTABILIDADE,
PROPRIEDADES REOLÓGICAS, TEXTURA E BIOADESÃO**

FORTALEZA

2022

GENUÍNA STEPHANIE GUIMARÃES CARVALHO

HIDROGEL À BASE HIDROXIETILCELULOSE (HEC) COM LIPOSSOMAS
CONTENDO 5-FLUOROURACIL: CARACTERIZAÇÃO DE ESTABILIDADE,
PROPRIEDADES REOLÓGICAS, TEXTURA E BIOADESÃO

Trabalho de conclusão de curso a ser apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy.

Coorientadora: M^a. Luiziana Cavalcante Costa Fernandes Crisóstomo.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C323h Carvalho, Genuína Stephanie Guimarães.
HIDROGEL À BASE HIDROXIETILCELULOSE (HEC) COM LIPOSSOMAS CONTENDO 5-
FLUOROURACIL: CARACTERIZAÇÃO DE ESTABILIDADE, PROPRIEDADES REOLÓGICAS,
TEXTURA E BIOADESÃO / Genuína Stephanie Guimarães Carvalho. – 2022.
87 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy.
Coorientação: Profa. Ma. Luiziana Cavalcante Costa Fernandes Crisóstomo.

1. Hidrogéis. 2. hidroxietilcelulose. 3. 5-FU. 4. lipossomas. I. Título.

CDD 615

GENUÍNA STEPHANIE GUIMARÃES CARVALHO

HIDROGEL À BASE HIDROXIETILCELULOSE (HEC) COM LIPOSSOMAS
CONTENDO 5-FLUOROURACIL: CARACTERIZAÇÃO DE ESTABILIDADE,
PROPRIEDADES REOLÓGICAS, TEXTURA E BIOADESÃO

Trabalho de conclusão de curso a ser
apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Josimar de Oliveira Eloy (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr^a. Raquel Petrilli Eloy
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

À Deus que nunca me desamparou nos momentos de dificuldades e dúvidas, que me guiou na busca desse sonho, dentre tantos outros que tenho certeza que reservou para mim. Sou grata por me direcionar a tantos propósitos nessa jornada e me cercar de pessoas que me impulsionam.

À minha mãe, minha maior incentivadora e admiradora, melhor amiga e a quem devo minha existência. Serei eternamente grata por todas as vezes que não hesitou em lutar pela minha felicidade e pela minha educação, por ter me ensinado tanto sobre resiliência, amor e boa índole. Obrigada por sempre me oferecer todas as oportunidades que nunca lhe foram dadas e por me incentivar a conquistar o meu lugar no mundo! Você é a verdade que me leva a viver!

Aos meus irmãos mais novos Emilly, Naldo e Igor que me fazem lutar por um mundo melhor e que sempre confiaram no meu potencial, compartilhar essa vida com vocês é uma dádiva a qual serei eternamente grata! À toda minha família que sempre pediu a Deus por minha vida e por acreditarem que eu poderia realizar qualquer coisa!

Ao meu namorado Samuel por seu companheirismo, pelas palavras constantes de incentivo, pela paciência e compreensão. Obrigada por sempre ser meu admirador mais convicto! À minha sogra Neuda e sua mãe Vilma de Paula por me acolherem e sempre me oferecerem sábias palavras de conforto nos momentos que mais precisei, sem dúvidas suas orações foram combustíveis nessa trajetória.

Aos meus amigos de longa data, Romário, Anderson, Édrio, Paula, Itallo, Israel e Pedro por se fazerem presentes em tantos momentos importantes da minha vida e por ainda me acompanharem nessa jornada!

Às minhas irmãs de coração Ellen Costa, Thalia Lourenço e Liviane Rabelo, que se fizeram presentes em todos os momentos ao longo da minha graduação. Obrigada por sempre me apoiarem e serem suporte nos momentos mais difíceis, tenho orgulho das profissionais farmacêuticas que vocês se tornarão! Sou grata também aos demais amigos que fiz ao longo do curso de Farmácia, em especial meu grupo das cotadas que tornaram minha trajetória acadêmica mais leve e mais prazerosa!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Josimar Eloy, por ser esse profissional de excelência, competente, compreensivo, além desse ser humano gentil e bondoso. Agradeço por confiar no meu trabalho, por toda ajuda e cuidado e, também, por me apresentar a esse mundo inovador e tão complexo da nanotecnologia.

Aos professores da banca examinadora, Prof. Dr^a Raquel Petrilli e Prof Dr. Said Fonseca, por terem aceitado gentilmente o convite e destinado tempo na leitura deste trabalho. Agradeço as valiosas contribuições realizadas por esses profissionais de referência.

Aos funcionários, colaboradores e colegas do grupo GPNANO do laboratório CEDEFAR, por contribuírem fortemente com minha formação acadêmica, por toda ajuda sempre que necessário, pela dedicação à ciência e à educação. Sou grata pela oportunidade de trabalhar com pessoas tão honestas, prestativas e comprometidas!

Às minhas colegas de laboratório e de profissão, mas também amigas próximas: Alice Frota, Ana Carolina, Thaís Moreira e Lívia Marinho. Serei eternamente grata pela amizade construída, pela compressão, escuta ativa e companheirismo nos momentos de aflição. Vocês tornaram essa caminhada muito mais proveitosa e feliz, obrigada pela ajuda para construção desse trabalho e pelos momentos de descontração!

À minha coorientadora Luiziana Crisóstomo, por dar início ao estudo que deu origem a esse trabalho e pelas considerações realizadas.

Ao Prof. Dr. Marlus Chorilli pela colaboração neste trabalho e a Dr. Aline dos Santos pela contribuição fundamental na parte experimental e interpretação de dados.

Ao trabalho de excelência realizado pelos membros das Ipharma Jr., responsável por me proporcionar uma das melhores vivências dentro da graduação, através de um olhar mais empreendedor, do aprendizado contínuo e do compromisso com a marca e com as pessoas.

Aos demais colegas de cursos e pessoas que sempre acreditaram e incentivaram minha carreira acadêmica e profissional e, que de algum modo contribuíram para minha formação pessoal!

RESUMO

O câncer de pele não melanoma ocupa a 4ª posição mundial de incidência dentre outros tipos de câncer, sendo o carcinoma espinocelular o subtipo mais comum. O 5-FU é um fármaco amplamente usado no tratamento de câncer de pele e que atua como análogo da pirimidina, interferindo indiretamente no crescimento celular. Entretanto, as suas características físico-químicas limitam sua passagem pela principal barreira da pele, o estrato córneo, demandando a necessidade de otimizar sua entrega por meio de sua encapsulação em nanossistemas, como os lipossomas. Essas vesículas nanométricas demonstraram ser alternativas promissoras na entrega de fármacos hidrofílicos, como o 5-FU, uma vez que promovem inúmeras vantagens, dentre elas a otimização da penetração e difusão do 5-FU através das camadas da pele, que pode ser potencializado quando associados os lipossomas a promotores químicos de penetração cutânea, como Span 20. Os hidrogéis à base de polímeros biocompatíveis e biodegradáveis, como a hidroxietilcelulose (HEC), podem ser associados a dispersões lipossomais para viabilizar a sua retenção no local de ação, fornecendo propriedades mecânicas ideais para a proposta terapêutica de uma formulação semissólida, a ser aplicada por via tópica nos acometidos pelo câncer de pele. Dessa forma, o estudo teve o objetivo de desenvolver e caracterizar hidrogéis com lipossomas contendo 5-FU, além de avaliar sua estabilidade preliminar e investigar seu comportamento reológico, perfil de textura e bioadesão. Assim, a caracterização físico-química dos lipossomas demonstrou valores de 88,08 nm, 0,169, -12,3mV, para o tamanho de partícula, PDI e potencial zeta, respectivamente, além de eficiência de encapsulação em torno de 50,20%. Após a produção do hidrogel de HEC a 2%, os nanocarreadores desenvolvidos foram incorporados e, as formulações obtidas tiveram a estabilidade preliminar confirmada, mesmo após submetidas a diferentes condições no período de 30 dias, com base em parâmetros como espalhabilidade, viscosidade, pH e densidade. Ademais, a adição dos lipossomas não comprometeu as características reológicas, com comportamento pseudoplástico e tixotrópico observados normalmente nos hidrogéis. Desse modo, os sistemas aqui propostos foram desenvolvidos com sucesso, demonstrado que são potenciais alternativas terapêuticas para a entrega tópica de 5-FU, posto que apresentaram características mecânicas favoráveis a aplicação, como viscosidade e espalhabilidade, que dificultam escoamento e aumentam retenção e biodisponibilidade do fármaco no local de ação, podendo contribuir com a redução das doses terapêuticas e maior aceitabilidade dos pacientes.

Palavras-chave: Hidrogéis; hidroxietilcelulose; 5-FU; lipossomas.

ABSTRACT

Non-melanoma skin cancer occupies the 4th position in the world in terms of incidence among other types of cancer, with squamous cell carcinoma being the most common subtype. 5-FU is a drug widely used in the treatment of skin cancer and acts as a pyrimidine analogue, indirectly interfering with cell growth. However, its physicochemical characteristics limit its passage through the main barrier of the skin, the stratum corneum, demanding the need to optimize its delivery through its encapsulation in nanosystems, such as liposomes. These nanometric vesicles proved to be promising alternatives in the delivery of hydrophilic drugs, such as 5-FU, since they promote numerous advantages, among them the optimization of penetration and diffusion of 5-FU through the layers of the skin, which can be enhanced when associated liposomes to chemical skin penetration promoters, such as Span 20. Hydrogels based on biocompatible and biodegradable polymers, such as hydroxyethylcellulose (HEC), can be associated with liposomal dispersions to enable their retention at the site of action, providing ideal mechanical properties for the therapeutic proposal of a semi-solid formulation, to be applied topically in those affected by skin cancer. Thus, the study aimed to develop and characterize hydrogels with liposomes containing 5-FU, in addition to evaluating their preliminary stability and investigating their rheological behavior, texture profile and bioadhesion. Thus, the physical-chemical characterization of liposomes showed values of 88.08 nm, 0.169, -12.3mV, for particle size, PDI and zeta potential, respectively, in addition to encapsulation efficiency around 50.20%. After producing the 2% HEC hydrogel, the developed nanocarriers were incorporated and the obtained formulations had their preliminary stability confirmed, even after being subjected to different conditions for a period of 30 days, based on parameters such as spreadability, viscosity, pH and density. Furthermore, the addition of liposomes did not compromise the rheological characteristics, with pseudoplastic and thixotropic behavior normally observed in hydrogels. Thus, the systems proposed here were successfully developed, demonstrating that they are potential therapeutic alternatives for the topical delivery of 5-FU, since they presented favorable mechanical characteristics for application, such as viscosity and spreadability, which hinder flow and increase retention and bioavailability of the 5-FU drug at the site of action, which may contribute to the reduction of therapeutic doses and greater patient acceptability.

Keywords: Hydrogels; hydroxyethylcellulose; 5-FU; liposomes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação dos tipos de câncer de pele.	20
Figura 2. Estrutura química do 5- fluorouracil.	24
Figura 3. Esquema do mecanismo de ação do 5-FU.	25
Figura 4. Representação de diferentes tipos de lipossomas. (A) Lipossoma convencional. (B) Transfersomas. (C) Niossomas. (D) Etossomas. (E) Invasomas. (F) Lipossomas revestidos..	27
Figura 5. Estrutura química do tensoativo Span 20.....	31
Figura 6. Esquema representando nanocarreadores lipossômicos incorporados em hidrogel.	32
Figura 7. Representação da estrutura de HEC.....	34
Figura 8. Representação da rede de hidrogel (HEC) carreando lipossomas com Span 20 contendo 5-FU.	36
Figura 9. Esquema representativo do método de preparo dos lipossomas adotados.....	37
Figura 10. Representação do analisador de textura TA-XT plus, utilizado no teste de TPA (Texture profile analysis) para obtenção do gráfico de força x tempo.	43
Figura 11. Representação do analisador de textura TA-XT plus, utilizado no modo Adhesion Test para ensaio de bioadesão in vitro.	44
Figura 12. A) Amostras antes da centrifugação. B) Amostras após centrifugação. Amostras armazenadas a temperatura ambiente (25°C).	49
Figura 13. Grupo controle das formulações de estabilidade armazenadas a 25°C durante 30 dias.....	52
Figura 14. Grupo das formulações de estabilidade armazenadas a 50°C durante 30 dias.....	54
Figura 15. Gráficos elaborados a partir dos valores médios de pH dos diferentes grupos de amostras diluídas 1: 10 (p/v) em função do tempo em dias. Grupos: Hidrogel puro (HP), Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU (HL 5-FU) e Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU com Span 20 (HL 5-FU Span 20) armazenados a 25°C durante 30 dias. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise two way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.	56
Figura 16. Gráficos elaborados a partir dos valores médios de pH dos diferentes grupos de amostras diluídas 1: 10 (p/v) em função do tempo em dias. Grupos: Hidrogel puro (HP), Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU (HL 5-FU) e Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU com Span 20 (HL 5-FU Span 20) armazenados a 50°C durante 30 dias. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise two way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.	57
Figura 17. Representação gráfica da densidade em função do tempo em dias sob diferentes condições de armazenamento.	59
Figura 18. Representação gráfica da análise da espalhabilidade das formulações sob diferentes condições, em que a área de espalhabilidade está função dos pesos aplicados, em diferentes dias.	60
Figura 19. Representação gráfica da viscosidade dos grupos analisados em função do tempo, com leitura realizada a 30 rpm em temperatura ambiente (25°C).	62
Figura 20. Reogramas de fluxo das formulações obtidos a partir da relação entre tensão de cisalhamento “shear stress” e taxa de cisalhamento “shear rate” a temperatura de 32 °C. Os símbolos cheios representam as curvas ascendentes e símbolos vazios às curvas descendentes.	66
Figura 21. Reogramas de variação do módulo de armazenamento G' (cor azul) e de perda G'' (cor verde), representada no eixo y, em função da frequência (eixo X) a temperatura de 32°C. (A) Hidrogel puro. (B) Hidrogel + lipossoma branco. (C) Hidrogel + lipossoma branco contendo Span 20. (D) Hidrogel + lipossoma contendo 5-FU. (E) Hidrogel + lipossoma com Span 20 contendo 5-FU.	68

Figura 22. Gráficos de perfil de textura das formulações à temperatura de 32°C. (A)Hidrogel puro (B)Hidrogel + Lipossoma branco (C)Hidrogel + Lipossoma 5FU (D)Hidrogel + Lipossoma branco com Span20 (E)Hidrogel + Lipossoma 5FU com Span 20. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise one way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*. 71

Figura 23. Gráficos dos ensaios de bioadesividade das formulações a temperatura de 32°C. (A)Hidrogel puro (B)Hidrogel + Lipossoma branco (C)Hidrogel + Lipossoma 5FU (D)Hidrogel+ Lipossoma branco com Span20 (E)Hidrogel + Lipossoma 5FU com Span 20. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise one way ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)* 73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização físico-química dos lipossomas com Span 20 contendo 5-FU.....	45
Tabela 2. Avaliação macroscópica dos diferentes grupos de hidrogéis armazenados a 25°C durante 30 dias.....	53
Tabela 3. Avaliação macroscópica dos diferentes grupos de hidrogéis armazenados a 50°C durante 30 dias.....	55
Tabela 4. Valores de densidades obtidos através das médias registradas ao longo de 30 dias a temperatura ambiente.	58
Tabela 5. Valores de índice de consistência, índice de fluxo (n) consistência (K) e coeficiente de regressão linear (R^2) a temperatura de 32°C.	66
Tabela 6. Valores do expoente viscoelástico (n), resistência do gel (S) e do coeficiente de regressão linear (R^2) correspondente as suas respectivas amostras.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FU	5-fluorouracil
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEC	Carcinoma espinocelular
DLS	Espalhamento dinâmico da luz
EE	Eficiência de encapsulação
HEC	Hidroxietilcelulose
HP	Hidrogel puro
HL 5-FU	Hidrogel com lipossoma contendo 5-FU
HL 5-FU SPAN20	Hidrogel com lipossoma contendo 5-FU com Span 20
HLB	Hidrogel com lipossoma branco
HLB SPAN20	Hidrogel com lipossoma branco contendo Span 20
MSC	Câncer de pele melanoma
CPNM	Câncer de pele não melanoma
PDI	Índice de polidispersividade
SPC	Fosfatidilcolina de óleo de soja
TPA	Análise do perfil de textura
PBS	Tampão fosfato
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Câncer de pele	19
3.2 Terapias tópicas aplicadas ao tratamento de câncer de pele	22
3.3 5-Fluorouracil	23
3.4 Nanossistemas de liberação de fármacos para tratamento de câncer de pele.....	26
3.5 Promotores de absorção cutânea.....	28
3.6 Hidrogéis e sua aplicação na terapia oncológica	31
3.6.1 Hidroxietilcelulose.....	33
4. METODOLOGIA.....	37
4.1 Preparo de lipossomas	37
4.2 Caracterização Físico-Química dos lipossomas	38
4.2.1 Tamanho de partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta.....	38
4.2.2 Determinação da Eficiência de Encapsulação	38
4.3 Preparação do hidrogel	39
4.4 Estabilidade preliminar da formulação.....	39
4.4.1 Teste de centrifugação e ensaio de estresse térmico	39
4.4.2 Determinação do valor de pH.....	40
4.4.3 Análise da densidade	40
4.4.4 Análise da espalhabilidade.....	41
4.4.5 Análise da viscosidade.....	41
4.5 Avaliação do perfil reológico da formulação.....	41
4.6 Análise do perfil de textura (TPA).....	42
4.7 Ensaio de bioadesividade in vitro.....	43
4.8 Análise estatística	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 Caracterização físico química dos lipossomas	45
5.2 Incorporação de lipossomas em hidrogel de HEC (2%).....	47
5.3 Estabilidade preliminar.....	48
5.3.1 Teste de centrifugação	49
5.3.2 Ensaio de estresse térmico.....	51
5.3.3 Determinação do pH.....	56
5.3.4 Determinação de densidade	58
5.3.5 Espalhabilidade.....	59
5.4 Análise de viscosidade.....	61
5.5 Análises reológicas dos sistemas	62
5.5.1 Ensaio reológico contínuo	63
5.5.2 Ensaio reológico oscilatório	66
5.6 Ensaio de bioadesão.....	71
6. CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS.....	76

1. INTRODUÇÃO

A pele é o principal e maior órgão responsável por atuar como barreira física entre o organismo do indivíduo e o meio, desempenhando sua função de forma passiva e ativa na defesa contra agentes químicos, físicos e biológicos (DĄBROWSKA *et al.*, 2018; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020). Possui como estrutura básica três principais camadas: epiderme, derme e hipoderme (GOYAL; THATAI; SAPRA, 2017). A barreira do estrato córneo é uma importante subcamada da epiderme, composta por células hiperqueratinizadas que se tornam um obstáculo importante a ser superado quando se trata da entrega de fármacos por via tópica (YUAN *et al.*, 2022). Ademais, a diversidade e frequente atividade celular, além de exposição a agentes nocivos (como, radiações ultravioletas, patógenos, compostos químicos) ou a predisposição genética são irrefutáveis contribuintes para o surgimento de alterações como a proliferação desenfreada e maligna das células que compõem esses tecidos, podendo desencadear a origem do câncer de pele (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020).

O câncer de pele, pode ser classificado em dois subtipos: carcinoma não melanoma e melanoma (CULLEN *et al.*, 2020). O câncer de pele não melanoma corresponde a aproximadamente 95% dessa patologia, ocupando a 4ª posição do ranking mundial dentre os cânceres de maior incidência, enquanto o carcinoma espinocelular (CEC), ou carcinoma celular escamoso, é o segundo câncer mais comum (GOYAL; THATAI; SAPRA, 2017; HOSSEINI; KASRAIAN; REZVANI, 2017; SUNG *et al.*, 2021). O CEC ocorre devido ao crescimento descontrolado dos queratinócitos da epiderme, ou seus anexos, e está correlacionado a diversos fatores de risco, todavia é válido destacar que acomete com maior frequência homens brancos de meia idade (QUE; ZWALD; SCHMULTS, 2018). Considerando que a terapia padrão ouro é a remoção cirúrgica tipo excisão com avaliação pós-operatória das margens clínicas, é necessário ressaltar que existem imensuráveis desvantagens no que diz respeito à dor e cicatrização, podendo também afetar a condição estética e, conseqüentemente, a qualidade de vida do paciente (PANDEY *et al.*, 2021; STRATIGOS *et al.*, 2020a). Assim, dentre as diversas outras terapias como radioterapia, terapia fotodinâmica, crioterapia, eletrodissecação e curetagem, as terapias tópicas podem ser alternativas menos invasivas e com melhor tolerabilidade pelo paciente (STRATIGOS *et al.*, 2020a; WALKER; HARDWICKE, 2021) (HARDWICKE, 2021).

Posto isso, na terapia tópica são empregados agentes antineoplásicos, tais como 5-fluorouracil (5-FU), imiquimod, derivados de platina, como, cisplatina ou carboplatina, taxanos, entre outros (COLLINS; SAVAS; DOERFLER, 2019; HOSSEINI; KASRAIAN; REZVANI, 2017). Esses agentes citotóxicos costumam ser associados entre si, ou ainda combinados a outras técnicas de tratamento como a terapia fotodinâmica, a fim de potencializar seus efeitos antitumorais e promover maior sucesso terapêutico (GUTZMER *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019). Outrossim, esses medicamentos podem induzir a uma série de efeitos colaterais como: erupção cutânea, prurido, eritema (OZER *et al.*, 2021; WALKER; HARDWICKE, 2021). Além disso, um fator que deve ser evidenciado com relação a terapia tópica é a dificuldade de penetração cutânea dos fármacos, gerando redução da biodisponibilidade do fármaco, implicando na necessidade de aplicações mais frequentes e/ou em maiores dosagens, o que pode acarretar no comprometimento da adesão do paciente (KAUVAR *et al.*, 2015; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020).

O 5-FU é um fármaco hidrofílico, análogo da pirimidina, amplamente utilizado no tratamento de diferentes tipos de câncer, inclusive em CEC (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022). É considerado um agente citotóxico que atua na síntese de DNA, inibindo o processamento do RNA celular e induzindo uma parada no crescimento das células (EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; YAMAN *et al.*, 2020). Topicamente, costuma ser administrado na forma de creme a 5%, entretanto pode apresentar desvantagens quanto ao seu uso como: ação restrita a camadas mais superficiais, já que se trata de uma molécula de baixo peso molecular, potencial toxicidade sistêmica, biodisponibilidade limitada, além dos relatos na literatura de quimiorresistência devido a excessiva exposição tumoral ao fármaco (CHERALAYIKKAL; MANOJ; SAFNA HUSSAN, 2022; EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021). À frente dessas problemáticas de reduzida capacidade de permeação e retenção associadas às barreiras biológicas da pele, é conveniente sua associação com sistemas de liberação que oportunizem seu transporte até o local de ação (ELMOWAFY, 2021; LOLLO *et al.*, 2018).

Ao longo das últimas décadas, a nanotecnologia vem sendo uma aliada da indústria farmacêutica, mediando entrega alvo-específica de medicamentos, com melhor perfil de segurança aos pacientes, sendo adotada como estratégia de desenvolvimento de medicamentos a fim de adaptar fármacos já utilizados, devido aos benefícios associados a ela, bem como meio de reduzir custos da indústria farmacêutica (SAHU *et al.*, 2019). Ela consiste no uso de estruturas, dispositivos e sistemas em escala compreendida entre 1-1000 nm (BAYDA *et al.*, 2020). Com intuito de otimizar a biodistribuição, aumentar a estabilidade, contribuir com a redução dos efeitos colaterais, prolongando a liberação e o tempo de meia vida do fármaco

(LARGE *et al.*, 2021) , os sistemas de liberação de fármacos, como os nanocarreadores vêm sendo utilizados a fim de obter êxito terapêutico (KHAN *et al.*, 2021; RATA *et al.*, 2021).

Por sua vez, os lipossomas são vesículas nanométricas, constituídas por fosfolipídios em conformação de bicamada ao redor de um núcleo aquoso, que permitem a encapsulação de moléculas hidrofílicas como o 5-FU, podendo facilitar a sua permeabilidade pelas camadas da pele até atingir o local alvo da ação (COSCO *et al.*, 2015; PANDEY *et al.*, 2021; SAHU *et al.*, 2019; SHAH *et al.*, 2020). Ademais, em estudo prévio, Crisóstomo e colaboradores (2022) desenvolveram lipossomas compostos por colesterol, SPC e Span 20, em que esse último demonstrou atuar como um promotor de penetração cutânea favorecendo uma entrega mais efetiva do 5-Fluorouracil (5-FU) para o tratamento do carcinoma espinocelular (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022). Inclusive, essas nanopartículas podem, ainda, ser associadas a estratégias que colaborem com seu potencial de penetração, a saber: promotores de penetração cutânea físicos ou químicos (NIKOLIĆ *et al.*, 2022). Os promotores de penetração químicos consistem em moléculas que, quando adicionadas em formulações, potencializam a difusão passiva do fármaco através das membranas biológicas, por exemplo os sulfóxidos e seus análogos, terpenos, ácidos graxos, álcoois, álcoois graxos e glicóis, por fim os tensoativos, incluindo o Span 20 (BARRY, 2001; ELMOWAFY, 2021; LÓPES-CASTELLANO *et al.*, 2000; WILLIAMS; BARRY, 2004).

Ademais, os hidrogéis são obtidos de polímeros hidrofílicos que constituem redes tridimensionais transligadas e possuem alto teor (até 99,5%) de água incorporada, o que favorece sua biocompatibilidade e similaridade com os tecidos do organismo, adicionado a isso possuem capacidade de se moldar ao local de aplicação com reduzido risco de toxicidade e minimizado potencial irritativo em contato com a pele (ZHANG *et al.*, 2020). A título de exemplo, a hidroxietilcelulose (Natrosol®) é um exemplo de polímero não iônico bastante utilizado para produção de hidrogéis altamente biocompatíveis, biodegradáveis e atóxicos (CIOLACU; SUFLET, 2018; RISALITI *et al.*, 2021). Para além, alguns hidrogéis apresentam propriedades bioadesivas, como os polímeros a base de celulose, assim tanto favorecem um maior tempo de contato do fármaco com as membranas biológicas, promovendo uma maior permeação do ativo para o local de ação, como também oportunizam a melhora na deposição em superfícies não horizontais (CASCONI; LAMBERTI, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2020; VON ZUBEN, 2019).

