

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA GALÉNICA E TECNOLOGIA FARMACÊUTICA**



**FORMULAÇÃO DE GELES DE MORFINA PARA
APLICAÇÃO TÓPICA EM FERIDAS DOLOROSAS**

Dinis Correia Mateus

MESTRADO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

2012

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA GALÉNICA E TECNOLOGIA FARMACÊUTICA**



**FORMULAÇÃO DE GELES DE MORFINA PARA
APLICAÇÃO TÓPICA EM FERIDAS DOLOROSAS**

Dinis Correia Mateus

**Tese orientada pelo Prof. Doutor António Almeida e pela
Prof. Doutora Helena Margarida Ribeiro.**

MESTRADO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

LISBOA, 2012

*"O mais alto de nós não é mais que um conhecedor
mais próximo do oco e do incerto de tudo."*

Fernando Pessoa

Resumo

A dor associada às feridas pode ser difícil de tratar e habitualmente responde apenas de forma parcial aos convencionais analgésicos sistêmicos. A utilização da morfina aplicada por via tópica sobre feridas dolorosas apresenta como potencial vantagem um efeito analgésico local, sendo assim possível reduzir ou evitar a medicação administrada por via sistêmica e conseqüentemente a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos sistêmicos. Os geles têm-se revelado ferramentas de excelência na terapêutica das feridas pois as suas características parecem ser vantajosas do ponto de vista da cicatrização.

Com a realização deste trabalho pretendeu-se desenvolver dois geles para aplicação tópica em feridas dolorosas contendo cloridrato de morfina, estáveis do ponto de vista físico-químico e microbiológico para tratamento da dor e possíveis de preparar recorrendo às condições e infraestruturas disponíveis numa Farmácia Hospitalar. Para além de um gel consistente pretendeu-se também desenvolver e caracterizar uma fórmula alternativa, com menor viscosidade, passível de aplicação por pulverização através de um doseador apropriado e comparar o perfil de cedência da substância ativa nas duas matrizes de gel desenvolvidas.

Tendo em conta as características mais adequadas à aplicação em feridas foram desenvolvidas duas formulações, um gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) e um gel fluido para pulverização contendo 1,0% (m/m) cujo perfil de cedência da substância ativa foi superior. Em ambas as formulações a cedência do cloridrato de morfina a partir dos geles é lenta, o que poderá, em princípio, proporcionar uma libertação prolongada do fármaco com a conseqüente diminuição do número de administrações diárias. O estudo da estabilidade físico-química e microbiológica destas preparações revelou-as estáveis durante 60 dias quando armazenadas a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente) e ao abrigo da luz.

Palavras-Chave

Analgesia, cloridrato de morfina, feridas dolorosas, geles tópicos.

Abstract

Wound-related pain can be difficult to treat, and usually is only partially responsive to conventional systemic analgesics. The use of morphine applied topically to painful wounds has potential advantages as a local analgesic. This would reduce the dose of medication administered systemically and occurrence of associated side effects. The gels have proven to be excellent tools in the treatment of wounds because of their characteristics that appear to be advantageous in terms of healing.

This work intended to develop two physico-chemically and microbiologically stable gels containing morphine hydrochloride for topical application to painful sores. This should be possible to prepare according to the available conditions and infrastructure in a hospital pharmacy. In addition to a consistent gel, a second aim was to develop and characterize an alternative gel, with lower viscosity, for spraying through a suitable dispensing device; and finally to compare the drug release profile from both developed gel matrices.

According to the ideal characteristics for application on wounds, two formulations were developed: a consistent gel with morphine hydrochloride 0.125% (w / w), and a fluid gel containing 1.0% (w / w) for spraying whose profile yield of the drug was higher. For both formulations the delivery of morphine hydrochloride from the gel matrices is slow, which may provide prolonged drug release with a reduction in the number of daily administrations.

The study of physical and chemical stability and microbiological properties of these preparations proved that they are stable for 60 days, stored at $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (room temperature), in the dark.

Key-words

Analgesia, morphine hydrochloride, painful wounds, topical gels.

Agradecimentos

Ao Professor Doutor António Almeida e à Professora Doutora Helena Margarida Ribeiro quero agradecer a oportunidade que me proporcionaram para desenvolver este trabalho. A constante presença de ambos, assim como a sua disponibilidade, os seus ensinamentos, a amizade, a exigência, o rigor e o incentivo sempre demonstrados foram determinantes para que este projeto se tornasse uma realidade.

Ao Dr. António Melo Gouveia, Diretor do Serviço Farmacêutico do Instituto Português de Oncologia (IPO) de Lisboa, E.P.E. pelo seu entusiasmo, colaboração, incentivo e disponibilidade que tornaram possível a realização deste trabalho.

A todos os colegas da equipa do Serviço Farmacêutico pelas suas constantes palavras de incentivo e motivação. Uma palavra especial para os colegas Ana Inácio, Vera Pires, Sílvia Santos, Ana Carrapato, Susana Sernache, Vera Domingues, Nazaré Rosado, Leonor Roque, Joana Russo, Elena Martin, Cláudia Oliveira, Miguel Isidoro, Paula Duarte, Hermínia Moreira, Elza Antunes e Rute Varela.

Ao Dr. Paulo Pina, médico da Clínica de Dor do IPO Lisboa, pelo desafio lançado.

À Dra. Regina Lourenço pela sua constante disponibilidade e colaboração.

À Mestre Ana Salgado agradeço a amizade, cooperação e disponibilidade, a sua ajuda foi fundamental para a concretização deste trabalho.

À Mestre Integrada Joana Marto pela sua colaboração, amizade e boa disposição.

Aos investigadores do laboratório 112 pela simpatia com que sempre me acolheram.

À Técnica Paula Machado do Laboratório de Microbiologia da FFUL agradeço a cooperação e disponibilidade.

Aos amigos que estão sempre lá: Sílvia Guerreiro, Cristina Adão, Margarida Carlos, Isa Costa, Sara Carvalho e Helena Fava.

Aos colegas Humberto Gonçalves e Patrícia Trindade que desde o início me acompanharam nesta caminhada e cuja presença constante foi fundamental. Obrigado pela disponibilidade para discutir ideias, pelo apoio, paciência, cooperação, boa disposição e amizade. É muito bom trabalhar convosco!

A Ti, por estares sempre presente.

Aos meus pais, aos meus irmãos e aos meus sobrinhos dedico este trabalho. Obrigado pelo apoio e compreensão nos momentos que estive ausente.

Índice Geral

Resumo	4
Abstract.....	5
Agradecimentos	6
Índice de Tabelas	14
Índice de Figuras	17
Índice de Abreviaturas.....	20
I PARTE – REVISÃO INTRODUTÓRIA	21
1. Pele Humana.....	22
1.1. Anatomia e Fisiologia.....	23
1.1.2. Epiderme	23
1.1.3. Derme.....	25
2. Feridas	26
2.1. Definição.....	26
2.2. Principais tipos de feridas	27
2.3. Processo de Cicatrização.....	28
2.4. Influência do pH na cicatrização.....	32
2.5. Barreiras da cicatrização	34
2.7. Preparação do Leito da ferida	35
2.6. Feridas no Doente Oncológico.....	36
2.6.1. Feridas cirúrgicas	36
2.6.2. Radiodermite.....	36
2.6.3. Feridas Malignas	37
3. Dor.....	37
3.1. Classificação da dor	38
3.2. Terapêutica da dor	40
3.2.1. Terapêutica da Dor com Recurso a Opióides.....	42
3.2.1.1. Morfina.....	46
3.2.1.1.1. Características Físico-Químicas	46
3.2.1.1.2. Mecanismo de ação	47
3.2.1.1.3. Farmacocinética	47
3.2.2. Terapêutica tópica da dor	48
3.2.2.1. Terapêutica tópica da dor em feridas com recurso à morfina	49
4. Formas farmacêuticas para aplicação tópica em feridas e queimaduras	52
4.1. Membranas de biomateriais	53

4.2. Geles	53
4.3. Sprays e espumas	55
4.4. Sistemas particulados.....	55
5. Esterilidade: um requisito a ter em conta na formulação para feridas.....	56
OBJETIVO	57
PARTE II – DESENVOLVIMENTO GALÉNICO	59
CAPÍTULO 1 - DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	60
1. Introdução.....	60
2. Materiais	66
2.1. Amostras de hidrogeles comerciais	66
2.2. Substância ativa	66
2.3. Excipientes.....	69
2.4. Recipientes.....	74
3. Métodos	75
3.1. PREPARAÇÃO DOS GELES	75
3.1.1. Preparação das amostras de hidrogeles comerciais.....	75
3.1.2. Preparação das formulações para desenvolvimento de um gel mãe consistente.	75
3.1.3. Preparação das formulações para seleção do conservante antimicrobiano	76
3.1.4. Preparação de geles para seleção da concentração do conservante antimicrobiano através do ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos.....	78
3.1.5. Preparação de 100g de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), de acordo com a alteração da metodologia de preparação – Formulação final.	79
3.1.5.1. Fluxograma de preparação de um Gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), de acordo com a alteração da metodologia de preparação - Formulação final.	81
3.1.6. Desenvolvimento galénico das formulações fluidas para um gel mãe.....	82
3.1.7. Preparação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1% (m/m) para pulverização cutânea sobre feridas dolorosas - Formulação final.	83
3.1.7.1. Fluxograma de preparação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) para pulverização cutânea sobre feridas dolorosas – Formulação final.	84
3.2. PREPARAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE CONCENTRADO DE PARABENOS.....	85
3.2. SELEÇÃO DO MATERIAL DE EMBALAGEM COM O DOSEADOR INTEGRADO A UTILIZAR PARA O GEL FLUIDO - ENSAIO DE UNIFORMIDADE DE MASSA DA DOSE DISPENSADA PELOS RECIPIENTES MULTIDOSE (2.9.27) DA FP9.0	85
3.4. SELEÇÃO DA FORMULAÇÃO DE GEL MÃE FLUIDO	86
3.5. ENSAIO DE EFICÁCIA DOS CONSERVANTES ANTIMICROBIANOS (5.1.3 – FP 9.0)	86
3.6. CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS	89
3.6.1. Características organolépticas	89
3.6.2. Análise reológica.....	89
3.6.3. Determinação do pH.....	89

3.6.4. Determinação da viscosidade aparente	89
3.6.5. Determinação da massa volúmica do gel	90
3.6.6. Doseamento do cloridrato de morfina	90
4. Ensaio Preliminares: Resultados e Discussão	91
4.1. GEL CONSISTENTE	91
4.1.1. ESTUDO DAS AMOSTRAS DE HIDROGELES COMERCIAIS	91
4.1.1.1. Características Organolépticas	91
4.1.1.2. Análise reológica	92
4.1.1.3. Determinação do pH	94
4.1.2. DESENVOLVIMENTO GALÉNICO DE UM GEL MÃE CONSISTENTE	97
4.1.2.1. Desenvolvimento das formulações	97
4.1.2.2. Caracterização das formulações	98
4.1.2.2.1. Características organolépticas	98
4.1.2.2.2. Análise reológica	100
4.1.2.2.3. Determinação do pH	102
4.1.3. SELEÇÃO DO CONSERVANTE ANTIMICROBIANO	103
4.1.3.1. Escolha dos conservantes antimicrobianos	104
4.1.3.2. Caracterização das formulações preparadas para seleção do conservante antimicrobiano	105
4.1.3.2.1. Características organolépticas	105
4.1.3.2.2. Determinação do pH da formulação selecionada	107
4.1.3.3. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos para seleção da concentração do conservante	107
4.1.4. OPTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PREPARAÇÃO DA FORMULAÇÃO	111
4.1.4.1. Análise da formulação, obtida com a nova metodologia de preparação	114
4.2. GEL FLUIDO	114
4.2.1. SELEÇÃO DO MATERIAL DE EMBALAGEM COM O DOSEADOR INTEGRADO A UTILIZAR PARA O GEL FLUIDO	114
4.2.2. DESENVOLVIMENTO GALÉNICO DE UM GEL MÃE FLUIDO	116
4.2.2.1. Desenvolvimento das formulações fluidas	116
4.2.2.2. Seleção da formulação	118
4.2.2.3. Caracterização da formulação selecionada	120
4.2.2.3.1. Características organolépticas	121
4.2.2.3.2. Análise reológica	121
4.2.2.3.3. Determinação do pH	121
5. Formulações Finais	122
5.1. GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125% (M/M)	122
5.1.1. Características organolépticas	122

5.1.2.Determinação do pH.....	122
5.1.3.Determinação da viscosidade aparente	123
5.1.4.Determinação da massa volúmica do gel	123
5.1.5.Doseamento do cloridrato de morfina.....	123
5.1.6.Ensaio de eficácia de conservantes	124
5.1.7. Acondicionamento	126
5.2.GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0% (M/M)	128
5.2.1.Características organoléticas	128
5.2.2.Determinação do pH.....	128
5.2.3.Determinação da viscosidade aparente	129
5.2.4.Determinação da massa volúmica do gel	129
5.2.5.Doseamento do cloridrato de morfina.....	129
5.2.6.Ensaio de eficácia de conservantes (5.1.3. FP9.0)	130
5.2.7.Ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada pelo recipiente multidose utilizando a formulação final (2.9.27. FP9.0)	131
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA CEDÊNCIA DE CLORIDRATO DE MORFINA PELAS FORMULAÇÕES DESENVOLVIDAS	133
1.Introdução	133
2.Materiais	135
2.1.Amostras	135
2.2.Reagentes	135
2.3.Membranas utilizadas no ensaio de cedência “ <i>in vitro</i> ”	135
3.Métodos	135
3.1.Ensaio de cedência “ <i>in vitro</i> ”	135
4.Resultados e Discussão.....	138
5.Conclusão	140
PARTE III - ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES FINAIS.....	142
1.Introdução.....	143
2.Materiais	144
2.1.Formulações.....	144
2.2.Reagentes	144
2.3. Soluções e meios de cultura.....	144
3.Métodos	145
3.1.Preparação dos geles	145
3.1.1. Gel mãe consistente de NaCMC 3% (m/m)	145
3.1.2. Gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125 % (m/m)	145
3.1.3. Gel mãe fluido de NaCMC 0.5% (m/m)	145
3.1.4. Gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0 % (m/m).....	145

3.2. Protocolo de estabilidade	145
3.3. Estabilidade Físico-química.....	146
3.4. Estabilidade microbiológica.....	147
3.4.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos.....	147
3.4.2. Ensaio de esterilidade.....	147
3.4.2. Controlo microbiológico	147
4. Resultados e discussão	149
4.1. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL MÃE DE NACMC 3% (M/M).....	149
4.1.1. Estabilidade Físico-química.....	149
4.1.1.1. Características organolépticas	149
4.1.1.2. Determinação do pH.....	149
4.1.1.3. Análise da viscosidade	150
4.1.1.4. Doseamento dos parabenos	150
4.1.2. Estabilidade microbiológica	151
4.1.2.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos.....	151
4.1.2.2. Ensaio de esterilidade.....	151
4.2. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125 % (M/M).....	154
4.2.1. Estabilidade Físico-química.....	154
4.2.1.1. Características organolépticas	154
4.2.1.2. Determinação do pH.....	154
4.2.1.3. Análise da viscosidade	155
4.2.1.4. Doseamento da substância ativa.....	156
4.2.2. Estabilidade microbiológica	165
4.2.2.1. Ensaio de esterilidade (FP9.0).....	165
4.2.2.2. Controlo microbiológico	165
4.3. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL MÃE FLUIDO DE NACMC 0.5% (M/M).....	167
4.3.1. Estabilidade Físico-química.....	167
4.3.1.1. Características organolépticas	167
4.3.1.2. Determinação do pH.....	167
4.3.1.3. Análise da viscosidade	168
4.3.1.4. Doseamento dos parabenos	168
4.3.2. Estabilidade microbiológica	169
4.3.2.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos.....	169
4.3.2.2. Ensaio de esterilidade.....	171
4.4. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0 % (M/M)	171
4.4.1. Estabilidade Físico-química.....	171

4.4.1.1.Características organolépticas	171
4.4.1.2.Determinação do pH.....	173
4.4.1.3.Análise da viscosidade	175
4.4.1.4.Doseamento da substância ativa.....	175
4.4.2.Estabilidade microbiológica	182
4.4.2.1.Ensaio de esterilidade.....	182
4.4.2.2.Controlo microbiológico	182
5.Conclusão	184
IV PARTE – CONCLUSÕES GERAIS	186
CONCLUSÕES GERAIS.....	187
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	189
ANEXO I - METODOLOGIA PARA O DOSEAMENTO ANALÍTICO DO CLORIDRATO DE MORFINA, DO METILPARABENO E PROPRILPARABENO	196
ANEXO II - FICHAS DE PREPARAÇÃO	199
ANEXO III - RÓTULOS.....	205

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Resumo das características de duas amostras de hidrogéis disponíveis no mercado para utilização no tratamento de feridas.	66
Tabela 2 – Resumo das características da substância ativa.	67
Tabela 3 - Características da formulação de cloridrato de morfina utilizada como matéria-prima no desenvolvimento galénico.	68
Tabela 4 - Resumo das características da hidroxietilcelulose.	69
Tabela 5 - Resumo das características da Hidroxipropilmetilcelulose.	70
Tabela 6 - Resumo das características da carboximetilcelulose sódica.	71
Tabela 7- Resumo das características da Glicerina.	72
Tabela 8 - Resumo das características da água esterilizada para preparações injetáveis. ...	72
Tabela 9 - Resumo das características do propilenoglicol.	73
Tabela 10- Resumo das características dos conservantes antimicrobianos em estudo.	74
Tabela 11 - Resumo das características do frasco com dispositivo doseador integrado estudado no ensaio 2.9.27 da FP9.0.	74
Tabela 12 - Condições de incubação das membranas após filtração das amostras para desenvolvimento das estirpes inoculadas (85).	88
Tabela 13 - Critérios de aceitação da eficácia dos conservantes para preparações parentéricas e oftálmicas, de acordo com a FP 9.0.	88
Tabela 14 - Resumo das características organolépticas das amostras de hidrogéis disponíveis no mercado para tratamento de feridas.	91
Tabela 15 - Resumo das determinações de pH efetuadas nas amostras de hidrogéis para tratamento de feridas em estudo.	94
Tabela 16- Resumo da correspondência em morfina relativa aos seus sais derivados.	96
Tabela 17 - Resumo das concentrações de cada um dos agentes gelificantes estudadas no desenvolvimento galénico da base do gel.	97
Tabela 18- Resumo das características organolépticas dos geles obtidos com os diferentes polímeros, nas concentrações preparadas, antes e após o processo de esterilização.	99
Tabela 19 - Resumo dos valores médios de pH registados para cada um dos geles de HEC, HPMC e NaCMC antes e após a esterilização por autoclavagem.	102
Tabela 20 - Resumo das formulações preparadas utilizando os diferentes conservantes antimicrobianos e respetivas concentrações em % (m/m).	105
Tabela 21- Resumo dos valores de pH para a formulação A (contendo parabenos) antes e após a esterilização.	107
Tabela 22 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para as 2 formulações estudadas ao longo do ensaio de eficácia de conservantes.	110
Tabela 23 - Resumo da composição da formulação.	111
Tabela 24 - Resumo da composição das formulações preparadas para análise por HPLC.	112
Tabela 25- Resultados do ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada pelo frasco multidoso selecionado.	115
Tabela 26 - Resumo das concentrações de NaCMC estudadas no desenvolvimento galénico da base do gel fluido.	117
Tabela 27 – Composição final das formulações fluidas desenvolvidas para seleção da base do gel fluido.	118
Tabela 28- Resumo do desempenho das formulações fluidas aquando da sua pulverização utilizando o frasco 2.	119
Tabela 29- Composição qualitativa e quantitativa do gel mãe fluido utilizado como base na preparação do gel de cloridrato de morfina a 1% (m/m) para pulverização cutânea.	120

Tabela 30- Resumo das características organolépticas da formulação final consistente. .	122
Tabela 31 - Valores da percentagem de recuperação do cloridrato de morfina, do metilparabeno e do propilparabeno na formulação final (média ± desvio-padrão; n=3) ..	123
Tabela 32 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para a formulação final.....	125
Tabela 33 - Resumo das características organolépticas da formulação final do gel fluido.	128
Tabela 34 - Valores da percentagem de recuperação do cloridrato de morfina, do metilparabeno e do propilparabeno na formulação final do gel fluido (média ± desvio-padrão; n=3).....	129
Tabela 35 - Resumo da composição das formulações fluidas estudadas no ensaio de eficácia de conservantes.	130
Tabela 36 - Resultados do ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada utilizando o frasco selecionado cheio com 10 mL da formulação final.	131
Tabela 37- Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para as 2 formulações fluidas estudadas ao longo do ensaio de eficácia de conservantes.	132
Tabela 38 - Resumo das características das membranas sintéticas utilizadas no estudo da cedência “ <i>in vitro</i> ” do cloridrato de morfina pelas formulações desenvolvidas.	135
Tabela 39 - Resumo das condições de incubação das amostras para determinação de bactérias aeróbias viáveis, fungos e leveduras e para a pesquisa de microrganismos específicos.	148
Tabela 40 - Variação dos valores de pH ao longo do tempo para o lote de gel mãe consistente de NaCMC 3% (m/m).....	149
Tabela 41 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL de gel mãe de NaCMC a 3% (m/m), ao longo dos 28 dias do ensaio de eficácia de conservantes.	153
Tabela 42 – Variação do valor de pH dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).	159
Tabela 43 - Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).	160
Tabela 44 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a 22±3°C (ao abrigo da luz) (média ± desvio-padrão; n=3).	161
Tabela 45 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a 5±3°C (média ± desvio-padrão; n=3).....	162
Tabela 46 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).....	163
Tabela 47 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a 22±3°C e expostos à luz (média ± desvio-padrão; n=3).	164
Tabela 48 - Resultados do ensaio de esterilidade para os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, para cada uma das condições de armazenamento.	165
Tabela 49 – Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) armazenados a 5±3°C.....	166
Tabela 50 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) armazenados a 22±3°C.....	166
Tabela 51 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) armazenados a 40±2°C/75±5% HR.	166

Tabela 52 -Variação dos valores de pH ao longo do tempo para o lote de gel mãe fluido de NaCMC 0,5% (m/m).	167
Tabela 53 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL de gel mãe de NaCMC a 0,5% (m/m), ao longo dos 28 dias do ensaio de eficácia de conservantes.	170
Tabela 54 - Variação do valor de pH dos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).	174
Tabela 55 - Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).	176
Tabela 56 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 22±3°C (ao abrigo da luz) (média ± desvio-padrão; n=3).	177
Tabela 57 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).....	178
Tabela 58 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 5±3°C (média ± desvio-padrão; n=3).....	179
Tabela 59 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 22±3°C (expostos à luz) (média ± desvio-padrão; n=3).	180
Tabela 60 - Resultados do ensaio de esterilidade para os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, para cada uma das condições de armazenamento.	182
Tabela 61 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a 5±3°C.....	183
Tabela 62 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a 22±3°C.....	183
Tabela 63 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a 40±2°C/75±5% HR.	183

Índice de Figuras

Figura 1- Anatomia da pele (adaptado (8))	24
Figura 2 - Correlação temporal entre as diferentes fases da cicatrização de feridas.	29
Figura 3 - Exemplos das diferentes escalas numéricas e visuais analógicas de avaliação da intensidade da dor (25, 28, 30).	38
Figura 4 - Representação esquemática adaptada (35) da transmissão e processamento do estímulo doloroso.	40
Figura 5 - Adaptação da Escalada analgésica da Organização Mundial de Saúde (27, 36).42	
Figura 6 - Representação esquemática adaptada dos locais de atuação dos opióides na medula espinal.	44
Figura 7 - Representação esquemática das vias responsáveis pela transmissão do estímulo doloroso. Adaptado de (46).	45
Figura 8 - Estrutura química da morfina (49).	46
Figura 9 - Metodologia utilizada na pulverização das formulações sobre uma superfície vertical.	86
Figura 10- Aspeto de duas amostras de hidrogéis disponíveis no mercado para tratamento de feridas.[A]Varihesive®Hidrogel e [B]IntraSite®Gel. A fotografia [C] mostra o aspeto do IntraSite®Gel a 0,125%(m/m) em cloridrato de morfina.	92
Figura 11 - Reogramas dos hidrogéis comerciais em estudo – IntraSite® Gel e Varihesive®Hidrogel, antes e após a incorporação de APPI.	93
Figura 12- Verificação do desempenho das formulações no que respeita ao enchimento e administração, por pressão do êmbolo, utilizando seringas <i>luer-lock</i>	98
Figura 13 - Aspeto dos geles de NaCMC, HEC e HPMC 3% (m/m) antes e após a esterilização por calor húmido.	99
Figura 14- Reogramas da formulação contendo HEC a 3% nas diferentes fases do estudo.	100
Figura 15 - Reogramas da formulação contendo NaCMC a 3% nas diferentes fases do estudo.	100
Figura 16- Aspeto turvo do gel de NaCMC 3% (m/m), 20 dias após a preparação, esterilização e incorporação de água – evidência de contaminação microbiana.	104
Figura 17 - Aspeto das formulações A, B, C e D antes da esterilização por autoclavagem.	105
Figura 18 - Aspeto das formulações A, B, C e D após a esterilização por autoclavagem. Para cada formulação encontram-se assinalados os aglomerados brancos observados nas formulações B, C e D.	106
Figura 19- A. Aspeto das formulações 1 e 2 após esterilização, antes da incorporação da substância ativa. B. Aspeto das formulações 1 e 2, acondicionadas em seringas estéreis de 20 mL, fechadas com tampas <i>luer-lock</i> , utilizadas na realização do ensaio de eficácia de conservantes.	108
Figura 20 - Cromatograma da formulação de gel de cloridrato de morfina a 0.125% (m/m) descrita na tabela 23.	112
Figura 21 - Cromatograma da formulação obtida de acordo com a alteração da metodologia de preparação.	114
Figura 22 - Aspeto dos geles mãe fluidos obtidos.	117
Figura 23 - Representação esquemática dos diferentes ângulos de contacto formados entre gotículas de uma solução com diferentes concentrações de agente viscosante e a superfície de aplicação (86).	120
Figura 24 – Reograma da formulação de gel mãe fluido contendo NaCMC a 0,5% (m/m).	121

Figura 25 - Aspetto final das seringas unidose contendo o gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) (pormenor do material de embalagem).	126
Figura 26 - A. Aspetto do gel mãe fluido; B. Aspetto final do gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m); C. Aspetto da formulação na embalagem final.	128
Figura 27 - Representação esquemática das células de difusão de Franz (adaptado de (92)).	134
Figura 28- Células verticais de Franz utilizadas no estudo de cedência.	137
Figura 29 - Perfil de cedência do cloridrato de morfina pelo gel consistente a 0,125% (m/m).	139
Figura 30 - Perfil de cedência do cloridrato de morfina pelo gel fluido a 1,0% (m/m). ...	139
Figura 31 - Comparação do perfil de libertação de cloridrato de morfina (%) pelas duas formulações desenvolvidas.	139
Figura 32 - Representação esquemática da rede polimérica do agente gelificante (1) numa matriz de gel consistente e (2) numa matriz de gel fluido. Esquema adaptado (93).	140
Figura 33 - Aspetto do gel mãe de NaCMC 3% (m/m) aos 60 dias do estudo de estabilidade.	149
Figura 34 – Representação gráfica da variação dos valores da viscosidade aparente do gel mãe de NaCMC 3% (m/m) (média± desvio-padrão; n=1).	150
Figura 35- Variação da recuperação (%) do MP e PP no gel mãe de NaCMC 3% (m/m), ao longo do estudo de estabilidade.	151
Figura 36 – Aspetto do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), aos 64 dias, armazenado a 22±3°C e exposto à luz (1) e do mesmo gel acondicionado à mesma temperatura mas ao abrigo da luz (2).	154
Figura 37 - Representação gráfica da Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C e 75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).	155
Figura 38 - Recuperação (%) da substância ativa nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C, a 40±2°C/75±5%HR e a 22°C±3°C exposto à luz (média ± desvio-padrão; n=3).	157
Figura 39 - Recuperação (%) do MP nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C, a 40±2°C/75±5%HR e a 22°C±3°C exposto à luz (média ± desvio-padrão; n=3).	157
Figura 40 - Recuperação (%) do PP nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C, a 40±2°C/75±5%HR e a 22°C±3°C exposto à luz (média ± desvio-padrão; n=3).	157
Figura 41 - Aspetto do gel mãe de NaCMC 0,5% (m/m) aos 60 dias do estudo de estabilidade.	167
Figura 42- Variação da viscosidade aparente do gel mãe fluido de NaCMC 0.5% (m/m) ao longo do estudo de estabilidade.	168
Figura 43 - Representação gráfica da recuperação (%) de MP e PP no gel mãe de NaCMC 0,5% (m/m) (média ±desvio-padrão; n=1).	169
Figura 44 –Aspetto do gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m), aos 63 dias, armazenado a (1) 40±2°C/75±5% HR e (2) do mesmo lote de gel acondicionado a 22±3°C (temperatura ambiente).	171
Figura 45 - Degradação global da morfina. (→) Principais produtos de degradação em condições ambientais; (--->) Produto de degradação menos provável nas condições ambientais (97).	172

Figura 46 - Recuperação (%) da substância ativa nos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3)..... 175

Figura 47 - Recuperação (%) do MP nos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3). 181

Figura 48 - Recuperação (%) do PP nos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3). 181

Lista de Abreviaturas

ABE - água bidestilada estéril;
APPI - água esterilizada para preparações injetáveis;
CFLH - câmara de fluxo laminar horizontal;
CM – cloridrato de morfina;
FP 9.0 – Farmacopeia Portuguesa 9.0;
FGP - Formulário Galénico Português;
HEC- hidroxietilcelulose;
HPLC – cromatografia líquida de alta resolução;
HPMC – hidroxipropilmetilcelulose;
HR – Humidade relativa;
ICH – International Conference on Harmonisation;
IPOL - Instituto Português de Oncologia de Lisboa- Francisco Gentil, E.P.E;
MP - metilparabeno;
% m/m – %(massa/massa);
% (m/v) - %(massa/volume);
%(p/v) - % (peso/volume);
NaCMC - carboximetilcelulose sódica;
OECD – Organization for Economic Co-operation and Development;
OMS - Organização mundial de saúde;
p.a.- para análise;
PP – Propilparabeno;
rpm – rotações por minuto;
SNC - sistema nervoso central;
SNP - sistema nervoso periférico;
TR - tempo de retenção;
Ufc – unidades formadoras de colónias;
USP – United States Pharmacopeia;
UV – Ultravioleta;

I PARTE – REVISÃO INTRODUTÓRIA

1. Pele Humana

Em todos os seres vivos existe uma membrana de revestimento que separa o meio interno do meio externo. A pele é o maior órgão visível do corpo humano, com uma área equivalente a 2 m^2 no adulto normal, o que corresponde a cerca de 15% do seu peso corporal e que acaba por receber um terço de toda a circulação sanguínea (1, 2). Trata-se de um órgão complexo e de uma membrana viva (3).

Em conjunto com as membranas mucosas do trato genito-urinário, digestivo e respiratório constitui uma barreira que protege a estrutura interna do corpo humano das agressões do meio externo como a poluição, a temperatura, a humidade e a radiação. Protege ainda os órgãos internos, limitando a passagem de substâncias do meio externo para o meio interno e vice-versa, estabilizando a temperatura e mediando as sensações de calor, frio, tato e dor. É também capaz de expressar emoções (a palidez devida ao medo, o rubor por embaraço ou exaltação e a sudorese da ansiedade). A pele identifica os indivíduos através das suas características particulares, nos humanos a cor, o odor, o cabelo e a textura (4).

A estrutura da pele varia consideravelmente nas diferentes áreas anatómicas do corpo humano, sendo esta variação a nível da espessura dos seus componentes e das suas estruturas especializadas (pêlos, unhas, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas). A pele pode ser afetada por situações patológicas e agredida por fatores externos como a radiação, a luz solar, toxinas, agentes irritantes, alergênicos e agentes infecciosos (5). Desempenha ainda funções críticas no corpo humano como:

- 1) Proteção – A melanina e as enzimas antioxidantes estão estrategicamente posicionadas na epiderme para proteger a pele contra a radiação. A derme reticular é também uma barreira aos danos e agressões assim como um amortecedor biológico para as estruturas que circunda. A epiderme resiste à fricção e ao *stress* tangencial e possui ainda o seu estrato córneo, o qual se destina a constituir uma barreira impenetrável a substâncias externas.
- 2) Termorregulação – A evaporação do suor proveniente das glândulas sudoríparas écrinas é um processo crítico para a termorregulação. A vasodilatação e vasoconstrição dos vasos sanguíneos da pele também auxiliam neste processo, de troca de calor, para manter a temperatura do corpo humano nos climas mais frios e eliminar o calor após o exercício físico.

- 3) Resposta imunológica – A fisiologia cutânea inclui funções imunológicas que protegem de agentes infecciosos, de células oncológicas e de toxinas através da imunidade inata e adquirida, com respostas locais muito específicas.
- 4) Barreira a perdas de água – O estrato córneo é um componente crítico da pele normal que previne a perda de água transepidermica.
- 5) Secreção de metabolitos – A secreção das glândulas sudoríparas écrinas e apócrinas elimina resíduos do metabolismo.
- 6) Sensação – A pele é o maior órgão sensorial e conjuntamente com as membranas mucosas são os principais locais responsáveis pela percepção de sensações de prazer assim como de sensações desagradáveis (ex. dor).

1.1. Anatomia e Fisiologia

Do ponto de vista anatómico, a pele possui diversas camadas histológicas, mas em geral, é descrita em termos de três camadas de tecidos que funcionalmente estão intimamente relacionadas: a epiderme, a derme e a camada adiposa subcutânea (hipoderme) (5-8). A pele deriva de duas linhagens de células germinativas: a ectoderme, a qual origina a epiderme; e a linhagem mesenquimatosa que origina a derme. Estas duas camadas juntam-se numa zona basal designada por lâmina basal (5).

A figura 1 mostra uma representação esquemática idealizada da pele, evidenciando as glândulas, os folículos pilosos, os nervos, os vasos sanguíneos e outros acessórios e estruturas deste órgão.

1.1.2. Epiderme

A epiderme é a camada mais externa da pele e é constituída por epitélio escamoso estratificado. A sua espessura varia entre 0,05 mm nas pálpebras até cerca de 1,5 mm na palma das mãos e na planta dos pés (8).

A camada mais externa é o estrato córneo, ou camada córnea, que consiste em células compactas, mortas, queratinizadas, dispostas em camadas estratificadas com uma densidade de $1,55 \text{ g/cm}^3$. Devido à natureza densa do estrato córneo, os valores dos coeficientes de difusão neste tecido são mil ou mais vezes menores do que em qualquer outro tecido da pele, o que resulta numa grande resistência e impermeabilidade geral (7).

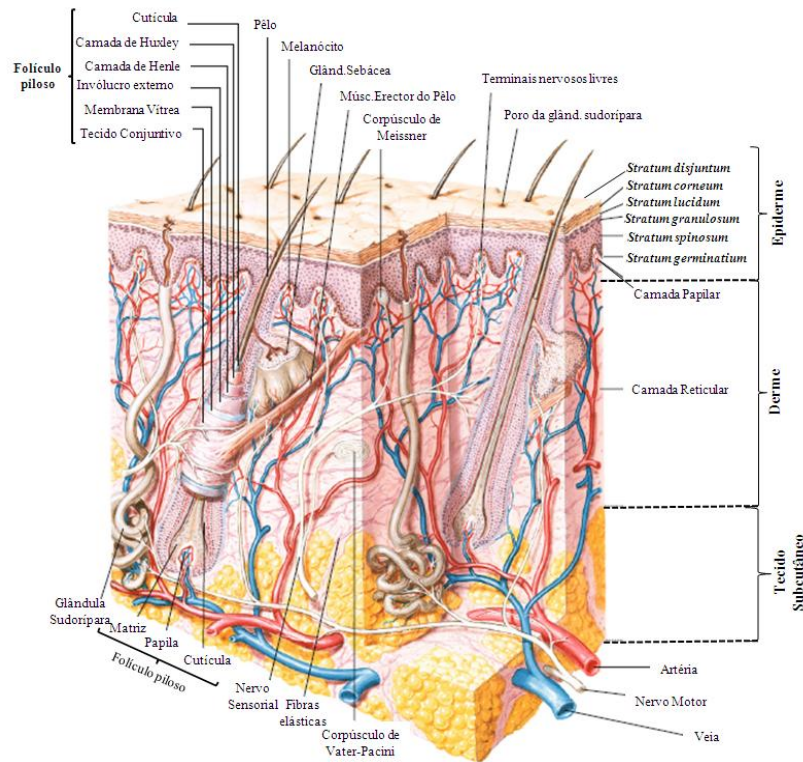


Figura 1- Anatomia da pele (adaptado (8))

A epiderme é um epitélio escamoso estratificado constituído maioritariamente por queratinócitos juntamente com outras células com localizações diferentes (melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel). Em resposta a vários estímulos, algumas células como os linfócitos, os macrófagos da derme, os neutrófilos e os eosinófilos entram também na epiderme. Os queratinócitos encontram-se firmemente interligados entre si através de desmossomas, que se ligam a uma rede filamentos rígidos de queratina e que são responsáveis por conferir robustez à epiderme (5).

A diferenciação da epiderme é um processo geneticamente programado através do qual os queratinócitos se diferenciam a partir de células proliferativas na camada germinativa para formar as células “espinhosas”, células em apoptose na camada granulosa e finalmente em corneócitos (células mortas) no estrato córneo (figura 1). Durante todo este processo os queratinócitos sofrem grandes alterações refletindo as suas diferentes características funcionais. A queratina apresenta propriedades versáteis, sendo o maior constituinte do cabelo e unhas nos humanos e dos bicos, cascas e penas noutras espécies animais (5).

Assim, na epiderme podem distinguir-se, do interior para o exterior, as seguintes camadas (5, 6): *Stratum germinatum*, *Stratum spinosum*, o *Stratum granulosum*, *Stratum lucidum*, *Stratum corneum* e o *Stratum disjunctum*.

Os queratinócitos são células cujo ciclo de renovação demora entre 26 a 28 dias e que têm na sua constituição proteínas (queratina, 70 a 80%), lípidos (ceramidas, triglicéridos, ácidos gordos, 20%) e água (cerca de 15%) (6).

Os melanócitos são células dendríticas que sintetizam e secretam o pigmento melanina, derivam das células da crista neural e migram preferencialmente para a junção dermo-epidérmica ainda durante o desenvolvimento embrionário. Encontram-se especialmente na camada basal da epiderme numa proporção de melanócitos para queratinócitos que varia de 1:4 até cerca de 1:10 nas diferentes regiões da pele, de acordo com a raça. No entanto, é também possível encontrá-los na derme (5).

As células de Langerhans constituem um importante subconjunto de células apresentadoras de antígenos localizadas na porção média da epiderme. Estas células tornam-se mais abundantes em locais de doença inflamatória da pele, incluindo as reações alérgicas como as dermatites de contacto. São células migratórias que possuem na sua superfície uma série de recetores imunológicos (5).

As células de Merkel, que se encontram dispersas por entre os queratinócitos, podem também ser observadas junto, ou até mesmo em contacto, com finas fibras nervosas não mielinizadas com as quais formam sinapses. As células de Merkel podem encontrar-se sozinhas ou em *clusters* designados por corpúsculos tácteis. No seu citoplasma é possível encontrar numerosos grânulos densos contendo catecolaminas e pensa-se que estas células funcionam como mecanoreceptores adaptados (5).

1.1.3.Derme

A derme varia na sua espessura entre 0,3 mm, nas pálpebras dos olhos, até cerca de 3,0 mm na região dorsal (costas). É composta essencialmente por três tipos de tecido conjuntivo: colagénio, fibras elásticas e fibras reticulares. Podem ainda considerar-se na derme duas camadas: uma fina mais superior designada por derme papilar, constituída por finas fibras de colagénio dispostas aleatoriamente; e outra camada mais espessa inferior designada por derme reticular e que se estende desde a base da derme papilar até ao tecido subcutâneo e que é composta por fibras de colagénio mais espessas que se encontram dispostas paralelamente à superfície da pele (8).

Os vasos sanguíneos e nervos da pele encontram-se separados num plexo superficial na derme papilar e num plexo mais profundo que irriga as estruturas anexas. A derme é

separada do tecido muscular por uma camada de tecido adiposo subcutâneo que permite à pele movimentar-se livremente relativamente às estruturas internas mais profundas (5). Na derme é possível encontrar muitos tipos de células diferentes, incluindo fibroblastos, fibrócitos, macrófagos, leucócitos e células plasmáticas (5).

As estruturas anexas derivadas da epiderme (glândulas sudoríparas écrinas, apócrinas, sebáceas e folículo piloso) encontram-se ancoradas na derme mas penetram a epiderme e a barreira do estrato córneo (figura 1). O folículo piloso é uma estrutura que contém uma população especializada de células epiteliais, células pigmentares e células mesenquimatosas que controlam o ciclo do pêlo. As glândulas sudoríparas écrinas secretam diretamente para o exterior dado que os seus poros abrem diretamente no estrato córneo, já as glândulas sudoríparas apócrinas libertam as suas secreções no folículo piloso. As glândulas sebáceas secretam para os folículos pilosos sebáceos em zonas como o couro cabeludo, na face, no peito, nas costas, nas axilas e nas virilhas. Uma extensa rede de vasos sanguíneos supre as necessidades da pele. O plexo vascular superficial nutre essencialmente a epiderme através de uma extensa e complexa rede de capilares na derme papilar. Os plexos nervoso e vascular, mais profundos, cobrem as necessidades das estruturas anexas da derme.

O suporte nervoso da pele é muito extenso e consiste em fibras nervosas mielinizadas e em fibras nervosas não mielinizadas. Algumas estruturas mais especializadas, como os corpúsculos de Pacini (captam especialmente estímulos vibráteis e táteis) e de Meissner (captam estímulos táteis), encontram-se preferencialmente localizados nas mãos e nos pés. As terminações nervosas livres são sensíveis aos estímulos mecânicos, térmicos e especialmente aos dolorosos (são formadas por um axónio ramificado envolvido por células de Schwann sendo, por sua vez, ambos envolvidos por uma membrana basal) (5).

2.Feridas

2.1. Definição

Uma ferida pode ser definida como um defeito ou quebra na integridade epitelial, em que há lesão do tecido conjuntivo e da vasculatura cutânea e que pode resultar de um dano físico, mecânico ou térmico, ou ainda subjacente a uma intervenção médica ou como resultado de uma patologia (9-12).

2.2. Principais tipos de feridas

Os diferentes tipos de feridas podem ser agrupados em três grandes grupos: (1) as que resultam de agressões mecânicas, (2) as queimaduras ou agressões químicas e (3) as feridas ulcerativas crónicas (9).

- 1) Das agressões mecânicas fazem parte as escoriações causadas por fricção em resultado do contacto tangencial entre a pele e uma superfície dura ou áspera. São por definição feridas confinadas às camadas mais externas da pele. Ainda neste grupo incluem-se as lacerações, mais severas que as escoriações por envolverem a pele e os tecidos subjacentes; e as feridas que resultam da penetração na pele de objetos cortantes ou pontiagudos (ex. lâminas ou pregos). Embora a aparência deste tipo de feridas possa sugerir um carácter superficial, podem ser causadas lesões internas graves, dependendo do local, profundidade e velocidade de penetração do objeto. As mordeduras, causadas por animais ou humanos, são outro tipo de agressão mecânica da pele, e podendo tornar-se infetadas por uma vasta gama de microrganismos patogénicos e, caso não sejam convenientemente tratadas, poderão resultar em sequelas graves. Por último, neste grupo, aparecem as feridas cirúrgicas que também representam um tipo de agressão mecânica (9).
- 2) Existem vários tipos de queimaduras: as térmicas, as químicas, as elétricas e as causadas pela radiação. As queimaduras térmicas são as mais comuns e a sua severidade varia de acordo com a temperatura da fonte de calor, com a inércia térmica (função da condutividade térmica, densidade e calor específico do objeto) e com o tempo de contacto ou de exposição. As queimaduras podem ser classificadas em três tipos consoante o grau de destruição tecidular. Assim, são frequentemente descritas como queimaduras superficiais (primeiro grau), aquelas que envolvem apenas a epiderme e a parte superficial da derme e habitualmente resultam da exposição prolongada a uma fonte de calor de baixa intensidade; nas queimaduras dérmicas profundas (segundo grau) a maior parte do epitélio superficial é destruído conjuntamente com a parte da derme subjacente. Apenas alguns elementos isolados das camadas mais profundas da epiderme se mantêm viáveis, de entre estes os que integram os folículos pilosos e as glândulas sudoríparas. As queimaduras de terceiro grau são as mais graves e comprometem a totalidade da espessura cutânea, neste tipo de ferida todos os elementos da pele são destruídos (9).

- 3) Relativamente às feridas crónicas, estas podem ser divididas em diferentes tipos dependendo da causa que lhes está subjacente. As úlceras de decúbito (também designadas por úlceras de pressão, escaras ou escaras de pressão) são frequentemente causadas pela pressão contínua exercida por uma superfície sobre uma proeminência óssea, inibindo a circulação sanguínea capilar na pele e tecidos circundantes. Se esta pressão não for aliviada daqui resultará, em ultima instância, a morte celular seguida de necrose com perda da viabilidade tecidual. Neste grupo das feridas ulcerativas crónicas existem ainda as úlceras de perna (as quais podem ser de origem venosa, isquémica ou traumática), as úlceras associadas a determinadas infeções sistémicas, as úlceras resultantes da radioterapia e as úlceras que resultam da manifestação de doença maligna (9).

2.3. Processo de Cicatrização

A rutura da pele, que dá origem ao que denominamos ferida, dá início a um processo complexo que é a cicatrização. Esta pode ser definida como o processo fisiológico através do qual o organismo restaura e restabelece as funções dos tecidos lesados. Na realidade todos os tecidos do organismo são capazes de se curar, para isso, estão dotados de capacidade de regeneração e reparação, sendo este último processo o mecanismo pelo qual ocorre a cicatrização no Homem (13). A cicatrização de feridas é um processo dinâmico interativo que envolve uma sequência de eventos celulares e moleculares. Os desenvolvimentos recentes na área da biologia molecular permitiram alargar o entendimento dos processos biológicos envolvidos na reparação da ferida e regeneração do tecido (11, 14).

De uma forma simplificada pode dizer-se que a cicatrização de uma ferida aguda se processa em quatro fases: fase vascular (alguns minutos), fase inflamatória (0-4 dias), fase proliferativa (4 a 21 dias) e fase remodelativa ou de maturação (21 dias até 2 anos). Já nas feridas crónicas a fase vascular pode estar ausente. De notar que, apesar de num dado local da ferida estas fases se sucederem, no seu conjunto ela pode apresentar uma considerável justaposição de todas elas (figura 2). Assim, o tratamento de uma ferida começa pela sua caracterização e posterior ligação ao material de penso disponível no mercado. É verdade que o seu tratamento tem de ter presente o doente como uma unidade funcional, em que a ferida pode representar uma doença em progressão. Por outro lado, o tratamento de um doente com uma ferida tem sempre como objetivo o controlo dos sintomas e a prevenção

de possíveis complicações de forma a dar-lhe o maior conforto possível e a garantir a sua qualidade de vida (1, 13, 15).

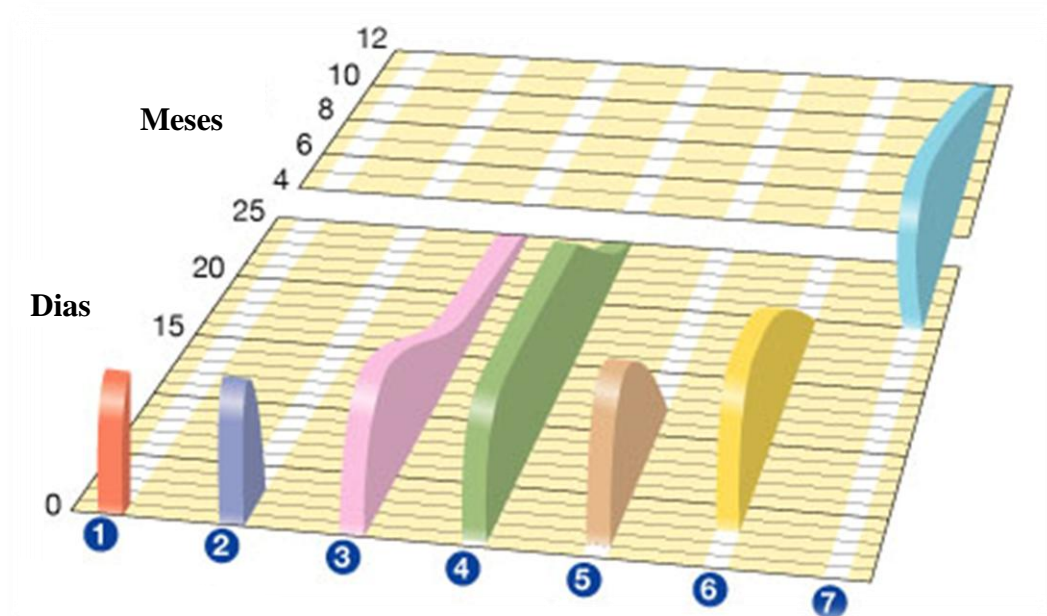


Figura 2 - Correlação temporal entre as diferentes fases da cicatrização de feridas.

O processo de cicatrização de feridas pode ser pensado em 4 momentos: hemostase [1] que consiste na coagulação do sangue e [2] na resposta vascular; [3] inflamação, provocada pela migração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos para o local da lesão; a reparação ou fase proliferativa, durante a qual a síntese da nova matriz extracelular resulta na formação da cicatriz [4] e epitelização [5]; e finalmente a remodelação que consiste na contração [6] e remodelação [7] da matrix extracelular. (Adaptado de Schultz GS, *et al* 2005) (10)

Fase vascular - Se a ferida sangra, para parar a hemorragia nos primeiros segundos, os vasos sanguíneos contraem-se devido ao próprio músculo liso vascular (contração miogénica) ou por libertação de catecolaminas pelo sistema nervoso simpático desses vasos (contração neurogénica). No entanto, esta contração é breve, não dura mais que um minuto, tempo necessário para minimizar as perdas de fluido sanguíneo e iniciar o processo de coagulação. Este processo é acelerado pela agregação plaquetária e libertação de vários fatores de crescimento necessários à reparação da ferida. A coagulação é precedida de uma complexa reação em cadeia chamada de cascata de coagulação que leva à formação do coágulo, cujo principal constituinte é a fibrina capaz de reter outras células sanguíneas. Esta secagem gradual leva à formação da crosta da ferida, ao mesmo tempo que se inicia a vasodilatação periférica (1, 11, 13).

