



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CAROLINA DE LIMA E MOURA**

**ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DA GRISEOFULVINA EM MICELAS DOS BRIJS®**

**78, 98, 700**

**FORTALEZA**

**2017**

CAROLINA DE LIMA E MOURA

ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DA GRISEOFULVINA EM MICELAS DOS BRIJS®

78, 98, 700

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química.  
Área de concentração: Química

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro.

Fortaleza

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pela autora

- 
- M885e Moura, Carolina de Lima e.  
Estudo da solubilização da griseofulvina em micelas dos Brij<sup>®</sup> 78, 98, 700 / Carolina de Lima e Moura. – 2017.  
74 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2017.  
Orientação: Prof. Dr. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.  
Coorientação: Prof. Dr. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro.
1. Micelas. 2. Solubilização. 3. Griseofulvina. 4. Surfactante. 5. Brij<sup>®</sup>. I. Título.

CDD 540

---

CAROLINA DE LIMA E MOURA

ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DA GRISEOFULVINA EM MICELAS DOS BRIJS®

78, 98, 700

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: 15/03/2013.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Luiz Constantino Grombone Vasconcellos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Maria Elenir Nobre Pinho Ribeiro  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Flávia de Miranda Leão Leite Costa  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

A Deus.

A minha mãe Solange.

Aos meus avós Liberty e Gastão (*in memoriam*).

Ao meu companheiro Helber.

Aos meus irmãos Karla e Gastão Neto.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades que me foram concedidas e por estar sempre presente em minha vida. Só tenho a agradecer.

Aos meus avós Liberty e Gastão (*in memoriam*), à minha mãe Solange, ao Eduardo e aos meus irmãos Karla e Gastão Neto, que ajudaram a realizar as minhas conquistas.

Ao meu companheiro Helber (*grande amor da minha vida*) que é uma pessoa excepcional a quem tive o privilégio de conhecer e de fazer parte da sua vida. Sempre me apoiou e incentivou desde quando nos conhecemos no colégio e, desde então, tem sido indispensável em todas as áreas de minha vida.

Ao José Roberto pela imensa cumplicidade e amizade que teve comigo. Sempre ao meu lado me ajudando em tudo, mutíssimo obrigada “Robertito”!

Aos meus amigos desde o colégio: Edvaldo, Ana Aline, Renata e Junior e a todos da minha família que sempre me apoiaram e que estiveram presentes em todas as minhas dificuldades e conquistas.

À professora Nágila pela orientação, paciência e incentivo. Pelo apoio e contribuição na minha formação e principalmente, por acreditar em meu potencial.

A minha amiga, Elenir, pela coorientação, convivência, alegrias e dificuldades compartilhadas. Por todos os conhecimentos transmitidos, amizade e paciência.

A Francisca, Anida e Paloma, pelo afeto, apoio e amizade que recebi dessas três grandes mulheres inteligentes.

Ao Célio Renovato (*Celinho*), pela amizade, afeto, ternura e respeito que sempre teve comigo.

Aos professores Luizão, Sandra, Nádja e aos amigos do LabPIM, Ethanielda, Nécyca, Igor, Lílian, Débora, Natália, Kamila, Willame, Ticiane Tiago, Johnny, Rafael, Arcelina, Flávia, Emerson, Cris, Solange, Samira, Raquel, Carol, Luana, Taís e aos meninos do Ligante, Aurélio e Aurélinho.

Aos meus amigos Milton, Natália (*amiga*), Michele, Syndel, Kaline, Ticiane, Gilmara, André pela grande amizade que se iniciou na graduação.

Ao Francisco (*Padetec*) pelos “aperreios” para fazer a liofilização das minhas amostras.

A Célia e ao Orlando por sempre demonstrarem-se disponíveis em ajudar quando eu precisasse.

A UFC por oferecer toda a infraestrutura disponível e à CAPES pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de mestrado.

A quem mais não me recorde agora, mas que tenha ajudado a me manter seguindo sempre em frente: MEU SINCERO AGRADECIMENTO!!

“Da vida não quero muito. Quero apenas saber que tentei tudo que quis, tive tudo o que pude, amei tudo o que valia e perdi apenas o que, no fundo, nunca foi meu”.

Desconhecido



## RESUMO

A preparação de soluções de fármacos pouco solúveis em água é um dos principais problemas encontrados na formulação de tais medicamentos em formas farmacêuticas líquidas. O estudo sobre a utilização de soluções micelares de surfactantes na dissolução de fármacos pouco solúveis em água vem sendo cada vez mais praticado, devido, principalmente, à baixa toxicidade desses carreadores, da eficiência no processo de dissolução e da proteção adicional fornecida ao fármaco. Este trabalho visou encapsular o antifúngico griseofulvina em copolímeros de bloco hidrofílico de poli(óxido de etileno) ( $E_m$ ) e bloco hidrofóbico de poli(metileno)( $C_n$ ). Os surfactantes (Brij<sup>®</sup> 700, Brij<sup>®</sup> 78, Brij<sup>®</sup> 98) e a griseofulvina foram obtidos da Aldrich. A concentração micelar crítica (cmc) dos Brij<sup>®</sup> foi obtida pelo método de solubilização do corante (fluorescência). Os encapsulados da griseofulvina foram obtidos pelo método de dissolução direta e quantificados por UV/Vis e RMN de <sup>1</sup>H e caracterizados por tamanho de partícula, espalhamento de luz e raio – X. Foi realizada a liberação controlada de fármaco. Os valores das cmc's encontrados para o Brij<sup>®</sup> 78 e 98 são menores que os cmc do Brij<sup>®</sup> 700. O tamanho de partícula do Brij<sup>®</sup> 700, fornecido pelo raio hidrodinâmico ( $r_h$ ), é maior que o dos Brij<sup>®</sup> 78 e 98, uma vez que o Brij<sup>®</sup> 700 possui uma porção hidrofílica com 80 unidades a mais que os outros Brij<sup>®</sup>. O fármaco não afetou o tamanho de partícula dos polímeros estudados. Os resultados de solubilização da griseofulvina obtidos por RMN de <sup>1</sup>H corroboram com os obtidos por UV/Vis. A griseofulvina teve um aumento da solubilidade de até 6,9 vezes o que viabiliza o uso dos Brij<sup>®</sup> na encapsulação deste fármaco.

**Palavras-chave:** Micelas. Solubilização. Griseofulvina. Surfactante. Brij<sup>®</sup>.

## ABSTRACT

The preparation of drug solutions with low solubility in water is one of the main problems found in the preparation of such medicines in aqueous medium. The study about the use of surfactant micellar solutions in the solubilisation of drugs with low solubility in water has been increasingly practiced, mainly due to the low toxicity of these carriers, to the efficiency of the dissolution process and to the additional protection provided to the drug. The objective of this work is to encapsulate the antifungal griseofulvin in poly(ethylene oxide) ( $E_m$ ) hydrophilic block copolymers and poly(methylene) ( $C_n$ ) hydrophobic block. The copolymers (Brij<sup>®</sup> 700, Brij<sup>®</sup> 78, Brij<sup>®</sup> 98) and the griseofulvin were obtained from Aldrich. The Brij<sup>®</sup> critical micelle concentration (cmc) was reached through dye solubilisation method (fluorescence). The griseofulvin encapsulates were obtained through the method of direct dissolution and quantified by UV/Vis and <sup>1</sup>H NMR and characterised by particle size through light scattering and X-Ray. The controlled release of the drug was carried out. The cmc values found for Brij<sup>®</sup> 78 and 98 are lower than those for Brij<sup>®</sup> 700. The size of the Brij<sup>®</sup> 700 particle, provided by the hydrodynamic radius ( $r_h$ ) is higher than those from Brij<sup>®</sup> 78 e 98. The reason is that the hydrophilic portion of the Brij<sup>®</sup> 700 has 80 units more than Brij<sup>®</sup> 78 e 98. The drug did not affect the size of the particle of the polymers. The solubilisation results for griseofulvin obtained through <sup>1</sup>H NMR confirm the values obtained through UV/Vis. The griseofulvin had an increase in solubility up to 6.9 times, which makes the use of Brij<sup>®</sup> feasible in the encapsulation of this drug.

**Keywords:** Micelles. Solubilisation. Griseofulvin. Surfactant. Brij<sup>®</sup>.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Estrutura simplificada de uma micela esférica em meio aquoso.....	18
Figura 2-	Grupos aniônicos: (a) carboxilato, (b) sulfonato, (c) sulfato e (d) fosfato.....	19
Figura 3-	Grupos catiônicos e anfóteros. (a) Trimetil hexadecil amônio, (b) Betaínas.....	20
Figura 4-	Agregação das moléculas. (a) Esférica, (b) Cilíndrica, (c) Lamelar e (d) Disco.....	21
Figura 5-	Estrutura geral dos Pluronic (Polioxialquilenos tribloco).....	22
Figura 6-	Estrutura geral dos poliéteres.....	23
Figura 7-	Estruturas químicas: (a) Brij <sup>®</sup> 78 (n = 20) ou Brij <sup>®</sup> 700 (n = 100) e (b) Brij <sup>®</sup> 98 (n = 20).....	26
Figura 8-	Representação do mecanismo proposto para a reação de etoxilação em meio alcalino.....	28
Figura 9-	Estrutura química da griseofulvina.....	32
Figura 10-	Gráfico da concentração do fármaco na corrente sanguínea versus tempo de administração: curva A, uma formulação convencional, e curva B, uma formulação ideal de liberação controlada.....	35
Figura 11-	Fluxograma do método de solubilização (dissolução direta) da griseofulvina nos sistemas poliméricos aquosos dos Brij <sup>®</sup> 78, 98 e 700.....	42
Figura 12-	Representação das variações em propriedades físico-químicas de soluções aquosas em função da concentração de tensoativo.....	47
Figura 13-	Intensidade de emissão (DPH) vs concentração (escala logarítmica) das soluções aquosas do (•) Brij <sup>®</sup> 98 a 37 °C.....	48
Figura 14-	Curva de calibração do fármaco griseofulvina obtida por UV/Vis.....	50
Figura 15-	Estrutura química da griseofulvina com a indicação das atribuições obtidas por RMN de <sup>1</sup> H.....	51
Figura 16-	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> da (a) griseofulvina, (b) griseofulvina encapsulada no Brij <sup>®</sup> 78 a 40 °C e (c) griseofulvina encapsulada no Brij <sup>®</sup> 98 a 40 °C.....	52
Figura 17-	Estrutura química dos polímeros. a) Brij <sup>®</sup> 78 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> EO <sub>20</sub> ), b) Brij <sup>®</sup> 98 (C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> EO <sub>20</sub> ) e c) Brij <sup>®</sup> 700 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> EO <sub>100</sub> ).....	53

Figura 18-	Curvas de distribuição de tamanho por volume para as micelas dos sistemas a 1 %m/v: (a) Brij <sup>®</sup> 78, (b) Brij <sup>®</sup> 700, (c) Brij <sup>®</sup> 98, (d) GBrij <sup>®</sup> 78 a 25 °C.....	57
Figura 19-	Difratogramas: (a) Fármaco griseofulvina, (b) Brij <sup>®</sup> 78 e (c) GBrij <sup>®</sup> 78 (encapsulado).....	59
Figura 20-	Cinética de liberação <i>in vitro</i> da griseofulvina encapsulada nos sistemas (□) Brij <sup>®</sup> 78 e (♦) Brij <sup>®</sup> 700 sob diálise a 37 °C e pH = 7,52 (tampão fosfato).....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Indicações de aplicações dos tensoativos de acordo com a faixa de HLB.....	24
Tabela 2-	Propriedades selecionadas dos surfactantes não iônicos explorados neste estudo.....	39
Tabela 3-	Concentração micelar crítica (cmc) a 25 e 37 °C dos Brij <sup>®</sup> 78, 98 e 700.....	48
Tabela 4-	Atribuições de dados de RMN de <sup>1</sup> H para griseofulvina, Brij <sup>®</sup> 78, Brij <sup>®</sup> 98 e Brij <sup>®</sup> 700 em CDCl <sub>3</sub> com a constante de acoplamento, J (Hz).....	53
Tabela 5-	Capacidade de solubilização (S <sub>cp</sub> , mg g <sup>-1</sup> ) para a griseofulvina em soluções micelares aquosas de Brij <sup>®</sup> 78, 98 e 700 a 25, 37 e 40 °C, obtida pelos métodos de RMN de <sup>1</sup> H e UV / Vis. S <sub>0</sub> = 1,4, 1,9 e 2,0 mg cm <sup>-3</sup> em 25, 37 e 40 °C, respectivamente.....	54
Tabela 6-	Capacidades de solubilização baseado em copolímeros de poli (óxido de etileno) a 25 °C, expressa em S <sub>cp</sub> mg por g de copolímero e S <sub>h</sub> mg por g de bloco hidrofóbico.....	56
Tabela 7-	Raio hidrodinâmico (r <sub>h</sub> ) a 25 °C dos Brij <sup>®</sup> 78, 98 e 700.....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EO	Óxido de etileno
PEO	Polióxido de etileno
E	Unidade repetitiva de óxido de etileno
P	Unidade repetitiva de óxido de propileno
B	Unidade repetitiva de óxido de butileno
S	Unidade repetitiva de óxido de estireno
G	Unidade repetitiva de óxido de glicidil
$E_nP_mE_n$ (EPE)	Série Copolímero tribloco contendo unidades variadas de E e P
PEG	Polietilenoglicol
UV-Vis	Espectroscopia de Ultravioleta-Visível
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
cmc	Concentração micelar crítica
cmt	Temperatura micelar crítica
DPH	1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
S	Solubilidade do fármaco na solução do copolímero em g/dL
$S_{cp}$	Capacidade de solubilização em mg de fármaco por g de copolímero
$S_h$	Capacidade de solubilização em mg de fármaco por g de bloco hidrofóbico
MWCO	Massa molecular de corte
$M_w$	Massa molar peso médio
$M_n$	Massa molar numérica média
$W_h$	Fração em massa do bloco hidrofóbico
$W_E$	Fração em massa do bloco de polióxido de etileno
$S_{cp}/W_h$	Razão capacidade de solubilização/fração molar do bloco hidrofóbico
$n$	número de agregação
G	Griseofulvina.
GBrij 78	Polímero Brij <sup>®</sup> 78 com o fármaco griseofulvina encapsulado.
HLB	Balanço Hidrofílico-Lipofílico
OTC	Oxitetraciclina
CyA	Ciclosporina A
p-HEMA	poli-hidroxi metacrilato de Etila

GPC

Cromatografia de permeação em gel

DSC

Calorimetria Exploratória Diferencial

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Surfactantes .....	18
1.2	Tipos de Surfactantes .....	19
1.3	Propriedades dos surfactantes .....	20
1.3.1	<i>Micelização</i> .....	20
1.3.2	<i>Balanço hidrofílico-lipofílico (HLB)</i> .....	23
1.4	Surfactante Brij® .....	25
1.5	Síntese do tensoativo (reação de etoxilação) .....	27
1.6	Aplicação do Brij® no carregamento de fármacos .....	30
1.7	Fármaco griseofulvina.....	31
1.8	Solubilização de fármacos hidrofóbicos em sistemas micelares .....	33
1.9	Liberação de fármaco.....	34
2	JUSTIFICATIVA .....	37
3	OBJETIVOS .....	38
3.1	Objetivo geral.....	38
3.2	Objetivos específicos.....	38
4.	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	39
4.1	Materiais .....	39
4.2	Concentração micelar crítica (cmc) .....	40
4.3	Solubilização do fármaco.....	40
4.3.1	<i>Quantificação por espectroscopia UV / visível</i> .....	43
4.3.2	<i>Quantificação por espectroscopia RMN de <sup>1</sup>H</i> .....	43
4.4	Tamanho de partícula.....	44
4.5	Difração de raios-X .....	44
4.6	Liberação <i>in vitro</i> .....	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1	Concentração micelar crítica (cmc) .....	46
5.2	Solubilização do fármaco (quantificação por espectroscopia UV/Visível e espectroscopia RMN de <sup>1</sup> H) .....	49
5.3	Tamanho de partícula.....	56
5.4	Difração de raios – X .....	58
5.5	Liberação <i>in vitro</i> .....	60
6	CONCLUSÃO .....	63



<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXOS- Artigo: Solubilisation capacity of Brij<sup>®</sup> surfactants .....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Micelas poliméricas consistem de polímeros contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que podem ou não se apresentarem como copolímeros em bloco. São promissores como nanocarreadores de fármacos. Devido a sua dimensão em escala nano, elas penetram em sítios patológicos como tumores sólidos e podem liberar medicamentos específicos (TYRRELL, SHEN e RADOSZ, 2010). A solubilização de fármacos insolúveis em meio aquoso é um dos principais problemas encontrados na formulação de tais medicamentos em formas farmacêuticas líquidas (AHMED, 2001). A griseofulvina é um antibiótico antifúngico utilizado contra vários fungos filamentosos. É um fármaco pouco solúvel em água e usado como padrão no estudo de solubilização de drogas em micelas poliméricas (OLIVEIRA *et al.*, 2011a,b, RIBEIRO *et al.*, 2009, PINHO *et al.*, 2007). Os surfactantes poliméricos comercialmente conhecidos como Brij<sup>®</sup> ( $C_nH_{2n+1}EO_m$ , onde  $n$  representa a quantidade de carbonos e  $m$  corresponde à unidade monomérica que se repete do polioxietileno/EO), tornam-se interessantes porque são não iônicos, diminuindo a toxicidade desses tipos de transportadores. Eles contêm uma parte hidrofílica, com um número variável de grupos de polioxietileno (EO) e uma cauda hidrofóbica constituída de uma cadeia de polimetileno (SOWMIYA, TIWARI e SAHA, 2010) saturada ou não.

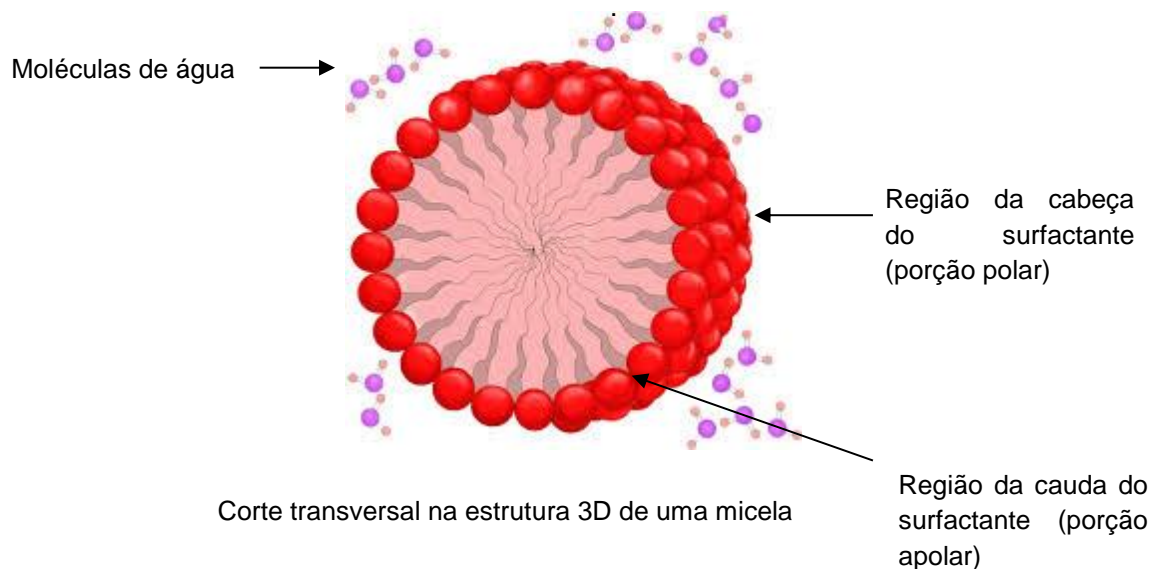
Kappor, Howell e Chauban (2009) avaliaram a toxicidade ocular de seis surfactantes não iônico (Brij<sup>®</sup> 78, 700, 56, 58, 97 e 98) e concluiu que estes polímeros mostram baixa ou nenhuma toxicidade. Kapoor e Chauban (2008) em seu estudo de carreadores surfactantes em lentes de contato gelatinosas para entrega prolongada de medicamentos oftalmológicos, mostrou que o Brij<sup>®</sup> 78, entre os surfactantes estudados (Brij<sup>®</sup> 97, Brij<sup>®</sup> 98, Brij<sup>®</sup> 700), parece mais promissor para a liberação prolongada de CyA (ciclosporina A) em lentes de contato contendo o polímero p-HEMA (poli-hidroxi metacrilato de etila). Este comportamento deve-se a um alto coeficiente de partição entre os núcleos hidrofóbicos e a matriz polimérica de p-HEMA, mostrando que estes tipos de polímeros são promissores como carreadores de fármacos hidrofóbicos.

Pensando nas aplicações dos Brij<sup>®</sup>, este trabalho visou encapsular o antifúngico griseofulvina em copolímeros de bloco hidrofílico de poli(óxido de etileno) ( $E_m$ ) e bloco hidrofóbico de poli(metileno)( $C_n$ ).

### 1.1 Surfactantes

Os surfactantes (do inglês *surface active agent*) são compostos que possuem atividade na superfície da interface entre duas fases, tais como óleo-água, ar-água e na superfície de sólidos. Também podem ser chamados de agentes tensoativos (MINATTI, 2005). Esses compostos caracterizam-se por possuírem duas regiões distintas: uma polar hidrofílica (cabeça) e outra apolar hidrofóbica (cauda)(Figura 1). A região hidrofílica pode ser constituída por grupos iônicos ou neutros (NITSCHKE e PASTORE *apud* AVELINO, 2009). A porção apolar é frequentemente uma cadeia hidrocarbonada, enquanto a porção polar, dependendo da sua composição, pode ser iônica: aniônica ou catiônica, não iônica ou/e de natureza anfótera (MYERS, 2006).