À luz disso, o uso de hidrogéis no contexto de terapias tópicas, em particular no tratamento do câncer de pele, é uma realidade em virtude das suas inúmeras vantagens podendo ainda estar associado com a nanotecnologia, atuando sinergicamente na otimização da entrega

de fármacos (RISALITI *et al.*, 2021; SHARMA; TIWARI, 2020; VON ZUBEN, 2019). Dessa forma, a incorporação de lipossomas em géis, para administração por via tópica, vem sinalizando seu potencial como um sistema de liberação tópica de fármacos antitumorais, seja pela sua biocompatibilidade com organismo humano, sua biodegradabilidade ou ainda seu reduzido risco de toxicidade, uma vez que há otimização das concentrações administradas, gerando menores desconfortos, e, com isso, uma maior aceitabilidade do paciente ao tratamento, com objetivo de promover maiores sucessos terapêuticos (KASINSKI *et al.*, 2021; SADEGHI-ABANDANSARI *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2020).

Estudos como o proposto por HUSSAIN *et al.* (2015), já demonstram o 5-FU incorporado em lipossomas com intuito de serem administrados por via tópica na apresentação de gel, apresentando resultados mais vantajosos em comparação com a 5-FU na sua forma convencional, ou seja, sem o uso de nanocarreadores (HUSSAIN *et al.*, 2015). Todavia, os lipossomas geralmente são dispersos em meio aquoso, como em soluções tampão de fosfato, dificultando sua administração tópica em decorrência da baixa capacidade de retenção, assim os hidrogéis se enquadram como um veículo viscoso que adere à pele e não escorre (PETRILLI *et al.*, 2018; DE LEO *et al.*, 2022; HEMMINGSEN *et al.*, 2021), promovendo consistência semissólida adequada para uso tópico (RAJINIKANTH; CHELLIAN, 2016).

Em síntese, a necessidade de aprimorar as práticas terapêuticas associadas ao câncer de pele possui significativa influência na adoção de tecnologias farmacêuticas inovadoras, como é o caso da nanotecnologia. Nesse cenário, o presente trabalho teve propósito de desenvolver hidrogéis de hidroxietilcelulose para incorporação de lipossomas contendo Span 20 carreando 5-FU, desenvolvidos em estudos anteriores, e avaliar a estabilidade preliminar dos sistemas obtidos e suas propriedades físico-químicas, com intuito de otimizar a veiculação do fármaco, proporcionando maior sucesso terapêutico, paralelamente melhorando a qualidade de vida de pacientes acometidos pelo carcinoma espinocelular. Tendo em vista isso, futuros estudos podem melhor avaliar perfil e cinética de liberação, além da capacidade de penetração cutânea da formulação aqui desenvolvida.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar hidrogéis de hidroxietilcelulose (HEC) veiculando lipossomas com Span 20 contendo 5-FU e caracterizar quanto à estabilidade preliminar, propriedades reológicas, de textura e bioadesão.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar o hidrogel à base de hidroxietilcelulose (HEC);
- Produzir lipossomas a base de SPC, colesterol e Span 20 contendo 5-FU;
- Caracterizar os lipossomas com Span 20 contendo 5-FU, através de tamanho de partícula, índice de polidispersividade, potencial zeta e eficiência de encapsulação;
- Incorporar lipossomas com Span 20 contendo 5-FU em hidrogel de HEC;
- Avaliar a estabilidade do hidrogel associado aos nanocarreadores;
- Analisar o perfil reológico do hidrogel contendo lipossomas com Span 20 por meio de ensaios reológicos contínuo e oscilatórios;
- Caracterizar formulações através da análise de perfil de textura;
- Conferir potencial de bioadesão *in vitro* do hidrogel com sistema nanoestruturado.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Câncer de pele

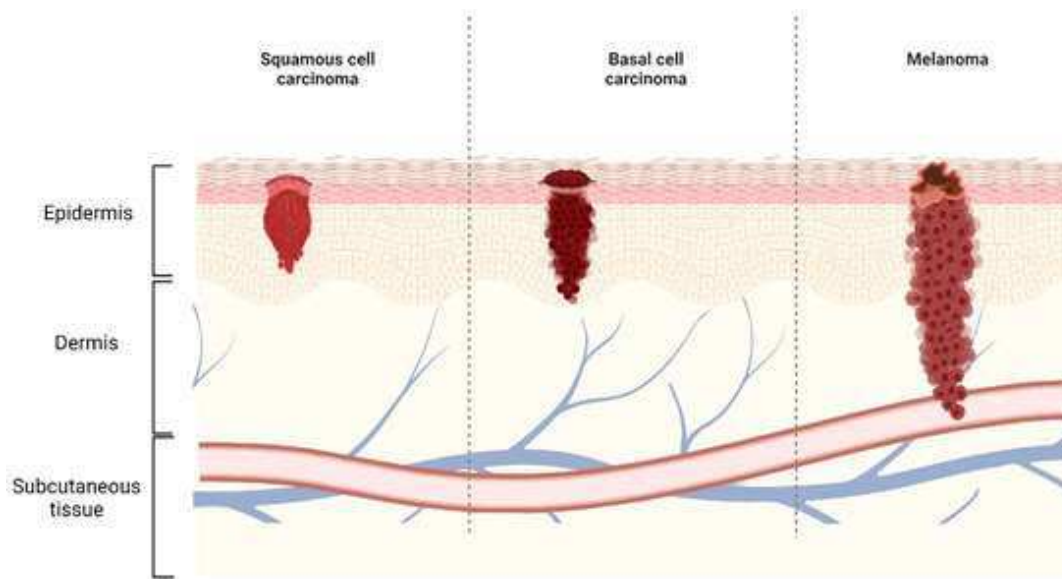
A pele tem como estrutura básica três principais camadas: epiderme, derme e hipoderme. Simultaneamente, elas atuam passiva e ativamente como barreira física de proteção contra choques mecânicos, radiação ultravioleta, invasão de micro-organismos patogênicos e outras substâncias estranhas, além de contribuir com a regulação de diversas funções fisiológicas, desde a manutenção da temperatura até a detecção de dor e lesões (DĄBROWSKA *et al.*, 2018; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020). A epiderme é subdividida em estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato germinativo, em que o estrato córneo, sendo uma barreira densa e queratinizada, tem função primordial no controle da perda excessiva de água do corpo em decorrência da sua densidade e presença de constituintes lipídicos (GOYAL; THATAI; SAPRA, 2017; MADISON, 2003).

Em se tratando de um órgão que reveste toda a superfície corporal, a pele está constantemente sujeita a sofrer alterações, uma vez que se encontra exposta a agentes danosos, como radiação solar, patógenos, lesões, compostos químicos, dentre outros (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020; LI; CARY; MAIBACH, 2018). Além disso, em virtude da sua diversidade celular, assim como sua capacidade e necessidade de renovação celular, a pele humana está susceptível a sofrer mutações que estimulam a multiplicação e proliferação anormal de suas células, podendo desencadear no surgimento de lesões pré-cancerosas (como a queratose actínica) e até no câncer de pele propriamente dito (GOYAL; THATAI; SAPRA, 2017; HEDBERG *et al.*, 2022).

Segundo GOYAL e colaboradores, o câncer de pele pode ser classificado como câncer de pele melanoma (MSC) ou câncer de pele não melanoma (CPNM) (GOYAL; THATAI; SAPRA, 2017). Como exemplo deste último podem ser citados o carcinoma basocelular cutâneo (CBC) e o carcinoma espinocelular (CEC), que difere do câncer do tipo melanoma (Figura 1), uma vez que está associado a melhores prognósticos e sobrevida dos pacientes (BRANDT; MOORE, 2019). Contudo, ainda que o CPNM apresente comportamento menos agressivo e potencialmente menos invasivo, esse tipo de câncer corresponde a cerca de mais de 95% de todos os cânceres de pele (HOSSEINI; KASRAIAN; REZVANI, 2017; MENDES *et al.*, 2022). Sung e colaboradores apontaram que o CPNM ocupa a 4ª posição de câncer mais incidente, apresentando mais de um milhão de novos casos no mundo, sendo também responsável por um considerável número de mortes a nível global (SUNG *et al.*, 2021).

No Brasil, o câncer de pele corresponde a 27% dos tumores malignos, demonstrando ser o câncer mais comum do país (INCA, 2020). Enquanto isso, o CEC pode ser considerado o segundo câncer de pele mais comum (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020)), responsável por cerca 20% a 50% de todos os cânceres de pele (QUE; ZWALD; SCHMULTS, 2018; WALDMAN; SCHMULTS, 2019).

Figura 1. Representação dos tipos de câncer de pele.



Fonte: Mathiyalagan *et al.* (2022).

O carcinoma espinocelular (CEC), ou carcinoma celular escamoso, diz respeito ao crescimento desenfreado de células queratinizadas (queratinócitos) da epiderme ou estruturas anexas, comumente tendo como precursores as lesões como queratose actínica (HEDBERG *et al.*, 2022). O CEC *in situ* ou doença de Bowen ocorre quando as mutações carcinogênicas se restringem às camadas epidermais (Figura 1), contudo a ausência de diagnóstico precoce ou fatores de riscos associados aos pacientes podem resultar na proliferação dessas células malignas, potencialmente invadindo camadas mais internas, como a derme, até atingir tecidos proximais e desencadear um quadro metastásico (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020; LOSQUADRO, 2017). Dessa forma, os multifatores de riscos da doença estão basicamente associados a predisposição genética e condição clínica do indivíduo, como também a exposição a agentes externos: indivíduos de pele clara (I-III na Escala Fitzpatrick), idade, sexo (predominante masculino), imunossuprimidos, quadro de cicatrizes crônicas e exposições ambientais (por exemplo, arsênico) (KAUVAR *et al.*, 2015; QUE; ZWALD; SCHMULTS,

2018). Dentre esses fatores de riscos, a exposição à radiação ultravioleta se apresenta como um latente mutagênico celular, seja através da luz solar, terapias UV ou cabines de bronzeamento.

À vista disso, é importante salientar que a idade avançada está diretamente associada à exposição crônica e cumulativa à radiação ultravioleta, que por sua vez estimula o desencadeamento do carcinoma espinocelular, predominantemente em homens de meia idade (KAUVAR *et al.*, 2015; WALDMAN; SCHMULTS, 2019). Comumente, isso ocorre devido a mutação e inativação do gene supressor de tumor p53, responsáveis por alterar o ciclo celular e viabilizar a propagação dos queratinócitos, uma vez que essas células locais são afetadas, a perda de funções fisiológicas e alterações morfológicas das mesmas favorecem a progressão tumoral (CORCHADO-COBOS *et al.*, 2020; LOSQUADRO, 2017; NEHAL; BICHAKJIAN, 2018; PIIPPONEN *et al.*, 2021). Tipicamente, os locais do corpo humano com maior exposição solar, tais como cabeça, pescoço, dorso das mãos, dentre outros, costumam ser acometidos (KALLINI; HAMED; KHACHEMOUNE, 2015; STRATIGOS *et al.*, 2020b)). Portanto, hábitos comportamentais são fundamentais de serem praticados, como evitar a exposição prolongada ao sol, adotando o uso prévio e diário de filtros solares com FPS acima de 30, o uso de dispositivos com proteção UV (exemplo: óculos de sol), dentre outras medidas preventivas, como a detecção precoce, são fomentadas por órgãos de saúde com objetivo de conter o avanço do CEC (MENDES *et al.*, 2022; INCA, 2020; STRATIGOS *et al.*, 2020b).

Após a confirmação do diagnóstico, através do estudo histológico e da avaliação clínica, será definido o manejo terapêutico com base em condutas que visam extinguir completamente o tumor, reduzindo os riscos de recorrência e metástase, restituindo a função original do tecido e preservando ao máximo a estética, com intuito de não comprometer a qualidade de vida do paciente (KAUVAR *et al.*, 2015). Além disso, o próprio custo da intervenção terapêutica, a tolerância e aceitação do paciente são critérios levados em consideração (KAUVAR *et al.*, 2015; STRATIGOS *et al.*, 2020a). Dentre as alternativas terapêuticas para CEC podem ser citadas: radioterapia, eletrodissecação e curetagem, crioterapia até a cirurgia micrográfica de Mohs, que em geral é o procedimento indicado para casos de altos riscos e recorrentes, dados os seus benefícios de preservação de tecido e elevada taxa de cura, ela consiste da retirada de camadas do câncer, enquanto em paralelo é realizada análise no microscópio até garantir completa remoção do tecido, contudo seu custo é maior comparado a outras práticas clínicas já citadas, justamente por se tratar de uma técnica mais sofisticada que demanda especialistas (KAUVAR *et al.*, 2015; PIIPPONEN *et al.*, 2021; STRATIGOS *et al.*, 2020a; WALKER; HARDWICKE, 2021). Nesse cenário, o tratamento de primeira escolha costuma ser a remoção cirúrgica do tipo excisão com margens clínicas

seguidas de avaliação pós-operatória padrão (KAUVAR *et al.*, 2015; STRATIGOS *et al.*, 2020b). Ademais, em casos de baixo riscos, a terapia tópica é uma opção preferível ao quadro de dor e cicatrizes, que são resquícios prevalentes do procedimento cirúrgico e determinantes na aceitação do paciente ao tratamento do câncer de pele (KAUVAR *et al.*, 2015; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020).

3.2 Terapias tópicas aplicadas ao tratamento de câncer de pele

As terapias tópicas são frequentemente utilizadas como alternativas a cirurgias, no tratamento de câncer de pele (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020). Em casos de CPNM, costumam ser utilizadas para tratar lesões mais superficiais, como carcinoma espinocelular cutâneo *in situ*, sendo uma alternativa válida que evita expor o paciente a procedimentos mais invasivos (NEHAL; BICHAKJIAN, 2018). Na literatura, essa vertente de intervenção pode ser aliada a estratégias que visam potencializar os efeitos de antineoplásicos, como em caso de associações terapêuticas, e reduzir efeitos adversos de adjuvantes presentes nos medicamentos utilizados, tornando a administração do tratamento mais tolerável ao paciente e promovendo assim aumento de chances de sucesso terapêutico, como consequência de uma maior aceitabilidade (COLLINS; SAVAS; DOERFLER, 2019).

No que diz respeito às terapias tópicas disponíveis no mercado, a literatura engloba o uso de antineoplásicos como imiquimod, 5-Fluorouracil, derivados de platina (como cisplatina ou carboplatina), metotrexato, taxanos, gencitabina, dentre outros (HOSSEINI; KASRAIAN; REZVANI, 2017; WALKER; HARDWICKE, 2021) . Além disso, os agentes citotóxicos costumam ser combinados entre si, podendo também estar associados a outras intervenções como a terapia fotodinâmica, empregada após a aplicação tópica do fármaco em forma de solução, gel ou creme (GUTZMER *et al.*, 2019). Estudos relatam que a utilização de luz e de um fármaco fotossensibilizante, como o ácido 5-aminolevulínico (ALA), demonstram desempenho promissor no tratamento de câncer de pele, uma vez que são capazes de atuar como mecanismo de indução a degradação celular (PANDEY *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2019) .

As terapias tópicas são frequentemente utilizadas como alternativas a cirurgias, no tratamento de câncer de pele (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020). Em casos de CPNM, costumam ser utilizadas para tratar lesões mais superficiais, como carcinoma espinocelular cutâneo *in situ*, sendo uma alternativa válida que evita expor o paciente a procedimentos mais invasivos (NEHAL; BICHAKJIAN, 2018)). Na literatura, essa vertente de intervenção pode

ser aliada a estratégias que visam potencializar os efeitos de antineoplásicos, como em caso de associações terapêuticas, e reduzir efeitos adversos de adjuvantes presentes nos medicamentos utilizados, tornando a administração do tratamento mais tolerável ao paciente e promovendo assim aumento de chances de sucesso terapêutico, como consequência de uma maior aceitabilidade (COLLINS; SAVAS; DOERFLER, 2019).

Nesse sentido, alguns fatores devem ser considerados quando selecionadas as terapias tópicas, uma vez que mesmo sendo via de administração atrativa, pois evita metabolismo de primeira passagem, possibilita automedicação, costumeiramente é segura e não invasiva, estimulando maior adesão do paciente, como todas as outras opções de tratamento, apresentam algumas limitações (SAHU *et al.*, 2019). Dentre elas, podemos citar as seguintes limitações: penetração reduzida do fármaco, e consequente menor biodisponibilidade do fármaco, necessitando de maiores números de aplicações, que podem comprometer a adesão do paciente (PANDEY *et al.*, 2021). Além das possíveis reações adversas, tais como dor, prurido, edema, dentre outros (KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020; WALKER; HARDWICKE, 2021). A eventual existência de toxicidade local e/ou sistêmica também pode desencadear questionamentos quanto ao uso desses agentes (PANDEY *et al.*, 2021).

3.3 5-Fluorouracil

O 5-Fluorouracil (5-FU) é um quimioterápico citotóxico amplamente utilizado para o tratamento de tumores cutâneos, aplicado a tumores sólidos do trato gastrointestinal, ovário, cabeça, pescoço, cérebro, mama, além de outros (LOLLO *et al.*, 2018; SAMY *et al.*, 2020). Adotado em meados da década de 50, esse análogo da pirimidina (Figura 2) atua como antimetabólito e possui como mecanismo de ação a interferência na síntese de DNA de células em divisão ativa e inibição do processamento do RNA, uma vez que é capaz de agir inibindo a ação da enzima timidilato sintetase, responsável pela produção de pirimidina, um importante componente nos processos de replicação celular (Figura 3), isso resulta, portanto, na interrupção do crescimento celular e apoptose (CEILLEY, 2012; SAHU *et al.*, 2019). Comercialmente, o 5-FU está disponível, prioritariamente, na apresentação de creme com concentrações de 0,5%, 1% até 5%, ou até como solução a 1%, 2% ou 5% para uso tópico, sendo o creme a 5% o mais comumente utilizado (RATA *et al.*, 2021). Um aspecto vantajoso e facilitador dessa alternativa terapêutica é que sua aplicação pode ser realizada pelo próprio paciente ou cuidador (COLLINS; SAVAS; DOERFLER, 2019; CULLEN *et al.*, 2020). A literatura demonstra que o

5-FU intravenoso e oral já foram empregados como protocolo de tratamento sistêmico, contudo as limitações na absorção gastrointestinal contribuíram para seu desuso por via oral (SETHY; KUNDU, 2021; VODENKOVA *et al.*, 2020).

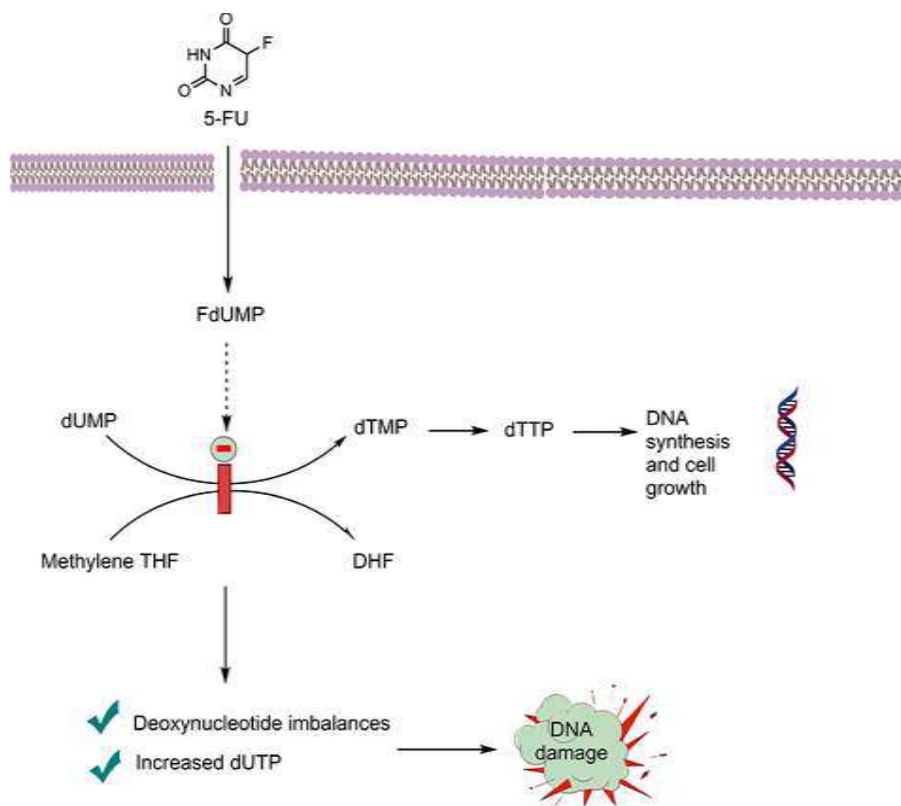
Figura 2. Estrutura química do 5- fluorouracil.



Fonte: Pubchem (2022).

No se diz respeito às vantagens do 5-FU, há também discussões sobre taxas de cura que variam de 27% a 90% demonstrando a eficácia desse fármaco, além de estudos que apontam um custo significativamente menor no tratamento quando comparado a outras escolhas terapêuticas (COLLINS; SAVAS; DOERFLER, 2019; YOON *et al.*, 2018). Em alguns casos, o 5-FU pode ser associado a outros agentes citotóxicos ou outras opções terapêuticas, a fim de ser obtida sinergia farmacológica que potencialize seus efeitos (ZHANG *et al.*, 2019), como demonstrado por Sethy e Kundu (2021) que cita moduladores enzimáticos, como a Leucovorina e o Metotrexato, para obtenção de melhores resultados na terapia com 5-FU (SETHY; KUNDU, 2021).

Figura 3. Esquema do mecanismo de ação do 5-FU.



Fonte: Entezar-Almahdi *et al.* (2020).

Em contrapartida, o uso 5-FU pode incluir toxicidade sistêmica, já que não é seletivo para células cancerígenas e possui a sua biodisponibilidade e sua meia-vida plasmática reduzida, necessitando de dosagens mais frequentes e/ou mais elevadas (SAMMY *et al.*, 2020). Isso acarreta em efeitos adversos, locais ou sistêmicos, que podem incluir erupção cutânea, febre, náusea, vômito, neuropatia periférica e lesão hepática, provavelmente desencadeando o abandono precoce do paciente ao tratamento, afetando as taxas de cura (EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; OZER *et al.*, 2021). O seu perfil farmacocinético desfavorável também está associado por se tratar de uma molécula pequena (Figura 2), de baixo peso molecular e com coeficiente de partição de -0,89, determinando seu caráter hidrofílico, contribuindo para limitação da sua capacidade de atravessar as barreiras da pele (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022; KRISHNAN; MITRAGOTRI, 2020; LOLLO *et al.*, 2018). Além disso, a quimiorresistência ao 5-FU é uma realidade que vem sendo evidenciada após exposição repetida, podendo ocorrer devido ao acúmulo tecidual não seletivo, em que há uma redução da concentração do fármaco no microambiente tumoral, conseqüentemente gerando a necessidade da administração de maiores doses terapêuticas. Assim, essa resistência ao fármaco, inata ou adquirida, pode ser

atribuída basicamente a capacidade mecânica de algumas células cancerígenas de se sobressair da ação do fármaco (CHERALAYIKKAL; MANOJ; SAFNA HUSSAN, 2022; SAMY *et al.*, 2020; SETHY; KUNDU, 2021; VODENKOVA *et al.*, 2020).

Diante do exposto, atualmente vêm sendo consideradas novas estratégias terapêuticas, a fim de contornar essas limitações e oportunizar a melhora da biodistribuição, potencializando o efeito antitumoral do 5-FU (CHERALAYIKKAL; MANOJ; SAFNA HUSSAN, 2022; LOLLO *et al.*, 2018). A incorporação dos fármacos em sistemas de liberação de fármacos nanoestruturados é uma alternativa concreta que possibilita: proteger o fármaco encapsulado, aumentar sua estabilidade, otimizar sua passagem pelas camadas da pele, promover terapia mais direcionada, viabiliza maior retenção no local de ação de interesse, redução da dosagem do tratamento convencional, contribui com a minimização dos efeitos colaterais inerentes aos fármacos usados, mais efetividade na entrega para as células tumorais e propicia maior adesão dos pacientes (CHERALAYIKKAL; MANOJ; SAFNA HUSSAN, 2022; PANDEY *et al.*, 2021; SAMY *et al.*, 2020).

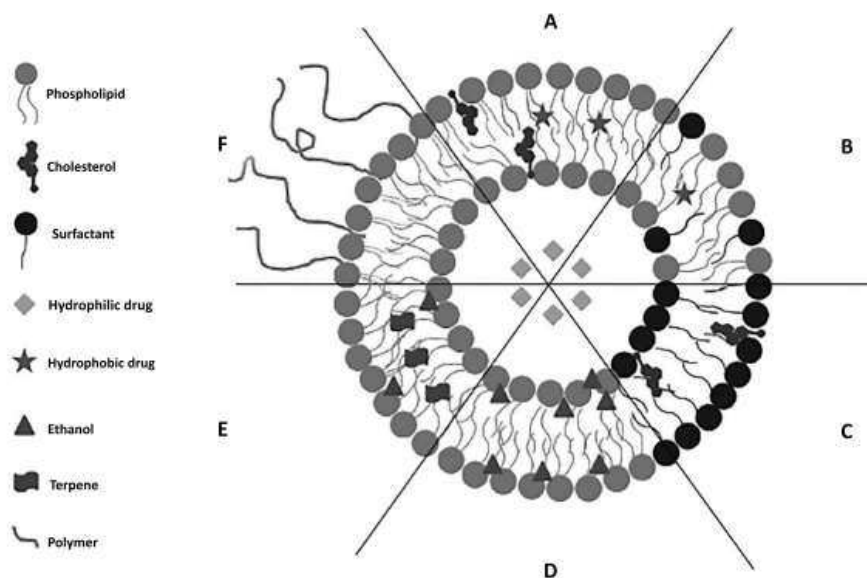
3.4 Nanossistemas de liberação de fármacos para tratamento de câncer de pele

A nanotecnologia é um campo da ciência que envolve o uso estruturas, dispositivos e sistemas em escala de 1-1000 nm, podendo ser aplicada a diversas áreas, desde uso em energias renováveis até biomedicina (BAYDA *et al.*, 2020). Ela vem se tornando uma importante aliada na entrega alvo-específica de antineoplásicos, através da ampla gama de nanossistemas biocompatíveis desenvolvidos, que visam uma maior eficácia e melhor perfil de segurança medicamentosos, colaborando com a redução da toxicidade sistêmica e maior perspectiva de adesão ao tratamento (DESSALE; MENGISTU; MENGIST, 2022). Além disso, muitas vezes é utilizada estrategicamente para realizar a terapia combinada de fármacos com finalidade de serem obtidos efeitos sinérgicos, viabilizando terapia mais efetiva, conforme abordado em estudos que desenvolveram lipossomas ultradeformáveis co-carregados com resveratrol e 5-fluorouracil para o tratamento do carcinoma de células escamosas, como também lipossomas com 5-FU associado ao ácido fólico para tratar câncer de colo do útero (COSCO *et al.*, 2015; EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; SETHY; KUNDU, 2021).