Fase inflamatória – O objetivo desta fase é a remoção das bactérias, tecido necrosado e outros possíveis contaminantes. Os dois tipos de acontecimentos que ocorrem nesta fase são a hemostase e a inflamação. O tecido lesionado e a ativação dos fatores de coagulação estimulam a libertação de várias substâncias (prostaglandinas e histamina) que causam alterações nos vasos sanguíneos locais tornando-os mais permeáveis e dilatados. A reação é de vasoconstrição e de acumulação de fluido seroso no leito da ferida, que é conhecida como resposta inflamatória, pode ser observada clinicamente pela presença no local de: eritema, calor, edema, desconforto (dor) e alterações funcionais. Estes sinais são devidos ao aumento do fluxo sanguíneo na área lesada e à acumulação de fluidos nos tecidos moles, o que aumenta a pressão exercida sobre as terminações nervosas, causando desconforto e edema, acabando ainda por restringir os movimentos da parte lesada. A inflamação faz parte da normal resposta protetora à lesão e, no entanto, os sinais clínicos são semelhantes e não devem ser confundidos com os da infeção. A lesão vai também causar a rutura da membrana celular, levando à libertação de ácido araquidónico, dando assim início à cascata dos mediadores da inflamação. São esses mediadores e os fragmentos da fibrina que conduzem à estimulação das células que medeiam a inflamação. Os neutrófilos são o primeiro tipo de células da linhagem branca atraídas à ferida, aparecendo normalmente dentro de cerca de 6 horas. Têm uma vida curta, mas conferem a necessária proteção inicial contra os microrganismos através da fagocitose, permanecendo em actividade durante os primeiros 2 a 3 dias (1, 11).

Os monócitos são o segundo tipo de células brancas atraídas para a ferida, devido à libertação de fatores de crescimento. Os monócitos maduros dão lugar aos macrófagos (48 horas após a lesão) que apresentam um papel vital no processo de cicatrização. Os macrófagos produzem várias substâncias que estimulam a cura da ferida, incluído: fatores de crescimento de transformação ($TGF\alpha$ e $TGF\beta$, promovem a formação de novos tecidos e vasos sanguíneos), fator de necrose tumoral ($TNF\alpha$ – facilita a eliminação de tecido necrótico e tumoral, estimulando também o crescimento de novos tecidos), fator de crescimento de fibroblastos (estimula o crescimento destas células), prostaglandinas (promovem a resposta inflamatória), fator complemento (tem como função marcar os corpos estranhos que invadem o organismo), óxido nítrico (tem uma ação antimicrobiana) e os radicais livres que promovem a desinfeção inata e remoção do tecido morto (principalmente o peróxido de hidrogénio). A atividade dos macrófagos e neutrófilos é crítica, sendo responsáveis, essencialmente, pela limpeza do leito da ferida. Os macrófagos

estão normalmente presentes durante todas as fases da cicatrização da ferida, desde o desbridamento à síntese da matriz extracelular e angiogénese. Por sua vez, a sua ausência parece estar associada a uma baixa taxa de sucesso de cicatrização.

Em feridas limpas a fase inflamatória pode durar cerca de 36 horas; na necrótica ou infetada pode demorar mais. A fase inflamatória é vital para estimular as fases seguintes, daí a dificuldade de cicatrização nos imunodeprimidos.

Fase proliferativa – durante esta fase a ferida é preenchida com novo tecido conjuntivo. Os principais processos envolvidos são a granulação, contração e epitelização, sendo as principais células envolvidas as endoteliais, os fibroblastos e os queratinócitos (1, 11).

A **granulação ou angiogénese** são as designações atribuídas à formação de novos capilares no leito da ferida, os quais suportam o desenvolvimento do novo tecido conjuntivo. A angiogénese é ativada 36 horas após a lesão pela hipoxia resultante da rutura da corrente sanguínea, pelo ácido láctico e catecolaminas. Os fatores de crescimento libertados pelos macrófagos estimulam as células endoteliais das paredes dos capilares da área da ferida, que se dividem e ramificam em novos capilares. Esse processo continua até que o novo tecido de granulação se junte ao não lesionado, de forma a constituir a rede de vasos que enchem a ferida. O tecido de granulação é assim chamado por se apresentar na base da ferida granular, ao mesmo tempo que o seu aspeto é um indicador da evolução da cicatrização (aspeto saudável: vermelho vivo, húmido, lustroso, não sangra facilmente; aspeto não saudável: vermelho escuro ou descolorado, desidratado, baço, sangra facilmente). Em simultâneo com a formação do tecido granuloso ocorre a produção do tecido conjuntivo. Os fibroblastos são atraídos pela libertação do fator de crescimento de fibroblastos e começam a dividir-se e a reunir-se na margem da ferida; quando estimulados produzem fibras de colagénio, um processo que depende do ácido ascórbico, do ferro e do cobre (1).

Na realidade, a formação da matriz extracelular começa na hemostase e na atividade dos macrófagos, ao promoverem a imigração celular e a proliferação, o que conduz à formação de fibrina, fibronectina e ácido hialurónico. De seguida, juntam-se-lhe algumas proteínas como a trombopondina 1, o glicosaminoglicano, o proteoglicano e proteínas ricas em cisteína, formando a matriz de suporte. Por fim, o colagénio que é a principal proteína da cicatriz. As novas fibras de colagénio têm uma consistência de gel e amadurecem gradualmente formando ligações que lhe dão extensibilidade e elasticidade (1).

Na **contração**, depois de terminado o processo de produção do tecido conjuntivo, os fibroblastos transformam-se em miofibroblastos ou fibrócitos. Estes miofibroblastos reunidos ao longo das margens da ferida são capazes de se contrair, repuxando os bordos da mesma para que o tamanho desta seja reduzido. A quantidade de área reduzida na ferida, ou seja, o poder de contração, depende da sua localização anatômica, grau de mobilidade e tecido subjacente (1).

Durante a **epitelização**, há o crescimento de novas células epiteliais através superfície da ferida. Trata-se da fase final da cicatrização que é essencial pois restabelece a barreira protetora da pele. Este processo é muito delicado e depende de vários fatores como a humidade, a temperatura, a oxigenação e o pH. As novas células epiteliais têm origem nas margens da ferida ou no resto dos folículos pilosos, sebáceos ou glândulas sudoríparas. Estas células dividem-se e migram ao longo da superfície do tecido de granulação, até formar uma camada contínua de células e fechar a ferida. As células epiteliais recém-formadas são translúcidas e têm uma cor rosa pálida. Podem, muitas vezes, aparecer na superfície aberta e limpa de uma ferida, na margem e/ou em forma de pequenos ilhéus de ferida em granulação. Esta fase pode ser atrasada por traumas repetidos, causados pelo manuseamento do material de penso. Assim, a regeneração da epiderme só ocorre a partir das margens da ferida quando os folículos pilosos, sebáceos e glândulas sudoríparas foram destruídos. Se a ferida é extensa registam-se dificuldades acrescidas, devido à limitação da migração das células epiteliais (ex. feridas cavitadas) (1, 11).

Fase de remodelação ou maturação – Esta é a fase da cicatrização propriamente dita, começa quando a ferida fecha devido à formação de tecido conjuntivo e à re-epitelização. Trata-se de um processo longo, podendo continuar por um ano ou mais. A pele apresenta uma cor avermelhada. A remodelação da cicatriz é estimulada pelos macrófagos, e resulta na reorganização das suas fibras de colagénio de forma a terem o máximo de força extensível. Na realidade, só apresentam 80% da força da pele sã. Esta remodelação é influenciada pela aplicação de compressão, a qual reduz a formação de montículos na cicatriz, obtendo-se assim melhores resultados estéticos (1).

2.4. Influência do pH na cicatrização

O processo normal de cicatrização de feridas é caracterizado pela conclusão bem-sucedida de 4 fases distintas, mas que estão intimamente interligadas: hemostase, inflamação, proliferação e remodelação. A cicatrização alterada ou comprometida, tal como o que se

observa nas feridas crónicas, é um processo marcado pela interrupção destas fases. Na literatura é possível encontrar estudos da influência do pH sobre as células durante a cicatrização e a alteração do pH do leito das feridas aquando da aplicação de preparações tópicas (16).

O pH da pele íntegra varia aproximadamente entre 4,8 e 6,0, enquanto o fluido intersticial apresenta um pH próximo da neutralidade. Este baixo valor de pH na pele é atribuído principalmente devido à presença do “manto ácido”, uma barreira natural da pele ao ambiente externo (17).

A avaliação clínica do leito das feridas crónicas é predominantemente baseada numa interpretação subjetiva. Monitorizar o pH da superfície das feridas pode proporcionar um método de avaliação mais objetiva da condição do leito da ferida e em última análise pode dar informação sobre a sua resposta ao tratamento que lhe está a ser aplicado (16).

O pH no ambiente das feridas crónicas tem vindo a ser registado em valores que oscilam entre 7,15 e 8,9. Esta variabilidade é representativa tanto das feridas em processo de cicatrização ativo como das feridas onde há um claro atraso no processo. Tanto as feridas agudas como as feridas crónicas com valores elevados de pH (muito alcalino) demonstram baixas taxas de cicatrização relativamente às feridas onde se registam ambientes próximos da neutralidade (17).

Nas feridas crónicas a presença de tecido necrótico e desvitalizado faz com que a ferida tenha uma carga metabólica aumentada, podendo resultar em hipoxia tecidual. Estas feridas têm uma destruição massiva da matriz extracelular e, conseqüentemente, a ferida ela própria, quando isto ocorre, entra num ambiente alcalino. Vários são os processos que potencialmente poderão contribuir para este facto. Um dos processos alterados poderá ser a atividade das proteases. As metaloproteinases da matriz (MPM) são uma família de mais de 20 proteases que coletivamente são capazes de degradar a maioria dos componentes da matriz extracelular. Esta atividade depende da quantidade de proteases presentes e da presença de inibidores. Não sendo apenas sintetizadas pela própria ferida, as proteases podem também ter origem na microflora bacteriana que a coloniza. Todas as proteases apresentam o seu pico de atividade a um determinado valor de pH no qual a taxa de degradação proteica é maior. Por exemplo, a amónia, libertada a partir da ureia pela enzima urease, é também produzida pelas bactérias e é tóxica para o tecido da ferida, favorecendo também desta forma o ambiente alcalino em detrimento do meio ácido. Este

facto é particularmente importante nas feridas crónicas onde é possível encontrar, em qualquer momento da cicatrização, sempre pelo menos quatro tipos diferentes de bactérias. Também a libertação de oxigénio para os tecidos é influenciada pelo pH (16). No sangue, a libertação de oxigénio a partir da oxi-hemoglobina ocorre mais rapidamente em meio ácido. Durante o exercício físico o dióxido de carbono e o ácido láctico que se formam nos músculos diminuem o pH resultando assim numa libertação máxima do oxigénio para suprir as necessidades dos tecidos. Contrariamente, um ambiente alcalino tende a estabilizar a oxi-hemoglobina reduzindo assim a quantidade de oxigénio disponível aos tecidos (9). O transporte de oxigénio para o tecido danificado, particularmente nas feridas crónicas é dependente não só da perfusão, mas também da difusão. Isto é importante porque a probabilidade de cicatrização é maior se a pressão parcial de oxigénio nos tecidos (pO_2) for superior a 40 mmHg, sendo no entanto improvável em níveis inferiores a 20 mmHg, como é frequente neste tipo de feridas. Assim, em feridas crónicas recorrentes a pele e a vasculatura local tornam-se cicatrizadas e atroficas, originando obstáculos permanentes ao transporte de oxigénio. Portanto, qualquer fator que possa causar uma pequena alteração no pH de uma ferida poderá alterar significativamente o fornecimento disponível de oxigénio para os tecidos envolvidos (16).

Para além dos efeitos sobre a atividade das proteases e da libertação de oxigénio, outros efeitos da redução do pH nas feridas são: a redução da toxicidade dos metabolitos das bactérias tais como a amónia, aumentando da destruição do colagénio anormal no leito da ferida, a promoção da angiogénese, o aumento da atividade dos macrófagos e dos fibroblastos e o controlo da atividade enzimática (16).

Assim, os materiais de penso utilizados no tratamento de feridas, que direta ou indiretamente reduzam o pH dos fluidos do leito da ferida podem ajudar na prevenção de infeções e vão também conferir as condições ótimas para uma rápida cicatrização, contrariamente aos materiais que promovam um aumento do pH (9).

2.5. Barreiras da cicatrização

Para uma ferida cicatrizar com sucesso, as quatro fases do processo de cicatrização devem ocorrer na sequência e tempo adequados. São vários os fatores que podem interferir numa ou mais fases do processo, causando assim uma cicatrização inapropriada ou diminuída. Na literatura recente é possível encontrar alguns dos fatores que mais significativamente afetam a cicatrização de feridas cutâneas e o potencial celular e /ou os mecanismos

moleculares envolvidos. De entre estes destacam-se a oxigenação tecidual, a infeção, a idade, as hormonas sexuais, o stress, a diabetes, a obesidade, a medicação, o alcoolismo, o tabagismo e a nutrição. Uma melhor compreensão da influência destes fatores na reparação cutânea pode conduzir a terapêuticas que melhorem a cicatrização (18).

2.7. Preparação do Leito da ferida

O conceito de preparação do leito da ferida pressupõe uma abordagem multidisciplinar e teve um grande desenvolvimento nos anos 80. A preparação do leito da ferida oferece aos profissionais de saúde uma abordagem abrangente para remover as barreiras à cicatrização e estimular o processo de cicatrização com o objetivo de maximizar os benefícios da terapia avançada na cicatrização. Inclui o desbridamento de tecido não viável e de matriz extracelular desnaturada, o controlo da carga microbiana assim como da inflamação, o estabelecimento do equilíbrio de humidade adequado e a estimulação da migração de células epidérmicas a partir do bordo da ferida. Esta abordagem ficou subsequentemente conhecida sob o acrónimo “TIME” (19). O “T” refere-se ao tecido não viável que deve ser monitorizado e caso exista deverá ser removido, o “I” ao controlo da infeção e redução da carga microbiana, o “M” da manutenção do equilíbrio no que respeita à humidade – condição fundamental à cicatrização (do inglês “moisture”) e por fim o “E” relativamente ao encerramento da ferida a partir dos bordos. Esta abordagem sistemática encontra-se estabelecida e é globalmente utilizada para todos os tipos de feridas crónicas (19). Nas feridas agudas, o desbridamento é utilizado para remover os tecidos mortos ou desvitalizados e microrganismos. Uma vez realizado este procedimento e caso o doente não tenha outras patologias associadas, a ferida aguda tem agora reunidas as condições para cicatrizar rapidamente. Nas feridas crónicas, não há uma normal progressão das células inflamatórias, há acumulação de enzimas proteolíticas que reduzem as respostas celulares aos péptidos estimuladores de crescimento, impedindo assim o desenvolvimento de células saudáveis. Assim, poderão ser necessários desbridamentos mais frequentes para remover detritos, exsudado e biofilmes bacterianos, reduzindo a carga bacteriana de modo a criar no leito da ferida as condições necessárias ao avanço da cicatrização.

O termo crónico refere-se, de uma maneira geral, a feridas que não cicatrizaram em 6 semanas. Todas as feridas crónicas começam por ser feridas agudas, no entanto, outras situações patológicas associadas, a medicação concomitante, o ambiente e os comportamentos do doente contribuem de forma significativa para alterar o ambiente celular e molecular da ferida levando assim ao atraso da cicatrização (19).

2.6. Feridas no Doente Oncológico

Em consequência do tratamento para o cancro podem surgir alterações da integridade da pele. A pele do doente oncológico pode manifestar complicações da doença que podem ocorrer durante o período de tratamento ou meses e até anos mais tarde. Apesar de nos doentes oncológicos os primeiros cuidados não serem para a ferida, as potenciais complicações que daí lhes advém fazem com que os novos princípios do tratamento de feridas lhes sejam cuidadosamente aplicados. Tal como outras feridas crónicas, o objetivo para tratamento deste tipo de feridas varia entre a cicatrização e a ação meramente paliativa. De notar que a ação paliativa por vezes se reveste de extrema importância quer para o bem-estar do doente quer do seu círculo familiar e social (1, 20, 21).

2.6.1. Feridas cirúrgicas

As feridas cirúrgicas são um dos tipos de feridas que afetam o doente oncológico pois muitas vezes é necessário recorrer à cirurgia como meio de remoção de tecidos tumorais ou para resolver complicações resultantes da progressão da doença. Podem ser incluídas nas feridas agudas, sendo as primeiras definidas como feridas de início repentino e de curta duração, que podem ocorrer em pessoas de todas as idades e que geralmente cicatrizam com facilidade e sem grandes complicações. São pela sua própria natureza feridas intencionais, o que permite ao cirurgião tentar minimizar os riscos de complicações. Para uma melhor cicatrização as feridas cirúrgicas devem ser mantidas limpas, húmidas e cobertas com um apósito que deverá ser funcional e ao mesmo tempo agradável do ponto de vista estético. A ferida cirúrgica apresenta, geralmente, menos dor, eritema, edema e na maioria das vezes um resultado cosmético mais agradável. A aparência final da cicatriz, reflete a habilidade e a técnica do cirurgião responsável, mas também o penso utilizado (1).

2.6.2. Radiodermites

A radioterapia consiste no tratamento do cancro, ou de outras doenças, através da radiação ionizante e consiste numa deposição de energia que vai destruir as células da área a ser tratada (tecido alvo) através da lesão do seu material genético, tornando assim, impossível a continuação do seu crescimento. A radioterapia pode ser utilizada individualmente ou em combinação com a quimioterapia (aumento do efeito citotóxico da radiação na pele) ou cirurgia. A pele é particularmente sensível à radiação, uma vez que se encontra em constante renovação celular. As células que nela são rapidamente divisíveis (queratinócitos, folículos pilosos e glândulas sebáceas) são as mais sensíveis à radiação (1).

2.6.3. Feridas Malignas

Para além das úlceras de pressão, que podem ocorrer nos doentes oncológicos em estadios mais avançados da doença, ou outras lesões cutâneas decorrentes da terapêutica contra o cancro (ex. queimaduras por extravasão de citotóxicos), as feridas malignas são também uma condição que pode surgir nestes doentes. Estas feridas são causadas pela infiltração do tumor, ou de metástases, na pele e nos seus vasos sanguíneos e linfáticos aferentes, ou como resultado do crescimento metastático de um tumor primário. A perda da vascularização constitui uma grande dificuldade na abordagem terapêutica deste tipo de úlceras devido à perda de viabilidade do tecido cutâneo que daí advém e consequente necrose. Estas condições são propícias ao desenvolvimento de bactérias aeróbias e anaeróbias, o que contribui para alguns sintomas característicos das feridas malignas tais como o mau odor e por vezes a presença de exsudado. Estas feridas representam um desafio físico e emocional para os doentes, para os seus familiares e para os profissionais de saúde que os acompanham já que, a sua grande heterogeneidade e etiologia, as torna mais complicadas do ponto de vista da abordagem terapêutica do que as restantes feridas crónicas (22-24).

3. Dor

A dor define-se como uma experiência multidimensional desagradável (biofisiológica, bioquímica, psicossocial, comportamental e moral), que envolve não só a componente sensorial como uma componente emocional da pessoa que a sofre. É um sintoma que acompanha, de forma transversal, a generalidade das situações patológicas que requerem cuidados de saúde (25).

Por outro lado a dor associa-se, ou é descrita como associada, a uma lesão tecidular concreta ou potencial (25-27). Trata-se tanto de uma sensação (percepção consciente de um estímulo nocivo) como de uma experiência emocional (sentimentos intensos de desgosto, resultando num padrão de comportamento reativo) (26).

Com poucos critérios objetivos confiáveis para quantificá-la, é necessário escutar ativamente o doente para efetivamente avaliar a dor e a sua resposta à terapêutica. Assim, é sempre uma sensação subjetiva, é o que o doente refere e que pode ser afetado por componentes emocionais, sociais e religiosos (26). A intensidade da dor é subjetiva pois existe uma grande variabilidade na sua percepção e expressão face a uma mesma

estimulação dolorosa (25), porém necessita de avaliação quantitativa para o seu diagnóstico e acompanhamento do tratamento. A avaliação da intensidade da dor tem sido feita com recurso a escalas de dor adimensionais, como a escala de avaliação numérica, a escala de avaliação verbal ou a escala analógica visual, onde é pedido ao doente para classificar/descrever a sua dor utilizando um destes instrumentos (figura 3)(25, 28).

Alguns peritos nesta área têm vindo a propor a dor como o “quinto sinal vital” e sugerem que no ambiente hospitalar, entre 52 a 74% dos doentes internados nas enfermarias gerais e médico-cirúrgicas experimentam dor (27, 29).

Em Portugal, na sequência da Circular Normativa nº09 emitida pela Direção Geral de Saúde em 2003, o controlo eficaz da dor passou a ser um dever dos profissionais de saúde, um direito dos doentes que dela padecem e um passo fundamental para a efetiva humanização das unidades de saúde nacionais, tendo ainda sido instituída a dor como “quinto sinal vital” a registar, monitorizar e valorizar pelos profissionais de saúde (25).

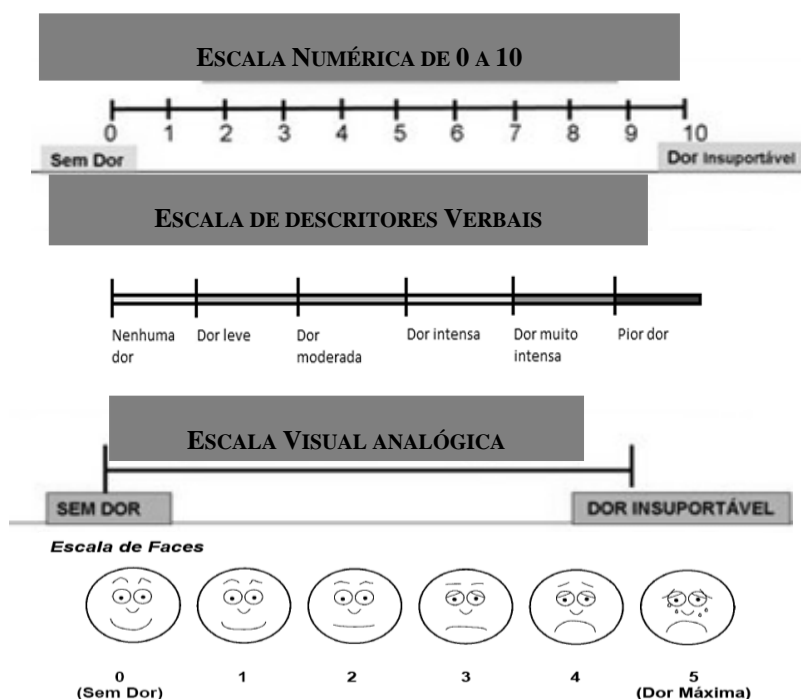


Figura 3 - Exemplos das diferentes escalas numéricas e visuais analógicas de avaliação da dor (25, 28, 30).

3.1. Classificação da dor

A dor pode ser classificada recorrendo a critérios temporais (dor aguda ou crónica), critérios topográficos (dor localizada ou generalizada, tegumentar ou visceral), critérios

fisiopatológicos (dor nociceptiva ou neuropática), de intensidade (leve, moderada ou intensa) e de acordo com a periodicidade (contínua, intermitente ou esporádica)(31, 32).

Distinguem-se normalmente, em termos temporais, dois tipos de dor: a dor aguda e a dor crónica. A dor aguda ocorre normalmente após uma lesão do corpo e habitualmente desaparece quando a mesma lesão se cura. É geralmente devida a uma causa nociceptiva, tendo um início definido com uma duração limitada e previsível. Está associada a sinais físicos objetivos da atividade do sistema nervoso autónomo. A dor aguda também pode indicar uma progressão da doença e muitas vezes é acompanhada de ansiedade (26). A dor peri-operatória – dor presente num doente cirúrgico, de qualquer idade, em regime de internamento ou ambulatório, causada por doença preexistente, devida à intervenção cirúrgica ou à conjugação de ambas – insere-se no conceito de dor aguda (32).

A dor crónica é devida à progressão da doença e raramente é acompanhada por sinais de hiperatividade simpática, o local e a intensidade podem variar ao longo do tempo. Pode ser acompanhada por mudanças significativas na personalidade, estilo de vida e capacidades funcionais bem como de sinais e sintomas de depressão (26). A dor crónica é uma das condições mais prevalentes, caras e incapacitantes, permanecendo ainda, muitas vezes, inadequadamente tratada (29). Está entre os sintomas mais importantes, em termos de prevalência, potenciais consequências e integração das melhores práticas para o controlo da dor nos cuidados a prestar aos doentes oncológicos (33). Embora o cancro seja reconhecido por englobar múltiplos sintomas físicos, assim como psicológicos e existenciais, a sintomatologia da dor é frequentemente citada como a mais crítica. A dor não controlada tem um enorme impacto a todas as dimensões na qualidade de vida e influencia profundamente a capacidade do doente de suportar o tratamento, de retomar a sua vida normal como sobrevivente de cancro ou até mesmo de conseguir uma morte pacífica e tranquila (34).

A dor neuropática surge na sequência de uma atividade somatosensorial aberrante no sistema nervoso periférico (SNP) ou no sistema nervoso central (SNC). Caracteriza-se pela ocorrência de dor pulsátil paroxística ou semelhante ao choque elétrico, frequentemente com a sensação de queimadura ou constrição (31). A dor nociceptiva resulta na ativação mecânica, térmica ou química de recetores eferentes nociceptivos, podendo ser somática (bem localizada – envolve patologias da pele, músculo e osso) ou visceral (mal localizada

– pode ser referida para regiões superficiais e envolve condições patológicas dos tecidos viscerais profundos) (31).

A percepção da intensidade da dor não é proporcional ao tipo ou à extensão da lesão tecidular mas depende das interações entre os impulsos nociceptivos e não-nociceptivos nas vias ascendentes, assim como da ativação dos sistemas descendentes inibitórios (figura 4)(26).

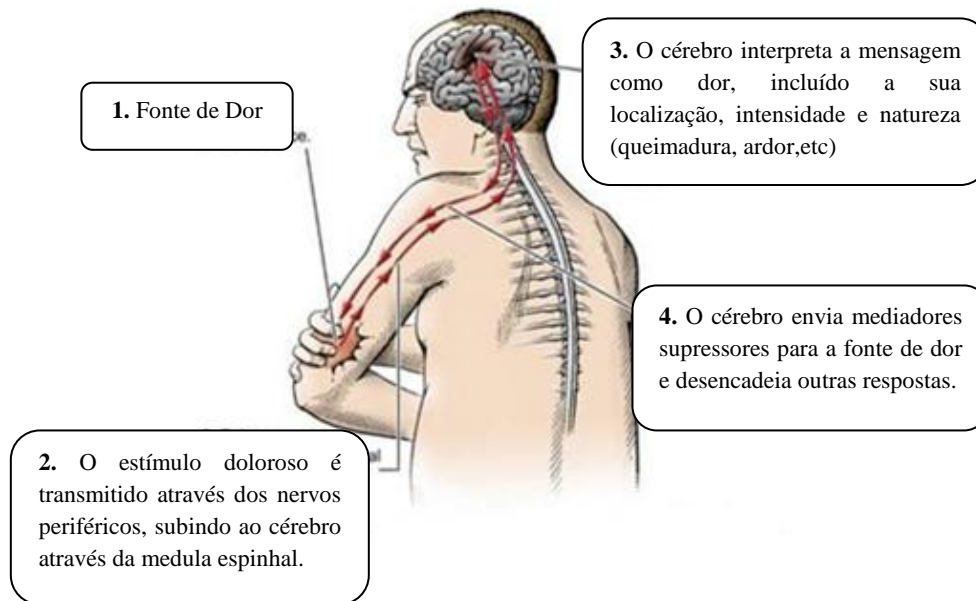


Figura 4 - Representação esquemática adaptada (35) da transmissão e processamento do estímulo doloroso.

3.2. Terapêutica da dor

A terapêutica da dor divide-se em dois grandes grupos: a farmacológica e a não farmacológica.

As técnicas não farmacológicas compreendem, entre outras, a reeducação do doente, a estimulação eléctrica transcutânea, as técnicas de relaxamento, a abordagem cognitivo-comportamental, as psicoterapias psicodinâmicas, as estratégias de redução do stress, os tratamentos pela medicina física (fisioterapia) e o exercício físico ativo e passivo. Podem também ser usadas técnicas de terapia ocupacional e técnicas de reorientação ocupacional e vocacional (32).

As técnicas farmacológicas mais conservadoras envolvem, fundamentalmente, a utilização de fármacos analgésicos e adjuvantes. Os analgésicos podem ser opióides (morfina, por exemplo) e não opióides (os anti-inflamatórios não esteróides e os antipiréticos, como o

paracetamol). Os fármacos adjuvantes, de enorme importância no controlo da dor crónica, são medicamentos que, não sendo verdadeiros analgésicos, contribuem para o alívio da dor, potenciando os analgésicos nos vários fatores que podem agravar o quadro algico. São exemplo, entre outros, os antidepressivos, os ansiolíticos, os anticonvulsivantes, os corticosteróides, os relaxantes musculares e os anti-histamínicos (32).

Existem também métodos farmacológicos invasivos, que envolvem a utilização de anestésicos locais e agentes neurolíticos para a execução de bloqueios nervosos, com a intenção de provocar interrupção da transmissão dolorosa. São também considerados invasivos os métodos de administração de opióides, anestésicos locais e corticóides, por via espinhal. Finalmente, existem também técnicas neurocirúrgicas, sendo as mais conhecidas as neurectomias, as rizotomias, as drezotomias, as simpaticectomias, as cordotomias, as mielotomias e algumas técnicas de neuroestimulação (algumas das quais realizadas por via percutânea) (32).

O controlo bem-sucedido da dor requer uma abordagem sobre o conceito de dor total do doente: física, psicológica, social, espiritual e cultural. A dor física é apenas uma causa potencial de sofrimento. Assim, o controlo da dor requer a atenção para alguns ou todos os aspetos da assistência ao doente e exige uma abordagem multidisciplinar no seu tratamento. Quando esta integração de cuidados falha aumenta a probabilidade de ocorrer dor não controlada. Cada doente tem o seu próprio limiar de dor. O sono adequado, a elevação do humor, assim como um tratamento pessoal empático e compreensivo por parte dos profissionais de saúde podem, por si só, aumentar o limiar de dor de um doente. Contrariamente a fadiga, a ansiedade, o medo, a tristeza, a depressão e o isolamento podem contribuir para diminuir o limiar de dor (26).

O controlo da dor crónica é um dos grandes desafios da investigação e prática clínica atual devido ao aumento significativo da esperança média de vida e de todas as patologias crónicas com potencial componente doloroso associado a isto. Têm-se verificado avanços no campo investigacional relativos à compreensão dos mecanismos subjacentes à dor nas suas várias vertentes. Deste modo foram feitas sistematizações na forma de se tratar esta entidade, desde graus de intensidade menores até à dor muito grave. A escala validada mais utilizada é a da organização mundial de saúde (OMS) – figura 5 em que, cada patamar se apoia no anterior, demonstrando assim a complementaridade dos mecanismos de atuação de fármacos com perfis farmacológicos diferentes.

A evolução contínua da compreensão do mecanismo algico tem vindo a revelar a existência de uma multiplicidade de mecanismos de dor que condicionam a resposta terapêutica. Os diversos mecanismos de perpetuação e aumento da sensibilidade dolorosa acentuam a necessidade de um controlo efetivo e precoce (36). A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que mais de 80% da população mundial não é adequadamente tratada no que diz respeito à dor moderada a severa e que a dor oncológica constitui um problema de saúde global. A prevalência de dor é elevada nos países em desenvolvimento devido aos atrasos nos diagnósticos e a impedimentos relativos ao acesso aos opiáceos (34).

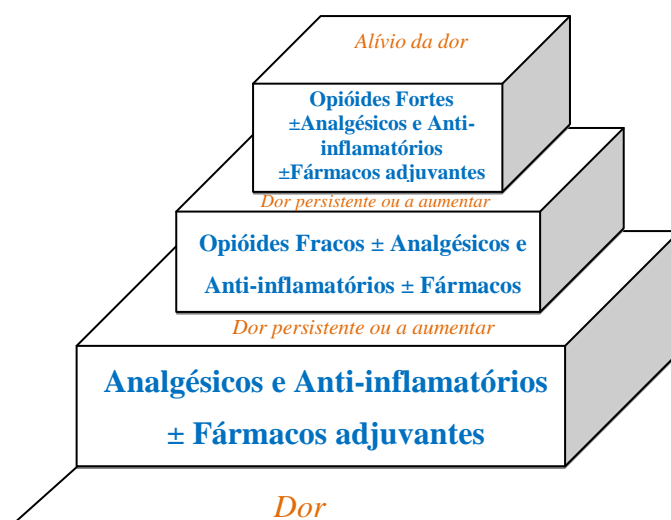


Figura 5 - Adaptação da Escalada analgésica da Organização Mundial de Saúde (27, 36).

3.2.1. Terapêutica da Dor com Recurso a Opióides

Os opióides são fármacos já consagrados para o tratamento da dor de moderada a forte intensidade (37). A farmacoterapia da dor baseada nos opióides tem vindo a ser apontada como uma das opções mais importantes desde que a OMS postulou a chamada escada analgésica (33). Em muitos países, o acesso ao tratamento com opiáceos é limitado pela regulamentação governamental que é imposta com o intuito de evitar a sua utilização indevida. Um estudo recente, realizado na Europa, identificou sérias barreiras regulamentares em alguns países, no entanto, a comunidade médica continua a defender a melhoria do acesso aos opiáceos para fins médicos legítimos, para garantir um suprimento adequado, dentro de um sistema regulatório que não desencoraje ou impeça o seu uso clínico apropriado.(33)

A utilização sistémica de opiáceos tem sido uma prática recorrente no alívio da dor em doentes terminais. Recentemente, a utilização de opióides fortes no tratamento da dor não

associada à malignidade tornou-se mais regular, no entanto, esta utilização é ainda tingida pela ansiedade relacionada com os efeitos sistêmicos dos opióides, incluindo a tolerância e o abuso (38).

O termo opióide refere-se na generalidade a todos os compostos relacionados com o ópio. A palavra “ópio” deriva do grego *opos* que significa sumo, uma vez que esta substância é derivada do sumo da papoila *Papaver somniferum*. Os opiáceos são fármacos derivados do ópio e incluem os produtos naturais (como a morfina e a codeína), assim como muitos outros semissintéticos deles derivados. Um opióide é qualquer substância que ative os recetores opióides, incluindo os opiáceos naturais e os semissintéticos. A primeira referência ao ópio remonta aos escritos de Theophrastus no século III antes de Cristo. O ópio contém mais de 20 alcalóides distintos. Em 1806, Sertörner – um farmacêutico alemão, descreveu o isolamento de uma substância pura no ópio à qual designou morfium, em homenagem a Morpheu (o Deus dos sonhos da mitologia grega). Mais tarde passou a chamar-se morfina por sugestão do químico e físico francês Gay-Lussac. Trata-se do principal alcalóide do ópio, sendo considerada o protótipo dos agonistas opiáceos (39-41). Apesar de terem vindo a surgir ao longo dos tempos novos opióides semissintéticos mais fortes, a morfina é ainda o opióide mais utilizado em todo o mundo (42).

Todos os opióides atuam através da sua interação com os recetores opióides pré e pós sinápticos no sistema nervoso central (SNC). Esta interação conduz à libertação de neurotransmissores com consequente rutura do impulso da dor. As principais respostas mediadas pelo recetor opióide são a analgesia, a sedação, a depressão respiratória, emése, diminuição da motilidade gastrointestinal, euforia e disforia. Os agonistas dos recetores opióides desencadeiam uma resposta máxima através da ligação ao recetor opióide, ao passo que os antagonistas não têm nenhuma atividade intrínseca, apenas bloqueiam a atividade dos agonistas impedindo o seu acesso ao recetor. Atualmente sabe-se que os analgésicos opióides aliviam a dor atuando a nível central num ou mais tipos de recetores: μ , δ e κ . Estes recetores localizam-se no cérebro e na medula espinhal (43). A sua ativação medeia vários efeitos farmacológicos e conduz a um espetro de atividade diferente em modelos animais. Todos os opióides em uso clínico comum atuam predominantemente através da interação com o recetor μ (41).

Durante gerações pensava-se que os opióides atuavam apenas no sistema nervoso central, produzindo analgesia através da interação com os recetores espinhais e cerebrais. Os

efeitos como a sedação, a depressão respiratória e anti-tússico estão relacionados com a interação destes fármacos com os recetores opióides a nível do sistema nervoso central. Porém, outros efeitos indesejáveis como a obstipação, náuseas e vômitos, estão associados à interação dos opióides com recetores opiáceos fora da circulação sanguínea cerebral (44).

Os agonistas opióides produzem analgesia através da ligação aos seus recetores específicos acoplados a proteínas-G, localizados essencialmente no cérebro e nas regiões da medula espinhal envolvidas na transmissão e modulação da dor. Ao nível molecular, esta interação vai afetar canais iónicos, modular a disposição do cálcio (Ca^{2+}) intracelular e alterar a fosforilação de proteínas. Assim, os opióides têm duas ações bem estabelecidas sobre os neurónios: (1) encerramento dos canais de Ca^{2+} no terminal nervoso pré-sináptico e consequente redução da libertação de neurotransmissores e (2) hiperpolarização dos neurónios pós-sinápticos inibindo-os através da abertura de canais de K^+ . A figura 6 ilustra esquematicamente a ação pré-sináptica dos três tipos de recetores e o efeito pós-sináptico sobre os neurónios nociceptivos aferentes da medula espinhal. A ação pré-sináptica – diminuição da libertação de neurotransmissores – ocorre para uma série de neurotransmissores, incluindo o glutamato (principal aminoácido excitatório libertado pelos terminais nervosos nociceptivos) assim como a acetilcolina, noradrenalina, serotonina e substância P (45).

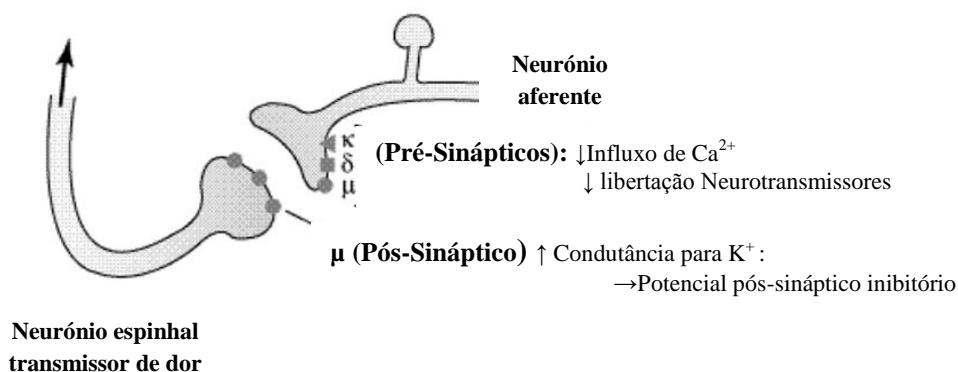


Figura 6 - Representação esquemática adaptada dos locais de atuação dos opióides na medula espinhal.

Os agonistas μ , δ e κ reduzem a libertação de neurotransmissores a partir dos terminais pré-sinápticos nos nervos primários aferentes nociceptivos. Os agonistas μ também hiperpolarizam os neurónios de transmissão da dor aumentando a condutância de K^+ , o que origina um potencial pós-sináptico inibitório. (45)

Os alcalóides opiáceos (morfina) produzem analgesia por meio de ações desencadeadas em regiões do cérebro que contém péptidos, os quais têm propriedades farmacológicas semelhantes aos opióides. O termo geral utilizado para designar estas substâncias endógenas é o de péptidos opióides endógenos, que substitui a anterior designação de endorfinas (45).

Os três principais tipos de recetores opióides estão presentes em elevadas concentrações na raiz dorsal da medula espinhal (figura 7). Os recetores estão presentes tanto nos neurónios transmissores do estímulo doloroso da medula espinhal como nos neurónios aferentes primários que lhes transportam a mensagem. Os agonistas opióides inibem a libertação de neurotransmissores excitatórios a partir destes neurónios aferentes primários e inibem diretamente os neurónios transmissores da dor na raiz dorsal da medula. Assim, os opióides exercem um poderoso efeito analgésico diretamente sobre a medula. Este efeito tem vindo a ser explorado do ponto de vista clínico, recorrendo à aplicação direta de agonistas opióides na medula espinhal para contornar os efeitos indesejáveis dos opióides quando administrados sistemicamente (45).

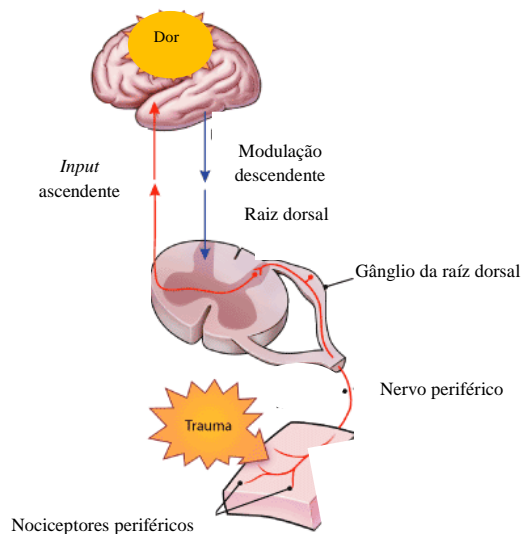


Figura 7 - Representação esquemática das vias responsáveis pela transmissão do estímulo doloroso. Adaptado de (46).

Quando administrados por via sistémica os opióides para alívio da dor, eles atuam presumivelmente no circuito cerebral normalmente regulado pelos péptidos opióides endógenos. Parte desta ação de alívio da dor pelos opióides exógenos envolve a libertação de péptidos opióides endógenos. Um opióide exógeno (ex. morfina) pode atuar diretamente no recetor μ , mas esta ação pode desencadear a libertação de opióides endógenos que adicionalmente atuam nos recetores δ e κ (45). Estudos em animais e humanos

demonstram que tanto os opióides endógenos como os exógenos podem produzir analgesia mediada por opióides em locais fora do SNC. A dor associada à inflamação parece ser especialmente sensível a esta ação opióide periférica. A identificação de recetores funcionais nos terminais periféricos suporta esta hipótese. Além disto, a ativação de recetores periféricos resulta na diminuição da atividade dos neurónios sensoriais e da libertação de neurotransmissores (45).

3.2.1.1. Morfina

A morfina é o principal constituinte farmacologicamente ativo do ópio. Trata-se de um analgésico extremamente eficaz no combate à dor oncológica. Uma vez que este é um sintoma característico da patologia oncológica, a morfina é considerada o *gold standart* neste grupo de doentes no que respeita ao controlo da dor moderada a grave (40). Atua por estimulação dos recetores opiáceos: ela é um dos agonistas exógenos preferenciais dos recetores μ e tem uma elevada afinidade para os recetores δ e κ . Este amplo espectro de afinidade da morfina, associado à distribuição dos recetores opiáceos por todo o sistema nervoso central e por muitos tecidos periféricos e à multiplicidade de funções em que estes parecem estar envolvidos, levam a que a morfina tenha uma farmacodinâmica exuberante, que serve de padrão à de todos os analgésicos de ação central (47). Em situações normais a sua principal ação periférica é sobre a musculatura lisa. No entanto, na presença de um processo inflamatório local, os recetores opiáceos periféricos, normalmente silenciosos, tornam-se ativos (48).

3.2.1.1.1. Características Físico-Químicas

A morfina é um alcalóide fenantrénico, consistindo a sua molécula em cinco anéis condensados (figura 8).

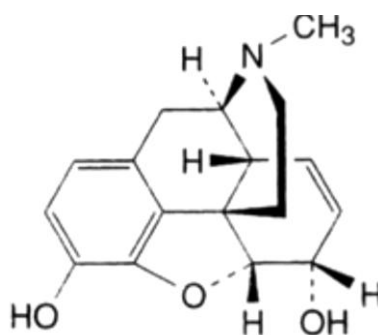


Figura 8 - Estrutura química da morfina (49).

Os grupos fenólico em C3 e álcool secundário em C6, em conjunto com o grupo amina, tornam a molécula de morfina estruturalmente rígida e quimicamente ativa. Trata-se de uma base fraca com um pKa de 7.9, sendo que a pH fisiológico 76% das moléculas se encontram na forma ionizada. Devido aos dois grupos –OH presentes em C3 e C6, a morfina é relativamente solúvel em água e pouco lipossolúvel (42).

3.2.1.1.2. Mecanismo de ação

A morfina e outros opióides exercem a sua ação analgésica através da interação específica com uma ou mais das três subclasses mais importantes de recetores opióides relacionados com o controlo antinocicetivo (μ , δ e κ). A morfina é um puro agonista opióide com afinidade principalmente para o recetor μ , e em menor grau para os recetores δ e κ (42).

Como consequências da administração da morfina podem surgir o efeito pretendido de anti-nociceção assim como os efeitos colaterais indesejados, nomeadamente a depressão respiratória, miose, euforia, sedação, diminuição da motilidade gastrointestinal, náuseas e vômitos, alterações no sistema nervoso autónomo e neuroendócrino, prurido e rubor da pele (42).

3.2.1.1.3 Farmacocinética

Em termos gerais a morfina apresenta uma baixa biodisponibilidade oral (20-30%), uma semi-vida de cerca de 2 a 3 h (horas) e um volume de distribuição de 3-5 L/Kg. A sua clearance plasmática é de aproximadamente 15-20 mL/min/Kg no adulto, sendo a sua ligação às proteínas plasmáticas da ordem dos 20-35%. Alguns trabalhos em ratos mostram que a absorção mais rápida ocorre em meio alcalino, no jejuno e no duodeno, onde a morfina se encontra principalmente na forma não ionizada. No ambiente ácido do estômago, a morfina encontra-se na forma ionizada o que dá lugar a uma fraca absorção (42).

A morfina deixa rapidamente a circulação sanguínea e localiza-se em elevadas concentrações nos tecidos com maior perfusão sanguínea: no cérebro, nos pulmões, no fígado, rins e no baço (45).

Apenas uma pequena fração da morfina absorvida após administração oral permanece na circulação sistémica. Devido ao extenso efeito de primeira passagem hepático a biodisponibilidade oral da morfina é baixa e variável (42).

O fígado é o principal local de metabolização da morfina. O metabolismo ocorre também em outros órgãos, incluindo o CNS. A glucoronização é raramente comprometida, a não ser em situações de insuficiência hepática grave, sendo a morfina bem tolerada em doentes com doença hepática ligeira a moderada (48).

Os dois metabolitos qualitativamente e quantitativamente mais importantes da morfina são a morfina-3-glucuronido (M3G 55-80%) e a morfina-6-glucuronido (M6G 10-15%) os quais são excretados pelos rins (42). A M6G liga-se aos recetores opiáceos e contribui substancialmente para os efeitos da morfina, quer os desejáveis (analgesia) quer os indesejáveis (ex. náuseas, vômitos, sedação e depressão respiratória)(48).

3.2.2.Terapêutica tópica da dor

Quando a via oral deixa de estar disponível para a administração de terapêutica para alívio da dor, surgem muitas outras vias alternativas: sublingual, bucal, retal, transdérmica, subcutânea, intramuscular, intravenosa, pulmonar, nasal, intratecal e periférica (tópica). As vias oral e transdérmica são as mais convencionalmente utilizadas no tratamento da dor crónica; as vias alternativas são apenas consideradas por razões específicas. A via de administração intramuscular é muito pouco utilizada por ser dolorosa e não fornecer nenhuma vantagem farmacológica. A via retal raramente é considerada sendo uma alternativa apenas quando a via oral não está disponível e a duração do tratamento for curta. Muitas vezes em contexto de doença avançada são utilizadas a via intravenosa ou a subcutânea (33).

O conhecimento atualmente disponível fornece o argumento científico para justificar o alívio da dor aquando da aplicação tópica de alguns agentes terapêuticos, destacando algumas classes com potencial analgésico tópico. Existem duas razões principais para a seleção da via tópica como via de administração a considerar no alívio da dor. A primeira assenta no facto de a intenção terapêutica ser uma maximização da concentração de fármaco nos tecidos-alvo específicos (fibras nervosas e recetores) com vista a maximizar o efeito terapêutico, minimizando simultaneamente a concentração do fármaco noutras áreas mais distantes (reduzindo assim os efeitos secundários). Se estes tecidos alvo possuem uma elevada concentração periférica e estão localizados, então a administração tópica poderá ser uma proposta atrativa. Em segundo lugar, os doentes gostam do conceito de aplicar uma medicação sobre o local onde sentem dor (38).

A diferença entre administração tópica e transdérmica assenta no facto de a aplicação tópica do fármaco ser feita na área dolorosa, sendo o efeito mais local do que sistémico. Por definição, formulações tópicas são aquelas que, quando aplicadas na proximidade da área afetada, exercem ação analgésica, estando associadas ao aumento da concentração no tecido alvo e à reduzida concentração sérica (50). A administração transdérmica implica a aplicação do fármaco na pele como forma de atingir uma concentração sistémica e consequentemente um efeito sistémico do fármaco. No contexto da monitorização da dor em doentes oncológicos, nos idosos ou outros doentes crónicos polimedicados, a questão dos efeitos adversos dos medicamentos e a propensão destes fármacos para interagirem uns com os outros assume particular importância. Várias opções de analgésicos tópicos têm a possibilidade de alcançar um alívio da dor pondo de parte a necessidade de considerar outras alternativas, que podem ser mais tóxicas, por via oral (38).

3.2.2.1. Terapêutica tópica da dor em feridas com recurso à morfina

A dor associada às úlceras de pressão pode ser difícil de tratar e habitualmente responde apenas de forma parcial aos convencionais analgésicos administrados por via sistémica. O método ideal para controlar a referida dor seria a cura da ferida, no entanto, este é um processo que demora um tempo considerável e que, por exemplo, no contexto dos cuidados paliativos, raramente é alcançado (51). Tem-se verificado recentemente um crescente interesse da utilização da morfina aplicada por via tópica sobre as úlceras dolorosas. A potencial vantagem desta utilização é que, produzindo um efeito analgésico local, é possível reduzir ou evitar a medicação administrada por via sistémica e consequentemente a possibilidade de ocorrência dos efeitos adversos sistémicos.

Atualmente sabe-se que todas as classes de recetores opióides se encontram nos terminais nervosos periféricos, sendo estes, em tudo semelhantes à população de recetores encontrada no sistema nervoso central. Os recetores opióides não são, em circunstâncias normais, detetáveis em tecidos normais. No entanto, podem tornar-se detetáveis dentro de minutos ou horas após o início de um processo inflamatório, na sequência do aumento da sua produção nos gânglios da raiz dorsal e posterior transporte em direção aos terminais nervosos dos neurónios primários aferentes (51). Assim, será possível a aplicação de pequenas doses de opióides para conseguir uma analgesia significativa, onde também se reduz a absorção sistémica. Como resultado, os doentes podem alcançar uma analgesia superior, necessitando de menos medicação (o que também aumenta a adesão ao

tratamento) e reduz ou elimina o risco de comorbilidades relacionadas, tais como a obstipação, a sedação, as náuseas e a lentidão cognitiva (52), efeitos sistémicos tão característicos dos analgésicos opióides, melhorando também a qualidade de vida dos doentes com úlceras dolorosas (53). Para além disto, a morfina tem mais algumas vantagens sobre outros opióides que também poderiam ser administrados por via tópica nesta situação. Destaca-se o seu baixo custo e a sua relativamente fácil acessibilidade em preparações líquidas injetáveis estéreis passíveis de incorporar numa matriz de gel (54).

Relativamente às feridas abertas podem associar-se dois tipos de dor: a dor nociceptiva a partir de uma rutura tecidual que origina a ferida e a dor neuropática que resulta do dano de um ou mais nervos periféricos no local da ferida. A avaliação da dor nas feridas implica compreender se a dor está sempre presente ou, se por outro lado, só se manifesta durante a mudança do penso ou outras atividades. Caso esteja sempre presente, então será necessário equacionar a analgesia contínua (55).