Figura 1 - Estrutura simplificada de uma micela esférica em meio aquoso

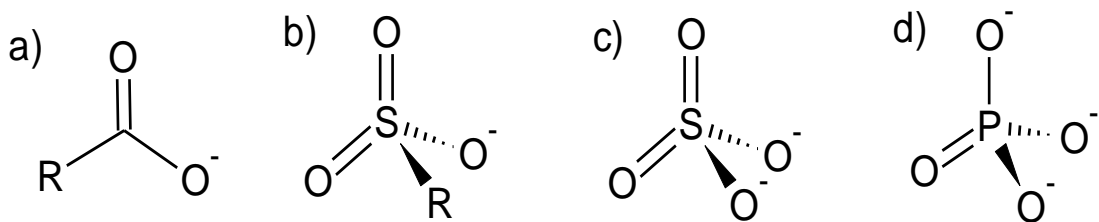


Fonte: Zeus.qui.ufmg.br, 2012.

## 1.2 Tipos de Surfactantes

Os surfactantes são classificados de acordo com sua porção hidrofílica (polar). Quando a região polar apresenta carga negativa, este tipo de surfactante é chamado de aniônico. Alguns exemplos de grupos aniônicos são: o carboxilato, sulfonato, sulfato e o fosfato (Figura 2).

Figura 2- Grupos aniônicos: (a) carboxilato, (b) sulfonato, (c) sulfato e (d) fosfato



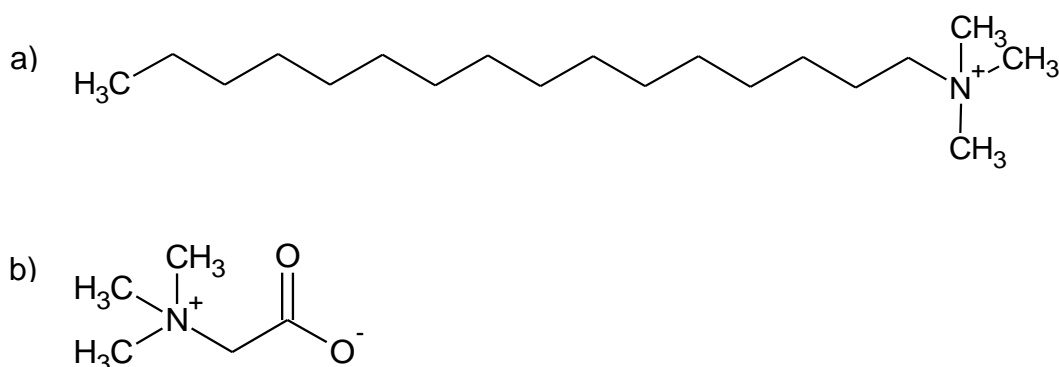
Fonte: Autor

Existem também tensoativos cuja parte polar apresenta cargas positivas, conhecido como surfactantes catiônicos. Um exemplo é o trimetil hexadecil amônio (Figura 3a, p. 20), pois a parte polar é formada pelo nitrogênio quaternizado. Os surfactantes anfóteros (zwitteriônicos) se comportam como aniônicos ou catiônicos, dependendo do pH da solução em que se encontram. Para isso apresentam tanto a carga negativa quanto a positiva na mesma molécula. Os mais comuns são as cocoamidopropilbetaínas (Figura 3b, p. 20), sendo utilizados em xampus de baixa irritabilidade ocular. Existe ainda outra classe de surfactantes conhecido como não iônicos (neutros). Diferente dos iônicos onde as cargas presentes são efetivas, nos não iônicos elas são apenas parciais (concentração de cargas ocasionada pela polaridade das ligações da molécula) (DALVIN, 2011). Os surfactantes não iônicos à base de óxido de etileno são os mais comuns. São conhecidos como surfactantes etoxilados (óxido de etileno reagindo com uma molécula hidrofóbica inicialmente para formar o tensoativo etoxilado) e dentre eles existem diversas classes que podem ser distintas: o alquil-fenol etoxilado, o éster etoxilado, a amina etoxilada, os ácidos graxos etoxilados, o álcool etoxilado e os copolímeros de óxidos como óxido

propileno-etileno referidos às vezes como surfactantes poliméricos (AVELINO, 2009).

Dentre os diversos tensoativos não iônicos existentes no mercado os surfactantes etoxilados são os que dominam, nos quais o grupo hidrofílico é formado por uma cadeia de moléculas de óxido de etileno polimerizada (polioxi-etilênica) fixada a uma parte apolar (DALTIM, 2011).

Figura 3- Grupos catiônicos e anfóteros. (a) Trimetil hexadecil amônio, (b) Betaínas.



Fonte: Autor.

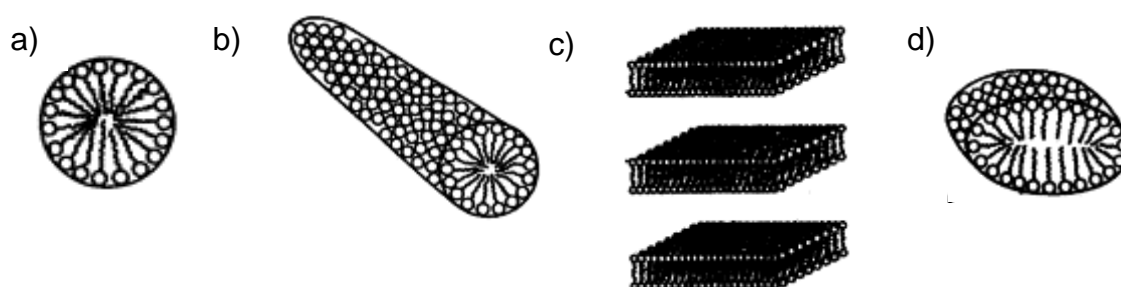
## 1.3 Propriedades dos surfactantes

### 1.3.1 Micelização

Os surfactantes apresentam caráter anfifílico, ou seja, possuem uma porção de caráter apolar (hidrofóbico) e outra porção de caráter polar (hidrofílico). Tais espécies, em solução aquosa (ou em um solvente seletivo para apenas uma das porções), tendem a se organizar nas interfaces do sistema por adsorção, pois torna mínimas as interações desfavoráveis e/ou maximizam as interações favoráveis, desta forma a energia livre do sistema onde estão tendem a reduzir (MYERS, 1992). Um dos efeitos causados pelo fenômeno de interfaces é a redução da tensão superficial da água, o que aumenta o seu poder de “molhabilidade” (é o termo utilizado para descrever o quanto uma gota de líquido se espalha sobre uma superfície, molhando-a).

À medida que a concentração do surfactante em uma solução aumenta, as interfaces do sistema começam a se saturar, e a estabilização do sistema pode continuar por outros mecanismos, como a cristalização, precipitação, ou a formação de vesículas e/ou micelas do surfactante (MYERS, 1992). De uma forma simples, a formação desses agregados moleculares ou micelas estáveis em solução aquosa é impulsionada pela hidrofobicidade das porções apolares de suas moléculas, e pela hidrofiliabilidade das porções polares. Dessa maneira, em solução aquosa, essas moléculas se agregam de formas variadas (esféricas, cilíndricas, lamelares e em disco; MYERS, 1992) (Figura 4) com sua porção hidrofóbica constituindo a parte interna (núcleo) e a porção hidrofílica, a parte externa (corona) (Figura 4a).

Figura 4- Agregação das moléculas. (a) Esférica, (b) Cilíndrica, (c) Lamelar e (d) Disco



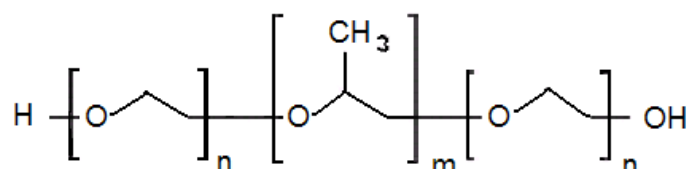
Fonte: sciencedirect.com, 2013.

Há dois modelos clássicos que explicam o processo de micelização: o modelo de ação das massas, onde as micelas e suas espécies formadoras estão em uma espécie de equilíbrio químico, e o modelo de separação de fases, onde as micelas são consideradas uma nova fase formada no sistema a partir de uma dada concentração, a concentração micelar crítica (cmc). A análise dos dois modelos produz praticamente os mesmos resultados gerais em termos energéticos de formação de micelas, sendo a escolha do modelo uma questão de preferências e circunstâncias. Há evidências de que a atividade em solução da molécula livre do surfactante cresce após a cmc, o que apoia o modelo de ação das massas; contudo, este detalhe é de pouca relevância para a maioria dos estudos (MYERS, 1992).

A cmc de um surfactante é um de seus parâmetros mais importantes, uma vez que muitas aplicações dos surfactantes, como a solubilização de compostos hidrofóbicos, dependem da existência de micelas no meio. A cmc depende da natureza química do surfactante, do solvente, da temperatura e de aditivos (pH, eletrólitos, substâncias orgânicas). Outro parâmetro importante é a temperatura micelar crítica (tmc) do surfactante, que é a temperatura a partir da qual, numa dada concentração, as moléculas começam a se agregar em micelas. Neste caso, só há sentido em falar em tmc quando o processo é endotérmico. Para se medir tais parâmetros uma das técnicas mais utilizadas é de solubilização de corante (ALEXANDRIDIS, HOLZWARTH e HATTON, 1994).

Dentre os copolímeros com propriedades surfactantes, os que são mais utilizados são os que possuem bloco hidrofílico de polioxietileno (MYERS, 1992). Um exemplo são os polioxialquilenos triblocos  $E_nP_mE_n$  ou poliéteres (Figura 5). Estudos quanto à micelização dos polioxialquilenos começaram a ser publicados em 1965 (SCHMOLKA E RAYMOND, 1965).

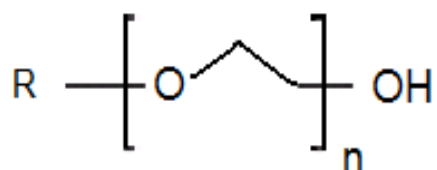
Figura 5- Estrutura geral dos Pluronic (Polioxialquilenos tribloco).



Fonte: Autor.

Os tensoativos denominados de Brij<sup>®</sup> são poliéteres que possuem fórmula geral  $C_nH_{2n+1}EO_m$  (Figura 6, p. 23), onde EO denota a unidade monomérica de óxido de etileno (caráter hidrofílico) e o  $C_nH_{2n+1}$  é a porção de polimetileno de caráter hidrofóbico. Começaram a ser comercializados nos anos 40 e sua nomenclatura varia de acordo com o fabricante.

Figura 6- Estrutura geral dos poliéteres.



onde R é a cadeia alquílica ( $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ ).

Fonte: Próprio autor

### 1.3.2 **Balanço hidrofílico-lipofílico (HLB)**

Anfifilicidade é uma característica fundamental de qualquer surfactante. Para avaliar quantitativamente a isso, utiliza-se o balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) o qual é amplamente utilizado para indicar a intensidade relativa das porções hidrofílicas e hidrofóbicas da molécula e pode ser utilizado para caracterizar a afinidade relativa dos tensoativos pela fase aquosa ou pela fase orgânica (LUAN *et al.*, 2009).

O Balanço Hidrofílico-Lipofílico (HLB) é uma propriedade característica de cada tensoativo. O conceito de HLB foi introduzido por Griffin em 1949, e foi empiricamente derivado para promover uma descrição semiquantitativa da eficácia do tensoativo com respeito à emulsificação de sistemas com água e óleo. Esta escala foi introduzida para caracterizar tensoativos não-iônicos utilizando oligômeros de óxido de etileno como grupo hidrofílico. O HLB de uma mistura de tensoativo é calculado por uma regra linear baseada na porcentagem em peso de cada tensoativo. Esta escala empírica do HLB, que é baseada no desempenho do tensoativo não-iônico, tem sido estendida a tensoativos iônicos.

Os tensoativos são tipicamente moléculas anfifílicas que contêm grupos hidrofílicos e lipofílicos. O balanço hidrofílico-lipofílico (número HLB) é usado como uma medida da relação entre estes grupos. Atualmente esse valor pode variar entre 0-60 e definem a afinidade de um agente tensoativo em água ou óleo. Números de HLB são calculados para os surfactantes não-iônicos, e esses agentes tensoativos têm números que variam de 0-20. Números de HLB > 10 têm uma afinidade pela água (hidrofílica) e número HLB < 10 têm uma afinidade pelo óleo (lipofílica). Os surfactantes iônicos foram recentemente designados valores relativos de HLB,



permitindo que o intervalo de valores se estenda até 60. *Aldrich Materials Science* oferece uma grande variedade de surfactantes com vários valores de HLB para ajudar na escolha de um surfactante correto dependendo da sua utilização (Sigmaaldrich.com, 2012).

Um tensoativo não-iônico com HLB igual a 1 tem a mesma fração de óxido de etileno e cadeia lipofílica, por isso considera-se que tem afinidade aproximadamente igual por óleo e água. Emulsificadores A/O tem HLB na faixa de 4 a 8, enquanto que em emulsificantes de O/A a faixa é de 12 a 16. (GOMES, 2009).

Devido ao esquema desenvolvido por Griffin, a escolha de um tensoativo (ou mistura de tensoativos) mais apropriado para cada tipo de emulsão, ou seja, água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A) tornou-se mais simples e racional (FERNANDES, 2005).

Neste sistema, introduzido por Griffin em 1949, uma escala numérica adimensional de valores entre 1 e 20 é usada para descrever a natureza do agente tensoativo, sendo que os valores de HLB aumentam de acordo com a hidrofília da molécula (FERNANDES, 2005), conforme pode ser verificado na Tabela 1.

Tabela 1- Indicações de aplicações dos tensoativos de acordo com a faixa de HLB.

<b>Faixa de HLB</b>	<b>%mol de óxido de etileno (EO)</b>	<b>Aplicações</b>
4-6	20-30	Emulsificantes A/O
7-15	35-75	Umectantes/ Agentes molhantes
8-18	40-90	Emulsificantes O/A
10-15	50-75	Detergentes
10-18	50-90	Agentes solubilizantes

Fonte: intertek.com, 2012

Para alcoóis graxos, alquilfenóis ou outras bases etoxiladas o HLB é calculado de acordo com as equações mostradas abaixo:

$$\text{HLB} = \frac{\%p \text{ EO}}{5} \quad (1)$$

$$\text{HLB} = \frac{\text{MM}_{\text{parte hidrofílica}}}{\text{MM}_{\text{total}}} \times 20 \quad (2)$$

Onde %p EO é a porcentagem de EO na molécula do tensoativo não iônico em peso e MM é a massa molar (DALTON, 2011). Alternativamente, o HLB pode ser determinado experimentalmente por cromatografia gás-líquido e RMN.

#### 1.4 Surfactante Brij<sup>®</sup>

Tensoativos não-iônicos têm diversas aplicações em muitos campos tais como produtos farmacêuticos, cosméticos, tintas, cinética química e bioquímica devido a algumas das suas propriedades incomuns (HOYER, 1987). Brij<sup>®</sup> são também um tipo de agente tensoativo não-iônico, os quais possui uma cabeça hidrófila, com números variados de polioxietileno (PEO) e uma cauda hidrofóbica distinta que consiste de uma cadeia de polimetileno. Eles têm atraído a atenção de pesquisadores nos últimos tempos por causa do seu potencial na utilização de sistemas na liberação controlada de fármacos (KAPOOR e CHAUHAN, 2008), potenciador da biodegradação para remediação de diesel (FRANZETTI *et al.*, 2008), sistemas catalisados por micelas (SHUKLA e UPADHYAY, 2008), montagem de sistemas organizados (SORTINO *et al.*, 2000), e pH-responsivos em nanopartículas (FILIPPOV *et al.*, 2008). Klammt *et al.*, (2005) relataram que os Brij<sup>®</sup> são os mais adequados para a solubilidade da célula livre expressa pelas proteínas da membrana (SOWMIYA, TIWARI e SAHA, 2010).

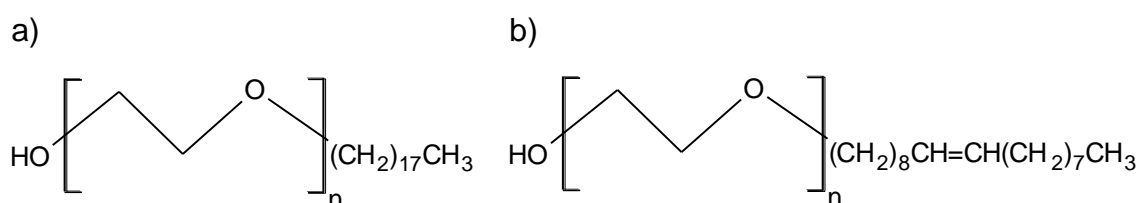
Os surfactantes poliméricos comercialmente conhecido como Brij<sup>®</sup> ( $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{EO}_m$ ,  $m$  e  $n$  correspondem aos números de unidades que se repetem) pertencem ao grupo de poliéteres e são classificados como não-iônicos, esta característica lhes confere um importante papel na utilização como carreadores de fármacos visto que diminui a toxicidade desses tipos de transportadores. Esses

surfactantes possuem uma porção hidrofílica de polioxietileno (EO) com um número variável de grupos e uma porção hidrofóbica constituída por uma cadeia de polimetileno (SOWMIYA, TIWARI e SAHA, 2010), podendo ser saturada ou insaturada. São sintetizados a partir de uma reação entre o álcool graxo e o óxido de etileno, em condições adequadas (reação de etoxilação).

O estearil éter de polioxietileno (20) (Figura 7a) conhecido comercialmente como Brij<sup>®</sup> 78 possui uma porção hidrofílica com 20 unidades de polioxietileno, tem massa molar  $1162 \text{ g mol}^{-1}$ , cadeia linear e fórmula molecular  $\text{C}_{18}\text{H}_{37}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ , onde  $n \sim 20$ . O oleil éter de polioxietileno (20) (Figura 7b) conhecido comercialmente por Brij<sup>®</sup> 98 possui as mesmas características citadas anteriormente sendo que sua massa molar é  $1149,56 \text{ g mol}^{-1}$  e fórmula molecular  $\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ , onde  $n \sim 20$ . O estearil éter polioxietileno (100) (Brij<sup>®</sup> 700) (Figura 7a) possui uma porção hidrofílica com 100 unidades de polioxietileno, tem massa molar  $4670 \text{ g mol}^{-1}$ , cadeia linear e fórmula molecular semelhante ao do Brij<sup>®</sup> 78 deferindo apenas no valor de  $n$  (quantidade de repetição da porção hidrofílica), onde  $n \sim 100$ .

Dentre os Brij<sup>®</sup> estudados o Brij<sup>®</sup> 700 possui maior cadeia. Tem-se então, a possibilidade de se comparar o efeito da variação do tamanho da cadeia do surfactante (HANZL, 2009) na solubilização do fármaco.

Figura 7- Estruturas químicas: (a) Brij<sup>®</sup> 78 ( $n = 20$ ) ou Brij<sup>®</sup> 700 ( $n = 100$ ) e (b) Brij<sup>®</sup> 98 ( $n = 20$ ).



Fonte: Próprio autor

### 1.5 Síntese do tensoativo (reação de etoxilação)

Etoxilação é o nome dado a reação de óxido de etileno com uma molécula inicial hidrofóbica para a produção de tensoativos. O óxido de etileno atualmente é obtido pela oxidação direta do etileno com o oxigênio sobre um catalisador heterogêneo de prata (Ag) a 250-300 °C e 10-20 atmosfera de pressão. As concentrações de etileno e oxigênio são mantidas sempre baixas para reduzir o risco de também as reações secundárias de combustão e de isomerização do óxido de etileno para acetaldeído.

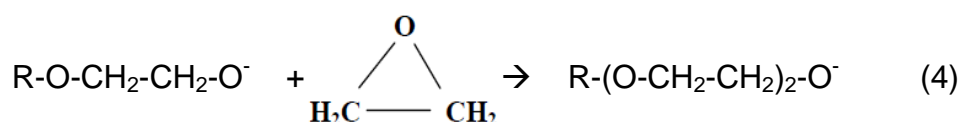
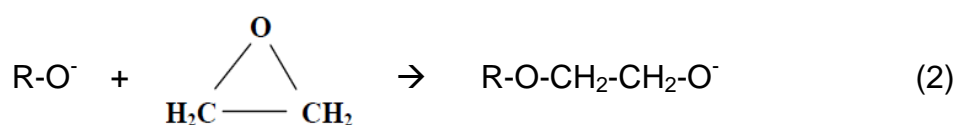
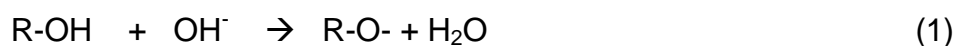
A estrutura do óxido de etileno apresenta um anel de três membros submetido a tensões consideráveis, já que seus ângulos de ligação são muito diferentes dos encontrados para os átomos de carbono nos compostos orgânicos. É dessa estrutura instável que provem sua alta reatividade com diferentes compostos.

A reação do material de partida do tensoativo com o óxido de etileno (etoxilação) é normalmente realizada em meio alcalino. Qualquer composto contendo um hidrogênio ácido (hidrogênio ligado a um oxigênio ou nitrogênio são os mais comuns) pode ser reagido com o oxigênio de etileno. Os materiais hidrofóbicos de partida mais comuns a serem etoxilados para produção de tensoativos são os alcoóis graxos, alquilfenóis, ácidos graxos e aminas graxas.