No caso de fármacos hidrofílicos como o 5-FU, uma especificidade a ser explorada também nos nanocarreadores é a contribuição com uma maior permeabilidade ao atravessar as camadas da pele até atingir o local alvo da ação (MENDES *et al.*, 2022). Nesse sentido, os

nanocarreadores também auxiliam na liberação controlada e no aumento do tempo de meia vida do fármaco (LARGE *et al.*, 2021). Existem muitas opções de nanocarreadores (Figura 4) que podem ser utilizados para a liberação efetiva dos fármacos, em particular do 5-FU, como, os lipossomas, os etossomas, os niossomas, as nanocápsulas, as nanoemulsões (EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; PANDEY *et al.*, 2021). Estudos como os de desenvolvimento de nanopartículas híbridas de polímero lipídico à base de poli (ϵ -caprolactona) (PCL), nanocápsulas poliméricas funcionalizadas, assim como imunolipossomas de cetuximabe carreadores de 5-FU, corroboram para a eficácia na liberação sustentada e atividade anticancerígena obtidas pela agregação da nanotecnologia e o tratamento para o câncer (KHAN *et al.*, 2021; PETRILLI *et al.*, 2017; RATA *et al.*, 2021).

Figura 4. Representação de diferentes tipos de lipossomas. (A) Lipossoma convencional. (B) Transfersomas. (C) Niossomas. (D) Etossomas. (E) Invasomas. (F) Lipossomas revestidos.



Fonte: Caritá *et al.* (2018).

Os lipossomas são vesículas nanométricas, constituídas por bicamada lipídica com o núcleo aquoso, que permitem ainda modificações na sua superfície, podendo ser funcionalizados com anticorpos, proteínas, peptídeos ou outros ligantes (EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; YUAN *et al.*, 2022). Descritos na literatura a partir década de 60, os lipossomas são atóxicos, biodegradáveis e biocompatíveis, além de excelentes nanocarreadores adotados na terapia antitumoral, uma vez que sua versatilidade estrutural possibilita a entrega de moléculas com caráter lipofílico, quando alocadas na sua bicamada lipídica, como também

são ótimas opções para o carreamento de fármacos com caráter hidrofílico, como é o caso do 5-FU (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021a; PETRILLI *et al.*, 2017; SHAH *et al.*, 2020). Dessa forma, a superfície desse nanossistema possui lipofilicidade semelhante à de membranas celulares, por isso tem notável aplicação em terapias que requer um maior direcionamento e uma maior permeação do fármaco através das camadas da pele, como é o caso dos procedimentos voltados para o carcinoma celular escamoso, além dos demais benefícios já citados atrelados ao uso da nanotecnologia (EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021; GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021b; PANDEY *et al.*, 2021).

A capacidade de penetração e difusão de fármacos encapsulados em lipossomas são abordados em estudos e relatam a presença de lipossomas em fluidos intersticiais adjacentes a vasos tumorais (PADYA *et al.*, 2021). Essas nanovesículas, no caso de administração sistêmica, podem entregar o fármaco de forma passiva, através da permeabilidade e retenção, ou ativamente, quando adotados artifícios que favorecem o direcionamento terapêutico, como Caritá e colaboradores (2018) que mencionam lipossomas modificados associados a polímeros, como a quitosana, que atuam como facilitadores na permeação de fármacos, uma vez que sua biocompatibilidade com as membranas biológicas possibilita que as nanopartículas atravessem as junções do estrato córneo (CARITA *et al.*, 2018; EWERT DE OLIVEIRA *et al.*, 2021). Assim, ainda que os lipossomas convencionais já sejam bastante elucidados na literatura, há mecanismos que podem oportunizar seu desempenho, prolongando seu tempo de circulação sistêmica e superando sua capacidade de penetração (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021b; PANDEY *et al.*, 2021).

3.5 Promotores de absorção cutânea

No contexto de permeação cutânea para entrega de fármacos por via tópica, o estrato córneo é um obstáculo, assim surgem diversos métodos que potencializam a penetração cutânea, por meio da otimização da passagem das moléculas de ativos por essa camada semipermeável da pele, podendo ser basicamente classificados como: métodos físicos e químicos (NIKOLIĆ *et al.*, 2022; YUAN *et al.*, 2022). Os métodos físicos incluem o uso de técnicas de pré-tratamento que atuam ativamente na liberação de fármacos através da pele, podendo modificar sua superfície, como exemplo podem ser citadas iontoforese, sonoforese, microagulhamento, eletroporação, microdermoabrasão, dentre outras (BARRY, 2001; DRAGICEVIC; MAIBACH, 2018; YUAN *et al.*, 2022). O uso desses métodos combinados a

nanocarreadores atuam sinergicamente auxiliando a entrega terapêutica efetiva, como descrito por Ahmed e colaboradores (2019) quando realizaram estudos associando o uso de microagulhamento e lipossomas contendo doxorrubicina e celecoxib para tratamento de câncer de pele e obtiveram considerável efeito antitumoral, aumentando em 2 vezes a penetração de fármaco quando comparado ao tratamento passivo (AHMED *et al.*, 2019; YUAN *et al.*, 2022). Em estudo que a iontoforese foi adotada com intuito de potencializar a entrega de nanopartículas de quitosana, carreando oxaliplatina, para tratamento tópico de tumores orais, a combinação gerou uma penetração 6 vezes maior do fármaco quando comparado com a entrega passiva do fármaco não encapsulado (YUAN *et al.*, 2022).

Em se tratando do método químico, o princípio consiste basicamente na difusão passiva do fármaco através da primeira barreira da pele, uma vez que a formulação foi modificada quimicamente a partir da adição de intensificadores de penetração química, permitindo maior permeabilidade da pele (NIKOLIĆ *et al.*, 2022). Dentre as substâncias potenciadoras de penetração são citadas em literatura: sulfóxidos e seus análogos, terpenos, ácidos graxos, álcoois, álcoois graxos e glicóis, tensoativos (BARRY, 2001; WILLIAMS; BARRY, 2004). Outrossim, os fármacos podem ultrapassar as camadas da pele por meio de 3 rotas: rota intercelular, transcelular e apendicular (folicular) (ELMOWAFY, 2021; YUAN *et al.*, 2022). Particularmente, os tensoativos, também conhecidos por ativadores de bordas, são em suma atóxicos, inertes farmacologicamente, biocompatíveis, possuem funcionamento unidirecional (evita perda de material endógeno do organismo) e interagem em sua maioria com o domínio lipídico da via intercelular do estrato córneo, podendo modificar ligações entre as células e até mesmo alterar a natureza solvente dessa camada epitelial, potencializando a penetração cutânea de formulações (WILLIAMS; BARRY, 2004; ZAKI *et al.*, 2022).

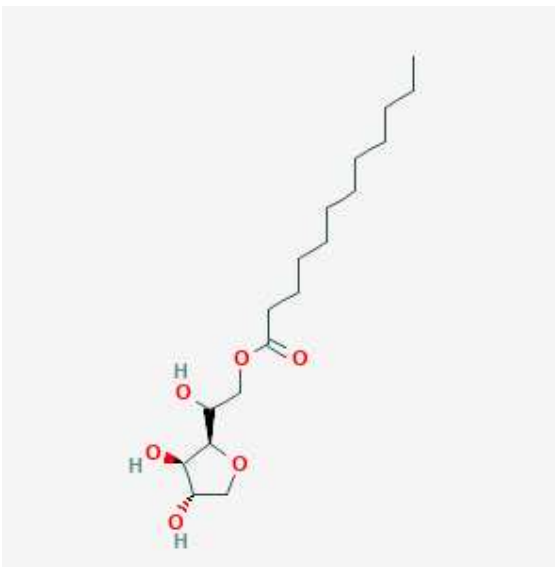
Diante disso, os tensoativos também são amplamente utilizados na indústria farmacêutica em diversos contextos, tanto como componente em formulações cosméticas e mais atualmente associados em vesículas nanocarreadoras com objetivo de contribuir com sua função terapêutica de direcionar a entrega de fármacos. Podem ser classificados em aniônicos, catiônicos e não iônicos (BARRY, 2001). Dentre eles, os tensoativos não iônicos são considerados amplamente mais seguros e produzem impedimento estérico, gerando maior estabilidade física na formulação e melhorando sua permeação (ELMOWAFY, 2021; WILLIAMS; BARRY, 2004). Vyas e colaboradores (2005) propuseram o desenvolvimento de vacinas para uso tópico contra hepatite B, utilizando vesículas nanométricas compostas de Span 85 (tensoativo não iônico) e colesterol, e obtiveram um sistema estável e potencialmente seguro, com otimização da permeação cutânea devido a influência do tensoativo no estrato córneo

(VYAS *et al.*, 2005). Estudiosos realizaram o desenvolvimento de niossomas, a partir de uma combinação que incluiu Span 80, para servirem de nanocarreadores de 5-FU aplicado ao tratamento do câncer de pele, o que tornou possível evidenciar a melhora na entrega intracelular do fármaco e, conseqüentemente, resultados otimizados do efeito citotóxico do mesmo (PAOLINO *et al.*, 2008).

O Span 20, ou monolaurato de sorbitano (Figura 5), é um tensoativo, relativamente lipofílico, não iônico, que possui cadeia alquil C12 capaz de interagir com os lipídios intercelulares, fluidizando a rota para entrega de moléculas ativas, conforme sugerido por López e colaboradores (2000) (ELMOWAFY, 2021; LÓPEZ *et al.*, 2000). Ainda nesse estudo, foi realizado o comparativo do Tween 20, Span 20 e Azone[®] no que diz respeito ao potencial desses ativadores de bordas de contribuir com o aumento da permeabilidade da pele para a entrega de fármacos, dentre eles o 5-FU, e os resultados foram favoráveis a adoção dos dois últimos tensoativos para induzir a passagem dos ativos entre as membranas biológicas (LÓPEZ *et al.*, 2000). À semelhança, pesquisadores investigaram paralelamente a influência tanto do Span 20 como do Azone[®] nas monocamadas lipídicas do estrato córneo e pontuaram que ambos possuem capacidades compatíveis e similares para atuar como promotores de penetração cutânea, por meio do aumento da fluidez da estrutura lipídica intercelular do estrato córneo (LÓPES-CASTELLANO *et al.*, 2000).

Por fim, atualmente já é promovida a adoção do Span 20 associado a nanocarreadores, corroborando sua eficiência e seu uso seguro (SHIMANOUCI *et al.*, 2021; WILLIAMS; BARRY, 2004), assim como Crisóstomo *et al.* (2022) que previamente desenvolveram lipossomas a base de colesterol, SPC e Span 20 contendo 5-FU associando à técnica de microagulhamento para otimizar a penetração cutânea do fármaco, nesse estudo foi possível observar que usando exclusivamente o Span 20, promotor químico de penetração, o acúmulo de 5-FU nas camadas da pele foi 1,4 vezes maior quando comparado com o lipossoma convencional(sem Span 20) na entrega passiva, ou seja, antes mesmo de associar a técnica de microagulhamento (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022).

Figura 5. Estrutura química do tensoativo Span 20.



Fonte: PubChem (2022).

3.6 Hidrogéis e sua aplicação na terapia oncológica

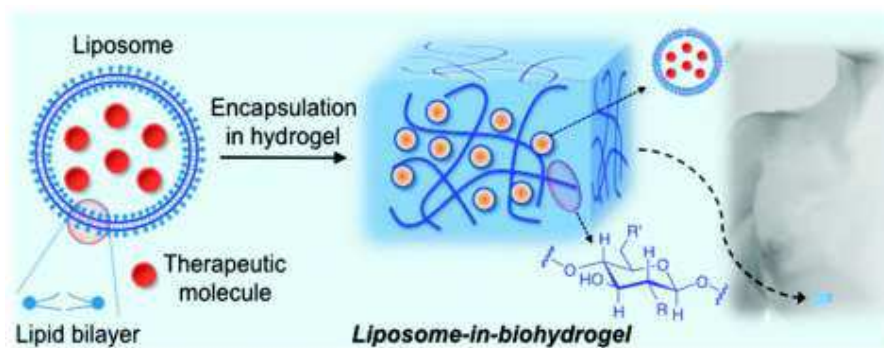
Os hidrogéis vem sendo reportado na literatura como uma estratégia vantajosa quando associada a terapias tópicas, em particular no tratamento do câncer de pele, além de ser usados em diversos outros âmbitos, como na medicina estética em enchimentos, produtos farmacêuticos, engenharia de tecidos, ou ainda atrelados a fins de diagnóstico e terapia regenerativa (CAO *et al.*, 2021; HOARE; KOHANE, 2008; SHARMA; TIWARI, 2020). Esses sistemas de liberação são basicamente redes tridimensionais, constituídas por polímeros hidrofílicos com grupamentos polares altamente transligados, contribuindo com sua elevada capacidade de retenção de água (ZHANG *et al.*, 2020). Podem ser classificados basicamente em relação a natureza do polímero usado (sintético, natural ou híbrido), ou ainda quanto a propriedades físico-químicas, como seu mecanismo de formação (ligações químicas ou físicas), a natureza do grupo lateral (catiônico, aniônico ou neutro), biodegradabilidade (degradável ou não degradável), e o grau de intumescimento (baixo, alto ou superabsorvente) e porosidade (micro, macro ou super poroso) (MATHIYALAGAN *et al.*, 2022).

Devido a até 99,5% da sua matriz ser de composição aquosa, os hidrogéis são bastante biocompatíveis, considerando que se assemelham físico-quimicamente ao meio tecidual, possuem capacidade de se deformar ao se adequar ao local de aplicação, apresenta baixo risco de toxicidade, o que minimiza a probabilidade de irritar a pele ao ser depositado

(ZHANG *et al.*, 2020). Também, demonstram propriedades farmacocinéticas atrativas, uma vez que pode ser adotado como transportador de elevadas concentrações de ativos, carregando doses suficientes para serem mantidas nos tecidos de interesse a serem liberadas lentamente por um período prolongado, conseqüente acarreta na redução da necessidade de aplicações do fármaco e oportuniza maior adesão do paciente ao tratamento (ZHANG *et al.*, 2020). Além disso, eles podem ser responsivos a estímulos tais como pH, temperatura, luz, dentre outros fatores que podem implicar da sua biodegradabilidade e possuem resistência mecânica quando comparados formulações mais fluidas e não reticuladas (KASINSKI *et al.*, 2021; SHARMA; TIWARI, 2020; MATHIYALAGAN *et al.*, 2022).

Dessa forma, sua aplicação na terapia oncológica já é bastante elucidada na literatura, por exemplo em estudos como o de Kasinski e colaboradores (2021) que trata do desenvolvimento de hidrogel injetável e termossensível para liberação de 5-fluorouracil (5-FU), em que foi assegurada liberação controlada e a biossegurança do paciente quando administrada no tratamento antitumoral (KASINSKI *et al.*, 2021). Enquanto isso, Rajinikanth e Chellian (2016) trabalharam no desenvolvimento do hidrogel como carreadores de lipídios nanoestruturados (NLC), avaliando seu potencial para a entrega tópica de 5-FU comparativamente ao gel e solução contendo o fármaco livre e, corroborando ainda acerca das vantagens da associação do hidrogel com nanocarreadores uma vez que foi favorecida cerca de 2 vezes mais a retenção da fármaco na pele, bem como aumentou a permeação do ativo promovendo uma liberação sustentada do mesmo, além de conferir o risco reduzido de irritação dérmica (RAJINIKANTH; CHELLIAN, 2016).

Figura 6. Esquema representando nanocarreadores lipossômicos incorporados em hidrogel.



Fonte: Grijalvo *et al.*(2016).

Estudos prévios relataram que a incorporação de paclitaxel encapsulado em micelas para serem transportados em hidrogel de carbopol 940 e os autores obtiveram resultados

positivos na entrega de fármaco para terapia local de melanoma, ademais pesquisadores utilizam hidrogéis para entrega simultânea de fármacos, sejam eles de diferentes polaridades ou não, com objetivo de potencializar o efeito antitumoral como associação de 5-FU e curcumina destinados a terapia combinada para câncer colorretal, nesse estudo em questão um fármaco foi encapsulado enquanto o outro foi carreador na rede polimérica (SADEGHI-ABANDANSARI *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2020). Jain e outros pesquisadores (2019) otimizaram a entrega de microesponjas carreadores de 5-FU em géis de carbopol 934 para obter maior sucesso terapêutico no tratamento do câncer de pele, assim foram observados que houve a redução de irritação dérmica do 5-FU quando atrelado aos sistemas de liberação, comparativamente com o fármaco livre, além do aumento em cerca de 5,2 vezes em se tratando da deposição de 5-FU, demonstrando que hidrogéis são veículos de fácil preparo, baixo custo e excelentes auxiliares na entrega dérmica de ativos (JAIN *et al.*, 2019). Por fim, Rata e autores (2021) relatam o desenvolvimento de hidrogéis baseados em ácido hialurônico e alginato de sódio para aplicação tópica de 5-FU incorporados em nanocápsulas poliméricas funcionalizadas para efeito antineoplásico, sendo verificado bom perfil de biossegurança para o paciente e comportamento não-irritativo em ensaios *in vitro* (RATA *et al.*, 2021).

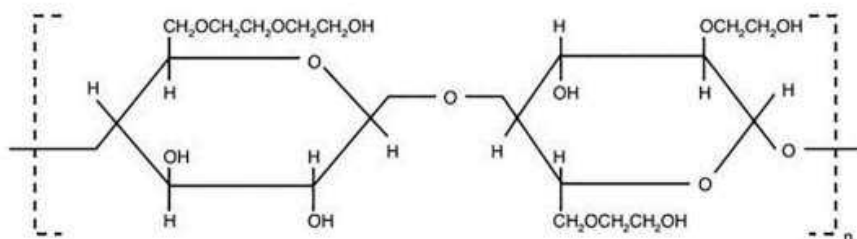
3.6.1 Hidroxietilcelulose

Considerando que a natureza do polímero adotado para a produção dos hidrogéis são determinantes quando são envolvidas as propriedades físico-químicas desses transportadores, os polímeros podem ser classificados como naturais, sintéticos ou híbridos (também chamados de semissintéticos) (MARZI; ROSTAMI CHIJAN; ZARENEZHAD, 2022). Na categoria de polímeros naturais podem ser incluídos algumas proteínas e polissacarídeos, tais como alginato, quitosana, colágeno, gelatina, ácido hialurônico, dentre diversos outros (TAVANO, 2015). Ainda que os polímeros naturais tenham adquirido grande importância na aplicação da biomedicina em decorrência de fatores como sua biocompatibilidade, multifuncionalidade, biodegradabilidade, capacidade de liberação controlada do fármaco e custo-benefício, os polímeros sintéticos foram sendo desenvolvidos com promessas de maior tempo de vida útil, maior potencial de realizar modificações químicas diretas para otimizar funções, aumento da captação de água (MATHIYALAGAN *et al.*, 2022; ZHANG; OSMAŁEK; MICHNIAK-KOHN, 2020), apresentam ainda propriedades físicas químicas ou mecânicas ajustáveis e reprodutíveis (AHMED, 2015; ASWATHY;

NARENDRAKUMAR; MANJUBALA, 2020; ZHU; MARCHANT, 2011; MARZI; ROSTAMI CHIJAN; ZARENEZHAD, 2022)). Carbômeros e poloxâmeros são comumente componentes dessa classe de polímeros, além de outros como álcool polivinílico (PVA), poliacrilamida (PAM) e polietilenoglicol (PEG) (TAVANO, 2015; ZHANG *et al.*, 2020). Outrossim, os polímeros híbridos (ou semissintéticos) foram desenvolvidos com o intuito de atender amplamente características biomédicas, possuindo tanto os benefícios dos naturais como dos sintéticos, uma vez que a associação de ambos pode otimizar o desempenho mecânico e biológico do hidrogel, além de contribuir com a redução da variabilidade da produção (ASWATHY; NARENDRAKUMAR; MANJUBALA, 2020; MARZI; ROSTAMI CHIJAN; ZARENEZHAD, 2022; RISALITI *et al.*, 2021).

A hidroxietilcelulose (Natrosol[®]) é um derivado da celulose, obtido a partir de reação da celulose com o óxido de etileno, gerando um pó inodoro, insípido, incolor a levemente amarelado e de baixo custo (NOREEN *et al.*, 2020). A partir desse polímero solúvel em água (quente ou fria) e não iônico, é possível obter um hidrogel à semelhança desse polissacarídeo: altamente biocompatível, biodegradável e atóxico (CIOLACU; SUFLET, 2018; RISALITI *et al.*, 2021; SANNINO; DEMITRI; MADAGHIELE, 2009). Dentre suas inúmeras funcionalidades, pode atuar como espessante, estabilizante de formulações, suspensor, emulsificante, aglutinante, contribuindo também com a viscosidade, assim possui uma gama de aplicações na indústria, no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, fraldas, insumos têxteis, papel, revestimentos, cosméticos e até na agricultura (MURTAJA *et al.*, 2022; NOREEN *et al.*, 2020). Ainda se ressalta sua estabilidade em uma ampla faixa de pH (2-12), podendo ter pequenas variações de viscosidade nesse intervalo, apresenta compatibilidade com substâncias aniônicas, não-iônicas, anfotéricas e catiônicas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; VON ZUBEN, 2019).

Figura 7. Representação da estrutura de HEC.



Fonte: Noreen, *et al* (2022).

Isto posto, alguns hidrogéis apresentam propriedades bioadesivas, como os polímeros à base de celulose, que contribuem para manter o fármaco em maior contato com as membranas biológicas, devido a otimização de sua acomodação por retê-los no local de ação por maiores períodos de tempo, a partir disso alguns estudos ainda afirmam que essa capacidade adesiva de polímeros celulósicos podem ser tidas como de alta performance, pois conseguem estabilizar o fármaco na área de interesse independentemente de sua concentração (CASCONE; LAMBERTI, 2020; HOARE; KOHANE, 2008; MANSOUR *et al.*, 2008). Ainda, estudiosos compreendem que as aplicações das propriedades mucoadesivas do hidrogéis podem ser proveitosas em diversos aspectos, inclusive auxiliar no desenvolvimento de formulações para locais de ação de complexa permeação cutânea e de superfícies não horizontais, como regiões bucais (BAUS *et al.*, 2019), vaginais (DOS SANTOS *et al.*, 2020), nasais (VON ZUBEN *et al.*, 2022), dentre outras (CASCONE; LAMBERTI, 2020).

Nesse contexto, o uso dos hidrogéis, inclusive a base de hidroxietilcelulose (HEC), podem ser associados a vesículas nanoestruturadas com intuito de obter um efeito sinérgico das vantagens de ambos sistemas, por exemplo Mourtas e estudiosos (2007) trabalharam no desenvolvimento de lipossomas contendo calceína e griseofulvina incorporados em gel de HEC e Carbopol, que não demonstraram incompatibilidade, além de promoverem liberação sustentada (MOURTAS *et al.*, 2007).

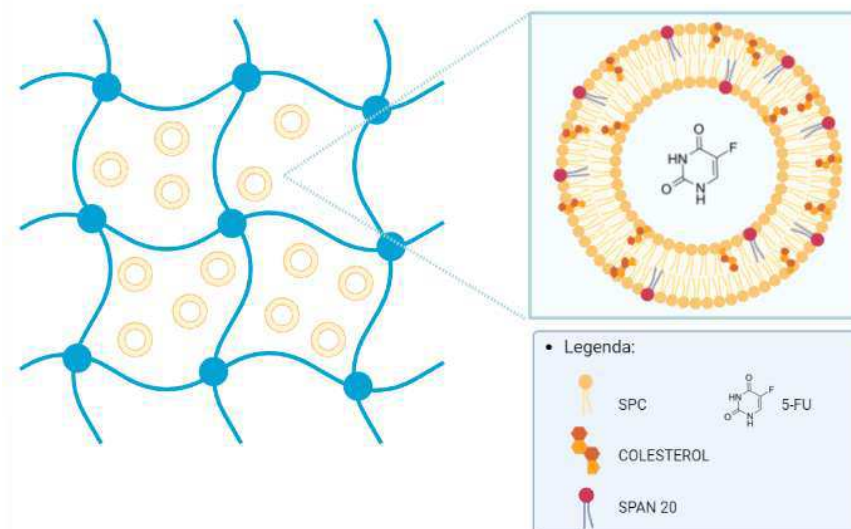
O Natrosol™, um dos diversos nomes comerciais da HEC, é encontrado na literatura em diferentes concentrações para a produção de inúmeras formas farmacêuticas, como géis de aplicação tópica e transvaginal, por exemplo (MOURTAS *et al.*, 2008). Jaigobind (2020), após investigação através de ensaios reológicos, optou pela concentração de 0,5% de HEC para a produção de um gel-creme com finalidade cosmética (AMARAL JAIGOBIND, 2020). Em 2021, Chang e colaboradores realizaram ensaios com gel de HEC a 2, 5 e 10%, dentre outros polímeros, associados a bacteriófagos para avaliar o potencial terapêutico alternativo a uso de antimicrobianos no tratamento de infecções tópicas (CHANG *et al.*, 2021).

Risaliti e colaboradores (2021) produziram um hidrogel à base de hidroxietilcelulose para ser usado de veículo por nanovesículas (ascossomas) contendo quelina para terapia tópica de acometidos por patologias dérmicas, assim alcançaram bons resultados de perfil de segurança em estudos *in vivo*, reduzido risco de toxicidade, entrega alvo-específica, liberação sustentada de cerca de 80% do ativo e consideráveis taxas de permeação cutânea (RISALITI *et al.*, 2021). Frank e pesquisadores (2017) obtiveram gel de hidroxietilcelulose contendo nanocápsulas revestidas que exibiram satisfatório desempenho de mucoadesão e aumento da permeação de imiquimod no tecido vaginal para tratamento do HPV (FRANK *et*

al., 2017). Von Zuben *et al.* (2022) tiveram êxito no desenvolvimento de hidrogéis à base de hidroxietilcelulose (2%) contendo lipossomas para administração de insulina por via nasal, demonstrando que se trata de uma formulação promissora principalmente devido ao seu comportamento reológico que possibilita boa espalhabilidade, ao mesmo tempo que dificulta o escoamento do nanosistemas e promove o aumento a retenção do fármaco no local de ação (VON ZUBEN *et al.*, 2022).