Os recetores opióides estão presentes no tecido aberto e inflamado e este facto pode ser útil no controlo local da dor moderada a grave relacionada com úlceras abertas e feridas malignas. O mecanismo de alívio da dor será através da inibição de neurónios sensoriais e pela libertação de neuropéptidos pro-inflamatórios (55).

O processamento e transmissão da dor são alcançados por uma interação complexa de vias e processos que se estendem a partir da periferia para o sistema nervoso central e novamente de volta à periferia (figura 4) (38). Os recetores μ e δ podem ser identificados em finos nervos cutâneos de alguns animais que nunca foram submetidos a opióides (38). As fibras nervosas aferentes nociceptivas contêm recetores opiáceos periféricos os quais se encontram silenciados, à exceção da ocorrência de um processo inflamatório local, situação em que se tornam ativos. Esta propriedade é bastante explorada nas cirurgias articulares nas quais a morfina é administrada por via intra-articular no final da intervenção cirúrgica. A morfina aplicada por via tópica tem também vindo a ser utilizada, com algum sucesso, no alívio da dor, intratável recorrendo a outras vias, relacionada com ulceração cutânea. Muitas vezes é administrada a 0,1% (1mg de morfina/g) na forma de um gel, utilizando um dispositivo médico frequentemente aplicado em feridas como desbridante – IntraSite®Gel. Se preparado em condições de esterilidade, demonstrou-se que o sulfato de morfina é estável durante 28 dias quando misturado com o IntraSite®Gel numa concentração de 0,125% (1,25mg de morfina /mL). Esta preparação poderá ser feita

através da mistura de 1 mL de sulfato de morfina a 10mg/mL injetável com uma bisnaga de 8 g de IntraSite® gel. Concentrações mais elevadas, nomeadamente 0,3 e 0,5% têm vindo a ser utilizadas no controlo da dor relacionada com a inflamação vaginal associada a fístula e com ulceração retal (48).

A morfina é administrada através de várias vias de administração. A absorção sistémica da aplicação tópica em úlceras ou superfícies inflamadas varia com a quantidade e concentração do gel utilizado; a biodisponibilidade varia entre valores negligenciáveis (com geles a 0,06 a 0,125% m/m) e quase os mesmos valores que na administração subcutânea (quando aplicados geles 0,125 a 0,5% m/m em úlceras de grandes dimensões)(48).

Tal como já anteriormente referido, as feridas constituem um grande desafio para os profissionais de saúde que lidam diariamente com esta situação.

Alguma bibliografia já publicada, relatando a aplicação tópica de morfina (44, 51, 52, 56), demonstra através da descrição de estudos de caso, o sucesso terapêutico desta intervenção no controlo (relativamente prolongado) da dor associada a feridas malignas e em algumas situações, também, em úlceras de pressão, com um mínimo de efeitos adversos associados (54). Ao analisar estas publicações, encontram-se diferentes posologias utilizadas para o controlo da dor, no entanto, a concentração das preparações utilizadas para esta via de administração são mais ou menos concordantes. A maioria dos estudos efetuados até à atualidade utiliza uma mistura de solução injetável de morfina (10 mg) com 8 g de IntraSite®Gel. A razão apontada para o facto de a mistura ser feita com 8 g de gel é tão-somente uma questão de comodidade da mistura, pois é esta a quantidade de gel contida numa embalagem. Esta mistura origina um gel a 0,125% (m/m) que tem sido descrita como sendo bem tolerada pelos doentes, originando períodos de analgesia de cerca de 24 horas (57, 58). A biodisponibilidade da morfina aplicada por via tópica, nesta concentração (aplicação única de 10mg/dia) foi avaliada por Ribeiro, M. e pelos seus colaboradores (54), que verificaram que a morfina e os seus metabolitos ativos não são detetados na circulação sistémica, o que sugere que esta absorção sistémica é quase inexistente. Outras publicações há em que foi utilizado um gel a 0,1% de morfina (utilizando Carbopol® 974 como agente gelificante), mas com períodos de analgesia mais curtos (quantidade de morfina aplicada de aproximadamente 1,6mg obtendo-se um período de analgesia de cerca de 7 horas)(44). Alguns autores referem que uma dose de 5mg de morfina aplicada, via tópica, sobre a pele

ulcerada, uma vez por dia, origina na maioria dos doentes um período de alívio da dor amplamente superior a 12 horas (52).

4. Formas farmacêuticas para aplicação tópica em feridas e queimaduras

A aplicação de terapêuticas por via tópica sobre as feridas é uma das áreas mais bem documentada na história da medicina (59). Em 2008 Eccleston e os seus colaboradores sistematizaram as formas farmacêuticas para aplicação tópica em feridas em dois grandes grupos: as líquidas, onde se incluem as soluções, as suspensões e emulsões; e as formas farmacêuticas semissólidas, onde estão incluídos os geles, os cremes e as pomadas (60).

A propriedade que é comum às preparações farmacêuticas semissólidas é a capacidade de adesão a uma superfície de aplicação por um período razoável de tempo antes de serem removidas por lavagem ou devido ao uso. Esta adesão deve-se ao seu comportamento reológico plástico, que permite aos semissólidos manterem a sua forma e aderir como um filme até à aplicação de uma força externa, caso em que deformam e fluem. (7)

As descrições mais antigas da utilização de preparados medicamentosos sobre feridas e queimaduras para sua resolução remontam aos documentos do antigo Egipto (61). Com o avançar do conhecimento e a compreensão dos mecanismos envolvidos nos processos de cicatrização, foram-se desenvolvendo novas formas farmacêuticas para utilização nas feridas e nas queimaduras. A utilização de materiais de revestimento artificiais sob a forma de películas, sprays, espumas e geles tem vindo a aumentar significativamente nos últimos anos (61). O aparecimento destas novas apresentações é, no entanto, sempre norteado pelas características ideais que uma preparação deve ter para ser utilizada em feridas e queimaduras: ser fácil de aplicar; bioadesividade à zona de aplicação; deve ter uma boa permeabilidade ao vapor de água; ser facilmente esterilizável; inibir a invasão bacteriana; elasticidade e elevada resistência mecânica; máxima compatibilidade com agentes terapêuticos tópicos; permeabilidade ótima ao oxigénio; ser biodegradável e finalmente não ter propriedades tóxicas nem antigénicas. (61)

Recentemente várias formas farmacêuticas têm vindo a ser desenvolvidas visando a sua aplicação sobre feridas ou queimaduras. Incluídas neste grupo encontram-se as películas/membranas de biomateriais, os geles, os sprays e as espumas e os sistemas particulados.

4.1.Membranas de biomateriais

As películas ou membranas de biomateriais são formas farmacêuticas que estão disponíveis em espessuras que variam de micrómetros (μm) a milímetros (mm) e que são preparadas por diferentes métodos utilizando um ou mais polímeros. Estas membranas constituídas por uma rede polimérica homogénea estão disponíveis no mercado e são utilizadas para tratar e proteger a área da ferida ou queimadura de fatores externos. Alguns dos polímeros utilizados na preparação destas películas são, entre outros, o poliuretano, a polivinilpirrolidona, o ácido hialurónico, o colagénio, o alginato de sódio, o quitosano e seus derivados e a poli-N-acetil-glucosamina (61).

4.2.Geles

Os geles (hidrogeles) são sistemas semissólidos formados pela combinação de um ou mais polímeros hidrofílicos. Estão entre os materiais de eleição para aplicação em feridas e queimaduras dado que têm a capacidade de absorver muito mais que o seu peso em água, atuando como revestimento e reduzindo potenciais irritações quando em contacto com os tecidos e outras estruturas semelhantes. De entre as suas vantagens no que diz respeito à aplicação em feridas e queimaduras destacam-se: a elevada bioadesão à superfície das feridas; a sua estrutura facilita a manutenção da humidade e permeabilidade ao vapor de água necessária à cicatrização da área lesada; as dificuldades que estão particularmente relacionadas com a aplicação em feridas abertas não são observadas nestas preparações, pois podem ser facilmente removidas do local de aplicação caso haja algum acontecimento adverso (61).

Os geles são sistemas semissólidos em que uma fase líquida está confinada dentro de uma matriz polimérica tridimensional (consistindo de gomas naturais ou sintéticas) em que um elevado grau de reticulação (*crosslinking*) físico-química pode estar envolvido. Os polímeros usados para preparar geles farmacêuticos incluem as gomas naturais adraganta, pectina, carrageno, agar, ácido algínico e outros materiais sintéticos e semissintéticos como a metilcelulose, a hidroxietilcelulose, a carboximetilcelulose, e os Carbopols, que são polímeros sintéticos de vinilo com grupos carboxílicos ionizáveis. Os geles são preparados por um processo de fusão ou, por um procedimento especial requerido pelas características de gelificação do polímero (agente gelificante)(7). Um dos sistemas mais versáteis, para veicular ativos, que pode ser formulado é o gel farmacêutico. Estes são excelentes veículos de substâncias ativas para várias vias de administração e são compatíveis com uma grande

variedade de substâncias diferentes (62). De acordo com a Farmacopeia Portuguesa 9.0 os geles são constituídos por líquidos gelificados com agentes gelificantes apropriados. Os geles lipófilos (oleogeles) são preparações cujo excipiente é geralmente constituído por parafina líquida adicionada de compostos polietilénicos, ou óleos gordos gelificados pela sílica coloidal ou sabões de alumínio ou de zinco. Os geles hidrófilos (hidrogeles) são preparações cujos excipientes são habitualmente a água, a glicerina e o propilenoglicol gelificados com agentes gelificantes apropriados, como os poloxâmeros, amido, os derivados da celulose, os carbómeros ou os silicatos de magnésio-alumínio. (49) Trata-se de sistemas semirrígidos nos quais o movimento do meio dispersante se encontra restrito pelo entrelaçamento tridimensional entre as partículas ou macromoléculas solvatadas da fase dispersa. O aumento da viscosidade causado pelo entrelaçamento e consequente fricção interna é responsável pelo estado semissólido. Um gel pode consistir em cadeias de macromoléculas emaranhadas e torcidas sobre si próprias e interligadas por forças de Van der Waals para formar regiões amorfas e cristalinas ao longo do sistema (exemplo: goma tragacanta e carboximetilcelulose) (62).

Alguns sistemas na forma de gel têm um aspeto claro como a água no que diz respeito à aparência, outros são turvos porque os seus ingredientes podem não estar completamente dispersos, do ponto de vista molecular, ou podem formar agregados os quais dispersão a luz. A concentração dos agentes gelificantes é habitualmente menos de 10%, estando habitualmente compreendida entre os 0,5 e os 2% (62). Para ser galenicamente mais atrativo, um gel deve ter clareza e brilho. A maioria dos geles atua como bases de absorção, são laváveis com água, solúveis em água e isentos de gordura. Os geles devem manter a sua viscosidade e os seus caracteres numa vasta gama de temperaturas.(62)

Os hidrogeles são redes tridimensionais de polímeros hidrófilos. Podem ser preparados a partir de materiais sintéticos ou semissintéticos ou pela combinação dos dois. Os hidrogeles retêm diferentes percentagens de água mas são eles próprios insolúveis. Por este motivo mantêm-se à superfície da ferida e não se dissolvem. São apropriados para o tratamento de feridas com pouca produção de exsudado, estando a sua utilização contraindicada em feridas infetadas, com produção massiva de escudado e em úlceras de origem arterial. As suas vantagens incluem a minimização da dor aquando da sua aplicação e o facto de poderem permanecer na ferida até estar completo o processo de cicatrização, o que também só é possível pelo facto de serem translúcidos (63).

Os geles têm vindo a ser apontados na literatura (60, 61, 64) como ferramentas de excelência na terapêutica das feridas pois as suas características são vantajosas do ponto de vista da cicatrização. Os hidrogéis atrasam, por si só a evaporação de água do leito da ferida, mantendo esta área húmida durante mais tempo, o que proporciona as condições ótimas para a cicatrização. Alguns autores descrevem também como vantagem dos hidrogéis, para além do efeito hidratante, a sua semi-permeabilidade e semi-oclusão, o facto de proporcionarem o desbridamento autolítico (amolecendo e removendo o tecido desvitalizado) do leito da ferida, e ainda a sua modesta capacidade de absorver exsudado. Para além disto, não são irritantes, o que é essencial pois facilita o processo de limpeza ao serem facilmente removidos, possibilitando ainda o abaixamento da temperatura da ferida (65). Habitualmente são aplicados após a limpeza do leito da ferida, sendo espalhados ou introduzidos na cavidade da ferida e são posteriormente cobertos por uma estrutura secundária estéril (66).

Nas feridas com grande formação de exsudado, as formas semissólidas (geles ou cremes) podem não ser boas alternativas pois ao incorporarem água perdem as suas características reológicas e tornam-se móveis (60).

4.3.Sprays e espumas

Os sprays são formas farmacêuticas que contêm um ou mais polímeros dispersos num solvente e que quando aplicados formam um filme na superfície da ferida ou queimadura onde atuam. No mercado dos dispositivos médicos destinados à aplicação em feridas existem alguns sprays que são preparados com poli-hidroxietilmetacrilato (polímero) e polietilenoglicol (como solvente). Quando aplicados sobre a superfície lesada formam uma fina camada transparente. Os materiais de embalagem devem ser adequados e fáceis de manusear, tornando possível a sua utilização em áreas lesadas que de outra forma não seriam acessíveis ou onde a utilização de um penso se torna complicada (61).

As espumas de poliuretano são outra das alternativas disponíveis para o tratamento de feridas. As suas características possibilitam-lhes a absorção de sangue e exsudado, prevenindo simultaneamente a desidratação do leito da ferida (61).

4.4.Sistemas particulados

As grandes vantagens dos sistemas particulados assentam no facto de estes, quando aplicados localmente em feridas abertas, facilmente possibilitarem a permeabilidade ao

vapor de água e oxigénio, proporcionando ainda grandes superfícies de contacto e elevada bioadesividade devido às estruturas multiparticuladas. Estes sistemas permitem também a libertação controlada de substâncias ativas na área da ferida, o que também poderá contribuir para aumentar a velocidade de cicatrização (61).

5.Esterilidade: um requisito a ter em conta na formulação para feridas

Tal como foi referido anteriormente, a pele constitui a primeira linha de barreira protetora do corpo humano face ao meio exterior. Quando há uma ferida verifica-se uma disrupção da estrutura fisiológica da pele, estando reunidas todas as condições para a entrada de microrganismos no corpo humano. Assim, todos os medicamentos e ou dispositivos médicos que contactem diretamente com o leito das feridas devem ter assegurada a sua esterilidade. Assim, e de acordo com a Farmacopeia Portuguesa (FP) 9.0, “as preparações semissólidas cutâneas destinadas a serem aplicadas em pele gravemente lesada são estéreis” (49). Esterilidade é a ausência de microrganismos vivos (49). É essencial estudar o efeito do método de esterilização escolhido sobre o produto (incluindo o recipiente ou a embalagem final) do ponto de vista da eficácia e da manutenção da sua integridade (49). As preparações estéreis são obtidas a partir de produtos e por métodos apropriados para assegurar a esterilidade e impedir a invasão por contaminantes e o crescimento de microrganismos. Sempre que possível, é conveniente escolher um processo que permita a esterilização do produto na embalagem definitiva (esterilização final). A FP 9.0 descreve como métodos para a esterilização final a esterilização pelo vapor (em autoclave), a esterilização pelo calor seco, a esterilização por radiações ionizantes e a esterilização por gases. No entanto, se a esterilização final não for possível, convém recorrer à filtração usando um filtro que retenha bactérias, ou à técnica asséptica. Em todos os casos o recipiente e o sistema de fecho mantêm a esterilidade do produto durante todo o tempo de validade (49).

OBJETIVO

Não obstante a industrialização generalizada, os medicamentos preparados em pequena escala nas farmácias comunitárias e hospitalares - medicamentos manipulados - têm vindo a assumir uma importância crescente na terapêutica. Existem inúmeras situações específicas, cujo âmbito tem vindo a alargar-se, para as quais os medicamentos manipulados são imprescindíveis (67). Nestas situações, a prescrição e preparação de fórmulas magistrais permite obter medicamentos adaptados às necessidades específicas de cada doente (68). Este facto faz com que o farmacêutico hospitalar seja constantemente chamado a dar resposta a necessidades específicas de alguns doentes e serviços clínicos tendo de recorrer à alteração e adaptação de formulações já existentes de forma a adequar dosagens e/ou formas farmacêuticas.

Os cuidados prestados ao doente oncológico, assim como os paliativos, são abordagens terapêuticas interdisciplinares que incidem sobre a gestão integrada das necessidades físicas, psicológicas, sociais e espirituais dos doentes com patologias graves ou terminais e as suas famílias, onde o controlo da dor assume uma posição muito relevante (33). Independentemente da síndrome clínica que incorpora, a dor pode e deve ser tratada, com perspectivas de êxito proporcionais ao entendimento que dela temos e fazemos, à adequação e preparação científica dos serviços e profissionais de saúde envolvidos e ao manejo judicioso de todos os recursos, técnicos e humanos, disponíveis (32). O farmacêutico hospitalar como membro integrado na equipa multidisciplinar de abordagem à dor associada a situações particulares e tão especiais como são as feridas no doente oncológico, independentemente da sua etiologia, poderá, através da manipulação galénica, contribuir para alcançar alternativas seguras, eficazes e de qualidade no alívio da dor relacionada com feridas.

Deste modo, a presente tese teve por objetivo a obtenção de duas fórmulas galénicas, para aplicação tópica em feridas dolorosas, contendo cloridrato de morfina, estáveis do ponto de vista físico-químico e microbiológico para tratamento da dor e possíveis de preparar recorrendo às condições e infraestruturas disponíveis numa Farmácia Hospitalar. Para além de um gel com as características de viscosidade habituais pretendeu-se também desenvolver uma fórmula alternativa, com menor viscosidade, passível de aplicação por pulverização através de um doseador apropriado.

Outro objetivo traçado para este trabalho foi o estudo do desempenho das duas formulações no que diz respeito à cedência da substância ativa e ainda a determinação de uma concentração adequada, em substância ativa, no que se refere à formulação mais fluida destinada à aplicação por pulverização dado que na bibliografia atualmente disponível são escassos os dados relativos a este aspeto.

Este trabalho surge na sequência de uma necessidade específica da Clínica da dor do Instituto Português de Oncologia de Lisboa- Francisco Gentil, E.P.E que solicitou ao Serviço Farmacêutico a preparação de uma forma farmacêutica contendo cloridrato de morfina para aplicação tópica em feridas com dor associada e difícil de controlar recorrendo à utilização de analgésicos pelas convencionais vias de administração. Assim, para além dos objetivos académicos, o presente trabalho procura responder a uma necessidade real de alívio da dor associada a feridas de etiologias diversas, mas fundamentalmente nas feridas malignas (de origem oncológica), pois atualmente não existe no mercado nenhuma especialidade farmacêutica com estas características.

Apesar de já estarem publicados alguns trabalhos decorrentes da utilização de morfina por via tópica em feridas (51, 53, 54, 58), utilizando como base um dispositivo médico – IntraSite® Gel - nenhum destes trabalhos apresenta estudada uma técnica de preparação validada que garanta a esterilidade do produto final, o que constitui uma lacuna dado que nas feridas se encontra comprometida a barreira cutânea. Outro aspeto que importa destacar é a falta de dados na bibliografia publicada (69) relativos à estabilidade físico-química e microbiológica destas preparações, que também foi contemplada neste trabalho. Além disto, toda a bibliografia publicada até à data assenta no estudo de preparações feitas a partir de sulfato de morfina injetável, sendo também uma inovação deste trabalho a utilização da morfina na forma de cloridrato uma vez que é esta a apresentação mais facilmente acessível para administração injetável no mercado farmacêutico português.

PARTE II – DESENVOLVIMENTO GALÉNICO

CAPÍTULO 1 - DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

Neste capítulo serão descritas as diferentes etapas relativas à obtenção de duas formulações com diferentes consistências, ambas contendo cloridrato de morfina para aplicação tópica em feridas dolorosas. Numa primeira fase será descrito o desenvolvimento de um gel mais viscoso e consistente, cuja composição foi posteriormente alterada e otimizada, com vista à obtenção de uma fórmula alternativa para aplicação por pulverização cutânea com um doseador.

1.Introdução

Os hidrogéis são em geral biocompatíveis e utilizados em diversas aplicações biomédicas, por exemplo, em próteses, lentes de contacto e no tratamento de feridas (70). Assim, tendo em conta que todas as preparações ou dispositivos cuja utilização se destina à aplicação em feridas devem ter assegurada a sua esterilidade, também o desenvolvimento galénico destas formulações foi assim idealizado. Ou seja, a técnica de preparação foi desenhada para garantir a esterilidade do produto final o que, logo à partida, condicionou não só a escolha dos excipientes a utilizar no desenvolvimento galénico, como também a metodologia a utilizar durante todo o processo de preparação para obtenção de um produto final estéril, não perdendo de vista as condições e infraestruturas disponíveis.

1.1.Escolha dos excipientes

Uma vez que se pretendia uma formulação simples cuja metodologia de fabrico se adaptasse facilmente à produção em pequena escala, no âmbito da preparação de medicamentos manipulados em farmácia hospitalar, tentou-se sempre obter uma fórmula simples e minimalista mas estável, segura e efetiva no tratamento da dor e que proporcionasse à ferida as melhores condições para a cicatrização.

1.1.1.Solvente

Dado que se pretendia formular um hidrogel, a primeira decisão a tomar, antes mesmo da escolha do polímero e respetiva concentração, foi o solvente a utilizar como base do hidrogel. As soluções salinas têm sido recomendadas para a limpeza e tratamento de feridas em detrimento da água por serem isotónicas, não interferindo assim com o normal processo de cicatrização. No entanto, a água é também utilizada para este fim uma vez que

é uma opção mais barata e acessível (71). Este assunto levou à elaboração de uma revisão sistemática (72) onde foi analisada a utilização da água e de solução salina (soro fisiológico) no tratamento de feridas. Os autores deste trabalho concluíram que não houve alteração estatisticamente significativa na cicatrização quando comparada a utilização de água com a utilização de soro fisiológico no tratamento/limpeza de feridas (71, 72). Esta conclusão serviu de base à escolha do solvente a utilizar na base do gel, ou seja, optou-se pela utilização de água, não só porque neste estudo demonstrou superioridade em alguns casos face à solução salina, mas também por ser uma opção mais económica e cuja utilização em hidrogeles para aplicação em feridas se encontra extensamente descrita (62, 63). Dado que o produto final deveria ser estéril, optou-se por utilizar em todo o desenvolvimento galénico água esterilizada para preparações injetáveis, isto porque, de acordo com as orientações da FP 9.0 (5.1.1) as precauções a tomar para limitar a carga microbiana antes da esterilização incluem a utilização de compostos que apresentem um nível suficientemente baixo de contaminação microbiana (49).

1.1.2. Polímeros

A escolha dos excipientes foi feita tendo por base as matérias-primas já disponíveis na Farmácia hospitalar do IPOL a fim de evitar a aquisição de novos produtos. Assim, com base nas matérias-primas disponíveis e na pesquisa bibliográfica previamente efetuada acerca da sua utilização em formulações para aplicação em feridas, selecionaram-se 3 polímeros (agentes gelificantes) para iniciar os estudos preliminares. Os polímeros selecionados foram a hidroxietilcelulose (HEC), a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e a carboximetilcelulose sódica (NaCMC), que segundo alguns autores (59), são dos derivados da celulose mais importantes e bem estudados na preparação de hidrogeles para aplicação tópica.

A HEC origina geles galenicamente muito atrativos, no entanto, são poucas as referências bibliográficas disponíveis acerca da sua aplicação em feridas (73). A HPMC é um polímero biocompatível, não tóxico e que pela sua inocuidade é muito utilizado na preparação de colírios e cuja utilização como polímero base de hidrogeles para utilização em feridas também tem sido muito estudada (74, 75).

No que diz respeito à NaCMC há uma vasta referência na bibliografia relativa à sua utilização sobre feridas, sendo que parece favorecer o processo de cicatrização (76).

A seleção prévia destes polímeros também foi feita tendo em conta os intervalos de pH a que os geles resultantes de cada polímero são mais estáveis e a possibilidade de esterilização por autoclavagem sem grandes alterações de viscosidade. Considerando que a formulação a desenvolver se pretendia com um carácter tendencialmente ácido (que favorece a cicatrização) e que o valor de pH final da formulação deveria ficar abaixo do pKa do cloridrato de morfina, selecionaram-se estes três polímeros por se enquadrarem nas características pretendidas.

1.1.3. Humectante

A glicerina, o propilenoglicol, o sorbitol a 70% e os polietilenoglicóis de baixo peso molecular são usados como humectantes. A escolha do humectante é baseada não apenas na velocidade de troca de humidade, mas também no seu efeito na textura e viscosidade da preparação. Estes materiais evitam que a preparação seque e que haja a formação de uma crosta à superfície quando acondicionados em boião. Além disto, também melhoram a consistência e a aplicação da formulação na pele, permitindo uma melhor espalhabilidade. O aumento do conteúdo de humectante tende a tornar a formulação mais pegajosa. O sorbitol a 70% é mais higroscópico que a glicerina e é usado em baixas concentrações, geralmente 3%, comparativamente com os 10% utilizados para a glicerina, cuja capacidade de absorção de humidade também é maior (7). A glicerina é usada numa grande variedade de formulações farmacêuticas incluindo orais, oftalmológicas, tópicas e parentéricas. Nas formulações tópicas e de cosméticos, é utilizada principalmente pelas suas propriedades humectantes e emolientes, pelo que, é possível encontrar na bibliografia várias formulações de geles para aplicação em feridas contendo este excipiente em baixas concentrações (2-5%), desempenhando a função de agente humectante (62, 65). Assim, a escolha deste excipiente baseia-se nas vantagens que pode trazer às características finais da preparação, permitindo-lhe uma melhor adesão ao leito da ferida, ao mesmo tempo que mantém a humidade na preparação e no ambiente de cicatrização. Apesar de também se encontrar disponível o propilenoglicol, optou-se por utilizar a glicerina uma vez que as propriedades humectantes do propilenoglicol em formas semissólidas estão descritas para concentrações mais elevadas ($\approx 15\%$) que as da glicerina (77).

1.1.4. Escolha do Conservante

A contaminação microbiológica de produtos farmacêuticos é um processo extremamente estudado pois pode resultar na deterioração do medicamento devido à perda de atividade da substância ativa ou até mesmo no desencadear de uma infecção no utente (78).

As formas farmacêuticas estéreis, sejam elas multidose ou unidose, requerem a adição de conservantes antimicrobianos quando produzidas em condições assépticas a partir de matérias-primas previamente esterilizadas. Nos produtos que são submetidos a um processo de esterilização terminal, apenas os multidose necessitam da adição de um conservante. O conservante deve ser estável na formulação durante o prazo de validade do medicamento e ainda ser capaz de evitar a contaminação do mesmo aquando do seu manuseamento pelo utilizador (armazenamento incorreto e/ou contaminação durante o uso) (78).

Na escolha de um conservante devem ser tidos em conta aspetos como a capacidade antimicrobiana (espectro de ação e capacidade bactericida e fungicida), assim como os restantes componentes da formulação e o seu pH. Um conservante antimicrobiano ideal deve ter um amplo espectro de atividade, ter eficácia numa ampla gama de pH, ser estável, solúvel, ter boas características organolépticas (odor imperceptível, sem cor, cheiro ou sabor), não deve ser volátil nem tóxico e deve ter um perfil de incompatibilidades mínimo (78).

A NaCMC origina geles com pH acima de 5, logo alguns dos conservantes mais frequentemente utilizados como o ácido benzoico/benzoato de sódio e o ácido sórbico/sorbato de potássio, que necessitam de valores de pH inferiores a 5 para um máximo desempenho como conservantes antimicrobianos, ficam logo à partida excluídos (79). Como macromolécula aniónica, a NaCMC apresenta incompatibilidades com os sais de amónio quaternário (cloretos de benzalcónio e benzetónio) assim como com os ácidos e sais de algumas bases fracas (77). Embora seja compatível com um intervalo alargado de pH (2 a 10), as suas soluções são mais estáveis no intervalo de pH de 5 a 10, exibindo um máximo de viscosidade entre 7 e 9 (79).

De entre os conservantes disponíveis, selecionaram-se a clorohexidina, o metilparabeno, o propilparabeno, e o cloreto de benzalcónio, para testar a compatibilidade com a base de gel formulada e as respetivas características das preparações obtidas.

A clorhexidina está acessível na forma de cloridrato, acetato ou di-gluconato de clorhexidina (77). Estes sais são muito utilizados na formulação de preparações farmacêuticas pelas suas propriedades antimicrobianas. Embora sejam maioritariamente utilizados como desinfetantes, podem também ser utilizados como conservantes antimicrobianos. Para este efeito são habitualmente usados os sais acetato e/ou di-gluconato em concentrações de 0,01% m/v, tal como descrito em algumas formulações de gotas oculares (77). A sua utilização em feridas encontra-se documentada (80), sendo a sua atividade ótima no intervalo de pH compreendido entre 5 e 7, podendo precipitar acima de 8. Apresenta atividade para microrganismos Gram positivos e Gram negativos e para fungos, embora menos eficaz. Deve ser protegida da luz e a sua eficácia não parece ser alterada pela esterilização por autoclavagem (77).

O cloreto de benzalcónio é um composto de amónio quaternário muito utilizado como conservante antimicrobiano em formulações farmacêuticas. Trata-se de um conservante de eleição nas preparações oftálmicas, o que deixa prever a sua segurança, em concentrações de 0,01 a 0,02% m/v. A sua utilização encontra-se também descrita em preparações para aplicação na mucosa nasal (0,002 – 0,02% m/v) e em cosméticos. A sua ação antimicrobiana apresenta um largo espetro sobre bactérias, fungos e leveduras. No que diz respeito a incompatibilidades, encontra-se contraindicada a sua utilização em preparações com hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e metilcelulose (77), no caso da NaCMC como está descrita apenas uma potencial incompatibilidade, também se optou por utilizar este conservante para estudar este facto. É ativo em valores de pH entre 4 e 10, aumentado a sua atividade com o aumento do pH. Pode ser esterilizado por autoclavagem sem perda de eficácia. Apesar de não se terem encontrado na bibliografia referências à utilização deste conservante em preparações para aplicação tópica em feridas, de entre as características descritas encontra-se o facto de não ser irritante e de ser muito utilizado em oftalmologia, o que faz com que se possa prever uma boa tolerância quando aplicado em feridas dado que está descrito como sendo bem tolerado quando aplicado na pele e em membranas mucosas (77).

Os ésteres do ácido *p*-hidroxibenzóico são compostos com actividade antimicrobiana, frequentemente usados como agentes conservantes de medicamentos, cosméticos e produtos alimentares (77). Estes compostos, conhecidos pelas designações genéricas de *parabenos* ou *nipas*, incluem vários ésteres, como o metilparabeno (MP, Nipagin M), o etilparabeno (Nipagin A), o propilparabeno (PP, Nipazol M), o butilparabeno e o

benzilparabeno (81). A solubilidade na água diminui à medida que aumenta o peso molecular dos compostos. A associação de dois ésteres do ácido p-hidroxibenzóico, como o MP e o PP, proporciona um efeito antimicrobiano mais acentuado (79). Os parabenos são mais ativos contra fungos e leveduras do que contra bactérias. São mais efetivos contra bactérias Gram positivas do que para Gram negativas (77).

A utilização de parabenos em formulações para uso tópico em feridas também se encontra descrita na bibliografia (65). Apesar de estar descrita a sua utilização numa série de formas farmacêuticas (orais, tópicas, retais, vaginais, uretrais, oftálmicas, nasais, para inalação, para irrigação ou parentéricas), embora não seja comum, os parabenos podem causar reações de hipersensibilidade, na maioria dos casos dermatite de contacto a longo-prazo. A irritação também tem sido notificada em alguns casos de aplicação parentérica e oftálmica (79). Por este motivo, neste trabalho tentou-se que a concentração de parabenos fosse a menor possível com vista a evitar eventuais reações de hipersensibilidade.

O MP é mais efetivo em solução, no intervalo de pH entre 4 e 8; a sua eficácia diminui a valores de pH elevados. Em solução aquosa pode ser submetido a esterilização em autoclave, sendo estável em solução aquosa a valores de pH entre 3 e 6, durante 4 anos à temperatura ambiente. O MP é incompatível com tensioativos não iónicos (a sua atividade é reduzida), bentonite, talco, goma tragacanta, alginato de sódio, óleos essenciais, sorbitol e atropina (62).

O PP também é mais efetivo em solução a valores de pH entre 4 e 8; a sua eficácia diminui a valores de pH elevados. Também pode ser submetido a esterilização em autoclave, sem decomposição, em solução aquosa a pH entre 3 e 6; as soluções nesta gama de pH são estáveis por períodos de tempo superiores a 4 anos (62). Encontra-se igualmente descrita a absorção dos parabenos pelos plásticos dos recipientes, dependendo a quantidade absorvida do tipo de plástico e do veículo utilizado (62, 77).

As concentrações destes agentes conservantes nos medicamentos são muito baixas, atingindo, no máximo 0,25% (habitualmente 0,05-0,25% para o MP e 0,02 a 0,04% para o PP (79), o que implica a pesagem de quantidades muito reduzidas, em particular quando se trabalha em pequena escala. Nestas circunstâncias, afigura-se vantajosa a existência de soluções de parabenos com concentração conhecida, que possibilitam, através de uma simples medição de volumes, a inclusão de pequenas quantidades de parabenos na composição dos medicamentos. Com esta finalidade, estão descritas várias soluções

concentradas, geralmente constituídas por MP e PP, dissolvidos em água ou em propilenoglicol (81). O próprio propilenoglicol também apresenta propriedades antimicrobianas, atuando sinergicamente com os parabenos (79). A associação de 0,18% de MP com 0,02% de PP é frequente e bastante utilizada em preparações parentéricas (79). Assim, neste trabalho optou-se por se utilizar, numa primeira fase, uma mistura de 0,1% de MP com 0,01% de PP tentando solubilizar a quente os parabenos na glicerina.

2. Materiais

2.1. Amostras de hidrogeles comerciais

Para este estudo utilizaram-se duas amostras diferentes de hidrogeles comercializados para aplicação no tratamento de feridas, uma das quais descrita na bibliografia publicada sobre a utilização tópica de morfina em feridas (IntraSite®Gel). A descrição destas duas amostras encontra-se resumida na tabela 1.

Tabela 1 - Resumo das características de duas amostras de hidrogeles disponíveis no mercado para utilização no tratamento de feridas.

Varihesive® Hidrogel	IntraSite® Gel
Lote: 1K01271 – Embalagem de 10g. Prazo Validade:10-2014 Convatec® Produto esterilizado em autoclave. Composição: hidrocolóides (pectina, carboximetilcelulose sódica) num veículo transparente e viscoso.	Lote: 114253 – Embalagem de 8 g. Prazo Validade:10-2014 Smith&nephew® Produto esterilizado por vapor. Composição: polímero modificado de carboximetilcelulose, propilenoglicol e água.

2.2. Substância ativa

As características da substância ativa e da solução injetável de cloridrato de morfina utilizada neste trabalho, como fonte da substância ativa, estão descritas nas tabelas 2 e 3. Para minimizar o desperdício de solução injetável de fármaco e pela natureza da substância em questão (estupefaciente), utilizou-se água esterilizada para preparações injetáveis (APPI) com o objetivo de mimetizar a incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina nos geles em estudo. As características da APPI utilizada encontram-se descritas na tabela 8.

Tabela 2 – Resumo das características da substância ativa.

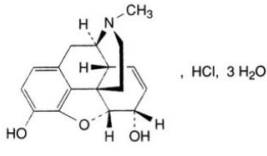
Designação química	Cloridrato de 4,5-epoxi-17-metil-7-morfineno-3,6-diol. (49)
Fórmula empírica	$C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$ (49)
Peso molecular	$375.8 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (49)
Estrutura molecular	
CAS nº	[52-26-6] (forma anidra) [6055-06-7] (forma tri-hidratada) (82)
Descrição	Pó cristalino incolor ou branco ou quase branco ou agulhas incolores e sedosas, ou massas cúbicas, eflorescentes em atmosfera seca (49, 82).
Solubilidade	Solúvel na água, pouco solúvel no etanol a 96 por cento e praticamente insolúvel no tolueno (49).
Conservação e Estabilidade	Deve ser conservada em recipiente bem fechado e ao abrigo da luz. Acima dos 100°C perde a água de cristalização e adquire uma coloração amarela (49, 82, 83).
Impurezas	-Codeína; -Pseudomorfina; -Oripavina; -10 <i>R</i> -hidromorfina; -Morfinona (49).
pH em Sol. Aquosa	±5.0 (82)
Constante de Dissociação (pKa)	6.5 (82)
Ponto de fusão	200°C (com decomposição)

Tabela 3 - Características da formulação de cloridrato de morfina utilizada como matéria-prima no desenvolvimento galénico.

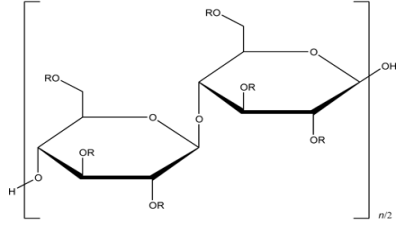
Matéria-prima	Descrição de acordo com o R.C.M. (84)
Cloridrato de morfina	<p>Morfina FHC ® 20mg/mL solução injetável Registo nº5030820 no INFARMED Lote: 0104 ; Prazo Validade: 10/2012 Laboratório: FHC Farmacêutica, Lda. Cada ampola de 10 mL contém:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Morfina (cloridrato tri-hidratado) 200 mg. • Excipientes: Cloreto de sódio e água para preparações injetáveis. <p>Conservação: Conservar na embalagem de origem. Proteger da Luz Aspeto: Ampolas de vidro tipo I contendo uma solução aquosa límpida de coloração ligeiramente amarelada. Massa volúmica: (20°C) 1.006-1.010 g/mL; pH (25°C): 4.8 [Especificação Ph.Eur (2.2.3): 3.0-6.0] Classificação Estupefaciente: Tabela I-A Classificação ATC: N02AA01 MORPHINE Classificação Farmacoterapêutica: Analgésicos estupefacientes (2.12)</p>

A substância ativa utilizada para preparação dos geles em desenvolvimento e nos ensaios preliminares foi obtida através das ampolas de solução injetável de cloridrato de morfina a 2%, acima descritas, que foram descondicionadas ao abrigo da alínea a) do nº 3 do artigo 4º do Decreto-Lei 95/2004 de 22 de Abril. A utilização da substância ativa a partir de uma especialidade farmacêutica prende-se, não só com as dificuldades relativas à aquisição do pó de cloridrato de morfina, por se tratar de um estupefaciente, mas também pelo facto de a solução injetável obedecer a apertados critérios de qualidade do ponto de vista microbiológico. Este aspeto é de todo desejável já que o produto final deste desenvolvimento também se pretendia estéril para aplicação em feridas. Estas ampolas foram gentilmente cedidas pelo Serviço Farmacêutico do Instituto Português de Oncologia de Lisboa- Francisco Gentil, E.P.E.

2.3.Excipientes

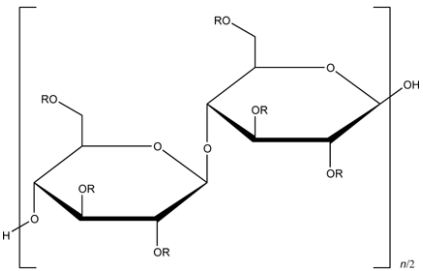
- Hidroxietilcelulose (HEC).

Tabela 4 - Resumo das características da hidroxietilcelulose.

<p>Definição e estrutura</p>	<p>A hidroxietilcelulose é uma celulose parcialmente <i>O</i>-(2-hidroxietilada) (49).</p>  <p>R= H, ou $[-CH_2CH_2O-]_m H$, sendo <i>m</i> um número integral comum de derivados da celulose (77).</p>
<p>Denominação química</p>	<p>2-hidroxietiléter, celulose. (HEC)</p>
<p>Características</p>	<p>Aspetto: pó ou grânulos brancos, branco-amarelados ou cinzento-esbranquiçados (49). Solubilidade: solúvel na água quente e na água fria, dando uma solução coloidal, praticamente insolúvel na acetona, no etanol a 96 por cento e no tolueno (49).</p>
<p>Estabilidade e Conservação</p>	<p>As soluções aquosas de hidroxietilcelulose são relativamente estáveis entre valores de pH de 2 a 12, sem alterações significativas da viscosidade, no entanto, tornam-se menos estáveis para valores de pH abaixo de 5 (77). O aumento da temperatura induz uma redução na viscosidade destas preparações, no entanto, esta é restabelecida mediante arrefecimento. Para armazenamento prolongado é aconselhada a inclusão de um conservante antimicrobiano nas soluções aquosas (77). As soluções de hidroxietilcelulose podem também ser esterilizadas por autoclavagem (77).</p>
<p>Segurança</p>	<p>A hidroxietilcelulose é utilizada em preparações tópicas e oftálmicas, tratando-se de um material não tóxico e não irritante. Não é recomendada a sua utilização em preparações parentéricas (77).</p>
<p>Funções</p>	<p>Polímero hidrossolúvel, não-iônico amplamente utilizado na indústria de formulações tópicas e de cosméticos. Encontra-se disponível em diferentes tipos e viscosidades, funcionando como agente gelificante, espessante e suspensor (77).</p>
<p>Lote e Fornecedor</p>	<p>Fagron ; Viscosidade: 240mPa.s Lote: L10050095;</p>

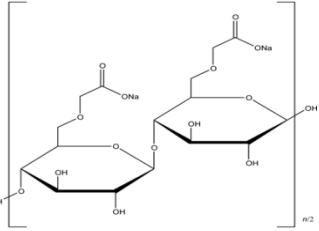
- Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

Tabela 5 - Resumo das características da Hidroxipropilmetilcelulose.

Definição e estrutura	<p>Celulose parcialmente <i>O</i>-metilada e <i>O</i>-(2-hidroxipropilada) (49).</p>  <p>R= H, CH₃, ou CH₂CH(OH)CH₃ (77).</p>
Denominação química	Hidroxipropilmetil éter, celulose (HPMC)
Características	<p>Aspeto: pó ou grânulos branco, branco-amarelados ou branco-acinzentados, higroscópicos após secagem (49).</p> <p>Solubilidade: praticamente insolúvel na água quente, na acetona, no etanol anidro e no tolueno. Dissolve-se na água fria, formando uma solução coloidal (49).</p> <p>Incompatibilidades: alguns agentes oxidantes (77).</p>
Estabilidade e Conservação	<p>Por ser muito higroscópica deve ser armazenada num recipiente bem fechado. As soluções aquosas são estáveis no intervalo de pH de 3-11. Estas soluções aquosas são relativamente resistentes à atividade enzimática, proporcionando uma estabilização da viscosidade ao longo do tempo de armazenamento. No entanto, são suscetíveis à contaminação microbiana motivo pelo qual se recomenda a inclusão de um conservante antimicrobiano nas suas preparações. Nas preparações oftálmicas em que a HPMC é incluída utiliza-se frequentemente o cloreto de benzalcónio como conservante (77).</p> <p>As soluções aquosas podem ser esterilizadas por autoclavagem. Uma vez arrefecido o polímero coagulado pode ser re-disperso por agitação (77).</p>
Segurança	<p>A HPMC é utilizada em preparações orais, oftálmicas (0.45 – 1% m/m), nasais (0.1%) e tópicas. A sua utilização em cosméticos e na indústria alimentar encontra-se também muito difundida. Trata-se de um material não tóxico e não irritante (77).</p>
Funções	Utilizada como agente suspensor e estabilizador de geles e pomadas para aplicação tópica (77).
Lote e Fornecedor	Fluka Analytical 09965; Viscosidade ≈15000mPa.s (2% in H ₂ O, 20°C) Lote:390366/1;

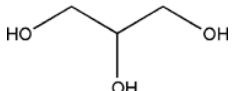
- Carboximetilcelulose sódica (NaCMC)

Tabela 6 - Resumo das características da carboximetilcelulose sódica.

<p>Definição e estrutura</p>	<p>Carboximetilcelulose sódica ou sal sódico de uma celulose parcialmente <i>O</i>-carboximetilada(49). <i>Teor:</i> 6,5 por cento a 10,8 por cento de sódio (Na) (substância seca).</p>  <p>Representação esquemática de CMC com grau de substituição de 1.0 (77).</p>
<p>Denominação química</p>	<p>Carboximetil éter celulose, sal sódico.</p>
<p>Características</p>	<p>Aspeto: pó branco ou quase branco, granuloso, higroscópico após secagem(49). Solubilidade: praticamente insolúvel na acetona, no etanol e no tolueno. É facilmente dispersível na água, dando soluções coloidais(49). Incompatibilidade: com soluções fortemente ácidas, com sais de ferro, zinco, alumínio, mercúrio e com goma xantana. Ocorre precipitação aquando da mistura de etanol 95% e quando pH < 2 . Higroscópica ; $pK_a = 4.30$ (77).</p>
<p>Estabilidade e Conservação</p>	<p>As soluções aquosas são estáveis no intervalo de pH 2-10. Geralmente estas soluções apresentam uma estabilidade e viscosidade máximas a pH 7-9(77). As suas preparações são passíveis de serem autoclavadas, no entanto, após este processo a viscosidade pode ser reduzida em cerca de 25%. As preparações aquosas devem ter contemplada a adição de um conservante antimicrobiano(77).</p>
<p>Segurança</p>	<p>Utilizada em preparações orais, tópicas e em algumas preparações parentéricas. É também muito utilizada em cosméticos, produtos de higiene corporal, assim como na indústria alimentar. Trata-se de um material não tóxico e não irritante(77).</p>
<p>Funções</p>	<p>Disponível em diferentes tipos e viscosidades, funciona como agente gelificante, espessante e suspensor(77).</p>
<p>Lote e Fornecedor</p>	<p>Fluka; High viscosity: 700-1500mPa.s Lote: 431047/2;</p>

- Glicerina

Tabela 7- Resumo das características da Glicerina

Denominação química e Estrutura	<p>Propano-1,2,3-triol</p> 
Fórmula empírica	$C_3H_8O_3$
Massa molecular	92.1 g.mol^{-1}
Características	<p>Aspeto: líquido xaroposo, untuoso ao tato, incolor ou quase incolor, límpido, muito higroscópico e inodoro.</p> <p>Solubilidade: miscível com a água e o etanol a 96 por cento, pouco solúvel na acetona e praticamente insolúvel nos óleos gordos e nos óleos essenciais.</p> <p>Ponto de ebulição: 290°C; Ponto de fusão: 17.8°C; Densidade (25°C): 1.2620 g/cm³.</p>
Estabilidade e Conservação	<p>Nas normais condições de armazenamento não é propensa à oxidação atmosférica, mas decompõem-se com o calor, evoluindo para acroleína tóxica. Por ser muito higroscópica deve ser armazenada num recipiente bem fechado.</p>
Segurança	<p>A Glicerina é utilizada numa vasta gama de formas farmacêuticas, incluindo orais, oftálmicas, parentéricas e tópicas.</p> <p>Habitualmente não se encontra associada a efeitos adversos, tratando-se de um material não tóxico e não irritante.</p>
Funções	<p>Agente humectante e emoliente; solvente e co-solvente em cremes e emulsões. Em concentrações mais elevadas funciona também como conservante antimicrobiano (< 20%).</p>
Lote e Fornecedor	<p>António M.S.Cruz –Vencilab; Lote:101203 ; Validade:10/2013</p>

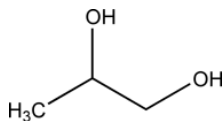
- Água esterilizada para preparações injetáveis (APPI)

Tabela 8 - Resumo das características da água esterilizada para preparações injetáveis.

Fórmula empírica	H_2O
Massa molecular	18.02 g/mol.
Definição	<p>A água para preparações injetáveis é uma água destinada, quer à preparação de medicamentos para administração por via parentérica de veículo aquoso (água para preparações injetáveis a granel), quer para a dissolução ou a diluição de substâncias ou preparações para administração por via parentérica (água esterilizada para preparações injetáveis)(49).</p>
Características químicas	<p>Aspeto: líquido límpido transparente e incolor.</p> <p>Ponto Ebulição: 100°C;</p> <p>Ponto de Fusão: 0°C;</p> <p>Densidade: 1.0 g/mL (25°C) (83)</p>
Funções	Solvente (77).
Lote e Fornecedor	<p>BBraun Lote:11184402; Prazo Validade:04/2014</p>

- Propilenoglicol

Tabela 9 - Resumo das características do propilenoglicol.

Denominação química e Estrutura	(R,S)1,2-Propanodiol 
Fórmula empírica	C ₃ H ₈ O ₂
Massa molecular	76,1 g.mol ⁻¹
Características	Aspeto: líquido viscoso, límpido, incolor e higroscópico. Solubilidade: solúvel em água, glicerina, metanol e etanol (95%). Ponto de ebulição: 187-188°C; Ponto de fusão: -59°C; Densidade (20°C):1,0361g/cm ³ .
Estabilidade e Conservação	Trata-se de uma substância estável a baixas temperaturas e em recipiente bem fechado e protegido da luz. As suas soluções aquosas podem ser esterilizadas por autoclavagem.
Segurança	O propilenoglicol é utilizado numa vasta gama de formas farmacêuticas, sendo na generalidade apontado como não tóxico. A sua utilização em preparações para aplicação tópica é considerada segura e associada a um risco mínimo de irritação cutânea, no entanto, é mais irritante que a glicerina (77).
Funções	O propilenoglicol é utilizado como solvente e como conservante numa grande variedade de formulações farmacêuticas parentéricas e não parentéricas. De uma forma geral é um melhor solvente que a glicerina e dissolve uma série de substâncias tais como corticosteroides, fenóis, barbitúricos, vitaminas (A e D), a maioria dos alcaloides e muitos dos anestésicos locais (77).
Lote e Fornecedor	Fagron Lote: 09L21-B03252062; Validade:10/2014


- Conservantes

Tabela 10- Resumo das características dos conservantes antimicrobianos em estudo.

Conservante Antimicrobiano	Descrição
Di-Glucoconato de Clorohexidina Ph.Eur.	Massa Molar: 898.88 g/mol; Densidade: 1.07 g/mL; Solubilidade: miscível com a água, etanol a 95% e acetona. Descrição: solução aquosa a 20% p/v , de coloração ligeiramente amarelada. Origem, Lote e Prazo de Validade: Fagron, L 10A18-B08; 30-08-2013.
Cloreto de Benzalcônio Ph.Eur.	Massa Molar média: 360 g/mol; Densidade: 1.04 g/mL; Solubilidade: Muito solúvel em água, acetona, etanol a 95% e metanol. Descrição: Solução aquosa a 50% p/v, incolor. Origem, Lote e Prazo de Validade: V.Pereira, L 88279; 30-10-2013.
Metilparabeno Nipagin M Ph.Eur.	Massa Molar: 152.15 g/mol; Solubilidade: pouco solúvel em água, facilmente solúvel em metanol e etanol a 96%. Descrição: pó branco cristalino. Origem, Lote e Prazo de Validade: Fagron, L 10050053; 18-03-2013.
Propilparabeno Nipazol M Ph.Eur.	Massa Molar: 180.20 g/mol; Solubilidade: pouco solúvel em água, facilmente solúvel em metanol. Descrição: pó branco cristalino. Origem, Lote e Prazo de Validade: Fagron, L 10040273; 11-01-2013

2.4.Reipientes

Tabela 11 - Resumo das características do frasco com dispositivo doseador integrado estudado no ensaio 2.9.27 da FP9.0.