O mecanismo de reação em meio alcalino é exemplificado na Figura 8 (p. 28). Em meio alcalino, o hidrogênio ácido é retirado da molécula de partida formando um radical (reação 1, p. 28). Esse radical ataca o anel do óxido de etileno, rompendo-o e se ligando a ele, gerando um novo radical (reação 2, p. 28). Esse novo radical pode: a) reagir (reação 3, p. 28) com uma nova molécula de partida, gerando um radical igual ao da reação (1) e encerrando a cadeia de óxido de etileno ou b) reagir com outra molécula de óxido de etileno dando origem a um radical etoxilado (reação 4, p. 28). Esse radical etoxilado pode, por sua vez, reagir como mostrado nas reações 3 e 4, encerrando seu crescimento ou continuando a atacar novas moléculas de óxido de etileno. Esse mecanismo de reação faz com que qualquer material de partida, ao ser etoxilado, dê origem a um grande número de moléculas com diferentes graus de etoxilação (número de moléculas de EO, portando diferentes massas moleculares), também chamados de oligômeros.

Finalmente, as moléculas etoxiladas obtidas nas reações 4 e 5 são neutralizadas com um ácido.

Figura 8- Representação do mecanismo proposto para a reação de etoxilação em meio alcalino.



A relação de velocidade entre as reações (3) e (4) depende da própria cinética da reação (moléculas muito etoxiladas apresentam velocidades menores de reação em virtude de sua difícil difusão pelo meio) e das concentrações dos reagentes envolvidos no ponto em que a reação está acontecendo.

Existem também a competição dos grupos  $\text{R-O}^-$  e  $\text{R-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}^-$  pelo óxido de etileno nas reações (2) e (4). Aquele grupo que for mais ácido, ou seja

facilmente perde o hidrogênio, tende a reagir mais rapidamente com o óxido de etileno. Se o grupo  $R-O^-$  for um alquilfenol ou um ácido graxo, sua acidez é diminuída com a adição de uma molécula de óxido de etileno. Portanto a reação (2) é priorizada em relação à reação (4). Nesses casos, apenas após a reação (2) ter acontecido em grande escala é que a reação (4) ocorre com mais frequência. Se o grupo  $R-O^-$  for um álcool graxo, uma amida graxa ou água, a acidez do grupo  $R-O^-$  é menor que a do grupo  $R-O-CH_2-CH_2-O^-$ , fazendo com que, de início, ocorra o contrário, ou seja, a reação (4) é priorizada em relação à reação (2).

A solubilidade do tensoativo etoxilado em água depende das interações de solvatação dos átomos de oxigênio da cadeia pelas moléculas de água. A atração das moléculas de água pelos oxigênios da cadeia polioxietilênica é muito fraca, pois a carga adquirida pelo oxigênio é apenas parcial, uma vez que se origina da diferença de eletronegatividade do oxigênio em comparação aos carbonos vizinhos.

Para que um tensoativo etoxilado seja solúvel em água, é necessário um número mínimo de unidades de óxido de etileno por molécula, dependendo do tipo de matéria-prima de partida. A solubilidade em água da cadeia polioxietilênica vem da concentração de cargas negativas em cada oxigênio dessa cadeia, mas é prejudicial pela presença de dois carbonos a cada oxigênio, fazendo com que cada grupo óxido de etileno seja apenas levemente hidrofílico. Portanto, cadeias etoxiladas muito curtas não conseguem uma somatória de cargas suficiente para manter o tensoativo solúvel em água. Nas cadeias formadas por óxido de propileno, a presença de ainda mais um carbono a cada oxigênio da cadeia inverte a situação, tornando cada grupo de óxido de propileno levemente hidrofóbico, resultando em redução da solubilidade do tensoativo.

Os tensoativos etoxilados podem ser fabricados de acordo com a solubilidade em água que se deseje e com grande precisão, pois se pode variar o tamanho da molécula graxa de origem e também alterar o número de unidades de óxido de etileno presentes na cadeia polar (DALTIM, 2011).

## 1.6 Aplicação do Brij<sup>®</sup> no carregamento de fármacos

Em muitas partes do mundo, a água de rio é usada para irrigação. Água tratada parcialmente, totalmente e até mesmo não tratada de estações de tratamento de águas residuais são descarregadas diretamente em rios, e assim comprometem a qualidade da água. Conseqüentemente, a água da irrigação pode conter surfactantes que podem afetar o destino e transporte de produtos químicos, como pesticidas e antibióticos em solos agrícolas.

Um estudo de campo com um lisímetro (um tanque inserido no solo, contendo o mesmo solo e vegetação do local) foi realizado para investigar o efeito do agente tensoativo não-iônico, Brij<sup>®</sup> 35, sobre o destino e transporte da oxitetraciclina (OTC), na água de irrigação, que é um antibiótico de largo-espectro de eficácia contra infecções por bactérias usado geralmente em fazendas de gado. Compreender a mobilidade de OTC com o surfactante na água do solo é um passo importante na avaliação do risco resultante da irrigação com águas residuais. Elsayed, Prasher e Patel 2013, mostraram que a presença de surfactante não-iônico (Brij<sup>®</sup> 35), em concentrações superiores a sua cmc, aumentou o movimento de OTC no solo, presumivelmente devido à solubilização nas micelas do surfactante na água presente no solo. Portanto, o uso contínuo de água residual contendo surfactantes não-iônicos em concentrações superiores a cmc pode esperar um aumento na probabilidade de se encontrar a OTC em chorume, atingindo água do solo e dos recursos hídricos contaminando-os. Os resultados a longo prazo expõem as bactérias aos antibióticos e isso aumenta o risco das bactérias tornarem-se resistentes ao antibiótico, bem como aumentar a probabilidade de transferir a resistência das bactérias aos seres humanos. Isto tornar-se uma questão importante, pois muitos antibióticos, incluindo a OTC, permanecem biologicamente ativo no solo por semanas ou até meses (ELSAYED, PRASHER e PATEL 2013).

Chidambaram e Burgess (2000) estudaram o efeito dos surfactantes não-iônicos Brij<sup>®</sup> 97 no transporte de fármacos modelos (fenobarbital, barbital, fenilazoanilina, benzocaina). As concentrações do Brij<sup>®</sup> 97 estudadas nas emulsões variaram de 0 a 2% m/v. Os autores observaram que a taxa de transporte das drogas modelos nas emulsões aumentaram até a concentração micelar de 1%, a partir da qual passou a ter uma diminuição. O aumento da taxa de permeabilidade é

governada pelo coeficiente de partição óleo/água (o/w) e que é reforçada pelo aumento do surfactante, enquanto que acima de 1% ocorre uma diminuição no coeficiente de partição (o/w) causada pela alteração na forma micelar.

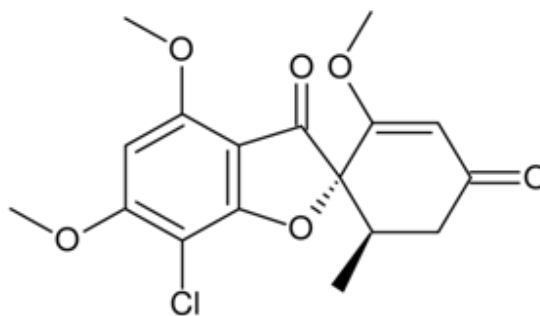
Os surfactantes Brij<sup>®</sup> 58 e Brij<sup>®</sup> 30 (MOHAMAD *et al.*, 2012) têm sido utilizados como produto químico específico para atuar como potenciadores de penetração transdérmica. Os autores concluíram que a administração transdérmica do anti-inflamatório Aceclofenaco irá resultar na liberação do fármaco a uma taxa adequada para manter os níveis de droga no plasma suficientes para a eficácia terapêutica usando a pele como a porta de entrada do fármaco e usando os surfactantes Brij<sup>®</sup> 58 e o Brij<sup>®</sup> 30 como promotor de penetração. Houve um aumento tanto no fluxo quanto no coeficiente de permeabilidade do fármaco quando a concentração variou de 1% a 2% dos Brijs<sup>®</sup>. O Brij<sup>®</sup> 58 a 2% foi selecionado como o potencializador da permeação para formulação do sistema transdérmico por ter alcançado o maior fluxo dentre os surfactantes não-iônico estudados. Isso pode ser devido sua maior porção hidrofóbica (C<sub>16</sub>, no caso do Brij<sup>®</sup> 58) como esperado e um maior bloco de polioxietileno (C<sub>16</sub>-H<sub>33</sub>(OCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>OH / 20 unidades EO) em comparação ao Brij<sup>®</sup> 30 (C<sub>12</sub>-H<sub>25</sub>(OCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OH / 4 unidades de EO) indicando que o sítio de solubilização do fármaco também é relevante na porção hidrofílica do grupo de polioxietileno (PEO), uma vez que o aumento da porção hidrofílica aumenta a quantidade de grupos -OH que podem realizar ligação de hidrogênio com o grupo -NH das moléculas de aceclofenaco (C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>4</sub>).

### 1.7 Fármaco griseofulvina

Griseofulvina é um medicamento antifúngico oral não tóxico derivado de várias espécies de *Penicillium*, e tem sido utilizado há muitos anos no tratamento da *Tinea capitis* e em outras infecções causadas por dermatófitos (CHAN e FRIEDLANDER apud ZHONG, 2010; DE CARLI e LARIZZA apud ZHONG, 2010). A Griseofulvina (Figura 9, p. 32) foi utilizada para inibir o crescimento de células fúngicas através da despolimerização de microtúbulos e inibição seletiva da indução anormal da mitose celular e bloquear as células em uma determinada fase no ciclo celular (CZYMMEK, BOURETT e SHAO, 2005; JORDAN e WILSON, 2004).



Figura 9- Estrutura química da griseofulvina.



Fonte: RIBEIRO, 2010

A griseofulvina vem atraindo considerável o interesse do seu estudo como um fármaco potencial anticancerígeno devido à sua baixa toxicidade e eficácia anti-proliferação em diferentes tipos de câncer celular, incluindo o cólon adenocarcinoma e leucemia (PANDA *et al.*, 2005; UEN *et al.*, 2007). Griseofulvina também possui um tratamento para inibir o crescimento de tumor em ratos atímicos quando combinado com Nocodazol, e verificou-se induzir a apoptose em linhagens de células cancerígenas e seletivamente eliminar as células cancerosas, poupando as células saudáveis (HO *et al.*, 2001; REBACZ *et al.*, 2007).

Existem vários trabalhos publicados que utilizam diferentes técnicas de dissolução para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água como a griseofulvina (YANG *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2010; CAVALCANTE *et al.*, 2009).

Yang *et al.*, (2007) utilizou a técnica de granulação de fusão para melhorar as características da dissolução do fármaco griseofulvina. Vários relatos da literatura revelam que as dispersões sólidas aumentaram a taxa de dissolução e absorção gastrointestinal da griseofulvina (SAITO *et al.*, 2002;. LO e LAW, 1996; CHIOU e RIEGELMAN, 1969; FLEGO *et al.*, 1988 apud YANG *et al.*, 2006).

A griseofulvina é um fármaco aromático de baixa solubilidade em água (1,0 mg/dL e 1,2 mg/dL a 25 e 37 °C, respectivamente, CROTHERS *et al.*, 2005), usado em vários trabalhos para se comparar a capacidade de solubilização de polímeros para fármacos hidrofóbicos (REKATAS *et al.*, 2001, CHAIBUNDIT *et al.*, 2000). A griseofulvina possui atividade antifúngica e é eficaz para várias doenças inflamatórias da pele resistentes à terapêutica convencional. Pode ser isolada do *Penicillium griseofulvum* dierckx ou obtida por síntese (FINKELSTEIN, AMICHAH e

GRUNWALD, 1996). É um antibiótico não poliênico que age causando a destruição do fuso mitótico de microorganismos susceptíveis, ao interagir com seus microtúbulos polimerizados.

### 1.8 Solubilização de fármacos hidrofóbicos em sistemas micelares

Existem vários métodos de solubilização de fármacos hidrofóbicos nas micelas dos copolímeros. De acordo com Aliabadi e Lavasanifar (2006) pelo menos sete métodos são mais utilizados: diálise, emulsão óleo/água, evaporação do solvente, evaporação do co-solvente, liofilização, agitação em solução (“Shake flask”), método fundido (“Melt loading”). A escolha do método de solubilização depende das propriedades do fármaco e do copolímero.

Dependendo do tipo de fármaco e do polímero utilizado existem quatro maneiras do fármaco se localizar na micela: no núcleo micelar, na interface núcleo/corona, na corona, e na superfície (MYERS, 1992). Para fármacos hidrofílicos a corona é o ambiente mais favorável, enquanto para fármacos hidrofóbicos o núcleo é mais favorável, sendo estes fármacos o principal foco no desenvolvimento de formulações micelares.

O fato das micelas solubilizarem os fármacos hidrofóbicos pode ser explicado como uma partição do fármaco entre duas fases: a água e a micela. O coeficiente de partição micela-água pode ser calculado para uma solução de concentração conhecida do polímero pela seguinte equação (KADAM, YERRAMILLI e BAHADUR, 2009):

$$P = (S - S_o)/S_o \quad \text{ou} \quad P = S_{cp}/S_o \quad (3)$$

onde  $S$  é a solubilidade do fármaco na solução micelar do polímero à concentração específica e  $S_o$  é a solubilidade do fármaco em água.

A energia livre padrão (25 °C) de solubilização ( $\Delta G^\circ$ ) do processo pode ser representada pela seguinte equação:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln P \quad (4)$$

onde  $R$  é a constante universal dos gases,  $T$  é a temperatura absoluta e  $P$  é o coeficiente de partição entre a micela e a fase aquosa.

Um parâmetro importante nos estudos de solubilização de fármacos é a capacidade de solubilização do polímero ( $S_{cp}$ ), que é a quantidade de fármaco solubilizada por grama de polímero em uma dada solução, e a capacidade de solubilização do núcleo hidrofóbico ( $S_n$ ), que é a quantidade de fármaco solubilizada por grama de bloco hidrofóbico. Esses parâmetros não são fixos para um determinado polímero, como apontam os estudos, dependendo principalmente da compatibilidade química entre o núcleo e o fármaco. Além disso, a capacidade de solubilização do polímero pode também depender da temperatura, do pH, da concentração da solução do polímero, de aditivos na solução e do método de solubilização do fármaco (ALIABADI e LAVASANIFAR, 2006, RIBEIRO *et al.*, 2009a).

Quando se comparam polímeros diferentes, fatores que alteram a  $S_{cp}$  são: o caráter hidrofóbico do núcleo, o comprimento do bloco hidrofóbico, a arquitetura do copolímero, a razão em massa núcleo/corona, sua concentração e temperatura micelar crítica e a forma das micelas.

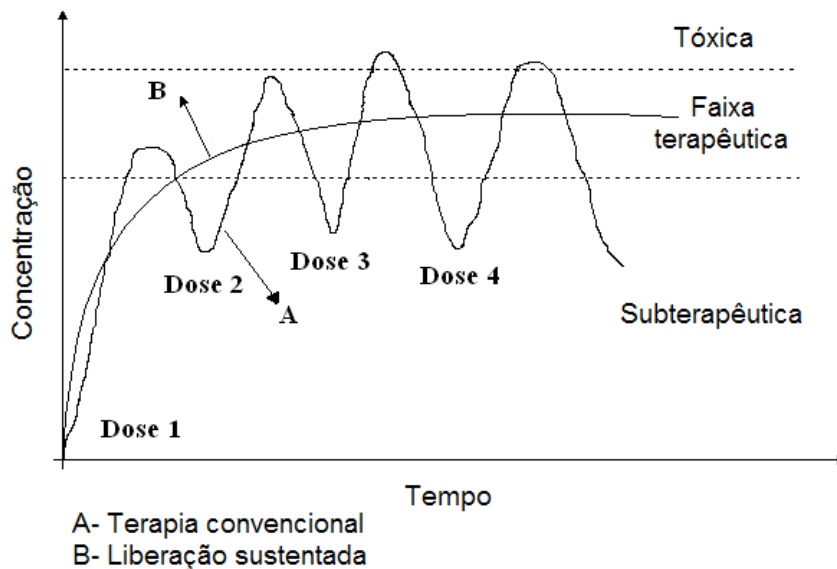
### **1.9 Liberação de fármaco**

Um dos grandes problemas encontrados pelas ciências da saúde e pelas indústrias farmacêuticas são a baixa solubilidade da maioria dos fármacos em água e os efeitos colaterais causados pela liberação desordenada desses fármacos no organismo. E aperfeiçoar esses parâmetros, como reduzir as doses de administração, o nível de toxicidade e os efeitos colaterais, esta sendo objeto de estudo contínuo de grandes pesquisas. Os aspectos mais estudados nos fármacos são a solubilidade em água, a liberação e a distribuição biológica no organismo.

Estima-se que quase metade dos fármacos falha em suas formulações farmacêuticas devido a sua baixa solubilidade em água (PATRAVALE, 2004). Um fator limitante para o desempenho *in vivo* de fármacos pouco solúveis em água é a sua resistência em ser umedecido e dissolvido nos fluidos do trato gastrointestinal. O aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água é, portanto, muito importante para incrementar sua taxa de absorção no organismo (biodisponibilidade).

Na liberação existe um conceito farmacológico chamado de faixa terapêutica, que é a faixa de concentração do fármaco no organismo na qual ele exerce sua atividade com eficiência e sem causar danos ao paciente. Muitas vezes, ao se administrar um medicamento a um paciente, a sua concentração inicial é alta, podendo até ultrapassar a concentração máxima da dose terapêutica, e após um curto tempo fica abaixo da concentração mínima, seguindo um ciclo como mostra a Figura 10. Visando estabilizar a concentração do fármaco dentro dessa faixa terapêutica após sua administração e, assim, diminuir as doses do medicamento e seus efeitos colaterais, tem-se desenvolvido sistemas de encapsulação de fármacos para liberação controlada. Tais sistemas também possuem a vantagem de conferir uma maior estabilidade química ao fármaco, ao protegê-lo de fatores externos tais como o pH gástrico e o calor no ambiente de armazenagem do fármaco.

Figura 10- Gráfico da concentração do fármaco na corrente sanguínea versus tempo de administração: curva A, uma formulação convencional, e curva B, uma formulação ideal de liberação controlada.



Fonte: CAVALCANTE, 2009

Outro aspecto muito estudado é a distribuição do fármaco até o alvo do tratamento. Quando um fármaco entra no organismo, ele é distribuído pela corrente sanguínea e atingem tecidos e órgãos que não são o alvo do tratamento, podendo causar vários efeitos colaterais e assim comprometer a segurança ou agregar

desvantagem terapêutica. Com isso, nos últimos anos, investiga-se sistemas “inteligentes” que direcionem o fármaco até o alvo específico (por exemplo, tecidos tumorais), onde são liberados.

## 2 JUSTIFICATIVA

Um desafio contínuo das ciências da saúde e da indústria farmacêutica é aperfeiçoar o desempenho dos fármacos no organismo humano, reduzindo as doses de administração, o nível de toxicidade e os efeitos colaterais, melhorando a sua eficiência. Assim, como resposta a esse desafio, o estudo e a aplicação da síntese de formulações farmacêuticas mais eficientes, tal como nanocarreadores de fármacos pouco solúveis em água a base de poli(óxido de etileno) (PEO), que possam aumentar a biodisponibilidade desses fármacos e direcioná-los a sítios ativos, a fim de diminuir seus efeitos colaterais e controlar sua liberação no organismo.

A importância dos surfactantes Brij<sup>®</sup> pode ser visualizada pelos números de publicações. Uma pesquisa no SciFinder<sup>®</sup> exibiu mais de 293 mil artigos relacionados ao termo “surfactant”, dos quais, apenas 3.362 estão relacionados com “Brij<sup>®</sup>”, destes 581 estão relacionados a cada um dos Brij<sup>®</sup> 78, 98 e 700, respectivamente. Ao refinar a pesquisa com o termo “solubilisation” dentre os brij<sup>®</sup> específicos acima descritos, encontrou apenas 75 trabalhos, sendo que apenas 3 estão relacionados com a griseofulvina (“griseofulvin”), onde 1 desses corresponde a publicação deste trabalho de pesquisa. Este levantamento nos mostra o quão promissor é esta pesquisa.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estudar os sistemas poliméricos Brij<sup>®</sup> 78 ( $C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_{20}OH$ ), Brij<sup>®</sup> 98 ( $C_{18}H_{35}(OCH_2CH_2)_{20}OH$ ) e Brij<sup>®</sup> 700 ( $C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_{100}OH$ ) na solubilização e liberação controlada do fármaco modelo griseofulvina.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração micelar crítica (cmc) dos polímeros Brij<sup>®</sup> 78 ( $C_{18}H_{37}EO_{20}$ ), 98 ( $C_{18}H_{35}EO_{20}$ ) e 700 ( $C_{18}H_{37}EO_{100}$ ) por fluorescência a 25 e 37 °C, avaliando a influência da temperatura na micelização dos sistemas poliméricos;
- Realizar estudos de solubilização dos surfactantes Brij<sup>®</sup> 78 ( $C_{18}H_{37}EO_{20}$ ), 98 ( $C_{18}H_{35}EO_{20}$ ) e 700 ( $C_{18}H_{37}EO_{100}$ ) ao fármaco griseofulvina que é pouco solúvel em água;
- Verificar o potencial de solubilização dos sistemas poliméricos realizando testes de quantificação através da espectroscopia por UV/Vis e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1H$  (RMN de  $^1H$ );
- Caracterizar os polímeros, o fármaco e encapsulados através de Difração de Raios-X;
- Realizar análises de distribuição de tamanho das micelas dos sistemas poliméricos com e sem fármaco por Espalhamento de Luz.
- Analisar a liberação *in vitro* do fármaco modelo griseofulvina nos sistemas poliméricos aplicados na encapsulação.

## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 Materiais

Os surfactantes Brijs® 78 [estearil éter de polioxietileno (20)] (Figura 7a, p. 26) pag 12, seção 1.5, Brij® 98 [oleil éter de polioxietileno (20)] (Figura 7b, p. 26) e Brij® 700 [estearil éter de polioxietileno (100)] (Figura 7a, p. 26) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Poole, Dorset, UK) e foram utilizados como recebidos. Valores da razão de peso médio e massa molar numérica média,  $M_w/M_n$  (índice de polidispersividade), foram determinados por cromatografia de permeação de gel (GPC) utilizando N,N-dimetilacetamida a 70 °C como solvente (CHAIBUNDIT *et al.*, 2000). A Tabela 2 inclui valores de fórmula molecular, massa molar,  $M_w/M_n$ , HLB (Balanço hidrofílico-lipofílico) a partir da literatura do fabricante, e  $R_h$  (raio hidrodinâmico) de Renou *et al.*, (2008) (Brij® 78 e 700) e Prak *et al.*, (2011) (Brij® 98). A griseofulvina (massa molar 352,8 g / mol) foi obtida a partir da Sigma-Aldrich (Poole, Dorset, Reino Unido) e foi utilizada sob a forma de um pó finamente dividido. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) indica uma forma cristalina com um ponto de fusão de 220,4 °C e uma entalpia de fusão de 115,6 g J<sup>-1</sup>. Não houve transição detectável consistente com um componente vítreo (OLIVEIRA *et al.*, 2011 a, b). Água Milli-Q, metanol para quantificação por UV/Visível, D<sub>2</sub>O e CDCl<sub>3</sub> para as análises de RMN. O corante 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH) da Biochemika foi utilizado na determinação da concentração micelar crítica. Para a preparação da solução do tampão fosfato foi utilizado fosfato de potássio monobásico e hidróxido de sódio

Tabela 2- Propriedades selecionadas dos surfactantes não iônicos explorados neste estudo

Polímero	Formula molecular média	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	$M_w/M_n$	HLB	$r_h$ /nm 20 °C
Brij® 78	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> OH	1152	1,19	15	4,8
Brij® 98	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>20</sub> OH	1150	1,18	15	4,4
Brij® 700	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>100</sub> OH	4670	1,06	18,8	7,6



## 4.2 Concentração micelar crítica (cmc)

O método da solubilização do DPH foi utilizado para determinar o início da micelização no estudo de copolíéteres triblocos realizado por Alexandridis, Holzwarth e Hatton (1994) e anteriormente, no estudo de surfactantes iônicos, por Chattopadhyay e London (1984). Dessa forma, o método utilizado nesse trabalho para a determinação da concentração micelar crítica (cmc) dos Brij<sup>®</sup> 78, 98 e 700 foi o de solubilização de corante, no qual foi utilizado um espectrofotômetro de fluorescência Hitachi F-4500. O corante 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH) da Biochemika foi utilizado no procedimento sem modificações.

Foram preparadas soluções estoque dos polímeros por dissolução em água Milli-Q e agitação de no mínimo 24 h antes das diluições necessárias ( $0,01 \text{ mg dm}^{-3}$  –  $100 \text{ mg dm}^{-3}$ ). O DPH foi dissolvido em metanol (0,4 mM) e adicionado à solução do polímero na razão de 1:100 (40  $\mu\text{L}$  DPH: 4 mL solução). Dessa forma, foram obtidas soluções dos polímeros com 1% (v/v) de metanol e 0,004 mM de DPH. O comprimento de excitação usado foi de 350 nm, e a emissão medida em 428 nm foi usada para a construção dos gráficos. As medidas de emissão de fluorescência foram feitas entre 4 a 8 horas após da adição de DPH. Os dados foram coletados a 25 e  $37 \pm 0,2$  °C, permitindo-se um mínimo de 40 min de estabilização na temperatura analisada.

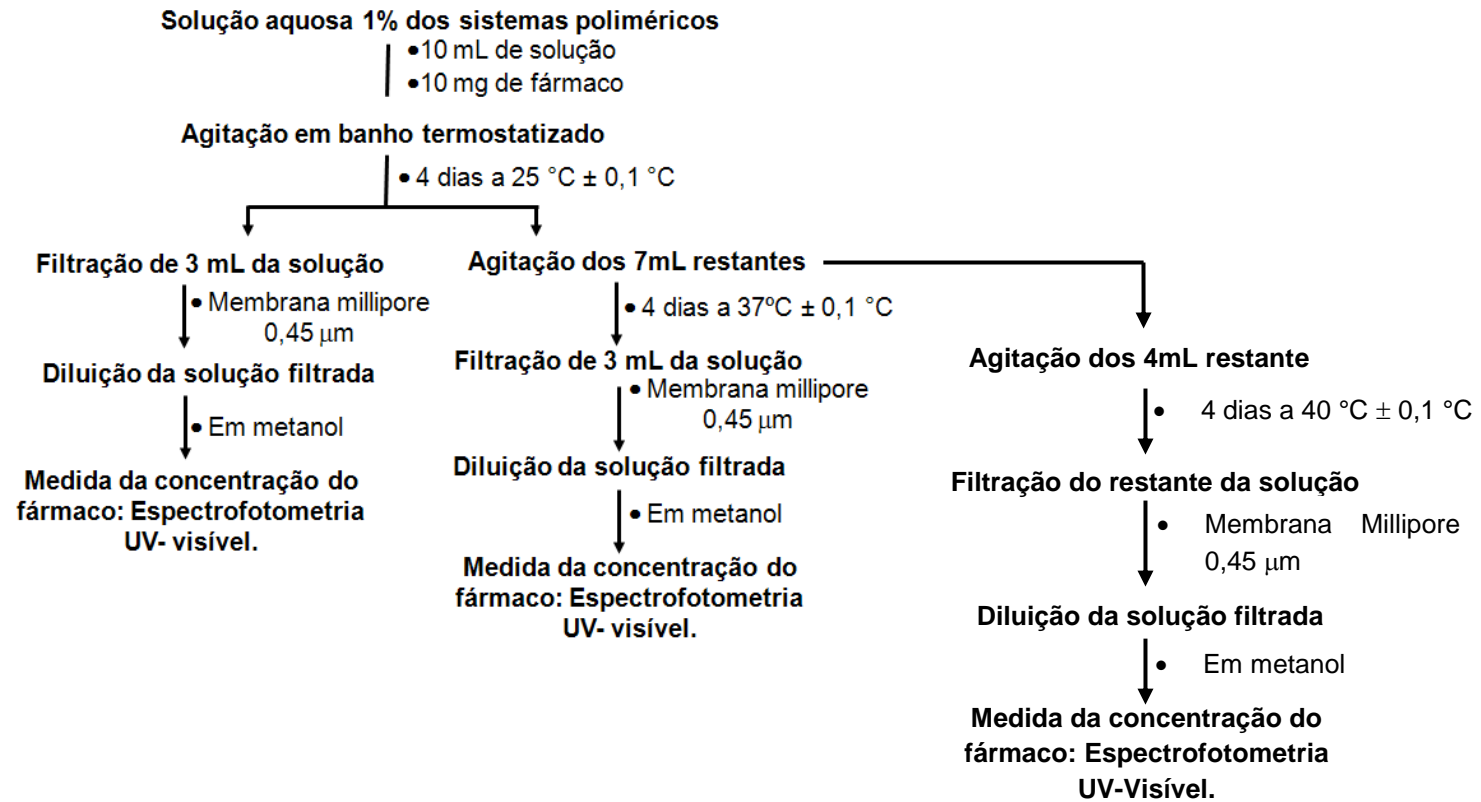
## 4.3 Solubilização do fármaco

A curva de calibração para a griseofulvina foi obtida a partir de soluções metanólicas com concentrações variando de 2,0 a 20,0  $\text{mg.dm}^{-3}$  com equipamento U-2000 Spectrophotometer Hitachi. O comprimento de onda para o pico específico de absorção da griseofulvina é 292 nm.

O método de incorporação da griseofulvina nas micelas foi o da dissolução direta, conforme metodologia estabelecida por Rekatas *et al.*, 2001 e Crothers *et al.*, 2005. Esse método também é conhecido como “shake flask”. Foram preparadas soluções aquosas a 1% m/v dos polímeros na qual uma alíquota de 10 mL foi retirada de cada solução e foi adicionada uma porção do fármaco griseofulvina ( $m \approx 10 \text{ mg}$ ). Os sistemas foram lentamente agitados a 25 °C ( $\pm 0,1$  °C), por 4 dias, num banho termostaticado da QUIMIS. Retirou-se uma alíquota de 3 mL

do sobrenadante, que logo em seguida foi filtrado em membrana Millipore de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$ , para remoção de qualquer porção de fármaco não solubilizado. O restante da solução foi mantido no banho a 37 °C por 4 dias e o mesmo procedimento foi realizado (Figura 11, p. 42). De igual modo procedeu-se para o experimento a 40 °C. A quantificação do fármaco solubilizado foi investigada por espectroscopia UV/Visível e RMN de  $^1\text{H}$ .

Figura 11- Fluxograma do método de solubilização (dissolução direta) da griseofulvina nos sistemas poliméricos aquosos dos Brijs® 78, 98 e 700.



#### **4.3.1 Quantificação por espectroscopia UV / visível**

A partir da curva de calibração para o fármaco griseofulvina em metanol foi possível obter a equação que correlaciona absorção e concentração (mg/L) no comprimento de 292 nm. Alíquotas das amostras filtradas foram diluídas com metanol e a concentração de fármaco foi monitorada por espectroscopia UV/Visível no comprimento de onda de 292 nm (REKATAS *et al.*, 2001), usando-se metanol puro para estabelecer a linha de base. A solubilidade do fármaco apenas em água foi calculada com o mesmo procedimento descrito acima. As absorbâncias das soluções aquosas dos polímeros no comprimento de onda do fármaco também foram medidas para correção dos valores de absorbância obtidos para o sistema contendo o fármaco. Todas as medidas foram feitas pelo menos em triplicata.

#### **4.3.2 Quantificação por espectroscopia RMN de <sup>1</sup>H**

Os sistemas obtidos do ensaio de solubilização foram liofilizados e o material seco foi analisado por RMN de <sup>1</sup>H seguindo metodologia de Rekatás *et al.*, (2001). A amostra foi dissolvida em CDCl<sub>3</sub> e seu espectro de RMN de <sup>1</sup>H foi feito à temperatura ambiente (22 °C) usando um Bruker DRX 500 11,7 Tesla (499,80 MHz para <sup>1</sup>H) espectrômetro de sonda de detecção de gradiente inversa de 5 mm a 298 K. Os espectros foram obtidos utilizando o pulso de rf 90 ° (9,20 µs), uma largura espectral de 12.019 Hz, 256 transientes com 64K pontos de dados, um tempo de aquisição de 2,73 s e um atraso de relaxamento de 10 s antes de serem convertidos em 32K pontos de dados e a fase da linha de base foi corrigida manualmente, utilizando o software Bruker. A quantidade de griseofulvina solubilizada por grama de polímero foi determinado utilizando integrais de pico adequadas. Todas as medições foram realizadas em triplicata e os resultados em média.

#### 4.4 Tamanho de partícula

O raio hidrodinâmico das micelas de Brij<sup>®</sup> foi determinado utilizando um Zetasizer Nano, Malvern, Zetasizer Nano ZS (ZEN 3500). As medições foram feitas a partir de soluções de 1% em peso do surfactante, com e sem fármaco, a 25 °C, e foram investigadas através de 30 varreduras com 30 s de tempo permitido para cada aquisição de digitalização. As medidas foram feitas em triplicata e os valores expressos foram à média aritmética dos dados obtidos.

#### 4.5 Difração de raios-X

As análises por difração de raios-X dos polímeros com e sem fármaco foram realizadas em um difratômetro Rigaku, modelo DMAXB, com ângulo 2 $\theta$  de 5-45° e uma velocidade de 0,5°/min. As medições foram feitas utilizando polímero recuperado a partir dos estudos de solubilização por liofilização.

A difração de raios-X foi utilizada neste trabalho para verificar a eficiência da encapsulação dos fármacos nos polímeros. Vários trabalhos mostram a utilização dessa técnica para verificar a eficiência de encapsulação de fármacos em micropartículas (ASADA *et al.*, 2004, CAVALCANTE *et al.*, 2007).

#### 4.6 Liberação *in vitro*

O estudo de liberação *in vitro* da griseofulvina nos sistemas encapsulados (Brij<sup>®</sup> 78, 98 e 700) foi realizado através da técnica de difusão. Utilizou-se uma membrana de diálise (tubo de diálise) de celulose benzoilada, com 9 mm de largura, e massa molecular de corte (MWCO) de 2000 g/mol, da Sigma-Aldrich.

O material utilizado na liberação foi preparado da seguinte forma: a griseofulvina foi solubilizada nas soluções a 1% dos surfactantes a 37 °C, como descrito anteriormente, e após filtração e quantificação da griseofulvina solubilizada, a solução foi liofilizada. Cerca de 200-250 mg do material liofilizado foi dissolvido em 1 mL de tampão fosfato pH 7,4 ( $\pm$  0,1) (pH sanguíneo), inserido na membrana de diálise e imerso em 75 mL de tampão fosfato a 37 °C ( $\pm$  0,2 °C). Em intervalos de

tempo determinados, alíquotas de 3 mL do meio de liberação foram retiradas e o volume foi reconstituído com 3 mL da solução tamponada. As soluções foram diluídas em metanol (2x)(1,5 mL as solução + 1,5 mL de MeOH) e a quantidade de griseofulvina liberada foi determinada por espectroscopia UV / Vis no comprimento de onda do fármaco (292 nm).

Partindo dos resultados de solubilização foram selecionados os surfactantes Brij<sup>®</sup> 78 e 700 a 37 °C para serem feitas a liberação, o Brij<sup>®</sup> 78 por apresentar melhores resultados de capacidade de solubilização do fármaco e o Brij<sup>®</sup> 700 por apresentar os valores mais baixos dos três surfactantes utilizados (ver seção 4.3). Os Brij<sup>®</sup> 78 e 98 apresentaram valores de capacidade de solubilização semelhantes.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

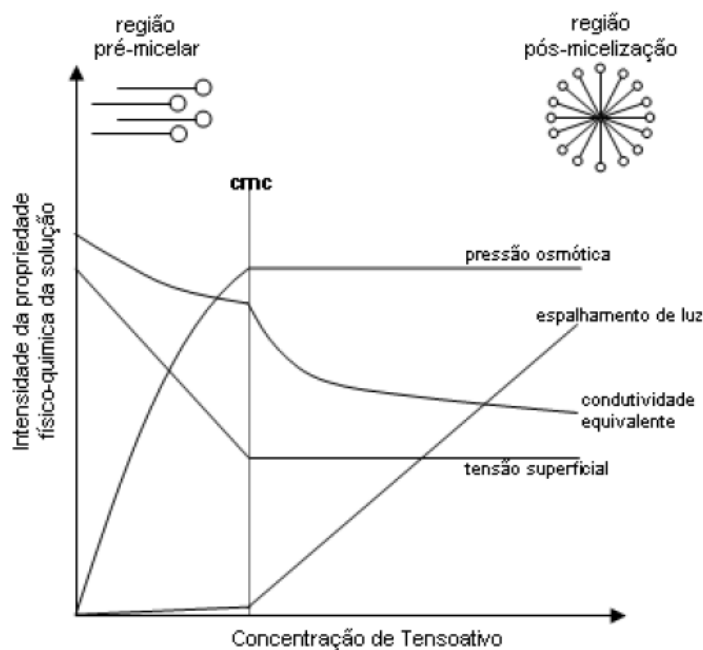
### 5.1 Concentração micelar crítica (cmc)

Como descrito por Patist *et al.*, (2000) e Hait e Moulik (2001), os efeitos da pré-micelização dificultam a determinação da cmc do surfactante Brij<sup>®</sup>.

Em baixas concentrações em soluções aquosas, os tensoativos adsorvem na superfície água-ar ou interfaces líquido-líquido, resultando na redução de tensão superficial ou interfacial. O aumento da concentração de tensoativos na solução resulta na auto-agregação dos unímeros, formando estruturas chamadas de micelas (TANFORD *apud* ARGETON, 2009).

A auto agregação de unímeros de tensoativos formando micelas resulta em uma série de mudanças nas propriedades físico-química das soluções contendo tensoativos. Essas mudanças são evidenciadas através da descontinuidade em propriedades físico-químicas em função da concentração de tensoativos em solução. A descontinuidade nas propriedades físico-químicas da solução ocorre em uma faixa de concentração suficientemente estreita definida como concentração micelar crítica (cmc). A Figura 12 (p. 47) representa a variação em algumas dessas propriedades em função da concentração de tensoativos na região pré-micelização e na região pós-micelização (ARGETON, 2009).

Figura 12- Representação das variações em propriedades físico-químicas de soluções aquosas em função da concentração de tensoativo.

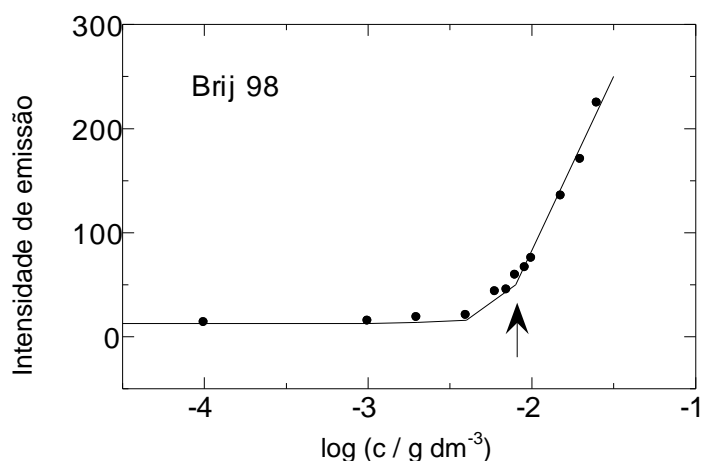


Fonte: ARGETON, 2009

A partir dos dados de emissão do corante (DPH) nos sistemas poliméricos diluídos, foram plotados gráficos da emissão do DPH no comprimento de onda de 428 nm *versus* o logaritmo da concentração ( $\text{g dm}^{-3}$ ) dos sistemas poliméricos (Figura 13, p. 48). A seta no gráfico de intensidade de emissão *versus* concentração do Brij<sup>®</sup> 98 (escala logarítmica) na Figura 13 (p. 48) indica o ponto na qual a intensidade aumentou linearmente com o log (c), considerando a  $\text{cmc} = 7,9 \text{ mg dm}^{-3}$ . Como pode ser visto na Tabela 3 (p. 48), os valores da cmc obtido ficou no intervalo entre 7-35  $\text{mg dm}^{-3}$ . Tais valores mostram que na concentração de estudo do potencial de solubilização destes sistemas (1g ---100mL), o processo de solubilização está completo.



Figura 13- Intensidade de emissão (DPH) vs concentração (escala logarítmica) das soluções aquosas do (•) Brij<sup>®</sup> 98 a 37 °C.



O valor determinado de 7,9 mg dm<sup>-3</sup>, no presente estudo, para a cmc do Brij<sup>®</sup> 98 a 37 °C são comparáveis aos valores de 7,8 e 6,2 mg dm<sup>-3</sup> que foram determinados por solubilização de iodo como sonda por Patist *et al.*, (2000) e Hait e Moulik (2001), respectivamente. Os valores mais elevados (40 e 53 mg dm<sup>-3</sup>) foram determinados por Sowmiya *et al.*, (2010) e Klammt *et al.*, (2005), respectivamente, usando técnicas de fluorescência, mas com uma definição de micelização na qual a micela já estava completamente formada e não no início da sua formação. A Tabela 3 mostra os resultados da cmc a 25 e 37 °C dos surfactantes. Os resultados foram expressos em termos de massa do polímero (g dm<sup>-3</sup>).

Tabela 3- Concentração micelar crítica (cmc) a 25 e 37 °C dos Brij<sup>®</sup> 78, 98 e 700.

Polímero	cmc (mg dm <sup>-3</sup> )	
	25 °C	37 °C
Brij <sup>®</sup> 78(C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>20</sub> )	7,6	7,1
Brij <sup>®</sup> 98(C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> E <sub>20</sub> )	8,5	7,9
Brij <sup>®</sup> 700 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>100</sub> )	33	27

De um modo geral, a concentração micelar crítica (cmc) para polímeros não-iônicos sofrem uma diminuição com o aumento de temperatura como observado por Alexandridis, Holzwarth e Hatton, (1994).

Verifica-se que os valores da cmc são influenciados pela variação do comprimento do bloco hidrofílico (E). De acordo com Atwood e Booth (2007) a dependência da cmc em função do número de unidades E no polímero é pequena, porém quando dois copolímeros são nominalmente de mesmo comprimento de bloco hidrofóbico, o efeito do comprimento do bloco E é levado em consideração. Quanto maior o caráter hidrofóbico do copolímero, menor a sua cmc, pois a micelização diminui as interações desfavoráveis com a água.