Diante disso, o presente estudo consiste na incorporação de lipossomas com Span 20 carreando 5-FU em hidrogéis à base de hidroxietilcelulose (HEC) 2% (Figura 8) e na avaliação da estabilidade e comportamento dessa forma farmacêutica após a adição desses nanocarreadores. Em que o objetivo final é a obtenção de um sistema inovador capaz de otimizar a entrega do fármaco e fornecer características reológicas adequadas, para facilitar a administração tópica e favorecer o tempo de retenção. Consequentemente, contribuindo potencialmente com a adesão do paciente e com a eficácia do tratamento do câncer de pele.

Figura 8. Representação da rede de hidrogel (HEC) carreando lipossomas com Span 20 contendo 5-FU.



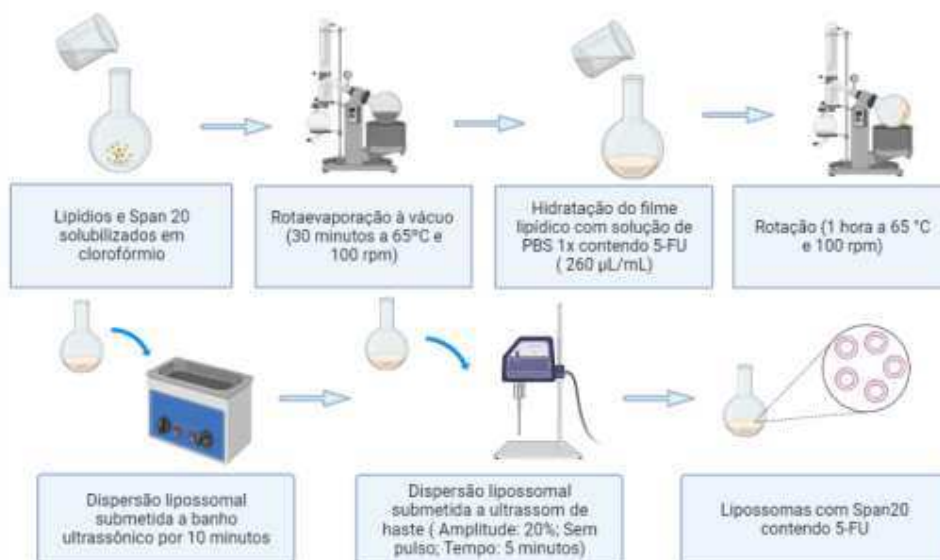
Fonte: Autoria própria (2022), elaborado pelo *MindGraph*.

4. METODOLOGIA

4.1 Preparo de lipossomas

Os lipossomas foram desenvolvidos usando o método do filme lipídico (ELOY *et al.*, 2016; LARGE *et al.*, 2021), compostos por SPC e colesterol (55:45) e Span 20, na proporção de 1:9 em relação a mistura lipídica (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022). Em seguida, os constituintes pesados foram dissolvidos em 2,5mL de clorofórmio, em um balão de fundo redondo, e mantidos em equipamento de rotaevaporação (IKA – Modelo RV8), por 30 minutos a 65 ° C e 100 rpm, até evaporação do solvente orgânico. Posteriormente, o filme lipídico formado foi hidratado com 5mL de PBS diluído 1 x (pH 7,4) contendo 5-fluorouracil (260 µg/mL), durante 1 hora a 100 rpm e 65°C. A dispersão lipossomal foi colocada em banho ultrassônico por 10 minutos e finalmente submetida à sonicação em ultrassom de ponta (QSonica Sonicators Q500) com os parâmetros de 20% de amplitude, ausência de pulso e duração de 5 minutos (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022).

Figura 9. Esquema representativo do método de preparo dos lipossomas adotados.



Fonte: Autoria própria (2022), elaborado pelo *MindGraph*.

4.2 Caracterização Físico-Química dos lipossomas

4.2.1 Tamanho de partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta

A análise do tamanho de partícula e índice de polidispersão (PDI) foi realizado por meio da técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS), utilizando o equipamento *ZetasizerNano ZS (Malvern Instruments)*, com diluição (1:10) das amostras em água MilliQ. Enquanto que o Potencial Zeta foi verificado através da técnica de microeletroforese, utilizando o mesmo equipamento (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022).

4.2.2 Determinação da Eficiência de Encapsulação

Previamente, foi preparada uma curva de calibração a partir da solução de 0,5mg/mL de 5-FU em água MilliQ, possibilitando a diluição para obtenção das concentrações de 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 6,0 µg/mL (PETRILLI *et al.*, 2018). Após a leitura das amostras em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 265 nm, foi analisada a linearidade, a partir da equação da reta e respectivo coeficiente de correlação linear resultantes dos dados da curva. Com a finalidade de quantificar a eficiência de encapsulação (EE%) do 5-FU, foi associado o método indireto, utilizando a técnica de ultrafiltração, com a análise em comprimento de onda de 265 nm por espectrofotometria, possibilitando a quantificação do fármaco total e livre (PETRILLI *et al.*, 2018). Para quantificar o fármaco total foram utilizados 25 µL das amostras e DMSO em tubo falcon, na mesma proporção, para romper os lipossomas, em seguida foram submetidas a agitação em vórtex por 2 minutos e colocadas em banho de ultrassom por 10 minutos, completando o volume para 5 mL com água MilliQ e finalmente filtrado com auxílio do filtro PVDF 0,45 µm. Em paralelo, para quantificação do fármaco livre foram utilizados 1000 µL das amostras em tubo Amicon (50 kDa) que haviam sido submetidas a centrifugação nas condições de 3000 g por 15 minutos. A partir do filtrado, foi retirada uma alíquota de 50 µL para completar o volume para 50 mL com água MilliQ e finalmente foram filtradas em PVDF 0,45 µm. Para o cálculo da eficiência de encapsulação (%EE) foi adotada a equação abaixo:

$$EE\% = \frac{[(\text{Fármaco total}) - (\text{Fármaco ultrafiltrado})]}{(\text{Fármaco total})} \times 100 \quad (1)$$

4.3 Preparação do hidrogel

Para preparo da base gelificante, foram pesados 200 mg de hidroxietilcelulose (Natrosol), em balança analítica. Em seguida, com auxílio de balão volumétrico, foram adicionados 10 mL de água Milli-Q, contendo 0,2% de metilparabeno, previamente aquecidos a 40°C durante 30 minutos, até a obtenção de um gel não iônico a 2% (m/v) (BRASIL, 2004). Em seguida, a mistura foi mantida em repouso por 24 horas na temperatura de 2-8°C. Posteriormente, uma alíquota de 2,5mL da dispersão lipossomal foi incorporado a 8,0mL de base (COSTA; COSTA; SILVA JÚNIOR, 2021; HUSSAIN *et al.*, 2015; VON ZUBEN, 2019).

4.4 Estabilidade preliminar da formulação

4.4.1 Teste de centrifugação e ensaio de estresse térmico

Os lipossomas (lipossoma branco, lipossoma com 5-FU, lipossoma branco contendo Span 20 e lipossoma com 5-FU contendo Span 20) incorporados ao hidrogel de hidroxietilcelulose (HEC) à 2%, foram submetidas a estudos preliminares de caracterizações físico-químicas para a avaliação de estabilidade preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (2004) em adição a análises descritas na literatura (BRASIL, 2004).

Previamente ao estudo preliminar de estabilidade, foi realizado o teste de centrifugação, ensaio de caráter eliminatório, uma vez que tem o intuito de verificar a estabilidade físico-química do produto, confirmando se a composição adotada foi satisfatória ou existe a necessidade de reformulação do produto. Assim, foram pesados 8,0 g de amostra do gel contendo lipossomas, em tubos falcon de 15mL e submetidos a 3.000 rpm, durante 30 minutos, em temperatura ambiente. Então, caso garantida sua estabilidade, as amostras seriam aprovadas, possibilitando a continuidade dos demais ensaios descritos abaixo (BRASIL, 2004; COSTA; COSTA; SILVA JÚNIOR, 2021; FERREIRA, 2019).

A priori, com intuito de avaliar qual seria o comportamento das formulações, os 5 grupos foram submetidos ao estresse térmico de 50°C durante 30 dias, sendo então analisados em períodos de To (dia da produção), 1, 7, 15 e 30 dias (n=3 para cada grupo), em que foi observada a manutenção das características físico-químicas. A partir disso, para o estudo de

estabilidade, foram preparados cerca de 150 g de hidrogel para os 3 grupos selecionados (Hidrogel; Hidrogel com lipossoma sem Span 20 contendo 5-FU e Hidrogel com lipossoma com Span 20 contendo 5-FU), que foram envasadas em tubos falcon de plástico de 50 mL. As formulações produzidas foram fracionadas e mantidas em aquecimento ($50 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$), durante o período de 30 dias consecutivos, para serem avaliadas no que diz respeito às características organolépticas (possíveis alterações na aparência, cor, odor, homogeneidade, brilho, ausência de grumos e precipitados), além da determinação do pH, espalhabilidade, viscosidade e densidade (AMARAL JAIGOBIND, 2020). Em paralelo, amostras dos 5 grupos foram mantidas à temperatura ambiente ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) para serem utilizadas como grupo controle nos mesmos ensaios. Todos os ensaios de estabilidade foram realizados no dia de produção das amostras (T_0), além dos períodos de 1, 7, 15 e 30 dias após produção das mesmas (BRASIL, 2004; FERREIRA, 2019; MOREIRA; CORRÊA, 2021).

4.4.2 Determinação do valor de pH

O pH das amostras do gel contendo os lipossomas, juntamente ao grupo controle, foi aferido em triplicata ($n=3$) nos dias T_0 , 1, 7, 15 e 30 em dispersões das amostras em água destilada na proporção 1:10 (p/v), com auxílio de equipamento previamente calibrado com soluções tampão de pH 4, 7 e 9, à temperatura ambiente (25°C) (COSTA; COSTA; SILVA JÚNIOR, 2021; GARCIA OLIVEIRA, 2020).

4.4.3 Análise da densidade

Conforme recomendado, na determinação da densidade de semissólidos, no caso hidrogéis compostos de hidroxietilcelulose 2%, foi realizado o uso do picnômetro de alumínio (BRASIL, 2004; MOREIRA; CORRÊA, 2021). Em balança analítica, após calibração do aparato de alumínio limpo e seco, foi registrada sua massa em gramas (M_0). Em seguida, a pesagem também foi feita para obtenção de M_1 em gramas a partir do picnômetro contendo água MilliQ. Nas demais análises, foi realizada pesagem das amostras em estudo, respectivamente, para obtenção de M_2 em gramas. Mediante os dados resultantes, foi possível aplicação da fórmula abaixo para densidade relativa:

$$\rho = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} (2)$$

4.4.4 Análise da espalhabilidade

Com base no método adaptado de Silva (2019), a determinação da espalhabilidade foi realizada a partir da pesagem de 0,3g das amostras em uma placa de vidro e, após a sobreposição de outra placa com massa conhecida e espera da acomodação da amostra, foram adicionadas cargas de 50, 100 e 200g, respectivamente, com finalidade de simular condições de força na aplicação tópica dos hidrogéis (SILVA *et al.*, 2019). Respeitando o intervalo regular de 3 minutos entre os pesos, foi possível realizar a leitura em triplicata (n=3) do diâmetro da circunferência gerada através da espalhabilidade do hidrogel, com auxílio do *software* ImageJ. Diante dos valores de diâmetros obtidos, o analista aplicou a seguinte fórmula:

$$\varepsilon = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (3)$$

Em que:

ε: Espalhabilidade da amostra para o peso (cm²); d: diâmetro médio (cm). (DARLENE; ALVES, 2014; GARCIA OLIVEIRA, 2020).

4.4.5 Análise da viscosidade

Para determinação da viscosidade aparente, a leitura foi realizada em triplicata para todas as amostras (30g de cada amostra), com auxílio do viscosímetro de Brookfield, modelo digital MVD-8 da marca Marte Científica. O *spindle* 3 foi manipulado cuidadosamente ao entrar em contato com as amostras, a fim de evitar a incorporação do ar, gerando a formação de bolhas, que pudessem comprometer as análises. Os resultados foram obtidos em mPa.s e o ensaio foi realizado a 30 rpm, com torque entre 27,8 e 107%. O teste foi realizado nos períodos de To, 1, 7, 15 e 30 dias (GARCIA OLIVEIRA, 2020).

4.5 Avaliação do perfil reológico da formulação

As propriedades reológicas dos hidrogéis foram avaliadas em um reômetro modelo Discovery HR-1– TA *Instruments*, equipado com uma geometria cone/placa com diâmetro de 40 mm, ângulo 2° e gap de 52 μm. Alíquotas das amostras foram dispostas delicadamente sobre placa contida no inferior do equipamento, com um tempo de repouso de aproximadamente 3

min para iniciar as análises. As análises foram realizadas com as seguintes amostras: hidrogel puro, hidrogel contendo lipossoma branco, hidrogel contendo lipossoma carregado com 5-FU e hidrogéis contendo lipossoma com Span 20, contendo ou não o fármaco.

Para determinar as propriedades de fluxo dos hidrogéis (reologia contínua) foi empregado uma taxa de cisalhamento de 0,1 a 100 s⁻¹ para a curva ascendente e de 100 a 0,1s⁻¹ para a curva descendente, totalizando 120 s de análise, em uma temperatura de 32 °C, simulando temperatura do corpo humano (BINDER *et al.*, 2019; VON ZUBEN, 2019).

Diante dos dados coletados, foi aplicada a lei da potência, para avaliar quantitativamente o comportamento de fluxo a partir da determinação dos índices de consistência e fluxo:

$$\tau = k \cdot \gamma^\eta \quad (4)$$

Em que:

“ τ ” é a força de cisalhamento, “ γ ” é a taxa de cisalhamento, “ k ” é o índice de consistência e “ η ” é o índice de fluxo (CALIXTO *et al.*, 2016).

Para o ensaio reológico oscilatório, primeiramente, foi realizada a varredura de tensão utilizando uma faixa de cisalhamento de 0 a 50 Pa e frequência de 1 Hz, para a determinação da região viscoelástica. Após a obtenção da tensão de 1 Pa, foi realizado o teste de varredura de frequência para determinação do módulo elástico (G') e módulo viscoso (G''). Para isso, foi utilizada uma faixa de frequência de 0,1 a 10 Hz, com uma tensão de 1 Pa, em uma temperatura de 32°C. Seguidamente, os dados coletados foram submetidos a lei da potência descrita abaixo, onde G' é o módulo de armazenamento (Pa), S é a resistência/força da formulação (Pa. s), ω é a frequência de oscilação (Hz) e o n é o expoente de viscoelasticidade.

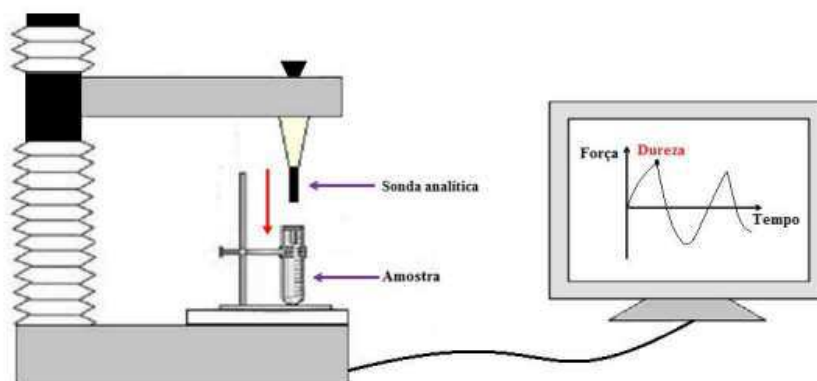
$$G' = S \cdot \omega^n \quad (5)$$

4.6 Análise do perfil de textura (TPA)

O perfil de textura dos hidrogéis foi analisado utilizando um analisador de textura TA-XT plus (*Stable Micro Systems*), programado para operar no modo TPA (*Texture profile analysis*). As amostras (10 g) foram adicionadas em tubos de centrífuga cônico de 50 mL e centrifugadas a 4000 rpm durante 3 min, sendo mantidas em repouso por 24 h para eliminação

de bolhas de ar e obtenção de superfície lisa e homogênea. Em seguida, essas amostras foram imersas em banho à 32 °C e inseridas abaixo da sonda analítica (10 mm de diâmetro) acoplada no analisador de textura, realizando dois ciclos de compressão da amostra (CALIXTO, 2017). No primeiro ciclo, a sonda analítica desceu numa velocidade de 0,5 mm/s, penetrando na amostra até a profundidade previamente definida (10 milímetros), retornando para sua superfície na mesma velocidade. Após 5 segundos de repouso, a segunda compressão foi iniciada utilizando os mesmos parâmetros. A partir dessa análise, foi possível obter um gráfico de força x tempo capaz de fornecer informações a respeito das propriedades mecânicas como dureza, compressibilidade, adesividade e coesividade. Todas as análises foram realizadas em triplicata (SANTOS, 2015).

Figura 10. Representação do analisador de textura TA-XT plus, utilizado no teste de TPA (Texture profile analysis) para obtenção do gráfico de força x tempo.



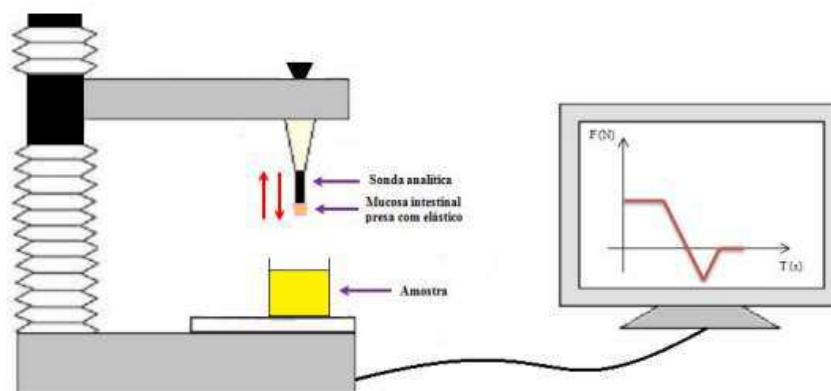
Fonte: Santos (2015).

4.7 Ensaio de bioadesividade *in vitro*

A bioadesão dos hidrogéis foi avaliada através da medida de força máxima e trabalho necessário para destacar os hidrogéis mantidos em contato com a pele de orelha de porco, utilizando o analisador de textura TA-XT plus, operando no modo *Adhesion Test*. Peles de orelha de porco foram previamente dermatomizadas na espessura de 500 μm , com auxílio de um dermatômetro (Nouvag TCM 300). Posteriormente, elas foram hidratadas em solução de NaCl 0,9% até o momento da análise. A pele de orelha de porco (aproximadamente 2 cm^2) foram anexadas à sonda analítica com o auxílio de elásticos de borracha. Em seguida, as amostras foram armazenadas em tubos de centrifuga cônico de 50 mL e dispostas abaixo da sonda analítica em banho à 32 °C.

Durante o ensaio, a sonda desceu a uma velocidade constante de 1 mm/s^{-1} até permitir a pele penetrar 1 mm de profundidade na superfície da amostra, garantindo o contato entre ambas durante 60 segundos, sem aplicação de força durante essa fase. Por fim, a sonda analítica foi retirada numa velocidade de $0,05 \text{ mm/s}^{-1}$ até a separação total da pele e o sistema analisado, gerando um gráfico de força x tempo (PIRONI, 2019; SANTOS, 2015). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por ANOVA com pós teste de Tukey com nível de significância 0,05%.

Figura 11. Representação do analisador de textura TA-XT plus, utilizado no modo *Adhesion Test* para ensaio de bioadesão *in vitro*.



Fonte: Santos (2015).

4.8 Análise estatística

Para os resultados foi utilizado o GraphPad Prism 6 por ANOVA *one-way* ou *two-way* juntamente ao pós-teste de Tukey, em que $p < 0,05$ foi considerado o valor mínimo de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico química dos lipossomas

Com intuito de avaliar e garantir a performance dos lipossomas, são adotadas técnicas para realizar sua caracterização físico-química, dentre os principais parâmetros analisados, podem ser citados: análise do tamanho de partícula (*Size analysis*, termo em inglês), da distribuição de tamanho e da carga superficial (DYMEK; SIKORA, 2022). Para a análise do tamanho de partícula, é comum adotar a técnica de Dispersão dinâmica de luz (*DLS*, do termo em inglês, *Dynamic Light Scattering*), uma vez que é rápido, simples e eficaz. Essa técnica consiste na análise do movimento browniano, que nada mais é do que um movimento contínuo intrínseco a partículas (no caso, os lipossomas) que resulta na dispersão da luz emitida pelo equipamento, possibilitando quantificar o tamanho desses nanocarreadores com base no espalhamento dessa luz (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021). Enquanto isso, a distribuição de partículas pode ser obtida através desse mesmo método, com a finalidade obter o índice de polidispersividade (PDI) capaz de fornecer informações acerca do grau de homogeneidade, ou seja, de distribuição de tamanho de determinadas populações de nanopartículas. Por sua vez, a carga superficial de lipossomas pode ser definida pelo potencial zeta, que verifica a estabilidade eletroestática desses nanocarreadores dispersos (DYMEK; SIKORA, 2022).

Tabela 1. Caracterização físico-química dos lipossomas com Span 20 contendo 5-FU.

Tamanho de partícula (nm)	88,08 ± 1,06 nm
PDI	0,169 ± 0,006
Potencial zeta (mV)	-12,3 ± 1,04 mV
Eficiência de encapsulação (%)	50,20% ± 10,20%

Fonte: Autoria própria (2022).

Crisóstomo e colaboradores (2022) realizaram ensaios com lipossomas, carregando 5-FU, constituídos por SPC e colesterol na proporção de 55:45, 60:40 e 70:30, associando promotores químicos de penetração como Tween 80, Span 60, ácido oleico e Span 20 na proporção de 9:1 de lipídio para tensoativos. Foi observado que as proporções entre os lipídeos constituintes interferem no encapsulamento, tamanho da nanopartícula e PDI, isto posto, apesar

do tamanho do lipossoma ter sido menor na proporção de 70:30 (SPC e colesterol, respectivamente), o que favoreceria sua entrega no local de ação de interesse, o tamanho de partícula e PDI ($131,0 \pm 2,48$ nm e $0,476 \pm 0,011$, respectivamente) foram mais adequados quando SPC e colesterol estavam na proporção de 55:45. Após definida a composição lipídica dos lipossomas, foram analisadas as modificações geradas pelos diferentes tensoativos estudados, quando utilizado o Span 20, os nanocarreadores apresentaram redução do PDI e tamanho de partícula e potencial zeta adequadas ao propósito, enquanto os lipossomas constituídos por ácido oleico, Span 60 e Tween 80 tiveram PDI aumentando entre 1,4 e 1,9 vezes, ou seja, apresentaram menor homogeneidade entre as nanopartículas (CRISÓSTOMO *et al.*, 2022). Portanto, os lipossomas na proporção de 55:45 de SPC e colesterol, associado ao Span 20 também foram adotados no presente estudo, por apresentarem características físico-químicas interessante para veiculação do 5-FU, sugerindo uma excelente capacidade de entrega do fármaco por via tópica.

Verma *et al.*, (2003) descreveram que lipossomas de até 300nm promovem ótima entrega para camadas mais profundas da pele, portanto, os lipossomas aqui descritos apresentam excelente tamanho para sua finalidade de veiculação tópica (VERMA *et al.*, 2003). De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), a formulação apresentou homogeneidade na sua população, uma vez que Danaei *et al.* (2018) evidenciou que valores iguais ou abaixo de 0,3 para PDI, seriam considerados aceitáveis para lipossomas (DANAIEI *et al.*, 2018). Enquanto isso, Muller *et al.* (2001) menciona que o potencial zeta para obtenção de nanodispersão estável eletrostaticamente deve ser de ± 30 mV, assim é possível correlacionar com os resultados obtidos com os lipossomas desenvolvidos no presente estudo, uma vez que os resultados obtidos por esses nanocarreadores respeitaram esse intervalo de interesse (MULLER *et al.*, 2001). Entretanto, outros parâmetros além do potencial zeta podem influenciar na estabilidade, como os constituintes existentes na formulação, por exemplo, o colesterol que atua na manutenção da integridade da membrana lipossomal, ou Span 20, também usado no presente estudo, capaz de gerar impedimento estérico, aumentando a estabilidade física da formulação, ainda pode ser citada a atuação de forças dispersivas como forças de van der Waals, existentes entres sistemas coloidais, como os lipossomas (BHATTACHARJEE, 2016; ELMOWAFY, 2021; NÉMETH *et al.*, 2022; SAINAGA JYOTHI *et al.*, 2022).

Por fim, a eficiência de encapsulação demonstrou que esses lipossomas são promissores veículos para fármacos hidrofílicos, pois comparativamente a estudos como de SEN *et al.*, 2019 que relatou lipossomas carreando 5-FU com eficiência de encapsulação de 5-FU de aproximadamente 38,6%, este estudou teve notável capacidade de aprisionamento do

fármaco (SEN; BANERJEE; MANDAL, 2019). Isso também é evidenciado em estudos como o proposto por Petrilli *et al.* (2018), em que lipossomos compostos por DSPC e colesterol (proporção 55:45) foram produzidos para encapsular 5-fluorouracil e apresentaram tamanho de partícula, PDI e potencial zeta de 115 ± 26 nm, $0,22\pm 0,03$ e -2 ± 2 mV, respectivamente, com eficiência de encapsulação de $45,8 \pm 2,0\%$ (PETRILLI *et al.*, 2018). Além disso, o colesterol presente na composição dos lipossomos estudados, contribuem fortemente para a estabilidade da bicamada lipídica, e pode estar relacionado com esse efeito otimizado de encapsulação do 5-FU (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021; PETRILLI *et al.*, 2017).

5.2 Incorporação de lipossomas em hidrogel de HEC (2%)

Em um estudo prévio, Crisóstomo e colaboradores (2022) desenvolveram lipossomas compostos por colesterol, SPC e Span 20, em que esse último demonstrou atuar como um promotor de penetração cutânea favorecendo uma entrega mais efetiva do 5-Fluorouracil (5-FU) para o tratamento do carcinoma espinocelular (COVIELLO *et al.*, 2015; CRISÓSTOMO *et al.*, 2022; ZAKI *et al.*, 2022). No entanto, neste e em numerosos outros estudos, os lipossomas comumente são desenvolvidos em meios aquosos, como soluções de tampão fosfato, o que inviabiliza sua administração direta sobre a pele em decorrência de suas baixas viscosidade e retenção (HEMMINGSEN *et al.*, 2021). Por esse motivo, surgiu a demanda de aprimoramento terapêutico por meio da associação de lipossomas contendo 5-FU com um veículo que pudesse realizar a entrega tópica desse fármaco com adequados perfis de segurança e eficácia, além disso seria necessário que a formulação fosse incorporada a uma forma farmacêutica com adequadas características reológicas e bioadesivas adequadas a fim de facilitar sua administração tópica e promover um tratamento eficaz (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021; LARGE *et al.*, 2021).