Características	Aspetto
Origem: FutureLab Descrição: Frasco de vidro âmbar tipo II de 10mL. Dispositivo doseador branco de Polipropileno com tampa transparente enroscado no frasco de vidro. Lote: B06 Referência:5024001	

3.Métodos

3.1.PREPARAÇÃO DOS GELES

3.1.1.Preparação das amostras de hidrogéis comerciais

Os produtos descritos na tabela 1 foram colocados num copo de vidro onde se fez a determinação e registo do pH e das características organolépticas. Relativamente à preparação das amostras para caracterização do perfil reológico, pesaram-se 16 g de cada uma das amostras, nas quais se procedeu à respetiva análise. Posteriormente adicionaram-se 2 mL de água esterilizada para preparações injetáveis (APPI) a cada uma das amostras, homogeneizou-se com vareta de vidro e após 30 minutos em repouso procedeu-se novamente à caracterização reológica.

Com o intuito de conhecer o pH da formulação do gel de morfina a 0,125% (m/m) descrita na literatura, a 4 g de IntraSite®Gel adicionou-se 0.5 mL da solução injetável de cloridrato de morfina descrita na tabela 3. Após agitação vigorosa com vareta de vidro procedeu-se à determinação do pH à temperatura ambiente.

3.1.2.Preparação das formulações para desenvolvimento de um gel mãe consistente

Todas as formulações foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento:

- 1.Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 150 g de gel e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;
2. Num copo de vidro e com auxílio de um agitador magnético, colocou-se sob agitação (formando vórtex - 250 rpm) cerca de 2/3 do volume total de água esterilizada para preparações injetáveis (APPI) a utilizar em cada preparação.
- 3.Misturou-se aos poucos, na água sob agitação, o pó correspondente ao agente gelificante. Deixou-se intumescer durante cerca de 20 min.
- 4.Incorporou-se a glicerina (tabela 7) seguida da restante APPI, agitando vigorosamente com o auxílio de uma vareta de vidro.
- 5.A preparação ficou sob agitação (250 rpm), coberta com Parafilm®, durante cerca de 24 h à temperatura ambiente.

6. Cada uma das formulações foi dividida em 3 porções, com cerca de 50 g cada, que foram acondicionadas em frascos de vidro com tampa e identificados com a sigla do polímero (tabelas 4, 5 e 6) e respetiva concentração e ainda com uma das seguintes nomenclaturas: “Não esterilizado”, “Esterilizado” e “Esterilizado + H₂O”.

7. Os frascos identificados com “Não Esterilizado” foram mantidos à temperatura ambiente, os restantes foram submetidos a um processo de esterilização por calor húmido (em autoclave) a 121°C, durante 15 min.

8. Aos frascos esterilizados com a nomenclatura “Esterilizado+H₂O” foi adicionado o volume de APPI correspondente ao volume de solução injetável de cloridrato de morfina a 2% (m/v) para obter uma preparação com a concentração final de 0,125% (m/m) em substância ativa. Este procedimento foi efetuado para estudar a influência da adição de um volume de solução aquosa à preparação base de gel esterilizada sem recorrer à utilização de substância ativa visto tratar-se de um estupefaciente.

3.1.3. Preparação das formulações para seleção do conservante antimicrobiano

Numa primeira fase foram preparadas algumas formulações de geles de NaCMC, utilizando os diferentes conservantes antimicrobianos disponíveis (tabela 10), no sentido de se verificar a compatibilidade e viabilidade da sua utilização (através da observação dos caracteres organoléuticos das preparações obtidas). Posteriormente, selecionado o agente antimicrobiano, procedeu-se ao ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos (5.1.3) descrito na FP 9.0, a fim de se comprovar a eficácia da concentração do conservante antimicrobiano selecionado.

No sentido de selecionar um dos quatro conservantes antimicrobianos anteriormente descritos (ou uma combinação de dois), prepararam-se quatro formulações de 100 g de gel, utilizando em cada uma delas um conservante diferente.

Todas as formulações foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento:

1. Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 100 g de gel e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;
2. Utilizando 4 copos de vidro, colocou-se em cada um cerca de 2/3 do volume total de APPI a utilizar em cada preparação.

3. Misturou-se aos poucos, na água sob agitação, em cada um dos copos, a NaCMC em pó. Deixou-se intumescer durante cerca de 20 min.

- **Formulação A:** Parabenos (0,2 % MP + 0,02% PP m/m)

4. No caso da formulação A, os pós correspondentes ao MP e PP foram adicionados à glicerina previamente aquecida a 75°C, tendo-se mantido a mistura no banho termostaticado durante cerca de 30 min, sob agitação constante, até à dissolução completa dos parabenos.

- **Formulação B:** Cloreto de Benzalcónio 0,01% (m/m);

5. Na preparação do gel contendo cloreto de benzalcónio, partiu-se de uma solução-mãe com um título de 50% (p/v) para este conservante. Assim, após se terem efetuado os cálculos necessários, com o auxílio de uma pipeta graduada de 1 mL, pipetaram-se 0,02 mL da solução-mãe de cloreto de benzalcónio que foram, com o auxílio de uma vareta de vidro, misturados com a glicerina previamente pesada e à temperatura ambiente.

- **Formulação C:** Mistura de Cloreto de Benzalcónio (0,01%) + Parabenos (0,2% MP+0,02% PP);

6. Para a formulação em que se estudou a mistura de cloreto de benzalcónio com os parabenos, o procedimento 4 foi o mesmo que descrito para a formulação A, tendo-se feito a mistura do cloreto de benzalcónio, tal como descrito para a formulação B, após a solubilização dos parabenos a quente.

- **Formulação D:** Di-gluconato de Clorohexidina a 0,01% (m/m).

7. No caso do gel de clorohexidina, dado que o conservante se encontrava sob a forma de uma solução concentrada a 20% p/v, após se efetuarem os cálculos necessários, com o auxílio de uma pipeta graduada de 1 mL, pipetou-se 0,01 mL da solução-mãe e adicionou-se à glicerina previamente pesada, à temperatura ambiente. Homogeneizou-se a mistura com o auxílio de uma vareta de vidro.

8. Com o auxílio de uma vareta de vidro incorporou-se a mistura de glicerina + conservante na mistura prepara em 3. (Este procedimento foi efetuado da mesma forma para as 4 preparações).

9. Completou-se a massa de gel até 100 g com a restante APPI e homogeneizou-se a mistura com o auxílio de uma vareta de vidro. Após cobertas com parafilm®, as 4

preparações foram mantidas sob agitação a 400 rpm no agitador Yellow Line OS5 Basic, durante cerca de 24 h, à temperatura ambiente.

10. Ao fim de 24 h, registou-se o aspeto das 4 formulações, que foram posteriormente transferidas para frascos de vidro esterilizáveis com tampa e submetidas a um processo de esterilização por calor húmido (em autoclave) a 121°C, durante 15 min.

11. Após o arrefecimento dos geles procedeu-se ao registo das características observadas em cada formulação.

3.1.4. Preparação de geles para seleção da concentração do conservante antimicrobiano através do ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos

Uma vez selecionado o conservante, ou mistura de conservantes antimicrobianos a utilizar, foi necessário verificar a eficácia do conservante de acordo com os critérios estabelecidos pela FP 9.0 (5.1.3). Durante esta verificação, testaram-se em paralelo 2 formulações: Formulação 1 - correspondente a um gel branco (sem qualquer conservante) e a Formulação 2 – contendo uma mistura de 0,1% de MP + 0,01% de PP.

As duas formulações foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento:

1. Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 200 g de gel e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;
2. Num copo de vidro e com auxílio de um agitador magnético, colocou-se sob agitação (formando vórtex - 250 rpm) cerca de 2/3 do volume total de água esterilizada para preparações injetáveis (APPI) a utilizar em cada preparação.
3. Misturou-se aos poucos, na água sob agitação, o pó correspondente à NaCMC. Deixou-se intumescer durante cerca de 20 min.
4. Num copo de vidro, e com o auxílio do banho termostaticado, aqueceu-se a glicerina, previamente pesada, a cerca de 75°C e adicionaram-se, sob agitação constante com vareta de vidro, os pós correspondentes ao MP e PP. Manteve-se a mistura no banho sob agitação até total dissolução dos parabenos. No caso da formulação 1 (sem conservantes) este procedimento foi eliminado, sem o aquecimento da glicerina.
5. Incorporou-se a mistura anterior na mistura preparada em 3, agitando vigorosamente com o auxílio de uma vareta de vidro.

6. Completou-se a massa de gel (até 200 g) com a restante APPI.
7. Após agitação manual vigorosa com vareta de vidro, a preparação ficou sob agitação (a 400 rpm no agitador YellowLine®), coberta com parafilme®, durante cerca de 24 h à temperatura ambiente.
8. Cada uma das formulações foi dividida em 2 porções, com cerca de 80 g cada, que foram acondicionadas em frascos de vidro com tampa, devidamente identificados. (Foram pesadas 80 g de gel para posteriormente se incorporarem 5 mL de solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v, para a obtenção de uma preparação com 0,125% m/m de concentração e evitar desperdícios da substância ativa, utilizando-se assim o volume total de 2 ampolas - 2 x 10mL).
9. Os frascos foram submetidos a um processo de esterilização por calor húmido (em autoclave) a 121°C, durante 15 min.
10. Após o arrefecimento dos geles à temperatura ambiente, numa sala com pressão positiva, em câmara de fluxo laminar horizontal (CFLH) marca aqui e de acordo com as boas práticas de manipulação asséptica em vigor nos Serviços Farmacêuticos do IPOL, incorporou-se em cada frasco contendo 80 g de gel esterilizado, 5 mL da solução injetável de cloridrato de morfina descrita na tabela 3.
11. Com o auxílio de uma vareta de vidro previamente esterilizada, homogeneizou-se a mistura. Colocou-se novamente a tampa no frasco e submeteu-se a preparação a 15 min de agitação a 400 rpm no agitador YelowLine®.
12. Utilizando novamente a CFLH, retirou-se a tampa do frasco e procedeu-se ao fracionamento do gel por aspiração direta com as seringas. A extremidade de cada seringa em contacto com o gel foi cuidadosamente limpa, com uma compressa estéril, antes do fecho. Cada seringa estéril foi cheia com 20 mL de gel e fechada com uma tampa *luer-lock*. No final do processo obtiveram-se 4 seringas para cada formulação.

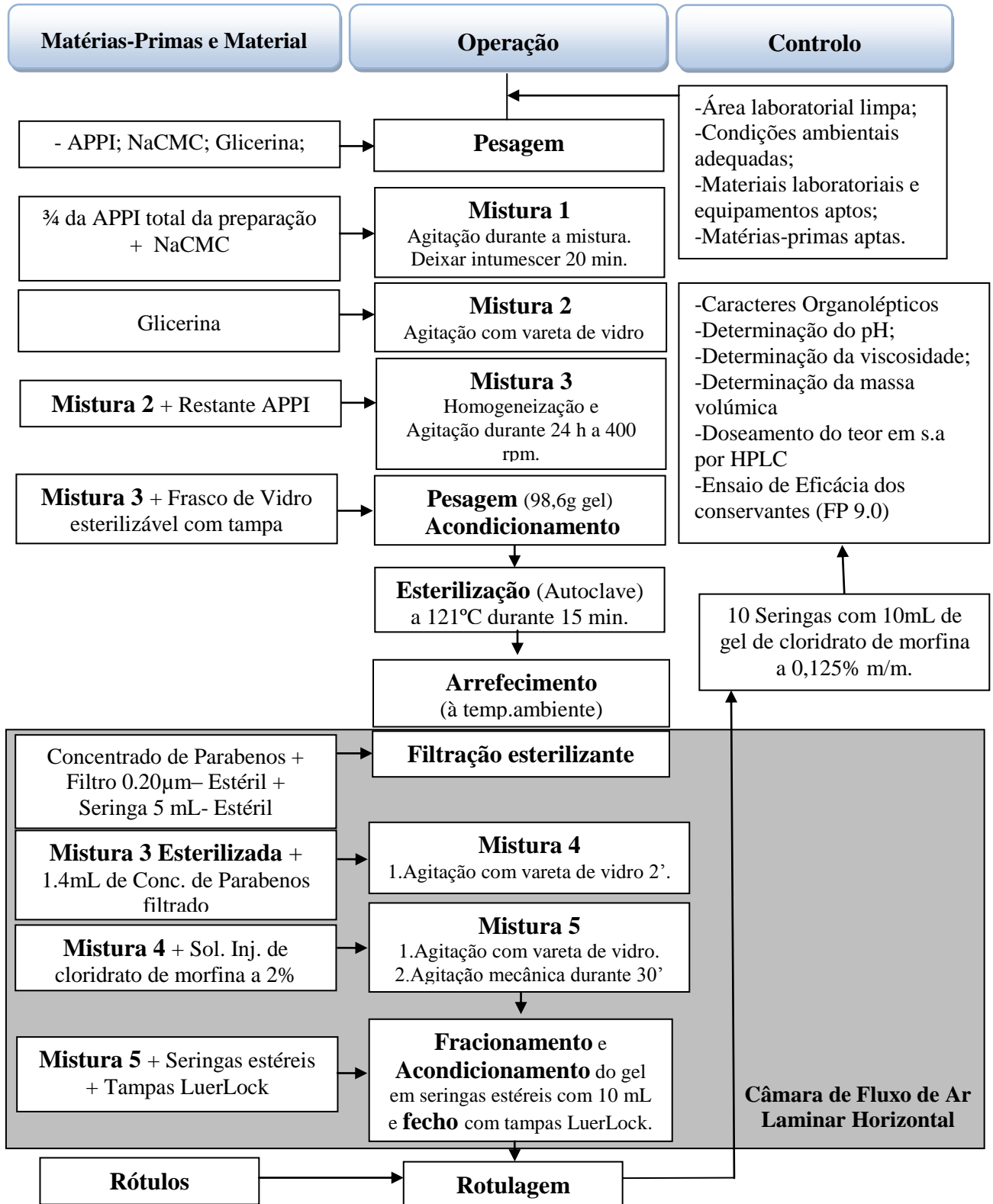
3.1.5.Preparação de 100g de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), de acordo com a alteração da metodologia de preparação – Formulação final.

1. Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 100 g de gel e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;

2. Num frasco de vidro esterilizável com tampa colocou-se cerca de 2/3 do volume total de (APPI) a utilizar na cada preparação.
3. Misturou-se aos poucos, na água sob agitação, o pó correspondente à NaCMC. Deixou-se intumescer durante cerca de 20 min.
4. Incorporou-se a glicerina e homogeneizou-se a preparação com o auxílio de uma vareta de vidro.
5. Completou-se a massa de gel até 98,6 g (100g – 1,4g correspondentes à solução de concentrado de parabenos) com a restante APPI.
6. Após agitação manual vigorosa com vareta de vidro, a preparação ficou sob agitação (a 400 rpm no agitador YellowLine®), com o frasco tapado, durante cerca de 24 h à temperatura ambiente.
7. A preparação anterior foi submetida a um processo de esterilização por calor húmido (em autoclave) a 121°C, durante 15 min.
8. Após o arrefecimento do gel à temperatura ambiente, numa sala com pressão negativa, em câmara de fluxo laminar horizontal (CLFH) e de acordo com as boas práticas de manipulação asséptica utilizadas no Serviço Farmacêutico do IPOL, incorporou-se no frasco contendo 98,6 g de gel esterilizado, 1,4 mL da solução de concentrado de parabenos previamente submetida a uma filtração esterilizante com o filtro de 0,22µm acima descrito.
9. Com o auxílio de uma vareta de vidro previamente esterilizada, homogeneizou-se a mistura anterior durante cerca de 2 min.
10. Ainda na CFLH, utilizando seringa e agulha, adicionou-se ao gel a solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v (6,25mL) e agitou-se novamente com a vareta de vidro durante 2 min.
11. Colocou-se novamente a tampa no frasco e submeteu-se a preparação a 30 min de agitação a 400 rpm no agitador YelowLine® para promover a homogeneização da preparação.
10. Utilizando novamente a CFLH, retirou-se a tampa do frasco e procedeu-se ao fracionamento do gel por aspiração direta com as seringas (material de embalagem). A extremidade de cada seringa em contacto com o gel foi cuidadosamente limpa, com uma

compressa estéril, antes do fecho. Cada seringa estéril foi cheia com 10 mL de gel e fechada com uma tampa *luer-lock*.

3.1.5.1. Fluxograma de preparação de um Gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), de acordo com a alteração da metodologia de preparação - Formulação final.



3.1.6.Desenvolvimento galénico das formulações fluidas para um gel mãe

Todas as formulações foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento:

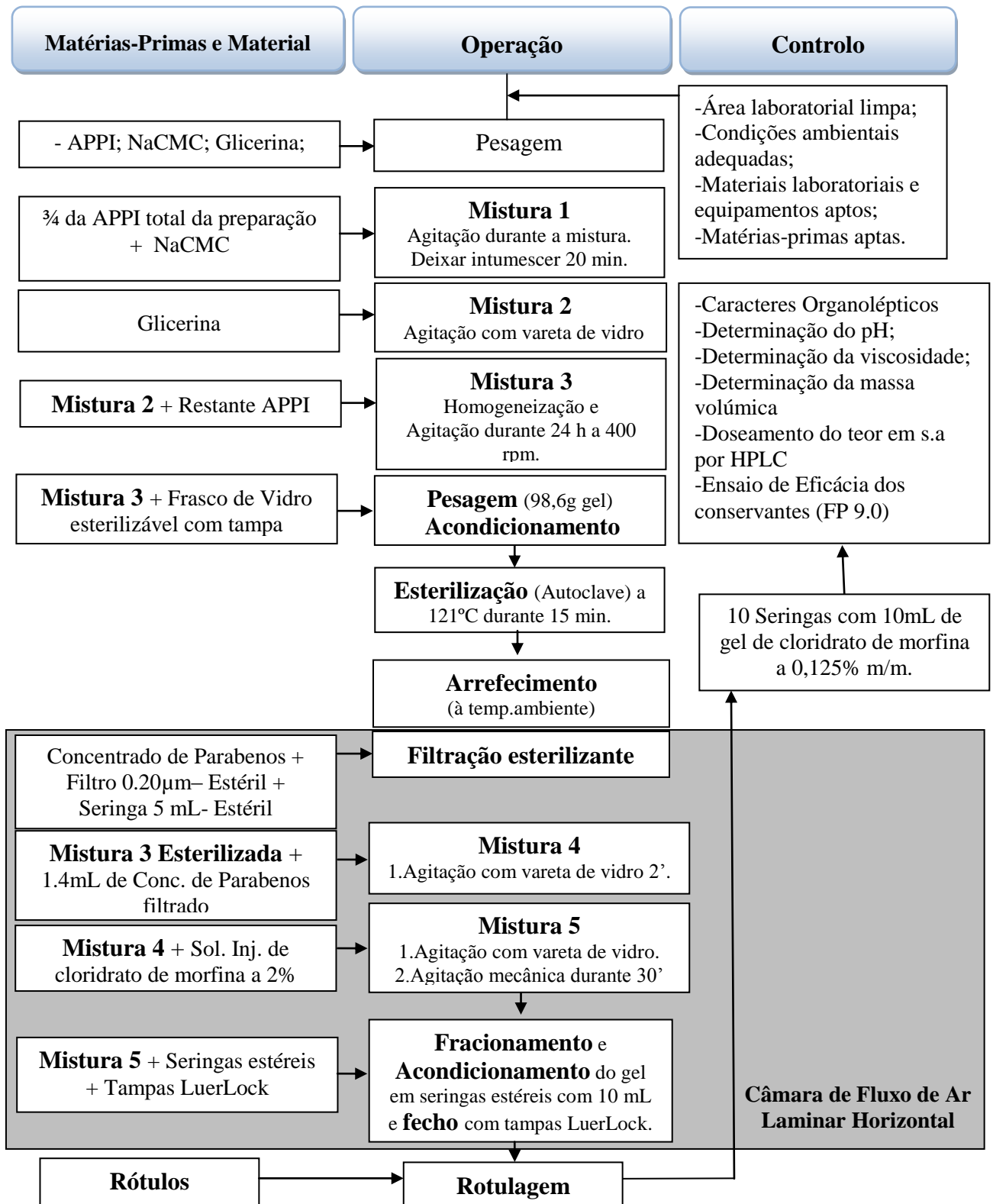
1. Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 100 g de gel fluido e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;
2. Num frasco de vidro esterilizável com tampa colocou-se cerca de 2/3 do volume total de APPI a utilizar na cada preparação.
3. Misturou-se aos poucos, na água sob agitação, a NaCMC. Deixou-se intumescer durante cerca de 20 min.
4. Incorporou-se a glicerina e homogeneizou-se a preparação com o auxílio de uma vareta de vidro.
5. Completou-se a massa de gel até 97,2 g (100 g – 2,8 g correspondentes à solução de concentrado de parabenos) com a restante APPI.
6. Após agitação manual vigorosa com vareta de vidro, a preparação ficou sob agitação (a 400 rpm no agitador YellowLine®), no frasco tapado, durante cerca de 24 h à temperatura ambiente.
7. A preparação anterior foi submetida a um processo de esterilização por calor húmido (em autoclave) a 121°C, durante 15 min.
8. Após o arrefecimento do gel à temperatura ambiente, numa sala com pressão positiva, em câmara de fluxo laminar horizontal (CFLH) e de acordo com as boas práticas de manipulação asséptica utilizadas no Serviço Farmacêutico do IPOL, incorporou-se no frasco contendo 97,2 g de gel esterilizado, 2,8 mL da solução de concentrado de parabenos previamente submetida a filtração esterilizante com o filtro de 0,22 µm acima descrito.
9. Com o frasco de vidro tapado, agitou-se vigorosamente a mistura, durante cerca de 2 min.

3.1.7.Preparação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1% (m/m) para pulverização cutânea sobre feridas dolorosas - Formulação final.

A preparação da formulação final foi feita de acordo com o procedimento acima descrito em 3.1.6, acrescentando-se à técnica de preparação os seguintes pontos:

10. Em CFLH, utilizando seringa e agulha, adicionou-se a 50 g do gel mãe fluido, a solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v (50 mL).
11. Tampando o frasco, submeteu-se a preparação a 15 min de agitação a 400 rpm no agitador YelowLine® para promover a homogeneização da preparação.
12. Utilizando novamente a CFLH, retirou-se a tampa do frasco e procedeu-se ao fracionamento do gel, aspirando 10 mL da preparação para cada frasco com dispositivo doseador integrado. Os frascos foram fechados enroscando o dispositivo doseador no frasco de vidro e posteriormente rotulados.

3.1.7.1. Fluxograma de preparação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) para pulverização cutânea sobre feridas dolorosas – Formulação final.



3.2.PREPARAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE CONCENTRADO DE PARABENOS

1. Calculou-se a quantidade de cada um dos constituintes da formulação para preparação de 100 g de solução de concentrado de parabenos e procedeu-se à pesagem individual de cada uma das matérias-primas;
2. Num copo de vidro e com auxílio do banho termostaticado, aqueceram-se os 94,4g de propilenoligol a 70-75°C.
3. Adicionaram-se os parabenos (MP:7,0g e PP: 0,7g) ao propilenoglicol (tabela 9) já aquecido e agitou-se, até dissolução, com o auxílio de uma vareta de vidro.
4. Retirou-se o copo de vidro do banho termostaticado e deixou-se arrefecer a solução, agitando-se periodicamente.
5. Acondicionou-se a solução de concentrado de parabenos num frasco de vidro âmbar tipo III e procedeu-se à sua rotulagem.

Dado que a medição de volumes com seringas estéreis é uma prática mais fácil de executar do que a pesagem da solução de concentrado de parabenos no interior de uma câmara de fluxo laminar utilizando técnica asséptica, procedeu-se à determinação da massa volúmica da preparação para que se pudesse converter em volume a massa de solução necessária à preparação do gel. O valor obtido foi 1,0425 g/mL.

3.2.SELEÇÃO DO MATERIAL DE EMBALAGEM COM O DOSEADOR INTEGRADO A UTILIZAR PARA O GEL FLUIDO - ENSAIO DE UNIFORMIDADE DE MASSA DA DOSE DISPENSADA PELOS RECIPIENTES MULTIDOSE (2.9.27) DA FP9.0

Com o intuito de verificar a reprodutibilidade das massas relativas às doses obtidas com os materiais de acondicionamento primário, procedeu-se ao ensaio acima referido. Este ensaio apresenta a seguinte descrição:

“Pese separadamente 20 doses, tomadas ao acaso em um ou em vários frascos com a ajuda do dispositivo doseador integrado, e determine a massa individual e a massa média. Duas massas individuais, no máximo, podem desviar-se da massa média mais de 10 por cento e nenhuma pode desviar-se mais de 20 por cento.”

3.4. SELEÇÃO DA FORMULAÇÃO DE GEL MÃE FLUIDO

Nesta fase, a 50 g de cada gel fluido preparado foram adicionados 50 g de APPI para simular a textura e aspeto de cada uma das preparações base de gel fluido após a mistura com a solução injetável de cloridrato de morfina. Este procedimento foi efetuado para evitar a utilização de substância ativa visto tratar-se de um estupefaciente.

A seleção da concentração de NaCMC mais adequada à preparação pretendida foi feita com base no desempenho de cada uma das formulações, cuja preparação se encontra anteriormente descrita, submetendo-as a um ensaio simples. Este ensaio consistiu em acondicionar as diferentes formulações no frasco de vidro âmbar de 10 mL com o pulverizador adaptado, previamente escolhido para material de embalagem da preparação fluida e pulverizar cada uma das formulações contra uma superfície vertical, colocando o pulverizador a uma distância de cerca de 50 cm da superfície (figura 9).

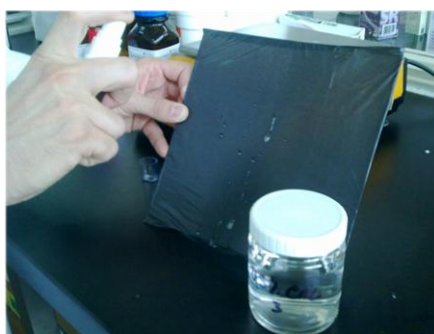


Figura 9 - Metodologia utilizada na pulverização das formulações sobre uma superfície vertical.

Após a pulverização de cada formulação, foram observadas as gotículas formadas no que diz respeito à sua dimensão, homogeneidade de tamanho e aderência à superfície vertical. Selecionou-se a formulação cujas gotículas formadas não escorriam através da superfície de impactação vertical e cuja área de dispersão de gotículas era maior e com gotículas mais pequenas e homogêneas.

3.5. ENSAIO DE EFICÁCIA DOS CONSERVANTES ANTIMICROBIANOS (5.1.3 – FP 9.0)

Este ensaio consistiu na contaminação artificial dos geles de cloridrato de morfina preparados, através da inoculação dos microrganismos de referência, anteriormente descritos, conservação das formulações à temperatura adequada (neste caso a temperatura ambiente) e posterior cálculo, a intervalos de tempo determinados, do número de microrganismos viáveis utilizando o método de filtração por membranas.

Preparação do inóculo

1. Promoveu-se o crescimento dos microrganismos de referência nos meios seletivos adequados, incubando durante 24/48h a 37°C (bactérias e *Candida albicans*) e durante 5 dias a 22°C para *Aspergillus niger*.
2. Efetuou-se uma suspensão microbiana das estirpes em estudo, em água bidestilada estéril (ABE), na concentração de 10⁸ unidades formadoras de colónias (ufc)/mL.
3. Diluiu-se progressivamente a suspensão anterior até à diluição de 10².

Metodologia do ensaio de eficácia de conservantes propriamente dito

1. Identificaram-se os recipientes finais da amostra, neste caso, as 4 seringas de cada formulação, cada uma correspondente a uma estirpe em estudo (4 estirpes de referência: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*).
2. Inoculou-se, a partir da suspensão microbiana das estirpes (10⁸ ufc/mL), cada seringa de amostra de forma a obter um inóculo com 10⁶ microrganismos por mililitro de gel, utilizando 200 µL de suspensão microbiana em 20 mL de cada seringa de gel (diluição 1/100).
3. Homogeneizou-se, cuidadosamente, de forma a assegurar uma distribuição homogénea. As seringas de cada formulação assim contaminadas foram conservadas ao abrigo da luz e à temperatura ambiente durante todo o ensaio.
4. A recolha de amostras (1mL) para análise foi feita recorrendo a técnica asséptica em câmara de fluxo de ar laminar vertical nos tempos: 0, 6 e 24 h, 7, 14 e 28 dias após a inoculação. Efetuaram-se as filtrações por membrana de cada amostra, recolhida aos tempos referidos, utilizando as membranas de acetato de celulose (PALL: GN-6 Metricel® Grid 47 mm; 0.45 µm P/N 66191; Ref: C.MPALL001/T20335/2011). Paralelamente, a cada tempo foi, efetuado o controlo negativo, com uma amostra de 1mL de ABE, cuja membrana de filtração foi depois incubada a 37°C em meio PCA.
5. Filtrou-se 1 mL da suspensão 10² ufc/mL (controlo do inóculo).
6. Cada amostra a filtrar foi diluída com 50 mL de ABE diretamente nos copos da rampa de filtração (Milipore, USA). Lavaram-se as membranas 2 a 3 vezes com 50 mL de ABE.

7. Cada membrana, após filtração, foi colocada numa placa contendo o meio de cultura adequado que, por sua vez, foi depois colocada a incubar durante um período de tempo e a uma temperatura definidas para cada microrganismo (tabela 12).

8. Para cada tempo de amostragem determinou-se o número de microrganismos viáveis por mililitro de gel em cada seringa, através da contagem das unidades formadoras de colónias (ufc).

Considera-se que há eficácia do conservante na formulação quando, nas condições de ensaio e após o tempo e temperatura pré-determinados, se verifica uma diminuição significativa ou ausência de aumento do número de microrganismos nos geles inoculados. Os critérios para avaliação da atividade antimicrobiana apresentam-se na tabela 13 em termos de redução logarítmica do número de microrganismos viáveis relativamente ao valor obtido no inóculo.

Tabela 12 - Condições de incubação das membranas após filtração das amostras para desenvolvimento das estirpes inoculadas (85).

Estirpes inoculadas	Meios de cultura	Temperatura de incubação	Tempo de incubação
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimida	30 a 37°C	24h
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman	30 a 37°C	24h
<i>Candida albicans</i>	Sabouraud e Cloranfenicol	20 a 25°C ou 37°C	48h ou 24h
<i>Aspergillus niger</i>	Sabouraud e Cloranfenicol	20 a 25°C	±5 dias

Os critérios A representam a eficácia que se recomenda seja atingida. Quando justificado, se os critérios A não puderem ser atingidos, por exemplo devido ao risco de se aumentarem reações indesejáveis, aplicam-se os critérios B.

Tabela 13 - Critérios de aceitação da eficácia dos conservantes para preparações parentéricas e oftálmicas, de acordo com a FP 9.0.

Tempo (dias)	Redução logarítmica					
	0.25	1	7	14	28	
Bactérias	A	2	3	-	-	NE
	B	-	1	3	-	SA
Fungos	A	-	-	2	-	SA
	B	-	-	-	1	SA

SA: sem aumento; NE: não encontrado

A realização do ensaio de eficácia de conservantes utilizando a formulação final do gel de cloridrato de morfina a 1% (m/m) foi feita de acordo com o procedimento acima descrito.

Para este ensaio foram utilizados 4 frascos de 10mL contendo a formulação final, cuja preparação se encontra anteriormente descrita. Paralelamente, utilizaram-se mais 4 frascos de 10 mL contendo uma formulação de gel fluido contendo cloridrato de morfina a 1% (m/m), preparada de acordo com o procedimento descrito em 3.1.7, mas onde se eliminou a adição da solução de concentrado de parabenos.

No caso do gel fluido, o ensaio de eficácia de conservantes foi realizado inoculando 100 μ L de suspensão microbiana, relativa a cada uma das estirpes de referência, em cada frasco contendo 10 mL.

3.6. CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS

3.6.1. Características organolépticas

Analisaram-se as características macroscópicas das amostras, nomeadamente a cor, o aspeto e o odor.

3.6.2. Análise reológica

O comportamento reológico das amostras foi analisado recorrendo à utilização de um viscosímetro rotativo de Brookfield modelo RVTDV II Small sample adapter (SSA) – Brookfield Engineering Laboratories, EUA. Cada uma das formulações a analisar foi colocada no recipiente (small sample) do equipamento, tendo-se obtido o perfil reológico submetendo as amostras a velocidades de corte crescentes e decrescentes (de 0,6 a 122 s^{-1}), durante 30 s em cada velocidade, utilizando as agulhas nº7, 21 e 27 SSA.

3.6.3. Determinação do pH

As determinações do pH foram feitas por leitura direta, com recurso ao potenciómetro equipado com um eléctrodo de vidro combinado (pH Meter 744) ou no potenciómetro Symphony SB70P, VWR®, sendo as leituras registadas ao fim de 5 min à temperatura ambiente. Para cada preparação foram efetuadas 3 leituras.

3.6.4. Determinação da viscosidade aparente

A viscosidade aparente dos geles obtidos foi analisada recorrendo à utilização de um viscosímetro rotativo de Brookfield RV, DV II (Small sample adapter). No caso dos geles mais consistentes, as amostras a analisar foram colocadas no recipiente (small sample) do equipamento, tendo-se obtido o valor da viscosidade aparente em (Pa.s), ao fim de 30 s,

utilizando a velocidade de corte de $6,12 \text{ s}^{-1}$, com a agulha nº7 S.S.A. Esta determinação foi feita em triplicado, aguardando-se cerca de 45 minutos entre cada determinação.

No caso dos geles fluidos, o valor da viscosidade aparente em (Pa.s) foi determinado, ao fim de 30 s, utilizando a velocidade de corte de $12,24 \text{ s}^{-1}$, com a agulha nº21 S.S.A. Esta determinação foi feita em triplicado, aguardando-se cerca de 45 min entre cada determinação.

3.6.5. Determinação da massa volúmica do gel

A determinação do valor aproximado da massa volúmica do gel consistente foi feita com recurso a balões volumétricos de 25 mL. Determinou-se a massa de 3 balões volumétricos de 25 mL vazios, e posteriormente, cheios com a formulação. Levaram-se os balões ao banho de ultrassons durante 30 min para eliminar o ar incorporado no gel durante o enchimento e perpez-se o volume até ao menisco. Finalmente, determinou-se a massa dos balões cheios com o gel e calculou-se a massa volúmica.

Com recurso a um picnómetro de 25 mL, determinou-se a massa volúmica do gel fluido. A massa de gel correspondente aos 25 mL do picnómetro foi calculada pela diferença de massas obtidas com o picnómetro cheio, com o gel fluido, e vazio.

3.6.6. Doseamento do cloridrato de morfina

Foi utilizado um método de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) com deteção no ultravioleta, para quantificar o cloridrato de morfina, o MP e o PP. O método foi validado e encontra-se descrito no Anexo I deste trabalho.

4. Ensaio Preliminares: Resultados e Discussão

4.1. GEL CONSISTENTE

4.1.1. ESTUDO DAS AMOSTRAS DE HIDROGELES COMERCIAIS

4.1.1.1. Características Organolépticas

A tabela 14 resume as características organolépticas registadas para as duas amostras de hidrogeles disponíveis no mercado, utilizadas no tratamento de feridas, que foram estudadas nesta fase do trabalho, assim como o aspeto da preparação obtida com o IntraSite®Gel e a solução injetável de cloridrato de morfina, na concentração de 0,125% (m/m), à semelhança do que vem descrito na bibliografia. De notar que nas publicações que se referem à utilização de morfina por via tópica em feridas com dor associada, a solução injetável de morfina utilizada (1 mL) contém a substância ativa na forma de sulfato de morfina a 1% (m/m), enquanto neste ensaio, a preparação do gel foi feita utilizando uma solução injetável de cloridrato de morfina a 2% (utilizando-se apenas 0,5 mL). Por este motivo, não se procedeu à análise reológica desta preparação como termo de comparação, dado que o volume de solução injetável incorporado é menor que o descrito na bibliografia, originando portanto uma preparação com uma viscosidade diferente. Este procedimento teve essencialmente como objetivo não só o estudo do aspeto da preparação obtida, mas fundamentalmente do seu pH.

Tabela 14 - Resumo das características organolépticas das amostras de hidrogeles disponíveis no mercado para tratamento de feridas.

Amostra	Características Organolépticas		
	Cor	Odor	Aspeto
Varihesive®Hidrogel	Amarelo	Inodoro	Homogéneo, límpido, claro e transparente
IntraSite®Gel	Branco	Inodoro	Homogéneo, brilhante, opaco e amorfo
IntraSite®Gel 0.125% (m/m) em cloridrato morfina	Amarelado	Inodoro	Homogéneo e translúcido

Do ponto de vista das características organolépticas as duas amostras em estudo revelaram-se muito diferentes. Enquanto o Varihesive®Hidrogel apresentava uma coloração amarela intensa e um aspeto claro e transparente, o IntraSite®Gel tinha um aspeto amorfo, brilhante e esbranquiçado. De acordo com as características ideais já anteriormente referidas para os geles, estes, para serem galenicamente mais atrativos devem ser límpidos e transparentes. Assim, o Varihesive®Hidrogel aproxima-se mais destas características do que o IntraSite®Gel, no entanto, o aspeto amorfo deste último permite prever uma melhor incorporação de exsudado a partir do leito da ferida, caso ele exista. A preparação de IntraSite®Gel com cloridrato de morfina revelou-se galenicamente pouco atrativa, com uma coloração amarelada e de aspeto homogéneo e translúcido (figura 10).

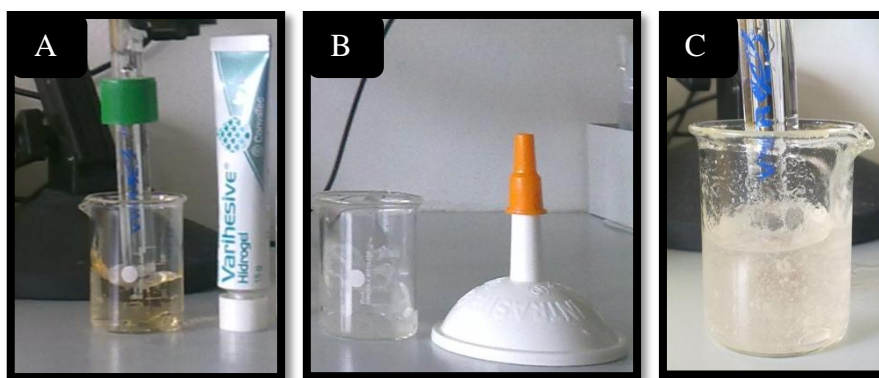


Figura 10- Aspeto de duas amostras de hidrogéis disponíveis no mercado para tratamento de feridas.[A]Varihesive®Hidrogel e [B]IntraSite®Gel. A fotografia [C] mostra o aspeto do IntraSite®Gel a 0,125%(m/m) em cloridrato de morfina.

4.1.1.2.Análise reológica

A análise do comportamento reológico das amostras de hidrogel já anteriormente descritas originou 4 reogramas que se encontram representados na figura 11.

Na situação particular das feridas, este tipo de preparação é utilizada com o objetivo de tratamento da ferida, sendo pouco relevante o aspeto atrativo ou não da formulação em si, no entanto, os hidrogéis a aplicar em feridas devem, como já referido anteriormente, ter características que permitam a elaboração de um penso que seja confortável para o doente e para os familiares que o rodeiam, contribuindo para melhorar a sua qualidade de vida. Se o hidrogel apresentar uma textura fluida poderá escorrer, desencadeando a mobilidade do penso secundário o que é incomodo não só para o doente mas também para quem o rodeia. No caso específico deste tipo de preparações o utilizador final é o doente, porém há um intermediário, na maioria das vezes um enfermeiro, que vai selecionar e proceder à

aplicação do gel sobre a ferida. Assim, a percepção da textura e desempenho das formulações para aplicação em feridas é tida em primeira instância pelo enfermeiro/cuidador da ferida e só depois, em função do efeito biológico alcançado, é que o doente a quem é aplicado o gel, dependendo do seu estado de consciência, terá essa percepção.

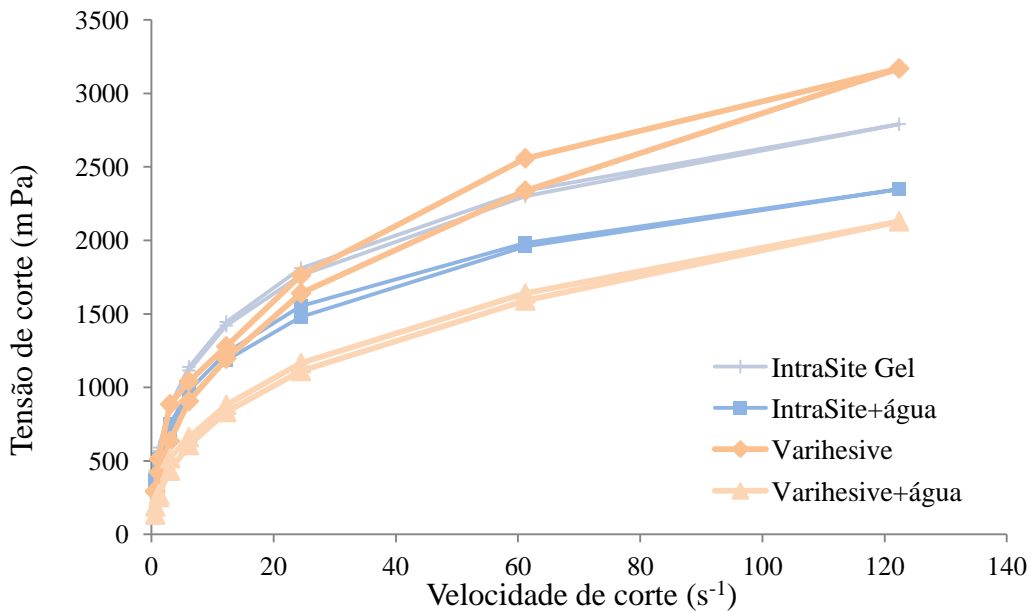


Figura 11 - Reogramas dos hidrogéis comerciais em estudo – IntraSite® Gel e Varihesive®Hidrogel, antes e após a incorporação de APPI.

A formulação a desenvolver deverá ter uma textura e consistência semelhante aos demais produtos semelhantes disponíveis no mercado para a aplicação tópica em feridas. Esta aproximação de características trará aos utilizadores do gel (profissionais de saúde envolvidos no tratamento de feridas) uma maior confiança e segurança na utilização do medicamento manipulado, caso este reúna as mesmas características de outros produtos utilizados rotineiramente no tratamento de feridas.

Ambas as amostras de hidrogéis utilizadas nesta análise demonstraram um comportamento do tipo pseudoplástico com pequenas ansas de histerese que denunciam uma ligeira tixotropia. Nas duas amostras a viscosidade inicial é quase sobreponível, sendo o Varihesive®Hidrogel ligeiramente mais consistente que o IntraSite®Gel, no entanto, a estrutura do Varihesive®Hidrogel parece ser mais afetada pela incorporação de água do que o IntraSite®Gel, pois é evidente uma acentuada descida da sua viscosidade após a incorporação de APPI. O desenvolvimento do gel a formular neste trabalho foi pensado

para que a preparação final tivesse as mesmas características que o IntraSite®Gel. Isto é, o impacto na viscosidade final do gel, decorrente da incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina, deverá ser o menor possível, para que a textura e consistência do gel se mantenham.

4.1.1.3.Determinação do pH

Relativamente à determinação do pH, os resultados obtidos encontram-se descritos na tabela 15. A estabilidade química da grande maioria dos fármacos pode ser maximizada através da manutenção do pH em intervalos adequados (79). A análise destes dados permite verificar que, de acordo com o intervalo de pH anteriormente descrito como adjuvante da cicatrização no leito das feridas, mais ácido, o Varihesive®Hidrogel apresenta um valor de pH mais favorável à cicatrização que o IntraSite®Gel. Ainda no que diz respeito ao valor de pH da preparação final, este deve ser tal que permita que a substância ativa se mantenha na forma não ionizada, na qual é ativa e terá uma máxima interação com os recetores opióides. No caso do cloridrato de morfina o pKa é de 6,5 (82), ou seja, para este valor de pH a proporção de moléculas de cloridrato de morfina que estão na forma ionizada e não ionizada é igual. Por este motivo, e para que numa formulação a percentagem de moléculas na forma ionizada seja minimizada, o valor de pH do meio é ajustado, no caso das formulações de cloridrato de morfina, para valores de pH abaixo do pKa por forma a assegurar este aspeto e a máxima estabilidade da substância ativa na formulação. Estes aspetos podem ser comprovados pelos valores de pH observados na solução injetável de cloridrato de morfina descritos na tabela 3, na ordem dos 4,8, muito abaixo do valor de pKa do fármaco (6,5).

Tabela 15 - Resumo das determinações de pH efetuadas nas amostras de hidrogéis para tratamento de feridas em estudo.

Amostra	pH à temperatura ambiente (média ± desvio padrão; n=3)
Varihesive®Hidrogel	5,83 ± 0,02
IntraSite®Gel	6,68 ± 0,05
IntraSite®Gel com cloridrato de morfina a 0,125% (m/m)	6,55 ± 0,03

Considerando os aspetos atrás referidos e conjugando os valores de pKa do cloridrato de morfina e o pH da sua solução injetável, com os valores de pH apresentados na tabela 15, a

mistura teórica de Varihesive®Hidrogel com a solução injetável seria potencialmente mais vantajosa do que a mistura com o IntraSite®Gel. Não só porque o pH da preparação resultante seria ácido, o que favorece como já foi referido a cicatrização, mas também porque o pH da mistura obtida seria sempre inferior ao pKa do fármaco, o que não sucedeu com o IntraSite®Gel. A prova disto é o valor de pH obtido na mistura da solução injetável com o IntraSite®Gel ($6,55 \pm 0,03$), acima do pKa do fármaco, ou seja, para este valor de pH a proporção de moléculas de substância ativa na forma ionizada é superior, o que pode comprometer a sua atividade, nomeadamente no que diz respeito à interação com os recetores opióides.

Segundo a bibliografia disponível, as soluções injetáveis de sulfato de morfina apresentam valores de pH na ordem de 4,8 (82), o que faz prever que o pH da mistura resultante com o IntraSite®Gel seja da mesma ordem de grandeza da descrita na tabela 15. Assim, as preparações descritas da mistura de sulfato de morfina com IntraSite®Gel poderão resultar em valores de pH próximos ou superiores ao pKa do sulfato de morfina, originando preparações onde há um predomínio da substância ativa na sua forma ionizada. Este aspeto poderá estar na origem da falta de robustez e da dificuldade em definir uma forte associação estatística entre a utilização de morfina por via tópica em feridas e o alívio da dor associada a estas feridas que paira sobre todos os trabalhos publicados até à data sobre esta temática, apesar das fortes tendências de alívio da dor registadas em quase todos estes trabalhos (53). Para comprovar esta hipótese seria necessário um estudo rigoroso do pH das preparações obtidas com sulfato de morfina e caso se aplicasse, o desenho de um estudo aleatorizado sobre a efetividade desta preparação, com o pH devidamente ajustado, no alívio da dor associada a feridas.

Na tabela 16 é possível observar a correspondência efetiva em morfina relativamente aos seus sais utilizados na preparação de solução injetável. Dado que a bibliografia publicada sobre a utilização de morfina em gel se refere sempre à preparação de uma mistura de um hidrogel com 1 mL de solução injetável de sulfato de morfina a 1% (m/v), ou seja 10 mg de sulfato de morfina, na prática estes 10 mg traduzem-se em 3,8 mg de morfina, ao passo que com a utilização do sal de cloridrato de morfina tri-hidratado, 10 mg deste sal se traduzem em 7,6 mg de morfina. Este aspeto é importante pois o cloridrato de morfina tri-hidratado é o sal de morfina mais facilmente acessível no mercado farmacêutico português, sendo por isso a opção mais viável de utilizar para incorporar num hidrogel para o efeito pretendido. Contudo, comparando com os dados publicados na bibliografia, e uma vez que

10 mg de cloridrato de morfina se traduzem no dobro da quantidade de morfina correspondente ao sulfato de morfina penta-hidratado, antes de se definir a concentração do gel a preparar procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica acerca das concentrações mais utilizadas de morfina para aplicação tópica em feridas dolorosas já descritas na bibliografia.

Tabela 16- Resumo da correspondência em morfina relativa aos seus sais derivados.

Forma de apresentação	Massa Molar	Correspondência em morfina relativa a 10 mg do sal
Cloridrato de morfina tri-hidratado	375,8 g.mol ⁻¹ (49)	7,6 mg
Sulfato de Morfina penta-hidratado	758,8 g.mol ⁻¹ (49)	3,8 mg
Morfina	285,33 8 g.mol ⁻¹ (49)	-

Dada a heterogeneidade de dados encontrada, optou-se por partir da mesma concentração nominal já descrita para a maior parte dos geles preparados com sulfato de morfina, ou seja, 0,125% (m/m) em cloridrato de morfina. Optou-se por esta concentração não só por ser a mais difundida para o sulfato de morfina, mas também por ser aparentemente segura dado que na bibliografia disponível (48, 53) é possível encontrar referências à utilização segura de concentrações mais elevadas (de 0,3 a 0,5% m/m) em sulfato de morfina e que se traduzem em quantidades superiores de morfina relativamente às originadas com a concentração de 0,125% em cloridrato de morfina.

Assim, tendo em conta as características registadas para estas amostras de hidrogeles ficou facilitada a seleção do agente gelificante e respetiva concentração, através da aproximação das suas características às registadas nesta fase do estudo.

4.1.2. DESENVOLVIMENTO GALÉNICO DE UM GEL MÃE CONSISTENTE

4.1.2.1. Desenvolvimento das formulações

A par dos fármacos administrados por via tópica, os polímeros que são utilizados para os veicular assumem particular importância (59). No caso específico do hidrogel que se pretendeu formular com a realização deste trabalho, o estudo da influência da concentração do polímero (agente gelificante) nas características finais do gel assumiu particular importância, de tal forma que se preparou uma série de geles para posteriormente se proceder à seleção da formulação cujas características mais se adaptavam aos objetivos pretendidos. A tabela 17 resume as concentrações usadas dos três polímeros em estudo, utilizando em todas as formulações 5% glicerina e APPI q.b.p.100%.

Tabela 17 - Resumo das concentrações de cada um dos agentes gelificantes estudadas no desenvolvimento galénico da base do gel.

Matéria-prima	Concentração (%) (m/m)							
	0.5	0.75	1.0	1.5	1.75	2.0	2.5	3.0
HEC	0.5	0.75	1.0	1.5	1.75	2.0	2.5	3.0
HPMC	0.5	0.75	1.0	1.5	-	2.0	-	3.0
NaCMC	-	-	1.0	1.5	1.75	2.0	2.5	3.0

De entre todas as preparações, verificou-se que os geles mais consistentes e cujas características mais se adaptavam à formulação pretendida foram, para os três polímeros, os que se situam numa gama de concentrações de polímero entre os 2 e os 3% (m/m). Para além disto, e uma vez que a formulação final se pretendia unidose, o acondicionamento foi pensado através do enchimento de seringas estéreis fechadas com tampas estéreis *luer-lock*. Logo, a formulação deveria ter uma consistência tal que permitisse o fácil enchimento de seringas, aspeto que também foi verificado, tal como mostra a figura 12, assim como a sua administração por pressão do êmbolo da seringa, também deveria ser fácil, sem que a preparação fosse demasiado fluida ou consistente.



