



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO MULTIDISCIPLINAR EM
SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

LORENA ALVES DE OLIVEIRA SILVA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANODISPERSOS
CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA
CLAREAMENTO DENTAL

Vitória da Conquista, BA

2019

LORENA ALVES DE OLIVEIRA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANODISPERSOS
CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA
CLAREAMENTO DENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Mateus Freire Leite
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL – MG

Co-orientador: Pro. Dr. Juliano Geraldo Amaral
Universidade Federal da Bahia – UFBA - BA

Vitória da Conquista, BA

2019

Biblioteca Universitária Campus Anísio Teixeira – UFBA

S586

Silva, Lorena Alves de Oliveira.

Desenvolvimento de sistemas nanodispersos contendo peróxido de Carbamida para clareamento dental. / Lorena Alves de Oliveira Silva - 2019.
106 f.

Orientador: Prof. Dr. Mateus Freire Leite

Coorientador: Prof. Dr. Juliano Geraldo Amaral

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biociências, 2019.

1. Clareamento Dental. 2. Peróxido de Carbamida. 3. Nanotecnologia. I. Universidade Federal da Bahia. Instituto Multidisciplinar em Saúde. II. Leite, Mateus Freire. III. Amaral, Juliano Geraldo. IV. Título.

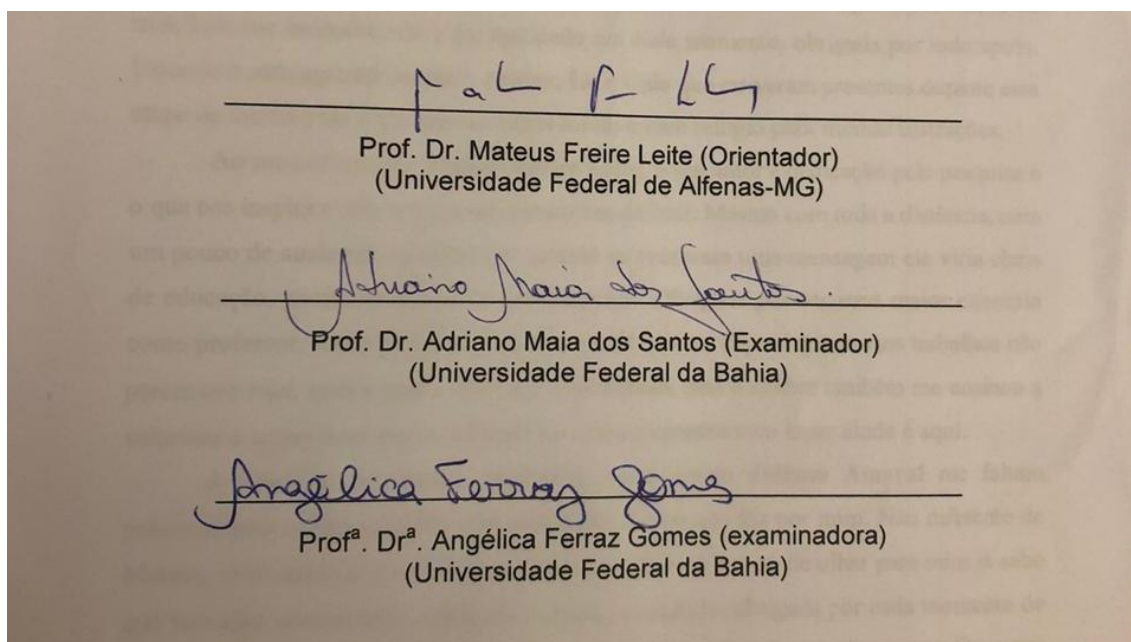
CDU: 616.314-008.4

LORENA ALVES DE OLIVEIRA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANODISPERSOS
CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA
CLAREAMENTO DENTAL**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre em Biociências e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia.

Vitória da Conquista – BA, 05 de dezembro de 2019



AGRADECIMENTOS

“Por que Ele existe, eu posso crer no amanhã.” Agradeço a **Deus**, por ter sido meu sustento e o meu refúgio nos momentos mais difíceis. Obrigada pelo dom da vida e por ter me permitido viver esse sonho.

Aos meus pais, **Ivanildo e Jeanne**, e ao meu bebê **Ivanna** por estarem sempre ao meu lado me apoiando e sendo sempre o meu porto seguro. Obrigada por todos ensinamentos, por sempre me incentivarem a não desistir deste sonho e me mostrar que para chegar ao topo, o percurso é tortuoso, mas com amor e determinação a gente sempre alcança. Esse título alcançado não é só meu, é NOSSO e como é bom dividi-lo com vocês! Amo vocês mais que tudo nessa vida.

Minha amada Família, em especial minhas avós **Nélia e Messias**, por tanta dedicação e cuidado. Aos meus tios e primos por todo companheirismo.

Ao meu namorado **Rafael**, que desde o momento da minha aprovação esteve ao meu lado me incentivando e me apoiando em cada momento, obrigada por todo apoio. Estendo o meu agradecimento a **Junior, Lu e Caio** que estiveram presentes durante essa etapa da minha vida e que muitas vezes foram o meu refúgio para minhas distrações.

Ao meu orientador **Mateus Freire Leite**, o seu amor e dedicação pela pesquisa é o que nos inspira e não nos permiti pensar em desistir. Mesmo com toda a distância, com um pouco de ausência, eu sabia que quando eu recebesse uma mensagem ela viria cheia de educação, paciência e muitos ensinamentos. Obrigada por ser meu maior exemplo como professor, como pesquisador e como ser humano. Espero que nossos trabalhos não parem por aqui, queria poder dizer até o doutorado, mas o senhor também me ensinou a valorizar o nosso bem maior, a Família e nesse momento meu lugar ainda é aqui.

Ao meu co-orientador, professor, pai e amigo **Juliano Amaral** me faltam palavras, pois minha gratidão será eterna por tudo o que fez por mim. Não diferente de Mateus, você também é o meu maior exemplo. É você que só de olhar para mim já sabe que tem algo acontecendo, obrigada por todo o cuidado, obrigada por cada momento de conversa, de conselho, de risada, agora alcancei o meu 1%! Sou muito grata a Deus por ter colocado você na minha vida. Não coloque outro aluno no meu lugar, pois você me motiva e me inspira a querer mais e ainda vamos construir muitas coisas juntos.

Ao **Lab Cento Inove**, por ter sido a minha segunda casa, o grupo se separou, mas boas lembranças serão guardadas para sempre. E em especial a minha colega de profissão e amiga **Maiara**, vivemos tantos momentos dentro do 109, que eu sei que estamos saindo

hoje muito mais maduras. Aprendi a lidar com o seu jeito fechado, que no final eu descobri que tudo é apenas uma casca, que por dentro existe um coração tão sensível. Obrigada pelo companheirismo e por ter me ensinado diversas músicas juntamente com **Tassy** o dono das melhores risadas, levarei vocês para sempre no meu coração. À **Lucimara**, por ter sido tão prestativa e por tantos bons momentos de boas conversas.

À minha turma de **mestrado em Biociências**, ganhei verdadeiros amigos que levarei para toda a minha vida, vocês foram o meu apoio. **Bruninho, Mag, Suzy, Roberta, Luana, Nivea, Marisol, Dani e Mai**. Espero encontrar cada um de vocês ao longo da nossa caminhada.

À empresa **Socializa**, na pessoa de **Rodrigo**, no momento que soube da minha aprovação, permitiu que eu conciliasse o trabalho e o mestrado. E em especial ao meu **Coordenador Rafael**, que é o melhor no que faz e faz com tanto amor e dedicação, você me inspira a querer ser melhor todos os dias. Agradeço de coração as minhas queridas enfermeiras, **Gi, Amanda e Aline** que na minha ausência elas com toda maestria cuidavam da farmácia. Ah **Gi** lá no início você foi essencial, meu muito obrigada por sua amizade, por ser tão verdadeira, sinto muito sua falta. Aos meus dentistas **Tito, Affonso e Antônio** que por diversas vezes tinham que aguentar eu falando e tiveram que ler meu trabalho. A minha psicóloga e amiga **Rhayssa** que aguentou minhas reclamações durante horas em sua sala. A minha assistente social **Lu**, me chamando para sair e eu falando que não podia por conta do mestrado, mesmo assim se manteve tão presente em minha vida. A minha advogada **Maria**, que com suas caras e bocas sempre me fez ri e sempre me apoiando! A **Mateus**, que mesmo depois de vários momentos de estresse, ele encostava e tudo acabava em brincadeira e risada. E não menos importante, **Iara**, foi você que cuidou de mim, com tantas orações, com tantos ensinamentos que foram tão preciosos! A todos os MEUS da empresa, que não são muitos, mas são meus queridos, meu muito obrigada e desculpa por tanto estresse.

Às minhas amigas desde a época da escola, **Binha, Mai, Lil e Ninha**, com toda a distância são vocês as que estão sempre presentes e por terem dividido mais essa etapa ao meu lado! Amo vocês!

Aos meus amigos que a UFBA me presenteou, **Thau, Jel, Gel, Fany, Line, Marlon e Nana**, obrigada pela amizade, por sempre estarem por perto, quando eu mais preciso!

À **Mahala**, pela amizade ao longo desses anos. Esse trabalho é nosso, faz parte de um muito maior, ainda tenho esperanças em um dia podermos finalizar todo essa nossa

pesquisa. E eu não poderia ter arrumado uma parceira melhor, você sempre muito disposta a me ajudar sempre que eu precisava. Obrigada por tudo principalmente pelos inúmeros momentos de muitas conversas.

Às minhas queridas amigas **Leia, Anna, Bruna, Daniela, Paloma**, por serem tão presentes ao longo desses dois anos e meio. Sou grata por ter vocês fazendo parte da minha vida.

À professora **Daniela Silva Barroso de Oliveira**, que cedeu os dentes para que fosse realizado o teste de clareamento in vitro.

À **Brenda Oliveira**, que realizou o teste de clareamento in vitro, sem sua ajuda, não teríamos alcançado esse objetivo.

À **Kiria Serranegra**, por ter se disposto a realizar o teste de reologia e adesividade, muito obrigada!

Aos professores, coordenadores e técnicos do Programa de Pós-graduação em Biociências.

À **UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**, por ser a minha segunda casa.

Muito obrigada a todos que participaram de alguma forma na concretização deste sonho!

A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita.