Para esse propósito, os hidrogéis são frequentemente empregados, uma vez que podem fornecer um perfil de liberação otimizado e um aumento do acúmulo do fármaco no tecido alvo (GUIMARÃES; CAVACO-PAULO; NOGUEIRA, 2021; HEMMINGSEN *et al.*, 2021; LARGE *et al.*, 2021). Nesse contexto, géis a base de hidroxietilcelulose (HEC) são apontados como uma possibilidade de veículo direcionada a essa aplicação, pois oferecem adequada viscosidade ao sistema em uma ampla faixa de pH (2.0 a 12.0), além de serem biocompatíveis, atóxicos e biodegradáveis (AMARAL JAIGOBIND, 2020; NOREEN *et al.*, 2020). No presente trabalho, as formulações lipossomais foram incorporadas à um hidrogel de

hidroxietilcelulose (HEC) à 2% na proporção de 2,5 mL de formulação para 8,0mL de hidrogel. Após incorporação imediata dos diferentes grupos de amostra aqui estudados (lipossoma branco, lipossoma com 5-Fu, lipossoma branco contendo Span 20 e lipossoma com 5-Fu contendo Span 20) ao hidrogel, foram obtidos géis com consistência satisfatória, opalescente e com odor característico. As formulações resultantes foram submetidas a estudos preliminares de caracterizações físico-químicas preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (2004) junto a análises descritas na literatura, focados em avaliar a sua estabilidade (BRASIL, 2004).

5.3 Estabilidade preliminar

Como preconiza a Anvisa (2004), é imprescindível promover a análise do comportamento de formulações semissólidas, como o hidrogel hidrofílico aqui desenvolvido, quando submetidas a condições ambientais e extremas, potencializando possíveis modificações da formulação a fim de avaliar se há a necessidade da realização de ajustes no seu desenvolvimento (BRASIL, 2004). Jaigobind (2020) descreve a existência de fatores extrínsecos e intrínsecos de influência na estabilidade de formulações, em que o primeiro diz respeito a parâmetros como temperatura, luz e umidade, enquanto os intrínsecos estão relacionados a incompatibilidades física e química inerentes à natureza dos componentes das formulações. Isto posto, torna-se possível simular condições de mercado às quais as formulações podem ser expostas e, assim, prever quais aspectos poderiam ou não ser comprometidos interferindo no resultado terapêutico (AMARAL JAIGOBIND, 2020).

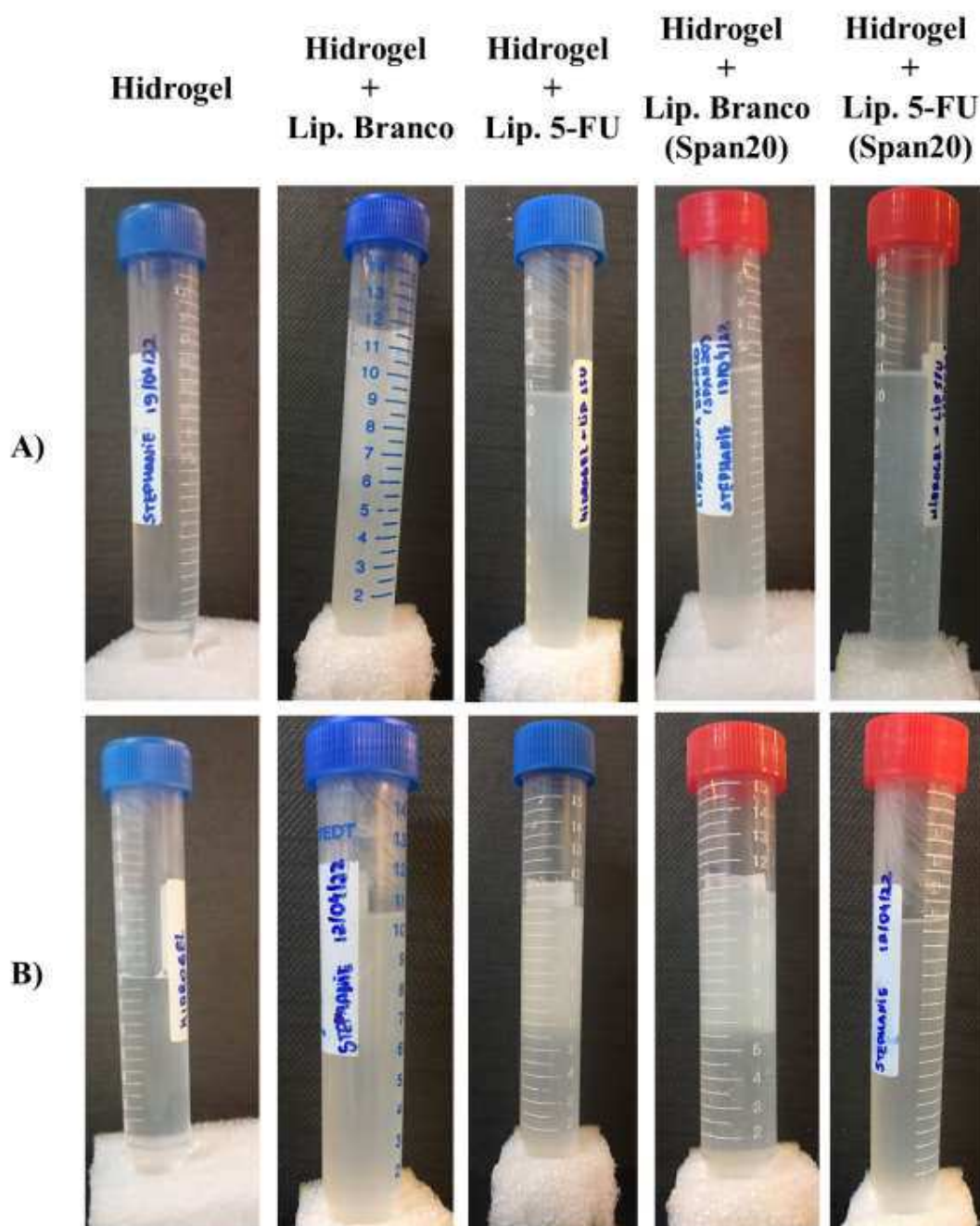
O protocolo de estabilidade do produto deve ser estipulado conforme o conhecimento técnico prévio do analista e baseado nos objetivos e atributos almejados para a formulação final, existindo alguns documentos elaborados por órgãos regulatórios que fornecem subsídios para direcionar o estudo de estabilidade (ISAAC *et al.*, 2008). O presente trabalho teve como base escritas científicas, guias e manuais de órgãos regulatórios para definir previamente quais análises seriam realizadas. Comumente, os estudos de estabilidade se baseiam nos testes de: estabilidade preliminar (ou teste de triagem), estabilidade acelerada (normal ou exploratória) ou tempo de prateleira (MOREIRA; CORRÊA, 2021). Visando obter o máximo de informações possíveis em um curto período sobre a estabilidade do produto, foi selecionada a estabilidade preliminar (ISAAC *et al.*, 2008). Desse modo, pôde-se investigar se houve manutenção das características físico-químicas do hidrogel após a incorporação do

fármaco e, conseqüentemente, determinar se a composição adotada para este é satisfatória ou requer adaptações (BRASIL, 2004). Para tanto, foram adotados os seguintes ensaios: teste de centrifugação, ensaio de estresse térmico, ensaio de espalhabilidade, determinação da densidade e análise de viscosidade e determinação do pH ao longo do tempo (ISAAC *et al.*, 2008).

5.3.1 Teste de centrifugação

Conforme realizado nos trabalhos de Mou *et al* (2008) e Ferreira (2019), e como determinado pelo guia de estabilidade de cosméticos da Anvisa (2020), o teste de centrifugação foi empregado neste estudo a fim de investigar a estabilidade física da formulação (FERREIRA, 2019; MOU *et al.*, 2008). Como descrito por estes, a instabilidade da formulação mediante estresse físico causado pela centrifugação pode ser percebida pela formação de *caking* (aglomerado no fundo dos frascos), precipitação, separação de fases ou coalescência. Desse modo, essa análise permite observar se houve formação de precipitados, mudança de coloração, separação de fases, coalescência, dentre outras alterações que possam vir a ser indicativos de que o produto deve ser reformulado, ou seja, o ensaio em questão tem caráter qualitativo, podendo determinar a aprovação ou reprovação do produto analisado (CAVALCANTE *et al.*, 2022).

Figura 12. A) Amostras antes da centrifugação. B) Amostras após centrifugação. Amostras armazenadas a temperatura ambiente (25°C).



Fonte: Autoria própria (2022).

Com base na avaliação macroscópica demonstrada (Figuras 12) para todos os grupos (lipossoma branco, lipossoma com 5-Fu, lipossoma branco contendo Span 20 e lipossoma com 5-Fu contendo Span 20), ao final deste teste de caráter eliminatório, não foi revelado quaisquer indícios de inconformidade física, visto que todos os grupos mantiveram as características estáveis, não apresentaram separação de fase, precipitação ou oxidação, o que possibilitou a continuidade do trabalho em questão, uma vez demonstrada a compatibilidade

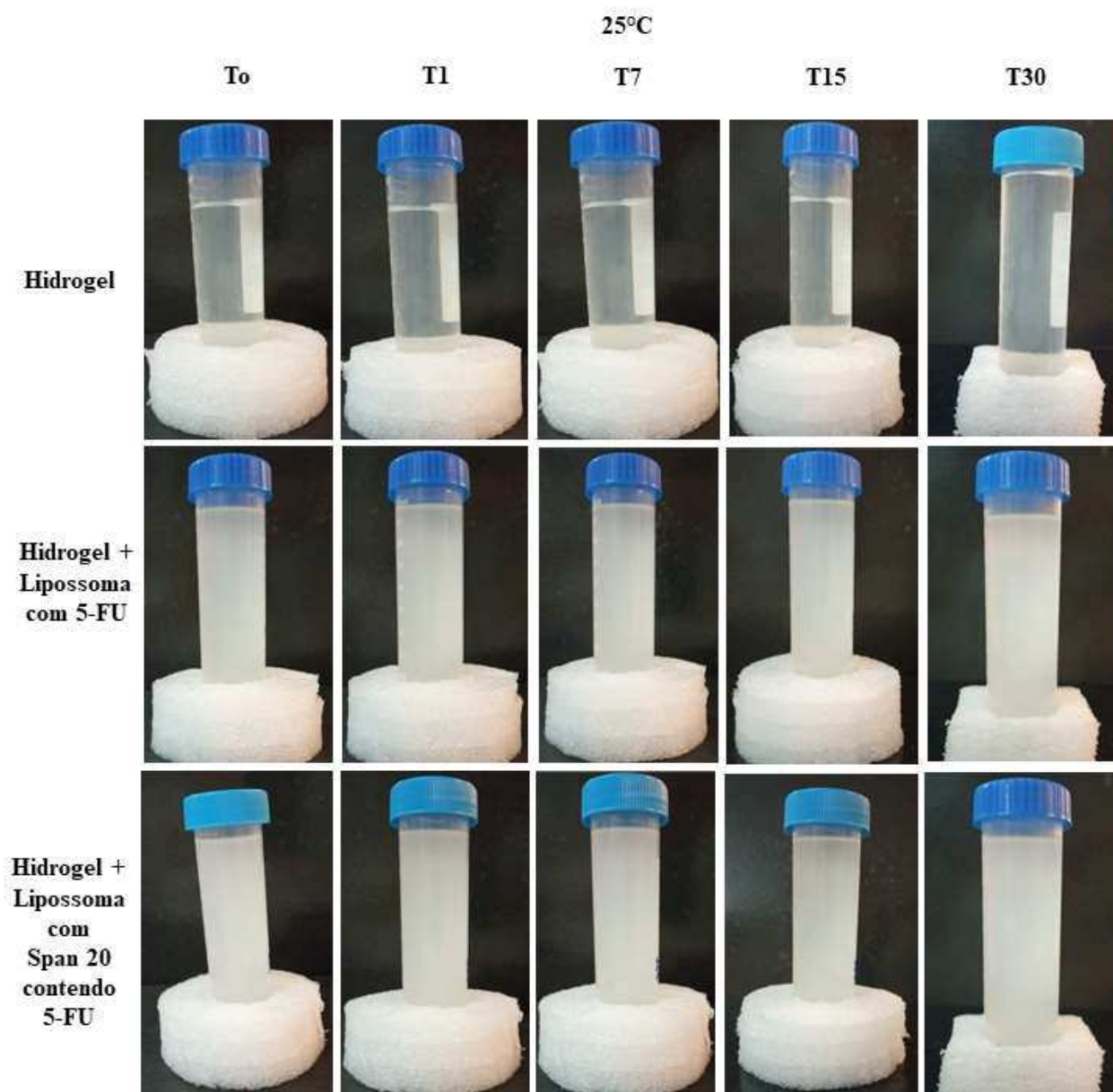
entre a forma farmacêutica e os grupos lipossomais, conforme esperado (BRASIL, 2004; COSTA; COSTA; SILVA JÚNIOR, 2021).

5.3.2 Ensaio de estresse térmico

Diante da necessidade de avaliar o comportamento termodinâmico do produto em estudo, o mesmo pode ser submetido as variáveis condições de temperatura, sendo elas: teste em estufa, com temperaturas elevadas de 37, 40, 45 ou $50 \pm 2^\circ\text{C}$; ensaio em geladeira de $5 \pm 2^\circ\text{C}$; ou ainda, em ciclos de revezamento entre temperaturas elevadas e temperatura baixas, respectivamente, em intervalos regulares de tempo (24 horas, por exemplo) (BRASIL, 2004). Conforme o protocolo de estabilidade adotada, dentre as recomendações da ANVISA (2004), a condição de análise foi em teste de temperatura em estufa ($50^\circ\text{C} \pm 2$) e ambiente ($25^\circ\text{C} \pm$), em que uma quantidade suficiente para as análises das amostras foi previamente definida (BRASIL, 2004). Com o objetivo de investigar a estabilidade termodinâmica dos sistemas de hidrogéis, contendo ou não lipossomas, as formulações foram mantidas a 50°C pelos períodos de T_0 , 1, 7,15 e 30 dias ($n=3$ para cada grupo), paralelamente o estudo teve como grupo controle formulações armazenadas a 25°C ($n=3$ para cada grupo) durante o mesmo período, ao abrigo da luz (FERREIRA, 2019). Ao final de cada tempo, o pH das formulações foi aferido em busca, novamente, de alterações que sugerissem reações de degradação ou instabilidade química, conforme mais bem detalhado no item 5.3.3.

As características macroscópicas das formulações, isto é, suas propriedades organolépticas, também foram documentadas após a submissão ao estresse térmico no que diz respeito ao seu aspecto, cor e odor, como mostra as tabelas 12 e 13. Como critério, foram adotados os termos: (N) – Normal (sem alteração), (LS) – Levemente separado, (LP) – Levemente precipitado, (LT) – Levemente turvo, (S) – Separado, (P) – Precipitado, (T) – Turvo. Quanto a cor e odor: (N) – Normal (sem alteração), (LM) – Levemente modificado, (M) – Modificada e (IM) – Intensamente modificada (BRASIL, 2004).

Figura 13. Grupo controle das formulações de estabilidade armazenadas a 25°C durante 30 dias.



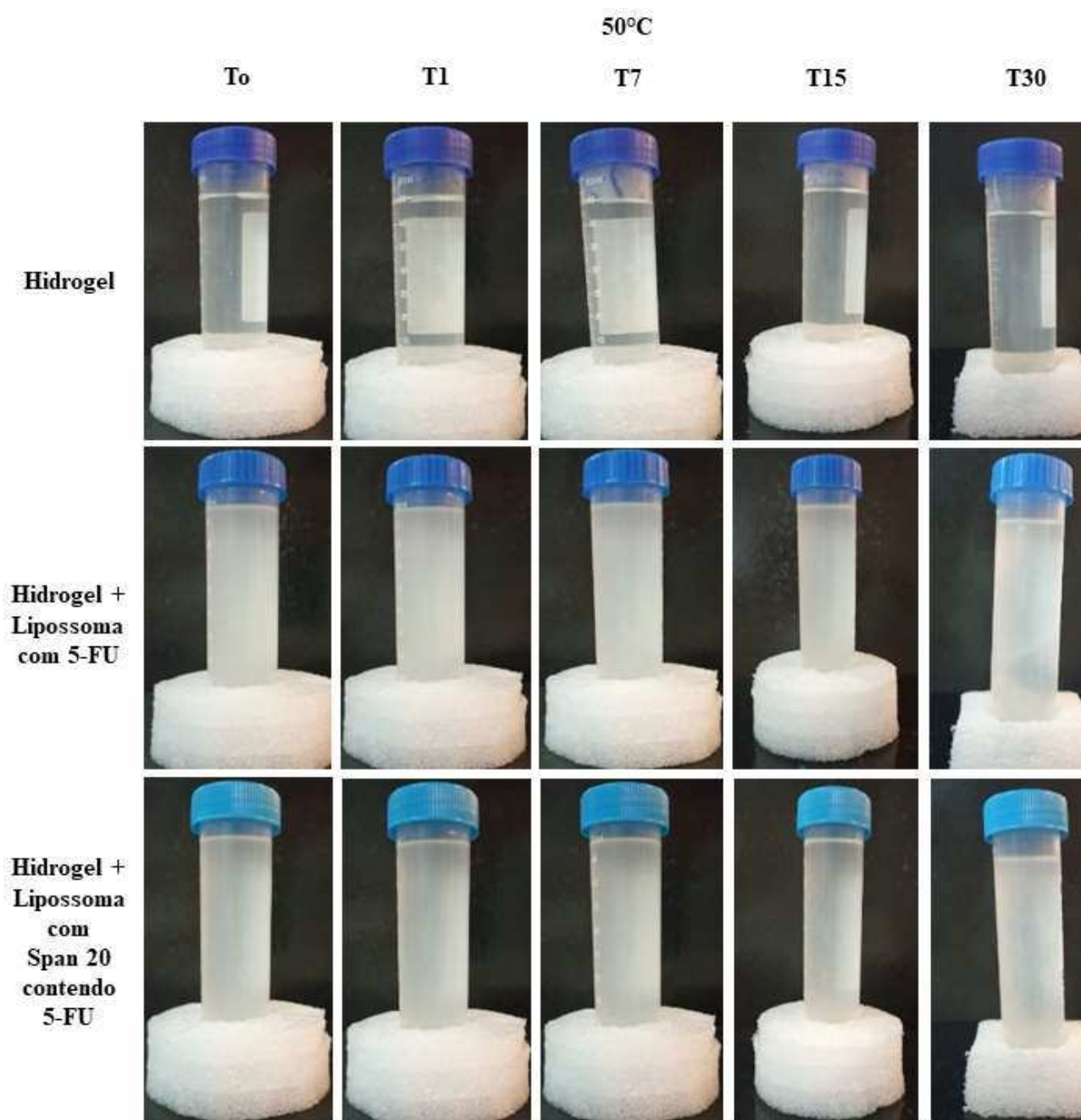
Fonte: A autoria própria (2022).

Tabela 2. Avaliação macroscópica dos diferentes grupos de hidrogéis armazenados a 25°C durante 30 dias.

Temperatura ambiente (25°C)						
Formulação	Características Organolépticas	To	T₁	T₇	T₁₅	T₃₀
HP	Cor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
HL 5FU	Cor	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)
HL SPAN20 5FU	Cor	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)

Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 14. Grupo das formulações de estabilidade armazenadas a 50°C durante 30 dias.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 3. Avaliação macroscópica dos diferentes grupos de hidrogéis armazenados a 50°C durante 30 dias.

Temperatura ambiente (50°C)						
Formulação	Características Organolépticas	To	T ₁	T ₇	T ₁₅	T ₃₀
HP	Cor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
HL 5FU	Cor	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)	(LT/LS)
HL SPAN20 5FU	Cor	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)	(LM)
	Odor	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
	Aspecto	(LT)	(LT)	(LT)	(LT)	(LT/LS)

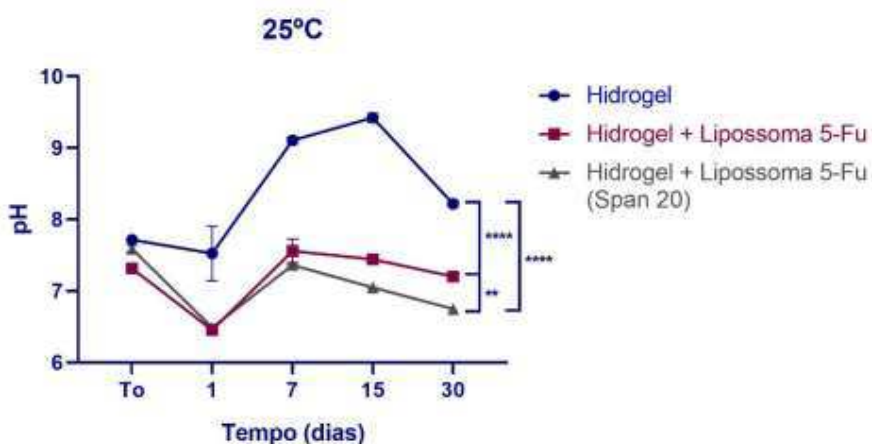
Fonte: Aatoria própria (2022).

Diante dos resultados obtidos, podem ser relatadas como as características organolépticas e os aspectos macroscópicos, para os grupos de hidrogel e lipossomas, como sendo levemente opalescente, em decorrência da dispersão lipossomal. Diferentemente do hidrogel puro (sem nanocarreadores), que se apresentou incolor e transparente. Ademais, todos os 5 grupos analisados aparentemente mantiveram-se como um gel fluído, homogêneo e com o odor característico. Quanto às análises tátil, olfativa e visual, ressalta-se que apesar da aparência levemente fragmentada do grupo do hidrogel com lipossomas armazenadas a 50°C constatada no T30, não foram observadas mudanças expressivas em nenhuma das outras amostras no período de 30 dias. Ademais, pode ser evidenciado o fato de que amostras submetidas a temperaturas elevadas, tais como a utilizada, possuem aceitabilidade de pequenas variações no que se diz respeito ao aspecto das formulações (MOREIRA; CORRÊA, 2021).

5.3.3 Determinação do pH

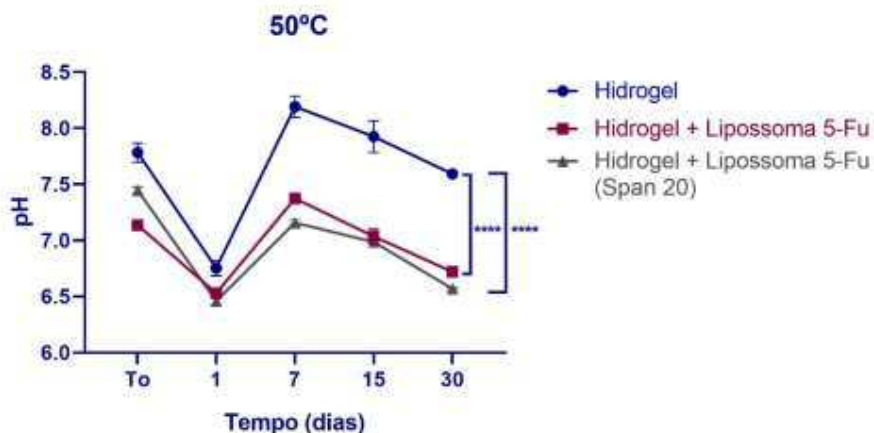
Conforme descrito no Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (2021), vale ressaltar que o gel fluido de hidroxietilcelulose apresenta-se estável em uma ampla faixa de pH (2,0 a 12,0), devido a isso possui indicação para substâncias altamente reativas e facilmente oxidáveis. Em contrapartida, sua estabilidade é reduzida em pH abaixo de 5, devido à hidrólise, enquanto em pH elevado, pode sofrer oxidação (DARLENE; ALVES, 2014). Nesse contexto, além da determinação do pH contribuir como um parâmetro para avaliação físico-química de estabilidade, ele permite verificar se as formulações apresentam compatibilidade com o pH da via de administração de interesse, neste caso, visando o uso tópico. Assim, a literatura evidencia que o pH cutâneo corresponde entre 4,6 a 5,8 (DIAS SANTANA, 2017). Contudo, o presente trabalho especifica o uso para tratamento do câncer de pele, desse modo, estudos relatam que em se tratando de pele danificada, as formulações devem apresentar valores de pH entre 5,0 e 8,0, ou seja, valores condizentes com os observados quando os lipossomas carregados com 5-FU, com ou sem Span 20, são incorporados ao hidrogel (RISALITI *et al.*, 2021).

Figura 15. Gráficos elaborados a partir dos valores médios de pH dos diferentes grupos de amostras diluídas 1: 10 (p/v) em função do tempo em dias. Grupos: Hidrogel puro (HP), Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU (HL 5-FU) e Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU com Span 20 (HL 5-FU Span 20) armazenados a 25°C durante 30 dias. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise *two way* ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.



Fonte: A autoria própria (2022).

Figura 16. Gráficos elaborados a partir dos valores médios de pH dos diferentes grupos de amostras diluídas 1: 10 (p/v) em função do tempo em dias. Grupos: Hidrogel puro (HP), Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU (HL 5-FU) e Hidrogel com Lipossoma contendo 5-FU com Span 20 (HL 5-FU Span 20) armazenados a 50°C durante 30 dias. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise *two way* ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.



Fonte: A autoria própria (2022).

A partir dos gráficos obtidos (Figuras 16 e 17), é possível constatar que houve uma redução no pH com variação estatística significativa ($p < 0,05$) nos grupos de hidrogel contendo lipossomas quando comparados ao hidrogel puro de HEC, tanto nas formulações armazenadas em estufa, como nas amostras armazenadas em temperatura ambiente. Tal resultado pode estar correlacionado ao pKa do próprio fármaco, que se aproxima de 8,0, o que indica que, nas faixas de pH encontradas, a molécula do 5-FU encontra-se majoritariamente em sua forma não protonada, isto é, negativa (MERINO *et al.*, 1999). As análises também foram realizadas com grupos de lipossomas brancos com e sem Span 20, armazenados por 24 horas, e não foram observadas variações significativas destes em comparação ao hidrogel puro, corroborando com as alterações de pH devido a presença do fármaco no sistema. Além disso, os grupos analisados nas diferentes condições apresentaram, em sua maioria, variações de pH estatisticamente significativa entre si ao longo dos períodos das leituras realizadas, contudo, particularmente se tratando do hidrogel carreando lipossomas contendo Span 20 com 5-FU, os valores de pH se mantiveram dentro da faixa aceitável (pH entre 5,0 e 8,0) para uso tópico aplicado ao câncer de pele (RISALITI *et al.*, 2021).