Figura 12- Verificação do desempenho das formulações no que respeita ao enchimento e administração, por pressão do êmbolo, utilizando seringas *luer-lock*.

Desta análise verificou-se que os geles preparados com qualquer dos três polímeros na gama de concentração 2-3% (m/m) satisfaziam esta característica.

4.1.2.2. Caracterização das formulações

4.1.2.2.1. Características organolépticas

A tabela 18 resume as características essenciais das formulações obtidas com os diferentes polímeros utilizados no desenvolvimento da base do gel. Dentro do grupo de preparações efetuadas para cada polímero as características registadas (cor, odor e aspeto), regra geral não se alteraram com a variação da concentração do polímero. Por este motivo foi possível agrupar os caracteres organolépticos das diferentes formulações descritas na tabela 18 por grupo de polímero utilizado. Verificou-se para os três polímeros em estudo que, à medida que se aumentava a concentração de agente gelificante, se obtiveram geles mais viscosos e consistentes, sendo que a gama de concentrações abaixo dos 2% (m/m), para os três polímeros, originou sempre geles mais fluidos e menos consistentes cujas características não se adaptavam à formulação pretendida tendo por isso sido eliminadas do estudo.

No que diz respeito à cor, todos os geles obtidos eram incolores, à exceção dos geles preparados com NaCMC que apresentavam inicialmente uma coloração ligeiramente amarelada e que se intensificava após o processo de esterilização. De notar que esta coloração amarelada se revelou proporcional à concentração (% m/m) de NaCMC presente no gel, sendo evidente a partir de 2% mas quase imperceptível nos geles mais fluidos obtidos.

Tabela 18- Resumo das características organolépticas dos geles obtidos com os diferentes polímeros, nas concentrações preparadas, antes e após o processo de esterilização.

Formulações		Características Organolépticas		
		Cor	Odor	Aspetto
Antes Esterilização	HEC	Incolor	Inodoro	Transparente e homogéneo
	HPMC	Incolor	Inodoro	Transparente, brilhante e homogéneo
	NaCMC	Ligeiramente Amarelado	Inodoro	Transparente e homogéneo
Após Esterilização	HEC	Inalterado	Inalterado	Inalterado
	HPMC	Inalterado	Inalterado	Baço, heterogéneo, há formação de “coágulos” difíceis de redispersar
	NaCMC	Amarelo	Inalterado	Inalterado

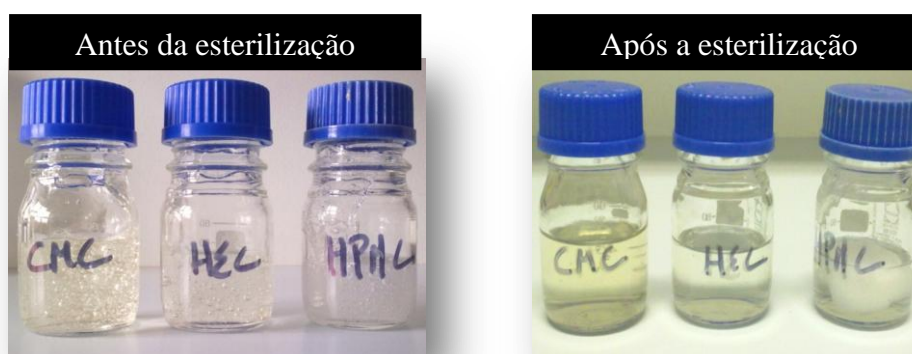


Figura 13 - Aspetto dos geles de NaCMC, HEC e HPMC 3% (m/m) antes e após a esterilização por calor húmido.

Relativamente ao odor nenhum dos geles preparados revelou um odor característico em nenhuma das fases do estudo. No que diz respeito ao aspeto, verificou-se que para todos os geles de HPMC, após a esterilização, ocorreu a formação de estruturas com aspeto de “coágulo ou rede” (figura 13) no interior do gel. Estas estruturas revelaram-se difíceis de redispersar, facto que foi determinante para o abandono das formulações preparadas com HPMC pois, apesar de se tratar de um polímero amplamente utilizado em feridas e preparações oftálmicas, com um ótimo perfil de segurança, a ocorrência destes coágulos após esterilização por autoclavagem, acarreta dificuldades acrescidas na obtenção de um gel homogéneo, pondo em causa a esterilidade do próprio gel. Por estes motivos

eliminaram-se os geles de HPMC, tendo-se prosseguido o estudo com os geles de HEC e NaCMC cujo aspeto se manteve sempre homogéneo.

4.1.2.2. Análise reológica

O estudo das propriedades reológicas das formulações mais consistentes obtidas com HEC e NaCMC teve como objetivo estudar a influência da percentagem de polímero (agente gelificante) na viscosidade final das formulações preparadas e ainda verificar a influência do processo de esterilização e da mistura de APPI (a simular a mistura da solução aquosa de cloridrato de morfina) nos geles obtidos.

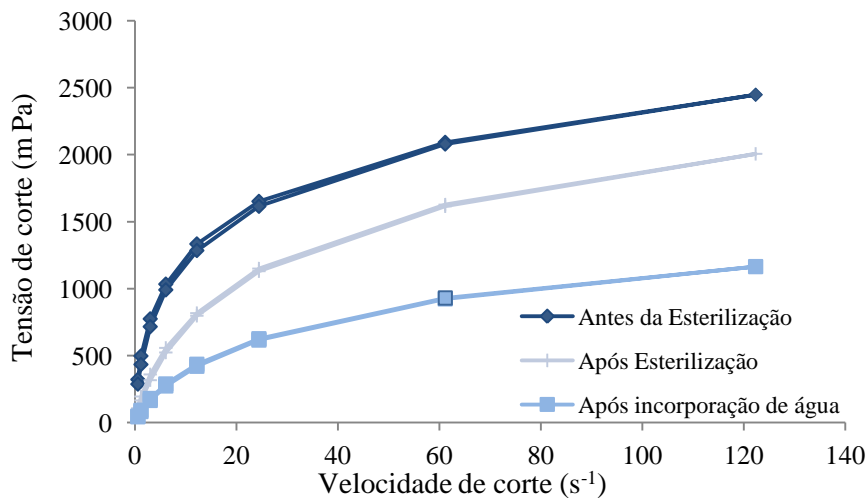


Figura 14- Reogramas da formulação contendo HEC a 3% nas diferentes fases do estudo.

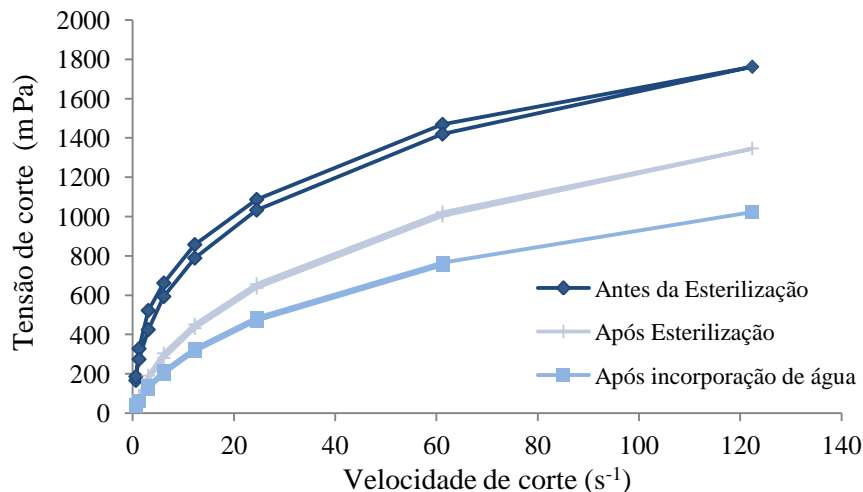


Figura 15 - Reogramas da formulação contendo NaCMC a 3% nas diferentes fases do estudo.

Assim, foram traçados os reogramas de cada uma das formulações obtidas, tendo sido selecionadas as formulações contendo HEC 3% (m/m) e NaCMC 3% (m/m) cuja

consistência era aparentemente a mais adequada às características pretendidas para a formulação final destinada à aplicação em feridas.

A medição reológica deve permitir uma avaliação adequada da característica desejada. É, no entanto, difícil definir o que é uma viscosidade adequada para um produto, a qual deixa de ter sentido quando desenquadrada das necessidades de utilização (7). É bastante importante em qualquer processo de desenvolvimento de um produto que todas as formulações em análise sejam testadas para as tensões de corte e gradientes de corte que supostamente irão sofrer durante a produção, o transporte, o enchimento e a utilização do mesmo (7). Numa fase de investigação e desenvolvimento de formulações, as medições reológicas são usadas para caracterizar a facilidade com que o material pode ser retirado de um frasco, ser apertado num tubo, ou outro recipiente deformável, manter a forma do produto num frasco, ou após a extrusão, espalhar o produto sobre a pele, ou bombear o produto do equipamento onde se procedeu à mistura, ou enchimento. Em última análise, pretende-se que os produtos mantenham as suas propriedades intrínsecas e de escoamento durante o seu prazo de validade (7). O estudo do comportamento reológico dos geles obtidos neste desenvolvimento visou a compreensão das características destas preparações no que se refere ao fluxo. Através da análise das figuras 14 e 15 é possível observar que ambas as preparações (HEC e NaCMC 3%) apresentam um comportamento pseudoplástico que se mantém ao longo das diferentes fases do processo de preparação (esterilização e incorporação de APPI). Este ensaio apoia os dados descritos na bibliografia relativos a uma diminuição de viscosidade da ordem dos 25% para os geles de NaCMC durante a esterilização por autoclavagem (77). A diminuição progressiva da viscosidade após o processo de esterilização e incorporação de água também se registou de igual forma e com intensidade semelhante nas duas preparações, apesar das viscosidades aparentes obtidas para cada velocidade de corte serem ligeiramente inferiores para o gel de NaCMC, o que também diminui a pressão necessária a aplicar ao êmbolo da seringa para administração deste gel. De notar ainda que ambos os reogramas (figuras 14 e 15) se desenvolvem numa gama de valores de viscosidade sobreponíveis ao intervalo de valores obtido aquando da análise do comportamento reológico dos hidrogéis comerciais (figura 11) o que significa que as características de fluxo destas preparações, tal como as comercializadas no mercado, se adequam à esta utilização pretendida.

4.1.2.2.3 Determinação do pH

A tabela 19 resume os valores médios de pH obtidos para as três formulações em estudo. Verificou-se que o maior impacto da esterilização sobre o pH se registou para a preparação de HEC, nos outros dois polímeros o efeito desta variável foi mínimo. No entanto, no caso do gel de HEC, a diminuição do pH ocorreu para valores favoráveis à estabilidade da substância ativa e ao próprio processo de cicatrização das feridas. O mesmo se verificou para o gel de HPMC cujo pH se manteve também num intervalo favorável. O pH mais elevado foi registado para o gel de NaCMC a 3%.

Tabela 19 - Resumo dos valores médios de pH registados para cada um dos geles de HEC, HPMC e NaCMC antes e após a esterilização por autoclavagem.

Formulação	pH à temperatura ambiente (média ± desvio padrão; n=3)	
	Antes da Esterilização	Após Esterilização
HEC (3%)	6,62 ± 0,07	4,77 ± 0,01
HPMC (3%)	4,77 ± 0,06	4,54 ± 0,02
NaCMC (3%)	6,59 ± 0,02	6,37 ± 0,05

Dado que o gel de HPMC já havia sido eliminado do estudo pelas razões já anteriormente descritas, nesta fase foi necessário selecionar de entre a HEC e a NaCMC qual o polímero com as características mais adequadas para o prosseguimento do trabalho. Assim, optou-se pela NaCMC. Apesar de o gel de HEC ter uma viscosidade ligeiramente superior e um ótimo valor de pH para receber a substância ativa, o comportamento reológico da NaCMC também se revelou adequado assim como o valor de pH que, apesar de ligeiramente superior, também é adequado ao ambiente da ferida, proporcionando também condições ótimas à cicatrização. Apesar do gel que se pretendeu formular neste trabalho se destinar ao alívio da dor associada a feridas de origem diversa, pretendia-se uma formulação que proporcionasse também as melhores condições de cicatrização. Foi este o motivo que levou à seleção da NaCMC pois, para além de a sua utilização em preparações deste género estar já muito estudada e concretizada em diversos hidrogéis comercializados no mercado, alguns trabalhos concluem que a sua utilização em feridas é vantajosa pois acelera e promove o processo de cicatrização (70, 76). Uma possível explicação biológica poderá ser o facto de a NaCMC no ambiente da ferida estar negativamente carregada, à

semelhança do que ocorre com as moléculas de glucosaminoglicanos presentes no tecido conjuntivo cutâneo, que se ligam aos fatores de crescimento ativamente secretados para estimular a cicatrização. Assim, a rede de CMC negativamente carregada pode funcionar como reservatório destas moléculas endógenas e biologicamente ativas, as quais podem ser disponibilizadas a uma velocidade constante e ótima para a migração epitelial (70). Para além disto a NaCMC parece facilitar a re-hidratação celular e o eventual desbridamento de tecidos mortos (66).

A partir desta fase todos os ensaios desenvolvidos foram efetuados com o gel de NaCMC dado que foi este o polímero selecionado. Relativamente ao pH desta formulação há ainda a evidenciar o facto de a solução injetável de cloridrato de morfina, utilizada como fonte da substância ativa, apresentar um pH de cerca de 4,8 à temperatura ambiente, o que também poderá contribuir para posteriormente diminuir ainda mais o valor de pH do gel aquando da incorporação da substância ativa.

4.1.3. SELEÇÃO DO CONSERVANTE ANTIMICROBIANO

Os geles anteriormente descritos ao fim de alguns dias após preparação, quer armazenados à temperatura ambiente, quer em frigorífico (2-8°C), apresentavam sinais evidentes de contaminação microbiológica. A figura 16 comprova a presença de pequenas colónias escuras dispersas em vários pontos da estrutura do gel de NaCMC, o que levou a considerar a possibilidade e a necessidade de inclusão de um conservante antimicrobiano na formulação. Paralelamente a esta contaminação verificou-se uma acentuada redução da viscosidade do gel, adquirindo este um aspeto muito fluido. De realçar que esta contaminação poderá ter sido posterior ao processo de esterilização por autoclavagem, no decurso da incorporação de água e/ou estudo do pH e viscosidade nas preparações já atrás descritas (procedimentos não efetuados em assepsia) o que colocou assim de parte a hipótese de ineficácia do processo de esterilização utilizado. A eficácia do método de esterilização só foi possível, tal como descrito adiante, através da realização do ensaio de esterilidade descrito na FP 9.0 (2.6.1).

Apesar de a formulação final se pretender estéril e unidose, e de durante o processo de preparação terem sido tomadas todas as medidas necessárias à obtenção de um produto final com estas características, pensando na realidade da farmácia hospitalar, onde frequentemente são necessárias respostas rápidas à solicitação de medicamentos por parte dos serviços clínicos, a preparação prévia de uma base de gel (gel mãe) torna-se pertinente.

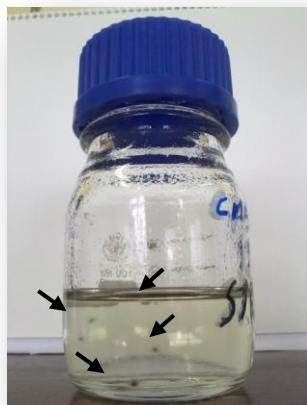


Figura 16- Aspeto turvo do gel de NaCMC 3% (m/m), 20 dias após a preparação, esterilização e incorporação de água – evidência de contaminação microbiana.

Os polímeros que dão estrutura aos geles necessitam normalmente de um período de intumescimento para hidratação da sua rede polimérica, processo este que demora, para a grande maioria dos polímeros disponíveis e em estudo, várias horas. Com a preparação prévia de um gel mãe devidamente estéril e conservado, ficaria agilizada a incorporação da substância ativa e conseqüentemente a preparação e disponibilização do medicamento manipulado. O elevado conteúdo em água que caracteriza os hidrogeles e a presença de uma cadeia polimérica derivada da celulose torna-os suscetíveis à contaminação microbiana. A inclusão de um conservante antimicrobiano nos geles de NaCMC é sugerida na maior parte das monografias relativas a este agente gelificante (77, 79). No entanto, a sua escolha coloca um problema ao farmacêutico formulador: o pH destas soluções é demasiado elevado para a utilização efetiva de ácidos orgânicos e por outro lado a NaCMC é incompatível com sais de amónio quaternário. O metilparabeno por si só não promove uma conservação antimicrobiana adequada, mas a associação com propilparabeno pode ser uma alternativa eficaz (79).

4.1.3.1. Escolha dos conservantes antimicrobianos

No que diz respeito à escolha do conservante antimicrobiano a incluir no gel mãe de NaCMC, descrito anteriormente, foram testados os quatro conservantes anteriormente descritos e cujas concentrações nas respetivas formulações se encontram resumidas na tabela 20. Em todas as formulações foram preparadas com NaCMC a 3% (m/m), a Glicerina a 5% (m/m) e APPI q.b.p.100 g.

Tabela 20 - Resumo das formulações preparadas utilizando os diferentes conservantes antimicrobianos e respectivas concentrações em % (m/m).

Formulação	%(m/m) de conservante antimicrobiano
A	0.2% metiparabeno + 0.02% propilparabeno
B	0.01% de cloreto de benzalcónio
C	0.01% Cloreto de benzalcónio + 0.2% de metilparabeno + 0.02% propilparabeno
D	0.01% di-gluconato de clorohexidina

4.1.3.2. Caracterização das formulações preparadas para seleção do conservante antimicrobiano

4.1.3.2.1. Características organolépticas

Relativamente aos resultados obtidos aquando da preparação das formulações para seleção do conservante antimicrobiano, as figuras 17 e 18 mostram o aspeto das formulações preparadas antes e após o processo de esterilização.

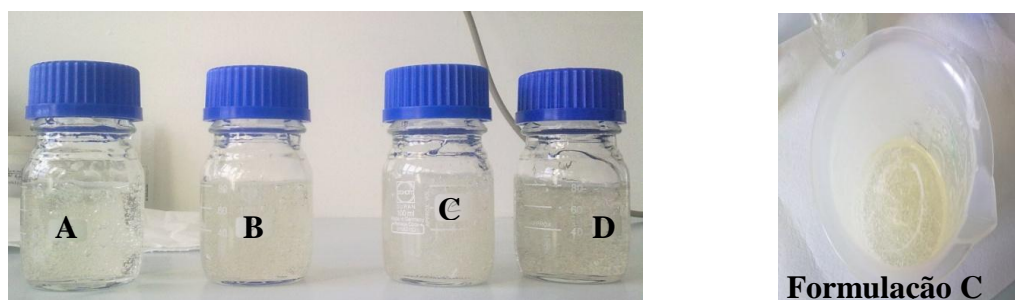


Figura 17 - Aspeto das formulações A, B, C e D antes da esterilização por autoclavagem.

Relativamente ao aspeto antes da esterilização, à exceção da formulação C, não se registaram quaisquer alterações ou sinais de incompatibilidade entre o gel e os conservantes. Nesta formulação foi evidente a incompatibilidade entre o gel e os conservantes pois verificou-se a formação de um aglomerado branco logo após a incorporação da mistura de glicerina com os conservantes no gel.

Na figura 18 é possível observar o aspeto das quatro formulações anteriormente descritas após a esterilização por autoclavagem. Verificou-se a ocorrência de aglomerados brancos, entendidos como sinais de incompatibilidade química em todas as formulações, à exceção da formulação A que continha como conservantes o MP e PP. As formulações C e D apresentavam-se ligeiramente turvas e com grande evidência de incompatibilidade com os conservantes. As formulações A e D tinham um aspeto transparente e homogéneo, apesar de na formulação D (contendo di-gluconato de clorohexidina) ser evidente a

incompatibilidade entre o gel e o conservante, devido à ocorrência de um pequeno aglomerado à superfície do gel. A coloração ligeiramente amarelada era comum a todas as formulações. Nesta fase, após a esterilização, foi possível identificar a incompatibilidade entre o gel e os conservantes no que diz respeito às formulações B e D, dado que para a C este aspeto já era evidente antes da esterilização. Deste modo, e tal como referido anteriormente, não foi possível apurar, para as formulações B e D se esta incompatibilidade terá ocorrido logo após a mistura do gel com os conservantes (imperceptível devido ao ar incorporado aquando da agitação) ou se, por outro lado, o aumento da temperatura durante a esterilização poderá ter contribuído para esta incompatibilidade. De qualquer forma, e visto que no desenvolvimento deste trabalho a esterilização por autoclavagem assume uma enorme importância, tendo em conta a natureza do gel a desenvolver, a única opção viável, de entre as estudadas, foi a formulação A que continha a mistura de parabenos (0,2% MP + 0,02% PP) e cujo aspeto era límpido, transparente e homogéneo.

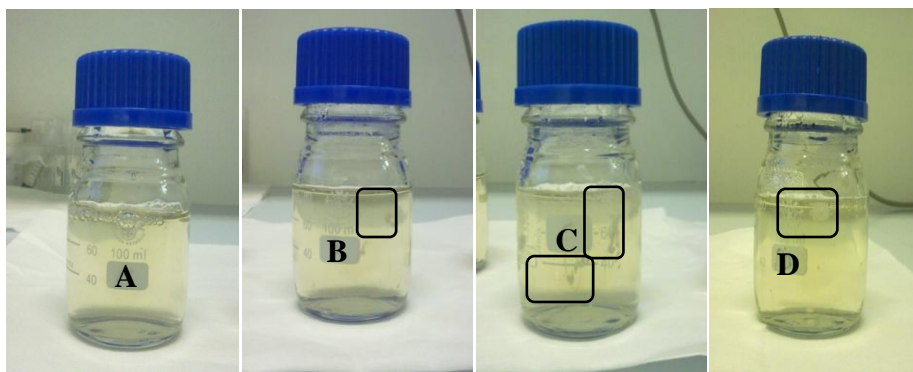


Figura 18 - Aspeto das formulações A, B, C e D após a esterilização por autoclavagem. Para cada formulação encontram-se assinalados os aglomerados brancos observados nas formulações B, C e D.

Na sequência da incompatibilidade observada com a clorhexidina, uma pesquisa bibliográfica mais aprofundada acabou por confirmar que os sais de clorhexidina são incompatíveis com materiais viscosos como a goma de acácia, o alginato de sódio, a carboximetilcelulose sódica, o amido e a goma tragacanta (77). Quanto ao cloreto de benzalcónio, a incompatibilidade potencial descrita na bibliografia ficou comprovada para os geles de NaCMC como foi possível observar através da realização deste ensaio.

Tendo em conta os resultados obtidos, optou-se por seleccionar os parabenos como conservantes antimicrobianos a incluir na formulação em desenvolvimento.

4.1.3.2. Determinação do pH da formulação selecionada

O pH da formulação A foi determinado à temperatura ambiente e resumido na tabela 21:

Tabela 21- Resumo dos valores de pH para a formulação A (contendo parabenos) antes e após a esterilização.

Formulação	pH à temperatura ambiente (média ± desvio padrão; n=3)	
	Antes da Esterilização	Após Esterilização
A	6,57 ± 0,02	6,49 ± 0,04

A análise dos dados relativos à determinação do pH, à semelhança do que já havia sido observado anteriormente, revelou um valor compatível e favorável ao processo de cicatrização nas feridas em geral. Apesar do valor de pH da formulação, após a esterilização, ser próximo do valor do pKa do cloridrato de morfina (6,5) não se considerou que este facto fosse de grande importância dado que se previa ainda um abaixamento do valor do pH final da formulação, aquando da incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina (pH cerca de 4,8).

4.1.3.3. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos para seleção da concentração do conservante.

A toxicidade associada aos conservantes antimicrobianos é muitas vezes um fator limitante da sua utilização em algumas fórmulas galénicas destinadas a vias de administração mais sensíveis (parentérica e oftálmica). Este princípio também se adequa às preparações desenvolvidas para aplicação tópica em feridas. A FP 9.0, indiretamente, faz referência a este aspeto através dos critérios de eficácia definidos no ensaio de eficácia de conservantes. Neste ensaio são considerados os critérios B, menos exigentes que os A, mas que podem ser utilizados para validar este ensaio em situações específicas e devidamente justificadas em que a concentração da conservante necessária para atingir os critérios A poderia acarretar efeitos indesejáveis. No caso específico da formulação a desenvolver para aplicação tópica em feridas, pretendia-se uma quantidade mínima de conservante antimicrobiano, capaz de impedir a invasão microbiana da preparação, sem por outro lado, desencadear reações locais de hipersensibilidade. Assim, neste estudo e dada a necessidade de incluir um conservante na formulação, optou-se por iniciar a preparação da formulação contendo conservante com metade do teor em parabenos habitualmente descrito na literatura (formulação 2). Isto é, em vez de se utilizar a associação de 0,2% MP com 0,02% PP (79), empiricamente iniciou-se o estudo de eficácia de conservantes com metade destas

concentrações, ou seja, 0,1% MP e 0,01% PP. Atendendo à sensibilidade dos tecidos na área da ferida, caso esta concentração se revelasse eficaz, seria uma alternativa mais adequada à preparação em questão, minimizando eventuais efeitos frequentemente alergizantes associados aos parabenos. Deste modo, procedeu-se à preparação das formulações acima descritas, contendo já a substância ativa, e cujo acondicionamento primário foi feito em seringas (embalagem final da formulação a desenvolver) para estudar o desempenho do conservante na formulação, não só na presença dos excipientes, mas também da substância ativa e nas condições finais de utilização. A figura 19.A mostra o aspeto dos geles obtidos com as formulações 1 e 2, antes da incorporação da substância ativa e do fracionamento e acondicionamento. Na figura 19.B é possível observar as seringas contendo o gel de cloridrato de morfina a 0,125% correspondente às duas formulações em estudo.

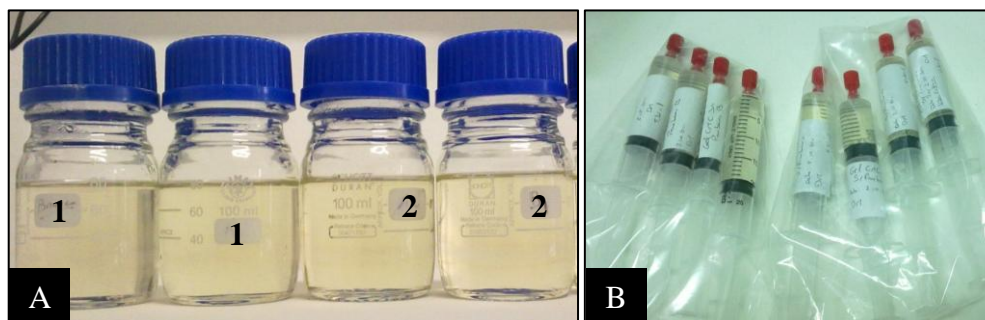


Figura 19- **A.** Aspeto das formulações 1 e 2 após esterilização, antes da incorporação da substância ativa. **B.** Aspeto das formulações 1 e 2, acondicionadas em seringas estéreis de 20 mL, fechadas com tampas *luer-lock*, utilizadas na realização do ensaio de eficácia de conservantes.

O ensaio de eficácia dos conservantes é aplicado a formulações no seu material de acondicionamento final para determinar se o conservante utilizado na formulação em estudo protege, ou não, a formulação da contaminação microbiológica (4).

A segunda fase deste ensaio consistiu no estudo da eficácia da conservação antimicrobiana alcançada pela mistura de conservantes selecionada, neste caso o MP e o PP. Confrontando os resultados obtidos da tabela 22 com os critérios de eficácia descritos na tabela 13, verifica-se que, tal como era esperado, na formulação 1 (desprovida de qualquer conservante) o crescimento de bactérias e fungos se manteve praticamente ao longo de todo o ensaio. A ausência de conservante e o polímero derivado da celulose (NaCMC), que constitui um bom meio nutritivo, poderão ter sido responsáveis pela manutenção deste crescimento, o que comprova que a formulação base, por si só, não tem qualquer eficácia conservante e, pelo contrário, confere as condições nutritivas necessárias à manutenção do

crescimento dos microrganismos. Aplicando os critérios A e/ou B para aceitação de eficácia conservante, verifica-se que não há eficácia para a formulação 1. Para a formulação 2, no que diz respeito à *P. aeruginosa*, de acordo com os critérios B, o conservante utilizado é eficaz, pois regista-se uma redução logarítmica, relativamente ao inóculo, de 2 e não de 1 como era exigido para as 24 h. Nas contagens relativas aos tempos subsequentes não se verificou aumento, mas sim uma diminuição da contagem de ufc/mL de gel. No que diz respeito ao *S. aureus*, aplicando os critérios B, os resultados foram semelhantes aos obtidos para a *P. aeruginosa*, sendo que aos 14 dias já não foi possível contar qualquer ufc, logo para este microrganismo também se verificou eficácia do conservante.

Relativamente aos fungos verificou-se eficácia do conservante aplicando os critérios A dado que aos 7 dias foi possível observar uma redução logarítmica superior a 2, que se manteve até ao final do ensaio. Estes resultados apoiaram a utilização de uma concentração de MP e PP mais baixa, pois a sua eficácia conservante ficou assim comprovada, sendo assim possível manter a conservação antimicrobiana da preparação utilizando uma concentração mais baixa de parabenos, relativamente à descrita na bibliografia, e minimizando-se assim o potencial de ocorrência de reações alérgicas locais face à aplicação desta preparação em feridas.

Tabela 22 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para as 2 formulações estudadas ao longo do ensaio de eficácia de conservantes.

Formulação	Estirpes	Tempo (dias)						
		Inóculo	0	0.25	1	7	14	28
		UFC/ ml						
Água (controlo negativo)		0	0	0	0	0	0	0
1 (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	3,68x10 ⁸	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶
	<i>S. aureus</i>	1,13x10 ⁸	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	14	0
	<i>C. albicans</i>	2,3 x10 ⁷	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	0
	<i>A. niger</i>	6,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶
2 (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	3,68x10 ⁸	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	448	54	0
	<i>S. aureus</i>	1,13x10 ⁸	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	150	0	0
	<i>C. albicans</i>	2,3 x10 ⁷	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	485	150	0
	<i>A. niger</i>	6,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	≥ 3,0 x 10 ⁶	584	6	0

4.1.4.OPTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PREPARAÇÃO DA FORMULAÇÃO

Na sequência dos ensaios e raciocínios anteriormente descritos, chegou-se à seguinte formulação para preparação de um gel de cloridrato de morfina para aplicação tópica em feridas dolorosas (Tabela 23):

Tabela 23 - Resumo da composição da formulação

Matéria-prima	Composição em % (m/m)
NaCMC	3,00
Glicerina	5,00
Metilparabeno	0,100
Propilparabeno	0,0100
APPI	q.b.p. 100
Cloridrato de morfina	0,125

Na sequência da análise por HPLC (Anexo 1) da formulação selecionada (tabela 23), e comparativamente aos cromatogramas obtidos para as soluções padrão em análise, verificou-se a presença de um pico de origem desconhecida – figura 20 (tempo de retenção ≈ 1.44 min.) e cuja presença não se registava em nenhum dos cromatogramas relativos à análise individual das soluções padrão relativas aos restantes constituintes da formulação. O cloridrato de morfina apresenta um tempo de retenção (TR) de aproximadamente 1,2 min enquanto os parabenos (MP e PP) têm TR de 2,53 e 5,76 min, respetivamente.

Procedeu-se então à identificação da origem deste pico desconhecido através da análise de formulações com e sem parabenos, tendo sido concluído que o seu aparecimento se devia à degradação dos parabenos durante o processo de esterilização. A comparação entre cromatogramas das formulações descritas na tabela 24 permitiu comprovar esta hipótese.

Deste modo, foi repensada a forma de incluir a mistura de MP e PP na formulação do gel de morfina a 0,125% m/m, após o processo de esterilização, de forma a não causar a degradação do conservante antimicrobiano. Assim, preparou-se uma solução de concentrado de parabenos semelhante à descrita no Formulário Galénico Português

(FGP) B.8, mas com a proporção de MP e PP já anteriormente estudada e descrita no ensaio de eficácia de conservantes.

Tabela 24 - Resumo da composição das formulações preparadas para análise por HPLC.

Matéria-prima	Composição em % (m/m) das formulações			
	A	B	C	D
NaCMC	3,0	3,0	3,0	3,0
Glicerina	5,0	5,0	5,0	5,0
MP	-	-	0,1	0,1
PP	-	-	0,01	0,01
APPI	q.b.p. 100	q.b.p. 100	q.b.p. 100	q.b.p. 100
Cloridrato de morfina	-	0.125	-	-
Formulação submetida a Esterilização	Sim	Sim	Sim	Não

Uma vez preparado este concentrado de parabenos, foi então possível a sua incorporação, após filtração esterilizante, na base do gel já previamente esterilizada em autoclave, utilizando para este efeito a técnica asséptica em câmara de fluxo de ar laminar horizontal. Este procedimento apresenta ainda a vantagem de permitir a adição do conservante antimicrobiano apenas quando estritamente necessário.

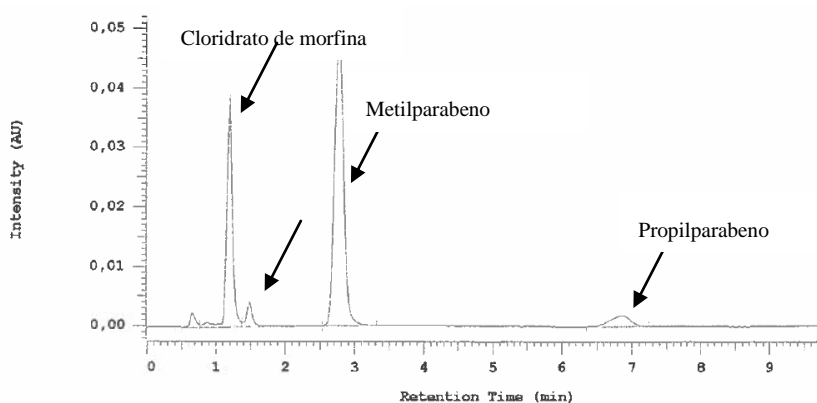


Figura 20 - Cromatograma da formulação de gel de cloridrato de morfina a 0.125% (m/m) descrita na tabela 23.

As preparações de elevada viscosidade são desvantajosas quando se pretende dissolver um fármaco. A difusão e consequentemente a taxa de dissolução diminuem à medida

que aumenta a viscosidade. É por este motivo que em formulação não se dissolve diretamente o fármaco em veículos viscosos, mas sim previamente numa quantidade mínima de água ou outro solvente de baixa viscosidade que é posteriormente incorporado no veículo mais viscoso (79). No caso específico desta formulação esta questão não se coloca uma vez que a substância ativa já se encontra sob a forma de solução injetável. De qualquer modo, para garantir uma correta homogeneização da mistura de gel mãe com a solução de concentrado de parabenos e com a solução injetável de substância ativa, após a agitação utilizando uma vareta de vidro estéril, submeteu-se a mistura à agitação mecânica no agitador YellowLine® a 400rpm durante 30 minutos.

De acordo com o raciocínio já anteriormente desenvolvido, no que diz respeito à preparação de um gel mãe devidamente esterilizado e conservado, disponível em stock para a preparação do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), a mistura em câmara de fluxo de ar laminar horizontal da solução de concentrado de parabenos no gel previamente esterilizado, completa a preparação desta formulação mãe. A incorporação da solução injetável contendo a substância ativa pode não acontecer logo, mas apenas quando for necessária a preparação do gel para dispensa.

O facto de inicialmente, aquando da escolha do agente humectante se ter optado pela glicerina em detrimento do propilenoglicol ficou a dever-se ao facto de esta, em contacto com a pele ser menos irritante que o propilenoglicol. Uma vez que a preparação a desenvolver se pretendia o mais suave possível, com vista à aplicação em feridas, optou-se por não se utilizar o propilenoglicol. No entanto, pelas razões já anteriormente descritas, foi necessário preparar um concentrado de parabenos utilizando o propilenoglicol, incluindo-se assim, indiretamente, este excipiente na formulação final. Esta decisão foi tomada com alguma segurança pois a percentagem de concentrado de parabenos na formulação final é reduzida (cerca de 1%) e para além disto, o propilenoglicol também entra na composição de uma das formulações de hidrogéis disponíveis no mercado para aplicação em feridas, o IntraSite®Gel, e cuja utilização se tem revelado segura.

4.1.4.1. Análise da formulação, obtida com a nova metodologia de preparação.

A figura 21 mostra o cromatograma relativo à preparação anteriormente descrita, onde foi possível verificar que, não se observou qualquer pico correspondente a nenhuma substância para além das que constituem a formulação, ou seja, ficou assim resolvida uma eventual degradação dos parabenos que decorria do processo de esterilização.

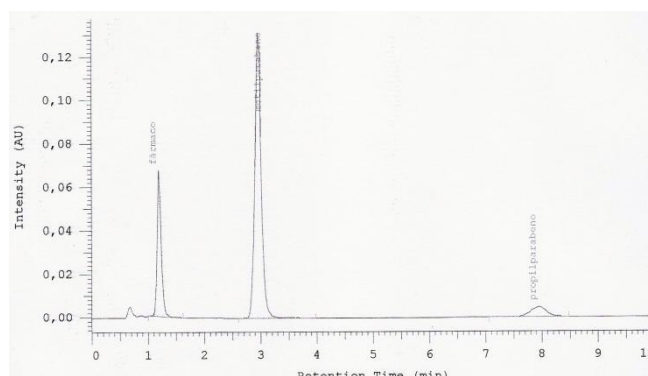


Figura 21 - Cromatograma da formulação obtida de acordo com a alteração da metodologia de preparação.

Neste cromatograma é possível verificar um pico com TR de 1,22 min, correspondente ao cloridrato de morfina, outro com TR de $\approx 3,0$ min relativo ao metilparabeno e finalmente o propilparabeno com TR de $\approx 7,9$ min.

4.2. GEL FLUIDO

4.2.1. SELEÇÃO DO MATERIAL DE EMBALAGEM COM O DOSEADOR INTEGRADO A UTILIZAR PARA O GEL FLUIDO.

Dado que nesta fase ainda não estava definida a concentração de NaCMC a utilizar na formulação do gel fluido, realizou-se o ensaio anteriormente descrito utilizando para o enchimento dos frascos a estudar a APPI.

Os resultados relativos às massas das 20 doses recolhidas com o recipiente selecionado encontram-se resumidos na tabela 25. A análise dos resultados permite concluir que há uniformidade de massa entre as doses dispensadas por este dispositivo doseador. Nenhuma das 20 amostras apresenta um desvio relativamente à média superior a 10 nem 20%, além disto, o valor das massas individuais obtidas para cada dose varia muito pouco, o que é notório pelo baixo valor obtido para o desvio-padrão. Com base nestes

dados selecionou-se o frasco de vidro e o respetivo doseador acoplado com rosca, para material de embalagem da formulação de gel fluido de cloridrato de morfina a desenvolver para aplicação por pulverização cutânea.

Tabela 25- Resultados do ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada pelo frasco multidose selecionado.

Massa média da dose dispensada (g) (n=20)	0,1409 g
Desvio Padrão	0,0021 g
Número de doses com desvio superior a 10%	0
Número de doses com desvio superior a 20%	00

Tendo em conta a massa média da dose obtida para uma pulverização (≈ 141 mg) foi necessário definir a concentração do gel a preparar, pois mantendo a concentração de 0,125% (m/m) em cloridrato de morfina seriam necessárias cerca de 70 pulverizações para se obter a mesma dose de cloridrato de morfina correspondente a 10 g de gel consistente (correspondente a 1 seringa unidose). Foi então necessário concentrar o gel no que diz respeito ao seu teor em substância ativa, para que, com um valor médio aceitável de 3 a 4 pulverizações por toma, se obtivesse uma dose razoável de substância ativa, próxima dos cerca de 10mg veiculados pelas seringas unidose de gel consistente. A todos estes aspetos foi necessário somar o facto de para a preparação deste gel se utilizar uma solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v, disponível em ampolas de 10 mL.

Assim, considerando que uma toma corresponde a 3 pulverizações obtidas a partir do frasco de vidro de 10 mL com dispositivo doseador integrado, se a massa média de cada pulverização for aproximadamente 140 mg, uma toma corresponderá a 420 mg de gel fluido. Se nesta massa de gel fluido fossem veiculados 10mg de cloridrato de morfina, isto corresponderia a uma concentração de 2,3% (m/m), ou seja, uma concentração superior à solução injetável de cloridrato de morfina disponível para a preparação. Utilizando uma concentração de 1% (m/m) em cloridrato de morfina, as mesmas 420 mg de gel fluido correspondentes a 3 pulverizações corresponderiam a cerca de 4,2 mg de substância ativa (ou seja, 1,4 mg por pulverização). Esta concentração nominal para a formulação final já se revelou mais adequada à preparação, pois incorporando um volume igual de gel base fluido e de solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v, obtém-se uma preparação final com metade da concentração em substância ativa (1% m/m).

Tendo em conta que cada ampola de solução injetável contém 200mg de cloridrato de morfina em 10mL de solução, aquando da formulação de um gel mais concentrado foi necessário ter em consideração o volume inerente à solução injetável.

4.2.2. DESENVOLVIMENTO GALÉNICO DE UM GEL MÃE FLUIDO

Uma vez que esta formulação resulta da otimização da formulação descrita na primeira parte, o polímero utilizado para o desenvolvimento do gel fluido foi o mesmo, a carboximetilcelulose sódica (NaCMC). Para escolha da concentração do agente gelificante foram preparados vários geles fluidos com concentrações crescentes de NaCMC, de acordo com a técnica de preparação da formulação final do gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m). À semelhança do gel consistente anteriormente descrito, também para esta preparação mais fluida se pretendia o desenvolvimento de um gel mãe para ser mantido em stock, destinado à rápida preparação de um lote de gel fluido sempre que necessário no âmbito da preparação de medicamentos manipulados em Farmácia Hospitalar.

Tal como referido anteriormente, dado que se pretendia preparar um gel fluido de cloridrato de morfina a 1% (m/m) e que esta preparação seria feita a partir da mistura de solução injetável de cloridrato de morfina a 2% (p/v) com a base do gel fluido a desenvolver, então esta preparação deveria ser feita para que todos os seus ingredientes tivessem o dobro da concentração relativamente à formulação final. Desta forma, incorporando a base do gel fluido e a solução injetável de cloridrato de morfina em partes iguais, na formulação final, tanto os componentes da base do gel como o cloridrato de morfina vão assumir metade da sua concentração inicial. Este aspeto foi tido em consideração no desenvolvimento do gel. Para evitar o desperdício de solução injetável de cloridrato de morfina, à semelhança do que foi descrito para o gel consistente, optou-se por utilizar APPI na preparação dos geles fluidos em lugar da solução injetável de cloridrato de morfina.

4.2.2.1. Desenvolvimento das formulações fluidas

O desenvolvimento galénico da base do gel fluido a desenvolver partiu da formulação relativa ao gel consistente de cloridrato de morfina anteriormente desenvolvido. Assim, tal como já anteriormente referido manteve-se a composição qualitativa da formulação, alterando-se apenas as percentagens relativas a cada uma das matérias-primas. Pelo facto de o gel mãe a desenvolver ser adicionado à solução injetável de cloridrato de

morfina a 2% p/v em partes iguais, a concentração de cada um dos seus ingredientes foi duplicada na base do gel de modo a que a percentagem final de cada um passasse a metade aquando da mistura com a solução injetável de cloridrato de morfina a 2% p/v. Assim, a formulação final obtida teria a mesma composição qualitativa e quantitativa da formulação correspondente ao gel consistente, variando apenas a concentração do agente gelificante – a NaCMC e da substância ativa.

A tabela 26 resume a composição das formulações preparadas para o desenvolvimento galénico da base do gel fluido. Na preparação destas formulações utilizaram-se sucessivamente concentrações mais baixas de NaCMC relativamente às formulações inicialmente obtidas no desenvolvimento galénico do gel consistente.

Tabela 26 - Resumo das concentrações de NaCMC estudadas no desenvolvimento galénico da base do gel fluido.

Matéria-prima	Concentração (%) (m/m)				
NaCMC	1,0	0,75	0,50	0,25	0,125
Glicerina	10,0				
Concentrado de Parabenos (MP e PP)	0,2% MP + 0,02PP				
APPI	q.b.p. 100				

Todas as preparações revelaram um aspeto fluido que se acentuava com a redução da % (m/m) de NaCMC nas formulações. Ao contrário das preparações mais consistentes não se verificou o amarelecimento dos geles após o processo de esterilização, apresentando-se todos eles incolores, transparentes, inodoros e com aspeto fluido e homogéneo (figura 22).



Figura 22 - Aspeto dos geles mãe fluidos obtidos.

4.2.2.2. Seleção da formulação



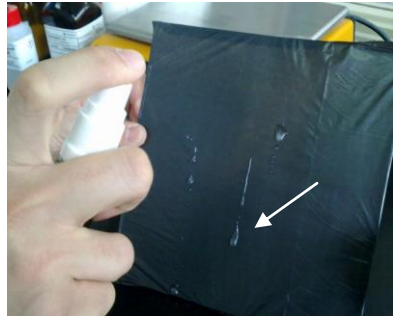
A seleção da formulação de gel mãe fluido mais adequada à preparação do gel de cloridrato de morfina para pulverização foi feita de acordo com ensaio anteriormente descrito. Antes da realização deste ensaio, foram preparadas misturas de APPI com cada uma das formulações acima descritas em partes iguais, apresentando-se na tabela 27 a concentração final de cada excipiente após a incorporação da APPI simulando a adição da solução injetável de cloridrato de morfina (1:1). Nesta tabela estão apenas descritas as formulações mais fluidas obtidas, tendo-se logo à partida eliminado a formulação correspondente a 0,0625% NaCMC (m/m) por ser demasiado fluida e a formulação correspondente a 0,375% NaCMC (m/m) por apresentar características muito semelhantes à formulação 0,25% NaCMC (m/m). Nesta tabela estão descritas as três formulações com as quais foi feito o enchimento do frasco descrito na tabela 11 e previamente selecionado.

Tabela 27 – Composição final das formulações fluidas desenvolvidas para seleção da base do gel fluido.

Matéria-Prima	Concentração (%) (m/m)		
NaCMC	0,5	0,25	0,125
Glicerina	5,0		
Concentrado de Parabenos (MP+PP)	0,1 MP + 0,01PP		
APPI	q.b.p.100		

A tabela 28 resume o desempenho das três formulações candidatas à formulação da base do gel fluido aquando da sua pulverização utilizando o frasco selecionado. Os dados obtidos com a realização deste ensaio levaram à seleção da formulação final contendo NaCMC a 0,25% (m/m), ou seja, a base do gel fluido deveria ser preparada com 0,5% (m/m) de NaCMC de modo a que, aquando da incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina, a preparação final tivesse o mesmo comportamento relativamente à pulverização que a formulação NaCMC 0,25% acima descrita.

Tabela 28- Resumo do desempenho das formulações fluidas aquando da sua pulverização utilizando o frasco 2.

Formulação		
NaCMC 0,125% (m/m)	NaCMC 0,25% (m/m)	NaCMC 0,5% (m/m)
		
Distribuição de pequenas gotículas numa grande área, com baixa aderência das gotículas à superfície vertical	Distribuição de pequenas gotículas abrangendo uma grande área, com boa aderência à superfície vertical.	Obtenção de grandes gotículas de gel em pontos específicos, que pelo seu tamanho apresentavam baixa aderência à superfície vertical.

Ainda relativamente aos resultados descritos nesta tabela, eliminou-se a formulação contendo 0,5% NaCMC (m/m) pois as gotículas originadas aquando da pulverização eram demasiado grandes e dispersavam-se numa área muito restrita e direcionada, o que não seria vantajoso dado que a formulação que se pretendia desenvolver se destinava a lesões extensas e/ou locais de difícil acesso, com o intuito de facilitar o acesso da formulação a uma maior área afetada (ex. queimaduras e lesões axilares ou decorrentes de ulceração vaginal). A formulação 0,125% NaCMC (m/m) também acabou por ser eliminada pois apesar de originar uma dispersão de pequenas gotículas de gel sobre uma área considerável, a baixa concentração do agente gelificante na formulação impedia que as gotículas se mantivessem aderidas à superfície vertical, escorrendo. O conceito aqui empregue é o mesmo que se aplica à formulação de colírios, pois neste tipo de formulações um ligeiro aumento da viscosidade, com a utilização de um polímero viscosante, faz com que as gotas obtidas com estas formulações se mantenham no olho aquando da sua aplicação (62). Isto consegue-se à custa do aumento da tensão superficial destas gotas, pois o agente viscosante utilizado aumenta a interação entre as moléculas que constituem a gotícula em questão, diminuindo o ângulo de contacto com a superfície onde são aplicadas, o que faz com que permaneçam mais tempo no local de aplicação (figura 23)(4).

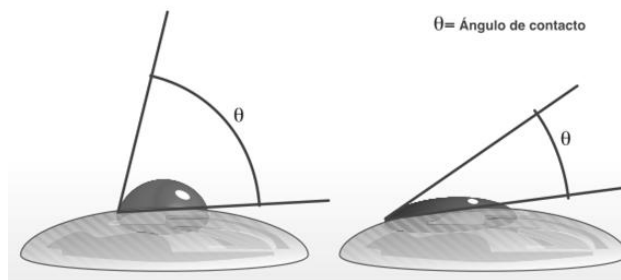


Figura 23 - Representação esquemática dos diferentes ângulos de contacto formados entre gotículas de uma solução com diferentes concentrações de agente viscosante e a superfície de aplicação (86).

Comparando o exemplo anteriormente citado com o comportamento das gotículas obtidas pela pulverização das formulações contendo NaCMC 0,125% e 0,25% (m/m) descritas na tabela 29, o maior teor em NaCMC presente na formulação contendo 0,25% (m/m) neste agente gelificante terá contribuído para a obtenção de gotículas com uma maior tensão superficial e conseqüentemente com um menor ângulo de contacto, fatores que terão sido responsáveis pela maior aderência das gotículas formadas à superfície de impactação vertical. A formulação contendo NaCMC 0,125% (m/m) apesar de originar gotículas pequenas que se dispersavam numa grande área de superfície, originou gotículas com uma menor tensão superficial (devido à concentração inferior em NaCMC), o que se traduziu na formação de um maior ângulo de contacto com a superfície vertical e conseqüente mobilidade das mesmas, motivo que levou à sua eliminação.

4.2.2.3. Caracterização da formulação selecionada.

A composição qualitativa e quantitativa da formulação selecionada para base do gel fluido de cloridrato de morfina a 1% (m/m) encontra-se resumida na tabela 29.

Tabela 29- Composição qualitativa e quantitativa do gel mãe fluido utilizado como base na preparação do gel de cloridrato de morfina a 1% (m/m) para pulverização cutânea.