Mahatma Gandhi

RESUMO

SILVA, Lorena Alves de Oliveira. **Desenvolvimento de sistemas nanodispersos contendo peróxido de Carbamida para clareamento dental.** 100f. 2019. Dissertação (Mestrado) – Instituto Multidisciplinar de Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2019.

O crescimento no ramo da odontologia estética tem aumentado, em consequência da exigência no padrão do sorriso. Um sorriso saudável e bonito melhora a autoimagem e confiança, e está diretamente associada a busca por dentes mais brancos, o que torna o clareamento dental um procedimento bastante requisitado na atualidade. O clareamento consiste no resultado de uma complexa interação física e química entre o dente, o agente causador do Mancharamento e do agente clareador. No ramo da odontologia tem-se pensado no desenvolvimento de novos produtos, a nanotecnologia tem sido apontada como a revolução tecnológica, que despertou um enorme interesse na comunidade científica ao longo das últimas décadas. Dentre os sistemas nanoestruturados pode-se citar as microemulsões e os cristais líquidos. Por se tratar de produtos envolvendo novas tecnologias, é necessário que métodos para a garantia de qualidade sejam devidamente desenvolvidos, sendo assim, a validação de um método analítico, é um dos meios mais reconhecidos universalmente, como parte necessária para a garantia do sistema de qualidade. Neste trabalho foi desenvolvido, caracterizado e avaliada a estabilidade dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida 16% para clareador dental, com potencial de permeação nos canalículos dentinários a fim de otimizar o processo de clareamento. O método para quantificação do peróxido de carbamida por espectrofotômetro UV, foi devidamente validado conforme a RDC 166 - ANVISA. À formulação selecionada, a partir do diagrama de fases, foi incorporado o peróxido de carbamida a 16% e em seguida caracterizada (microscopia óptica, pH, tamanho de partículas, índice de polidispersividade, potencial zeta, condutividade). A formulação também foi submetida ao estudo de estabilidade preliminar e acelerada, além disso foi realizada a avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%. O produto contendo Peróxido de Carbamida 16% obteve valores de pH de $5,86 \pm 0,05$; potencial zeta de $-6,38 \pm 0,37$ mV; tamanho de gotículas de $22,52 \pm 0,37$ nm; Índice de Polidispersividade de $0,164 \pm 0,02$ e Condutividade de $0,163 \pm 0,001$ $\mu\text{s}/\text{cm}$. O método demonstrou ser linear, preciso, robusto, exato e apresenta limite de quantificação de $0,00019\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e detecção de $0,00007\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Apresentando faixa de trabalho $0,00128\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a $0,00192\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. O produto apresenta-se estável à baixas temperaturas e temperatura ambiente; no entanto, com pequenas alterações no pH, tamanho de gotícula e no teor à temperaturas elevadas. Observou-se aumento na variação de luminosidade e de cor dos dentes bovinos tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% em comparação com os dentes tratados com o produto comercial convencional Whiteness Perfect 16% FGM[®]. Os resultados obtidos sugerem um produto nanodisperso inovador de alto valor agregado, estável e capaz de substituir os clareadores convencionais mantendo, portanto, o objetivo de clareamento e com o diferencial deste sistema carreador poder levar a uma maior permeação do produto pelos canalículos dentinários.

Palavras-chave: Clareamento dental; peróxido de carbamida; microemulsão; validação de método analítico.

ABSTRACT

SILVA, Lorena Alves de Oliveira. **Development of nanodisperse systems containing Carbamide peroxide for dental whitening.** 100f. 2019. Dissertation (Master's degree) - Multidisciplinary Institute of Health, Federal University of Bahia, Vitória da Conquista, 2019.

Growth in the field of aesthetic dentistry has increased, as a result of the requirement in the pattern of smile. A healthy and beautiful smile improves self-image and confidence, and is directly associated with searching for whiter teeth, which makes dental whitening a requested procedure today. Whitening consists of the result of a complex physical and chemical interaction between the tooth and the stain causative agent. In the field of dentistry has been thought of the development of new products, nanotechnology has been pointed out as the technological revolution, which has aroused a huge interest in the scientific community over the past few decades. Among the nanostructured systems can be mentioned the microemulsions and liquid crystals. Because these are products involving new technologies, it is necessary that methods for quality assurance be properly developed, so validation of an analytical method is one of the most universally recognized means, as a necessary part quality system assurance. In this work, the stability of nanodispersed systems containing carbamide peroxide 16% for dental bleaching was developed and evaluated, with permeation potential in the dentin canaliles in order to optimize the bleaching process. The method for quantifying carbamide peroxide by UV spectrophotometer was duly validated according to RDC 166 - ANVISA. The selected formulation was incorporated from the phase diagram to 16% and then characterized (optical microscopy, pH, particle size, polydispersivity index, zeta potential, conductivity). The formulation was also submitted to the preliminary and accelerated stability study, in addition, the value of the bleaching potential of the nanodisperse system containing carbamide peroxide 16% was also performed. The product containing Carbamide Peroxide 16% obtained pH values of 5.86 ± 0.05 ; zeta potential of -6.38 ± 0.37 mV; droplet size of 22.52 ± 0.37 nm; Polydispersivity index of 0.164 ± 0.02 and Conductivity of 0.163 ± 0.001 $\mu\text{s}/\text{cm}$. The method has been shown to be linear, precise, robust, *accurate* and has a limit of quantification of $0,00019\text{mg.mL}^{-1}$ and detection of $0,00007\text{mg.mL}^{-1}$. Introducing work range $0,00128\text{mg.mL}^{-1}$ a $0,00192$ mg.mL^{-1} . The product is stable at low temperatures and room temperature; however, with minor changes in pH, droplet size and content at high temperatures. The increase in the variation of luminosity and color of bovine teeth treated with nanodisperse system containing carbamide peroxide 16% compared to teeth treated with conventional commercial product Whiteness Perfect 16% FGM[®]. The results obtained suggest an innovative nanodisperse product of high added value, stable and able to replace conventional bleaching, thus maintaining the objective of bleaching and with the differential of this carrier system can lead to a greater permeation of the product by the dentinary canaliles.

Keywords: Dental whitening; carbamide peroxide; microemulsion; validation of analytical method.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01. Representação esquemática das camadas do dente.
- Figura 02. Representação esquemática da formação da dentina.
- Figura 03. Estrutura molecular do peróxido de carbamida.
- Figura 04. Esquema da síntese do peróxido de carbamida
- Figura 05. Esquema da análise quantitativa iodométrica do peróxido de carbamida.
- Figura 06. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de quantificação.
- Figura 07. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de detecção.
- Figura 08. Espectrofotômetro de Cor Portátil X-Rite.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EXC – Excesso

ICH – *International council for harmonization*

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

OMS – Organização mundial de saúde

DPR – Desvio padrão relativo

DP – Desvio padrão

p/p (peso em peso) – Expressa o número de g de um componente em 100 g de mistura.

p/v (peso em volume) – Expressa o número de g de um componente em 100 mL de solução.

PA – Para análise

PC – Peróxido de Carbamida

PDI – Índice de polidispersividade

pH – Potencial Hidrogeniônico

SQR – Substância química de referência

OTC - *over the counter*

nm – nanômetros

TS – Solução teste

UV – Ultravioleta

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

v/p (volume em peso) – Expressa o número de mL de um componente em 100 g de mistura.

v/v (volume em volume) – Expressa o número de mL de um componente em 100 mL de solução.

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Revisão de Literatura	18
2.1 Dente	18
2.2 Alterações na cor do dente.....	22
2.3 Clareamento dental.....	24
2.4 Sensibilidade	28
2.5 Peróxido de carbamida	29
2.7 Validação de método analítico	38
2.7.1 Parâmetros da validação de método analítico	40
3. Objetivos	44
4. Materiais e Métodos	45
4.1 Obtenção do peróxido de Carbamida	45
4.2 Controle de Qualidade físico-químico das matérias primas.....	45
4.3 Preparação e seleção dos sistemas nanodispersos	47
4.4 Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida	47
4.5 Validação de Método Analítico.....	48
4.6 Determinação teor do peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos por espectrofotometria UV	51
4.7 Avaliação de estabilidade	51
4.8 Avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%	52
4.9 Tratamento dos resultados e análise estatística.....	54
5. Referências	55
6. Capítulo 1	65
7. Considerações Finais	1006

1. Introdução

A exigência no padrão estético envolvendo o sorriso tem levado a busca incessante pela perfeição, com isso o ramo da odontologia estética aumentou consideravelmente nos últimos anos. Um sorriso saudável e bonito melhora a autoimagem e confiança, projetando aos demais uma imagem de saúde, mas a busca do sorriso perfeito está diretamente associada à busca por dentes mais brancos, o que torna o clareamento dental um procedimento bastante requisitado na atualidade (VIEIRA et al., 2018).

Os dentes humanos podem ser definidos como os órgãos mais resistentes, que apresentam consistência dura, de natureza calcária e cor branco-amarelados, constituído por diferentes tecidos (BHASKAR, 1989). Logo, os dentes são estruturas policromáticas formadas pela sobreposição de tecidos com diferentes características e diferentes propriedades ópticas, tais como a translucidez, a fluorescência e a opalescência (GIMENEZ, 2016).

Quando se refere a cor dos dentes, o estudo é voltado para cor da coroa, mais especificamente a região da dentina, visto que a raiz apresenta coloração relativamente constante, amarelada, devido ao cimento. A coroa apresenta uma coloração bastante variável, desde um branco-amarelado até um branco acinzentado (TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012). Já o esmalte apresenta cor esbranquiçado e translúcido, ele auxilia na caracterização da cor permitindo transparecer a coloração da dentina. A cor do dente está diretamente relacionada com a cor da dentina, sendo predominante amarelada, que pode ser mais clara ou mais escura em função da sua espessura e/ou da mineralização (GIMENEZ, 2016; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012).

Logo, quando se trata em alterações na cor do dente, sabe-se que esse processo ocorre por fatores denominados extrínsecos ou intrínsecos. As alterações intrínsecas são aquelas que podem estar ligadas a fatores como genética, idade, alterações na formação dos dentes, as doenças com distúrbios sistêmicos, os distúrbios caracterizados pela hipocalcemia, a febre reumática, a eritoblastose fetal e a porfiria congênita (ARAÚJO et al., 2015; COLOGNI, 2013). Este tipo de alteração na cor do dente é mais difícil de ser tratada e devem ser devidamente avaliadas caso a caso pelo profissional, pois estas se encontram incorporadas a estrutura do dente (CASTRO et al., 2015; DOMINGUES, 2014).