5.3.4 Determinação de densidade

Para avaliar a densidade de semissólidos, como o hidrogel hidrofílico aqui desenvolvido, é utilizado o picnômetro de alumínio, em seguida os valores obtidos são adicionados na equação 2, demonstrada no item 4.4.2.2. Geralmente, casos de alterações na densidade são indicativos de perda de materiais voláteis (exemplo, água) existentes na formulação, ou ainda a presença de bolhas, há casos também em que as mudanças na viscosidade das amostras pode ser um fator determinantes na influência desse parâmetro (MOREIRA; CORRÊA, 2021).

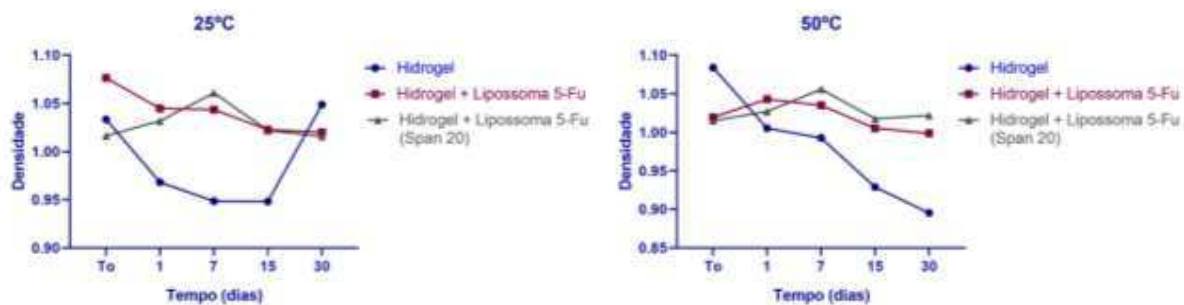
Tabela 4. Valores de densidades obtidos através das médias registradas ao longo de 30 dias a temperatura ambiente.

	Densidade		
	Formulações		
	HP	HL 5FU	HL SPAN20 5FU
Temperatura ambiente	0,9892	1,0413	1,0292
Estufa (50°C ±2)	0,9811	1,0201	1,0274

Fonte: Aatoria própria (2022).

Isto posto, foram encontrados os valores descritos (Tabela 4) em que mesmo após a incorporação dos lipossomas no hidrogel de HEC, não houve variação estatística significativa ($p > 0,05$). A literatura prevê a densidade relativa de 1,0033 para 2% p/v de solução aquosa de hidroxietilcelulose, mesma concentração também adotada neste estudo. Apesar da pequena variação observada na densidade do hidrogel puro, as demais formulações se mantiveram dentro do valor de referência, configurando valores satisfatórios (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Nota-se que as algumas amostras submetidas a 50°C tiveram uma pequena redução (Figura 16), possivelmente decorrida da incorporação de bolhas ou perda de água, contudo essas variações das densidades das formulações não foram significativas mesmo sob condições de estresse térmico, possibilitando constatar que o produto possui boa estabilidade.

Figura 17. Representação gráfica da densidade em função do tempo em dias sob diferentes condições de armazenamento.



Fonte: Autoria própria (2022).

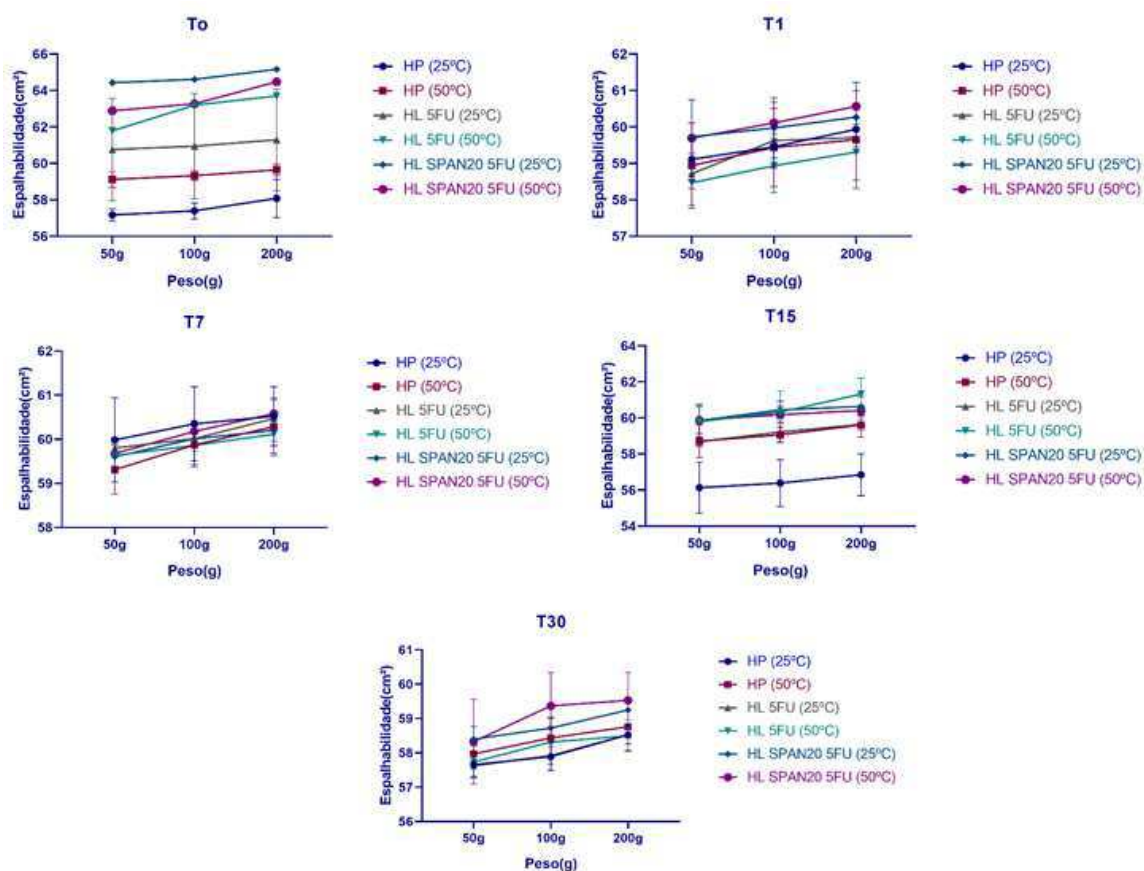
5.3.5 Espalhabilidade

A literatura enquadra o ensaio de espalhabilidade como uma análise aplicada em formulações semissólidas para uso tópico, como é o caso dos hidrogéis, com intuito de avaliar o comportamento de extensibilidade da formulação em uma superfície após aplicação de força, em função de determinado tempo, em que esse parâmetro pode ser avaliado com as amostras submetidas a diferentes condições de armazenamento (GARCIA OLIVEIRA, 2020; STEFANI BORGHETTI; TERESINHA KNORST, 2006). Diante disso, foi avaliada o perfil de espalhabilidade de hidrogéis contendo ou não lipossomas armazenados em temperatura ambiente (25°C) e em estufa (50°C), nos tempos de To, 1, 7, 15 e 30 dias e, seguidamente, foi realizada a análise de variância (ANOVA) entre os valores médios de espalhabilidade obtidos, a fim de verificar a possibilidade de diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

De fato, foi observado que diferenças significativamente entre amostras de grupos semelhantes e em diferentes condições de armazenamento, com exceção dos hidrogéis associados a lipossomas com Span20 contendo 5-FU que não apresentaram diferença estatística significativa, inclusive também foi o grupo que apresentou menores valores de espalhabilidade. Vale ressaltar que a espalhabilidade é inversamente proporcional a viscosidade, dessa forma espera-se que os lipossomas com Span 20 contendo 5-FU seja um sistema mais fluído, menos viscoso e, conseqüentemente corrobora com a redução os esforços necessários para aplicabilidade das formulações, garantido otimização terapêutica e maior aceitabilidade do paciente (CAVALCANTE *et al.*, 2022; GARCIA OLIVEIRA, 2020). Ao passo que o hidrogel puro de HEC forneceu valores mais reduzidos de espalhabilidade, demonstrando ser mais

consistente, assim nota-se que há uma correlação entre esse parâmetro e as propriedades organoléptica e reológicas (FERREIRA, 2019). A princípio, a espalhabilidade foi avaliada após 24 horas do preparo (T₀), em que praticamente entre todos os grupos houve disparidades de valores, com variação estatisticamente significativa, ao passo que essa diferença foi menos recorrente ao longo do período de 30 dias, possivelmente devido a ser o tempo necessário para o semissólido estabelecer sua consistência final (ISAAC *et al.*, 2008). Binder *et al.* (2019) também observou mudanças no pH e na viscosidade, principalmente nos dias iniciais que sucederam a produção de hidrogéis de HEC a 2,5, 5,0 e 7,5% e concluiu que tais alterações seriam devido ao tempo necessário para obter a estruturação final do gel (BINDER *et al.*, 2019).

Figura 18. Representação gráfica da análise da espalhabilidade das formulações sob diferentes condições, em que a área de espalhabilidade está função dos pesos aplicados, em diferentes dias.



Fonte: Autoria própria (2022).

Nesse contexto, é importante salientar que a espalhabilidade de dado produto está diretamente associada com seu potencial de cobertura da área da pele, uma vez que o próprio emaranhado polimérico afeta a estabilidade física e, conseqüentemente, a formação da camada

de gel hidrofílico quando submetido a aplicação tópica (AMARAL JAIGOBIND, 2020; CORRÊA *et al.*, 2005). Desse modo, há influência na percepção sensorial do consumidor e na adesão do paciente ao tratamento, sendo também um dos fatores determinantes na eficácia terapêutica (CAVALCANTE *et al.*, 2022). Dentre os fatores que podem resultar em mudanças significativas desse parâmetro, podem ser citadas as variações das concentrações de polímero, uma vez que esta influência na disposição das cadeias poliméricas e pontes de hidrogênio formadas e, conseqüentemente, na espessura da camada formada após a aplicação (DARLENE; ALVES, 2014). Portanto, é fundamental a avaliação do analista no que diz respeito à seleção do polímero e sua respectiva concentração nas formulações, visto que um produto com veiculação tópica não deve apresentar a espalhabilidade elevada a ponto de resultar em escoamento, comprometendo seu tempo de retenção na pele, e nem espalhabilidade reduzida, prejudicando sua performance na abrangência por completo do local de ação (CONTRERAS; SANCHEZ, 2002).

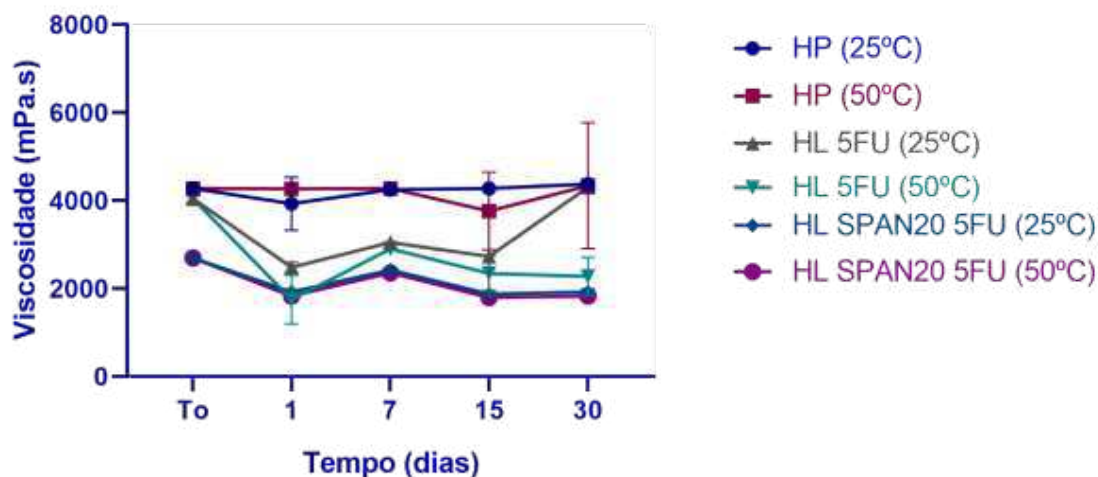
5.4 Análise de viscosidade

A análise da viscosidade foi obtida a partir da leitura das amostras (armazenadas a 25°C e 50°C) no período de 30 dias (To – dia de produção, 1, 7, 15 e 30 dias), com auxílio do viscosímetro rotacional (viscosímetro de Brookfield), responsável por mensurar a viscosidade através da tensão necessária para que o *spindle* (eixo rotacional) gire. A viscosidade é um parâmetro bastante relevante quando direcionado para a análise de semissólidos destinados a via tópica, uma vez que é uma propriedade que comunica a resistência de fluir de um produto, dessa forma, quando maior a viscosidade, maior é a resistência para fluir (PACHECO, 2013). Então, nas condições de 30 rpm e torque entre 27,8 e 107%, não houve variação estatística significativa ($p > 0,05$) entre as amostras de mesmo grupo armazenadas a 25° C e 50° C que se mantiveram estáveis durante 30 dias, com exceção do grupo de hidrogéis com lipossomas convencionais contendo 5-FU, que apresentaram variações estatisticamente consideráveis, onde o grupo armazenado a 50°C demonstrou reduzida viscosidade comparado ao grupo mantido a temperatura ambiente, possivelmente em decorrência de certa degradação polimérica induzida pelo aumento de temperatura (MOREIRA; CORRÊA, 2021).

A viscosidade também está diretamente relacionada com a espalhabilidade, são variantes inversamente proporcionais, ou seja, quanto menor a viscosidade mais facilmente

a formulação poderá se espalhar na aplicação (FERREIRA, 2019). Dito isso, prontamente os resultados observados (Figura 20) nos permite verificar que as formulações com menor valor de viscosidade foram os hidrogéis veiculando lipossomas com Span 20 contendo 5-FU, ao passo que registram maior espalhabilidade, conforme apresentado no item 5.3.5, possivelmente associado a diluição do sistema (RATA *et al.*, 2021). Em contrapartida, o hidrogel puro demonstrou-se mais viscoso, com valores mais próximos ao previsto pelo fabricante (entre 4800 e 6000 mPa.s) quando comparado com as demais formulações, tornando-o mais resistente a aplicação tópica, portanto a incorporação dos nanocarreadores foi favorável, pois forneceu um veículo mais flexível, capaz de preencher os sulcos e anexos da pele, resultando no aumento do contato superficial e promovendo otimização terapêutica com maior biodisponibilidade do fármaco (ZHANG *et al.*, 2020).

Figura 19. Representação gráfica da viscosidade dos grupos analisados em função do tempo, com leitura realizada a 30 rpm em temperatura ambiente (25°C).



Fonte: A autoria própria (2022).

5.5 Análises reológicas dos sistemas

A reologia é a ciência que descreve as propriedades de escoamento e capacidade de deformação da matéria, como fluidos e sólidos (CORRÊA *et al.*, 2005; PACHECO, 2013). Ela pode ser avaliada a partir de instrumentos como viscosímetros ou reômetros, em que esse último é preferível devido a sua alta sensibilidade e versatilidade, permitindo o controle de temperatura e da taxa de cisalhamento, contribuindo com resultados mais precisos obtidos em tempo real (NASCIMENTO, 2007; QWIST *et al.*, 2019). No caso de formulações semissólidas, como os

hidrogéis, o perfil reológico é um atributo que auxilia a prever a fluidez e o potencial de espalhabilidade desses sistemas de liberação, fornecendo informações valiosas para o desenvolvimento e controle de qualidade de um produto, conciliando a eficácia terapêutica e aceitabilidade do paciente (HO *et al.*, 2022; QWIST *et al.*, 2019). Dessa forma, o comportamento reológico pode ser caracterizado a partir de ensaios reológicos contínuos e oscilatórios, conforme realizado no presente estudo, e pode ser aplicado a diversos fins, seja com intuito de verificar a logística do bombeamento de um produto em um equipamento a nível industrial, seja para aprimorar o sensorial de uma formulação cosmética, ou ainda para garantir a entrega adequada de um fármaco associados à sistemas poliméricos (AMARAL JAIGOBIND, 2020; CALIXTO *et al.*, 2016; ISAAC *et al.*, 2008).

5.5.1 Ensaio reológico contínuo

O ensaio reológico contínuo tem o objetivo de analisar o comportamento de fluxo a partir de um gráfico que correlaciona tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento, gerando uma curva ascendente e uma curva descendente. A curva ascendente demonstra o comportamento do material analisado quando submetido ao aumento da taxa de cisalhamento, enquanto isso a curva descendente diz respeito ao comportamento da amostra quando há uma redução da taxa de cisalhamento (CALIXTO *et al.*, 2016; PIRONI, 2019). Conforme o desempenho observado na curva ascendente, um material pode ser classificado como newtoniano ou não newtoniano, em que esse último pode ser subdividido em: pseudoplástico, dilatante ou plástico (CORRÊA *et al.*, 2005; VON ZUBEN, 2019). Quando a formulação possui uma curva de fluxo representada por uma reta que passa pela origem linearmente, demonstrando tensão e taxa de cisalhamento constante, ela se configura com fluxo newtoniano, ou seja, apresenta viscosidade constante conforme a Lei de Newton da viscosidade (COUSSOT, 2012; DUARTE *et al.*, 2020). Em contrapartida, quando o material possui fluxo não newtoniano, a taxa de cisalhamento e a tensão de cisalhamento não possuem relação proporcional, assim há variações dos valores de viscosidade. Ademais, a curva descendente caracteriza a formulação como tixotrópica ou reopética (CALIXTO, 2017; PACHECO, 2013).

Conforme pode ser observado no gráfico (Figura 21), o hidrogel puro de HEC, assim como os hidrogéis veiculando lipossomas, apresentaram comportamento de fluxo não newtoniano, uma vez que não houve relação linear entre a tensão e a taxa de cisalhamento, e assim a taxa de cisalhamento levou a alterações da viscosidade dos hidrogéis na temperatura de

32°C. Além disso, após aplicada a lei da potência, o índice de fluxo obtido ($n < 1$) confirmou que todos os grupos analisados exibiram comportamento de fluxo pseudoplástico (Tabela 5). O comportamento pseudoplástico é uma propriedade desejável para formulações semissólidas com destinação a via tópica, inclusive comumente observada em géis (QWIST *et al.*, 2019), uma vez que quando aplicada uma força, a viscosidade do sistema diminui, resultando em uma maior fluidez e melhor espalhabilidade da formulação na pele, obtendo a distribuição de uma camada uniforme (DUARTE *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2016). Esse efeito pode ser explicado devido a alterações da estrutura interna do gel, que o rompimento dos pontos de contato, resultando no rearranjo da rede polimérica e alinhamento das moléculas em direção ao sentido de escoamento, já que o aumento da taxa de cisalhamento resulta no afinamento por cisalhamento ou *shear thinning* (CALIXTO, 2017; DO PRADO *et al.*, 2022).

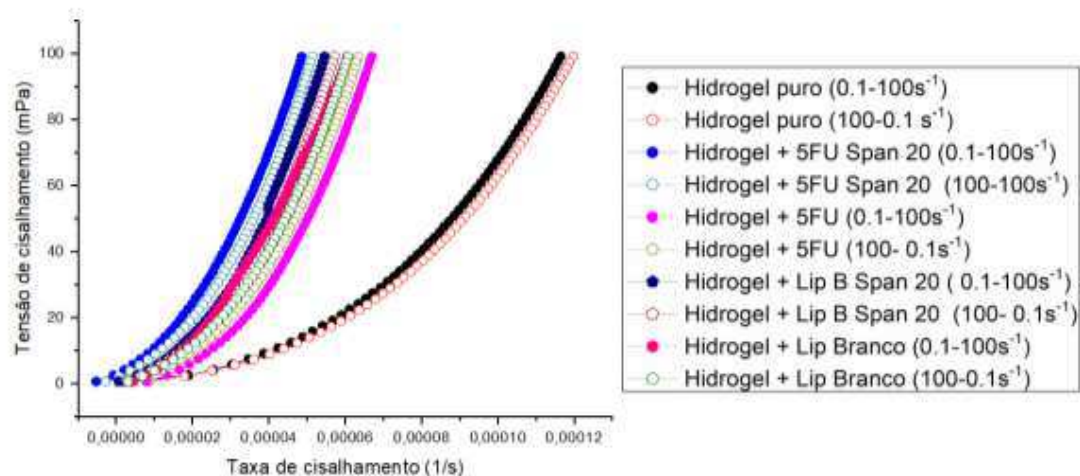
Pironi (2019) relatou que esse comportamento pode ser observado em polímeros de alto peso molecular, uma vez que a quantidade de ligações formadas por carbonos tetraédricos proporciona uma conformação rotacional em cada ligação, conseqüentemente há uma maior mobilidade das cadeias poliméricas, como é o caso do hidrogel de HEC, derivado de macromoléculas (PIRONI, 2019; RISALITI *et al.*, 2021). À semelhança de Risaliti e colaboradores (2021), também utilizaram o hidrogel de HEC (3%) como matriz polimérica de escolha para incorporação de nanocarreadores, e também classificaram suas formulações como não newtonianos pseudoplástico, a partir dos obtidos da equação de Herschel-Bulkley, que no presente estudo apresentou ótimo coeficiente de regressão linear ($R^2 > 0,999$) (Tabela 5) (RISALITI *et al.*, 2021). Com base em relatos da literatura, configura uma vantagem desses sistemas que possuem viscosidade mesmo quando não é aplicada nenhuma força, ou seja, quando o sistema se encontra em repouso (AMARAL JAIGOBIND, 2020; COSTA; COSTA; SILVA JÚNIOR, 2021; VON ZUBEN, 2019).

A área que surge entre as curvas ascendentes e descendentes são chamadas de áreas de histereses, são obtidas a partir do aumento e redução sistemática da taxa de cisalhamento e, permitem avaliar o comportamento das amostras durante a redução da taxa de cisalhamento, no caso de materiais com características tixotrópicas, geralmente, o gráfico registra o sentido horário da curva de fluxo (FLÁVIA CHIVA CARVALHO, 2009; SILVA *et al.*, 2016). De acordo com os resultados avaliados (Figura 21), não foi possível notar a formação de áreas de histereses, já que ocorreu sobreposições das curvas descendentes sobre as ascendentes, segundo Mewis e Wagner (2009) isso pode ser explicado devido ao experimento ter sido realizado mais lentamente, o que gera redução na diferença entre as curvas, posto que a estrutura tem mais tempo para se aproximar do estado estacionário (MEWIS; WAGNER, 2009). Ainda assim, foi

verificado o aumento da viscosidade conforme reduzida a taxa de cisalhamento, comprovando que os hidrogéis analisados apresentaram comportamento tixotrópico do tipo independente, como nomeado no estudo de Carvalho (2009), corroborando com o princípio de estabilidade desses sistemas uma vez que não houveram mudanças estruturais tão consideráveis, isto é, quaisquer alterações que os hidrogéis tenham sofrido foram rapidamente reversíveis (FLÁVIA CHIVA CARVALHO, 2009; PINTO, 2012). Então, a capacidade do sistema de prontamente recuperar sua viscosidade e estrutura inicial, conforme foi sendo suspensa a força aplicada, resulta no aumento do seu tempo de contato no local de ação (HO *et al.*, 2022; PINTO, 2012).

Ademais, baseado nos valores do índice de consistência (K), foi evidenciado que a adição dos lipossomas (com e sem Span 20 e contendo ou não o 5-FU) nos hidrogéis, levou à redução dos índices de consistências quando comparado ao hidrogel puro de HEC, sugerindo que a dispersão lipossomal afetou nas ligações intermoleculares entre as cadeias poliméricas, formando hidrogéis menos reticulados, resultando na diminuição da sua viscosidade. Rata e colaboradores (2021) descreveram também que a incorporação de suspensão de nanocápsulas contendo 5-FU gerou uma redução da viscosidade aparente, possivelmente devido ao efeito de diluição (RATA *et al.*, 2021). Todavia, a incorporação de lipossomas nesse sistema de entrega ainda é benéfico no que diz respeito a obtenção de uma viscosidade aceitável, que facilite a aplicação e proporcione maior tempo de retenção na pele evitando que ocorra o escoamento das formulações adotadas, promovendo também maior tolerância e aceitabilidade dos pacientes, além de atuar como uma espécie de reservatório do fármaco, favorecendo entrega prolongada e de maiores concentrações do mesmo e, conseqüente contribuindo com o sucesso terapêutico (BINDER *et al.*, 2019; DRAGICEVIC *et al.*, 2018; TAVANO, 2015).

Figura 20. Reogramas de fluxo das formulações obtidos a partir da relação entre tensão de cisalhamento “shear stress” e taxa de cisalhamento “shear rate” a temperatura de 32 °C. Os símbolos cheios representam as curvas ascendentes e símbolos vazios às curvas descendentes.



Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 5. Valores de índice de consistência, índice de fluxo (n) consistência (K) e coeficiente de regressão linear (R^2) a temperatura de 32°C.

Formulações	K	n	R^2
HP	28,4319	0,3449	0,9999
HLB	9,9173	0,4210	0,9995
HLB SPAN20	9,7420	0,4071	0,9991
HL 5FU	10,7006	0,4075	0,9998
HL SPAN20 5FU	7,6521	0,4530	0,9999

Fonte: Autoria própria (2022).