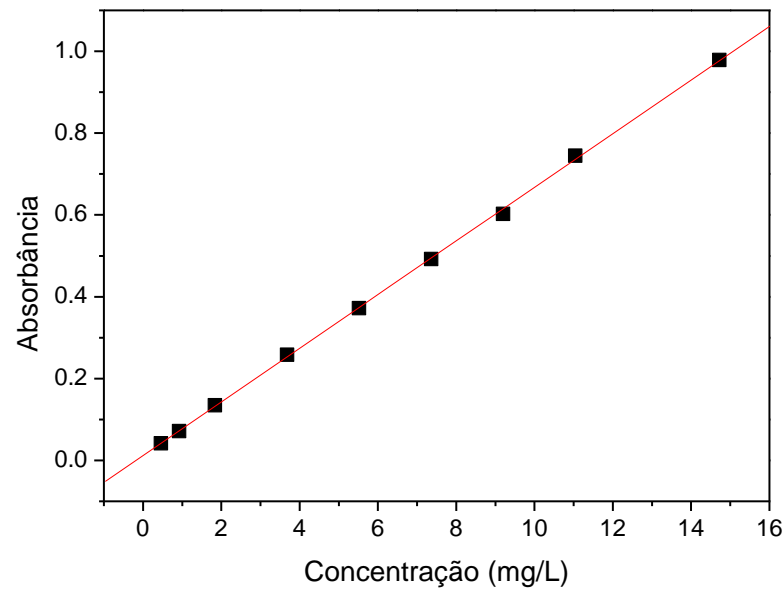
## **5.2 Solubilização do fármaco (quantificação por espectroscopia UV/Visível e espectroscopia RMN de $^1\text{H}$ )**

A encapsulação de fármacos em polímeros de porção hidrofílica de polioxietileno tem se desenvolvido em alguns trabalhos recentes devido às propriedades destes polímeros, tais como: capacidade de formar micelas estáveis, de promover maior tempo de circulação do fármaco no corpo, entre outros. O uso de polímeros não iônicos é vantajoso porque apresenta reduzida sensibilidade a variação do pH, ou seja, não é afetado pela presença de eletrólitos no sistema (RIBEIRO, 2010). Outra vantagem no uso desses polímeros é que eles já são sintetizados em escala industrial o que torna sua obtenção mais fácil e com o menor custo.

A curva de calibração para o fármaco griseofulvina em metanol é mostrada na Figura 14 (p. 50). A partir da curva de calibração foi obtida a equação que relaciona absorção e concentração ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ ). A equação 5 foi obtida para griseofulvina no comprimento de onda de 292 nm.

$$\text{Abs} = 0,06359.[S] + 0,01144 \text{ (mg/L)} \quad R = 0,99982 \text{ (5)}$$

Figura 14- Curva de calibração do fármaco griseofulvina obtida por UV/Vis.



A solubilidade é estudada através da massa do fármaco solubilizada (mg) por massa de copolímero (g), chamada de capacidade de solubilização ( $S_{cp}$ ). A  $S_{cp}$  é calculada a partir da solubilidade total do fármaco na solução do copolímero ( $S_{tot}$ ) subtraída a solubilidade do fármaco em água ( $S_o$ ) dividido pela massa do copolímero ( $m_{cop}$ ):

$$S_{cp} = S_{tot} - S_o/m_{cop} \quad (6)$$

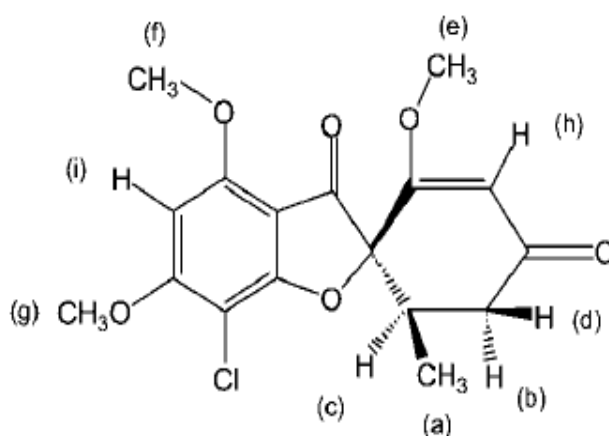
Crothers *et al.*, (2005) também estimaram a capacidade de solubilização ( $S_{cp}$ ) da corona composta por blocos E usando o fármaco griseofulvina e concluíram que esta não influencia no valor de  $S_{cp}$  do copolímero como um todo. Assim, apenas a porção hidrofóbica é levada em consideração e a capacidade de solubilização em mg/g de bloco hidrofóbico ( $S_h$ ) é analisada. A solubilidade é calculada a partir dos valores de  $S_{cp}$ , com:

$$S_h = S_{cp}/W_h \quad (7)$$

onde  $W_h$  é a fração em massa do bloco hidrofóbico ( $W_E - 1$ , onde  $W_E$  é a fração em massa do bloco hidrofílico). A quantidade de  $S_h$  fornece uma medida direta da eficiência da solubilização em núcleos micelares, sendo independente da composição do copolímero.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da griseofulvina em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e espectros correspondentes dos produtos liofilizados da solubilização da griseofulvina em soluções micelares do Brij<sup>®</sup> 78 e Brij<sup>®</sup> 98 a 40 °C pode ser visto na Figura 16 (p. 52). Atribuições relacionadas com as estruturas estão mostradas na Tabela 4 (p. 53) (com a constante de acoplamento, J). A ligação dupla no meio da cadeia não-polar de Brij<sup>®</sup> 98 faz o seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mais complexo do que as dos outros surfactantes, além dos picos encontrados para Brij<sup>®</sup> 78 e Brij<sup>®</sup> 700, os picos para os hidrogênios associados com o grupo funcional alceno foram encontrados em 5,37 ppm e aqueles para os hidrogênios no carbono ao lado do grupo alceno foram encontrados em 2,04 ppm. Esses picos são designadas H4 e H3 na Tabela 4 (p. 53).

Figura 15- Estrutura química da griseofulvina com a indicação das atribuições obtidas por RMN de  $^1\text{H}$ .



Fonte: RIBEIRO *et al.*, 2012.

Figura 16- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  da (a) griseofulvina, (b) griseofulvina encapsulada no Brij<sup>®</sup> 78 a 40 °C e (c) griseofulvina encapsulada no Brij<sup>®</sup> 98 a 40 °C.

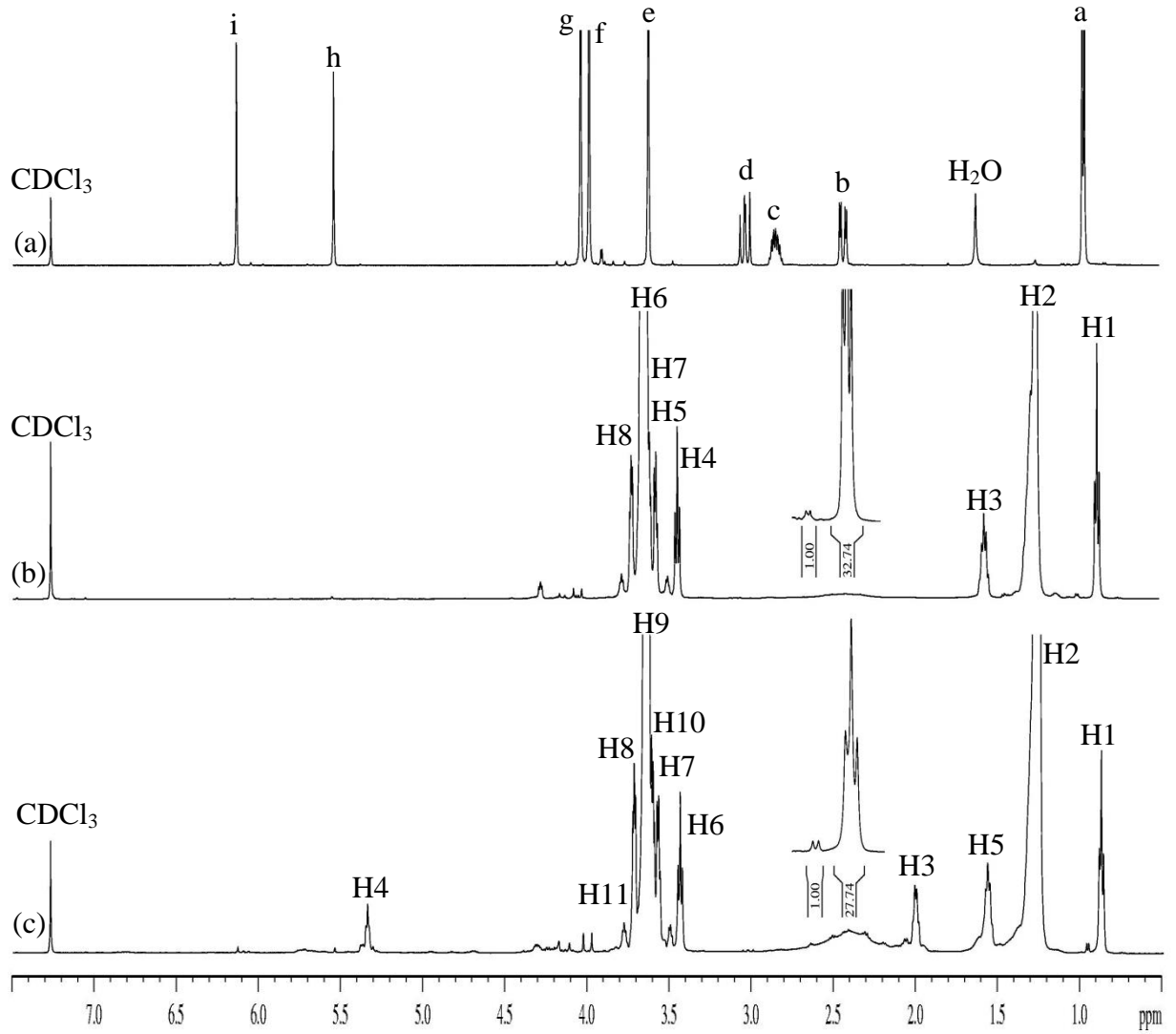


Figura 17- Estrutura química dos polímeros. a) Brij<sup>®</sup> 78 (C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>EO<sub>20</sub>), b) Brij<sup>®</sup> 98 (C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>EO<sub>20</sub>) e c) Brij<sup>®</sup> 700 (C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>EO<sub>100</sub>).

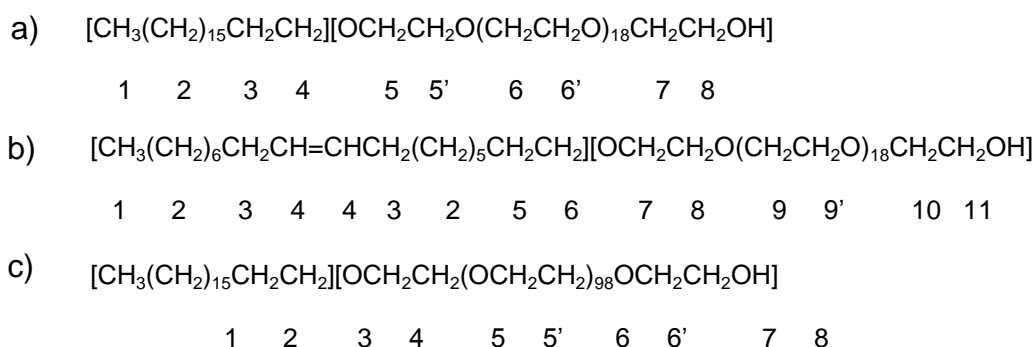


Tabela 4- Atribuições de dados de RMN de <sup>1</sup>H para griseofulvina, Brij<sup>®</sup> 78, Brij<sup>®</sup> 98 e Brij<sup>®</sup> 700 em CDCl<sub>3</sub> com a constante de acoplamento, J (Hz).

Griseofulvina		Brij <sup>®</sup> 78 e Brij <sup>®</sup> 700		Brij <sup>®</sup> 98	
δ (ppm)	Atribuições	δ (ppm)	Atribuições	δ (ppm)	Atribuições
6,13	i, 1H, s	3,71 – 3,72	H8, m	5,37	H4, m
5,52	h, 1H, s	3,64 – 3,65	H6, m	3,81	H11, m
4,16	g, 3H, s	3,60	H7, m	3,74	H8, m
3,91	f, 3H, s	3,57	H5, m	3,64	H9, m
3,63	e, 3H, s	3,44	H4, m	3,61	H10, m
3,00	d, 1H, dd, J = 16,6; 13,5 Hz	1,56 – 1,58	H3, m	3,60	H7, m
		1,25	H2, m	3,47	H6, m
2,86	c, 1H, m	0,88	H1, t,	2,04	H3, m
2,41	b, 1H, dd, J = 16,7; 4,7 Hz		J = 6,7 Hz	1,60	H5, m
				1,27	H2, m
0,95	a, 3H, d, J = 6,9 Hz			0,90	H1, t,
					J = 6,7 Hz

Os valores de solubilidade da griseofulvina nas soluções micelares dos Brij<sup>®</sup> foram determinados a partir das integrais dos picos do espectro de RMN de <sup>1</sup>H dos prótons de metila em 0,95 ppm (CH<sub>3</sub>) para griseofulvina (Tabela 4, coluna 1, p. 53) e em 0,88-0,90 ppm (CH<sub>3</sub>) para os Brij<sup>®</sup> (Tabela 4, colunas 2 e 3, p. 53). As razões de massa de griseofulvina nos Brij<sup>®</sup> foram calculados de acordo com Malz e Jancke (2005), considerando as áreas de sinal integrado, proporcional ao número de hidrogênios que causam os sinais, e as massas molares dos dois componentes, isto é

$$m_{\text{gris}} / m_{\text{Brij}} = (M_{\text{gris}} / M_{\text{Brij}}) (I_{\text{gris}} / I_{\text{Brij}}) (N_{\text{brij}} / N_{\text{gris}}) \quad (7)$$

onde  $M_{\text{gris}}$  e  $M_{\text{Brij}}$  são as massas molares do fármaco e do Brij<sup>®</sup>,  $I_{\text{gris}}$  e  $I_{\text{Brij}}$  são áreas integradas dos sinais no espectro atribuído aos prótons do grupo metila selecionados do fármaco e dos Brij<sup>®</sup>, e  $N_{\text{gris}}$  e  $N_{\text{Brij}}$  são os números de rotações (spin) por grupo selecionado, neste caso é igual a 3 para ambos. Para as condições experimentais utilizadas (100 cm<sup>3</sup> de 1% em peso de solução de Brij<sup>®</sup>), esta relação de massa é convenientemente expressa como a solubilidade do fármaco  $S$  em mg cm<sup>-3</sup>. Além disso, dado que a solubilidade da griseofulvina em água sozinha ( $S_0$  em mg cm<sup>-3</sup>, ver Tabela 5), a capacidade de solubilização das micelas do polímero em si são convenientemente calculada como  $S_{\text{cp}} = (S - S_0)$  mg g<sup>-1</sup>, ver Tabela 5.

Tabela 5- Capacidade de solubilização ( $S_{\text{cp}}$ , mg g<sup>-1</sup>) para a griseofulvina em soluções micelares aquosas de Brij<sup>®</sup> 78, 98 e 700 a 25, 37 e 40 ° C, obtida pelos métodos de RMN de <sup>1</sup>H e UV / Vis.  $S_0 = 1,4, 1,9$  e  $2,0$  mg cm<sup>-3</sup> em 25, 37 e 40 ° C, respectivamente.

Polímeros	$S_{\text{cp}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$S_{\text{cp}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$S_{\text{cp}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$S_{\text{cp}}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$S_{\text{cp}}$ (mg g <sup>-1</sup> )
	UV/Vis	UV/Vis	<sup>1</sup> H NMR	UV/Vis	<sup>1</sup> H NMR
	25 °C	37 °C	37 °C	40 °C	40 °C
Brij <sup>®</sup> 78 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>20</sub> )	7,9	8,9	9,5	10,4	10,3
Brij <sup>®</sup> 98 (C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> E <sub>20</sub> )	6,2	8,3	10,1	10,2	10,7
Brij <sup>®</sup> 700 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>100</sub> )	2,8	3,5	3,4	3,9	5,3

Observa-se que um aumento na temperatura e um aumento na capacidade de solubilização da griseofulvina. Este comportamento é comum em muitos polímeros com o bloco hidrofílico de polioxietileno, isto surge porque um aumento na temperatura reduz a solubilidade do polioxietileno em água e assim aumenta a extensão da micelização dos seus polímeros (CROTHERS *et al.*, 2005, RIBEIRO *et al.*, 2009).

Durante o intervalo de temperatura, a capacidade de solubilização do Brij<sup>®</sup> 78 excede a do Brij<sup>®</sup> 700 por um fator que varia de 2 a 3 vezes. Assumindo que os blocos comuns C<sub>18</sub> possuem tamanho semelhante do núcleo micelar. O resultado presente para a micela do Brij<sup>®</sup> 700 implica em uma contribuição desfavorável da corona do polioxietileno (100 unidades de EO). A solubilização da griseofulvina na corona de polioxietileno tem sido considerada pouco relevante em trabalhos anteriores (CROTHERS *et al.*, 2005.) e verificou-se um valor baixo: possivelmente o efeito presente promove a blindagem do núcleo da micela pelos longos blocos de polioxietileno.

A 25 °C o Brij<sup>®</sup> 78 solubiliza a griseofulvina mais eficientemente do que o Brij<sup>®</sup> 98. Isso pode ser atribuído ao fato de que uma cadeia insaturada é mais rígida do que uma saturada e um aumento da rigidez conduzirá a uma densidade de empacotamento reduzida, resultando em uma diminuição da blindagem do núcleo a partir da água, e uma conseqüente redução na solubilização de fármacos hidrofóbicos (KAPOOR *et al.*, 2009). O fato das micelas do Brij<sup>®</sup> 98 ter um maior cmc e um raio hidrodinâmico menor do que as micelas do Brij<sup>®</sup> 78 (ver Tabela 3, p. 48 e 7, p. 58) reforça esta explicação. No entanto, a diferença é pequena em temperaturas mais elevadas (ver Tabela 5, p. 54).

É interessante comparar as capacidades de solubilização dos surfactantes Brijs<sup>®</sup> com as de outros polímeros com o bloco hidrofílico de poli (óxido de etileno). Devido à variação no comprimento do bloco, é útil considerar a capacidade de solubilização expresso tanto em grama do copolímero (S<sub>cp</sub>), como por grama do componente hidrofóbico (S<sub>h</sub>). Exemplos de valores S<sub>cp</sub> e S<sub>h</sub> para griseofulvina solubilizada em micelas de copolímeros triblocos em solução aquosa a 25 °C são apresentados na Tabela 6 (p. 56). Além dos polímeros Brijs<sup>®</sup>, os valores são tomados a partir de uma elaboração de Attwood e Booth (2007). Nas fórmulas E = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, P = CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)O, B = CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)O, S = CH<sub>2</sub>CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)O e G =



OCH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Considerado em termos de S<sub>cp</sub>, é visto que o Brij<sup>®</sup> 78 está entre os mais eficientes dos polímeros investigados para a solubilização da griseofulvina.

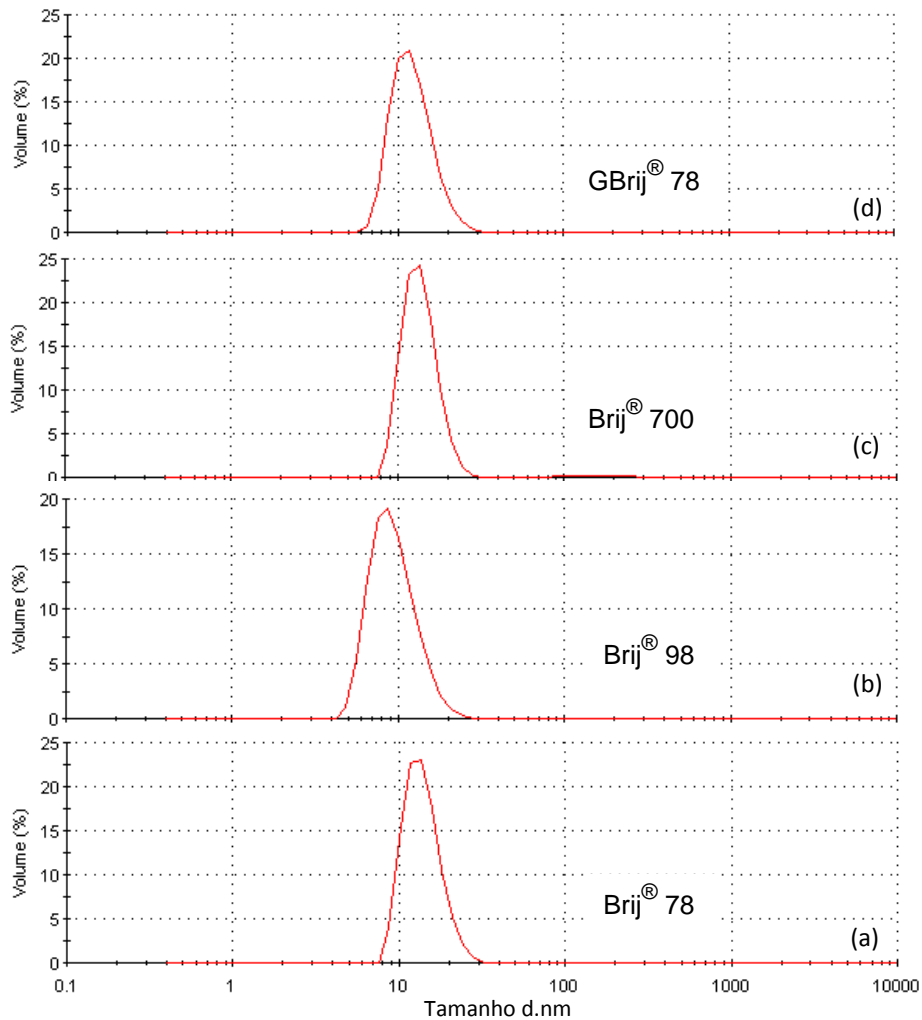
Tabela 6- Capacidades de solubilização baseado em copolímeros de poli (óxido de etileno) a 25 ° C, expressa em S<sub>cp</sub> mg por g de copolímero e S<sub>h</sub> mg por g de bloco hidrofóbico.