Já as alterações extrínsecas, são adquiridas após a erupção dentária, por sua vez, originam-se a partir da precipitação de substâncias químicas pigmentadas de produtos que se fixam na superfície do esmalte (CASTRO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Podendo citar as que estão presentes no café, no chá preto, no tabaco, em vinhos tintos, no chimarrão, na beterraba, em bebidas à base de cola, bem como hábito de higiene do paciente, como acúmulo de placa bacteriana e tártaro dentário (ARAÚJO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b).

Dentre os procedimentos estéticos mais procurados pelos pacientes para alteração na cor dos dentes, tem-se o clareamento dental, que consiste em um resultado de uma complexa interação física e química entre o dente, agente causador do manchamento e o agente clareador (DANTAS et al., 2017; MARTINI et al., 2019a). Essencialmente, o escurecimento dentário ocorre devido à formação de compostos de cadeia longa de moléculas de carbono, logo, o processo básico de clareamento envolve a oxidação, na qual essas cadeias são quebradas e convertidas em estruturas menores, como o dióxido de carbono, cromaticamente mais claras (CASTRO et al., 2015).

Diversas técnicas vêm sendo executadas com o objetivo de realizar o clareamento dental. Dentre as técnicas clareadoras utilizadas atualmente, destacam-se a técnica realizada em consultório (*in-office*), a técnica de clareamento caseiro supervisionado (*at-home*), os produtos de uso auto administráveis (FERNANDES, 2017; ITO; OTSUKI; TAGAMI, 2019; MARTINI et al., 2019b; REZENDE et al., 2019; SANTOS et al., 2018b).

A técnica de clareamento dental realizada em consultório permite uma resposta mais rápida e utiliza um agente clareador em maior concentração (BERTAZZO; ANZILIERO; ANZILIERO, 2014; DOMINGUES, 2014; PINTO; MIRENE; LIMA, 2015). A principal vantagem da técnica em consultório quando comparada à técnica caseira é que não depende da colaboração do paciente com o uso de moldeiras, ou seja, ao executar a técnica, o profissional possui maior controle dos locais de aplicação, o tempo é controlado de acordo com o protocolo já definido (DOMINGUES, 2014).

A técnica de clareamento caseiro supervisionado, é considerada como padrão ouro (BARBOSA et al., 2015; DOMINGUES, 2014; PINTO; MIRENE; LIMA, 2015; SANTOS et al., 2018b). Consistindo na auto aplicação de um gel em baixas concentrações, através de uma moldeira plástica personalizada, sob a supervisão do cirurgião-dentista (DOMINGUES, 2014). O tratamento caseiro apresenta a vantagem de ser uma técnica simples, de baixo custo, segura por se utilizar agentes clareadores em

baixa concentração porém, tem a desvantagem de depender da colaboração do paciente para se obter um bom resultado (BERSEZIO et al., 2019; DOMINGUES, 2014; SOARES et al., 2008).

Já os produtos auto administráveis ou *over the counter* (OTC), são agentes que trabalham por ação física ou química para auxiliar a remover manchas superficiais dos dentes (CALDAS et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Pode-se citar os dentifrícios, goma de mascar, tiras adesivas clareadoras, bochechos, antissépticos bucais, géis e vernizes; geralmente estes produtos contém concentrações mais baixas de agentes clareadores (CALDAS et al., 2015; SANTOS et al., 2018b).

Entre os agentes clareadores, podemos destacar o peróxido de carbamida, que é um produto da reação do peróxido de hidrogênio e da ureia. Na Farmacopeia Brasileira 6ªed. o peróxido de carbamida está descrito sob a forma de cristais ou pó cristalino branco, que decompõe ao contato com o ar em ureia, oxigênio e água, sendo solúvel em água, produto que deve ser armazenado em recipientes bem fechados e é considerado um agente oxidante (ANVISA, 2019). Os dados de segurança o descrevem como material corrosivo (FERNANDES, 2017).

Os produtos clareadores a base de peróxido de carbamida, comumente são encontrados no mercado odontológico na forma de gel, possuem em sua composição o peróxido de hidrogênio que é fundamental para a ocorrência do clareamento da estrutura dental (BRASILINO, 2014). Destaca-se que, após o contato do peróxido de carbamida com a estrutura dental, com a umidade bucal e a com saliva, ele dissocia-se em peróxido de hidrogênio, que decompõe-se em água e oxigênio e a ureia em gás carbônico e amônia (BRASILINO, 2014; DOMINGUES, 2014). O oxigênio proveniente do peróxido de hidrogênio atua como o principal princípio ativo para o clareamento dental (BRASILINO, 2014; DOMINGUES, 2014).

O efeito adverso mais comum ao clareamento dental, independente da técnica e do agente clareador é a sensibilidade, podendo ocorrer em dentes vitais (CASTRO et al., 2015). Geralmente a sensibilidade é considerada leve e temporária, mas em alguns casos pode chegar a produzir um grande desconforto ao paciente, sendo este o principal motivo de muitas vezes o paciente interromper o tratamento (AMORIM, 2017; DOMINGUES, 2014; SILVA; FONSECA, 2011).

Quando se pensa em desenvolvimento de novos produtos, a nanotecnologia tem sido apontada como a revolução tecnológica, que despertou um enorme interesse na comunidade científica ao longo das últimas décadas, sendo um dos principais focos das

atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019). Além disso, aumentou a demanda do consumidor por produtos inovadores, tecnológicos e com maior eficácia, com isso diversos setores industriais e econômicos, começaram a investir em pesquisa e desenvolvimento de produtos cada vez mais eficazes e sofisticados (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019; SILVEIRA et al., 2019). Entre os mais diversos sistemas nanoestruturados pode-se citar as microemulsões e cristais líquidos.

As microemulsões (MEs) são sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicos, dispersos que consistem em dois líquidos imiscíveis. Ou seja, uma fase aquosa, uma fase oleosa, e um tensoativo e/ou co-tensoativo, que diminui a tensão superficial existente, levando a formação do sistema (DAUDT et al., 2015; MALAKAR et al., 2011; SALEM et al., 2018). A combinação das fases em proporções devidamente adequadas faz com que o sistema seja formado espontaneamente, sem a necessidade de forte agitação ou altas temperaturas (DAUDT et al., 2015; LEITE, 2009; MALAKAR et al., 2011). As microemulsões são considerados sistemas opticamente transparentes, translúcidos, de baixa viscosidade, com um diâmetro de partícula geralmente menor que 100 nm (DAUDT et al., 2015; SILVA et al., 2014). Sendo estes os fatores que diferenciam as microemulsões dos demais sistemas nanoestruturados e sistemas com dimensões maiores de partículas, como as emulsões, que são opacas (LEITE, 2009).

Uma das vantagens das microemulsões é a praticidade relacionada ao modo de obtenção do sistema, já que não necessita de muito tempo de agitação, desta forma, este sistema apresenta uma alta estabilidade e limpidez (LEITE, 2009). Portanto, o uso de microemulsões é considerado uma abordagem promissora, aumentando a liberação e permeação de substâncias tanto hidrofílicas quanto lipofílicas, contando que os óleos e tensoativos utilizados sejam seguros, atóxicos e não irritantes (DAUDT et al., 2015; LEITE, 2009).

O cristal líquido que pode ser definido como toda substância que apresenta uma combinação entre um sólido e a fluidez de um líquido, estando assim em um estado intermediário entre o sólido e o líquido, denominado mesofase (CRISTIANO et al., 2014). Estes sistemas também têm potencial para utilização em formulações cosméticas. Sabe-se que a aplicação desse sistema em formulações é um alvo de interesse tanto pela indústria farmacêutica, como pela cosmética, devido a algumas vantagens oferecidas, tais como aumento da solubilidade e estabilidade das formulações, possibilidade de incorporação de fármacos lipofílicos e hidrofílicos, liberação controlada de ativos,

proteção contra degradação térmica e fotodegradação (FORMARIZ et al., 2005; MISHRA et al., 2016).

Por se tratar de novos produtos envolvendo novas tecnologias, é necessário que métodos para a garantia de qualidade sejam devidamente desenvolvidos, sendo assim, a validação de um método analítico, é um dos meios mais reconhecidos universalmente, como parte necessária para a garantia do sistema de qualidade. Comprovando através do fornecimento de evidências, que o uso específico do método pretendido foi atendido (BRASIL, 2017; G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018). Métodos analíticos validados e, portanto confiáveis, são requeridos para a submissão a agências reguladoras nacionais e internacionais em todas as áreas de controle de qualidade (G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018).

O principal objetivo de uma validação de método analítico, no controle de qualidade de produtos farmacêuticos, é demonstrar que o método é apropriado para determinada finalidade, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos (G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018). Desta forma, garantindo que a metodologia analítica seja exata, precisa, estável, reprodutível e flexível sobre uma faixa específica de uma substância em análise (BRASIL, 2017; INMETRO, 2003).

2. Revisão de Literatura

2.1 Dente

Os dentes humanos podem ser definidos como os órgãos mais resistentes, que apresentam consistência dura, de natureza calcária e cor branco-amarelados, constituído por diferentes tecidos. Estes se encontram localizados na cavidade bucal e fixados nos ossos alveolares da mandíbula e maxila, fazendo parte de um sistema estomatognático cuja a função primordial é a mastigação; estão dispostos uns ao lado dos outros, formando os arcos dentais superior e inferior (BHASKAR, 1989; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012). Anatomicamente, o dente pode ser dividido em coroa e a raiz. Histologicamente, é composto por esmalte, dentina, polpa e cimento, como representado na figura 01.