5.5.2 Ensaio reológico oscilatório

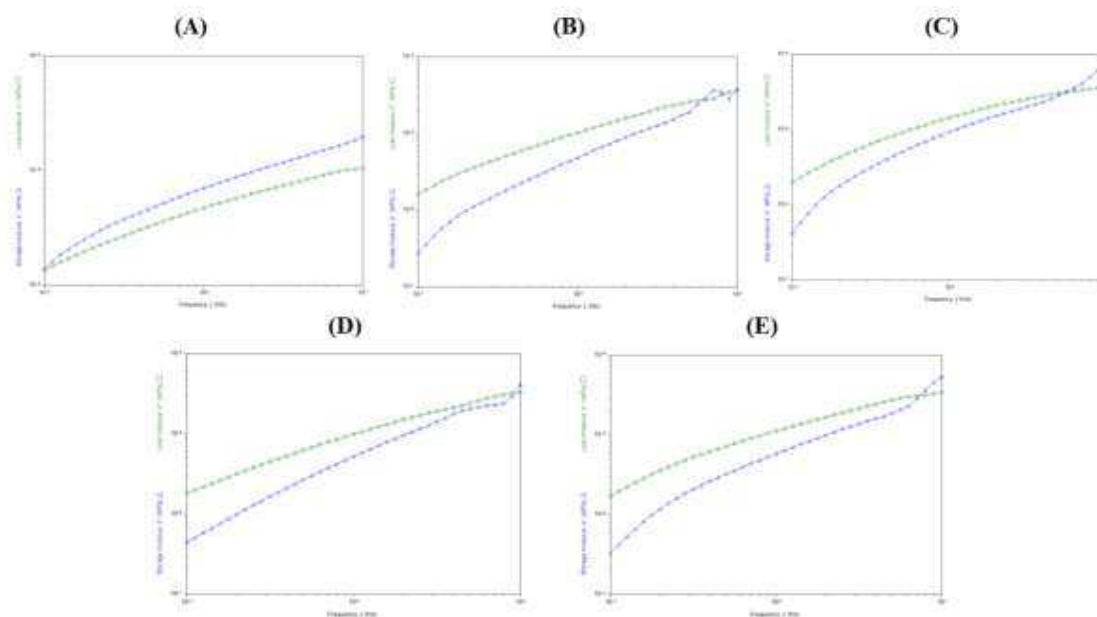
O ensaio reológico oscilatório foi aplicado para determinação das propriedades viscoelásticas dos hidrogéis, no qual as amostras foram submetidas a deformação em dois sentidos alternados a fim de avaliar sua natureza estrutural. À priori, foi realizada a varredura de tensão para identificar a região viscoelástica, onde a estrutura do sistema é preservada, ou seja, região em que os módulos G' e G'' independem da frequência. A partir disso, é possível obter um gráfico da varredura dos módulos G' (elástico) e G'' (viscoso) em função da frequência (Hz) (AMARAL JAIGOBIND, 2020; FERREIRA, 2019).

Nesse contexto, o módulo elástico ou de armazenamento (G') se trata da energia armazenada conforme a tensão é aumentada no período de deformação, ou da energia perdida/liberada à medida que a tensão aplicada é reduzida, enquanto o módulo viscoso (G'')

diz respeito a performance viscosa, em que não há energia armazenada, pois, a tensão aplicada resulta na deformação permanente ou irreversível (PACHECO, 2013). Essa análise qualitativa permite constatar se o sistema está interligado quimicamente (por ligações covalentes), caso $G' \gg G''$, ou sugere que a estrutura do sistema está associada a ligações secundárias (como, pontes de hidrogênio e interações de Van der Waals), considerando que $G' > G''$, ademais as interações moleculares das amostras podem ser por ligações físicas (por exemplo, dipolo-dipolo e dipolo induzido) quando $G' \leq G''$ (CALIXTO, 2017; DUARTE *et al.*, 2020).

De acordo com os gráficos analisados (Figura 18), constatou-se que o hidrogel puro apresentou valores de G' superiores a G'' em todo intervalo de frequência, indicando comportamento predominantemente elástico, sugerindo a formação de um hidrogel de HEC com uma rede polimérica mais estruturada, do mesmo modo Jones *et al.* (1997) verificou que hidrogéis de HEC (concentração de 3 a 12%) apresentaram maiores valores do módulo de armazenamento (JONES; WOOLFSON; BROWN, 1997). Entretanto, após a adição dos lipossomas nos hidrogéis, os valores de G'' foram superiores ao G' , indicando que os hidrogéis contendo lipossomas apresentaram característica de um sistema fluido com comportamento predominantemente viscoso. Do mesmo modo, Zuben (2019) verificou o caráter mais viscoso de hidrogéis de HEC 2% contendo lipossomas para tratamentos de diabetes por via nasal, contribuindo para o contato prolongado e maior tempo de absorção do fármaco de interesse (VON ZUBEN, 2019).

Figura 21. Reogramas de variação do módulo de armazenamento G' (cor azul) e de perda G'' (cor verde), representada no eixo y, em função da frequência (eixo X) a temperatura de 32°C. (A) Hidrogel puro. (B) Hidrogel + lipossoma branco. (C) Hidrogel + lipossoma branco contendo Span 20. (D) Hidrogel + lipossoma contendo 5-FU. (E) Hidrogel + lipossoma com Span 20 contendo 5-FU.



Fonte: Autoria própria (2022).

Quando aplicada a lei da potência nos resultados obtidos nesse ensaio, os parâmetros n (expoente de viscoelasticidade) e S (resistência do hidrogel) são determinados com o objetivo de caracterizar as amostras quanto ao grau de reticulação estrutural, em que ambos são variantes inversamente proporcionais (PIRONI, 2019). Dessa forma, quanto maior for o valor de S , mais reticulada e resistente será a estrutura do material, havendo redução dos valores de n , em contrapartida o aumento dos valores de n configuram um arranjo estrutural mais enfraquecido (SAXENA; KALOTI; BOHIDAR, 2011). De fato, o valor de S foi maior para o hidrogel puro, sofrendo um declínio nos hidrogéis contendo nanocarreadores, enquanto isso os valores de n foram mais elevados para os grupos que continham lipossomas (Tabela 6), corroborando que essa associação de hidrogel com lipossomas resultou em perda de organização estrutural e na redução da densidade de reticulação, conforme já visualizado também nos gráficos já expostos (FERREIRA *et al.*, 2021; VICTORELLI *et al.*, 2021).

Tabela 6. Valores do expoente viscoelástico (n), resistência do gel (S) e do coeficiente de regressão linear (R²) correspondente as suas respectivas amostras.

Formulações	n	S	R²
HP	0,5301	6,469	0,983406
HLB	0,9855	4,454	0,9882
HLB SPAN20	0,9392	7,7378	0,9722
HL 5FU	0,9334	4,7022	0,9926
HL SPAN20 5FU	0,9442	5,1377	0,9794

Fonte: Autoria própria (2022).

5.6 Análise do perfil de textura (TPA)

A análise do perfil de textura se trata de uma técnica analítica instrumental, rápida e direta que descreve informações a respeito das propriedades mecânicas de sistemas semissólidos, como os hidrogéis (JONES; WOOLFSON; BROWN, 1997). Assim, permite verificar as implicações de tensões que as amostras podem sofrer em condições fisiológicas e o desempenho estrutural das formulações, como a facilidade em envase e retirada do meio de acondicionamento, resistência ao atrito, questões como o potencial de aplicabilidade e espalhabilidade do produto, além do seu tempo de permanência no local de ação (AMASYA *et al.*, 2019; FERREIRA *et al.*, 2021). Nesse ensaio, a sonda analítica realiza dois ciclos de compressão na amostra e sua leitura gera um gráfico de força x tempo que fornece os parâmetros de dureza, adesividade, compressibilidade e coesão (VICTORELLI *et al.*, 2021).

Diante disso, a dureza consiste na força máxima necessária para que ocorra deformação compressional da amostra, por sua vez essa caracterização de resistência do material é obtida pela sonda no primeiro ciclo de compressão (pico máximo de força) e está associada com a aplicabilidade das formulações no local de ação (JONES; WOOLFSON; BROWN, 1997). A compressibilidade configura no trabalho exigido pela amostra para que ocorra sua deformação, esse parâmetro é verificado na primeira compressão efetuada, e a partir dos dados é possível avaliar a facilidade de aplicação e grau de espalhabilidade dos hidrogéis na superfície de interesse, além do escoamento no recipiente de armazenamento (AMASYA *et al.*, 2019; FERREIRA, 2019). Enquanto isso, a adesividade do produto é mensurada pelo trabalho (área negativa) empregado pelo equipamento, capaz de superar a força de atração existente entre o material estudado e uma superfície, no caso a sonda analítica (SANTOS, 2015). Por último, a coesão demonstra o potencial de recuperação do hidrogel a sua estrutura inicial após submetido a uma deformação, contribuindo com evidências da estabilidade dos sistemas, ademais a determinação da coesão é baseada na razão entre área resultante da segunda

compressão pela área obtida da primeira compressão (PIRONI, 2019; VICTORELLI *et al.*, 2021).

Os resultados mostraram que a adição dos lipossomas (lipossomas branco, contendo ou não Span 20, e lipossomas com Span20 contendo 5-FU) levou à redução nos valores de dureza ($p < 0,05$) quando comparado ao hidrogel puro de HEC (Figura 19), devido ao efeito da diluição gerado pela dispersão lipossomal. Esses resultados eram esperados, uma vez que os hidrogéis contendo lipossomas formaram um veículo menos estruturado e reticulado, indicando que esses hidrogéis apresentam uma menor resistência à deformação, corroborando com os dados das análises de reologia oscilatória. Por outro lado, os hidrogéis contendo lipossomas apresentaram maiores valores de compressibilidade em relação ao hidrogel puro. A compressibilidade é um parâmetro relacionado ao trabalho requerido para deformar a formulação, ou seja, romper as ligações físicas presente na amostra, indicando que mesmo com uma mudança estrutural, os hidrogéis contendo lipossomas apresentam organização estrutural com ligações estáveis entre si, demonstrando um grau de compressão da formulação e espalhabilidade adequados para a aplicação na pele (GUPTA *et al.*, 2012).

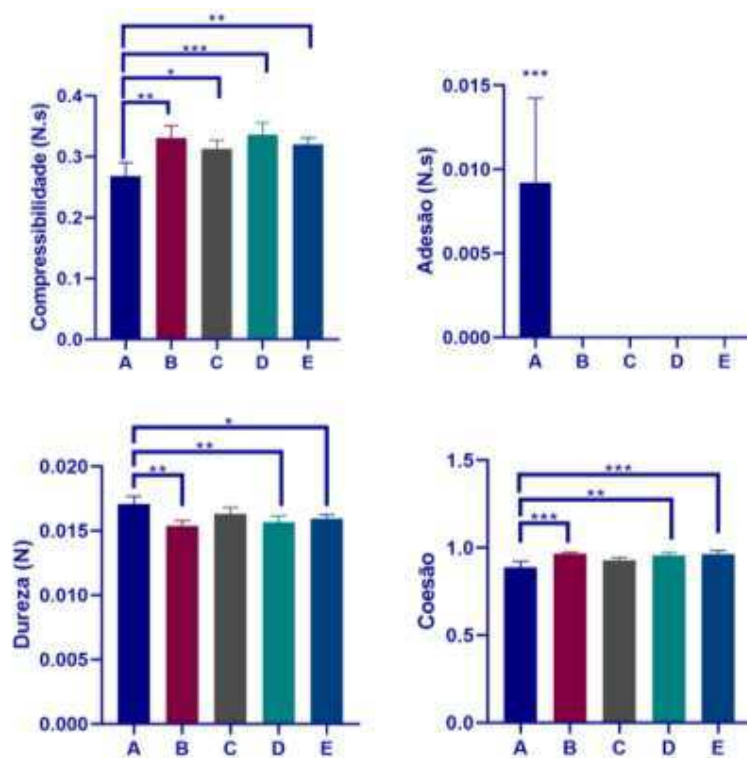
Já os valores de coesão foram maiores para todos os grupos de hidrogéis associados a lipossomas comparado ao hidrogel puro, com exceção do lipossoma convencional com 5-FU. Considerando que esse parâmetro está associado a interações intermoleculares dos sistemas, esses maiores valores de coesão demonstram que esses hidrogéis são mais estruturados, sendo mais difíceis de romper durante os ciclos de compressão, além de ter a capacidade de restabelecer sua estrutura após a deformação (FONSECA-SANTOS *et al.*, 2019). Enquanto os hidrogéis com menores valores de coesão, indicam que houve uma desestruturação no primeiro ciclo de compressão, levando à uma menor força para penetrar na amostra no segundo ciclo de compressão.

Em relação ao parâmetro de adesão, o hidrogel puro de HEC 2% apresentou adesividade, enquanto esse parâmetro não foi observado para os hidrogéis contendo os lipossomas. Apesar dos hidrogéis contendo os lipossomas não apresentarem adesão, eles mostraram dureza, resistência à compressão e coesão, sendo parâmetros valiosos para aplicação tópica (SANTOS, 2015).

Além disso, adesividade está relacionada com a energia necessária para remover a sonda analítica da superfície do sistema, ou seja, superar as forças atrativas entre eles. Provavelmente, a medida realizada pelo TPA não foi suficiente para promover o trabalho total requerido pelos hidrogéis contendo lipossomas. Desta forma, tal propriedade pode ser melhor avaliada nos ensaios de bioadesão descritos abaixo, uma vez que a ligações intermoleculares

existentes nesses grupos de formulações podem estar comprometendo a interação com a sonda analítica e, conseqüentemente interferindo na leitura (JONES; WOOLFSON; BROWN, 1997).

Figura 22. Gráficos de perfil de textura das formulações à temperatura de 32°C. (A)Hidrogel puro (B)Hidrogel + Lipossoma branco (C)Hidrogel + Lipossoma 5FU (D)Hidrogel + Lipossoma branco com Span20 (E)Hidrogel + Lipossoma 5FU com Span 20. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise *one way* ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.



Fonte: A autoria própria (2022).

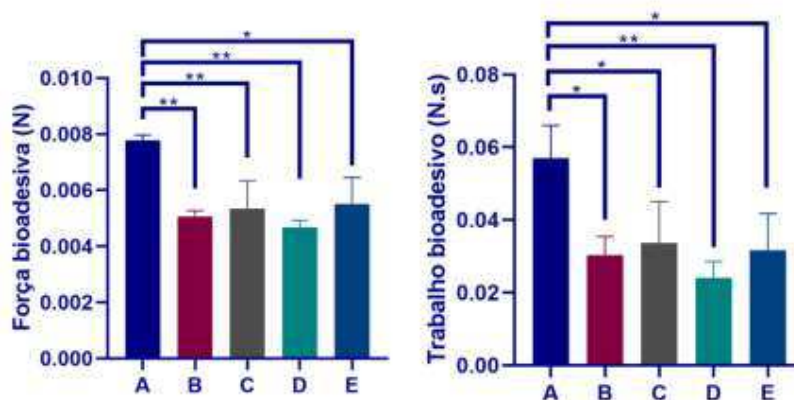
5.6 Ensaio de bioadesão

A bioadesão consiste no contato prolongado entre a superfície de dois materiais através de forças interfaciais, considerando que uma dessas superfícies possui natureza biológica. À título de observação, esse fenômeno se difere da adesão convencional por considerar as características fisiológicas dos tecidos (PEPPAS; BURI, 1985; SMART, 2005). Esse processo ocorre basicamente em duas etapas: a fase de contato, em que há aproximação entre o sistema e membrana biológica, e a fase de consolidação, em que envolve diversas teorias no processo de biomucoadesão entre elas a eletrônica, adsorção, molhabilidade, difusão e a teoria de fratura (OLIVEIRA VARUM *et al.*, 2008). Especificamente, quando a superfície

biológica se trata do muco ou da membrana mucosa, esse evento pode ser chamado de mucoadesão, mas a intercambialidade entre os termos descritos é uma realidade, pois há certa ressalva na identificação de onde ocorrem as interações, dependendo do sítio biológico (SANTOS, 2015). São inúmeros os fatores que determinam essas propriedades bioadesivas, dentre eles efeitos da morfologia da superfície, interações químicas e até mesmo questões físico-mecânicas (PALACIO; BHUSHAN, 2012). Os sistemas que possuem características bioadesivas são valiosos quando associados a formulações direcionadas a via tópica, uma vez que são capazes de prolongar o tempo de resistência da formulação no local de ação, resultando no aumento da concentração do fármaco, o que promove a otimização terapêutica, à medida que reduz necessidade de reaplicação do produto e o tratamento terá maior adesão pelo paciente (PACHECO, 2013; SANTOS, 2015).

Diversas técnicas são descritas em literatura para analisar as propriedades biomucoadesivas das formas farmacêuticas: o método de disco rotativo, o método do fluxo, o método reológico, além do método de tração (KHUTORYANSKIY, 2011; SHAIKH *et al.*, 2011). Nesse ensaio, foram avaliadas as propriedades de bioadesão *in vitro* do hidrogel de HEC 2% após a incorporação de lipossomas por meio da metodologia de tração, operando o analisador de textura TA-XT plus no modo *Adhesion Test*, para obtenção dos parâmetros de força máxima e trabalho de bioadesão. Essas variáveis são diretamente proporcionais e fornecem informações a respeito da capacidade de destacamento das amostras em contato com a membrana biológica utilizada (FERREIRA, 2019). Para esses ensaios, foram usadas as peles do dorso das orelhas de porco (dermatomizadas) com objetivo de simular a pele humana (DO PRADO *et al.*, 2022; PRAÇA *et al.*, 2018), entretanto são inúmeros os substratos utilizados como membrana modelo no estudo de biomucoadesão, inclusive membranas sintéticas e semissintéticas (por exemplo, discos de mucina) ou tecidos animais (como porcos e camundongos) (FLÁVIA CHIVA CARVALHO, 2009; KHUTORYANSKIY, 2011).

Figura 23. Gráficos dos ensaios de bioadesividade das formulações a temperatura de 32°C. (A)Hidrogel puro (B)Hidrogel + Lipossoma branco (C)Hidrogel + Lipossoma 5FU (D)Hidrogel+ Lipossoma branco com Span20 (E)Hidrogel + Lipossoma 5FU com Span 20. Os níveis de significância estatística foram obtidas em análise *one way* ANOVA com pós-teste de Tukey ($p \leq 0,05$)*.



Fonte: Aatoria própria (2022).

Os resultados da força e do trabalho de bioadesão demonstraram que a adição de lipossomas na matriz polimérica ocasionou redução das propriedades bioadesivas do hidrogel de HEC 2%, isso pode ser constatado devido a diferença estatística significativa observada entre o grupo do hidrogel puro e os demais grupos analisados (Figura 20). Isso era esperado, uma vez que os valores do índice de consistência (K) e módulo elástico (G') foram maiores para o hidrogel puro, implicando em maiores valores de bioadesão quando comparado às demais formulações contendo nanocarreadores (CALIXTO, 2017).

Ainda assim, o hidrogel de HEC 2% é excelente alternativa como veículo de dispersões lipossomais destinado a aplicação tópica devido a suas propriedades adequadas para esse fim, como a própria capacidade bioadesiva, registrado por diversos autores na literatura, como o estudo descrito por Gupta *et al.* (2012), que mencionam valores de forças mucoadesivas de 0,50 N em hidrogéis de HEC 6% e 0,39 N após adição da dispersão lipossomal no mesmo estudo, ou no estudo proposto por Zuben (2019) já citado que obteve achados da ordem de 0,06 N após incorporação dos lipossomas em hidrogel de HEC 2% (GUPTA *et al.*, 2012; VON ZUBEN, 2019). Destaca-se que em ambos os estudos, os valores diferem dos achados para o hidrogel puro de HEC 2% no presente estudo, tanto devido a variações de concentração do polímero usadas, como por conta das diferentes membranas biológicas adotadas, pois plausivelmente a pele da orelha de porco utilizada nesse ensaio de

bioadesão não terá a presença de mucinas tão acentuadas, como os discos de mucina suína e a mucosa nasal adotados, respectivamente, pelos autores já citados, ou outros tecidos de porcos comumente usados, como mucosa gástrica e bucal (BAUS *et al.*, 2019; KHUTORYANSKIY, 2011). Por isso, estudos prévios relatam a importância de verificar a mesma configuração experimental para fins comparativos das propriedades mucoadesivas, uma vez que a força de prensagem e diferença na concentração de mucinas no ensaio podem refletir em alterações nos valores obtidos (BARTKOWIAK *et al.*, 2022).

Além disso, Khutoryanskiy (2011) aborda que polímeros não iônicos, como a hidroxietilcelulose, de fato apresentam menor desempenho mucoadesivo quando comparado a polímeros catiônicos (quitosana e derivados) e aniônicos (carboximetilcelulose e carbopol), isso ocorre devido às interações de caráter fraco que são formadas entre esses polímeros e as glicoproteínas presentes nas células epiteliais, as mucinas (KHUTORYANSKIY, 2011). As mucinas são macromoléculas, classificadas em secretoras ou delimitadas por membrana (transmembrana), com natureza mucoadesiva que, sucintamente, contribui para proteção epitelial contra agente externos, mas também auxilia na adesão de substâncias por ligações químicas (BANSIL; TURNER, 2006; DHANISHA *et al.*, 2018).

Ademais, autores retratam que os polímeros não iônicos, como a hidroxietilcelulose (HEC) desempenham sua natureza bioadesiva, majoritariamente, a partir da difusão de suas macromoléculas, possibilitando maior permeação do fármaco nas camadas epiteliais, visto que há formação de uma camada interpenetrante dependente do peso molecular e flexibilidade das moléculas do polímero (BRANNIGAN; KHUTORYANSKIY, 2019; KHUTORYANSKIY, 2011). Diferentemente, polímeros como a quitosana (carga positiva) interagem fortemente com as mucinas (carga negativa), principalmente através de ligações eletrostáticas, contribuindo para o seu alto potencial bioadesivo (KHUTORYANSKIY, 2011). Bartkowiak *et al.* (2022) também comparou as propriedades mucoadesivas de diferentes polímeros em contato com solução de mucina a 2% (p/p) pela técnica de tração, demonstrando que polímeros não iônicos como HEC e HPMC (hipromelose) apresentaram valores bem menores de força e trabalho bioadesivos em comparação com discos de polímeros aniônicos (exemplo: Carbopol), o que traduz as diferentes interações entre esses polímeros e a mucina, enfaticamente se tratando da HEC (BARTKOWIAK *et al.*, 2022).

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados discutidos, é possível concluir que os lipossomas compostos por colesterol, SPC e Span 20 demonstraram excelentes atributos para otimização da entrega de 5-FU, com base no tamanho de partícula, eficiência de encapsulação, PDI e potencial zeta observados. Além disso, foi obtido êxito na incorporação desses nanocarreadores ao hidrogel à base de hidroxietilcelulose a 2%, como verificado através dos resultados satisfatórios nos ensaios de estabilidade preliminar, sem alterações preocupantes nas formulações, mesmo após as submetidas a condições extremas de armazenamento durante 30 dias.

Isto posto, o sistema desenvolvido apresentou comportamento pseudoplástico e tixotrópico, com predomínio do módulo viscoso (G''), o que corrobora com os achados nas análises de espalhabilidade e viscosidade, concluindo que a facilidade de escoamento em virtude das características fluídas da formulação, oferecem maleabilidade suficiente para sua aplicação tópica, ao mesmo tempo que apresenta viscosidade moderada para favorecer a retenção e prolongamento do contato com a pele.

Concomitantemente, os parâmetros de textura alcançados contribuem para afirmação de que o produto possui resistência mecânica reduzida sob compressão, mas conforme finalizada sua deformação, ele consegue retomar a estrutura inicial devido a suas forças coesivas. E ainda que, ocorra alterações na bioadesividade do hidrogel de HEC 2% após adição dos lipossomas com Span 20 contendo 5-FU, é possível verificar que ele cumpre o propósito, superando as limitações das características mecânicas da dispersão lipossomal, mantendo seu comportamento pseudoplástico e tixotrópico do hidrogel, ideal para formulações semissólidas destinadas ao uso tópico, portanto demonstrando inúmeras características favoráveis ao seu potencial como sistema direcionado a terapia do câncer de pele.

Futuros trabalhos poderão complementar o desenvolvimento deste promissor sistema contendo nanocarreadores para tratamento do câncer de pele. Poderão ser estudadas a liberação de 5-FU a partir de matriz lipossomal com hidrogel, bem como a penetração cutânea *in vitro*, contribuindo para verificar se houve ou não comprometimento significativo da concentração do fármaco nas camadas da pele após sua encapsulação em lipossomas e adição em veículo semissólido, e ainda é válido verificar a manutenção da estrutura lipossomal no hidrogel, com auxílio da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

REFERÊNCIAS

- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 2, p. 105–121, 2015.
- AHMED, K. S. *et al.* Derma roller® microneedles-mediated transdermal delivery of doxorubicin and celecoxib co-loaded liposomes for enhancing the anticancer effect. **Materials Science and Engineering C**, v. 99, p. 1448–1458, 1 jun. 2019.
- AMARAL JAIGOBIND, S. **DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO COSMÉTICO PARA MANUTENÇÃO DA BARBA**. Dissertação (Mestrado)—Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2020.
- AMASYA, G. *et al.* QbD guided early pharmaceutical development study: Production of lipid nanoparticles by high pressure homogenization for skin cancer treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 563, p. 110–121, 30 maio 2019.
- ASWATHY, S. H.; NARENDRAKUMAR, U.; MANJUBALA, I. Commercial hydrogels for biomedical applications. **Heliyon**, v. 6, n. 4, 1 abr. 2020.
- BANSIL, R.; TURNER, B. S. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 11, n. 2–3, p. 164–170, jun. 2006.
- BARRY, B. W. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, p. 101–114, 2001.
- BARTKOWIAK, A. *et al.* Study of viscoelastic, sorption and mucoadhesive properties of selected polymer blends for biomedical applications. **Journal of Molecular Liquids**, v. 361, 1 set. 2022.
- BAUS, R. A. *et al.* Mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery: In vitro-in vivo correlation study. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 142, p. 498–505, 1 set. 2019.
- BAYDA, S. *et al.* The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. **Molecules**, v. 25, n. 1, 2020.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 10 ago. 2016.
- BINDER, L. *et al.* The role of viscosity on skin penetration from cellulose ether-based hydrogels. **Skin Research and Technology**, v. 25, n. 5, p. 725–734, 1 set. 2019.
- BRANDT, M. G.; MOORE, C. C. Nonmelanoma Skin Cancer. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 27, n. 1, p. 1–13, 1 fev. 2019.
- BRANNIGAN, R. P.; KHUTORYANSKIY, V. V. Progress and Current Trends in the Synthesis of Novel Polymers with Enhanced Mucoadhesive Properties. **Macromolecular**

Bioscience, v. 19, n. 10, 1 out. 2019.

BRASIL. **GUIA DE ESTABILIDADE DE PRODUTOS COSMÉTICOS**. Brasília: , 2004. .

CALIXTO, G. M. F. *et al.* Design and characterization of a novel p1025 peptide-loaded liquid crystalline system for the treatment of dental caries. **Molecules**, v. 21, n. 2, 1 fev. 2016.