Matéria-Prima	Concentração (%) (m/m)
NaCMC	0,5
Glicerina	10,0
Concentrado de Parabenos (MP+PP)	0,2 MP + 0,02PP
APPI	q.b.p.100

4.2.2.3.1. Características organolépticas

O gel mãe fluido apresentava-se incolor, inodoro e com aspeto fluido, homogéneo e pouco viscoso.

4.2.2.3.2. Análise reológica

A caracterização reológica do gel mãe fluido acima descrito originou o reograma da figura 24.

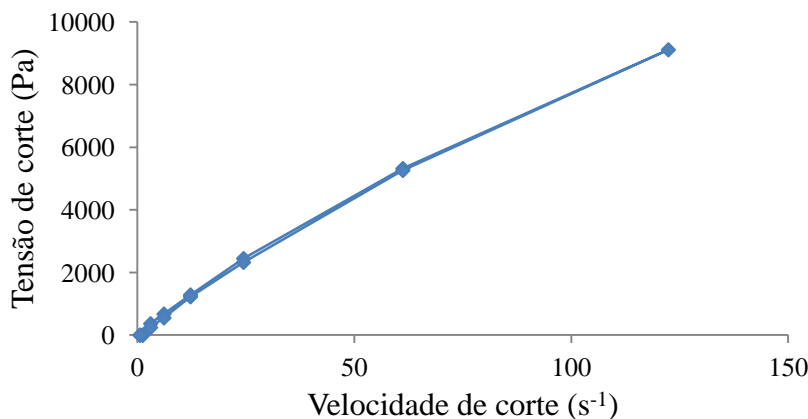


Figura 24 – Reograma da formulação de gel mãe fluido contendo NaCMC a 0,5% (m/m).

A análise deste reograma mostra uma formulação com um comportamento pseudoplástico. Nesta formulação, ao contrário do que se observava para o gel consistente, não se verifica tixotropia, provavelmente devido à menor concentração de agente gelificante presente nesta formulação, o que faz com que não se verifique o alinhamento das macromoléculas do polímero no sentido da força de corte aplicada, responsável pelos valores de viscosidade mais baixos obtidos para velocidades de corte decrescentes nos geles mais consistentes. De uma maneira geral, verificou-se para esta formulação um decréscimo acentuado na viscosidade relativamente à formulação do gel consistente (NaCMC 3,0% m/m) e cujo fluxo se adequa à utilização por pulverização com um dispositivo doseador, pois a pressão manual exercida sobre este dispositivo revelou-se eficaz na pulverização desta formulação, depois de diluída (1:1), tal como referido na tabela 28.

4.2.2.3.3. Determinação do pH

O pH do gel mãe fluido contendo NaCMC a 0,5% (m/m) revelou-se adequado à incorporação da substância ativa pois apresenta-se abaixo do valor do pKa do cloridrato

de morfina. O valor obtido ($6,22 \pm 0,04$) revelou-se também adequado ao intervalo de valores de pH favorável ao processo de cicatrização de feridas.

5. Formulações Finais

5.1. GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125% (M/M)

Alterada a técnica de preparação do gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), prepararam-se 160 g de gel, de acordo com a formulação e técnica de preparação anteriormente descritas e procedeu-se à sua caracterização no que diz respeito aos caracteres organoléticos, ao pH, viscosidade aparente, massa volúmica e doseamento do teor em substância ativa por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

5.1.1. Características organoléticas

Tabela 30- Resumo das características organolépticas da formulação final consistente.

Formulação	Características organoléticas		
	Cor	Aspetto	Odor
Gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m)	Amarelado	Consistente, homogéneo e transparente	Inodoro

As características organolépticas da formulação final encontram-se resumidas na tabela 30. A alteração na metodologia de preparação desta formulação não se traduziu em nenhuma alteração das características organolépticas relativamente ao gel obtido com a técnica de preparação anterior. O gel apresentou-se consistente, transparente, homogéneo, inodoro e com uma coloração ligeiramente amarelada.

5.1.2. Determinação do pH

No que diz respeito à determinação do pH da formulação, o valor obtido de $6,35 \pm 0,02$ (média \pm desvio-padrão; $n=3$ a 22°C), tal como já foi referido anteriormente, adequa-se perfeitamente à aplicação no leito de uma ferida, sendo este valor favorável à promoção do processo de cicatrização e ideal para a estabilidade da substância ativa, uma vez que este valor de pH se encontra abaixo do pKa do cloridrato de morfina.

5.1.3.Determinação da viscosidade aparente

O valor médio da viscosidade aparente ($52933 \pm 2052,6$ mPa.s, a $6,12 \text{ s}^{-1}$, agulha nº7) determinada para a formulação final encontra-se de acordo com o intervalo de resultados obtido nos estudos preliminares.

5.1.4.Determinação da massa volúmica do gel

A determinação da massa volúmica do gel revelou-se útil para a fase de fracionamento e enchimento do gel. Assim, dado que este valor obtido ($1,021 \text{ g/cm}^3$, valor médio para $n=3$) é muito próximo de 1,0 o fracionamento do gel pode ser volumétrico, sendo que 10 mL de gel a dispensar numa seringa estéril correspondem a aproximadamente 10 g de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), o que é vantajoso, do ponto de vista do enchimento, pois fica facilitado o cálculo do volume/massa de gel a dispensar, em função da dose de cloridrato de morfina que se pretende administrar, de acordo com a prescrição médica.

5.1.5.Doseamento do cloridrato de morfina

Efetou-se o doseamento do cloridrato de morfina através da determinação da percentagem de recuperação da substância ativa na formulação final, pelo método de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) desenvolvido e validado para o efeito (Anexo I). Este ensaio foi realizado em triplicado e os resultados obtidos encontram-se resumidos na tabela 31. A par da determinação da percentagem de recuperação da substância ativa, foi também efetuada a determinação da recuperação em % para o MP e PP presentes na formulação.

Tabela 31 - Valores da percentagem de recuperação do cloridrato de morfina, do metilparabeno e do propilparabeno na formulação final (média \pm desvio-padrão; $n=3$)

Formulação	Recuperação (%)		
	Cloridrato de morfina	Metilparabeno	Propilparabeno
Gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m)	$108,7 \pm 1,04$	$107,7 \pm 0,29$	$104,5 \pm 6,20$

As percentagens de recuperação do cloridrato de morfina, do MP e PP obtidas estão dentro do limite de especificação habitualmente definido para os medicamentos manipulados (90-110%), segundo a USP 2007 (87) .

5.1.6. Ensaio de eficácia de conservantes

Alterada a técnica de preparação do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) e uma vez que se introduziu na formulação final uma solução de concentrado de parabenos, foi necessário validar novamente a eficácia do conservante na preparação. A tabela 32 resume os resultados obtidos na realização deste ensaio. A utilização do concentrado de parabenos, cuja preparação foi anteriormente descrita, revelou-se eficaz na conservação da formulação final. De acordo com os critérios de eficácia definidos na FP 9.0, verifica-se que a mistura conservante na concentração utilizada foi eficaz seguindo os critérios B, quer para as bactérias, quer para os fungos em estudo. Pelo facto de se pretender ter uma preparação de gel mãe de NaCMC a 3% (m/m) contendo parabenos previamente preparada em stock e disponível para a preparação do gel de cloridrato de morfina a 0,125%, foi pertinente o estudo da eficácia do conservante antimicrobiano apenas nesta preparação, sem o cloridrato de morfina. Este ensaio foi realizado no âmbito do estudo de estabilidade do gel mãe, estando os seus resultados resumidos na

III Parte deste trabalho.

Tabela 32 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para a formulação final.

Formulação	Estirpes	Tempo (dias)						
		Inóculo	0	0.25	1	7	14	28
		UFC/ ml						
Água (controlo negativo)		0	0	0	0	0	0	0
Gel de cloridrato de morfina a 0.125% (m/m) (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	$1,27 \times 10^9$	$1,04 \times 10^7$	$6,15 \times 10^6$	$4,37 \times 10^6$	0	0	0
	<i>S. aureus</i>	$5,12 \times 10^8$	$5,04 \times 10^6$	$4,45 \times 10^6$	$7,02 \times 10^5$	0	0	0
	<i>C. albicans</i>	$8,50 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$	$3,7 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	0
	<i>A. niger</i>	$2,40 \times 10^7$	$7,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	0	0

5.1.7. Acondicionamento

A seleção de um material de embalagem adequado deve ser feita tendo em conta a utilização e características do produto que se pretende acondicionar. Para assegurar que a concentração do fármaco, a qualidade e esterilidade das formas farmacêuticas estéreis não se alteram, deverão ser selecionados materiais de embalagem que não interajam do ponto de vista físico-químico com o produto a acondicionar. Um dispositivo de embalagem ideal deve permitir a inspeção visual do conteúdo, deve ser quimicamente inerte, não deve interagir com a formulação, não deve facilitar a contaminação do produto, deve impedir perdas relativamente ao material acondicionado e essencialmente manter a esterilidade do produto acondicionado (62). O material de embalagem utilizado para acondicionamento e dispensa das unidoses de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) foram seringas estéreis de polipropileno, de 20 mL, com sistema de conexão *luer-lock*, fechadas com tampas de polipropileno apropriadas.



Figura 25 - Aspeto final das seringas unidose contendo o gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) (pormenor do material de embalagem).

De acordo com a FP9.0 (3.2.8), as seringas de matéria plástica não reutilizáveis estéreis são acessórios médico-cirúrgicos destinados a uma utilização extemporânea para administração das preparações injetáveis. São dispensadas estéreis e apirogênicas. Nunca sofrem uma nova esterilização nem são reutilizadas. São compostas de um corpo de seringa e de um êmbolo que pode comportar uma junta de elastómero. Cada seringa comporta uma proteção individual de esterilidade. O corpo da seringa é suficientemente transparente para permitir a leitura sem dificuldade do volume a administrar e a deteção das bolhas de ar e de partículas estranhas. As matérias plásticas e os materiais com base em elastómero que constituem o corpo e êmbolo satisfazem às disposições da monografia correspondente às exigências das Autoridades nacionais. O polipropileno e o polietileno são os materiais mais correntemente utilizados (49).

Os recipientes unidose contém uma quantidade de preparação destinada a ser utilizada de uma só vez, total ou parcialmente (FP9.0). Neste trabalho optou-se por dispensar a formulação em seringas unidose, contendo 10 mL de gel (figura 25) que, tal como já anteriormente referido, corresponde a cerca de 10 g de gel e que se traduz numa dose de cloridrato de morfina de cerca de 12,5 mg, uma dose próxima das dosagens habitualmente descritas na bibliografia disponível (48, 54, 88) sobre a utilização tópica de morfina em feridas. O acondicionamento em seringa facilita a aplicação do gel sobre a ferida, pois exercendo uma pequena pressão no êmbolo e retirando a tampa *luer-lock*, é possível espalhar facilmente a formulação sobre a área à qual se destina. Optou-se por dispensar a formulação em recipientes unidose pelo facto de garantir uma única utilização do produto, evitando reutilizações após abertura e consequente perda da esterilidade.

5.2.GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0% (M/M)

5.2.1.Características organoléticas

As características organolépticas da formulação final do gel fluido encontram-se resumidas na tabela 33.

Tabela 33 - Resumo das características organolépticas da formulação final do gel fluido.

Formulação	Características organoléticas		
	Cor	Aspetto	Odor
Gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m)	Ligeiramente amarelado	Fluido, pouco viscoso, homogêneo e transparente	Inodoro

A figura 26 mostra o aspeto final da formulação de gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) (26.B), assim como a diferença de coloração observada entre esta preparação final (contendo o cloridrato de morfina) e a preparação mãe (26.A)(77).

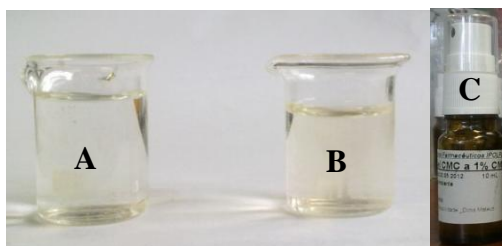


Figura 26 - **A.** Aspetto do gel mãe fluido; **B.** Aspetto final do gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m); **C.** Aspetto da formulação na embalagem final.

Na formulação final observou-se uma coloração ligeiramente amarelada decorrente da incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina. Ainda nesta figura é possível observar o aspeto da embalagem final com o doseador para pulverização cutânea utilizado para o acondicionamento desta formulação.

5.2.2.Determinação do pH

O valor de pH determinado para esta formulação ($5,70 \pm 0,03$) é relativamente mais baixo do que o valor determinado para o gel mãe fluido ($6,22 \pm 0,04$). Esta diferença deve-se à incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina que apresenta um valor de pH ácido (cerca de 4,8) e que terá contribuído para este valor de pH. De qualquer forma, do ponto de vista da cicatrização, este valor de pH é favorável,

constituindo assim uma vantagem relativamente à formulação do gel consistente anteriormente descrita, que apresenta um valor de pH superior. Para além disto, 5,7 é um valor relativamente afastado do pKa do cloridrato de morfina o que também constituiu uma vantagem do ponto de vista da estabilidade da substância ativa.

5.2.3.Determinação da viscosidade aparente

Os colírios apresentam geralmente valores de viscosidade aparente entre 25 e 50 mPa.s, o que permite a este tipo de preparações manterem-se no local de aplicação (62). À semelhança dos colírios, esta formulação de gel fluido também foi desenvolvida de modo a que a sua pulverização originasse gotículas que se mantivessem no local de aplicação sem se movimentarem por ação da força da gravidade. Assim, o valor de viscosidade aparente determinado para a formulação final ($16,7 \pm 2,9$ mPa.s, a $12,24$ s⁻¹, agulha n°21) encontra-se ligeiramente abaixo do intervalo definido para os colírios, o que não impediu que se obtivesse um desempenho eficaz aquando da sua pulverização através do doseador.

5.2.4.Determinação da massa volúmica do gel

A massa volúmica determinada para a formulação fluida foi de $1,01$ g/cm³, o que se revelou vantajoso pois ficou facilitada a medição de volumes utilizando seringas estéreis durante a fase de enchimento dos frascos em CFLH.

5.2.5.Doseamento do cloridrato de morfina

A percentagem de recuperação do cloridrato de morfina, do MP e do PP foram determinadas com base no método de doseamento analítico por HPLC cujo desenvolvimento e validação se encontram descritos no Anexo I.

Os valores obtidos na recuperação do cloridrato de morfina, do MP e PP (tabela 34) encontram-se dentro do limite de especificação habitualmente definido para os medicamentos manipulados (90-110%), segundo a USP 2007 (United States Pharmacopeial Convention)(87).

Tabela 34 - Valores da percentagem de recuperação do cloridrato de morfina, do metilparabeno e do propilparabeno na formulação final do gel fluido (média \pm desvio-padrão; n=3)

Formulação	Recuperação (%)		
	Cloridrato de morfina	Metilparabeno	Propilparabeno
Gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m)	105,0	95,8	97,2

5.2.6. Ensaio de eficácia de conservantes (5.1.3. FP9.0)

Pelo facto de se tratar de uma formulação acondicionada num recipiente multidose, onde a ação de um conservante antimicrobiano é fundamental para a manutenção da estabilidade microbiológica da formulação, foi necessário validar a eficácia da mistura conservante de metilparabeno (MP) e propilparabeno (PP) utilizada no gel consistente, para o gel fluido desenvolvido.

A tabela 35 resume a composição das formulações estudadas no ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos 5.1.3 da FP9.0. Tal como referido anteriormente, a diferença entre a formulação 1 e a formulação 2 consiste na ausência de conservante (0,1% MP + 0,01% PP) na formulação 1.

Tabela 35 - Resumo da composição das formulações fluidas estudadas no ensaio de eficácia de conservantes.

Matéria-prima		Composição % (m/m)	
		Formulação 1	Formulação 2
NaCMC		0,25	0,25
Glicerina		5,00	5,00
Concentrado Parabenos	MP	-	0,1
	PP	-	0,01
APPI		q.b.p. 100	q.b.p. 100
Cloridrato de morfina		1,0	1,0

A tabela 37 resume as contagens de ufc obtidas ao longo do ensaio de eficácia de conservantes para as formulações 1 e 2. Tal como era esperado, não se verificou qualquer redução logarítmica nas contagens referentes à formulação 1. A ausência da mistura conservante nesta formulação justifica o crescimento mantido dos microrganismos ao longo de todo o ensaio. Comparativamente, na formulação 2 a presença dos parabenos revelou-se eficaz como conservante antimicrobiano desta formulação. De acordo com os critérios de eficácia conservante definidos na FP9.0 relativamente à *Pseudomonas aeruginosa* verificou-se eficiência do tipo A dado que, logo às 6 horas após o início do ensaio, houve uma redução logarítmica de 2 unidades e à 24 horas já não se registou a contagem de nenhuma ufc. No entanto, para o

Staphylococcus aureus a eficácia conservante só se enquadra nos critérios B definidos para este ensaio, isto porque só foi possível observar a primeira redução logarítmica às 24 horas. Também para os fungos em estudo a eficácia da mistura de MP e PP se enquadra nos critérios B, pois só aos 14 dias é que foi possível observar uma redução logarítmica efetiva. Assim, conclui-se que o conservante antimicrobiano utilizado na formulação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) se revelou eficaz, de acordo com os critérios B definidos para o ensaio de eficácia de conservantes (5.1.3) da FP9.0.

5.2.7. Ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada pelo recipiente multidose utilizando a formulação final (2.9.27. FP9.0)

A tabela 36 resume os resultados obtidos para o ensaio 2.9.27 descrito na FP9.0, através do qual se demonstrou a uniformidade de massa entre as doses dispensadas pelo recipiente doseador selecionado utilizando a formulação final. Verificou-se que a massa média de cada dose de gel dispensada é cerca de 144 mg, o que equivale a aproximadamente 1.44 mg de cloridrato de morfina.

Tabela 36 - Resultados do ensaio de uniformidade de massa da dose dispensada utilizando o frasco selecionado cheio com 10 mL da formulação final.

Massa média da dose dispensada (g) (n=20)	0,1439 g
Desvio padrão	0,00034g
Número de doses com desvio superior a 10%	0
Número de doses com desvio superior a 20%	0

Tabela 37- Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL para as 2 formulações fluidas estudadas ao longo do ensaio de eficácia de conservantes.

Formulação	Estirpes	Tempo (dias)						
		Inóculo	0	0.25	1	7	14	28
		UFC/ ml						
Água (controlo negativo)		0	0	0	0	0	0	0
Formulação 1 (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	1.27 x 10 ⁹	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	3.92 x 10 ⁶	3.72 x 10 ⁶
	<i>S. aureus</i>	5.12 x 10 ⁸	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	5.70 x 10 ⁴	0
	<i>C. albicans</i>	8.50 x 10 ⁷	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	5.8 x 10 ⁵	2.04 x 10 ⁶
	<i>A.niger</i>	2.40 x 10 ⁷	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶	≥ 3.0 x 10 ⁶
Formulação 2 (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	1.27 x 10 ⁹	5.33 x 10 ⁶	2.52 x 10 ⁴	0	0	0	0
	<i>S. aureus</i>	8.50 x 10 ⁷	4.4 x 10 ⁵	4.5 x 10 ⁵	4.7 x 10 ⁵	8.68 x 10 ⁴	0	0
	<i>C. albicans</i>	8.50 x 10 ⁷	4.4 x 10 ⁵	4.5 x 10 ⁵	4.7 x 10 ⁵	8.68 x 10 ⁴	0	0
	<i>A.niger</i>	2.40 x 10 ⁷	1.1 x 10 ⁵	1.4 x 10 ⁵	6.0 x 10 ⁴	2.0x 10 ⁴	0	0

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CEDÊNCIA DE CLORIDRATO DE MORFINA PELAS FORMULAÇÕES DESENVOLVIDAS

1.Introdução

A absorção percutânea pressupõe a transferência de uma substância ativa a partir da superfície da pele para o estrato córneo, mediante a existência de um gradiente de concentração, com consequente difusão para a epiderme circundante e subsequentemente para a derme e microcirculação (89).

Para que um fármaco penetre na pele é necessário que este se liberte do veículo no qual se encontra incorporado, que ultrapasse a barreira criada pelo estrato córneo e que posteriormente se difunda pelas camadas mais profundas da pele podendo ou não atingir a circulação sanguínea. Se o fármaco apresentar uma elevada afinidade para o veículo se encontra incorporado, a sua libertação para o estrato córneo fica dificultada, se por outro lado, a sua solubilidade no estrato córneo for elevada, fica facilitada a sua libertação do veículo onde está incorporada (4, 89, 90).

A difusão de moléculas através da pele pode ser explicada de acordo com a primeira lei de Fick:

$$J = \frac{DK\Delta c}{h}$$

Em que J representa o fluxo por unidade de área atingido no estado estacionário, D o coeficiente de difusão na pele, K o coeficiente de partição da molécula entre o veículo e o estrato córneo e Δc o gradiente de concentração que se estabelece através da pele; h representa a espessura da membrana de difusão (4). A equação anterior pode ser simplificada na seguinte:

$$J = -\frac{\partial C}{\partial x}$$

Em que C representa a concentração da substância, x a espessura da membrana e D o coeficiente de difusão. Pelo facto de o fluxo se fazer na direção do local de menor concentração a equação tem um sinal negativo.

Os métodos *in vitro* permitem a utilização de membranas sintéticas e de origem animal ou humana (membranas biológicas) contribuindo para a redução e melhoramento dos ensaios *in vivo*. As condições experimentais *in vitro* devem mimetizar o mais possível as condições *in vivo* de modo a que os resultados obtidos possam posteriormente ser extrapolados (91). De acordo com a literatura, uma forma habitual de estudar a absorção percutânea de um fármaco é através do recurso a membranas artificiais inertes e posteriormente a uma membrana biológica (pele humana) (4, 89).

A realização do ensaio de cedência “*in vitro*” para as formulações cujo desenvolvimento galénico se encontra anteriormente descrito neste capítulo teve como principal objetivo avaliar a libertação da substância ativa a partir das duas formulações desenvolvidas e averiguar qual das duas formulações apresentava um perfil de cedência da substância ativa superior. Para este efeito utilizaram-se células de difusão de Franz que são dos sistemas mais utilizados nos estudos de permeação cutânea “*in vitro*” (figura 27).

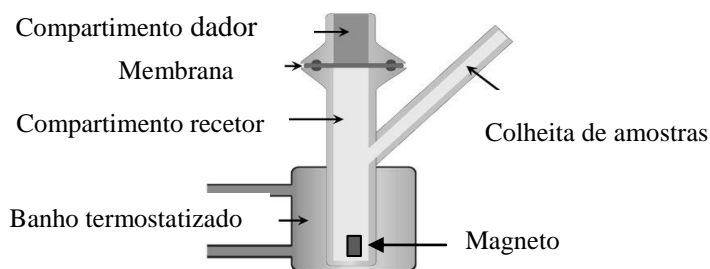


Figura 27 - Representação esquemática das células de difusão de Franz (adaptado de (92)).

A utilização destas células pressupõe a seleção de uma membrana (sintética ou biológica) que é colocada entre dois compartimentos, o recetor e o dador onde é colocada a amostra. A cedência da substância ativa a partir da amostra é avaliada com base na amostragem periódica, a intervalos de tempo definidos, da fase recetora. Esta é mantida sobre agitação magnética e a uma temperatura controlada, próxima da temperatura fisiológica da pele (89).

Numa ferida a barreira cutânea encontra-se comprometida, logo fica facilitada a permeação de substâncias para as áreas da pele subjacentes à ferida. Neste pressuposto, a realização do estudo da cedência “*in vitro*” não teve como objetivo o estudo da permeação do cloridrato de morfina na pele, mas sim da sua libertação a partir da matriz do gel de cada uma das formulações anteriormente desenvolvidas.

2. Materiais

2.1. Amostras

- Gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m);
- Gel fluido de cloridrato de morfina 1,0% (m/m);

2.2. Reagentes

Os reagentes utilizados neste ensaio forma os necessários à realização das análises por HPLC, estando por isso referenciados no Anexo I.

2.3. Membranas utilizadas no ensaio de cedência “*in vitro*”

As ambas as amostras em estudo foram utilizadas membranas sintéticas para avaliação da cedência “*in vitro*” do cloridrato de morfina. As características das membranas utilizadas encontram-se descritas na tabela 38.

Tabela 38 - Resumo das características das membranas sintéticas utilizadas no estudo da cedência “*in vitro*” do cloridrato de morfina pelas formulações desenvolvidas.

Membrana	Descrição
Tuffryn® Membrane Disc Filter	Constituição: Polissulfona hidrofílica; Porosidade: 0,45 µm; Diâmetro: 25mm; Espessura: 145 µm; Velocidade de perfusão da água: 33 mL/min/cm ² a 0.7 bar ; Temperatura máxima de utilização: 121°C; Referência: HT-450 ; 100/PK ; P/N 66221. Lote: T12969 Origem: Pall Corporation® México

3. Métodos

3.1. Ensaio de cedência “*in vitro*”.

3.1.1. Fase recetora

A seleção da fase recetora a utilizar no ensaio de cedência baseou-se na solubilidade da substância ativa. Assim, uma vez que o cloridrato de morfina é solúvel em água, optou-se por utilizar a água como fase recetora.

3.1.2.Membranas

As membranas utilizadas neste ensaio encontram-se descritas na tabela 43. Selecionaram-se estas membranas pelo facto de serem hidrofílicas, fator que as determinou adequadas à difusão do cloridrato de morfina. Antes de se colocarem as membranas nas células verticais de Franz, estas foram hidratadas com a fase recetora, durante cerca de 30 min.

3.1.3.Amostra aplicada

Para o estudo “*in vitro*” da cedência da substância ativa por cada uma das formulações, utilizou-se cerca de 200 mg de amostra de gel (correspondente a 250µg de cloridrato de morfina no caso do gel consistente a 0,125% m/m e a 2 mg no caso do gel fluido a 1,0% m/m).

3.1.4.Temperatura do ensaio

Atendendo às recomendações da OECD (90), a temperatura da fase recetora deve ser de cerca de 32±1°C, durante todo o ensaio, por ser esta a temperatura da pele humana. Assim, antes de se proceder ao enchimento das células de difusão com a fase recetora, esta foi previamente aquecida num banho termostaticado, a 37°C, com o intuito de se manter a temperatura recomendada (32±1°C) no interior do compartimento recetor. Após a montagem das células estas foram mantidas no banho termostaticado a 37°C durante todo o ensaio.

3.1.5.Amostragem

Ao longo do ensaio foram recolhidas alíquotas da fase recetora, através do tubo de recolha existente no compartimento recetor, nos seguintes intervalos de tempo: 1, 2,3,4 e 6 horas. O volume de recolha foi de 200 µL, sendo que em seguida se repôs o volume recolhido com nova fase recetora à mesma temperatura. O ensaio de cedência foi realizado utilizando 6 células para cada uma das formulações em estudo.

3.1.6.Montagem do sistema

O estudo da cedência “*in vitro*” do cloridrato de morfina pelas duas formulações desenvolvidas foi realizado com recurso a células verticais de difusão de Franz de fluxo estático em vidro. Estas células apresentam na sua constituição dois compartimentos, o

dador (superior) e o recetor (inferior) que são separados por uma membrana (figura 28). O volume do compartimento recetor é de aproximadamente 5,0mL, com uma área de difusão de 1,0cm².

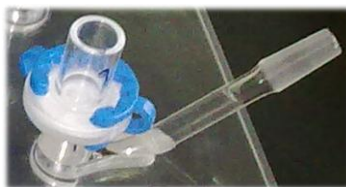


Figura 28- Células verticais de Franz utilizadas no estudo de cedência.

Para a montagem das células de Franz seguiram-se os seguintes passos:

1. Colocou-se a membrana Tuffryn®, previamente hidratada, sobre o compartimento recetor;
2. Colocou-se o compartimento dador sobre o compartimento recetor com a membrana e vedou-se a união dos dois compartimentos utilizando Parafilm®. Em seguida colocou-se uma pinça plástica para reforçar esta união (figura 28).
3. Introduziu-se um pequeno magneto no compartimento da fase recetora de cada célula, de forma a possibilitar a agitação magnética contínua desta fase, durante todo tempo do ensaio (simulação da circulação sanguínea).
4. O compartimento recetor foi cuidadosamente preenchido com a fase recetora evitando-se nesta fase a incorporação de bolhas de ar na interface membrana-fase recetora.
5. Com o auxílio de um a balança analítica de precisão (modelo PB303 Delta Range - Mettler Toledo®), registou-se rigorosamente a massa de fase recetora introduzida em cada célula.
6. Colocou-se a amostra a analisar no compartimento dador, sobre a membrana, e registou-se rigorosamente a sua massa. A fase dadora foi coberta com película de alumínio.
7. Colocaram-se as células num banho termostaticado (Precistern Selecta® -com cabeça de aquecimento – Julabo®) (37,0°C), onde foram mantidas sob agitação (Placa de agitação – modelo Multimatic – 9S P Selecta®) durante todo o ensaio.

3.1.7. Quantificação

A quantificação do cloridrato de morfina nas alíquotas recolhidas ao longo do ensaio no compartimento recetor foi feita pelo método de HPLC com deteção no UV, descrito no Anexo I e adaptado para este ensaio (sistema cromatográfico Agilent®).

3.1.8. Análise dos resultados

Determinou-se a quantidade cumulativa de cloridrato de morfina cedida (μg) por unidade de área de membrana (cm^2), para cada uma das formulações e representou-se graficamente em relação ao tempo (horas). No sentido de se comparar o perfil de cedência de cloridrato de morfina pelas duas formulações desenvolvidas, representou-se ainda graficamente a percentagem de substância ativa libertada em função do tempo.

4. Resultados e Discussão

Nas feridas dado que se encontra comprometida a barreira cutânea, não existe permeação cutânea de uma substância ativa. Assim, neste trabalho como as formulações anteriormente desenvolvidas se destinavam à aplicação em feridas, optou-se por realizar um estudo “*in vitro*” da cedência da substância ativa, a partir de cada uma das formulações, para se ter uma perceção da quantidade de fármaco disponibilizada no local de aplicação (ferida) por cada formulação. Para análise das alíquotas de fase recetora recolhidas ao longo do ensaio de cedência para as duas formulações, construiu-se uma curva de calibração do cloridrato de morfina para correlacionar as áreas dos picos obtidos da análise por HPLC, com as áreas dos picos relativos à análise das alíquotas. As figuras 29 e 30 apresentam o perfil de cedência do cloridrato de morfina para cada uma das formulações desenvolvidas. Na figura 31 é possível observar a percentagem relativa de libertação do cloridrato de morfina por cada uma das formulações em estudo. Atendendo a que as formulações em estudo tinham concentrações muito diferentes em substância ativa, a conversão em percentagem relativa de libertação do cloridrato de morfina por cada uma das formulações, permitiu mais facilmente comparar os respetivos perfis de cedência.

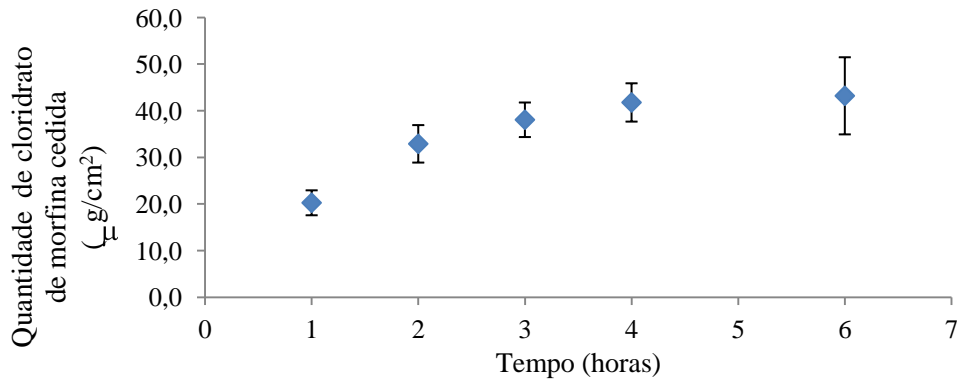


Figura 29 - Perfil de cedência do cloridrato de morfina pelo gel consistente a 0,125% (m/m).

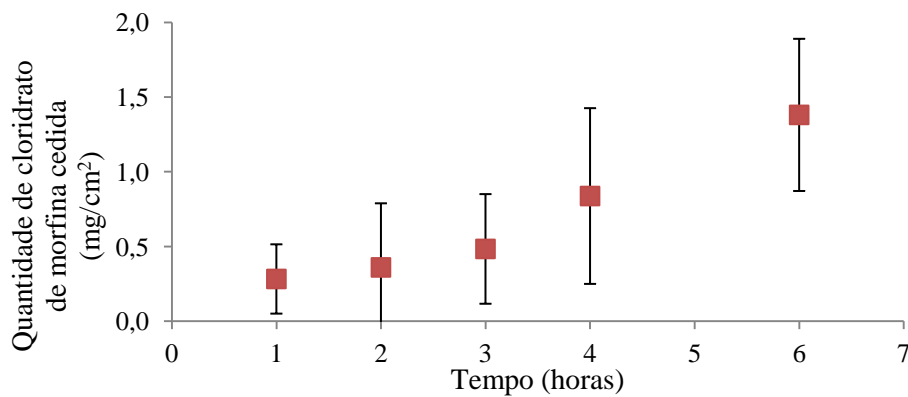


Figura 30 - Perfil de cedência do cloridrato de morfina pelo gel fluido a 1,0% (m/m).

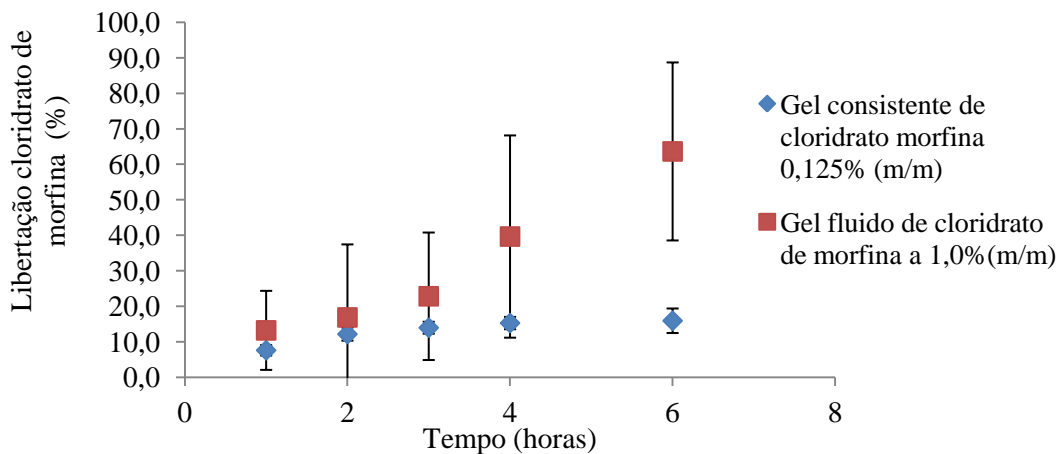


Figura 31 - Comparação do perfil de liberação de cloridrato de morfina (%) pelas duas formulações desenvolvidas.

A análise dos dados representados graficamente permitiu verificar que no caso do gel consistente a cedência média da substância ativa, ao fim de 6 horas, foi inferior (cerca de 43,2%) comparativamente com a formulação relativa ao gel fluido, onde se verificou

para o mesmo período de tempo uma libertação de cloridrato de morfina de cerca de 64,0%. Estes dados vão de encontro aos objetivos que orientaram o desenvolvimento de cada umas destas formulações para a respetiva aplicação, isto é, no caso do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), mais consistente e mais adequado a feridas mais profundas, o gel vai permanecer mais tempo em contacto com a ferida, estando o perfil de libertação da substância ativa de acordo com uma libertação gradual da mesma. No caso do gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m), mais adequado a feridas mais extensas e/ou superficiais ou em zonas anatómicas de difícil acesso, a cedência é superior, permitindo mais facilmente a disponibilização da substância ativa a partir da matriz do gel, para uma ação mais imediata. Esta diferença no perfil de cedência das duas formulações poderá estar relacionada com a estrutura tridimensional que se estabelece na rede polimérica formada pelo agente gelificante em cada uma das formulações. A figura 32 apresenta uma representação esquemática para esta hipótese, ou seja, no caso da matriz do gel mais consistente, a elevada concentração em agente gelificante reflete-se na obtenção de uma malha polimérica mais apertada que poderá aprisionar a substância ativa diminuindo assim a sua cedência à superfície de aplicação. No caso do gel fluido, a baixa concentração de NaCMC conduz à formação de uma rede polimérica onde a cedência do cloridrato de morfina se encontra facilitada.



Figura 32 - Representação esquemática da rede polimérica do agente gelificante (1) numa matriz de gel consistente e (2) numa matriz de gel fluido. Esquema adaptado (93).

5. Conclusão

A realização deste estudo permitiu caracterizar o perfil de cedência “in vitro” do cloridrato de morfina por cada uma das formulações desenvolvidas. Assim, conclui-se que de acordo com a finalidade de aplicação de cada uma das formulações, o gel fluido de cloridrato de morfina tem um perfil de cedência da substância ativa superior ao da formulação mais consistente, no entanto, para ambas as formulações a cedência do cloridrato de morfina a partir dos geles é lenta, o que poderá, em princípio, proporcionar uma libertação prolongada do fármaco com a consequente diminuição do número de

administrações diárias. Para avaliar a permeação efetiva da substância ativa através das feridas, seria vantajoso no futuro, o desenvolvimento de um ensaio “in vivo”, utilizando um modelo adequado, com vista ao estudo da permeação desta substância ativa nas camadas mais profundas da pele sob a ferida.

PARTE III - ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES FINAIS

1.Introdução

Os estudos de estabilidade são uma parte importante do desenvolvimento galênico. A informação fornecida por estes estudos é utilizada para determinar as melhores condições de armazenamento para um produto (temperatura e humidade), o seu período máximo de utilização após a preparação e ainda as características mais adequadas do material de embalagem a empregar no acondicionamento primário e secundário, de forma a maximizar a sua proteção.

A estabilidade pode ser definida como o cumprimento integral dos requisitos de qualidade, conforme definido nas especificações do produto, até ao termo do prazo de validade atribuído pelo fabricante e ratificado pelas autoridades competentes. Por outras palavras, a estabilidade é a capacidade de o medicamento se manter dentro dos limites especificados durante um determinado período de tempo. Este período é o prazo de validade, determinado mediante estudos de estabilidade apropriados, realizados segundo as normas oficiais (94). O objetivo dos estudos de estabilidade é fornecer evidência da forma como a qualidade de um medicamento varia ao longo do tempo, influenciada por uma série de fatores ambientais como a temperatura, a humidade e a luz, de modo a estabelecer com segurança um prazo de utilização e as condições de armazenamento adequadas, aplicáveis a futuras preparações das formulações estudadas, quando produzidas, acondicionadas e armazenadas sob as mesmas condições (62). A USP 29 descreve cinco tipos de estabilidade: (1) estabilidade química, definida como a manutenção da integridade química e concentração de cada substância ativa, dentro dos limites especificados; (2) estabilidade física, relacionada com a manutenção de propriedades físicas como a aparência, a uniformidade e a dissolução; (3) estabilidade microbiológica, definida como a manutenção da esterilidade ou resistência ao crescimento microbiano, de acordo com as especificações definidas para a formulação em questão; (4) estabilidade terapêutica, relativa à manutenção do efeito terapêutico; e finalmente (5) estabilidade toxicológica em que, para o produto em questão, não se registam aumentos significativos na toxicidade (62).

Neste capítulo encontra-se descrito o estudo da estabilidade físico-química e microbiológica para as preparações cujo desenvolvimento se encontra descrito na II Parte (gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), gel fluido contendo 1,0% (m/m) desta substância ativa, assim como das preparações mãe utilizadas na sua

preparação). Os estudos de estabilidade foram realizados, nos aspetos aplicáveis, de acordo com a “*Guideline on stability testing: stability testing of existing active substances and related finished products*” – CPMP/QWP/122/02, emitida em 2003 pela Agência Europeia do medicamento (EMA)(94).

2. Materiais

2.1. Formulações

As formulações para as quais se estudou a estabilidade físico-química e microbiológica foram as formulações finais descritas no capítulo 1 da II Parte, assim como as respetivas preparações mãe.

2.2. Reagentes

Na caracterização físico-química de todos geles em estudo utilizaram-se os reagentes descritos no Anexo I aquando das análises por HPLC.

2.3. Soluções e meios de cultura

Para a realização do ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos (5.1.3) descrito na FP 9.0, utilizaram-se os microrganismos (estirpes de referência), meios de cultura e membranas de filtração já anteriormente descritos na II Parte.

Para o ensaio de esterilidade utilizaram-se os seguintes meios de cultura:

- **Meio de hidrolizado de caseína e de soja** - Trypton Soy Broth Ph.Eur.; Biokar®-diagnostics; Ref.BK046HA; Lote: 10D454A; Prazo de validade:04/2015;
- **Meio Líquido de Tioglicolato** - BBL®Fluide Thioglycollate Medium; Ref.211260; Lote:0166708; Prazo de Validade:04/2014.

Para a realização do controlo microbiológico das preparações ao longo do estudo de estabilidade utilizaram-se os meios de cultura descritos na FP9.0.

3. Métodos

3.1. Preparação dos geles

3.1.1. Gel mãe consistente de NaCMC 3% (m/m)

A preparação de um lote de gel mãe (250g) utilizado no estudo de estabilidade foi realizada com base no procedimento descrito no capítulo 1 da II Parte, tendo-se neste caso eliminado a incorporação da solução injetável de cloridrato de morfina e o fracionamento em seringas. Após a inclusão da solução de concentrado de parabenos e homogeneização da mistura, procedeu-se ao fracionamento do gel em 5 frascos de vidro estéreis com tampa, contendo cada um 50g de gel mãe.

3.1.2. Gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125 % (m/m)

Foram preparados 3 lotes de 400g de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), de acordo com o procedimento descrito para a preparação da formulação final no capítulo 1 da II Parte.

3.1.3. Gel mãe fluido de NaCMC 0.5% (m/m)

A preparação de um lote de gel mãe (250g) utilizado no estudo de estabilidade foi realizada de acordo com o procedimento descrito no capítulo 1 da II Parte. Após a inclusão da solução de concentrado de parabenos e homogeneização da mistura, procedeu-se ao fracionamento do gel em 5 frascos de vidro estéreis com tampa, contendo cada um 50g de gel mãe.

3.1.4. Gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0 % (m/m)

Foram preparados 3 lotes de 100g de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) de acordo com o procedimento descrito para a preparação da formulação final no capítulo 1 da II Parte.

3.2. Protocolo de estabilidade

O estudo de estabilidade dos geles mãe (consistente e fluido) foi efetuado acondicionando os lotes de gel preparados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente), ao abrigo da luz, uma vez que eram estas as condições ideais de armazenamento pretendidas para estas preparações mãe. A colheita de amostras para análise foi feita nos dias 0, 7, 14, 28 e 63.

O protocolo de estabilidade foi elaborado tendo em conta, nos aspetos aplicáveis, a legislação europeia que regulamenta os estudos de estabilidade de substâncias ativas e de especialidades farmacêuticas (94).

Os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) preparados foram fracionados e acondicionados em seringas unidose e colocados nas condições de armazenamento em estudo: $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente ao abrigo da luz), $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (com exposição à luz solar), $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (refrigerado) e $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (estufa climatizada). Foram realizadas colheitas de amostras nos dias 0, 7, 14, 28, 64 e 98 para os três lotes armazenados nas diferentes condições acima descritas.

Os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) preparados foram fracionados e acondicionados em frascos de vidro âmbar com 10mL de capacidade, munidos de um dispositivo doseador integrado e acondicionados nas condições de armazenamento em estudo: $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente ao abrigo da luz), $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (com exposição à luz solar), $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (refrigerado) e $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (estufa climatizada). Foram realizadas colheitas de amostras na análise nos dias 0, 7, 14, 28, 63 para todos os lotes armazenados nas diferentes condições em estudo.

3.3. Estabilidade Físico-química

Para cada um dos lotes armazenados nas diferentes condições de armazenamento analisaram-se as características organolépticas, o pH, a viscosidade e o teor em cloridrato de morfina (CM), metilparabeno (MP) e propilparabeno (PP). A determinação destes parâmetros foi realizada de acordo com os procedimentos descritos em “3.6. Caracterização de amostras” do capítulo 1 (II Parte). Os critérios de estabilidade definidos para as características físico-químicas foram a manutenção do teor em substância ativa no intervalo compreendido entre 90 e 110 % (de acordo com a USP 29)(95) e a manutenção das características relativas aos restantes parâmetros analisados. No caso das amostras acondicionadas à temperatura ambiente e expostas à luz solar, foi apenas estudada a variação do teor em CM, MP e PP e das características organolépticas ao longo do tempo.

3.4. Estabilidade microbiológica

3.4.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos

O ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos foi realizado para as preparações mãe de acordo com o procedimento descrito no capítulo 1 da II Parte. Foram utilizados 4 frascos (com 50g de gel) nos quais foram inoculadas individualmente, cada uma das estirpes de ensaio. O volume de inóculo utilizado para cada frasco foi de 500 µL.

3.4.2. Ensaio de esterilidade

O ensaio de esterilidade foi realizado utilizando a técnica de sementeira direta dos meios nutritivos com a amostra em estudo. O procedimento utilizado foi o seguinte:

1. Prepararam-se os meios de cultura a utilizar no ensaio (meio líquido de tioglicolato e meio hidrolisado de caseína e de soja), de acordo com os procedimentos do laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.
2. A cada meio nutritivo foram adicionados diretamente, em camara de fluxo laminar horizontal (Gelaire® BSB4) , 2 g do gel em estudo.
3. Promoveu-se a incubação dos meios semeados durante 14 dias (líquido de tioglicolato a 30°C para pesquisa de bactérias anaeróbias/aeróbias e em meio de hidrolisado de caseína e de soja a 22°C para pesquisa de fungos, leveduras e/ou bactérias aeróbias).
4. Observaram-se diariamente as culturas durante o período de incubação.

A amostra foi considerada estéril no caso de não se verificar qualquer turvação observável macroscopicamente ao fim dos 14 dias de incubação. A presença de turvação põe em causa esterilidade do produto, sendo neste casos necessário proceder à identificação do microrganismo responsável pela turvação.

3.4.2. Controlo microbiológico

- Paralelamente, para as formulações finais de gel consistente e fluido, foi ainda realizado o controlo microbiológico nos 3 lotes colocados nas diferentes condições de armazenamento, para cada tempo de amostragem, de acordo com a monografia da FP 9.0: *”Qualidade microbiológica das preparações*

farmacêuticas – Categoria 2: Preparações para aplicação local ou para administração nas vias respiratórias, com exceção das preparações obrigatoriamente estéreis, e sistemas transdérmicos.”. Assim, de acordo com os procedimentos descritos na FP 9.0, procedeu-se à pesquisa de microrganismos totais (2.6.12) (bactérias aeróbias viáveis, fungos e leveduras) e de microrganismos específicos (2.6.13) (*P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. coli*) de acordo com as condições de incubação descritas na tabela 39.

Os critérios de aceitação de qualidade microbiológica adotados foram os definidos na FP 9.0:

- No máximo, contagem de 10^2 bactérias, fungos e leveduras por grama de gel.
- No máximo, 10 bactérias por grama de gel, para a pesquisa de Enterobactérias e outras bactérias Gram-negativas;
- Ausência de *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. coli*.

Tabela 39 - Resumo das condições de incubação das amostras para determinação de bactérias aeróbias viáveis, fungos e leveduras e para a pesquisa de microrganismos específicos.

Determinações	Meios de cultura	Temperatura de incubação	Tempo de incubação
Determinação de bactérias viáveis, fungos e leveduras			
Bactérias aeróbias viáveis a 30°C	Plate Count Agar	30-35°C	24 a 48h
Bactérias aeróbias viáveis a 37°C	Plate Count Agar	30-35°C	24 a 48h
Fungos e Leveduras	Sabouraud e Cloranfenicol	20-25°C	± 5 dias
Pesquisa de microrganismos específicos			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	A e N	35- 37°C	24 a 48h
<i>Staphylococcus aureus</i>	A e O	35- 37°C	24 a 48h
<i>Escherichia coli</i>	B e H	44°C	24h

4.Resultados e discussão

4.1.ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL MÃE DE NACMC 3% (M/M)

4.1.1.Estabilidade Físico-química

4.1.1.1.Características organolépticas

No que diz respeito às características organolépticas do gel mãe consistente de NaCMC a 3% (m/m), o lote em estudo armazenado à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, não apresentou alterações significativas da cor nem do aspeto dos geles (figura 33). As amostras apresentavam-se transparentes e homogêneas, com aspeto viscoso, coloração ligeiramente amarelada e inodoras.



Figura 33 - Aspeto do gel mãe de NaCMC 3% (m/m) aos 60 dias do estudo de estabilidade.

4.1.1.2.Determinação do pH

As determinações dos valores de pH obtidos ao longo do estudo de estabilidade do gel mãe consistente de NaCMC 3% (m/m) encontram-se resumidas na tabela 40.

Tabela 40 - Variação dos valores de pH ao longo do tempo para o lote de gel mãe consistente de NaCMC 3% (m/m).

	Tempo (dias)				
	0	7	14	28	63
Determinação do pH a 22±3°C	6,37	6,41	6,54	6,56	6,32
	6,33	6,45	6,54	6,57	6,37
	6,37	6,24	6,53	6,56	6,36
Média	6,36	6,37	6,54	6,56	6,35
Desvio-Padrão	0,019	0,091	0,005	0,005	0,022

Ao longo do ensaio de estabilidade mostra que não se registaram variações significativas do pH do gel mãe consistente. Os valores obtidos revelaram-se compatíveis com a incorporação da substância ativa durante todo o tempo do estudo de estabilidade.

4.1.1.3. Análise da viscosidade

Há uma perda considerável de viscosidade da preparação ao longo do estudo de estabilidade (figura 34). Perante estes resultados poderia ter sido estudada a estabilidade de um lote desta preparação, armazenado a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (refrigerado) para verificar se o armazenamento a baixa temperatura seria vantajoso no que diz respeito à manutenção da viscosidade.

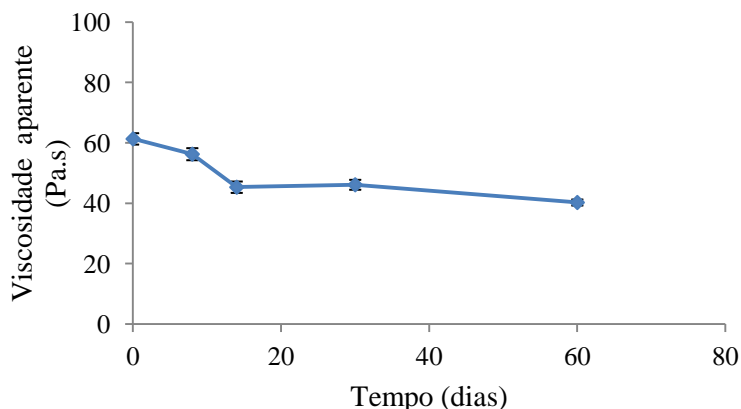


Figura 34 – Representação gráfica da variação dos valores da viscosidade aparente do gel mãe de NaCMC 3% (m/m) (média \pm desvio-padrão; n=1).