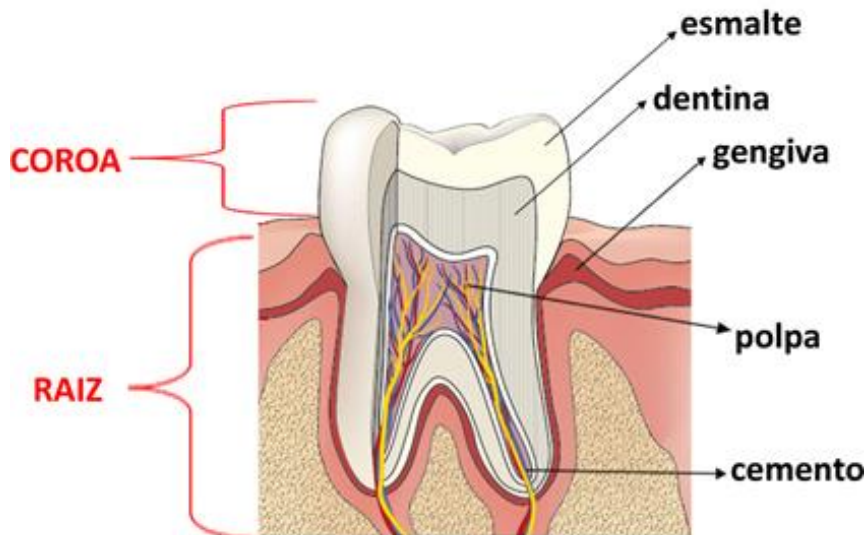


Figura 1. Representação esquemática das camadas do dente. Adaptada de. (KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

A coroa dental é a parte do dente, que fica visível na cavidade bucal, estando inteiramente recoberta pelo esmalte, apresentando uma coloração brilhante e esbranquiçada, esta representa um terço do comprimento total do dente. A raiz dental é a parte do dente que fica implantada nos alvéolos da maxila e mandíbula, sendo, portanto, não visível na cavidade bucal, é revestida pelo cimento, conferindo uma coloração amarelada e uma textura bem mais rugosa, representando dois terços do seu comprimento total, sendo que esta estrutura pode sofrer uma série de alterações no decorrer de sua

formação, razão pela qual apresentam morfologia muito variável (TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012).

O esmalte é um tecido de origem ectodérmica, constituído por células do epitélio interno do órgão, formando um revestimento protetor da coroa do dente e encontra-se em contato direto com a cavidade bucal, a espessura varia, no máximo de 2,5 mm nas superfícies de trabalho até uma borda muito delgada na linha cervical, sendo composto por diversos sais minerais e pelo arranjo cristalino, sendo o mais duro tecido calcificado do corpo humano e resistente ao desgaste (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014; DANTAS et al., 2017). Consiste principalmente de material inorgânico (96%), sendo semelhante a apatita, além de carbonatos e metais, tais como Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Cl^- , CO_3^{2-} e apenas uma pequena quantidade de substâncias orgânicas (1%), que é compreendido por compostos proteicos, e água (3%), com função de formar um revestimento resistente para o dente, tornando-o apropriado para a mastigação de diversos tipos de alimentos, devido a sua estrutura e dureza (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014; DANTAS et al., 2017).

Devido a característica de extrema dureza do esmalte, este pode ser modificado por desmineralização ácida, sendo fortemente influenciada pelo pH. Deve-se salientar que a saliva apresenta a capacidade de tamponamento, ou seja, o dente consegue resistir a uma mudança de pH quando ácidos estão aderidos à superfície, devido a presença da saliva na cavidade bucal. A capacidade de tamponamento da saliva, ocorre devido à presença do cálcio e fosfato, assim forma uma película que pode neutralizar a ação erosiva, reduzir o amolecimento e perda da estrutura dental (DURÁN et al., 2018). Normalmente, quando substâncias ácidas estão presentes na cavidade bucal, o volume do fluxo salivar aumenta, conseqüentemente o pH e a capacidade tampão ocorre, com isso dentro de minutos, o ácido é neutralizado e removido, fazendo com que o pH volte ao normal. É sabido que, o pH normal da boca é em torno de 6,8, e a desmineralização dos tecidos dentais se torna predominante em pH abaixo de 5,5 (DANTAS et al., 2017; DURÁN et al., 2018; GREYCE A.; MARA E.F.; HUGO T.S., 2017).

Apesar de ser um tecido altamente mineralizado, o esmalte dental apresenta certa permeabilidade, o que permite a difusão de substâncias e a troca iônica com a cavidade bucal; esta propriedade foi consagrada por Bartlestone, em 1951, quando aplicou iodeto de sódio sobre o incisivo de gato e encontrou o iodo radioativo na tireóide do animal (BRASILINO, 2014; CASTRO et al., 2017). Essa característica da membrana semipermeável que permite a ocorrência do clareamento dental (DANTAS et al., 2017).

A cor do esmalte varia de branco-amarelado até branco acinzentado; sugere-se que a cor seja determinada por diferenças na translucidez, ou seja, um dente amarelado possuiria um esmalte delgado e translúcido que tornaria visível a cor amarelada da dentina, enquanto um dente acinzentado possuiria um esmalte mais opaco (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014).

Durante o processo de formação da dentina, denominado dentinogênese, células da periferia da polpa diferenciam-se em odontoblastos, que são as células responsáveis pela formação da dentina (KATCHBURIAN; ARANA, 2012). A dentina constitui a massa principal do dente e lhe dá a forma geral, é caracterizada como sendo um tecido duro com túbulos em toda a sua espessura, que desempenham papel importante na condução de estímulos (BHASKAR, 1989). Nos dentes de jovens a dentina é habitualmente de cor amarela clara, que escurece ao longo dos anos e diferentemente do esmalte que é duro, a dentina é elástica e passível de leve deformação. A dentina consiste em 35% de matéria orgânica e água e 65% de material inorgânico, sendo que o material orgânico consiste em fibrilas de colágeno e o inorgânico é composto por hidroxiapatita, como no osso, cemento e esmalte (BRASILINO, 2014).

A dentina é formada por três camadas, a dentina do manto, a dentina circumpulpar e a pré-dentina. A dentina do manto é uma camada muito fina que varia de 10 a 30 μ m e a mais superficial, formada em primeiro lugar na coroa, é composta de fibrilas colágenas, pois se trata da área inicial de formação da matriz dentinária e é produzida pelos odontoblastos em diferenciação. Uma vez finalizada a dentina do manto, os odontoblastos completamente diferenciados secretam a dentina circumpulpar, sendo a mais abundante, formando a massa do dente, apresentando um diâmetro de no máximo 50 μ m. A pré-dentina é a camada de matriz orgânica (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014; KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

Vale ressaltar que a dentina circumpulpar corresponde a quase totalidade do tecido dentinário; nesta região são encontrados os túbulos dentinários, que são prolongamentos dos odontoblastos, a dentina peritubular, que envolve os túbulos e existe pouca deposição de matriz orgânica e por fim, a dentina intertubular que está situada entre as dentinas peritubulares e apresenta grande quantidade de colágeno. Os túbulos dentinários apresentam numerosas e finas ramificações, que são classificadas como canalículos dentinários (KATCHBURIAN; ARANA, 2012). A estrutura da formação da dentina está representada na figura 2.

O tecido dentinário divide-se em três tipos, tais como: a primária, a secundária e a terciária. A dentina primária é depositada durante a formação do dente, até o fechamento do ápice. A dentina secundária é uma faixa estreita que circunda a polpa e é depositada lentamente ao decorrer da vida (BRASILINO, 2014; CUNHA, 2010). Diferentemente das dentinas primárias e secundárias, que se formam ao longo de toda a margem dentina-polpa, a dentina terciária ou reparativa, é produzida apenas pelas células diretamente afetadas por estímulos, sendo estes efeitos patológicos da cárie dentária, a abrasão, o atrito e o desgaste provocado por procedimentos operatórios (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014). É interessante ressaltar que, uma vez que os odontoblastos e seus prolongamentos fazem parte integrante da dentina, não há dúvida de que ele é um tecido vivo, logo a dentina é um tecido dental que possui efeito consideravelmente significativo na cor dos dentes (TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012).

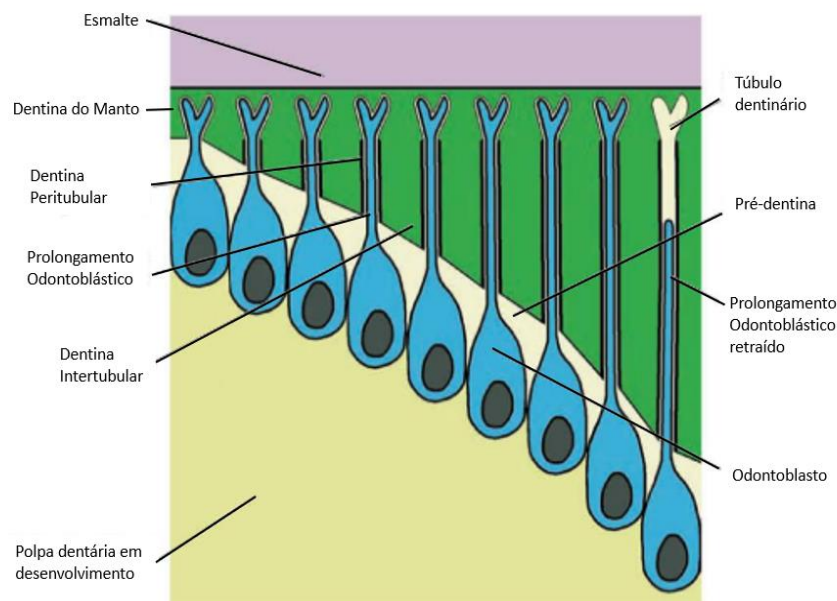


Figura 2. Representação esquemática da formação da dentina. Adaptada de (KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

A polpa dentária é constituída por um tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizada e innervada, apresentando grande sensibilidade e é circundada por estruturas mineralizadas como dentina, esmalte e cemento, esta ocupa a porção central de cada dente, sendo que cada indivíduo possui, normalmente, um total de 52 órgãos pulpares, 32 permanentes e 20 primários (BHASKAR, 1989; TEIXEIRA; REHER; REHER, 1993). A

polpa é constituída por três camadas, a odontoblástica onde é o corpo dos odontoblastos, a região sub-odontoblástica que é a região rica em células especialmente células mesenquimais indiferenciadas, que podem se diferenciar em odontoblastos, quando necessário e a região central da polpa que é constituída por tecido conjuntivo frouxo. (KATCHBURIAN; ARANA, 2012). Em relação ao tamanho, forma e número, as polpas variam de acordo com cada dente dependendo da idade, pode ser classificada como polpa coronária e polpa radicular. A coronária está localizada centralmente na coroa dos dentes, já a radicular é aquela que se estende da região cervical da coroa até o ápice da raiz (BHASKAR, 1989; CUNHA, 2010).

O cimento é o tecido dentário mineralizado que recobre as raízes anatômicas dos dentes humanos, difere histologicamente dos outros tecidos dentais, pois apresentam características próprias que propiciam a fixação das fibras do ligamento periodontal, apresenta cor amarela-clara, é composto por volta de 50% de substâncias inorgânicas e 50% de matéria orgânica e água, sendo a porção inorgânica constituída principalmente por cálcio, fosfato, sob a forma de hidroxiapatita, já a porção orgânica é constituída por colágeno tipo 1 e polissacarídeos protéicos (BHASKAR, 1989; BRASILINO, 2014; TEIXEIRA; REHER; REHER, 1993).