Polímero	S <sub>cp</sub> / mg g <sup>-1</sup>	S <sub>h</sub> / mg g <sup>-1</sup>	Referência
Brij <sup>®</sup> 78, C <sub>18</sub> E <sub>20</sub>	8	36	Ribeiro <i>et al.</i> , 2012
Brij <sup>®</sup> 98, C <sub>18</sub> E <sub>20</sub>	6	28	Ribeiro <i>et al.</i> , 2012
Brij <sup>®</sup> 700, C <sub>18</sub> E <sub>100</sub>	3	52	Ribeiro <i>et al.</i> , 2012
E <sub>107</sub> P <sub>69</sub>	4	8	Rekatas <i>et al.</i> , 2001
E <sub>134</sub> B <sub>19</sub>	4	19	Rekatas <i>et al.</i> , 2001
E <sub>45</sub> S <sub>10</sub>	11	29	Crothers <i>et al.</i> , 2005
Pluronic <sup>®</sup> F127, E <sub>98</sub> P <sub>67</sub> E <sub>98</sub>	2	6	Zhou <i>et al.</i> , 2008
E <sub>43</sub> B <sub>14</sub> E <sub>43</sub>	2	7	Rekatas <i>et al.</i> , 2001
E <sub>66</sub> S <sub>13</sub> E <sub>66</sub>	4	18	Crothers <i>et al.</i> , 2005
E <sub>62</sub> G <sub>8</sub> E <sub>62</sub>	8	44	Taboada <i>et al.</i> , 2005

### 5.3 Tamanho de partícula

Os gráficos de distribuição de tamanho por volume das nanopartículas (micelas) dos sistemas poliméricos a 10 g dm<sup>-3</sup> em água estão apresentados na Figura 18 (p. 57). Pode-se observar que as distribuições são todas unimodais, com apenas um pico. Todos esses sistemas estão em concentrações acima de sua cmc a 25 °C, então suas micelas apresentam um tamanho médio menor que 200 nm, que é uma grande vantagem para seu uso em aplicações farmacológicas intravenosas ou subcutâneas.

Figura 18- Curvas de distribuição de tamanho por volume para as micelas dos sistemas a 1 %m/v: (a) Brij<sup>®</sup> 78, (b) Brij<sup>®</sup> 700, (c) Brij<sup>®</sup> 98, (d) GBrij<sup>®</sup> 78 a 25 °C.



Os raios hidrodinâmicos listados na Tabela 7 (p. 58) serviram para confirmar a micelização dos três surfactantes sob as mesmas condições utilizadas na solubilização. O maior raio encontrado foi para o Brij<sup>®</sup> 700 ( $r_h = 5,7$  nm), onde suas micelas são constituídas por blocos de polioxietileno mais longos que contribuem para uma corona mais espessa. O fármaco não afetou o tamanho de partícula dos sistemas poliméricos (ver Figura 18).

Tabela 7- Raio hidrodinâmico (rh) a 25 °C dos Brij® 78, 98 e 700.

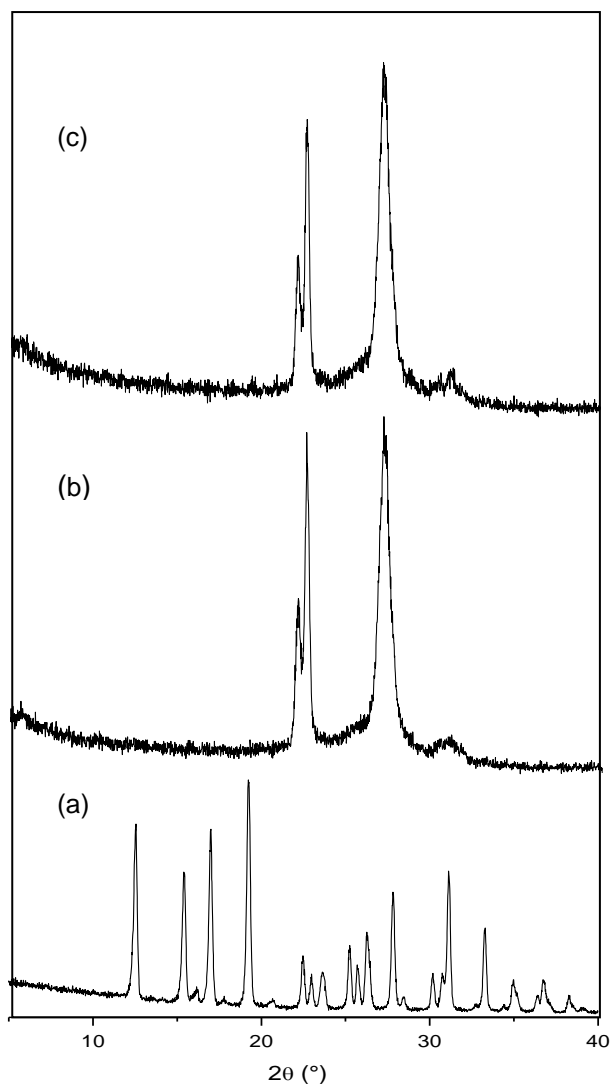
Polímero	$r_h$ (nm) 25 °C
Brij® 78(C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>20</sub> )	4,1
Brij® 98(C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> E <sub>20</sub> )	3,7
Brij® 700 (C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> E <sub>100</sub> )	5,7

#### 5.4 Difração de raios – X

A difração de raios-X foi utilizada neste trabalho para verificar a eficiência da encapsulação do fármaco nos polímeros. Vários trabalhos mostram a utilização dessa técnica para verificar a eficiência de encapsulação de fármacos em micropartículas: o desaparecimento dos picos de difração do fármaco cristalino nas micropartículas indica total eficiência de encapsulação devido à dispersão formada com a matriz polimérica (ASADA *et al.*, 2004, CAVALCANTE *et al.*, 2007).

As análises por difração de raios-X dos polímeros com e sem fármaco foram realizadas em um difratômetro Rigaku, modelo DMAXB, com ângulo  $2\theta$  de 5-45° e uma velocidade de 0,5°/min. A Figura 19 (p. 59) mostra os difratogramas (na mesma escala) do polímero Brij® 78, do encapsulado e do fármaco griseofulvina.

Figura 19- Difratogramas: (a) Fármaco griseofulvina, (b) Brij® 78 e (c) GBrij® 78 (encapsulado).



A amostra de fármaco é considerada cristalina devido à presença de picos bem definidos (Figura 19a). O difratograma da griseofulvina neste trabalho apresenta diversos picos; dentre eles, os principais são:  $12,6^\circ$ ,  $15,4^\circ$ ,  $16,9^\circ$ ,  $19,2^\circ$ ,  $27,8^\circ$ ,  $31,2^\circ$  e  $33,2^\circ$ , similares ao relatado na literatura (FENG, BATES e CARVAJAL, 2009). Os polímeros Brij® 78, 98 e 700 (Figura 19b) apresentam picos em  $22$ ,  $22,3^\circ$  e  $27,2^\circ$ .

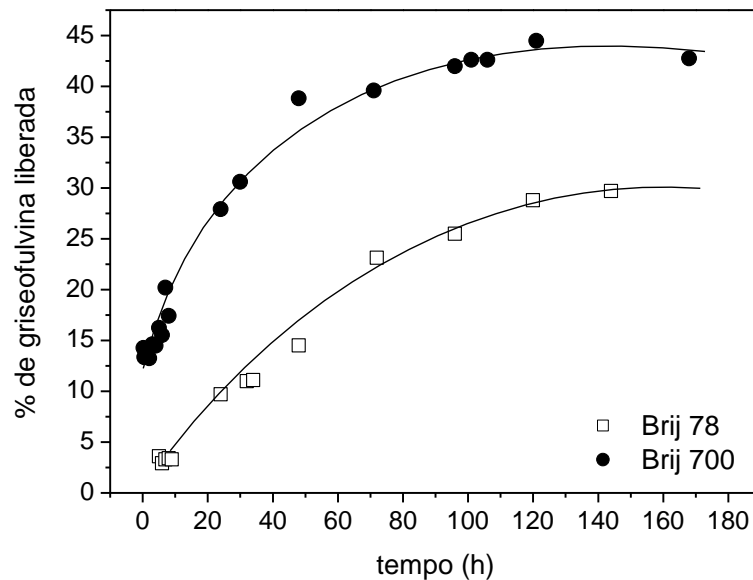
O difratograma dos encapsulados contendo o fármaco griseofulvina (Figura 19c) apresentaram os mesmo picos dos polímeros puros indicando que a griseofulvina foi encapsulada na estrutura nuclear da micela. Relatos de encapsulados que não apresentam os picos de cristalinidade do fármaco revelam

que ele encontra-se encapsulado em sua forma amorfa. (WEI *et al.*, 2009; PRALHAD e RAJENDRAKUMAR, 2004; ASADA *et al.*, 2004, CAVALCANTE *et al.*, 2007), logo sugere-se que a griseofulvina foi encapsulada em sua forma amorfa. Tais micelas podem ser resuspensas em água para formar micelas poliméricas contendo o fármaco amorfo no núcleo micelar e assim permanecer encapsulado.

### 5.5 Liberação *in vitro*

Na Figura 20 encontram-se os perfis de liberação dos polímeros Brij<sup>®</sup> 78 e Brij<sup>®</sup> 700, nos quais se estuda a variação da porcentagem de liberação do fármaco com o tempo de liberação gasto pelo sistema em meio a um tampão de pH 7,4.

Figura 20- Cinética de liberação *in vitro* da griseofulvina encapsulada nos sistemas (□) Brij<sup>®</sup> 78 e (●) Brij<sup>®</sup> 700 sob diálise a 37 °C e pH = 7,52 (tampão fosfato).



Kim *at al.*, (1998) notaram que os testes com o fármaco não encapsulado exibem uma liberação inicial bastante rápida e uma taxa de liberação de quase 100%, mostrando a eficiência de sistemas micelares em controlar a liberação de

fármacos hidrofóbicos, fato esse também observado nesse trabalho para os sistemas.

A liberação de fármacos hidrofóbicos de nanopartículas estruturadas na forma de núcleo-corona é muito dependente das propriedades hidrofóbicas do núcleo (ALLEN; MAYSINGER; EISENBERG, 1999). De início, observa-se que o sistema do Brij<sup>®</sup> 700 foi a que apresentou a maior porcentagem de liberação do fármaco que foi de 45% aproximadamente, enquanto que o Brij<sup>®</sup> 78 apresentou 28% de griseofulvina liberada, ambas os sistemas apresentam estabilização da liberação a partir do 5º dia.

Três mecanismos têm sido considerados como padrões de liberação em encapsulados de nanopartículas baseados em micelas: (i) difusão, (ii) degradação do copolímero e (iii) estabilidade da micela. (ALLEN *et al.*, 2000).

A liberação ocorre através do mecanismo de difusão durante as 180 h, correspondente a 8 dias, o que é condizente com o tipo de interação não-covalente entre a griseofulvina e nano-micela (MISSIRLIS *et al.*, 2006). A liberação da griseofulvina por difusão permite controle sobre a liberação.

No caso de polímeros com baixa taxa de degradação, a taxa de liberação é fortemente influenciada por fatores como: a força de interação entre o fármaco e o bloco formador do núcleo (principal fator), a fase de agregação do núcleo micelar, a quantidade de fármaco encapsulado, a massa molecular do fármaco, o comprimento do bloco formador do núcleo e a localização do fármaco dentro da micela. (ALLEN *et al.*, 2000).

O sistema que possui maior quantidade de fármaco encapsulado possui menor taxa de liberação conforme observado por Soo *et al.*, (2005) num estudo de liberação do estradiol em micelas de um copolímero em bloco de policaprolactona-polietilenoglicol (PCL-PEG) e por Kim *et al.* (1998) em estudo com o fármaco indometacina em um copolímero dibloco do mesmo tipo.

Sabendo que a forte interação entre o fármaco e o núcleo micelar acarretam baixa taxa de liberação do fármaco pela micela, pode-se concluir que o sistema Brij<sup>®</sup> 78 foi o que apresentou uma interação mais forte entre o núcleo micelar com o fármaco, uma vez que apresenta maior capacidade de solubilização ( $S_{cp} = 8,9 \text{ mg g}^{-1}$  a  $37^\circ\text{C}$ ) que o Brij<sup>®</sup> 700 ( $S_{cp} = 3,5$  a  $37^\circ\text{C}$ ). É interessante notar que os testes com o fármaco não encapsulado exibem uma liberação inicial bastante

rápida e uma taxa de liberação de quase 100% (KIM *et al.*, 1998), mostrando a eficiência de sistemas micelares em controlar a liberação de fármacos hidrofóbicos. A eficiência de sistemas micelares em controlar a liberação de fármacos hidrofóbicos está relacionada com a estabilidade das micelas após a diluição sanguínea (baixa cmc), acarretando um maior tempo de circulação do fármaco no sangue (LETCHEFORD; BURT, 2007), minimizando os efeitos colaterais causados pelo fármaco em sua forma livre. Conforme os estudos de cmc destes polímeros (tabela 3, p. 48), os sistemas com o Brij<sup>®</sup> 78 e o Brij<sup>®</sup> 700 apresentam baixos valores de cmc na ordem de  $10^{-3}$  g dm<sup>-3</sup>, logo tais sistemas mantêm estáveis quando diluídos na corrente sanguínea.

Allen *et al.* (1999) mostraram que o comportamento das micelas nesse transporte de fármaco é determinado pelo fato de que a estabilidade micelar é altamente dependente da composição e da formação das micelas. Dessa forma, podemos concluir que os polímeros Brij<sup>®</sup> 78 e 700 apresentaram um perfil de liberação controlada, tendo sua liberação máxima iniciada em torno de 5 dias, e mantendo-se constante até o 8º dia de estudo, mostrando bons sistemas carreadores de fármacos para liberação controlada, conforme confirmado por suas baixas cmc's.

Estudos revelam que copolímeros em bloco como o PEG e segmentos hidrofóbicos podem ser utilizados como um transporte nanométrico para fármacos por apresentarem um núcleo micelar polimérico em meio aquoso com tamanho de partícula que varia de 10-100 nm. (TSUKIOKA *et al.*, 2002) . Sistemas semelhantes aos desse trabalho (não-iônicos) apresentaram tamanho de partícula em torno de 10 nm, como em Cavalcante, 2009 e Ribeiro *et al.*, 2007.

Pierre e Avgoustakis (2005) estudaram a liberação, a encapsulação e liberação da griseofulvina em micelas de polilactídeo-polietilenoglicol (denominado PLA(X)-PEG(Y), onde X e Y descrevem a massa molecular em kilodaltons) –PLA(4)-PEG(5), o qual encapsulou apenas 6,5 mg de fármaco / grama de copolímero, quantidade inferior aos encapsulados a 37°C pelo Brij<sup>®</sup> 78, melhor sistema deste estudo.

## 6 CONCLUSÃO

Dentre os polímeros estudados, o surfactante Brij<sup>®</sup> 78 foi o que apresentou melhores resultados nas propriedades micelares, solubilização e liberação controlada do fármaco. Estas características conferem-lhe ser o melhor carreador para o fármaco griseofulvina devido a seu baixo cmc.

Os resultados obtidos por espectroscopia UV/Vis foram semelhantes aos da RMN de <sup>1</sup>H o que viabiliza esta técnica. RMN de <sup>1</sup>H mostra-se promissor na quantificação do fármaco griseofulvina nos polímeros.

Os sistemas aqui estudados são promissores para sistemas de liberação de fármaco por serem bons agentes carreadores, apresentam micelas de tamanho nanométrico, estáveis a diluição sanguínea e promovem uma liberação sustentada.



## REFERÊNCIAS

- AHMED, M. O. Comparison of impact of the different hydrophilic carriers on the properties of piperazine-containing drug. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Regensburg, 2001, v. 51, p. 221-225.
- ALEXANDRIDIS, P.; HOLZWARATH, J.F.; HATTON, T. A. Micellization of poly(ethylene oxide)–poly(propylene oxide)–poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solution: thermodynamics of copolymer association. *Macromolecules*, Minneapolis, 1994. v. 27, p. 2414–2426.
- ALIABADI, H. A.; LAVASANIFAR, A. Polymeric micelles for drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, Boulder, 2006, v. 3, p.139-162.
- ALLEN, C.; MAYSINGER, D.; EISENBERG, A. Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Hamilton, 1999, v. 16, p. 3-27.
- ARGETON, A. B. 2009, *apud* TANFORD, C. Theory of micelle formation in aqueous solutions. *Journal of Physical Chemistry*, Washington, 1974, v. 78, p. 2469-2479.
- ARGETON, A. B. Influência do Grau de Etoxilação no comportamento de Álcoois Secundários Etoxilados. 2009. Tese (Doutorado em Físico-Química), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- ASADA, M.; TAKAHASHI, H.; OKAMOTO, H.; TANINO, H.; DANJO, K. Theophylline particle design using chitosan by the spray drying. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2004, v. 270, p. 167-174.
- ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Solubilisation of a poorly aromatic drug by micellar solutions of amphiphilic block copoly(oxyalkylene)s. In: Tadros, Th.F. (Ed.), *Colloid Stability and Application in Pharmacy*, *Journal of Colloid and Interface Science Series*, Uppsala, 2007, v. 3, p. 61–68.
- AVELINO, M. C. Vermiculita Organofuncionalizada com Moléculas Surfactantes como Adsorventes para herbicidas em solução aquosa. 2009. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- AVELINO, M. C., 2009 *apud* NITSCHKE, M. E PASTORE, G. M. Biossurfactantes: Propriedades e Aplicações. *Química Nova*, São Paulo, 2002, v. 25, p. 772-775.
- CAVALCANTE, I. M. Copolímeros em bloco para administração de fármacos hidrofóbicos: caracterização, solubilização e liberação. 2009. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- CAVALCANTE, I.M., COSTA, F. M. L. L., GONZAGA, M. L. C., RIBEIRO, M. E. N. P., FONSECA, S. G.C., VIEIRA, I. G. P., RICARDO, N. M. P. S. Congresso Brasileiro de Polímeros. 2007. Campina Grande. *In Anais do 9º*, Campina Grande, 2007.

CHAIBUNDIT, C.; MAI, S.-M; HEATLEY, F.; BOOTH, C. Association properties of triblock copolymers in aqueous solution: copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide with long E-blocks. *Langmuir*, Montreal, 2000, v. 16, p. 9645–9652.

CHIDAMBARAM, N.; E BURGESS, D. J. Effect of Nonionic Surfactant on Transport of Surface-Active and Non-Surface - Active Model Drugs and Emulsion Stability in Triphasic Systems. *AAPS PharmSci*, Buffalo, New York, 2000, v. 2, p. 91-101.

CROTHERS, M.; ZHOU Z.; RICARDO, N. M. P. S.; YANG, Z.; TABOADA, P.; CHAIBUNDIT, C.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Solubilisation in aqueous micellar solutions of block copoly(oxyalkylene)s. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2005, v. 293, p. 91–100.

CZYMMEK, K. J.; BOURETT, T. M.; SHAO, Y. Live-cell imaging of tubulin in the filamentous fungus *Magnaporthe grisea* treated with anti-microtubule and anti-microfilament agents. *Protoplasma*, Karlsruhe, 2005, v. 225, p. 23–32.

DALTIN, D. Tensoativos: Química, propriedades e aplicações. São Paulo: Editora Blucher, 5<sup>o</sup> ed, 2011, p. 46.

ELSABAHY, M.; PERRON, M-E.; BERTRAND, N.; YU, G-E.; LEROUX, J.-C. Solubilization of Docetaxel in Poly(ethylene oxide)-block-poly(butylene/styrene oxide) Micelles. *Biomacromolecular Journal*, Tehran, 2007, v. 8, p. 2250-2257.

FENG, T.; BATES, S.; CARVAJAL, M. T. Toward understanding the evolution of griseofulvin crystal structure to a mesophase after cryogenic milling. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2009, v. 367, p. 16-19.

FERNANDES, M. R. Desenvolvimento de um novo combustível microemulsionado base-diesel. 2005. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Tensoativos), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2005.

FINKELSTEIN, E.; AMICHAÏ, B.; GRUNWALD, M. H. Griseofulvin and its uses. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Marseille, 1996, v. 6, p. 189-194.

GOMES, D. A. DE A. Aplicação de microemulsões na solubilização de frações pesadas de petróleo. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

GRIFFIN, W.C. Classification of Surface-Active Agents by "HLB". *Journal of The Society of Cosmetic Chemists*, Pontiac, 1949, v. 1, p. 311-326.

HAIT, S. K.; MOULIK, S. P. Determination of critical micelle concentration (CMC) of nonionic surfactants by donor-acceptor interaction with iodine and correlation of CMC with hydrophile-lipophile balance and other parameters of the surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents*, Woodlands, 2001, v. 4, p. 303–309.

HANZL, E. R. Novas Rotas de Síntese de Óxidos de Titânio e Mistos Titânio-Zircônio Mesoestruturados Via Método Sol-Gel por Template com Surfactante. 2009. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

HO, Y.S.; DUH, J.S.; JENG, J.H. Griseofulvin potentiates antitumorigenesis effects of nocodazole through induction of apoptosis and G2/M cell cycle arrest in human colorectal cancer cells. *International Journal of Cancer*, Heidelberg, 2001, v. 91, p. 393–401.

INTERTEK.COM: Measurement of HLB (Hydrophile - Lipophile Balance) values by NMR. Disponível em: <<http://www.intertek.com/chemicals/hlb/>>. Acesso em: 27/09/2012.

JORDAN, M.A.; WILSON, L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nature Reviews Cancer*, London, 2004, v. 4, p. 253–265.

KADAM, Y.; YERRAMILI, U.; BAHADUR, A. Solubilization of poorly water-soluble drug carbamezapine in Pluronic® micelles: Effect of molecular characteristics, temperature and added salt on the solubilizing capacity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Hamilton, 2009, v. 72, p. 141-147.

KAPOOR, Y.; CHAUHAN, A. Ophthalmic delivery of Cyclosporine A from Brij-97 microemulsion and surfactant-laden p-HEMA hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2008, v. 361, p. 222-229.