Assim, de acordo com os dados obtidos na variação da viscosidade da preparação mãe, a utilização deste gel de NaCMC a 3% (m/m) para a incorporação da substância ativa com vista à obtenção do gel consistente de cloridrato de morfina a 3% (m/m), não deverá ser feita para além dos 7 dias após preparação. A partir desta altura verifica-se uma acentuada perda de viscosidade que pode interferir com as características pretendidas para a preparação final.

4.1.1.4. Doseamento dos parabenos

Através da análise dos dados relativos à recuperação em percentagem do MP e PP no lote de gel mãe consistente ao longo do estudo de estabilidade, conclui-se que há uma variação significativa do teor de parabenos recuperado das amostras, que se observou sempre ao longo do tempo (figura 35). Apesar de se ter efetuado uma validação sumária do método de doseamento do MP e PP (descrita no Anexo I), será ainda necessário no futuro ajustar o método de doseamento analítico por HPLC para o doseamento dos parabenos, de modo a obter uma menor variação entre os dados obtidos para o mesmo lote, ao longo do tempo.

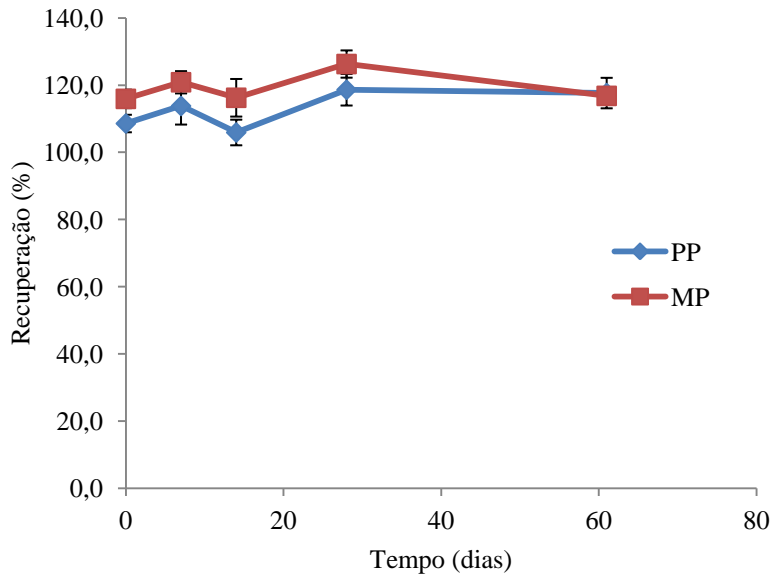


Figura 35- Variação da recuperação (%) do MP e PP no gel mãe de NaCMC 3% (m/m), ao longo do estudo de estabilidade.

4.1.2. Estabilidade microbiológica

4.1.2.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos

A análise dos dados resumidos na tabela 41 permite verificar que o conservante utilizado foi eficaz de acordo com os critérios A para a *P. aeruginosa*, assim como para a *C. albicans* e *A.niger*. Relativamente ao *S. aureus*, a redução logarítmica observada não foi consentânea com a aplicação dos critérios A, no entanto, verificam-se os critérios B (5.1.3, FP9.0).

4.1.2.2. Ensaio de esterilidade

Uma vez que o gel mãe foi submetido a um processo de esterilização e à incorporação de uma solução de concentrado de parabenos, utilizando técnica asséptica, tornou-se necessário validar estes procedimentos no que diz respeito à obtenção de uma preparação final estéril. Com este intuito, e uma vez que após a incorporação do conservante em CFLH o frasco que contém o gel mãe não volta a ser aberto até à sua utilização para incorporação da solução injetável de morfina, verificou-se a esterilidade desta preparação mãe. Não se observou qualquer turvação nem crescimento microbiano nos meios utilizados para a realização do ensaio de esterilidade nos 14 dias após a inoculação. O facto de esta preparação se destinar à preparação posterior do gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), fez com que não se realizasse

qualquer outro controlo microbiológico, ao longo do estudo de estabilidade, pois a prova de esterilidade obtida com a realização deste ensaio, suporta a inclusão desta preparação na categoria 1 no que diz respeito à qualidade microbiológica das preparações farmacêuticas (5.1.4, FP 9.0).

A análise conjunta dos resultados relativos ao ensaio de eficácia de conservantes e ao ensaio de esterilidade asseguram a possibilidade de utilização multidoses desta preparação mãe, isto é, na eventualidade de ser necessária a preparação de mais do que um lote de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), a presença de um conservante assegura a manutenção da integridade da preparação do ponto de vista microbiológico. Apesar da variabilidade observada no doseamento do MP e PP, o desempenho positivo desta formulação mãe aquando da realização dos ensaios microbiológicos suportou a atividade do conservante na formulação.

Tabela 41 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL de gel mãe de NaCMC a 3% (m/m), ao longo dos 28 dias do ensaio de eficácia de conservantes.

Formulação	Estirpes	Tempo (dias)						
		Inóculo	0	0.25	1	7	14	28
		UFC/ ml						
Água (controlo negativo)		0	0	0	0	0	0	0
Gel mãe de NaCMC 3% (m/m) (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	1,27 X 10 ⁹	5,9 x 10 ⁶	3,45 x 10 ⁶	1,0 x 10 ⁵	0	0	0
	<i>S. aureus</i>	5,12 X 10 ⁸	5,1 x 10 ⁶	3,7 x 10 ⁶	1,19 x 10 ⁶	0	0	0
	<i>C. albicans</i>	8,50 X 10 ⁷	1,71 x 10 ⁶	1,59 x 10 ⁶	9,7 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	0	0
	<i>A.niger</i>	2,40 X 10 ⁷	1,5 x 10 ⁵	9,0 x 10 ⁴	7,0 x 10 ⁴	2,0x 10 ⁴	0	0

4.2. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125 % (M/M)

4.2.1. Estabilidade Físico-química

4.2.1.1. Características organolépticas

No que diz respeito às características organolépticas, verificou-se que os 3 lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ e a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR, mantiveram sempre as mesmas características inicialmente observadas (coloração ligeiramente amarela, translúcidos com aspeto consistente e viscoso, homogêneos e inodoros). No decorrer do estudo de estabilidade foi ainda possível observar, aos 64 dias, nas amostras dos lotes armazenadas a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ expostas à luz solar, que houve uma alteração na coloração dos geles, adquirindo estes uma coloração amarela mais intensa (figura 36).



Figura 36 – Aspeto do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), aos 64 dias, armazenado a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ e exposto à luz (1) e do mesmo gel acondicionado à mesma temperatura mas ao abrigo da luz (2).

Este resultado está de acordo com a conhecida fotossensibilidade do cloridrato de morfina (49, 82, 84, 96), confirmando a necessidade de armazenar ao abrigo da luz as preparações que contêm esta substância de forma a evitar a sua degradação. O escurecimento após exposição prolongada à luz é uma característica descrita para a morfina, de acordo com a monografia da morfina no “Analytical profile of drug substances” (82), ficando assim suportada a alteração de cor observada nos lotes de gel armazenados à temperatura ambiente expostos à luz. Relativamente às amostras acondicionadas a $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 5\%$ HR (estufa climatizada), foi notória uma diminuição acentuada da viscosidade do gel, comum a todos os lotes, que se registou aos 14 dias.

4.2.1.2. Determinação do pH

A tabela 42 mostra que não se registaram alterações significativas nos valores médios de pH. Aos 64 dias observou-se para os geles armazenados no frigorífico e à

temperatura ambiente uma ligeira subida nos valores de pH da formulação, que não se considerou ter tido implicações na estabilidade do gel pois não foram observados quaisquer picos de degradação da substância ativa nos cromatogramas obtidos por HPLC relativos a este tempo de análise. Para além disto, os valores de pH obtidos revelaram-se sempre compatíveis com a aplicação em feridas.

4.2.1.3. Análise da viscosidade

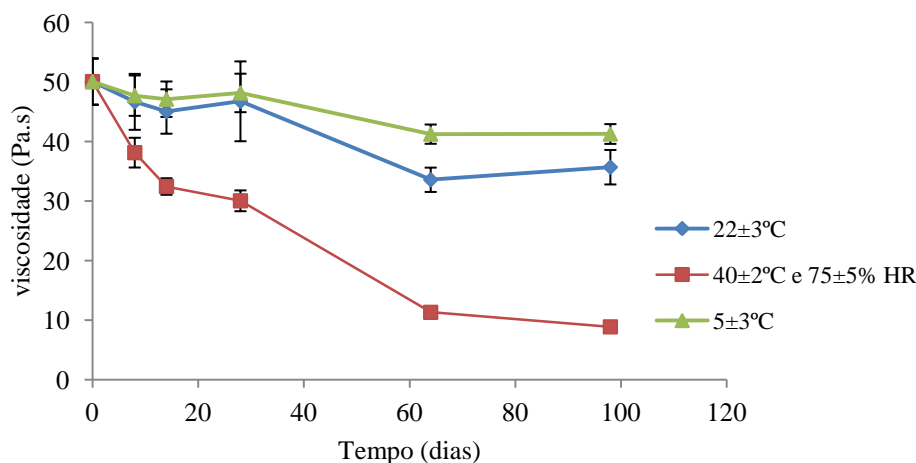


Figura 37 - Representação gráfica da Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C e 75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).

Para sistemas não-newtonianos é preciso caracterizar as alterações que ocorrem sobre as propriedades reológicas ao longo do tempo (7). A análise dos resultados relativos à determinação da viscosidade aparente dos geles armazenados nas diferentes condições (tabela 50) ao longo do estudo de estabilidade permitiu verificar que, de acordo com o que está descrito para os geles de NaCMC (77, 79), houve uma redução gradual da viscosidade ao longo do tempo (figura 37).

Nas amostras de gel acondicionadas a 40±2°C e 75±5%HR (tabela 43) registou-se a maior perda de viscosidade, sendo que aos 98 dias do estudo, estas preparações apresentavam-se já demasiado fluidas. Nas amostras acondicionadas a 5±3°C verificou-se a menor redução da viscosidade ao longo do tempo, o que sugere que o armazenamento a esta temperatura será o mais adequado para evitar a perda de consistência. Aumentando a temperatura, a viscosidade diminui por redução das forças de atração entre as moléculas. Estas relações entre a temperatura e a viscosidade são fáceis de estabelecer, independentemente de a temperatura aumentar ou diminuir (7).

Por outro lado, os geles devem manter a sua viscosidade e os seus caracteres numa vasta gama de temperaturas (62), pois aquando da realização de estudos de estabilidade acelerada (estufa climatizada a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%\text{HR}$) devem manter as suas características, o que não se observou neste caso específico. Segundo o *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, o aquecimento prolongado dos geles de NaCMC promove a despolimerização desta substância, conduzindo a uma redução permanente da viscosidade das preparações (77). Provavelmente por este motivo e para aumentar a estabilidade dos geles de NaCMC, as amostras analisadas de hidrogéis disponíveis no mercado para aplicação em feridas utilizam combinações com outros polímeros como pectina (Varihesive®Gel) ou polímeros modificados de NaCMC (IntraSite®Gel), conseguindo assim uma estabilização da estrutura tridimensional do polímero que impeça a perda de viscosidade aquando da exposição a temperaturas mais elevadas.

4.2.1.4. Doseamento da substância ativa

Nas tabelas 44, 45, 46 e 47 encontram-se resumidas as percentagens de recuperação da substância ativa e dos conservantes ao longo do tempo para os lotes de gel colocados nas diferentes condições de armazenamento em estudo. Na figura 38 estão representados graficamente estes dados, sendo possível verificar que até aos 64 dias a percentagem de recuperação da substância ativa se manteve dentro do intervalo da especificação de 90-110%. Aos 98 dias, para as amostras armazenadas no frigorífico, o valor obtido fica ligeiramente abaixo do intervalo da especificação. No entanto, o teor em cloridrato de morfina, até aos 64 dias, parece não ser afetado pela temperatura de armazenamento. No que diz respeito às amostras acondicionadas à temperatura ambiente e expostas à luz verificou-se, tal como esperado, um decréscimo acentuado na percentagem de recuperação da substância ativa.

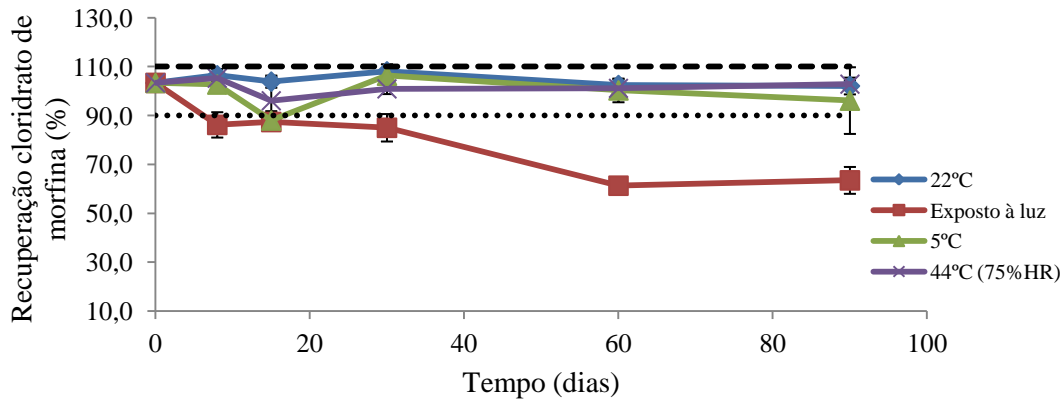


Figura 38 - Recuperação (%) da substância ativa nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; $n=3$).

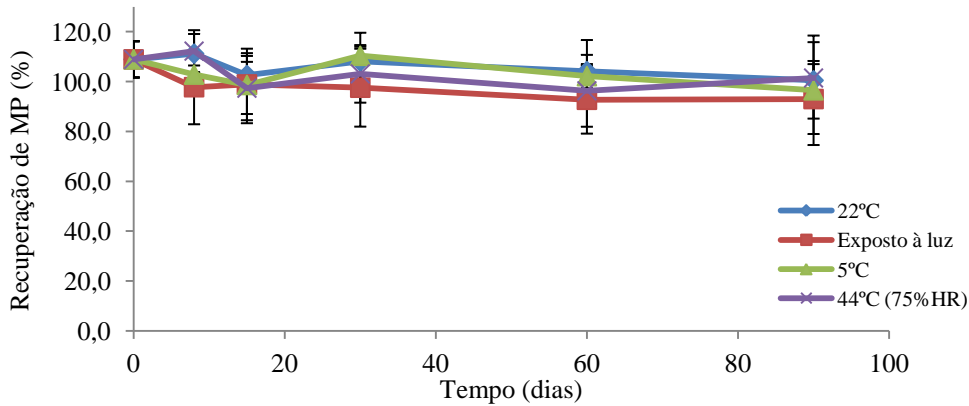


Figura 39 - Recuperação (%) do MP nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; $n=3$).

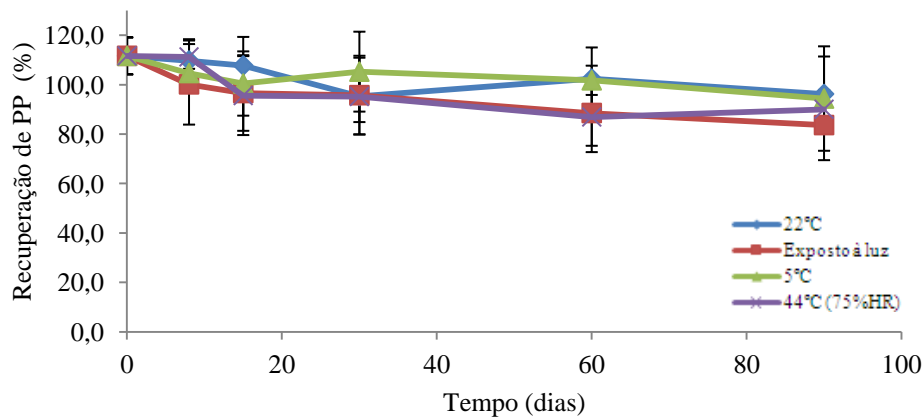


Figura 40 - Recuperação (%) do PP nos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; $n=3$).

Os parabenos foram doseados em todas as amostras ao longo do estudo de estabilidade. As figuras 39 e 40 mostram a variação da percentagem de recuperação destes dois conservantes incluídos no gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m). O doseamento destes adjuvantes da formulação foi efetuado de acordo com o procedimento analítico inicialmente desenvolvido e validado para se avaliar a sua estabilidade na formulação. A elevada variabilidade observada nas determinações dos teores em MP e PP sugere que o método de doseamento inicialmente validado precisa ainda de ser ajustado no que diz respeito à determinação destes dois conservantes. Apesar da variabilidade observada nestas determinações, a análise da estabilidade microbiológica destas preparações associada aos resultados da eficácia de conservantes determinada para estas formulações permite verificar a atividade destes dois conservantes.

Tabela 42 – Variação do valor de pH dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ e a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura de armazenamento	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$				$22\pm 3^{\circ}\text{C}$				$40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR			
	pH das amostras			Média \pm Desvio-padrão	pH das amostras			Média \pm Desvio-padrão	pH das amostras			Média \pm Desvio-padrão
	Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
0	6,29	6,37	6,36	6,37 \pm 0,05	6,29	6,37	6,36	6,37 \pm 0,05	6,29	6,37	6,36	6,37 \pm 0,05
	6,33	6,41	6,34		6,33	6,41	6,34		6,33	6,41	6,34	
	6,35	6,42	6,45		6,35	6,42	6,45		6,35	6,42	6,45	
7	6,34	6,52	6,34	6,38 \pm 0,07	6,30	6,33	6,25	6,32 \pm 0,04	6,29	6,33	6,24	6,30 \pm 0,03
	6,29	6,38	6,42		6,32	6,34	6,31		6,27	6,32	6,33	
	6,35	6,38	6,41		6,28	6,39	6,32		6,28	6,29	6,34	
14	6,20	6,30	6,27	6,28 \pm 0,03	6,28	6,27	6,50	6,37 \pm 0,09	6,45	6,12	6,18	6,29 \pm 0,12
	6,26	6,30	6,30		6,42	6,27	6,41		6,51	6,22	6,27	
	6,29	6,30	6,28		6,48	6,31	6,41		6,33	6,27	6,28	
28	6,47	6,35	6,35	6,38 \pm 0,04	6,37	6,36	6,52	6,39 \pm 0,05	6,35	6,23	6,44	6,34 \pm 0,06
	6,44	6,37	6,37		6,37	6,36	6,42		6,32	6,36	6,41	
	6,37	6,36	6,36		6,37	6,35	6,37		6,33	6,30	6,36	
64	6,59	6,59	6,62	6,59 \pm 0,03	6,54	6,60	6,56	6,57 \pm 0,03	6,41	6,31	6,48	6,39 \pm 0,05
	6,61	6,57	6,63		6,54	6,59	6,59		6,40	6,33	6,43	
	6,60	6,52	6,62		6,51	6,58	6,58		6,39	6,33	6,39	
98	6,40	6,51	6,37	6,46 \pm 0,06	6,40	6,43	6,40	6,42 \pm 0,03	6,23	6,27	6,32	6,28 \pm 0,04
	6,41	6,54	6,46		6,36	6,44	6,43		6,24	6,26	6,32	
	6,45	6,56	6,47		6,39	6,44	6,46		6,25	6,28	6,33	

Tabela 43 - Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).

Temperatura Armazenamento	5±3°C			22±3°C			40±2°C/75±5% HR					
Tempo (dias)	Viscosidade das amostras (Pa.s)			Média± Desvio-padrão	Viscosidade das amostras (Pa.s)			Média± Desvio-padrão	Viscosidade das amostras (Pa.s)			Média± Desvio-padrão
	Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
0	49,6	44,8	51,2	50,1 ± 3,9	49,6	44,8	51,2	50,1 ± 3,9	49,6	44,8	51,2	50,1 ± 3,9
	55,2	45,6	51,2		55,2	45,6	51,2		55,2	45,6	51,2	
	55,5	46,4	51,1		55,5	46,4	51,1		55,5	46,4	51,1	
7	51,2	46,4	51,0	47,7 ± 3,4	48,0	41,6	54,4	46,7 ± 4,7	36,0	36,0	40,8	38,1 ± 2,5
	50,4	43,2	48,8		47,2	40,8	50,4		36,8	37,6	42,4	
	48,8	41,6	48,0		45,6	41,6	50,4		36,8	36,0	40,8	
14	50,4	43,2	49,6	47,1 ± 3,0	46,4	44,0	51,8	45,0 ± 3,7	33,6	31,2	34,4	32,4 ± 1,4
	49,6	44,0	48,0		42,4	41,6	48,8		31,2	30,4	33,6	
	49,6	43,2	46,4		42,4	40,8	47,2		32,0	32,0	33,6	
28	51,1	45,6	53,6	48,2 ± 3,2	44,8	40,8	56,0	46,8 ± 6,7	31,2	28,8	32,0	30,0 ± 1,7
	48,8	44,8	49,6		47,2	40,0	54,4		29,6	28,0	32,0	
	48,0	43,2	48,8		46,4	37,6	53,6		30,4	27,2	31,2	
64	42,4	42,4	44,0	41,2 ± 1,6	36,0	35,2	32,8	33,6 ± 2,0	10,8	11,4	12,2	11,3 ± 0,6
	39,2	39,2	40,8		34,4	30,4	35,2		11,0	10,8	12,0	
	40,0	41,2	42,0		34,4	30,4	33,4		10,9	10,8	11,9	
98	44,0	43,2	41,8	41,3 ± 1,7	34,8	35,2	40,8	35,7 ± 2,9	8,74	8,40	9,76	8,90 ± 0,6
	40,0	40,8	41,6		37,6	32,0	36,8		8,60	8,34	9,60	
	38,4	40,8	40,8		36,8	31,2	36,0		8,54	8,32	9,50	

Tabela 44 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a 22±3°C (ao abrigo da luz) (média ± desvio-padrão; n=3).

Temperatura	22±3°C (ao abrigo da luz)											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão
0	102,6	100,5	103,0	101,5	113,5	116,3	106,0	112,7	115,5	103,4 ± 2,4	108,9 ± 7,3	111,6±7,5
7	103,8	102,2	102,8	106,6	116,7	107,8	109,0	114,8	118,6	106,5 ± 2,6	111,2 ± 7,9	109,7±8,1
14	101,2	100,5	101,7	106,1	108,7	121,0	104,4	98,7	100,4	103,9 ± 2,5	102,6 ± 5,3	107,7±11,5
28	105,4	101,3	101,1	107,8	112,1	77,8	111,1	110,8	107,1	108,1 ± 2,9	108,1 ± 5,9	95,3±15,5
64	99,7	91,3	90,1	103,7	116,3	115,3	104,1	105,0	101,6	102,5 ± 2,5	104,2 ± 12,5	102,4±12,6
98	102,3	98,1	94,5	105,4	116,9	112,1	98,6	86,5	81,9	102,1 ± 3,4	100,5 ± 15,3	96,2±15,2

Tabela 45 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão
0	102,6	100,5	103,0	101,5	113,5	116,3	106,0	112,7	115,5	103,4 \pm 2,4	108,9 \pm 7,3	111,6 \pm 7,5
7	100,9	100,7	102,9	103,0	107,0	106,3	104,2	100,7	104,7	102,7 \pm 1,7	102,8 \pm 3,6	104,6 \pm 1,7
14	84,2	85,7	86,0	88,0	101,9	103,9	91,9	108,3	111,3	88,0 \pm 3,8	98,7 \pm 11,6	100,4 \pm 13,0
28	103,7	99,8	100,5	106,2	114,4	91,9	109,1	116,9	123,2	106,3 \pm 2,7	110,4 \pm 9,2	105,2 \pm 16,2
64	101,8	96,9	94,9	94,9	103,3	105,0	104,2	106,4	105,2	100,3 \pm 4,8	102,2 \pm 4,8	101,7 \pm 5,9
98	101,3	97,6	94,9	106,4	117,9	115,2	80,7	74,0	72,9	96,1 \pm 13,6	96,5 \pm 22,0	94,3 \pm 21,1

Tabela 46 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$40\pm 2^{\circ}\text{C}$ ($75\pm 5\%$ HR)											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão
0	102,6	100,5	103,0	101,5	113,5	116,3	106,0	112,7	115,5	103,4 \pm 2,4	108,9 \pm 7,3	111,6 \pm 7,5
7	104,0	102,8	103,0	105,6	118,9	116,2	106,3	115,0	114,4	105,3 \pm 1,2	112,2 \pm 8,4	111,2 \pm 7,2
14	85,3	92,5	88,7	104,5	113,2	113,8	98,5	86,4	84,1	96,1 \pm 9,8	97,4 \pm 14,1	95,5 \pm 16,0
28	99,0	92,4	84,8	103,2	115,4	105,5	100,6	101,5	95,1	100,9 \pm 2,1	103,1 \pm 11,6	95,1 \pm 10,3
64	101,4	93,7	87,0	102,7	111,9	101,0	99,4	83,4	72,6	101,2 \pm 1,6	96,3 \pm 14,4	86,9 \pm 14,2
98	102,8	94,6	82,8	104,5	108,3	97,7	101,2	101,4	89,5	102,9 \pm 1,6	101,5 \pm 6,8	90,0 \pm 7,4

Tabela 47 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel armazenados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ e expostos à luz (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ com exposição à luz											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão
0	102,6	100,5	103,0	101,5	113,5	116,3	106,0	112,7	115,5	103,4 \pm 2,4	108,9 \pm 7,3	111,6 \pm 7,5
7	80,8	82,0	82,6	86,8	99,9	102,7	91,1	111,5	114,9	86,2 \pm 5,2	97,8 \pm 14,9	100,1 \pm 16,3
14	83,3	82,7	81,8	89,5	103,7	95,5	89,4	110,2	112,4	87,4 \pm 3,6	98,9 \pm 14,4	96,6 \pm 15,3
28	79,9	81,0	79,6	84,2	99,6	95,9	91,0	112,1	111,5	85,0 \pm 5,6	97,6 \pm 15,6	95,7 \pm 15,9
64	57,7	77,8	73,5	61,9	96,1	93,3	64,4	104,3	98,7	61,3 \pm 3,4	92,7 \pm 13,6	88,5 \pm 13,3
98	57,4	77,3	67,5	65,2	97,6	88,9	68,0	104,1	94,4	63,5 \pm 5,5	93,0 \pm 14,0	83,6 \pm 14,2

4.2.2. Estabilidade microbiológica

4.2.2.1. Ensaio de esterilidade (FP9.0)

Os resultados obtidos (tabela 48) demonstram que as preparações se revelaram sempre estéreis, o que valida a técnica de preparação do gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) para a obtenção de uma preparação estéril, e comprova a adequação do material de embalagem utilizado na manutenção da esterilidade da preparação.

Tabela 48 - Resultados do ensaio de esterilidade para os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) ao longo do tempo, para cada uma das condições de armazenamento.

Tempo (dias)	Temperatura de armazenamento		
	5±3°C	22±3°C	40±2°C/75±5% HR
0	Estéril	Estéril	Estéril
7	Estéril	Estéril	Estéril
14	Estéril	Estéril	Estéril
28	Estéril	Estéril	Estéril
64	Estéril	Estéril	Estéril
98	Estéril	Estéril	Estéril

4.2.2.2. Controlo microbiológico

Foi realizado o controlo microbiológico descrito para as preparações da categoria 2 (Preparações para aplicação local ou para administração nas vias respiratórias, com exceção das preparações obrigatoriamente estéreis, e sistemas transdérmicos). Este controlo foi realizado simultaneamente ao ensaio de esterilidade para o caso deste indicar alguma contaminação microbiológica, estando os resultados resumidos nas tabelas 49, 50 e 51.

Os resultados obtidos permitiram validar a técnica de preparação asséptica utilizada na obtenção desta preparação estéril e paralelamente confirmar a adequação do material de embalagem utilizado para o acondicionamento desta preparação (seringas estéreis fechadas com tampas *luer-lock*).

Tabela 49 – Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) armazenados a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
64	0	0	0	Ausentes
98	0	0	0	Ausentes

Tabela 50 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) armazenados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	$22\pm 3^{\circ}\text{C}$			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
64	0	0	0	Ausentes
98	0	0	0	Ausentes

Tabela 51 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$.

Tempo (dias)	$40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
64	0	0	0	Ausentes
98	0	0	0	Ausentes

4.3. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL MÃE FLUIDO DE NACMC 0.5% (M/M)

4.3.1. Estabilidade Físico-química

4.3.1.1. Características organolépticas

A formulação de gel mãe fluido apresentava um aspeto homogéneo, transparente, incolor, pouco viscoso e inodora (figura 41). Estas características mantiveram-se durante os 60 dias de duração do estudo de estabilidade.

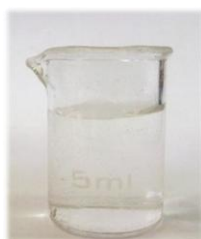


Figura 41 - Aspeto do gel mãe de NaCMC 0,5% (m/m) aos 60 dias do estudo de estabilidade.

4.3.1.2. Determinação do pH

Os valores da variação do pH obtidos ao longo do estudo de estabilidade do gel mãe fluido de NaCMC a 0,5% (m/m) encontram-se resumidos na tabela 52.

Tabela 52 -Variação dos valores de pH ao longo do tempo para o lote de gel mãe fluido de NaCMC 0,5% (m/m).

	Tempo (dias)				
	0	7	14	28	63
Determinação do pH a 22±3°C	6,27	6,24	6,29	6,36	6,30
	6,21	6,22	6,30	6,34	6,31
	6,17	6,21	6,30	6,33	6,32
Média	6,22	6,22	6,30	6,34	6,31
Desvio-Padrão	0,041	0,012	0,005	0,012	0,008

A análise dos valores médios de pH determinados ao longo do ensaio de estabilidade mostra que não se registam variações significativas do pH do gel mãe fluido. Aos 14 dias registou-se uma ligeira tendência de subida no valor do pH, que não se considerou ser significativa pois o intervalo de valores obtidos revelou-se sempre compatível com a incorporação da substância ativa ao longo de todo o tempo do estudo de estabilidade.

4.3.1.3. Análise da viscosidade

A variação da viscosidade aparente do gel mãe ao longo do estudo de estabilidade encontra-se representada graficamente na figura 42.

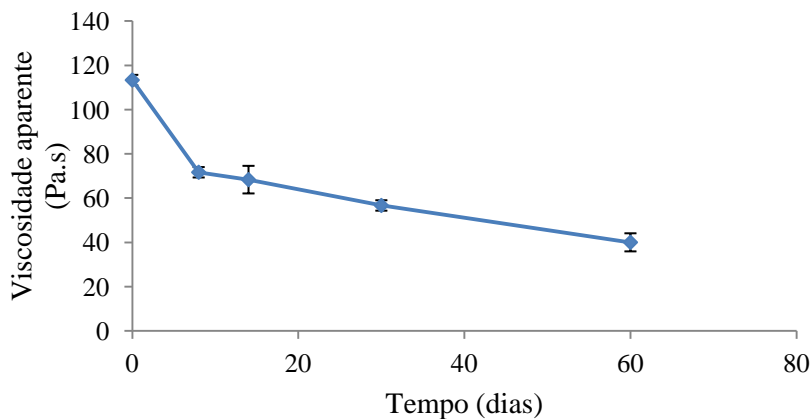


Figura 42- Variação da viscosidade aparente do gel mãe fluido de NaCMC 0.5% (m/m) ao longo do estudo de estabilidade

A análise dos dados relativos à determinação da viscosidade aparente no gel mãe fluido mostra que há uma perda considerável de viscosidade da preparação ao longo do estudo de estabilidade. Verificou-se que a viscosidade aparente ao fim dos 60 dias era três vezes inferior ao valor inicial. À semelhança do que foi referido para o gel mãe consistente de NaCMC a 3% (m/m), também neste caso poderia ter sido vantajoso promover em paralelo o estudo de estabilidade desta formulação acondicionada a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ no sentido de se verificar se as baixas temperaturas no acondicionamento seriam vantajosas para a manutenção da viscosidade.

4.3.1.4. Doseamento dos parabenos

A figura 43 representa graficamente a recuperação em percentagem do MP e PP no lote de gel mãe fluido, obtidos ao longo do estudo de estabilidade.

Tal como já anteriormente foi referido, aquando do doseamento dos parabenos foi observada uma grande variabilidade, no entanto a conjugação deste dados com os relativos à estabilidade microbiológica e de eficácia de conservantes atesta a estabilidade e atividade do MP e PP nas preparações ao longo de todo o estudo de estabilidade.

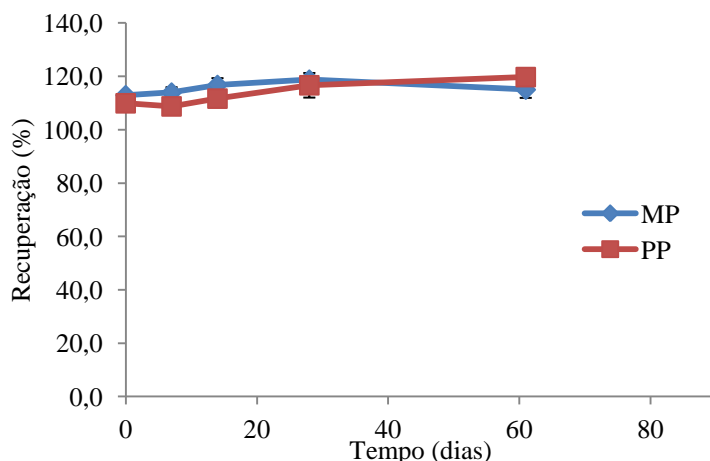


Figura 43 - Representação gráfica da recuperação (%) de MP e PP no gel mãe de NaCMC 0,5% (m/m) (média \pm desvio-padrão; n=1).

4.3.2. Estabilidade microbiológica

4.3.2.1. Ensaio de eficácia dos conservantes antimicrobianos

A tabela 53 resume a contagem de ufc/mL de gel mãe de NaCMC a 0,5% (m/m), ao longo dos 28 dias do ensaio de eficácia de conservantes. Verifica-se que o conservante utilizado foi eficaz de acordo com os critérios A para as bactérias e fungos em estudo neste ensaio. Comparativamente com os resultados obtidos aquando do desenvolvimento galénico da formulação de gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) verificou-se, tal como esperado, um padrão de eficácia superior pois nesta preparação mãe a concentração de parabenos era duas vezes superior à concentração de parabenos observada na formulação final contendo a substância ativa.

Tabela 53 - Resultados da contagem de unidades formadoras de colónias (ufc)/mL de gel mãe de NaCMC a 0,5% (m/m), ao longo dos 28 dias do ensaio de eficácia de conservantes.

Formulação	Estirpes	Tempo (dias)						
		Inóculo	0	0.25	1	7	14	28
		UFC/ ml						
Água (controlo negativo)		0	0	0	0	0	0	0
Gel mãe de NaCMC 0,5% (m/m) (n=1)	<i>P. aeruginosa</i>	1,268 X 10 ⁹	6,8 x 10 ⁵	0	0	0	0	0
	<i>S. aureus</i>	5,12 X 10 ⁸	2,61 x 10 ⁶	2,02 x 10 ⁴	0	0	0	0
	<i>C. albicans</i>	8,5 X 10 ⁷	3,4 x 10 ⁵	6,15 x 10 ⁴	4,69x 10 ⁴	2,0 x 10 ⁴	0	0
	<i>A.niger</i>	2,4 X 10 ⁷	1,6 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	4,0 x 10 ⁴	0	0	0

4.3.2.2. Ensaio de esterilidade

À semelhança do que se observou para a preparação mãe de gel consistente de NaCMC 3% (m/m), também no caso do gel fluido de NaCMC 0,5% (m/m) ficou demonstrada a esterilidade da preparação no início, pois não se observou qualquer turvação dos meios nutritivos nos quais se inoculou esta preparação. Este aspeto permitiu validar a técnica de preparação desta formulação no que respeita à obtenção de uma preparação estéril.

4.4. ESTUDO DE ESTABILIDADE DO GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0 % (M/M)

4.4.1. Estabilidade Físico-química

4.4.1.1. Características organolépticas

Relativamente às características organolépticas, verificou-se que os 3 lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ e a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR, mantiveram sempre as mesmas características inicialmente observadas (coloração ligeiramente amarela, translúcidos com aspeto fluido, homogêneos e inodoros). Relativamente às amostras acondicionadas a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR, aos 63 dias foi possível observar uma intensificação da coloração amarelada do gel (figura 44).

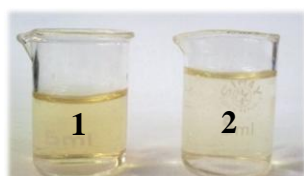


Figura 44 –Aspeto do gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m), aos 63 dias, armazenado a (1) $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR e (2) do mesmo lote de gel acondicionado a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ (temperatura ambiente).

A degradação da morfina é catalisada pelo oxigénio atmosférico, pela radiação solar, radiação ultravioleta e pela presença de ferro e de outras impurezas orgânicas (97). Esta degradação está associada a alterações da coloração das suas soluções aquosas. Alguns autores sugeriram que a degradação da morfina é devida a uma reação de oxidação, resultando na formação de pseudomorfina e N-óxido de morfina na proporção de 9:1 (97). A apomorfina foi também identificada como um produto de degradação da morfina, mas, laboratorialmente para a sua obtenção é necessário submeter a morfina a $60-65^{\circ}\text{C}$ em HCl concentrado, sendo que esta se degrada rapidamente originando

produtos de degradação com uma coloração azul-verde. No entanto, esta coloração nunca foi observada nem relacionada com a degradação de nenhuma solução aquosa de morfina. Assim, pode concluir-se que a degradação da morfina origina essencialmente pseudomorfina e em menor extensão o N-óxido de morfina (Figura 45) (97). Dado que a degradação da morfina está relacionada com a presença de oxigénio e que esta não se verifica na sua ausência, as espécies reativas de oxigénio podem estar envolvidas neste processo (97). Apesar de estar descrito o mecanismo de degradação da morfina, permanecem ainda desconhecidas as substâncias que estão na origem do aparecimento de colorações amareladas intensas e/ou acastanhadas nas soluções aquosas de morfina durante o seu armazenamento.

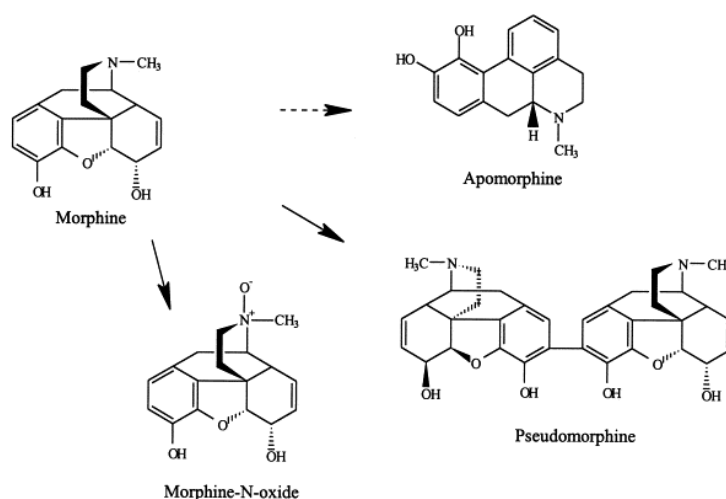


Figura 45 - Degradação global da morfina. (→) Principais produtos de degradação em condições ambientais; (--->) Produto de degradação menos provável nas condições ambientais (97).

Alguns autores referem que esta alteração de coloração é devida à formação de pseudomorfina, pois verifica-se uma boa correlação entre a absorvância medida a 450nm e a concentração desta substância. Estes dados também apoiam as conclusões de um estudo (97) que relacionou a intensificação da coloração amarelo-acastanhada com níveis aumentados de pseudomorfina. Porém, uma solução de pseudomorfina é incolor, assim como uma solução de N-óxido de morfina, o que levou outros autores a sugerir que esta alteração da coloração é devida a uma degradação adicional (provavelmente polimerização) dos produtos de degradação originais. Apesar disto, mesmo em soluções de coloração acastanhado intenso, a degradação da substância ativa permaneceu abaixo dos 5%, não se registando qualquer diferença entre a diminuição do teor em morfina e o aumento da concentração de pseudomorfina. Isto sugere que estas alterações da

coloração são devidas a uma degradação ulterior da pseudomorfina que, por sua vez ocorre em pequena extensão, mas que origina produtos de degradação fortemente corados (97). Esta hipótese está de acordo com o caso concreto das amostras de gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenadas a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ de HR para as quais se registou a alteração da coloração acima descrita. Tal como descrito anteriormente, também no caso destas amostras o doseamento do cloridrato de morfina se manteve dentro dos limites de especificação admitidos (figura 46), o que indica que os eventuais produtos de degradação se formam em pequena extensão mas, ainda que em baixa quantidade, são responsáveis pelo desenvolvimento na preparação de uma coloração intensa. A análise dos cromatogramas relativos a estas amostras não revela qualquer pico adicional, possivelmente pelo facto de estas substâncias, responsáveis pela coloração, absorverem num comprimento de onda diferente do utilizado no método analítico em questão (235 nm).

4.4.1.2. Determinação do pH

Analisando os valores de pH obtidos para os 3 lotes de gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo (tabela 54), verificou-se que para as preparações armazenadas a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ e a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ não se registaram variações significativas nos valores médios de pH. Para os lotes acondicionados a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR, registou-se uma ligeira diminuição do pH aos 63 dias, acompanhada pela mudança de coloração acima referida. Os valores de pH obtidos revelaram-se sempre compatíveis com a aplicação em feridas e relativamente mais baixos do que os registados para a formulação de gel mais consistente, o que do ponto de vista da cicatrização é mais vantajoso. Também do ponto de vista da estabilidade do cloridrato de morfina, estes valores mais acídicos de pH parecem desfavorecer reações de degradação da molécula (96).

Tabela 54 - Variação do valor de pH dos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a 22±3°C, a 5±3°C e a 40±2°C/75±5% HR (média ± desvio-padrão; n=3).

Temperatura	5±3°C			Média± Desvio-padrão	22±3°C			Média± Desvio-padrão	40±2°C (75±5% HR)			Média± Desvio-padrão
Tempo (dias)	pH das amostras				pH das amostras				pH das amostras			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
0	5,72	5,71	5,67	5,64 ± 0,05	5,72	5,71	5,67	5,64 ± 0,05	5,72	5,71	5,67	5,64 ± 0,05
	5,63	5,64	5,61		5,63	5,64	5,61		5,63	5,64	5,61	
	5,61	5,59	5,58		5,61	5,59	5,58		5,61	5,59	5,58	
7	5,57	5,55	5,55	5,59 ± 0,03	5,70	5,55	5,51	5,64 ± 0,05	5,49	5,53	5,52	5,54 ± 0,03
	5,61	5,58	5,60		5,68	5,88	5,59		5,53	5,57	5,55	
	5,62	5,62	5,62		5,62	5,60	5,60		5,57	5,57	5,56	
14	5,71	5,59	5,62	5,64 ± 0,03	5,66	5,60	5,58	5,62 ± 0,02	5,52	5,52	5,52	5,55 ± 0,02
	5,67	5,63	5,63		5,63	5,61	5,60		5,56	5,56	5,55	
	5,65	5,65	5,64		5,63	5,62	5,61		5,56	5,57	5,55	
28	5,79	5,62	5,59	5,67 ± 0,06	5,77	5,76	5,71	5,68 ± 0,05	5,42	5,48	5,53	5,50 ± 0,04
	5,72	5,65	5,64		5,68	5,65	5,66		5,48	5,53	5,53	
	5,68	5,65	5,65		5,67	5,63	5,63		5,49	5,53	5,53	
63	5,52	5,62	5,62	5,61 ± 0,04	5,46	5,47	5,50	5,51 ± 0,03	5,30	5,31	5,31	5,33 ± 0,03
	5,57	5,62	5,65		5,52	5,52	5,52		5,31	5,37	5,34	
	5,60	5,63	5,67		5,54	5,54	5,53		5,33	5,38	5,34	

4.4.1.3. Análise da viscosidade

Verificou-se uma redução gradual da viscosidade aparente dos geles fluidos armazenados nas diferentes condições, ao longo do ensaio (tabela 55). Esta redução aconteceu de forma semelhante em todos os lotes, armazenados a $22\pm 3^\circ\text{C}$ e a $5\pm 3^\circ\text{C}$, tendo sido mais evidente nas amostras armazenadas a $40\pm 2^\circ\text{C}$.

4.4.1.4. Doseamento da substância ativa

As tabelas 56, 57, 58 e 59 resumem as percentagens de recuperação da substância ativa e dos conservantes ao longo do tempo para os lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) nas diferentes condições de armazenamento. Os dados representados na figura 46 mostram que a percentagem de recuperação da substância ativa se manteve dentro do intervalo da especificação de 90-110%, para todos os lotes acondicionados nas diferentes condições de armazenamento.

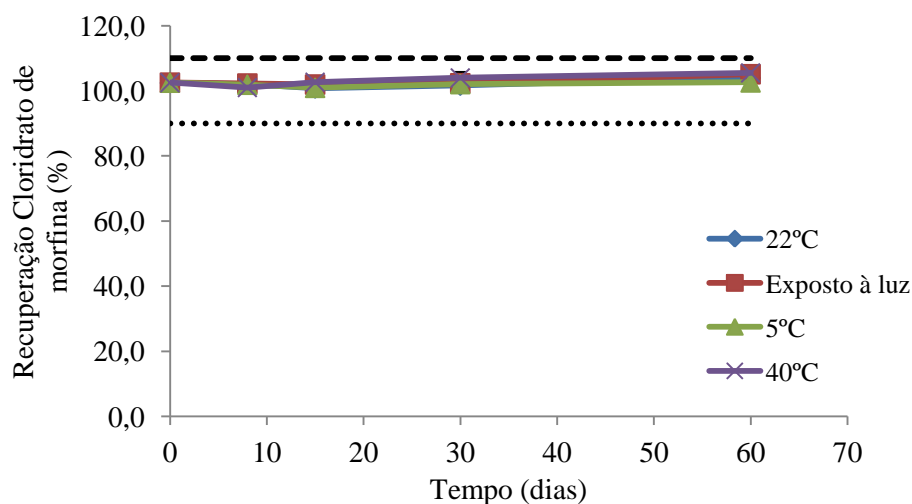


Figura 46 - Recuperação (%) da substância ativa nos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^\circ\text{C}$, a $5\pm 3^\circ\text{C}$, a $40\pm 2^\circ\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^\circ\text{C}\pm 3^\circ\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3).

Tabela 55 - Variação dos valores da viscosidade aparente dos geles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ e a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$			$22\pm 3^{\circ}\text{C}$			$40\pm 2^{\circ}\text{C}$ (75 \pm 5% HR)					
Tempo (dias)	Viscosidade das amostras (mPa.s)			Média \pm Desvio-padrão	Viscosidade das amostras (mPa.s)			Média \pm Desvio-padrão	Viscosidade das amostras (mPa.s)			Média \pm Desvio-padrão
	Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
0	40,0	25,0	20,0	25,6 \pm 10,1	40,0	25,0	20,0	25,6 \pm 10,1	40,0	25,0	20,0	25,6 \pm 10,1
	40,0	20,0	15,0		40,0	20,0	15,0		40,0	20,0	15,0	
	35,0	20,0	15,0		35,0	20,0	15,0		35,0	20,0	15,0	
7	28,0	25,0	20,0	20,3 \pm 4,8	20,0	30,0	25,0	25,0 \pm 6,6	20,0	20,0	25,0	20,6 \pm 3,0
	25,0	20,0	15,0		30,0	15,0	30,0		20,0	20,0	20,0	
	20,0	15,0	15,0		30,0	15,0	30,0		15,0	20,0	25,0	
14	15,0	10,0	20,0	16,1 \pm 3,3	25,0	15,0	15,0	16,7 \pm 3,5	25,0	15,0	20,0	20,0 \pm 3,5
	15,0	20,0	15,0		15,0	15,0	15,0		20,0	20,0	25,0	
	15,0	15,0	20,0		15,0	15,0	20,0		20,0	15,0	20,0	
28	20,0	15,0	15,0	16,1 \pm 4,2	20,0	15,0	20,0	17,8 \pm 3,6	15,0	15,0	15,0	15,0 \pm 4,3
	10,0	10,0	20,0		15,0	15,0	20,0		25,0	15,0	10,0	
	20,0	15,0	20,0		15,0	15,0	25,0		15,0	15,0	10,0	
63	15,0	20,0	20,0	17,2 \pm 2,6	20,0	15,0	10,0	17,8 \pm 5,7	10,0	10,0	10,0	11,1 \pm 2,2
	15,0	15,0	20,0		30,0	15,0	15,0		10,0	15,0	10,0	
	20,0	15,0	15,0		20,0	15,0	20,0		15,0	10,0	10,0	

Tabela 56 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 22±3°C (ao abrigo da luz) (média ± desvio-padrão; n=3).

Temperatura	22±3°C											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão
0	102,5	115,3	123,8	102,6	117,2	121,5	102,5	93,1	98,5	102,5 ± 0,1	108,5 ± 13,4	114,6±14,0
7	102,1	105,7	118,1	100,6	113,0	112,5	102,1	84,3	71,0	101,6 ± 0,9	101,0 ± 14,9	100,5±25,8
14	100,8	108,2	112,6	100,6	114,1	115,2	101,5	92,0	98,2	101,0 ± 0,5	104,8 ± 11,5	108,7±9,2
28	101,7	110,9	111,7	100,5	118,8	116,2	101,6	91,6	100,0	101,3 ± 0,7	107,1 ± 14,0	109,3±8,4
63	104,0	114,3	102,4	104,0	116,5	97,5	103,0	93,1	85,7	103,6 ± 0,6	107,9 ± 12,9	95,2±8,6

Tabela 57 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão
0	102,5	115,3	123,8	102,6	117,2	121,5	102,5	93,1	98,5	102,5 \pm 0,1	108,5 \pm 13,4	114,6 \pm 14,0
7	101,4	119,1	115,2	101,9	120,3	117,9	99,8	94,1	93,8	101,0 \pm 1,1	111,2 \pm 14,8	108,9 \pm 13,2
14	101,3	107,0	91,4	102,7	107,2	115,6	104,0	86,0	94,0	102,7 \pm 1,3	100,1 \pm 12,2	100,3 \pm 13,3
28	103,2	106,9	109,3	102,6	109,9	111,2	106,1	87,7	89,6	104,0 \pm 1,9	101,5 \pm 12,0	103,3 \pm 12,0
63	105,6	111,9	109,5	107,0	116,3	114,0	104,0	95,7	94,5	105,5 \pm 1,5	108,0 \pm 10,9	106,0 \pm 10,2

Tabela 58 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio-padrão; n=3).

Temperatura	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão	Média \pm Desvio-Padrão
0	102,5	115,3	123,8	102,6	117,2	121,5	102,5	93,1	98,5	102,5 \pm 0,1	108,5 \pm 13,4	114,6 \pm 14,0
7	101,9	110,1	110,7	101,8	121,2	118,3	102,1	94,1	94,8	101,9 \pm 0,1	108,5 \pm 13,6	107,9 \pm 12,0
14	100,0	110,1	117,6	101,5	113,7	116,5	101,3	88,8	98,5	100,9 \pm 0,9	104,2 \pm 13,5	110,9 \pm 10,7
28	101,9	111,9	104,6	102,0	115,4	119,0	102,4	87,8	91,2	102,1 \pm 0,2	105,0 \pm 15,0	104,9 \pm 13,9
63	102,3	113,2	111,2	104,3	117,4	114,2	101,3	91,5	89,5	102,6 \pm 1,6	107,4 \pm 13,9	105,0 \pm 13,5

Tabela 59 - Recuperação do cloridrato de morfina, MP e PP (%) nos lotes de gel fluido armazenados a 22±3°C (expostos à luz) (média ± desvio-padrão; n=3).