Portanto, os dentes são estruturas policromáticas formadas pela sobreposição de tecidos com diferentes características e diferentes propriedades ópticas, tais como a translucidez, a fluorescência e a opalescência (GIMENEZ, 2016).

2.2 Alterações na cor do dente

No estudo da cor dos dentes, refere-se sobretudo ao estudo da cor da coroa, visto que a raiz apresenta coloração relativamente constante, amarelada, devido ao cimento. A coroa apresenta uma coloração bastante variável, desde um branco-amarelado até um branco acinzentado. Como já citado, o esmalte apresenta cor esbranquiçada e translúcido, ele auxilia na caracterização da cor permitindo transparecer a coloração da dentina. A cor do dente está diretamente relacionada com a cor da dentina, sendo predominante amarelada, que pode ser mais clara ou mais escura em função da sua espessura e/ou da mineralização (GIMENEZ, 2016; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012).

Existem alguns aspectos que influenciam na cor dos dentes como a mineralização, o tipo de dente, a idade e fatores relacionados a luz. Quanto mais mineralizado mais escuro o dente será. Cada grupo dental apresenta diferenças de coloração, relacionadas

sobretudo a espessura da estrutura interna da dentina do dente em questão, como por exemplo os dentes caninos são os que apresentam um tom branco-amarelado mais escuro. Com a idade os dentes tendem a apresentar uma coloração mais escura. Já em relação a refração e a difusão dos raios luminosos sobre a superfície da coroa modificam substancialmente sua tonalidade (DURÁN et al., 2018; GIMENEZ, 2016; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012). Assim, superfícies mais lisas refletem mais a luz, deixando o dente mais brilhoso, já as superfícies mais rugosas os dentes já são mais opacas, com aspecto esbranquiçado, ou seja, um dente tem uma tonalidade a depender da quantidade e o comprimento de onda de luz incidente sobre a sua superfície, que é refletida ou absorvida (DURÁN et al., 2018; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012).

Logo, quando se trata em alterações na cor do dente, sabe-se que esse processo ocorre pelos fatores citados, ou por fatores denominados extrínsecos ou intrínsecos.

As alterações ou pigmentações denominadas intrínsecas são classificadas em sistêmicas e causas locais. As sistêmicas são divididas em defeitos genéticos e induzidas por drogas. Os defeitos genéticos, como o próprio nome diz são aquelas que podem estar ligadas a fatores genéticos, como as doenças com distúrbios sistêmicos, entre as quais podemos citar, o sarampo, a varicela e a escarlatina, os distúrbios caracterizados pela hipocalcemia, a febre reumática, a eritoblastose fetal e a porfiria congênita (ARAÚJO et al., 2015; COLOGNI, 2013). O manchamento induzido por droga é decorrente a ingestão excessiva de medicamentos na fase de maturação dental, como a tetraciclina, a utilização de níveis elevados de flúor, falhas nos estágios de erupção e algumas restaurações também podem causar manchas intrínsecas do tipo sistêmica (ARAÚJO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Já as causas locais são adquiridas através de produtos da hemorragia pulpar, idade, e reabsorção radicular. Este tipo de alteração intrínseca na cor do dente é mais difícil de ser tratada e devem ser devidamente avaliadas caso a caso pelo profissional, pois estas se encontram incorporadas a estrutura do dente (CASTRO et al., 2015; DOMINGUES, 2014).

Já as alterações ou pigmentações denominadas extrínsecas, que são adquiridas após a erupção dentária, por sua vez, originam-se a partir da precipitação de substâncias químicas pigmentadas na superfície do esmalte (CASTRO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Devido a característica de permeabilidade do esmalte dental, se configura como elemento facilitador do surgimento das manchas externas, favorecendo, dessa forma, a agregação e deposição das mais diversas substâncias de baixo peso molecular (ARAÚJO

et al., 2015; MACHADO, 2014). Pode-se citar as que estão presentes no café, no chá preto, no tabaco, em vinhos tintos, no chimarrão, na beterraba, em bebidas à base de cola, bem como hábito de higiene do paciente, como acúmulo de placa bacteriana e tártaro dentário (ARAÚJO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b).

2.3 Clareamento dental

O clareamento dental é um dos procedimentos estéticos mais procurados por pacientes com alterações na cor dos dentes, que consiste em um resultado de uma complexa interação física e química entre o dente, o agente causador do manchamento e o agente clareador (DANTAS et al., 2017; MARTINI et al., 2019a).

A técnica de clareamento dental existe desde o Egito antigo, onde era utilizado abrasivos e vinagre para clarear os dentes, já os romanos utilizavam urina para o mesmo fim (ARAÚJO et al., 2015).

No ano de 1850, Dwinelle descreveu que o clareamento dental ocorria com a remoção da polpa necrótica, material que escurecia os dentes e em seguida era utilizado a canfora e preenchido com o hidróxido de sódio e cloreto de cálcio para obter êxito no procedimento (COLOGNI, 2013).

Em 1872, Bogue foi o primeiro a introduzir o ácido oxálico como agente clareador. E em 1877 Chapple publicou o primeiro artigo relacionado a prática do clareamento dental, utilizando o ácido oxálico para vários tipos de alterações na coloração dos dentes (ARAÚJO et al., 2015; MANDARINO, 2010).

Taft em 1879 empregou o cloro, na forma de hipoclorito de cálcio, para clareamento dental. Em 1893 Kirk introduziu o uso do dióxido de sódio para a clareamento dos dentes. O uso da Pirozona aquecida, ficou conhecida entre os anos de 1895 – 1896 por Westlake, onde utilizava-se de uma solução composta por peróxido de hidrogênio a 25% com éter e o agente clareador era ativado por uma corrente elétrica, só que este método não foi utilizado por ser considerado perigoso (COLOGNI, 2013).

No ano de 1916 Walter Kine fazia o clareamento dental de dentes com fluorose usando ácido muriático a 18% (FERNANDES, 2017).

Já em 1918, Abbot introduziu o Superoxol (peróxido de hidrogênio a 30% por peso e 100% por volume), onde este era ativado pelo calor de uma lâmpada posicionada sobre o dente a ser clareado (COLOGNI, 2013).

Após o ano de 1960, Nutting e Poe, usavam o Superoxol, combinado com Peróxido de sódio, tendo um efeito sinérgico no clareamento dental (FERNANDES, 2017). No mesmo ano, um ortodontista Dr. Bill Klusmier, prescrevia para os seus pacientes, o uso de um antisséptico bucal contendo peróxido de carbamida, durante a noite, dentro de um dispositivo ortodôntico, para tratar o quadro de gengivites, só que além de observar a redução do quadro inflamatório, foi observado um efeito colateral, o clareamento dental (ARAÚJO et al., 2015; BRASILINO, 2014; FERNANDES, 2017; MANDARINO, 2010).

Cohen, foi o primeiro a clarear os dentes com manchamento por tetraciclina, no ano de 1970, usando o Peróxido de hidrogênio a 35%. Juntamente com Zack, fizeram estudos científicos que avaliaram a liberação do calor sobre a polpa que não havia nenhuma influência negativa (FERNANDES, 2017).

Durante mais de 112 anos de pesquisas não houve casos relacionados a necrose pulpar ou fraturas associadas ao ato de clareamento em dentes (ARAÚJO et al., 2015). O clareamento dentário tornou-se realmente difundido em 1989, quando Heyhood e Heymann aplicaram uma solução de peróxido de carbamida 10% em uma moldeira sendo utilizado por 15 dias, no período noturno, em um determinado paciente (ARAÚJO et al., 2015; BARBOSA et al., 2015; MARTINI et al., 2019b). Com isso esta técnica se tornou cada vez mais popular, devido à praticidade e eficácia, assim sendo, novos produtos foram desenvolvidos no aprimoramento do clareamento dental (MANDARINO, 2010).

Diversas modificações ocorreram, desde o agente clareador, que passou a ter diferentes concentrações, podendo ser em forma líquida ou gel aplicáveis em moldeiras, ou na forma de tiras adesivas, ou vernizes, até sua forma de ativação (química, física por fotopolimerizador, LED ou *LASER*) (ARAÚJO et al., 2015; BARBOSA et al., 2015).

Os agentes clareadores são substâncias químicas que, quando entram em contato com o dente, tem a ação de remover as manchas do esmalte dentário. Os agentes clareadores mais utilizados são, o Peróxido de Hidrogênio, mais comumente utilizado em consultório e o Peróxido de Carbamida, pelo próprio paciente em domicílio, ambos devem ser utilizados com a supervisão do profissional qualificado. Independente da técnica clareadora utilizada, os agentes clareadores podem provocar várias alterações na estrutura dental, entre elas estão o aumento da rugosidade, aumento da permeabilidade do esmalte e diminuição dos valores de microdureza tanto em esmalte quanto em dentina

e diminuição do conteúdo mineral (cálcio, fosfato e flúor) (FERNANDES, 2017; VILHENA et al., 2019).

Diversas técnicas vêm sendo executadas com o objetivo de realizar o clareamento dental. Dentre as técnicas clareadoras utilizadas atualmente, destacam-se a técnica realizada em consultório (*in-office*), a técnica de clareamento caseiro supervisionado (*at-home*), os produtos de uso auto administráveis (FERNANDES, 2017; ITO; OTSUKI; TAGAMI, 2019; MARTINI et al., 2019b; REZENDE et al., 2019; SANTOS et al., 2018b).

A técnica de clareamento dental realizada em consultório permite uma resposta mais rápida e consiste na utilização de um agente clareador em maior concentração (DOMINGUES, 2014; PINTO; MIRENE; LIMA, 2015). Comumente utiliza-se do Peróxido de Hidrogênio na concentração de 30 a 35% em aplicações de 10 a 20 minutos cada, podendo ser repetidas as aplicações por até 3 vezes no mesma consulta, antes da aplicação do agente clareador é realizada a barreira gengival e em seguida aplica o agente, podendo ser ativado por luz ou não (BERTAZZO; ANZILIERO; ANZILIERO, 2014; SANTOS et al., 2018b). Geralmente, duas a três consultas são necessárias para se obter um resultado satisfatório e as sessões devem ter um intervalo de uma semana, nos casos de pacientes com sensibilidade, esse intervalo pode ser maior (DOMINGUES, 2014; SOARES et al., 2008).