KAPOOR, Y.; HOWELL, B. A.; CHAUHAN, A. Liposome Assay for Evaluating Ocular Toxicity of Surfactants. *Investigate Ophthalmology & Visual Science*, Fort Worth, 2009, v. 50, p. 2727-2735.

KLAMMT, C.; SCHWARZ, D.; FENDLER, K.; HAASE, W.; DOTSCH, V. Evaluation of detergents for the soluble expression of  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -barrel-type integral membrane proteins by a preparative scale individual cell-free expression system. *The FEBS Journal*, Dublin, 2005, v. 272, p. 6024-6038.

LETCHFORD, K.; BURT, H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Regensburg, 2007, v. 65, p. 259-269.

LO, W.Y.; LAW, S.L. Dissolution behavior of griseofulvin solid dispersions using polyethylene glycol, talc, and their combination as dispersion carriers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Austin, 1996, v. 22, p. 231–236.

LUAN, F.; LIU, H.; GAO, Y.; LI, Q.; ZHANG, X.; GUO, Y. Prediction of hydrophile-lipophile balance values of anionic surfactants using a quantitative structure-property relationship. *Journal of Colloid and Interface Science*, Uppsala, 2009, v. 336, p. 773-779.

MALZ, F.; JANCKE, H. J. Validation of quantitative NMR. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Tbilisi, 2005, v. 38, p. 813–823.

MINATTI, E. Um novo modelo para a interação entre polímeros neutros hidrossolúveis e surfactantes. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Físicas e Matemáticas), Departamento de Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

MISSIRLIS, D.; KAWAMURA, R.; TIRELLI, N.; HUBBELL, J. A. Doxorubicin encapsulation and diffusional release from stable, polymeric, hydrogel nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Odense, 2006, v. 29, p. 120-129.

MOHAMAD, M.; TABASSUM, N.; ALI, J.; JAN, R. Surfactant aided permeation enhancement in Transdermal formulations. *Journal of Pharmacy Research*, Mohali, 2012, v. 5, p. 338 – 339.

MYERS, D. *Surfactant Science and Technology*. Hoboken: Editora: John Wiley & Sons, 2006.

MYERS, D. *Surfactant Science and Technology*. New York: Editora: VCH Publishers, 2. ed, 1992.

OLIVEIRA, C. P.; RIBEIRO, M. E. N. P.; RICARDO, N. M. P. S.; SOUZA, T. V. P.; MOURA, C. L.; CHAIBUNDIT, C.; YAETES, S. G.; NIXON, K.; ATTWOOD, D. The effect of water-soluble polymers, PEG and PVP, on the solubilisation of griseofulvin in aqueous micellar solutions of Pluronic F127. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2011b, v. 421, p. 252– 257.

OLIVEIRA, C. P.; VASCONCELLOS, L. C. G.; RIBEIRO, M. E. N. P.; RICARDO, N. M. P.S.; SOUZA, T. V. P.; COSTA, F. M. L. L.; CHAIBUNDIT, C.; YEATES, S. G.; ATTWOOD, D. The effect of polymeric additives on the solubilisation of a poorly-soluble drug in micellar solutions of Pluronic F127. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2011a, v. 409, p. 206–208.

PANDA, D.; RATHINASAMY, K.; SANTRA, M.K.; WILSON, L. Kinetic suppression of microtubule dynamic instability by griseofulvin: Implications for its possible use in the treatment of cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, 2005, v.102, p. 9878–9883.

PATIST, A.; BHAGWAT, S. S.; PENFIELD, K. W.; AIKENS, P.; SHAH, D. O. On the measurement of critical micelle concentrations of pure and technical-grade non-ionic surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents*, Woodlands, 2000, v. 3, p. 53–58.  
PATRAVALE, V. B.; DATE, A. A.; KULLAMI, R. M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Belfast, 2004, v. 56, p. 827-840.

PINHO, M. E. N.; COSTA, F. M. L. L.; FILHO, F. B. S.; RICARDO, N. M. P. S.; YEATES, S. G.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Mixtures of triblock copolymers E62P39E62 and E<sub>137</sub>S<sub>18</sub>E<sub>137</sub> Potential for drug delivery from in situ gelling micellar formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2007, v. 328, p. 95–98.

PRAK, D. J. L.; JAHRAUS, W. I.; SIMS, J. M.; MACARTHUR A. H. R.; An  $^1\text{H}$  NMR investigation into the loci of solubilization of 4-nitrotoluene, 2,6-dinitrotoluene, and 2,4,6-trinitrotoluene in nonionic surfactant micelles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Beijing, 2011, v. 375, p.12–22.

PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, Tbilisi, 2004, v. 34, p.333-339.

REBACZ, B.; LARSEN, T.O.; CLAUSEN, M.H. Identification of griseofulvin as an inhibitor of centrosomal clustering in a phenotype-based screen. *Cancer Research*, Philadelphia, 2007, v. 67, p. 6342–6350.

REKATAS, C. J.; MAI, S.-M.; CROTHERS, M.; QUINN, M.; COLLETT, J. H.; ATTWOOD, D.; HEATLEY, F.; MARTINI, L.; BOOTH, C. The effect of hydrophobe chemical structure and chain length on the solubilization of griseofulvin in aqueous micellar solutions of block copoly(oxyalkylene)s. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Seoul, 2001, v. 3, p. 4769–4773.

RENOU, F.; BENYAHIA, L.; NICOLAI, T.; GLATTER, O. Structure and rheology of mixed polymeric micelles formed by hydrophobically end-capped poly(ethylene oxide). *Macromolecules*, Minneapolis, 2008, v. 41, p. 6523–6530.

RIBEIRO, M. E. N. P. Solubilização de fármacos em formulações micelares de misturas de copolímeros triblocos. 2010. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

RIBEIRO, M. E. N. P.; CAVALCANTE, I. M.; RICARDO, N. M. P. S.; MAI, S.-H.; ATTWOOD, D.; YEATES, S. G.; BOOTH, C. Solubilisation of griseofulvin in aqueous micellar solutions of diblock copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide with lengthy B-blocks. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2009, v. 369, p.196-198.

RIBEIRO, M. E. N. P.; VIEIRA, I. G. P.; RICARDO, N. M. P. S.; ATTWOOD, D.; YEATES, S. G.; BOOTH, C. Solubilisation of griseofulvin, quercetin and rutin in micellar formulations of triblock copolymers  $\text{E}_{62}\text{P}_{39}\text{E}_{62}$  and  $\text{E}_{137}\text{S}_{18}\text{E}_{137}$ . *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2009, v. 378, p. 211– 214.

RIBEIRO, M.E.N.P.; DE MOURA, C.L.;VIEIRA, M.G.S.; CHAIBUNDIT, C.; DE MATTOS, M.C.; ATTWOOD, D.; YEATES, S.G.; NIXON, S.K.; RICARDO, N.M.P.S. Solubilisation capacity of Brij surfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2012, v. 436, p. 631-635.

SAITO, M.; UGAJIN, T.; NOZAWA, Y.; SADZUKA, Y.; MIYAGISHIMA, A.; SONOBE, T. Preparation and dissolution characteristics of griseofulvin solid dispersions with saccharides. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2002, v. 249, p. 71–79.

SCHMOLKA I. R., RAYMOND A.J. Micelle formation of polyoxyethylene-polyoxypropylene surfactants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Peoria, 1965, v. 42, p. 1088-1091.

SCIENCEDIRECT.COM: Calcium surfactants: a review. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868602000659>>. Acesso em: 02/02/2013.

SIGMAALDRICH.COM: Surfactants Classified by HLB Numbers. Disponível em <<http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/material-science-products.html?TablePage=22686648>>. Acesso em: 27/09/2012.

SOWMIYA, M.; TIWARI, A. K.; SAHA, S. K. Fluorescent probe studies of micropolarity, premicellar and micellar aggregation of non-ionic Brij surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science*, Uppsala, 2010, v. 344, p.97–104.

TABOADA, P.; VELASQUEZ, G.; BARBOSA, S.; CASTELLETTO, V.; NIXON, S. K.; YANG, Z.; HEATLEY, F.; HAMLEY, I. W.; ASHFORD, M.; MOSQUERA, V.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Block copolymers of ethylene oxide and phenyl glycidyl ether: micellization, gelation, and drug solubilization. *Langmuir*, Montreal, 2005, v. 21, p. 5263–5271.

TYRRELL, Z. L.; SHEN, Y.; RADOSZ, M. Fabrication of micellar nanoparticles for drug delivery through the self-assembly of block copolymers. *Progress in Polymer Science*, Pittsburgh, 2010, v. 35, p. 1128-1143.

UEN, Y.H.; LIU, D.Z.; WENG, M.S. NF-kappa pathway is involved in griseofulvin-induced G2/M arrest and apoptosis in HL-60 cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, Los Angeles, 2007, v. 101, p. 1165–1175.

WEI, Z.; HAO, J.; YUAN, S.; LI, Y.; JUAN, W.; SHA, X.; FANQ, X. Paclitaxel-loaded Pluronic P123/F127 mixed polymeric micelles: Formulation, optimization and in vitro characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2009, v. 376, p. 176-185.

YANG ET AL., 2006 apud FLEGO, C.; LOVRECICH, M.; RUBESSA, F. Dissolution rate of griseofulvina from solid dispersions with poly(vinyl methyl ether/maleic anhydride). *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Austin, 1988, v. 14, p. 1185–1202.

YANG, D.; KULKARNI, R.; BEHME, R. J.; KOTIYAN, P. N. Effect of the melt granulation technique on the dissolution characteristics of griseofulvina. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2006, v. 329, p. 72-80.

YANG, ET AL., 2006 apud CHIOU, W.L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersions of griseofulvin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Odense, 1969, v. 58, p. 1505–1510.

ZEUS.QUI.UFMG.BR: Formação de Micela. Disponível em <[http://zeus.qui.ufmg.br/~qgeral/?attachment\\_id=557](http://zeus.qui.ufmg.br/~qgeral/?attachment_id=557)>. Acesso em: 27/09/2012.

ZHONG, N., 2010 *apud* CHAN, Y.C.; FRIEDLANDER, S.F. New treatments for tinea capitis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, Udine, 2004, v. 17, p. 97–103.  
ZHONG, N., 2010 *apud* DE CARLI, L.; LARIZZA, L. Griseofulvin. *Mutation Research*, Durham, 1988 v. 195, p. 91–126.

ZHOU, Z-Y.; CHAIBUNDIT, C.; D'EMANUELE, A.; LENNON, K.; ATTWOOD, D.; BOOTH, C. Solubilisation of drugs in worm-like micelles of block copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide in aqueous solution. *International Journal of Pharmaceutics*, Lille, 2008, v. 354, p. 82–87.

## ANEXOS- Artigo: Solubilisation capacity of Brij® surfactants

International Journal of Pharmaceutics 436 (2012) 631–635



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijpharm](http://www.elsevier.com/locate/ijpharm)

## Solubilisation capacity of Brij surfactants

Maria E.N.P. Ribeiro<sup>a</sup>, Carolina L. de Moura<sup>a</sup>, Mariano G.S. Vieira<sup>a</sup>, Nilce V. Gramosa<sup>a</sup>, Chiraphon Chaibundit<sup>c</sup>, Marcos C. de Mattos<sup>a</sup>, David Attwood<sup>d</sup>, Stephen G. Yeates<sup>b</sup>, S. Keith Nixon<sup>b</sup>, Nágila M.P.S. Ricardo<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, CX 12200 Fortaleza, Ceará, Brazil

<sup>b</sup> School of Chemistry, University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK

<sup>c</sup> Department of Materials Science and Technology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand

<sup>d</sup> School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 16 May 2012

Received in revised form 17 July 2012

Accepted 19 July 2012

Available online 27 July 2012

## Keywords:

Solubilisation

Micelles

Griseofulvin

Block copolymers

Brij surfactants

## ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the potential of selected Brij non-ionic surfactants for enhancing the solubility of poorly water-soluble drugs. Griseofulvin was selected as a model drug candidate enabling comparisons to be made with the solubilisation capacities of other poly(ethylene oxide)-based copolymers. UV/Vis and <sup>1</sup>H NMR spectroscopies were used to quantify the enhancement of solubility of griseofulvin in 1 wt% aqueous micellar solutions of Brij 78 (C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>E<sub>20</sub>), Brij 98 (C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>E<sub>20</sub>) and Brij 700 (C<sub>18</sub>H<sub>37</sub>E<sub>100</sub>) (where E represents the OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> unit of the poly(ethylene oxide) chain) at 25, 37 and 40 °C. Solubilisation capacities (S<sub>0</sub>, expressed as mg griseofulvin per g Brij) were similar for Brij 78 and 98 (range 6–11 mg g<sup>-1</sup>) but lower for Brij 700 (3–4 mg g<sup>-1</sup>) as would be expected for the surfactant with the higher ethylene oxide content. The drug loading capacity of micelles of Brij 78 was higher than many di- and triblock copolymers with hydrophilic E-blocks specifically designed for enhancement of drug solubility.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

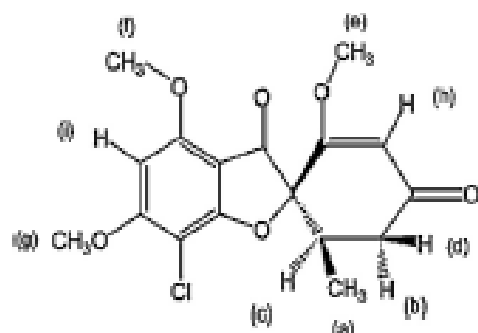
## 1. Introduction

Solubilisation of water-insoluble drugs is one of the main problems met in formulating liquid dosage forms (Ahmed, 2001). The potential of micelles formed from block copolymers for the encapsulation and delivery of highly hydrophobic drugs has been widely examined with the major challenge being the attainment of high drug loading into non-toxic surfactant micelles which remain stable on dilution but dissociate at the target site (Tyrrell et al., 2010). Griseofulvin (Scheme 1) is a widely used antifungal antibiotic which is poorly soluble in water and which has been used for many years as a standard in the study of solubilisation of drugs in polymeric micelles (Elworthy and Patel, 1982; Pinho et al., 2007; Ribeiro et al., 2009; Oliveira et al., 2011a,b). The Brij family of E<sub>m</sub>C<sub>n</sub> surfactants (*m* and *n* are the number of units), which contain a hydrophilic chain of oxyethylene (E) groups and a distinct hydrophobic hydrocarbon chain, are of interest as non-ionic and low toxicity carriers (Sowmiya et al., 2010). For example, several of these surfactants have been shown to have low or no ocular toxicity (Kapoor et al., 2009a). In their study of surfactant-laden soft

contact lenses for extended delivery of ophthalmic drugs, Kapoor et al. (2009b) have shown that Brij 78 is a most promising carrier for extended release of CyA (cyclosporine A) from p-HEMA (poly(hydroxy ethyl methacrylate)) contact lenses. Despite the commercial availability of the Brij surfactants, to our knowledge no comparative study has been reported of their solubilisation capacities relative to more widely used block copoly(oxyalkylene)s such as those of the Pluronic series. In this study we have compared the solubilisation capacities of three Brij copolymers: polyoxyethylene (20) stearyl ether (Brij 78), polyoxyethylene (20) oleyl ether (Brij 98) and polyethylene glycol (100) stearyl ether (Brij 700) (see Scheme 2) for the standard drug griseofulvin with data determined under similarly controlled conditions for a range of block copoly(oxyalkylene)s including several specifically designed to achieve high solubilisation capacity. The extent of solubilisation was determined absolutely by <sup>1</sup>H NMR and, for comparative purposes, by the more usual technique of UV spectroscopy. Although <sup>1</sup>H NMR is recognized as one of the most reliable and precise methods of quantitative analysis (Jiang et al., 2010), comparatively few examples of its use in the determination of solubilisation capacity have been reported (Rekatas et al., 2001; Crothers et al., 2005). In addition, preliminary studies served to confirm values of the important micellar properties of our Brij samples, i.e. critical micelle concentration and micelle hydrodynamic radius.

\* Corresponding author. Tel.: +55 85 33669367; fax: +55 85 33669978.  
E-mail address: [naricard@ufc.br](mailto:naricard@ufc.br) (N.M.P.S. Ricardo).





Scheme 1. Chemical structure of griseofulvin.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

Griseofulvin (formula mass 352.8 g/mol) was obtained from Sigma–Aldrich (Poole, Dorset, UK) and was used in the form of finely ground (1 mm<sup>2</sup> mesh) powder. Differential scanning calorimetry indicated one crystalline form with a melting point of 220.4 °C and an enthalpy of fusion of 115.6 J g<sup>-1</sup>. There was no detectable transition consistent with a glassy component. Samples of Brij 78, Brij 98 and Brij 700 were obtained from Sigma–Aldrich (Poole, Dorset, UK) and were used as received. Values of the ratio of weight-average to number-average molar mass,  $M_w/M_n$ , were determined by gel permeation chromatography (GPC) using *N,N*-dimethylacetamide at 70 °C as solvent in the method described previously (Chaibundit et al., 2000). Table 1 includes values of formula mass,  $M_w/M_n$ , HLB (hydrophile–lipophile balance) from the manufacturer's literature, and  $r_h$  (hydrodynamic radius) from Renou et al. (2008) (Brij 78 and 700) and Prak et al. (2011) (Brij 98). All other materials used were of analytical grade.

### 2.2. Solubilisation of griseofulvin

UV spectroscopy is commonly used to determine the extent of drug solubilisation, but involves an initial calibration procedure. In this study we used the absolute method based on <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and compared the solubilisation capacity determined by this method with that from UV spectroscopy.

#### 2.2.1. UV spectroscopy quantification

A UV/Vis spectrometer (Hitachi U-2000) was calibrated by recording the absorbance (wavelength range 200–350 nm) of methanol solutions of griseofulvin (2–20 mg dm<sup>-3</sup>) against a



(a) Brij 78.



(b) Brij 98.



(c) Brij 700.

Scheme 2. Chemical structure of the Brij copolymers, with associated <sup>1</sup>H NMR peak assignments.

solvent blank. The strong absorbance at 292 nm gave a satisfactory Beer's law plot. In a solubilisation experiment, a 10 cm<sup>3</sup> portion of a stock 1 wt% copolymer solution was added to griseofulvin powder (0.02 g). The mixture was stirred at 37 °C for 72 h before being filtered (0.45 μm Millipore) to remove any unsolubilised drug. The sample was then diluted with methanol to enable analysis by UV spectroscopy. The water content after dilution was low enough to allow the calibration for methanol solutions to be used without correction. After dilution the samples were held at 40 °C for 72 h before analysis. Measurements were carried out in triplicate and the results were averaged.

#### 2.2.2. <sup>1</sup>H NMR spectroscopy quantification

Solutions with solubilised drug were prepared and filtered as described for the UV method, but were then freeze-dried (24 h, 10<sup>-3</sup> mm Hg) to remove water. The entire sample was dissolved in CDCl<sub>3</sub> and its <sup>1</sup>H NMR spectrum recorded at ambient temperature (22 °C) using a Bruker DRX 500 11.7 T (499.80 MHz for <sup>1</sup>H) spectrometer in a 5 mm inverse detection z-gradient probe at 298 K. The spectra were obtained using 90° rf pulse (9.20 μs), a spectral width of 12,010 Hz, 256 transients with 64 K data points, an acquisition time of 2.73 s, and a relaxation delay of 10 s before being converted to 32 K data points and the phase and baseline corrected manually using the Bruker Software. The amount of griseofulvin solubilised per gram of polymer was determined using appropriate peak integrals. All measurements were carried out in triplicate and the results averaged.

### 2.3. Critical micelle concentration (cmc)

Stock solutions were prepared by dissolving the copolymers in Milli-Q water and allowing 24 h for complete dissolution before diluting further to concentrations within the range 0.01–60 mg dm<sup>-3</sup>. Solubilisation of DPH (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene) was used to determine the onset of micellisation, as described for triblock copolyethers by Alexandridis et al. (1994), and before that for ionic surfactants by Chattopadhyay and London (1984). DPH was dissolved in methanol and added to the copolymer solution, so that the final copolymer solution contained 1% (v/v) methanol and 0.004 mM DPH, a mixture shown to provide the same values of the cmc as those obtained by other methods for copolymers in water alone. A F-4500 Hitachi fluorescence spectrophotometer was used in the experiments, with solution temperatures maintained at 25 and 37 to ±0.2 °C.

### 2.4. Micelle size

The hydrodynamic radii of the Brij micelles were determined using a Nano Zetasizer, Malvern, Zetasizer Nano ZS (ZEN 3500). Measurements were made using copolymer recovered from the solubilisation studies by freeze-drying and redissolved in Milli-Q water. Solutions of 1 wt% copolymer at 25 °C were investigated using 30 scans with 30 s acquisition time allowed for each scan.