Temperatura	Exposição à luz											
Tempo (dias)	Recuperação (%)											
	Lote 1			Lote 2			Lote 3			Cloridrato Morfina (CM)	Metilparabeno (MP)	Propilparabeno (PP)
	CM	MP	PP	CM	MP	PP	CM	MP	PP	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão	Média ± Desvio-Padrão
0	102,5	115,3	123,8	102,6	117,2	121,5	102,5	93,1	98,5	102,5 ± 0,1	108,5 ± 13,4	114,6 ± 14,0
7	102,3	117,5	114,4	101,7	119,6	114,7	102,7	96,6	93,6	102,3 ± 0,5	111,3 ± 12,7	107,6 ± 12,1
14	101,8	105,0	96,2	102,1	116,4	118,3	101,9	89,6	93,9	102,0 ± 0,2	103,7 ± 13,5	102,8 ± 13,5
28	102,4	111,6	115,3	103,0	115,4	121,8	101,7	87,8	91,6	102,4 ± 0,6	104,9 ± 14,9	109,6 ± 15,9
63	105,2	113,5	97,9	104,8	114,1	110,5	105,3	92,8	90,8	105,1 ± 0,3	106,8 ± 12,1	99,7 ± 9,9

Nestas amostras, ao contrário do que se verificou para os lotes do gel consistente de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m), não se registou a diminuição do teor em substância ativa nas amostras acondicionadas a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ expostas à luz. O facto de o material de acondicionamento ser de vidro âmbar terá sido responsável por este aspeto, ficando assim a substância ativa protegida da luz exterior e subsequente degradação.

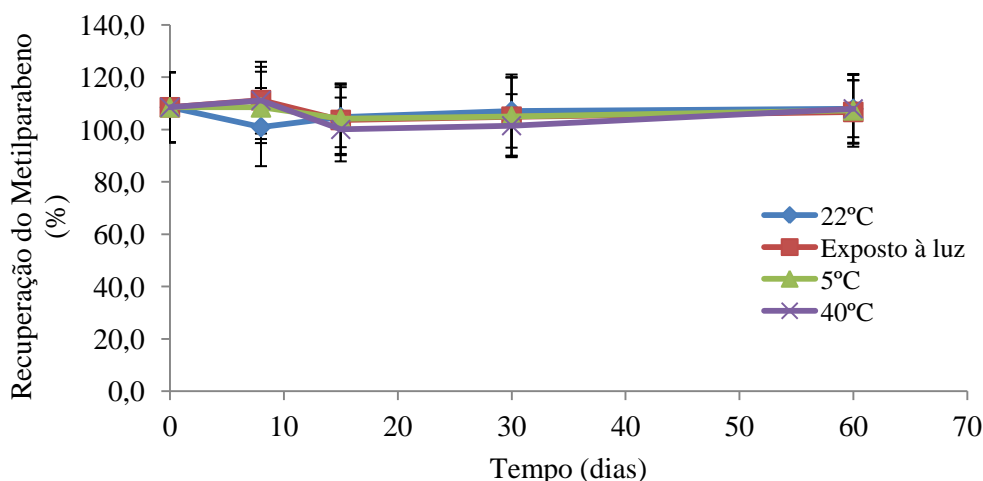


Figura 47 - Recuperação (%) do MP nos géles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3).

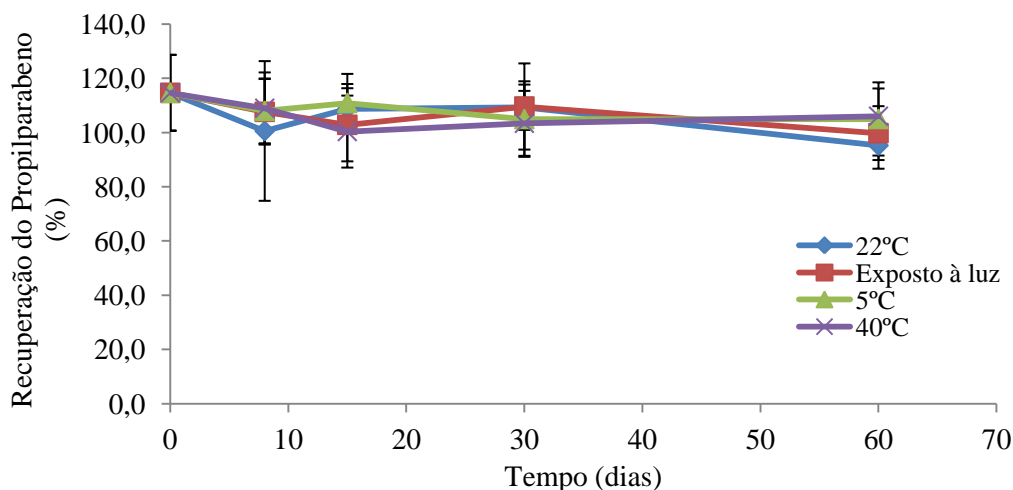


Figura 48 - Recuperação (%) do PP nos géles de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, nos lotes acondicionados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\% \text{HR}$ e a $22^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ exposto à luz (média \pm desvio-padrão; n=3).

Relativamente aos conservantes MP e PP, à semelhança do que aconteceu para o gel consistente, foi determinado o seu teor ao longo do tempo para se estudar a sua

variação. Verificou-se que o teor de MP e PP não sofreu alterações significativas ao longo do estudo de estabilidade (figuras 47 e 48).

4.4.2. Estabilidade microbiológica

4.4.2.1. Ensaio de esterilidade

Foi efetuado o ensaio de esterilidade a cada tempo e para cada condição de armazenamento destas preparações. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 60 e a sua análise permite validar a metodologia de preparação utilizada para a obtenção de preparações estéreis, assim como a adequação do recipiente multidose utilizado no acondicionamento no que diz respeito à manutenção da esterilidade.

Tabela 60 - Resultados do ensaio de esterilidade para os 3 lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) ao longo do tempo, para cada uma das condições de armazenamento.

Tempo (dias)	5±3°C	22±3°C	40±2°C/75±5% HR
0	Estéril	Estéril	Estéril
7	Estéril	Estéril	Estéril
14	Estéril	Estéril	Estéril
28	Estéril	Estéril	Estéril
63	Estéril	Estéril	Estéril

4.4.2.2. Controlo microbiológico

O gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) é acondicionado num recipiente multidose de vidro âmbar, com 10 mL de capacidade e provido de dispositivo doseador. Este aspeto faz com que após a primeira utilização, o produto possa ficar mais sujeito à contaminação microbiana. O ensaio de eficácia de conservantes, realizado aquando do desenvolvimento galénico, demonstrou a eficácia da mistura de parabenos utilizada nesta formulação para prevenir a contaminação microbiana. Os resultados do controlo microbiológico realizado sobre os 3 lotes colocados nas diferentes condições de armazenamento encontram-se descritos nas tabelas 61, 62 e 63. Em conjunto com os resultados do ensaio de eficácia de conservantes e de esterilidade, a análise destes resultados permite comprovar a resistência destas preparações à contaminação microbiana durante o seu período de utilização.

Tabela 61 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a $5\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	$5\pm 3^{\circ}\text{C}$			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
63	0	0	0	Ausentes

Tabela 62 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a $22\pm 3^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	$22\pm 3^{\circ}\text{C}$			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
63	0	0	0	Ausentes

Tabela 63 - Resultados do controlo microbiológico dos lotes de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) armazenados a $40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR.

Tempo (dias)	$40\pm 2^{\circ}\text{C}/75\pm 5\%$ HR			
	Bactérias aeróbias viáveis totais		Fungos e Leveduras	<i>E. coli</i> <i>P.aeruginosa</i> <i>S.aureus</i>
	30°C	37°C		
0	0	0	0	Ausentes
7	0	0	0	Ausentes
14	0	0	0	Ausentes
28	0	0	0	Ausentes
63	0	0	0	Ausentes

5. Conclusão

Atendendo aos resultados obtidos ao longo do estudo de estabilidade do gel mãe de NaCMC a 3% (m/m), do ponto de vista da estabilidade físico-química não se registaram alterações significativas nesta preparação, no entanto, a marcada redução da viscosidade aparente fez com que se estabelecesse um prazo de utilização máximo para esta preparação mãe de 7 dias. Do ponto da estabilidade microbiológica a preparação revelou-se estéril, o que permitiu validar a técnica de preparação utilizada. A eficácia conservante demonstrada pela preparação previne a invasão microbiana desta formulação mãe durante o seu período de armazenamento.

O gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) revelou-se estável do ponto de vista físico-químico e microbiológico. Assim, foi possível estabelecer um prazo de validade para esta preparação de 60 dias, mantida a 22°C (temperatura ambiente), apesar de o armazenamento a 5±3°C (frigorífico) parecer ser mais favorável à manutenção da viscosidade da preparação. Apesar de aos 64 dias a análise gráfica da variação da viscosidade ao longo do tempo denunciar uma redução da viscosidade, do ponto de vista da análise sensorial e da utilização terapêutica a que se destina a sua utilização esta variação não se traduziu, na prática, em alterações consideráveis da estrutura do gel, o que foi decisivo para o estabelecimento deste prazo de validade. Pelo facto de a substância ativa ser um estupefaciente cujo circuito de distribuição é controlado, o armazenamento desta substância pode assim ser feito à temperatura ambiente, num local do serviço Farmacêutico de acesso controlado, junto das demais especialidade farmacêuticas que contêm substâncias estupefacientes e psicotrópicas.

Apesar de a preparação mãe de NaCMC se revelar estável do ponto de vista microbiológico, da manutenção do pH e dos teores em MP e PP, a marcada diminuição da viscosidade que se verificou logo aos 7 dias impossibilita a preparação prévia de um gel mãe fluido para incorporação posterior da substância ativa. Assim, a preparação do gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) deve ser feita incorporando a substância ativa na base do gel logo após a inclusão da solução de concentrado de parabenos.

Os resultados obtidos permitiram concluir que o gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) é estável do ponto de vista físico-químico e microbiológico, sendo possível

estabelecer um prazo de validade para esta preparação de 60 dias, mantida à temperatura ambiente.

IV PARTE – CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

A realização deste trabalho permitiu desenvolver e estudar duas formulações para aplicação tópica em feridas dolorosas, contendo cloridrato de morfina, com uma metodologia de preparação simples e exequível na prática diária da preparação de medicamentos manipulados em Farmácia Hospitalar.

As formulações desenvolvidas destinam-se ao alívio da dor associada a feridas, no entanto, o seu desenvolvimento foi feito de modo a que a sua aplicação proporcionasse ao leito da ferida as melhores condições para a cicatrização.

Numa primeira fase foi desenvolvido um gel mais consistente, utilizando um polímero (NaCMC - agente gelificante) que parece promover o processo de cicatrização, onde foi posteriormente incorporada a substância ativa obtida a partir de uma especialidade farmacêutica (solução injetável). Esta preparação foi desenvolvida utilizando procedimentos que conduziram à obtenção de um produto final estéril (esterilização por autoclavagem e recurso a técnica asséptica) e a sua caracterização revelou um produto com características organolépticas melhores que as das preparações descritas na bibliografia (utilizando sulfato de morfina em IntraSite®Gel), pois a transparência do gel obtido parece ser favorável à visualização das estruturas sob a zona onde é aplicado, com um pH favorável ao processo de cicatrização e à estabilidade da substância ativa, e com um comportamento reológico adequado.

Relativamente ao gel fluido de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) foi possível, através da otimização da concentração do agente gelificante (NaCMC) e utilizando a mesma metodologia de preparação desenvolvida para a formulação fluida, obter uma formulação passível de administrar em feridas localizadas em zonas anatómicas de difícil acesso ou envolvendo áreas extensas, cuja pulverização origina gotículas que se mantêm sobre a superfície de aplicação sem se movimentarem. A concentração desta formulação em substância ativa foi adaptada de acordo com as características do dispositivo doseador utilizado, no entanto, a lacuna de dados relativos à utilização clínica de preparações com estas características é ainda um fator limitante para o estabelecimento de uma concentração ideal em cloridrato de morfina.

O estudo de cedência da substância ativa, para cada uma das matrizes de gel desenvolvidas, mostrou que o perfil de cedência do gel fluido de cloridrato de morfina a

1,0% (m/m) foi superior (64,0%) ao do gel consistente a 0,125% (m/m) (43,2%) e consistente com as diferentes finalidades para as quais foram desenvolvidas as duas formulações.

A utilização do cloridrato de morfina, permitiu a obtenção de duas formulações cujas características físico-químicas e microbiológicas se revelaram estáveis e adequadas à utilização em feridas. O estudo de estabilidade efetuado permitiu estabelecer um prazo de validade de 60 dias, para ambas as formulações, acondicionadas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Os farmacêuticos hospitalares podem, assim, através da aplicação dos seus conhecimentos técnico-científicos e da manipulação galénica, colaborar no desenvolvimento de novas alternativas seguras e eficazes para dar resposta às necessidades específicas de doentes com dor associada a feridas e refratária à terapêutica analgésica administrada pelas convencionais vias de administração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.Rocha MJSP, Cunha EMRRP, Dinis AP, Coelho CMVO. Feridas Uma Arte Secular. Avanços Tecnológicos no Tratamento de Feridas. 2ª ed. Coimbra: Minerva-Coimbra; 2006. pp13-23;110-124;155-160.
2. Kevin Y Woo, Elizabeth A Ayello, Sibbald RG. The skin and periwound skin disorders and management. *Wound Healing Southern Africa*. 2009;2(2).
3. Kielhorn J, Melching-Kollmub S, Mangelsdorf I. Dermal Absorption - Environmental Health Criteria 235. Switzerland, World Health Organization Press. 2006.
4. Aulton ME. *Aulton's Pharmaceutics - The Design and Manufacture of Medicines*. 3ªed. Londres: Churchill Livingstone Elsevier; 2007. pp 565-583; 598-605.
5. Goldman L, Schafer AI. *Goldman's Cecil Medicine*. 24th ed. New York: Elsevier; 2011. pp2498-2502.
6. Barata E AF. *Cosméticos - Arte e Ciência*. Lisboa: Lidel - Edições técnicas, Lda; 2002. pp 1-10;
7. Lachman L, Lieberman HA, L. Kanig J. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. 2ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001. pp908-911;
8. Habif PT. *Clinical Dermatology*. 5ª ed. St Louis, Mo: Mosby; 2009.
9. Thomas S. *Wound management and dressings*. London: The pharmaceutical press; 1990.
10. Schultz GS, Wysocki GLA. Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds. *World wide wounds*. 2005.
11. Teller P, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. *Surg Clin North Am*. 2009;89(3):599-610.
12. Goldberg SR, Diegelmann RF. *Wound healing primer*. *Surg Clin North Am*. 2010;90(6):1133-46.
13. Rocha MJ, Cunha EP. Novas abordagens no tratamento de feridas. *RevOFIL* 2002;12(3):25-30.
14. Mendonca RJ, Coutinho-Netto J. Cellular aspects of wound healing. *An Bras Dermatol*. 2009;84(3):257-62.
15. Gouin JP, Kiecolt-Glaser JK. The impact of psychological stress on wound healing: methods and mechanisms. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2011;31(1):81-93.
16. Gethin G. Wound healing science - The significance of surface pH in chronic wounds. *Wounds UK*. 2007;3(3):52-6.
17. Medscape (2012) [Internet] Technological Advances in Wound Be Measurements: Wound Bed pH; disponível em: http://www.medscape.com/viewarticle/430900_6. acessado em 06-04-2012.

18. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219-29.
19. Caldwell MD. Wound surgery. *Surg Clin North Am*. 2010;90(6):1125-32.
20. McNees P. Skin and wound assessment and care in oncology. *Semin Oncol Nurs*. 2006;22(3):130-43.
21. Balagula Y, Rosen ST, Lacouture ME. The emergence of supportive oncodermatology: the study of dermatologic adverse events to cancer therapies. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(3):624-35.
22. Grocott P, Cowley S. The palliative management of fungating malignant wounds-generalising from multiple-case study data using a system of reasoning. *Int J Nurs Stud*. 2001;38(5):533-45.
23. Seaman S. Management of malignant fungating wounds in advanced cancer. *Semin Oncol Nurs*. 2006;22(3):185-93.
24. Probst S, Arber A, Faithfull S. Malignant fungating wounds: a survey of nurses' clinical practice in Switzerland. *Eur J Oncol Nurs*. 2009;13(4):295-8.
25. A Dor como 5º sinal vital - Registo sistemático da intensidade da Dor, 09/DGCG - Ministério da Saúde (2003).
26. Ripamonti C, Bandieri E. Pain therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009;70(2):145-59.
27. Reville B, Axelrod D, Maury R. Palliative care for the cancer patient. *Prim Care*. 2009;36(4):781-810.
28. Hjermstad MJ, Fayers PM, Haugen DF, Caraceni A, Hanks GW, Loge JH, et al. Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage*. 2011;41(6):1073-93.
29. Kroenke K, Krebs EE, Bair MJ. Pharmacotherapy of chronic pain: a synthesis of recommendations from systematic reviews. *Gen Hosp Psychiatry*. 2009;31(3):206-19.
30. Avaliação da Intensidade da Dor (2012) [Internet] disponível em: <http://sobreendo.blogspot.pt/2008/08/avaliacao-da-dor.html>. Acedido em 04-05-2012.
31. Princípios gerais do tratamento da dor (2012) [Internet] disponível em: <http://odontoup.com.br/farmacologia/principios-gerais-do-tratamento-da-dor/>. Acedido em: 04-05-2012.
32. Ministério da Saúde (2012) [Internet] disponível em : <http://www.min-saude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/cuidados+paliativos/dor.htm>. Acedido em 04-05-2012.
33. Portenoy RK. Treatment of cancer pain. *Lancet*. 2011;377(9784):2236-47.
34. Paice JA, Ferrell B. The management of cancer pain. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(3):157-82.

- 35.SistemaNervoso.Com (2012) [Internet] disponível em: http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=1&materia_id=438&materiaver=1. Acedido em : 02-05-2012.
- 36.Figueiredo R, Sousa M, Miguel C, Simões E. Hábitos de prescrição Anti-álgica numa população de doentes com patologia crónica reumatológica. *Acta Médica Portuguesa*. 2011;24:53-8.
- 37.Flores MP, de Castro AP, Nascimento JS. Topical analgesics. *Rev Bras Anesthesiol*. 2012;62(2):244-52.
- 38.McCleane G. Topical analgesic agents. *Clin Geriatr Med*. 2008;24(2):299-312.
- 39.Fukuda K. Opioids. Miller: *Millen's Anesthesia*. 7^a ed: Churchill Livingstone Elsevier; 2009. pp. 769-824.
- 40.Wiffen PJ, McQuay HJ. Oral morphine for cancer pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;17(4).
- 41.Nauck F, Hardy JR. Palliative Medicine: Opioids. In: Saunders, editor. *Palliative Medicine*. 1^a ed: Saunders; 2008. pp. 754-9.
- 42.Andersen G, Christrup L, Sjogren P. Relationships among morphine metabolism, pain and side effects during long-term treatment: an update. *J Pain Symptom Manage*. 2003;25(1):74-91.
- 43.Ashfield T. The use of topical opioids to relieve pressure ulcer pain. *Nurs Stand*. 2005;19(45):90-2.
- 44.Krajnik M, Zylicz Z, Finlay I, Luczak J, van Sorge AA. Potential uses of topical opioids in palliative care--report of 6 cases. *Pain*. 1999;80(1-2):121-5.
- 45.Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology - Chapter 31:Opiod analgesics and antagonists*. 9^a ed: McGrawHill; 2004.pp 497-503.
- 46.American Family Phisician (2012) [Internet] disponível em: <http://www.aafp.org/afp/2001/0515/p1979.html>. Acedido em 04-05-2012.
- 47.Guimarães S, Moura D, Silva PSd. *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas - Manual de Farmacologia e Farmacoterapia*. 5^a ed. Porto: Porto Editora; 2006.pp38-52.
- 48.Wilcock RTA. *Palliative Care Formulary 4 (PCF4)*. 4^a ed. Nottingham: Palliativedrugs.com Ltd; 2011.pp362-367.
- 49.Farmacopeia Portuguesa 9.0. INFARMED, Lisboa: Ministério da Saúde. 2011.
- 50.Flores MP, Castro APCRd, Nascimento JdS. Analgésicos Tópicos. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. 2012;62(2):248-52.
- 51.Zeppetella G, Paul J, Ribeiro MD. Analgesic efficacy of morphine applied topically to painful ulcers. *J Pain Symptom Manage*. 2003;25(6):555-8.

52. Twillman RK, Long TD, Cathers TA, Mueller DW. Treatment of painful skin ulcers with topical opioids. *J Pain Symptom Manage*. 1999;17(4):288-92.
53. Farley P. Should topical opioid analgesics be regarded as effective and safe when applied to chronic cutaneous lesions? *J Pharm Pharmacol*. 2011;63(6):747-56.
54. Ribeiro MD, Joel SP, Zeppetella G. The bioavailability of morphine applied topically to cutaneous ulcers. *J Pain Symptom Manage*. 2004;27(5):434-9.
55. Gallagher R. Management of painful wounds in advanced disease. *Can Fam Physician*. 2010;56(9):883-5.
56. Back IN, Finlay I. Analgesic effect of topical opioids on painful skin ulcers. *J Pain Symptom Manage*. 1995;10(10):493.
57. Tran QN, Fancher T. Achieving analgesia for painful ulcers using topically applied morphine gel. *J Support Oncol*. 2007;5(6):289-93.
58. Zeppetella G, Ribeiro MD. Morphine in intrasite gel applied topically to painful ulcers. *J Pain Symptom Manage* 2005;29(2):118-9.
59. Valenta C, Auner BG. The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004;58(2):279-89.
60. Boateng JS, Matthews KH, Stevens HN, Eccleston GM. Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *J Pharm Sci*. 2008;97(8):2892-923.
61. Sezer AD, Cevher E. Biopolymers as Wound Healing Materials: Challenges and New Strategies. *Biomaterials Applications for Nanomedicine*. 2010(19):384-413.
62. Allen LV. *The Arte, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding*. 3^a ed. Washington, D.C.: American Pharmacists Association; 2008. pp 256-265.
63. Sedlarik KM, Vacik J, Wichterle O, Hajek M. Modern dressings. Hydrogels. *Rozhl Chir*. 1995;74(1):3-7.
64. Lavery D, Mallett J, Mulholland J. *Wound management guidelines*. 2^a ed: The Royal Marsden Hospital; 2000.
65. Allen Jr, L.V.(1995). *Secundum Artem: Compounding for wound care*. 12(1). Paddock Laboratories, Inc. http://paddock.com/images/padsec_v12n1.pdf (accedido em 2009).
66. Franco D, Luiz Fernando Gonçalves. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. 2008;35:203-6.
67. Barbosa CM. Manipulação Clínica - Dispensa clínica de medicamentos manipulados. *Boletim do CIM - Revista da Ordem dos Farmacêuticos*. 2009:1-4.
68. Barbosa CM, Pinto S. Medicamentos Manipulados em Pediatria Estado Actual e Perspectivas Futuras. *Arq Med*. 2008;22:75-84.
69. Zeppetella G, Joel SP, Ribeiro MD. Stability of morphine sulphate and diamorphine hydrochloride in intrasite gel. *Palliat Med*. 2005;19(2):131-6.

70. Agren MS. An amorphous hydrogel enhances epithelialisation of wounds. *Acta Derm Venereol.* 1998;78(2):119-22.
71. Fernandez R, Griffiths R. Water for wound cleansing. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012(15).
72. Moore Z, Cowman S. A systematic review of wound cleansing for pressure ulcers. *J Clin Nurs.* 2008;17(15):1963-72.
73. Giandalia G, De Caro V, Cordone L, Giannola LI. Trehalose-hydroxyethylcellulose microspheres containing vancomycin for topical drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 2001;52(1):83-9.
74. Braund R, Tucker IG, Medlicott NJ. Hypromellose films for the delivery of growth factors for wound healing. *J Pharm Pharmacol.* 2007;59(3):367-72.
75. Prabu D, Tharani CB, Narayanan N, Maheswaran A. Biomedical evaluation of polymeric hydrogel dermal patches as wound dressing. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Research.* 2011;2(11):569-75.
76. Ramli NA, Wong TW. Sodium carboxymethylcellulose scaffolds and their physicochemical effects on partial thickness wound healing. *Int J Pharm.* 403(1-2):73-82.
77. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, Cook WG, Fenton ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients.* 7^a ed: medicinesComplete; 2012.
78. Gilbert P, Allison DG. Preservation of Pharmaceutical Products p2983-2985. In: Informa, editor. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.* third ed. New York: James Swarbrick; 2007. p. 4362.
79. Thompson JE. *A practical guide to contemporary pharmacy practice.* 3^a ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. pp 231-245.
80. Woo KY. The Use of Antimicrobial Dressings in Chronic Wounds: NERDS and STONEES Principles. *Surg Technol Int.* 2010;20:73-82.
81. Prista LVN, Alves AC, Morgado R, Lobo JMS. *Tecnologia Farmacêutica - Vol.II.* 6^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2003.
82. Muhtadi FJ. *Analytical Profiles of Drug Substances - Analytical Profile of Morphine.* Academic Press. 1988;17:259-366.
83. MedicinesComplete [Internet] Morphine Hydrochloride : The Merck Index . disponível em: <http://www.medicinescomplete.com/> Acedido em 10-12-2011.
84. INFARMED: Resumo das Características do Medicamento - Morfina FHC|Farmacêutica 20mg/mL - Solução Injetável 10mL. (Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=41897&tipo_doc=rcm). Acedido em 16-10-2011).

85. Albuquerque M. Formulação em Pediatria: preparação e avaliação de uma forma magistral líquida oral de pirazinamida. [Mestrado]. Lisboa: Universidade de Lisboa; 2007.
86. Hidrohealth. (2012) [Internet] disponível em : <http://es.hidrohealth.com/dd/>. (acedido em 12-07-2012);
87. Salgado ACGB. Desenvolvimento galénico de um gel para o tratamento de dermatites no couro cabeludo. [Mestrado]. Lisboa: Universidade de Lisboa - Faculdade de Farmácia; 2008.
88. LeBon B, Zeppetella G, Higginson IJ. Effectiveness of topical administration of opioids in palliative care: a systematic review. *J Pain Symptom Manage*. 2009 May;37(5):913-7.
89. Remington. Medicated Topicals. In: Gennaro AR, editor. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20^a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 836-45.
90. Guidance document for the conduct of skin absorption studies OECD series testing and assessment. 2004.
91. Salgado ACGB, Silva AMNN, Machado MCJC, Duarte MASC, Ribeiro HMOM. Development, stability and in vitro permeation studies of gels containing mometasone furoate for the treatment of dermatitis of the scalp. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010;46:109-14.
92. Skin care Forum (2012) [Internet]; disponível em: http://www.scf-online.com/english/37_e/skinpenetration37_e.htm. Acedido em 14-07-2012.
93. Biopolymer.group (2012) [Internet]; disponível em: <http://www.biopolymer.group.shef.ac.uk/?page_id=74>. Acedido em 20-07-2012.
94. EMA(2003). Guideline on stability testing: Stability testing of existing active substances and related finished products., CPMP/QWP/122/02, rev 1 corr (2003). disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003466.pdf Acedido em 28-06-2012.
95. United States Pharmacopeia (USP) 29/NF24. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention Inc.; 2006.
96. Mazak K, Hosztafi S, Racz A, Noszal B. Structural and physicochemical profiling of morphine and related compounds of therapeutic interest. *Mini Rev Med Chem*. 2009;9(8):984-95.
97. Vermeire A, Remon JP. Stability and compatibility of morphine. *Int J Pharm*. 1999;187(1):17-51.
98. EMA (1996). ICH Topic Q 2B: Validation of Analytical Procedures: Methodology. London EMA, Committee for proprietary medicinal products; (CPMP/ICH/281/95). Disponível em:

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf . Acedido em :02-01-2012.

ANEXO I - METODOLOGIA PARA O DOSEAMENTO ANALÍTICO DO CLORIDRATO DE MORFINA, DO METILPARABENO E PROPRILPARABENO

Reagentes:

- ✓ Acetonitrilo para HPLC – Lab Scan, Analytical Sciences, Irland
- ✓ Água desionizada – obtida por resinas de troca iónica e osmose inversa - Millipore Exlix 3
- ✓ Di-hidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄), Merck, Alemanha
- ✓ Ácido orto-fosforico, Merck, Alemanha
- ✓ HCl fumante a 37% p.a. - Merck
- ✓ NaOH – EKA Chemicals, Suécia
- ✓ Péroxido de hidrogénio a 9% (m/m) – Laboratórios Maialab, Lda.

Sistemas cromatográficos

-Sistema cromatográfico 1 (HPLC1)

Bomba – Hitachi Elite Lachrom Pump L-7100 – VWR®;

Detector - Hitachi Elite Lachrom Diode Array L-7450 – VWR®;

Software – D700 HPLC version 3.0 – VWR®

Injector - Hitachi Lachrom Autosample L-7200

-Sistema cromatográfico 2 (HPLC2)

Bomba – Hewlett Packard serie 1200 (G1310A) – Agilent®;

Detector – Hewlett Packard serie 1100 (G1314A) - Agilent®;

Software – Hewlett Packard Chemstation LC systems Rev. B.02.01 - Agilent®;

Autosample - Hewlett Packard serie 1100 (G1329A)- Agilent®

Método cromatográfico

Para a quantificação do cloridrato de morfina e dos parabenos presentes nas formulações em estudo, adaptou-se um método de doseamento para o cloridrato de morfina descrito no Analytical Profiles of Drug Substances - Analytical Profile of Morphine (82).

Preparação da solução tampão fosfato pH 3.5

Dissolveu-se 2,04 g de fosfato monopotássico R em água R e completou-se para 1 000 ml com o mesmo solvente. Acertou-se o pH a 3,5 com ácido orto-fosfórico.

Preparação da fase móvel

A fase móvel era constituída por uma mistura de tampão fosfato 0.015M a pH 3.5 com acetonitrilo PA, na proporção 65:35 v/v. Mediram-se os volumes de tampão fosfato e de acetonitrilo. Misturaram-se os dois solventes com agitação magnética (MR3001 – Heidolph®) durante 10 minutos. Desgaseificou-se a solução obtida, durante 30 minutos, com recurso ao banho de ultrassons.

Solução referência/padrão numa concentração de trabalho de 100% - Gel Consistente

Retirou-se uma alíquota de 125 µl de Solução mãe de fármaco (2 mg/ml), uma alíquota de 360 µl de Solução mãe de metilparabeno (0,5 mg/ml) e uma alíquota de 40 µl de Solução mãe de propilparabeno (0,5 mg/ml) e diluiu-se e completou-se para 10 ml com fase móvel. A solução preparada ficou com a concentração nominal de 25 µg/ml de fármaco, 19 µg/ml de metilparabeno e 2 µg/ml de propilparabeno.

Solução referência/padrão numa concentração de trabalho de 100% - Gel Fluido

Retirou-se uma alíquota de 400 µl de Solução mãe de fármaco (3 mg/ml), uma alíquota de 120 µl de Solução mãe de metilparabeno (1,28 mg/ml) e uma alíquota de 80 µl de Solução mãe de propilparabeno (0,24 mg/ml) e diluiu-se e completou-se para 10 ml com fase móvel. A solução preparada com a concentração nominal de 120 µg/ml de fármaco, 15,3 µg/ml de metilparabeno e 1,9 µg/ml de propilparabeno.

Preparação das amostras a analisar

1. Pesar com rigor:
 - a. 200 mg de gel de cloridrato de morfina a 0,125% (m/m) para um balão volumétrico de 10 mL.
 - b. 100 mg de gel de cloridrato de morfina a 1,0% (m/m) para um balão volumétrico de 10 mL
2. Adicionar 7 mL de fase móvel;
3. Colocar no banho de ultrassons durante 10 min. e em seguida completar o volume com fase móvel.
4. Injetar a solução resultante.

Condições da análise

Tabela 64- Resumo das condições da análise das amostras por HPLC.

Coluna	LicHroCART ®125-4 - LiChrospher® 100 – RP18, (5µm), 15cm
Fase móvel	Tampão fosfato 0.015M a pH 3.5: Acetonitrilo (65:35;v/v)
Fluxo de eluição	1.0 ml/min
Comprimento de onda de absorção selecionado	235 nm
Volume de injeção	10 µl
Temperatura da análise	Ambiente (22±3°C)

Conclusão


O desenvolvimento e validação do método analítico para doseamento da substância ativa nas formulações desenvolvidas decorreu de acordo com a norma “ICH Topic Q 2B: Validation of Analytical Procedures”(98). O método de quantificação por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) com detecção no ultravioleta desenvolvido e validado demonstrou ser sensível, específico, preciso e rigoroso para a determinação do cloridrato de morfina, veiculado em ambas as formulações desenvolvidas (a 0,125% e a 1,0% m/m).

ANEXO II - FICHAS DE PREPARAÇÃO

- GEL MÃE CONSISTENTE DE NACMC 3% (M/M)
- GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125 % (M/M)
- GEL MÃE FLUIDO DE NACMC 0,5% (M/M)
- GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0 % (M/M)
- CONCENTRADO DE PARABENOS

		INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DE LISBOA FRANCISCO GENTIL, E.P.E.																																									
Serviço Farmacêutico	FICHA DE PRODUÇÃO DE MEDICAMENTO MANIPULADO		SF/ POR / Nº101-01 21.01.2009 Page 1 de 1																																								
Carboximetilcelulose 3% (m/v) 100 G - Gel Mãe Consistente		Lote XXXX-XX-XX Data XX-XX-XX																																									
Componentes	Unidade	Origem	Validade																																								
Carboximetilcelulose sódica	Gr		3																																								
Glicerina Farm.	Gr		5																																								
Conc. Parabenos (Gel Morfina)	mL		1,4																																								
Água Bidestilada amp 20 ml	mL		qbp																																								
			100																																								
		Qdade Caloulada	Qdade Verificado por																																								
		100	100																																								
		Quantidade produzida:	1																																								
			frs 100 g																																								
Material e Equipamento: Balança Analítica, espátula, papéis de pesagem, luvas, bata, botas, touca, máscara, campo, vareta de vidro, agitador Yellow line OS 5 Basic, câmara de fluxo laminar horizontal, filtros esterilizantes 0,22 µm, seringas luer lock, autoclave, álcool a 70°, agulhas, compressas esterilizadas, biobox amarelo, frascos de vidro Shoot Duran® com tampa de 100ml.																																											
Técnicas de preparação:		Executado por:																																									
1. Verificar o correcto estado de limpeza da área de trabalho, material e equipamento a utilizar. 2. Certificar que na área de trabalho se encontra apenas o material e equipamento destinados à preparação do manipulado assegurando o vazio de linha. 3. Ligar a câmara de fluxo laminar horizontal cerca de 15 min antes da sua utilização. 4. Limpar a câmara com álcool e compressas esterilizadas, segundo a técnica asséptica.		<input style="width: 100px; height: 40px;" type="text"/>																																									
5. Adicionar a carboximetilcelulose sódica a 2/3 da água sob agitação. 6. Deixar intumescer durante 20 min. 7. Adicionar a glicerina e homogeneizar com uma vareta de vidro. 8. Completar a massa de gel com água ppl descontando a massa de concentrado de parabenos 9. Deixar a preparação sob agitação a 400rpm durante 24h, protegido da luz, à temp. ambiente. 10. Esterilizar a preparação em autoclave a 121°C, durante 15 min. 11. Em CFLH filtrar o concentrado de parabenos 12. Após arrefecimento do gel, em CFLH, incorporar o conc. Parabenos. 13. Agitar com vareta de vidro. 14. Tapar o frasco e colocar sob agitação a 400 rpm, 15 min.		<input style="width: 100px; height: 40px;" type="text"/>																																									
15. Rotular. 16. Limpar e arrumar a área de trabalho e os equipamentos utilizados. 17. Colocar o material utilizado na zona destinada à limpeza dos mesmos.		<input style="width: 100px; height: 40px;" type="text"/>																																									
Rótulo <div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 150px; margin: 10px auto;"></div> Validade XX-XX-XXXX	Alterações à técnica Outras informações																																										
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Controlo Qualidade</th> <th style="width: 15%;">Especificação</th> <th style="width: 15%;">Resultado</th> <th style="width: 10%;">Rubrica</th> <th style="width: 10%;">Conformidade</th> <th style="width: 10%;">Rubrica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>pH</td> <td style="text-align: center;">6-7</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="3" style="text-align: center;">Caracteres organolépticos</td> <td style="text-align: center;">Olor</td> <td style="text-align: center;">Inodoro</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Cor</td> <td style="text-align: center;">Ligeiramente amarelado</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Conforme <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Aspecto</td> <td style="text-align: center;">Consistente, transparente e homogéneo</td> <td></td> <td style="text-align: center;">Não Conforme <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="3"></td> <td style="text-align: center;">Rubrica</td> <td colspan="2" style="text-align: center;">Validação/Libertação de lote:</td> </tr> <tr> <td colspan="3"> Nº Rótulos impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____ </td> <td></td> <td colspan="2" style="text-align: center;"> <input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/> </td> </tr> </tbody> </table>				Controlo Qualidade	Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica	pH	6-7					Caracteres organolépticos	Olor	Inodoro				Cor	Ligeiramente amarelado		Conforme <input type="checkbox"/>		Aspecto	Consistente, transparente e homogéneo		Não Conforme <input type="checkbox"/>					Rubrica	Validação/Libertação de lote:		Nº Rótulos impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____				<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>	
Controlo Qualidade	Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica																																						
pH	6-7																																										
Caracteres organolépticos	Olor	Inodoro																																									
	Cor	Ligeiramente amarelado		Conforme <input type="checkbox"/>																																							
	Aspecto	Consistente, transparente e homogéneo		Não Conforme <input type="checkbox"/>																																							
			Rubrica	Validação/Libertação de lote:																																							
Nº Rótulos impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____				<input style="width: 100px; height: 30px;" type="text"/>																																							
Validade 7 dias após data produção																																											
Utilização: manipulado usado como matéria prima na formulação de Geles de morfina para aplicação tópica																																											
Segurança/condicionamento: Conservar à Temperatura Ambiente. CONTEM PARABENOS.		Entrada <input style="width: 150px; height: 30px;" type="text"/>																																									

 INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DE LISBOA FRANCISCO GENTIL, E.P.E.		SF/ FOR / Nº101-01 21.01.2009 Page 1 de 1																																			
Serviço Farmacêutico	FICHA DE PRODUÇÃO DE MEDICAMENTO MANIPULADO																																				
Carboximetilcelulose 0,5% (m/v) 100 G - Gel Mãe Fluido		Lote XXXX-XX-XX Data XX-XX-XX																																			
Componentes	Unidade	Origem	Lote	Validade	Gdade /unid	Gdade Caloulada	Gdade Medida/Rubrios	Verificado por																													
Carboximetilcelulose sódica	Gr				0,5	0,5																															
Glicerina Farm.	Gr				10	10																															
Conc. Parabenos (Gel Morfina)	mL				2,8	2,8																															
Água Bdestillada amp 20 ml	mL				qbp	qbp																															
					100	100																															
Quantidade produzida:						1																															
						fra 100 g																															
Material e Equipamento: Balança Analítica, espátula, papéis de pesagem, luvas, bata, botas, touca, máscara, capote, vareta de vidro, agitador Yellow line OS S Basic, câmara de fluxo laminar horizontal, filtros esterilizantes 0,22 µm, seringas luer lock, autoclave, álcool a 70°, agulhas, compressas esterilizadas, biobox amarelo, frascos de vidro Shoot Duran® com tampa de 100ml.																																					
Técnicas de preparação:							Executado por:																														
1. Verificar o correcto estado de limpeza da área de trabalho, material e equipamento a utilizar. 2. Certificar que na área de trabalho se encontra apenas o material e equipamento destinados à preparação do manipulado assegurando o vazio de linha. 3. Ligar a câmara de fluxo laminar horizontal cerca de 15 min antes da sua utilização. 4. Limpar a câmara com álcool e compressas esterilizadas, segundo a técnica asséptica.							<input style="width: 100%; height: 100%;" type="text"/>																														
5. Adicionar a carboximetilcelulose sódica a 2/3 da água sob agitação. 6. Deixar intumescer durante 20 min. 7. Adicionar a glicerina e homogeneizar com uma vareta de vidro. 8. Completar a massa de gel com água ppl descontando a massa de concentrado de parabenos 9. Deixar a preparação sob agitação a 400rpm durante 24h, protegido da luz, à temp. ambiente. 10. Esterilizar a preparação em autoclave a 121°C, durante 15 min. 11. Em CFLH filtrar o concentrado de parabenos 12. Após arrefecimento do gel, em CFLH, incorporar o conc. Parabenos. 13. Agitar com vareta de vidro. 14. Tapar o frasco e colocar sob agitação a 400 rpm, 15 min.							<input style="width: 100%; height: 100%;" type="text"/>																														
15. Rotular. 16. Limpar e amurar a área de trabalho e os equipamentos utilizados. 17. Colocar o material utilizado na zona destinada à limpeza dos mesmos.							<input style="width: 100%; height: 100%;" type="text"/>																														
Rótulo <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>		Alterações à técnica Outras informações																																			
Validade XX-XX-XXXX		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2">Controlo Qualidade</th> <th>Especificação</th> <th>Resultado</th> <th>Rubrica</th> <th>Conformidade</th> <th>Rubrica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="3" style="text-align: center;">Caracteres organolépticos</td> <td style="text-align: center;">pH</td> <td style="text-align: center;">6-7</td> <td></td> <td></td> <td rowspan="3" style="text-align: center;"> Conforme <input type="checkbox"/> Não Conforme <input type="checkbox"/> </td> <td rowspan="3"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Olor</td> <td style="text-align: center;">inodoro</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Cor</td> <td style="text-align: center;">incolor</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">Aspecto</td> <td style="text-align: center;">Fluido, transparente e homogéneo</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>							Controlo Qualidade		Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica	Caracteres organolépticos	pH	6-7			Conforme <input type="checkbox"/> Não Conforme <input type="checkbox"/>		Olor	inodoro			Cor	incolor				Aspecto	Fluido, transparente e homogéneo				
Controlo Qualidade		Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica																															
Caracteres organolépticos	pH	6-7			Conforme <input type="checkbox"/> Não Conforme <input type="checkbox"/>																																
	Olor	inodoro																																			
	Cor	incolor																																			
	Aspecto	Fluido, transparente e homogéneo																																			
		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2">Rubrica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Nº Rótulos impressos</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nº Rótulos utilizados:</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Nº Rótulos inutilizados:</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Rubrica		Nº Rótulos impressos		Nº Rótulos utilizados:		Nº Rótulos inutilizados:		Validação/Libertação de lote:																								
Rubrica																																					
Nº Rótulos impressos																																					
Nº Rótulos utilizados:																																					
Nº Rótulos inutilizados:																																					
		Validade 1 dias após data produção																																			
Utilização: manipulado usado como matéria prima na formulação de Geles de morfina para aplicação tópica																																					
Segurança/acondicionamento: Conservar à Temperatura Ambiente. CONTEM PARABENOS.							Entrada <div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>																														

 INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DE LISBOA FRANCISCO GENTIL, E.P.E.		SF/ FOR / Nº101-01 21.01.2009 Page 1 de 1
Serviço Farmacêutico	FICHA DE PRODUÇÃO DE MEDICAMENTO MANIPULADO	

Morfina, Cloridrato 1% (m/m) gel fluido - 10 g		Lote xxx-xx-xx Data xx-xx-xx																																
Componentes	Unidade Origem	Verificado																																
Carboximetilcelulose 0,5% (m/v) 100 G - Gel Mãe Fluido	Gr	por																																
Morfina, cloridrato 2% 10 ml - Sol Inj	mL	por																																
Qdade Anid	Qdade Calculada	Qdade Medida/Rubrica																																
50	50	50																																
Quantidade produzida:		1 Fr 100 mL 10 Frascos de 10 Gr frs 10g																																
Material e Equipamento: luvas, bata, botas, touca, máscara, campo, vareta de vidro, agitador Yellow line OS 5 Basic camara de fluxo laminar horizontal, filtros esterilizantes 0,22 µm, seringas luer lock de 20 mL, autoclave, álcool a 70°, agulhas, tampas luer lock, compressas esterilizadas, blobox amarelo.																																		
Técnica de preparação:		Executado por:																																
1. Verificar o correcto estado de limpeza da área de trabalho, material e equipamento a utilizar. 2. Certificar que na área de trabalho se encontra apenas o material e equipamento destinados à preparação do manipulado assegurando o vazio de linha. 3. Ligar a câmara de fluxo laminar horizontal cerca de 15 min antes da sua utilização. 4. Limpar a câmara com álcool e compressas esterilizadas, segundo a técnica asséptica.		<input style="width: 80px; height: 40px;" type="text"/>																																
5. Em CFLH, abrir o frasco contendo o de Gel mãe fluido; 6. Utilizando seringa e agulha, medir o volume de sol. Inj. de clor. morfina e adicionar ao gel; 7. Tapar o frasco e colocar a mistura sob agitação mecânica - 400 rpm (Yellow Line) durante 15 minutos; 8. Fracionar a mistura em frascos de Vidro ambar com dispositivo doseador Integrado com 10mL cada.		<input style="width: 80px; height: 40px;" type="text"/>																																
9. Fechar e Rotular. 10. Limpar e arrumar a área de trabalho e os equipamentos utilizados. 11. Colocar o material utilizado na zona destinada à limpeza dos mesmos.		<input style="width: 80px; height: 40px;" type="text"/>																																
Rótulo <div style="border: 1px solid black; width: 250px; height: 200px; margin: 10px 0;"></div> Validade #VALOR!	Alterações à técnica Outras informações <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>C. Qualidade</th> <th>Especificação</th> <th>Resultado</th> <th>Rubrica</th> <th>Conformidade</th> <th>Rubrica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>pH</td> <td>5,0-6,0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="3">Caracteres organolépticos</td> <td>Odor</td> <td>Inodoro</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Cor</td> <td>amarelado</td> <td></td> <td>Conforme <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Aspecto</td> <td>fluido, transparente e</td> <td></td> <td>Não Conforme <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;">Rubrica</td> <td style="text-align: right;">Validação/Libertação de lote:</td> </tr> <tr> <td> Nº Rótulos Impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____ </td> <td style="text-align: center;"> <input style="width: 150px; height: 30px;" type="text"/> </td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">Validade 60 dias após data produção</p>		C. Qualidade	Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica	pH	5,0-6,0					Caracteres organolépticos	Odor	Inodoro				Cor	amarelado		Conforme <input type="checkbox"/>		Aspecto	fluido, transparente e		Não Conforme <input type="checkbox"/>		Rubrica	Validação/Libertação de lote:	Nº Rótulos Impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____	<input style="width: 150px; height: 30px;" type="text"/>
C. Qualidade	Especificação	Resultado	Rubrica	Conformidade	Rubrica																													
pH	5,0-6,0																																	
Caracteres organolépticos	Odor	Inodoro																																
	Cor	amarelado		Conforme <input type="checkbox"/>																														
	Aspecto	fluido, transparente e		Não Conforme <input type="checkbox"/>																														
Rubrica	Validação/Libertação de lote:																																	
Nº Rótulos Impressos: _____ Nº Rótulos utilizados: _____ Nº Rótulos inutilizados: _____	<input style="width: 150px; height: 30px;" type="text"/>																																	
Utilização: alívio da dor associada a feridas		Entrada <input style="width: 200px; height: 20px;" type="text"/>																																
Segurança/acondicionamento: Guardar à Temperatura Ambiente. Contém Parabenos e Propilenoglicol; Contém Cloridrato de Morfina (Estupefaciente - Confirmar débito informático da preparação injetável) 1 Pulverização=1,44mg Clor.morfina																																		

ANEXO III - RÓTULOS


- GEL MÃE CONSISTENTE DE NACMC 3% (M/M)
- GEL CONSISTENTE DE CLORIDRATO DE MORFINA A 0,125 % (M/M)
- GEL MÃE FLUIDO DE NACMC 0.5% (M/M)
- GEL FLUIDO DE CLORIDRATO DE MORFINA A 1,0 % (M/M)
- CONCENTRADO DE PARABENOS

 Serviços Farmacêuticos IPOLFG EPE Direcção Técnica: Dr. António Gouveia	
Carboximetilcelulose 3% (m/v) 100 G - Gel Mãe Consistente	
Nome do Doente:	
Posologia	Via de Adm. Matéria Prima


Prazo de utilização: XX/XX/XXXX	
Conservação e Indicações Especiais: Conservar à Temperatura Ambiente. CONTEM PARABENOS.	Lote: XXXX-XX-XX
Composição: Carboximetilcelulose, Glicerina, Para-hidroxibenzoato metilo, Para-hidroxibenzoato propilo, Propilenoglicol e Água p.p.i.	

 Serviços Farmacêuticos IPOLFG EPE Direcção Técnica: Dr. António Gouveia	
Morfina, Cloridrato 0,125% (m/m) gel consistente - 10 G	
Nome do Doente:	
Posologia	Via de Adm. Tópica em Feridas

Prazo de utilização: XX-XX-XXXX	
Conservação e Indicações Especiais: Guardar à Temperatura Ambiente.	Lote: XXXX-XX-XX
Composição: Carboximetilcelulose, Glicerina, Para-hidroxibenzoato metilo, Para-hidroxibenzoato propilo, Propilenoglicol, Cloridrato de Morfina e Água p.p.i.	

 Serviços Farmacêuticos IPOLFG EPE Direcção Técnica: Dr. António Gouveia	
Carboximetilcelulose 0,5% (m/v) 100 G - Gel Mãe Fluido	
Nome do Doente:	
Posologia	Via de Adm. Matéria Prima

Prazo de utilização: XX/XX/XXXX	
Conservação e Indicações Especiais: Conservar à Temperatura Ambiente. CONTEM PARABENOS.	Lote: XXXX-XX-XX
Composição: Carboximetilcelulose, Glicerina, Para-hidroxibenzoato metilo, Para-hidroxibenzoato propilo, Propilenoglicol e Água p.p.i.	

 Serviços Farmacêuticos IPOLFG EPE Direcção Técnica: Dr. António Gouveia	
Morfina, Cloridrato 1% (m/m) gel fluido - 10 g	
Nome do Doente:	
Posologia	Via de Adm. Tópica em Feridas

Prazo de utilização: XX-XX-XXXX	
Conservação e Indicações Especiais: Guardar à Temperatura Ambiente.	Lote: XXXX-XX-XX
Composição: Carboximetilcelulose, Glicerina, Para-hidroxibenzoato metilo, Para-hidroxibenzoato propilo, Propilenoglicol, Cloridrato de Morfina e Água p.p.i.	

 Serviços Farmacêuticos IPOLFG EPE Direcção Técnica: Dr. António Gouveia	
Concentrado de Parabenos (Gel Morfina)	
Nome do Doente:	
Posologia	Via de Adm. Matéria Prima

Prazo de utilização: XX-XX-XXXX	
Conservação e Indicações Especiais: Conservar à Temperatura Ambiente	Lote: XXXX-XX-XX
Composição: Para-hidroxibenzoato metilo, Para-hidroxibenzoato propilo, Propilenoglicol	