A principal vantagem da técnica em consultório quando comparada à técnica caseira é que não depende da colaboração do paciente com o uso de moldeiras, ou seja, ao executar a técnica, o profissional possui maior controle dos locais de aplicação. Porém, possui um custo mais oneroso, devido maior tempo do atendimento clínico. É importante ressaltar que a técnica em consultório, com peróxidos em altas concentrações, causa maior sensibilidade quando comparada à técnica caseira (DOMINGUES, 2014).

A técnica de clareamento dental realizada em domicílio pelo próprio paciente, conhecida popularmente como técnica caseira supervisionada, considerada como padrão ouro, vem sendo largamente utilizada desde a sua introdução em 1989 por Heymann & Haywood (BARBOSA et al., 2015; DOMINGUES, 2014; PINTO; MIRENE; LIMA, 2015; SANTOS et al., 2018b). A técnica consiste na auto aplicação de um gel em baixas concentrações, através de uma moldeira plástica personalizadas, sob a supervisão do cirurgião-dentista (DOMINGUES, 2014). Geralmente são utilizados o peróxido de carbamida, de 10% a 22%, ou o peróxido de hidrogênio, de 4% a 9%, é um tratamento

mais longo, de 14 a 21 dias, onde o tempo de aplicação irá variar conforme a concentração e o agente utilizado (DOMINGUES, 2014; FRANCCI et al., 2010).

Apesar de demandar maior período em relação ao clareamento em consultório e depender da colaboração do paciente, sua eficácia e sua segurança têm justificado o seu emprego (DOMINGUES, 2014). O tratamento caseiro apresenta a vantagem de ser uma técnica simples, de baixo custo, segura por se utilizar agentes clareadores em baixa concentração ou seja, o tratamento clareador caseiro é um procedimento eficaz, seguro e de boa procedência sob a supervisão do dentista, porém, tem a desvantagem de depender da colaboração do paciente para se obter um bom resultado (BERSEZIO et al., 2019; DOMINGUES, 2014; SOARES et al., 2008).

Já os produtos auto administráveis ou *over the counter* (OTC), são agentes que trabalham por ação física ou química para auxiliar a remover manchas superficiais dos dentes (CALDAS et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Sendo produtos de clareamento dental com custo mais baixo do que o tradicional feito por profissionais, comercializados em farmácias, o termo OTC surgiu nos Estados Unidos da América (EUA) no início da década de 2000 (CALDAS et al., 2015). Pode-se citar os dentifrícios, goma de mascar, tiras adesivas clareadoras, bochechos, antissépticos bucais, géis e vernizes. Geralmente estes produtos contém concentrações de agentes clareadores entre 3% a 6% de peróxido de hidrogênio e 10% a 16% de peróxido de carbamida (ANVISA, 2012; CALDAS et al., 2015; SANTOS et al., 2018b).

Apesar do clareamento dental ser um procedimento bastante comum na odontologia, o mecanismo pelo qual os agentes químicos presentes nas composições dos géis clareadores agem sobre as estruturas dentárias, ainda, não foi completamente elucidado (DANTAS et al., 2017; FIORILLO et al., 2019).

A teoria mais aceita e difundida a respeito do mecanismo de ação dos agentes clareadores, é que os dentes escurecidos possuem uma cadeia molecular complexa e longa (pigmentos), determinando um aumento no índice de absorção de luz pelo dente que resulta no efeito óptico de escurecimento dental (DANTAS et al., 2017). Os pigmentos são compostos de grandes quantidades de moléculas de carbono, que refletem um comprimento de onda luminoso específico e são responsáveis pela cor da mancha no esmalte, após a oxidação com a utilização de agentes clareadores essas moléculas são quebradas e convertidas em compostos intermediários, com cadeias menores que são mais claros (SUNDFELD et al., 2013). Essa reação química do tipo oxidação, altera o tipo,

número e posição relativa dos átomos que compõem as moléculas. Durante o clareamento as cadeias de carbono são transformadas em CO₂ e H₂O, sendo liberadas junto com o oxigênio, ou seja, ocorre a decomposição do peróxido em radicais livres (DANTAS et al., 2017; FERNANDES, 2017). Onde as moléculas largamente pigmentadas se quebram em moléculas menores e menos pigmentadas (RAMALHO et al., 2016). No ponto de saturação ocorre o máximo do clareamento e, a partir dessa etapa, os pigmentos não são mais clareados e o agente clareador começa a atuar em outros compostos que apresentam cadeias de carbono, como as proteínas da matriz do esmalte (DANTAS et al., 2017; FERNANDES, 2017). Por isso, a importância do acompanhamento do profissional supervisionando o tratamento.

2.4 Sensibilidade

O efeito adverso mais comum ao clareamento dental é a sensibilidade, podendo ocorrer em dentes vitais (CASTRO et al., 2015). Geralmente a sensibilidade é considerada leve e temporária, mas em alguns casos pode chegar a produzir um grande desconforto ao paciente, sendo este o principal motivo de muitas vezes o paciente interromper o tratamento (AMORIM, 2017; DOMINGUES, 2014; SILVA; FONSECA, 2011). Alguns dos fatores que são considerados causadores da sensibilidade dentária durante o clareamento dental, são as propriedades ácidas dos agentes clareadores, a composição dos produtos e o tempo de aplicação do agente clareador (AMORIM, 2017). Podendo ser explicada pelo aumento da permeabilidade do esmalte, conseqüentemente, de uma possível passagem do peróxido à polpa. Também pode ser consequência da dinâmica dos fluidos dentinários, pois as moléculas de oxigênio liberadas pelo peróxido podem se difundir através do esmalte e da dentina e se acumular. E quando uma quantidade suficiente de solução clareadora ocupa o espaço intracoronário, a pressão pode ser passada aos nociceptores da polpa (CASTRO et al., 2015).

Os estudos descrevem que essa sensibilidade é transitória e desaparece junto ao término do tratamento ou alguns dias depois, podendo variar a intensidade da dor entre um paciente e outro (DOMINGUES, 2014). A dor tem características extremamente variáveis, variando de um desconforto discreto a extrema gravidade, sendo que o nível da dor varia entre a tolerância de cada indivíduo e entre os dentes que são afetados (AMORIM, 2017). Podendo ser localizada (um ou dois dentes) ou generalizada (diversos dentes) e em alguns casos, pode ser sentida em todos os quadrantes da boca

(DOMINGUES, 2014). Os estímulos que provocam o surgimento da dor podem ter origem térmica, química ou mecânica. A queixa mais comum é a provocada por estímulos frios. A dor também pode acontecer por estímulos químicos, como os alimentos ácidos (principalmente frutas). O estímulo mecânico ocorre frequentemente, quando o paciente fricciona a escova durante a escovação, ou quando esfrega a unha sobre a área sensível, desencadeando a dor (MATIAS et al., 2010).

O método pelo qual se produz a sensibilidade após clareamento dentário ainda não foi completamente elucidado (DOMINGUES, 2014; GOMES et al., 2014; MATIAS et al., 2010). Várias teorias já foram apresentadas para explicar o mecanismo de transmissão da dor através da dentina, porém a mais aceita é a teoria hidrodinâmica (AMORIM, 2017; CASTRO et al., 2015; DOMINGUES, 2014).

A teoria hidrodinâmica que foi proposta por Brännström na década de 1960, continua sendo a melhor explicação para o fenômeno de sensibilidade dentinária. Esta teoria preconiza que a sensibilidade pode ser causada, quando um estímulo é aplicado na dentina, com isso ocasiona o deslocamento de fluídos dentro dos túbulos dentinários (AMORIM, 2017; CASTRO et al., 2015; GOMES et al., 2014). Com a movimentação dos fluídos dentinários, em direção a polpa ou em sentido contrário, acarreta em uma deformação mecânica das fibras nervosas que se encontram no interior dos túbulos, estimulando indiretamente as extremidades dos nervos pulpares e provocando a percepção da dor (AMORIM, 2017; CASTRO et al., 2015; GOMES et al., 2014; MATIAS et al., 2010).

Com o intuito de reduzir a sensibilidade, pesquisadores estão utilizando vários protocolos, como redução na frequência e duração da aplicação do gel e utilização de agentes dessensibilizantes e flúor para poder diminuir a dor sentida por muitos pacientes (AMORIM, 2017).

2.5 Peróxido de carbamida

Conforme já mencionado anteriormente, entre os agentes clareadores, pode-se destacar o peróxido de carbamida, podendo ser encontrado sob o nome de peróxido de ureia ou ureia-peridrol, este é um cristal sólido, constituído de uma molécula de ureia ligada a uma molécula de peróxido de hidrogênio, conforme demonstrado na Figura 03 (FREITAS, 2015; GADANHA et al., 2013; LIMA, 2017; SOARES et al., 2008).

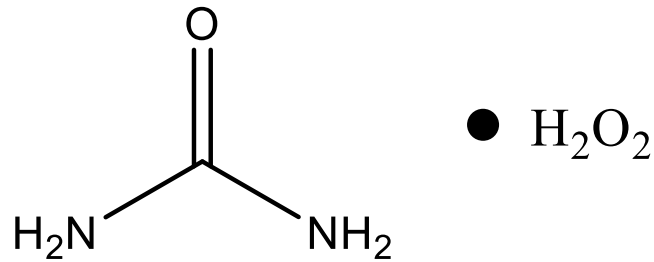


Figura 3. Estrutura molecular do peróxido de carbamida.

O peróxido de carbamida é um produto da reação do peróxido de hidrogênio e da ureia. Sendo obtido por recristalização a partir de ureia em uma solução de peróxido de hidrogênio aquoso, na proporção de 1:1 (DURÁN et al., 2018; USP, 2019). Após a reação é obtido um produto na forma sólida com maior estabilidade do que o próprio peróxido de hidrogênio (GADANHA et al., 2013; LIMA, 2017; SOARES et al., 2008). Na Farmacopeia Brasileira 6^aed. o peróxido de carbamida está descrito sob a forma de cristais ou pó cristalino branco, que decompõe ao contato com o ar em ureia, oxigênio e água, sendo solúvel em água, produto que deve ser armazenado em recipientes bem fechados e é considerado um agente oxidante (ANVISA, 2019). Os dados de segurança o descrevem como material corrosivo (FERNANDES, 2017).