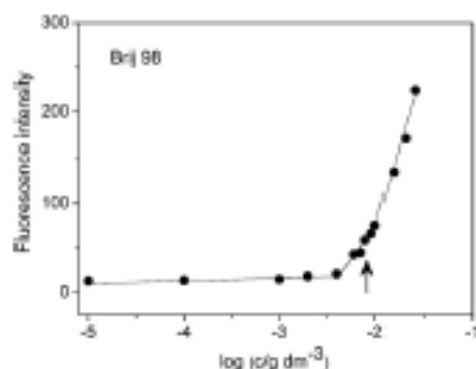
## 3. Results and discussion

### 3.1. Critical micelle concentration (cmc) and micelle hydrodynamic radius ( $r_h$ )

As described by Patist et al. (2000) and Hait and Mouluk (2001), premicellisation effects complicate the determination of the cmc for Brij copolymers. The arrow in the plot of fluorescence intensity against Brij 98 concentration (log scale) in Fig. 1 indicates the point at which intensity increased linearly with log(*c*), taken to be the cmc = 7.9 mg dm<sup>-3</sup>. As seen in Table 2, the values of cmc obtained fell in the range 7–35 mg dm<sup>-3</sup>. The much larger concentration of

**Table 1**  
Selected properties of the non-ionic surfactants explored in this study.

Trade name	Average molecular formula	Molar mass (g/mol)	$M_w/M_n$	HLB	$r_h$ (nm) 20 °C
Brij 78	$C_{18}H_{32}(OCH_2CH_2)_8OH$	1152	1.19	15	4.8
Brij 98	$C_{18}H_{30}(OCH_2CH_2)_8OH$	1150	1.18	15	4.4
Brij 700	$C_{18}H_{32}(OCH_2CH_2)_{100}OH$	4670	1.06	18.8	7.6



**Fig. 1.** Fluorescence intensity (394 nm) vs concentration (log scale) for aqueous solutions of (●) Brij 98 at 37 °C.

Brij used in the solubilisation experiments ( $10 \text{ g dm}^{-3}$ ) is consistent with effectively complete micellisation.

The value of  $7.6 \text{ mg dm}^{-3}$  determined in the present study for the cmc of Brij 78 at 25 °C compares favourably with values of 7.8 and  $6.2 \text{ mg dm}^{-3}$  determined using iodine solubilisation by Patist et al. (2000) and Hait and Moulik (2001), respectively; very much higher values ( $40$  and  $53 \text{ mg dm}^{-3}$ ) were determined by Sowmiya et al. (2010) and Klammt et al. (2005) respectively, using fluorescence techniques but with a definition of micellisation which effectively represented completion rather than onset of micelle formation. Similarly, the cmc value of  $8.5 \text{ mg dm}^{-3}$  determined in the present study for Brij 98 is considerably lower than values of 44 and  $29 \text{ mg dm}^{-3}$  determined by Sowmiya et al. (2010) and Klammt et al. (2005) respectively, again reflecting the difference in the definition of micellisation used by these workers. Hait and Moulik (2001) reported a cmc of  $93.4 \text{ mg dm}^{-3}$  for Brij 700 using iodine solubilisation, compared with a value of  $30 \text{ mg dm}^{-3}$  in the present study.

The hydrodynamic radii listed in Table 2 were determined for  $10 \text{ g dm}^{-3}$  solutions and served to confirm micellisation of the three Brij copolymers under the conditions of our solubilisation experiments. The larger radius found for the Brij 700 micelles is consistent with its longer polyoxyethylene blocks contributing to a thicker micelle corona.

### 3.2. Solubilisation of griseofulvin: NMR and IV

The  $^1\text{H}$  NMR spectrum of griseofulvin in  $\text{CDCl}_3$  and corresponding spectra of the freeze-dried products from the solubilisation of griseofulvin in micellar solutions of Brij 78 and Brij 98 at 40 °C can

**Table 2**  
Critical micelle concentrations (cmc) at 25 and 37 °C and hydrodynamic radii ( $r_h$ ) at 25 °C for Brij 78, 98 and 700.

	cmc ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) 25 °C	cmc ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) 37 °C	$r_h$ (nm) 25 °C
Brij 78	7.6	7.1	4.1
Brij 98	8.5	7.9	3.7
Brij 700	30	25	5.7

be seen in Fig. 2. Assignments related to the structures shown in Schemes 1 and 2 are listed in Table 3 (with the coupling constant,  $J$ ). The double bond in the middle of the non-polar chain of Brij 98 makes its  $^1\text{H}$  NMR spectrum more complex than those of the other Brij surfactants: in addition to the peaks found for Brij 78 and Brij 700, peaks for the hydrogens associated with the alkene functional group were found at 5.37 ppm and those for the hydrogens on the carbons next to the alkene group were found at 2.04 ppm. Those peaks are designated H4 and H3 in Table 3.

Values of the solubility of griseofulvin in the micellar Brij solutions were determined from the peak integrals of the methyl proton signal at 0.95 ppm ( $\text{CH}_3$ ) for griseofulvin (Scheme 1) and at 0.88–0.90 ppm ( $\text{CH}_3$ ) for the Brij surfactants (Scheme 2). Mass ratios of griseofulvin to Brij were calculated according to Malz and Jancke (2005) by considering the integrated signal areas, the relative number of spins which cause the signals, and the molar masses of the two constituents, i.e.

$$\frac{m_{\text{grin}}}{m_{\text{Brij}}} = \left( \frac{M_{\text{grin}}}{M_{\text{Brij}}} \right) \left( \frac{I_{\text{grin}}}{I_{\text{Brij}}} \right) \left( \frac{N_{\text{Brij}}}{N_{\text{grin}}} \right) \quad (1)$$

where  $M_{\text{grin}}$  and  $M_{\text{Brij}}$  are the molar masses of drug and Brij,  $I_{\text{grin}}$  and  $I_{\text{Brij}}$  are the integrated signal areas in the spectrum assigned to the protons of selected methyl groups of the drug and the Brij, and  $N_{\text{grin}}$  and  $N_{\text{Brij}}$  are the number of spins per selected group, in the present case equal to 3 for both. For the experimental conditions used ( $100 \text{ cm}^3$  of 1 wt% Brij solution), this mass ratio is conveniently expressed as the drug solubility  $S$  in  $\text{mg dl}^{-1}$ . Additionally, given the solubility of griseofulvin in water alone ( $S_0$  in  $\text{mg dl}^{-1}$ , see Table 4), the solubilisation capacities of the copolymer micelles themselves are conveniently calculated as  $S_{\text{cp}} = (S - S_0) \text{ mg g}^{-1}$ , see Table 4.

It is seen that an increase in temperature enhances the solubilisation capacity for griseofulvin. This behaviour is common to many copolymers with poly(oxyethylene) as the hydrophilic block and arises because an increase in temperature reduces the solubility of poly(oxyethylene) in water and so increases the extent of micellisation of its copolymers (Crothers et al., 2005; Ribeiro et al., 2009).

Over the temperature range, the solubilisation capacities of the Brij 78 micelles exceed those of the Brij 700 micelles by factors in the range 2–3. Assuming that the common  $\text{C}_{18}$  blocks lead to micelles of similar core size, and assuming solubilisation only in the micelle core, then the solubilisation capacity ( $\text{mg g}^{-1}$ ) should be reduced relative to Brij 78 in ratio to the overall molar masses of the two, i.e., by a factor of approximately 4. The present result for Brij 700 micelles implies a favourable contribution from the polyoxyethylene corona. Solubilisation of griseofulvin in poly(oxyethylene) corona has been considered previously (Crothers et al., 2005) and found to be small: possibly the present effect arises from improved shielding of the micelle core by the longer polyoxyethylene blocks.

At 25 °C Brij 78 solubilises griseofulvin more efficiently than Brij 98. This may be attributed to the fact that an unsaturated chain is more rigid than a saturated one, and an increase in rigidity will lead to a reduced packing density resulting in a reduced shielding of the core from water, and a consequent reduction in the solubilisation of hydrophobic drugs (Kapoor et al., 2009b). The fact that micelles of Brij 98 have a higher cmc and a smaller micelle radius than those

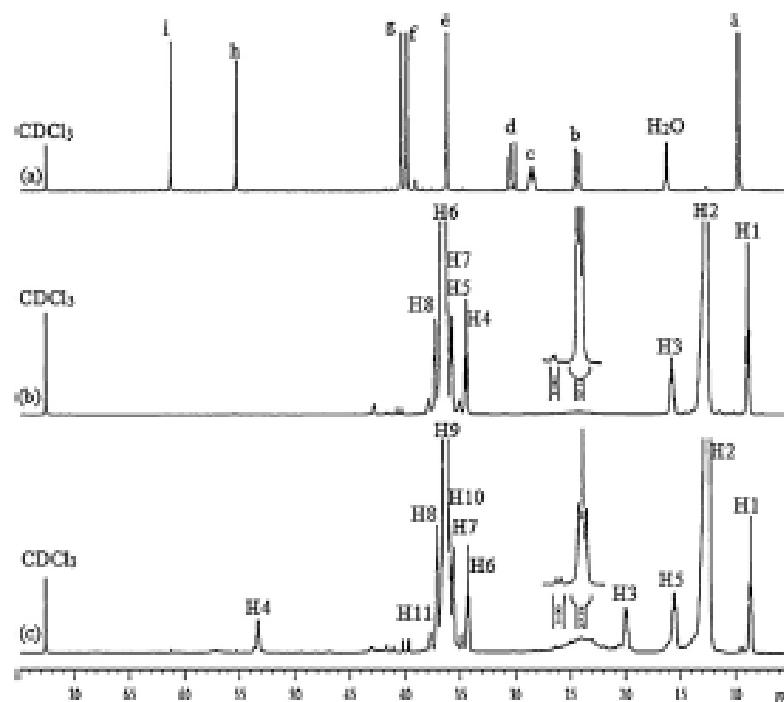


Fig. 2.  $^1\text{H}$  NMR spectrum in  $\text{CDCl}_3$  of (a) griseofulvin, (b) griseofulvin and Brij 78 recovered from solubilisation at  $40^\circ\text{C}$  and (c) griseofulvin and Brij 98 recovered from solubilisation at  $40^\circ\text{C}$ .

of Brij 78 (see Table 2) reinforces this explanation. However, the difference is small at the higher temperatures.

It is interesting to compare the solubilisation capacities of the Brij copolymers with those of other copolymers based on poly(ethylene oxide) as the hydrophilic component. Because of variation in block lengths, it is useful to consider solubilisation

capacity expressed both as per gram of copolymer ( $S_{cp}$ ) and as per gram of hydrophobic component ( $S_h$ ). Examples of values  $S_{cp}$  and  $S_h$  for griseofulvin solubilised by micellisable di- and triblock copolymers in aqueous solution at  $25^\circ\text{C}$  are presented in Table 5. Other than the Brij copolymers, the values are taken from a compilation by Atwood and Booth (2007). In the

Table 3

$^1\text{H}$  NMR data assignments for griseofulvin and Brij 78, Brij 700 and Brij 98 in  $\text{CDCl}_3$  with the coupling constant,  $J$  (Hz).

Griseofulvin		Brij 78 and Brij 700		Brij 98	
$\delta$ (ppm)	Assignments	$\delta$ (ppm)	Assignments	$\delta$ (ppm)	Assignments
6.13	l, 1H, s	3.71–3.72	H8, m	5.37	H4, m
5.52	h, 1H, s	3.64–3.65	H6, m	3.81	H11, m
4.16	g, 3H, s	3.60	H7, m	3.74	H8, m
3.01	f, 3H, s	3.57	H5, m	3.64	H9, m
3.63	e, 3H, s	3.44	H4, m	3.61	H10, m
3.00	d, 1H, dd, $J = 16.6, 12.5$	1.56–1.58	H3, m	3.60	H7, m
2.86	c, 1H, m	1.25	H2, m	3.47	H5, m
2.41	b, 1H, dd, $J = 16.7, 4.7$	0.88	H1, t, $J = 6.7$	2.04	H2, m
0.65	a, 3H, d, $J = 6.9$			1.60	H5, m
				1.37	H2, m
				0.80	H1, t, $J = 6.7$

Table 4

Solubilisation capacities ( $S_{cp}$ ,  $\text{mg g}^{-1}$ ) for griseofulvin of aqueous micellar solutions of Brij 78, 98 and 700 at 25, 37 and  $40^\circ\text{C}$  obtained by  $^1\text{H}$  NMR and UV/Vis methods.  $S_h = 1.4, 1.9$  and  $2.0 \text{ mg dl}^{-1}$  at 25, 37 and  $40^\circ\text{C}$  respectively.

Copolymers	$S_{cp}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )		$S_{cp}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ ) $^1\text{H}$ NMR $37^\circ\text{C}$	$S_{cp}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ )	
	UV/Vis $25^\circ\text{C}$	UV/Vis $37^\circ\text{C}$		UV/Vis $40^\circ\text{C}$	$S_{cp}$ ( $\text{mg g}^{-1}$ ) $^1\text{H}$ NMR $40^\circ\text{C}$
Brij 78	7.0	8.0	9.5	10.4	10.3
Brij 98	6.2	8.3	10.1	10.2	10.7
Brij 700	2.8	3.5	3.4	3.0	5.3

Table 5

Solubilisation capacities of poly(ethylene oxide)-based copolymers at 25 °C expressed as  $S_{50}$  (mg per g of copolymer) and  $S_{10}$  (mg per g of hydrophobe).

Copolymer	$S_{50}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$S_{10}$ (mg g <sup>-1</sup> )	Reference
Brij78, C <sub>12</sub> E <sub>10</sub>	8	26	Present work
Brij98, C <sub>12</sub> E <sub>10</sub>	6	28	Present work
Brij700, C <sub>18</sub> E <sub>10</sub>	3	52	Present work
E <sub>12</sub> P <sub>10</sub>	4	8	Rekates et al. (2001)
E <sub>12</sub> P <sub>10</sub>	4	19	Rekates et al. (2001)
E <sub>12</sub> S <sub>10</sub>	11	20	Crothers et al. (2005)
Pluronic F127, E <sub>12</sub> P <sub>10</sub> /E <sub>10</sub>	2	6	Zhou et al. (2008)
E <sub>12</sub> B <sub>10</sub> E <sub>10</sub>	2	7	Rekates et al. (2001)
E <sub>12</sub> S <sub>11</sub> E <sub>10</sub>	4	18	Crothers et al. (2005)
E <sub>12</sub> C <sub>6</sub> E <sub>10</sub>	8	44	Taboada et al. (2005)

formulae E = CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, P = CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>)O, B = CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)O, S = CH<sub>2</sub>CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)O, G = OCH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). Considered in terms of  $S_{50}$  it is seen that Brij 78 is among the most effective of the copolymers investigated for solubilisation of griseofulvin.

#### 4. Concluding remarks

The Pluronic series of block copolymers are frequently used as solubilising agents for poorly soluble drugs, often, as seen for the solubilisation of griseofulvin in Table 5, with disappointingly low levels of incorporation of therapeutic agent mainly as a consequence of their low extent of micellisation at room temperature. Although as seen in Table 5 the replacement of the poly(oxypropylene) hydrophobic block of the Pluronic polyols with poly(oxyalkylene) blocks formed from butylene oxide, styrene oxide or phenyl glycidyl ether results in a progressive increase of solubilising efficiency, such compounds are not generally available commercially. Our investigation has, however, shown that a solubilising capacity (per gram of copolymer) comparable to those of specifically-designed block copolymers may be achieved for griseofulvin using the more accessible surfactant Brij 78 and this copolymer may provide a useful alternative in situations where facilities for copolymer synthesis are not available.

#### Acknowledgements

This work was supported by the Brazilian Research Council CNPq (INCT-Nano(Bio)Simes, Project no. 573925/2008-9) (NMFSR), CAPES (CLM), CAPES PRODOC/CAPES FNPD (MENPR), and the Organic Materials Innovation Centre, University of Manchester. We thank Dr Colin Booth for his constant help and advice.

#### References

Ahmed, M.O., 2001. Comparison of impact of the different hydrophilic carriers on the properties of piperazine-containing drug. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 51, 221–226.

Alexandridis, P., Holwarth, J.F., Hatten, T.A., 1994. Micellization of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in aqueous solution: thermodynamics of copolymer association. *Macromolecules* 27, 2414–2426.

Aitwood, D., Booth, C., 2007. Solubilisation of a poorly aromatic drug by micellar solutions of amphiphilic block copoly(oxyalkylene)s. In: Tadros, Th.F. (Ed.), *Colloid Stability and Application in Pharmacy*, Colloid and Interface Science Series, vol. 3, pp. 61–68.

Chaudhri, C., Mai, S.-M., Heatley, F., Booth, C., 2000. Association properties of triblock copolymers in aqueous solution: copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide with long B-blocks. *Langmuir* 16, 9645–9652.

Chattopadhyay, A., London, E., 1984. Fluorimetric determination of critical micelle concentration avoiding interference from detergent charge. *Anal. Biochem.* 139, 400–412.

Crothers, M., Zhou, Z., Ricardo, N.M.F.S., Yang, Z., Taboada, P., Chaudhri, C., Aitwood, D., Booth, C., 2005. Solubilisation in aqueous micellar solutions of block copoly(oxyalkylene)s. *Int. J. Pharm.* 293, 91–100.

Dewberry, P.H., Patel, M.S., 1982. Demonstration of maximum solubilisation in a poly(oxyethylene)poly(ether) series of non-ionic surfactants. *J. Pharm. Pharmacol.* 34, 540–546.

Hall, S.K., Mealik, S.P., 2001. Determination of critical micelle concentration (CMC) of nonionic surfactants by donor-acceptor interaction with iodine and correlation of CMC with hydrophilic-lipophile balance and other parameters of the surfactants. *J. Surf. Deterg.* 4, 303–309.

Jiang, Y., David, B., Tsa, P., Barbin, Y., 2010. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines—a review. *Anal. Chim. Acta* 657, 9–18.

Kapoor, Y., Howell, B.A., Chaudhri, A., 2009a. Liposome assay for evaluating ocular toxicity of surfactants. *Invent. Ophthalmol. Vis. Sci.* 50, 2727–2735.

Kapoor, Y., Thomas, J.C., Tan, G., John, V.T., Chaudhri, A., 2009b. Surfactant-laden soft contact lenses for extended delivery of ophthalmic drugs. *Biomaterials* 30, 867–878.

Marmet, C., Schwarz, D., Bendler, K., Haase, W., Detsch, V., 2005. Evaluation of detergents for the soluble expression of  $\alpha$ -helical and  $\beta$ -barrel-type integral membrane proteins by a preparative scale individual cell-free expression system. *FEBS J.* 272, 6004–6008.

Moh, F., Jenckel, H.J., 2005. Validation of quantitative NMR. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 38, 813–823.

Oliveira, C.P., Vasconcelos, L.F.G., Ribeiro, M.E.N.F., Ricardo, N.M.F.S., Souza, T.V.F., Costa, F.M.L.L., Chaudhri, C., Yeates, S.G., Aitwood, D., 2011a. The effect of polymeric additives on the solubilisation of a poorly-soluble drug in micellar solutions of Pluronic F127. *Int. J. Pharm.* 400, 296–308.

Oliveira, C.P., Ribeiro, M.E.N.F., Ricardo, N.M.F.S., Souza, T.V.F., Moura, C.L., Chaudhri, C., Yeates, S.G., Nixon, K., Aitwood, D., 2011b. The effect of water-soluble polymers, PEG and PVP, on the solubilisation of griseofulvin in aqueous micellar solutions of Pluronic F127. *Int. J. Pharm.* 421, 252–257.

Patel, A., Bhagwat, S.S., Penfield, K.W., Adams, P., Shah, D.D., 2000. On the measurement of critical micelle concentrations of pure and technical-grade non-ionic surfactants. *J. Surf. Deterg.* 3, 53–58.

Pak, D.J.L., Johnson, W.J., Sims, J.M., MacArthur, A.H.E., 2011. An <sup>1</sup>H NMR investigation into the loci of solubilisation of 4-nitrochloram, 2,6-dinitrochloram, and 2,4,6-trinitrochloram in nonionic surfactant micelles. *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 375, 13–22.

Pinho, M.E.N., Costa, F.M.L.L., Filho, F.R.S., Ricardo, N.M.F.S., Yeates, S.G., Aitwood, D., Booth, C., 2007. Mixtures of triblock copolymers E<sub>12</sub>P<sub>10</sub>/E<sub>10</sub> and E<sub>12</sub>S<sub>11</sub>/E<sub>10</sub> potential for drug delivery from in situ gelling micellar formulations. *Int. J. Pharm.* 328, 65–68.

Rekates, C.J., Mai, S.-M., Crothers, M., Quinn, M., Collett, J.H., Aitwood, D., Heatley, F., Marini, L., Booth, C., 2001. The effect of hydrophobe chemical structure and chain length on the solubilisation of griseofulvin in aqueous micellar solutions of block copoly(oxyalkylene)s. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 3, 4769–4773.

Renou, F., Benyahia, L., Nicolai, T., Glatier, D., 2008. Structure and rheology of mixed polymeric micelles formed by hydrophobically end-capped poly(ethylene oxide). *Macromolecules* 41, 6523–6530.

Ribeiro, M.E.N.F., Vieira, J.G.P., Ricardo, N.M.F.S., Aitwood, D., Yeates, S.G., Booth, C., 2008. Solubilisation of griseofulvin, quercetin and rutin in micellar formulations of triblock copolymers E<sub>12</sub>P<sub>10</sub>/E<sub>10</sub> and E<sub>12</sub>S<sub>11</sub>/E<sub>10</sub>. *Int. J. Pharm.* 378, 211–214.

Sowmya, M., Tewari, A.K., Saha, S.K., 2010. Fluorescent probe studies of micropolarity, premicellar and micellar aggregation of non-ionic Brij surfactants. *J. Colloid Interface Sci.* 344, 97–104.

Taboada, P., Velazquez, G., Barbosa, S., Castellino, V., Nixon, S.K., Yang, Z., Heatley, F., Heatley, D.W., Ashford, M., Monquera, V., Aitwood, D., Booth, C., 2005. Block copolymers of ethylene oxide and phenyl glycidyl ether: micellization, gelation, and drug solubilization. *Langmuir* 21, 5260–5271.

Tyrell, J.L., Shen, Y., Radom, M., 2010. Fabrication of micellar nanoparticles for drug delivery through the self-assembly of block copolymers. *Prog. Polym. Sci.* 35, 1128–1143.

Zhou, Z.-Y., Chaudhri, C., D'Emmanuele, A., Lennon, K., Aitwood, D., Booth, C., 2008. Solubilisation of drugs in worm-like micelles of block copolymers of ethylene oxide and 1,2-butylene oxide in aqueous solution. *Int. J. Pharm.* 354, 83–87.