CALIXTO, G. M. F. **SISTEMAS PRECURSORES DE CRISTAIS LÍQUIDOS MUCOADESIVOS PARA ADMINISTRAÇÃO BUCAL DE PEPTÍDEO ANTIGELATINOLÍTICO ASSOCIADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DO CÂNCER BUCAL**. Tese (Doutorado) — Araraquara: Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”, 2017.

CAO, H. *et al.* Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 1, 1 dez. 2021.

CARITA, A. C. *et al.* Recent Advances and Perspectives in Liposomes for Cutaneous Drug Delivery. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 5, p. 606–635, 10 out. 2018.

CASCONE, S.; LAMBERTI, G. Hydrogel-based commercial products for biomedical applications: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 573, 5 jan. 2020.

CAVALCANTE, H. DE O. E. *et al.* Otimização da estabilidade de um gel fitoterápico usando Box-Behnken Design e Metodologia de Superfície de Resposta. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e20811225695, 23 jan. 2022.

CEILLEY, R. I. Mechanisms of action of topical 5-fluorouracil: Review and implications for the treatment of dermatological disorders. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 23, n. 2, p. 83–89, abr. 2012.

CHANG, R. Y. K. *et al.* Hydrogel formulations containing non-ionic polymers for topical delivery of bacteriophages. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 605, 10 ago. 2021.

CHERALAYIKKAL, S.; MANOJ, K.; SAFNA HUSSAN, K. P. Formulation and evaluation of a smart drug delivery system of 5-fluorouracil for pH-sensitive chemotherapy. **Heliyon**, v. 8, n. 7, 1 jul. 2022.

CIOLACU, D. E.; SUFLET, D. M. Cellulose-Based Hydrogels for Medical/Pharmaceutical Applications. Em: **Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 401–439.

COLLINS, A.; SAVAS, J.; DOERFLER, L. **Nonsurgical Treatments for Nonmelanoma Skin Cancer** *Dermatologic Clinics*. [s.l.] W.B. Saunders, 1 out. 2019.

CONTRERAS, M. D.; SANCHEZ, R. Application of a factorial design to the study of the flow behavior, spreadability and transparency of a Carbopol ETD 2020 gel. Part II. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, p. 149–157, 2002.

CORCHADO-COBOS, R. *et al.* Cutaneous squamous cell carcinoma: From biology to therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 8, 22 abr. 2020.

CORRÊA, N. M. *et al.* **Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Piracicaba: 2005.

COSCO, D. *et al.* Ultradeformable liposomes as multidrug carrier of resveratrol and 5-fluorouracil for their topical delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 489, n. 1–2, p. 1–10, 15 jul. 2015.

COSTA, R. S. DA; COSTA, R. M. R.; SILVA JÚNIOR, J. O. C. Comportamento reológico e atividade antimicrobiana de uma formulação tópica contendo extrato de *Heliotropium indicum* L. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e32310515068, 8 maio 2021.

COUSSOT, P. Introduction to the rheology of complex fluids. Em: **Understanding the Rheology of Concrete**. [s.l.] Elsevier, 2012. p. 3–22.

COVIELLO, T. *et al.* Gel-embedded niosomes: Preparation, characterization and release studies of a new system for topical drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 125, p. 291–299, 1 jan. 2015.

CRISÓSTOMO, L. C. C. F. *et al.* Sorbitan Monolaurate–Containing Liposomes Enhance Skin Cancer Cell Cytotoxicity and in Association with Microneedling Increase the Skin Penetration of 5-Fluorouracil. **AAPS PharmSciTech**, v. 23, n. 6, 1 ago. 2022.

CULLEN, J. K. *et al.* Topical treatments for skin cancer. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 153, p. 54–64, 1 jan. 2020.

DĄBROWSKA, A. K. *et al.* The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors. **Skin Research and Technology**, v. 24, n. 2, p. 165–174, 1 maio 2018.

DANAELI, M. *et al.* Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, 18 maio 2018.

DARLENE, L.; ALVES, S. **THUJA OCCIDENTALIS LINN (CUPRESSACEAE): DA DROGA VEGETAL A FORMA FARMACÊUTICA SEMISSÓLIDA PARA O TRATAMENTO DO HPV.** Tese (Doutorado) — Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

DE LEO, V. *et al.* Liposomes containing nanoparticles: preparation and applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 218, 1 out. 2022.

DESSALE, M.; MENGISTU, G.; MENGIST, H. M. Nanotechnology: A Promising Approach for Cancer Diagnosis, Therapeutics and Theragnosis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 17, p. 3735–3749, 2022.

DHANISHA, S. S. *et al.* Mucins: Structural diversity, biosynthesis, its role in pathogenesis and as possible therapeutic targets. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 122, p.

98–122, 1 fev. 2018.

DIAS SANTANA, M. **AVALIAÇÃO IN VITRO DA CINÉTICA DE LIBERAÇÃO E PERMEAÇÃO CUTÂNEA DA β -LAPACHONA ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS.** Dissertação (Mestrado) — Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

DO PRADO, A. H. *et al.* Bioadhesive liquid crystal systems for octyl methoxycinnamate skin delivery. **Journal of Molecular Liquids**, v. 345, 1 jan. 2022.

DOS SANTOS, A. M. *et al.* Recent advances in hydrogels as strategy for drug delivery intended to vaginal infections. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 590, 30 nov. 2020.

DRAGICEVIC, N. *et al.* Development of hydrophilic gels containing coenzyme Q 10 -loaded liposomes: characterization, stability and rheology measurements. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 45, n. 1, p. 43–54, 2 jan. 2018.

DRAGICEVIC, N.; MAIBACH, H. Combined use of nanocarriers and physical methods for percutaneous penetration enhancement. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 127, p. 58–84, 1 mar. 2018.

DUARTE, J. L. *et al.* Novel bioadhesive polycarbophil-based liquid crystal systems containing Melaleuca alternifolia oil as potential repellents against Aedes aegypti. 18 jun. 2020.

DYMEK, M.; SIKORA, E. Liposomes as biocompatible and smart delivery systems – the current state. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 309, 1 nov. 2022.

ELOY, J. O. *et al.* Co-loaded pclitaxel/raoamycin liposomes: Development, characterization and in vitro and in vivo evaluation for breast cancer therapy. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 141, 2016.

ELMOWAFY, M. Skin penetration/permeation success determinants of nanocarriers: Pursuit of a perfect formulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 203, 1 jul. 2021.

EWERT DE OLIVEIRA, B. *et al.* 5-Fluorouracil, innovative drug delivery systems to enhance bioavailability for topical use. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 61, 1 fev. 2021.

FERREIRA, ELAINE. **DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE HIDROGEL BASEADO EM POLOXAMER-QUITOSANA CONTENDO EUGENOL PARA APLICAÇÃO NA MUCOSA BUCAL.** Dissertação (Mestrado) —Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2019.

FERREIRA, P. S. *et al.* p-Coumaric acid loaded into liquid crystalline systems as a novel strategy to the treatment of vulvovaginal candidiasis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 603, 15 jun. 2021.

FLÁVIA CHIVA CARVALHO. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS PARA POTENCIAL DE ADMINISTRAÇÃO**

NASAL DE ZIDOVUDINA. Dissertação (Mestrado) —Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2009.

FONSECA-SANTOS, B. *et al.* In-situ gelling liquid crystal mucoadhesive vehicle for curcumin buccal administration and its potential application in the treatment of oral candidiasis. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 16, n. 6, p. 1334–1344, 2019.

FRANK, L. A. *et al.* The use of chitosan as cationic coating or gel vehicle for polymeric nanocapsules: Increasing penetration and adhesion of imiquimod in vaginal tissue. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 114, p. 202–212, 1 fev. 2017.

GARCIA OLIVEIRA, L. **AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE GEL CREME CONTENDO EXTRATO DE SOLIDAGO CHILENSIS MEYEN.** Trabalho de Conclusão de Curso —Uberaba: Universidade de Uberaba, 2020.

GOYAL, N.; THATAI, P.; SAPRA, B. Skin cancer: Symptoms, mechanistic pathways and treatment rationale for therapeutic delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 8, n. 5, p. 265–287, 1 mar. 2017.

GUIMARÃES, D.; CAVACO-PAULO, A.; NOGUEIRA, E. Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 601, 15 maio 2021a.

GUPTA, P. N. *et al.* Development of liposome gel based formulations for intravaginal delivery of the recombinant HIV-1 envelope protein CN54gp140. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 5, p. 315–322, 15 ago. 2012.

GUTZMER, R. *et al.* ACTINIC KERATOSIS AND CUTANEOUS SQUAMOUS CELL CARCINOMA. **Deutsches Arzteblatt International**, v. 116, n. 37, 13 set. 2019.

HEDBERG, M. L. *et al.* Molecular Mechanisms of Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 7, 1 abr. 2022.

HEMMINGSSEN, L. M. *et al.* Chitosomes-in-chitosan hydrogel for acute skin injuries: Prevention and infection control. **Marine Drugs**, v. 19, n. 5, 12 maio 2021.

HOARE, T. R.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 15 abr. 2008.

HO, H. N. *et al.* Formulation and characterization of hydroxyethyl cellulose-based gel containing metronidazole-loaded solid lipid nanoparticles for buccal mucosal drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 194, p. 1010–1018, 1 jan. 2022.

HOSSEINI, M.; KASRAIAN, Z.; REZVANI, H. R. Energy metabolism in skin cancers: A therapeutic perspective. **Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics**, v. 1858, n. 8, p. 712–722, 1 ago. 2017.

HUSSAIN, A. *et al.* Optimized permeation enhancer for topical delivery of 5-fluorouracil-loaded elastic liposome using Design Expert: part II. **Drug Delivery**, v. 23, n. 4, p. 1242–1253, 3 maio 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Câncer de pele; saiba como prevenir, diagnosticar e tratar. Fortaleza – CE: INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/cancer-de-pele-saiba-como-prevenir-diagnosticar-e-tratar>. Acesso em: 20 de novembro de 2022. ISAAC, V. L. B. *et al.* Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n. 1, p. 81–96, 2008.

JAIN, S. K. *et al.* Microsponges enriched gel for enhanced topical delivery of 5-fluorouracil. **Journal of Microencapsulation**, v. 36, n. 7, p. 677–691, 3 out. 2019.

JONES, D. S.; WOOLFSON, A. D.; BROWN, A. F. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 151, n. 9, p. 223–233, 1997.

KALLINI, J. R.; HAMED, N.; KHACHEMOUNE, A. Squamous cell carcinoma of the skin: Epidemiology, classification, management, and novel trends. **International Journal of Dermatology**, v. 54, n. 2, p. 130–140, 1 fev. 2015.

KASINSKI, A. *et al.* Synthesis and characterization of new biodegradable injectable thermosensitive smart hydrogels for 5-fluorouracil delivery. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 15, 3 ago. 2021.

KAUVAR, A. N. B. *et al.* Consensus for nonmelanoma skin cancer treatment: Basal cell carcinoma, including a cost analysis of treatment methods. **Dermatologic Surgery**, v. 41, n. 5, p. 550–571, 8 maio 2015.

KHAN, S. *et al.* Lipid poly (ϵ -caprolactone) hybrid nanoparticles of 5-fluorouracil for sustained release and enhanced anticancer efficacy. **Life Sciences**, v. 284, 1 nov. 2021.

KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive Polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p. 748–764, 14 jun. 2011.

KRISHNAN, V.; MITRAGOTRI, S. Nanoparticles for topical drug delivery: Potential for skin cancer treatment. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 153, p. 87–108, 1 jan. 2020.

LARGE, D. E. *et al.* Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 176, 1 set. 2021.

LI, B. S.; CARY, J. H.; MAIBACH, H. I. Stratum corneum substantivity: drug development implications. **Archives of Dermatological Research**, v. 310, n. 7, p. 537–549, 1 set. 2018.

LOLLO, G. *et al.* Drug delivery to tumours using a novel 5-FU derivative encapsulated into lipid nanocapsules. **Journal of Drug Targeting**, v. 27, n. 5–6, p. 634–645, 3 jul. 2018.

LÓPEZ-CASTELLANO, A. *et al.* The influence of Span® 20 on stratum corneum lipids in Langmuir monolayers: comparison with Azone®. **Int. J. Pharm.**, v. 202, n. 1-2, p. 245–253, 25 maio 2000.

LÓPEZ, A. *et al.* Comparative enhancer effects of Span ® 20 with Tween ® 20 and Azone ® on the in vitro percutaneous penetration of compounds with different lipophilicities.

International Journal of Pharmaceutics, v. 202, 2000.

LOSQUADRO, W. D. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 283–289, 1 ago. 2017.

MADISON, K. C. Barrier function of the skin: “La Raison d’Être” of the epidermis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 121, n. 2, p. 231–241, 1 ago. 2003.

MANSOUR, M. *et al.* Ocular poloxamer-based ciprofloxacin hydrochloride in situ forming gels. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 34, n. 7, p. 744–752, jul. 2008.

MARZI, M.; ROSTAMI CHIJAN, M.; ZARENEZHAD, E. Hydrogels as promising therapeutic strategy for the treatment of skin cancer. **Journal of Molecular Structure**, v. 1262, 15 ago. 2022.

MATHIYALAGAN, R. *et al.* Gene Regulations upon Hydrogel-Mediated Drug Delivery Systems in Skin Cancers—An Overview. **Gels**, v. 8, n. 9, p. 560, 2 set. 2022.

MENDES, A. V. DA S. *et al.* Utilização de lipossomas no diagnóstico e tratamento do câncer de pele não melanoma: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e435111032984, 6 ago. 2022.

MERINO, V. *et al.* Electrorepulsion versus electroosmosis: Effect of pH on the iontophoretic flux of 5-Fluorouracil. **Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 758–761, 1999.

MEWIS, J.; WAGNER, N. J. Thixotropy. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 147–148, n. C, p. 214–227, mar. 2009.

MOREIRA, M. C.; CORRÊA, T. DA S. M. **IDESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE UM GEL-CREME HIDRATANTE PARA AS MÃOS COM ÓLEO DE CAFÉ TORRADO**. Trabalho de Conclusão de Curso—Vila Velha: Insituto Federal do Espírito Santo, 2021.

MOU, D. *et al.* Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, n. 1–2, p. 270–276, 2 abr. 2008.

MOURTAS, S. *et al.* Liposomal drugs dispersed in hydrogels. Effect of liposome, drug and gel properties on drug release kinetics. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 55, n. 2, p. 212–221, 1 abr. 2007.

MOURTAS, S. *et al.* Integrity of liposomes in presence of various formulation excipients, when dispersed in aqueous media and in hydrogels. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 61, n. 2, p. 270–276, 15 fev. 2008.

MULLER, R. H. *et al.* Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy Rationale for development and what we can expect for the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, p. 3–19, 2001.

MURTAJA, Y. *et al.* Intelligent high-tech coating of natural biopolymer layers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 304, 1 jun. 2022.

NASCIMENTO, C. R. **ESCOAMENTO DE FLUÍDOS -ENSAIOS EM REÔMETRO ROTACIONAL TIPO CILINDROS COAXIAIS**. IN: Tratamento de Minérios: práticas laboratoriais. CETEM/MCTI, 2007. p. 425-447.

NEHAL, K. S.; BICHAKJIAN, C. K. Update on Keratinocyte Carcinomas. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 4, p. 363–374, 26 jul. 2018.

NÉMETH, Z. *et al.* Quality by Design-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, 1 set. 2022.

NIKOLIĆ, I. *et al.* Chemical vs. Physical Methods to Improve Dermal Drug Delivery: A Case Study with Nanoemulsions and Iontophoresis. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 6, 1 jun. 2022.

NOREEN, A. *et al.* A review on grafting of hydroxyethylcellulose for versatile applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 289–303, 1 maio 2020.

OLIVEIRA VARUM, F. *et al.* Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 535-548, 2008.

OZER, M. *et al.* 5-Fluorouracil associated neurovascular toxicities. **Current Problems in Cancer**, v. 45, n. 6, 1 dez. 2021.

PACHECO, C. D. N. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS BIOADESIVOS COM ÓLEO DE MELALEUCA (MELALEUCA ALTERNIFOLIA) E ESTUDO DA AÇÃO REPELENTE FRENTE A AEDES AEGYPTI**. Trabalho de Conclusão de Curso—Araraquara: Universidade Estadual Paulista. “Júlio Mesquita Filho”, 2013.

PADYA, B. S. *et al.* Stimuli-responsive and cellular targeted nanoplatfoms for multimodal therapy of skin cancer. **European Journal of Pharmacology**, v. 890, 5 jan. 2021.

PALACIO, M. L. B.; BHUSHAN, B. Research article: Bioadhesion: A review of concepts and applications. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 370, n. 1967, p. 2321–2347, 28 maio 2012.

PANDEY, Manisha *et al.* Site-specific vesicular drug delivery system for skin cancer: a novel approach for targeting. **Gels**, v. 7, n. 4, p. 218, 2021.

PAOLINO, D. *et al.* Innovative bola-surfactant niosomes as topical delivery systems of 5-fluorouracil for the treatment of skin cancer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 353, n. 1–2, p. 233–242, 2 abr. 2008.

PEPPAS, Nikolaos A.; BURI, Pierre A. Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. **Journal of Controlled Release**, v. 2, p. 257-275, 1985.

PETRILLI, Raquel et al. Cetuximab immunoliposomes enhance delivery of 5-FU to skin squamous carcinoma cells. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 17, n. 2, p. 301-308, 2017.

PETRILLI, R. *et al.* Skin cancer treatment effectiveness is improved by iontophoresis of EGFR-targeted liposomes containing 5-FU compared with subcutaneous injection. **Journal of Controlled Release**, v. 283, p. 151–162, 10 ago. 2018.

PIIPPONEN, M. *et al.* The role of p53 in progression of cutaneous squamous cell carcinoma. **Cancers**, v. 13, n. 18, 1 set. 2021.

PINTO, L. A. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS LÍQUIDO-CRISTALINOS PARA APLICAÇÃO TÓPICA DE METOTREXATO: ESTUDO DA BIOADESÃO E ENSAIOS BIOLÓGICOS IN VITRO**. Trabalho de Conclusão de Curso—Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2012.

PIRONI, A. M. **DISPERSÕES SÓLIDAS DE ÁCIDO URSÓLICO VEICULADAS EM HIDROGÉIS PARA ADMINISTRAÇÃO CUTÂNEA: DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA IN VITRO E IN VIVO**.

Dissertação (Mestrado) —Araraquara: Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas., 2019.

PRAÇA, F. S. G. *et al.* Evaluation of critical parameters for in vitro skin permeation and penetration studies using animal skin models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, p. 121–132, 1 jan. 2018.

QUE, S. K. T.; ZWALD, F. O.; SCHMULTS, C. D. Cutaneous squamous cell carcinoma: Incidence, risk factors, diagnosis, and staging. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 78, n. 2, p. 237–247, 1 fev. 2018.

QWIST, P. K. *et al.* On-line rheological characterization of semi-solid formulations. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 128, p. 36–42, 1 fev. 2019.

RAJINIKANTH, P. S.; CHELLIAN, J. Development and evaluation of nanostructured lipid carrier-based hydrogel for topical delivery of 5-fluorouracil. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 5067–5077, 5 out. 2016.

RATA, D. M. *et al.* Topical formulations containing aptamer-functionalized nanocapsules loaded with 5-fluorouracil - An innovative concept for the skin cancer therapy. **Materials Science and Engineering C**, v. 119, 1 fev. 2021.

RISALITI, L. *et al.* Hydroxyethyl cellulose hydrogel for skin delivery of khellin loaded in ascosomes: Characterization, in vitro/in vivo performance and acute toxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 217–229, 15 maio 2021.

ROWE, Raymond C.; SHESKEY, Paul; QUINN, Marian. **Handbook of pharmaceutical excipients**. Livros Digitales-Pharmaceutical Press, 2009.

SADEGHI-ABANDANSARI, H. *et al.* Local co-delivery of 5-fluorouracil and curcumin

using Schiff's base cross-linked injectable hydrogels for colorectal cancer combination therapy. **European Polymer Journal**, v. 157, 15 ago. 2021.

SAHU, P. *et al.* pH Responsive 5-Fluorouracil Loaded Biocompatible Nanogels For Topical Chemotherapy of Aggressive Melanoma. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, p. 232–245, 1 fev. 2019.

SAINAGA JYOTHI, V. G. S. *et al.* Stability characterization for pharmaceutical liposome product development with focus on regulatory considerations: An update. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 624, 25 ago. 2022.

SAMY, M. *et al.* Formulation, characterization and in vitro release study of 5-fluorouracil loaded chitosan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 783–791, 1 ago. 2020.

SANNINO, A.; DEMITRI, C.; MADAGHIELE, M. Biodegradable cellulose-based hydrogels: Design and applications. **Materials**, v. 2, n. 2, p. 353–373, 2009.

SANTOS, A. M. DOS. **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO MICRO/NANOSSUSPENSÕES COM PROPRIEDADES MUCOADESIVAS PARA LIBERAÇÃO CÓLON-ESPECÍFICA DE METOTREXATO**. Dissertação (Mestrado)—Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2015.

SAXENA, A.; KALOTI, M.; BOHIDAR, H. B. Rheological properties of binary and ternary protein-polysaccharide co-hydrogels and comparative release kinetics of salbutamol sulphate from their matrices. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 2, p. 263–270, 1 mar. 2011.

SEN, K.; BANERJEE, S.; MANDAL, M. Dual drug loaded liposome bearing apigenin and 5-Fluorouracil for synergistic therapeutic efficacy in colorectal cancer. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 180, p. 9–22, 1 ago. 2019.

SETHY, C.; KUNDU, C. N. 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 137, 1 maio 2021.

SHAH, S. *et al.* Liposomes: Advancements and innovation in the manufacturing process. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 154–155, p. 102–122, 1 jan. 2020.

SHAIKH, R. *et al.* Mucoadhesive drug delivery systems. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 3, n. 1, p. 89–100, jan. 2011.

SHARMA, S.; TIWARI, S. A review on biomacromolecular hydrogel classification and its applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 737–747, 1 nov. 2020.

SHIMANOUCI, T. *et al.* Microfluidic and hydrothermal preparation of vesicles using sorbitan monolaurate/polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Span 20/Tween 20). **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 205, 1 set. 2021.

SILVA, F. V. F. *et al.* Desenvolvimento e controle de qualidade de um gel-creme antiacneico a base do óleo da *Copaifera officinalis* L. (copaíba). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 30, p. e974, 13 ago. 2019.

SILVA, S. A. M. E. *et al.* Development of nanotechnology-based drug delivery systems with olive vegetable oil for cutaneous application. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 1, p. 211–219, 1 jan. 2016.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556–1568, 3 nov. 2005.

STEFANI BORGHETTI, G.; TERESINHA KNORST, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 42, p. 531-537, 2006.

STRATIGOS, A. J. *et al.* European interdisciplinary guideline on invasive squamous cell carcinoma of the skin: Part 2. Treatment. **European Journal of Cancer**, v. 128, p. 83–102, 1 mar. 2020a.

STRATIGOS, A. J. *et al.* European interdisciplinary guideline on invasive squamous cell carcinoma of the skin: Part 1. epidemiology, diagnostics and prevention. **European Journal of Cancer**, v. 128, p. 60–82, 1 mar. 2020b.

SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, maio 2021.

SUN, Z. *et al.* Hydrogel-Based Controlled Drug Delivery for Cancer Treatment: A Review. **Molecular Pharmaceutics**, v. 17, n. 2, p. 373–391, 3 fev. 2019.

TAVANO, L. Liposomal gels in enhancing skin delivery of drugs. Em: **Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Drug Manipulation Strategies and Vehicle Effects**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2015. p. 329–341.

VERMA, D. D. *et al.* Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 258, n. 1–2, p. 141–151, 4 jun. 2003.

VICTORELLI, F. D. *et al.* Curcumin-loaded Polyethyleneimine and chitosan polymer-based Mucoadhesive liquid crystalline systems as a potential platform in the treatment of cervical Cancer. **Journal of Molecular Liquids**, v. 325, 1 mar. 2021.

VODENKOVA, S. *et al.* 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 206, 1 fev. 2020.

VON ZUBEN, E. DE S. **Lipossomas funcionalizados com peptídeos de transdução de membrana para administração intranasal de insulina no tratamento do diabetes mellitus**. Tese (Doutorado) — Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2019.

VON ZUBEN, E. DE S. *et al.* Hydroxyethylcellulose-Based Hydrogels Containing

Liposomes Functionalized with Cell-Penetrating Peptides for Nasal Delivery of Insulin in the Treatment of Diabetes. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, p. 2492, 17 nov. 2022.

VYAS, S. P. *et al.* Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) for non-invasive topical genetic immunization against hepatitis B. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 296, n. 1–2, p. 80–86, 30 maio 2005.

WALDMAN, A.; SCHMULTS, C. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 33, n. 1, p. 1–12, 1 fev. 2019.

WALKER, H. S.; HARDWICKE, J. Non-melanoma skin cancer. **Wound Management**, p. 39–45, 2021.

WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Penetration enhancers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 5, p. 603–618, 27 mar. 2004.

XU, H. *et al.* Paclitaxel skin delivery by micelles-embedded Carbopol 940 hydrogel for local therapy of melanoma. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 587, 25 set. 2020.

YAMAN, Ü. *et al.* Surface modified nanoliposome formulations provide sustained release for 5-FU and increase cytotoxicity on A431 cell line. **Pharmaceutical Development and Technology**, 2020.

YOON, J. *et al.* Impact of topical fluorouracil cream on costs of treating keratinocyte carcinoma (nonmelanoma skin cancer) and actinic keratosis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 79, n. 3, p. 501- 507.e2, 1 set. 2018.

YUAN, L. *et al.* Nanocarriers for promoting skin delivery of therapeutic agents. **Applied Materials Today**, v. 27, 1 jun. 2022.

ZAKI, R. M. *et al.* Formulation and Evaluation of Transdermal Gel Containing Tacrolimus-Loaded Spanlastics: In Vitro, Ex Vivo and In Vivo Studies. **Polymers**, v. 14, n. 8, 1 abr. 2022.

ZHANG, A. *et al.* Research status of self-healing hydrogel for wound management: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 2108–2123, 1 dez. 2020.

ZHANG, L. *et al.* Photodynamic therapy enhances skin cancer chemotherapy effects through autophagy regulation. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 28, p. 159–165, 1 dez. 2019.

ZHANG, Z. J.; OSMAŁEK, T.; MICHNIAK-KOHN, B. Deformable liposomal hydrogel for dermal and transdermal delivery of meloxicam. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 9319–9335, 2020.

ZHU, J.; MARCHANT, R. E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. **Expert Review of Medical Devices**, v. 8, n. 5, p. 607–626, set. 2011.