Os produtos clareadores a base de peróxido de carbamida, comumente são encontrados no mercado odontológico na forma de gel, possuem em sua composição o peróxido de hidrogênio que é fundamental para a ocorrência do clareamento da estrutura dental. Destaca-se que, após o contato do peróxido de carbamida com a estrutura dental, com a umidade bucal e a com saliva, ele dissocia-se em peróxido de hidrogênio, que se decompõe em água e oxigênio e a ureia em gás carbônico e amônia. O oxigênio proveniente do peróxido de hidrogênio atua como o principal princípio ativo para o clareamento dental (BRASILINO, 2014; DOMINGUES, 2014).

Já o peróxido de carbamida se degrada em ureia, em seguida em amônia e gás carbônico. Vale ressaltar que a amônia desempenha função importante na elevação do pH salivar e da placa bacteriana, fazendo com que os agentes clareadores que apresentam pH ácidos entre 4,8 a 5,2 não causem a erosão do esmalte. Portanto, os clareadores dentais a base apenas de peróxido de hidrogênio, não apresentam os efeitos de elevação do pH salivar, uma vez que a ureia liberada é proveniente do peróxido de carbamida (PEIXOTO et al., 2018). Assim, os produtos clareadores a base apenas de peróxido de hidrogênio não

apresentam, necessariamente, as mesmas vantagens como o demonstrado pelos produtos clareadores a base de peróxido de carbamida (BRASILINO, 2014; DURÁN et al., 2018).

O peróxido de carbamida, além de ser muito utilizado como agente clareador, pode ser empregado no alívio da inflamação das gengivas, nas superfícies da mucosa oral e lábios (NETO et al., 2018). Também usado na emulsificação e dispersão da cera do ouvido e em algumas formulações para endodontia, utiliza-se das propriedades antissépticas do peróxido de carbamida durante o preparo químico-cirúrgico do canal radicular (FREITAS, 2015; GADANHA et al., 2013; SOARES et al., 2008).

O peróxido de carbamida na forma de gel pode ser aplicado diretamente (diferentes concentrações) sobre o esmalte dentário e é largamente encontrado no mercado odontológico (ARAÚJO et al., 2015). Para clareamento caseiro o peróxido de carbamida em gel é utilizado nas concentrações de 10 a 22%, já para o consultório ele é utilizado a 35%. Sendo que, de acordo com Neto et al. (2018) o gel de peróxido de carbamida 16% foi o agente clareador mais eficaz segundo o seu estudo. O peróxido de carbamida é o mais utilizado para clareamento caseiro e não precisa de calor e nem de condicionamento ácido (ARAÚJO et al., 2015).

2.6 Nanotecnologia

A nanotecnologia ainda não há uma definição única, mas é tida como um campo científico multidisciplinar que é baseado no desenvolvimento, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas com forma e tamanho na faixa do bilionésimo do metro (10^{-9} m), ou um milionésimo do milímetro (NOLASCO; SANTOS, 2017; SILVEIRA et al., 2019). Podendo apresentar vantagens, propriedades comportamentais, químicas e físico-químicas diferentes daquelas que não contêm esta tecnologia, ou seja, com tamanhos de partículas na escala macro (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019; LIMA, 2017; SILVEIRA et al., 2019).

O termo nanotecnologia foi utilizado pela primeira vez em 1974 por um cientista japonês chamado Norio Taniguchi, o qual definiu a nanotecnologia como um processo de separação, consolidação e deformação dos materiais em nível atômico ou molecular (SILVA, 2015).

No ano de 2000, no Brasil, iniciou o financiamento para nanotecnologia, com a criação do instituto de pesquisa financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

(CNPq/MCTI)(ALENCAR et al., 2017). Já em 2004, foi lançado a Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior (PITCE), onde ficou marcado pela retomada de políticas públicas voltadas para competitividade da indústria nacional, destacando a nanotecnologia como tecnologia portadora de futuro (ALENCAR et al., 2017).

Em 2005 foi lançado o Programa Nacional de Nanotecnologia, apoiado no Programa de Desenvolvimento da Nanociência e Nanotecnologia no âmbito do Plano Plurianual (ALENCAR et al., 2017). Em 2007 foi lançado Plano de ação em Ciência, Tecnologia e Inovação (CT&I). E em 2013 foi lançada a Iniciativa Brasileira de Nanotecnologia apresentada pelo MCTI, essa formalizou ações para criar, integrar e fortalecer as atividades governamentais, estimulando a interação com o setor privado para fomentar o desenvolvimento científico, tecnológico e inovativo na área de nanotecnologia (ALENCAR et al., 2017).

No Brasil, há um segundo Projeto de Lei nº 5.133/2013 que “Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia”, que até o presente momento nada foi publicado em diário oficial (BRASIL; FILHO, 2013). E em julho de 2019, foi publicado a Portaria 3.459, onde Institui a Iniciativa Brasileira de Nanotecnologia, como principal programa estratégico para incentivo da Nanotecnologia no país, que tem como objetivo estimular o desenvolvimento conjunto de novas tecnologias e a transferência de conhecimentos e tecnologias, associados a tecnologia, da academia para os setores público e privado, com vistas a geração de riqueza, emprego e crescimento nacional (MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, 2019). Vale ressaltar que, cabe a comunidade científica avaliar as tecnologias em desenvolvimento e buscar alternativas que reduza ou até elimine algum possível dano ao meio ambiente e a saúde humana, já que não possui nenhuma lei específica de como lidar com essa tecnologia (SILVEIRA et al., 2019).

A nanotecnologia tem sido apontada como a revolução tecnológica, que despertou um enorme interesse na comunidade científica ao longo das últimas décadas, sendo um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados. Além disso, com o aumento na demanda do consumidor por produtos inovadores, tecnológicos e com maior eficácia, diversos setores industriais e econômicos, começaram a investir em pesquisa e desenvolvimento de produtos cada vez mais eficazes, sofisticados e utilizando a nanotecnologia (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019; SILVEIRA et al., 2019). Tendo como princípio básico a construção de estruturas e

novos materiais a partir dos átomos, logo espera-se contribuições significativas em termos de benefícios e propriedades diferenciadas, podendo vir a impactar positivamente a qualidade de vida da sociedade (ALVES, 2017).

Atualmente, ocorre um alto investimento em pesquisas no setor de nanotecnologia, cosméticos e medicamentos tanto no Brasil quanto no mundo, estima-se que até 2020 serão movimentados mundialmente cerca de US\$3 trilhões em produtos contendo nanotecnologia, gerando aproximadamente 6 milhões de empregos em todo o Globo, e cerca de 20% de todos os produtos fabricados no mundo serão baseados na utilização da nanotecnologia (NOLASCO; SANTOS, 2017; SILVEIRA et al., 2019).

Uma das áreas em crescente desenvolvimento é a nanobiotecnologia ou nanomedicina, que engloba os estudos na área da saúde. Esta área abrange mais especificamente o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos em escala nanométrica, pois permite novas abordagens na entrega de fármacos, otimizando as propriedades farmacocinéticas e melhora na absorção, distribuição e excreção dos medicamentos (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019; MARQUES et al., 2019).

Os sistemas nanoestruturados mais utilizados, podem ser classificados em: microemulsões, cristais líquidos, nanocápsulas, nanoesferas, nanopartículas lipídicas sólidas, nanoemulsões, lipossomas e niossomas. Vale ressaltar que, estes sistemas podem modificar o perfil de liberação do princípio ativo, melhorar a estabilidade, aumentar o tempo de residência no local de ação e melhorar a solubilização nesses materiais (SILVA et al., 2014).

As microemulsões (MEs) são sistemas termodinamicamente estáveis e isotropicamente translúcidas de dois líquidos imiscíveis, usualmente água e óleo, estabilizados por um filme interfacial de tensoativos localizados na interface óleo/água que diminui a tensão superficial existente nesta camada, sendo que esse sistema geralmente envolve a combinação de três a cinco componentes: óleo, água, tensoativo, co-tensoativo e eventualmente um eletrólito (DAUDT et al., 2015; LAWRENCE; REES, 2012; MALAKAR et al., 2011; SALEM et al., 2018). A combinação das fases em proporções devidamente adequadas faz com que o sistema seja formado espontaneamente, sem a necessidade de forte agitação ou altas temperaturas (DAUDT et al., 2015; LEITE, 2009; MALAKAR et al., 2011). As microemulsões ainda podem ser definidas em função da sua composição química, apresentando uma grande diversidade estrutural e são constituídos de microgotículas dispersas e dinâmicas, que possuem

diâmetro variando entre 5-100 nm (DAUDT et al., 2015; SILVA et al., 2014). Pode-se organizar em sistemas tanto óleo em água (O/A), quanto água em óleo (A/O) ou bicontínuo. (LEITE, 2009).

Uma das vantagens das microemulsões, é a praticidade relacionada ao modo de obtenção do sistema, pois apresenta uma alta estabilidade e limpidez. Os sistemas microemulsionados frequentemente mais utilizados, acabam apresentando em sua formulação, álcoois de cadeia curta como o butanol, pentanol e hexanol, sendo que estes compostos apresentam certa toxicidade, com isso se tornam inadequados para fins farmacêuticos e cosméticos (LEITE, 2009; SILVA et al., 2015). Mas estas substâncias não são de uso obrigatório para a obtenção destes sistemas (LEITE, 2009). Portanto, o uso de microemulsões é considerado uma abordagem promissora, aumentando a liberação e permeação de substâncias tanto hidrofílicas quanto lipofílicas, contando que os óleos e tensoativos utilizados sejam seguros, atóxicos e não-irritantes (DAUDT et al., 2015; LEITE, 2009).

A água é um solvente anfiprótico neutro estruturado, caracterizado por apresentar auto associação entre as moléculas através da ligação hidrogênio, as propriedades físicas e químicas da água contribuem, juntamente com as dos tensoativos, co-tensoativos e óleos para definir as principais características das microemulsões (SILVA et al., 2015).

Já em relação aos óleos, o tamanho da cadeia alquílica do óleo influencia fortemente a distribuição do co-tensoativos nas fases oleosa e aquosa, interferindo diretamente com a composição e nas propriedades físico-químicas das microemulsões (SILVA et al., 2015). Na busca por sistemas microemulsionados seguros, tem-se utilizado bastante, óleos totalmente apolares, com cadeia média ou longa e também de óleos vegetais, como o de soja e rícino (SILVA et al., 2015).

Os tensoativos são compostos anfifílicos, orgânicos, ou seja, substâncias que possuem em estruturas moleculares duas regiões uma polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbica, o que permite a interação entre meios que apresentam polaridades diferentes como, por exemplo, água e óleo (LEITE, 2009). A principal característica para se usar tensoativos nos sistemas microemulsionados, é devido a formação de ambientes organizados, devido a presença das duas regiões, estes tendem a se distribuir nas interfaces entre as fases fluidas (SILVA et al., 2015), formando um filme molecular ordenado, reduzindo a tensão interfacial e superficial; desta maneira, é capaz de formar microemulsões do tipo água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A). Existem alguns

tensoativos, que são considerados pouco irritantes que podem ser citados como o Labrasol, Óleo de Rícino Hidrogenado e etoxilado (PEG 40), Triton® X-100, Span® 20, Tween® 80 e Tween® 60, estes têm demonstrado a capacidade de formar microemulsões, diminuindo o as reações toxicológicas e aumentando a importância farmacêutica destes sistemas (LEITE, 2009; SILVA et al., 2015).

Os co-tensoativos são responsáveis pela redução adicional da tensão superficial do sistema, levando à formação de uma camada interfacial mais estável e, conseqüentemente, aumentando a estabilidade das microemulsões (SILVA et al., 2015).

Para se obter formulações de sistemas microemulsionados, geralmente utiliza-se de diagramas de fase pseudoternários. É através deles, que é possível identificar os componentes mais adequados e suas concentrações para a obtenção de sistemas fisicamente estáveis. Analisando os diagramas de fases pode-se obter as regiões de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões O/A e A/O e possíveis cristais líquidos, conseqüentemente, a obtenção da formulação ideal (SILVA et al., 2015).

Várias características interessantes e importantes das microemulsões, como, solubilização aprimorada do ativo, boa estabilidade termodinâmica, facilidade de preparação e tamanho pequeno das gotículas, chamaram a atenção para seu uso nas indústrias farmacêutica e de cosméticos, ressaltando quando as microemulsões são preparadas com componentes biocompatíveis, seguros (DAUDT et al., 2015; MALAKAR et al., 2011; SILVA et al., 2015).

Dentre os sistemas nanoestruturados pode-se citar o cristal líquido que pode ser definido como toda substância que apresenta uma combinação entre um sólido e a fluidez de um líquido, estando assim em um estado intermediário entre o sólido e o líquido, denominado mesofase (CRISTIANO et al., 2014). Foi descoberto em 1888 acidentalmente por Friedrich Reinitzer e vem sendo alvo de estudos em diversas áreas, são aplicados em sabões, detergentes, liberação de fármacos, semicondutores, sensores e dispositivos eletroluminescentes e a aplicação mais comum em displays (LUCCA, 2018).

Os cristais líquidos também têm potencial para utilização em formulações cosméticas. Sabe-se que a aplicação desse sistema em formulações é um alvo de interesse tanto pela indústria farmacêutica, como pela cosmética, devido a algumas vantagens oferecidas, tais como aumento da solubilidade e estabilidade das formulações, possibilidade de incorporação de fármacos lipofílicos e hidrofílicos, liberação controlada de ativos, proteção contra degradação térmica e fotodegradação (FORMARIZ et al.,

2005; MISHRA et al., 2016). Os cristais líquidos representam, portanto, uma terceira fase numa emulsão, pois não podem ser definidos como fase interna ou externa. Este tipo de sistema pode ser facilmente detectado através de microscopia de luz polarizada, e são classificados em duas categorias: os termotrópicos e liotrópicos (MORAIS, 2006).

Os sistemas nanocápsulas são considerados nanovesiculares, pois apresentam um núcleo e invólucro, com tamanho de partícula na faixa de aproximadamente 100 a 500 nm. Para a formação deste sistema geralmente utiliza-se de policaprolactona, o ácido polilático, poli(ácido glicólico) e poli(ácido glicólico-co-ácido lático). Geralmente são utilizadas para proteger ativos sensíveis, reduzir odores indesejáveis e evitar incompatibilidades entre os ingredientes da formulação. Um dos primeiros produtos a utilizar as nanocápsulas foi um creme antirugas com vitamina A encapsulada (DAUDT et al., 2015).

As nanoesferas são formadas por uma matriz polimérica, sendo esta a diferença entre as nanocápsulas, onde a substância ativa pode ficar retida ou adsorvida, e não possuem óleo em sua composição. As nanoesferas podem ser utilizadas para encapsular ativos como fragrâncias e vitaminas. No caso das fragrâncias, este sistema ajuda no maior tempo de fixação sobre a pele. Outro exemplo inclui nanoesferas de poli(ácido glicólico-co-ácido lático) contendo vitaminas A, C e E (DAUDT et al., 2015).

As nanopartículas lipídicas sólidas são sistemas arranjados a partir de lipídeos sólidos. Suas características abrangem uma melhor capacidade de proteção de substâncias instáveis frente a degradação, capacidade de controle da liberação, excelente tolerabilidade, capacidade de formação de filme sobre a pele, possibilidade de modular a entrega da substância encapsulada, além de não apresentarem problemas relacionados à produção em grande escala e à esterilização. As nanopartículas lipídicas sólidas são adequadas para o transporte de substâncias lipofílicas que podem ser formuladas em sistemas a base de água. Os lipídeos utilizados incluem triglicerídeos, glicerídeos parciais, ácidos graxos, esteroides e cera. Como desvantagens, as nanopartículas lipídicas sólidas têm menor capacidade de manter a encapsulação do ativo, podendo haver a formação micelas, lipossomas, mistura de micelas e nanocristais (ASSIS et al., 2012; DAUDT et al., 2015).

As nanoemulsões consistem em uma dispersão muito fina, composta por uma fase de óleo (tal como triglicerídeos ou hidrocarbonetos) e uma fase aquosa (água ou água com algum eletrólito ou poliol), que se apresenta como gotas com diâmetro entre 200 a

500 nm (ASSIS et al., 2012; DAUDT et al., 2015). Este sistema é composto por óleo, água, e um ou mais agentes surfactantes, podendo ser uma dispersão óleo em água (o/a) ou água em óleo (a/o), apresenta elevada estabilidade cinética, devido ao tamanho diminuído da gotícula formada. Devido a este tamanho pequeno das gotas que são formadas neste sistema se tornam visualmente mais finas, quando comparadas as emulsões, menos opacas e levemente azuladas, fluidas e agradáveis ao toque. A fase aquosa pode conter ingredientes ativos e conservantes, enquanto a fase oleosa é tipicamente composta por óleo mineral, óleo de silicone, óleo vegetal, ésteres ou ácidos graxos ou ingredientes ativos lipofílicos. Uma das vantagens apresentadas pela utilização de nanoemulsões é o aumento da hidratação da pele e de sua elasticidade, uma vez que ocorre o aumento da permeabilidade e espalhabilidade. Uma das desvantagens deste sistema é o fato de não poderem ser formadas espontaneamente, sendo necessária energia, geralmente a partir de dispositivos mecânicos ou a partir do potencial químico dos componentes, o que diferencia das microemulsões. São sistemas que podem ser encontrados em uma grande variedade de produtos como óleos de banho, cremes para o corpo, preparações antirrugas e antivelhecimento (ASSIS et al., 2012; DAUDT et al., 2015).

Os lipossomas são definidos como vesículas esféricas que consistem em uma ou mais membranas fosfolipídicas naturais e sintéticas, envolvendo um núcleo aquoso, esta vesícula tem um diâmetro na faixa entre 5 a muitas centenas de nanômetros (DAUDT et al., 2015; SALEM et al., 2018). O principal componente lipídico do lipossoma é a fosfatidilcolina derivada do ovo ou lecitina de soja, sendo que o colesterol é usualmente incluído na composição para estabilizar a estrutura e, assim, gerar lipossomas mais rígidos. Sendo um dos sistemas potenciais de administração de medicamentos que aplicam a nanotecnologia para potencializar a eficácia terapêutica e reduzir as toxicidades dos medicamentos convencionais. Já que esses sistemas podem encapsular uma gama de princípios ativos, de natureza hidrofílica, lipofílica ou mesmo anfipáticas (DAUDT et al., 2015; SALEM et al., 2018).

Os niossomas são sistemas vesiculares preparados a partir de tensoativos não iônicos. Os tensoativos combinam com um ou mais componentes hidrofóbicos. Os niossomas podem fundir-se com os lipídeos do estrato córneo, e são capazes de melhorar a estabilidade e a disponibilidade dos ingredientes ativos bem como aumentar a sua penetração na pele. Formulações de niossomas foram inicialmente desenvolvidos pela

L'Oreal para aplicações cosméticas, mas também têm sido usados em aplicações alimentícias, pois podem encapsular tanto compostos hidrófilicos quanto lipofílicos (DAUDT et al., 2015).

Dentre as diversas vantagens apresentadas por estes sistemas nanotecnológicos, destaca-se a possibilidade de apresentarem de liberação de fármacos controlado e específico, permitindo a vetorização de fármacos a tecidos e células alvo (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019). Além de todas as vantagens e com todo o conhecimento científico, a nanotecnologia apresenta inúmeros desafios a serem enfrentados, como estudos toxicológicos, pré-clínicos e clínicos e regulamentação, para conhecer os reais riscos que a exposição às nanopartículas podem trazer para a saúde da população (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019).

2.7 Validação de método analítico

Com a grande exigência voltada para o desenvolvimento de novos produtos, principalmente os nanotecnológicos, tanto os laboratórios quanto os pesquisadores, visam compreender a produção e controle de qualidade destes produtos (PAGAN et al., 2019).

Com a evolução dos produtos, aumentou a exigência e a necessidade de demonstrar a qualidade de um método analítico, seja ele desenvolvido ou modificado, para quantificar ativos dos novos produtos (PAGAN et al., 2019). Isto ocorre devido à existência de possíveis erros (sistemáticos ou aleatórios) o que acarreta em alterações do resultado final (FILIPA; MARTINS, 2016; PEREZ, 2010). Pois, se resultados analíticos não forem confiáveis pode acarretar em conclusões erradas de estudos, levando a prejuízos irreparáveis (PEREZ, 2010). Para que possa garantir um controle efetivo, uma correta interpretação dos resultados gerados por um método analítico, este método deve sofrer uma avaliação, que é denominada como validação de método analítico (FILIPA; MARTINS, 2016; PEREZ, 2010).

Com isso, os laboratórios/pesquisadores precisam dispor de meios e critérios para demonstrar, que o método escolhido, seja ele modificado ou totalmente desenvolvido, atendam aos requisitos pretendidos (FILIPA; MARTINS, 2016; INMETRO, 2003). Vale ressaltar que, os laboratórios/pesquisadores devem se assegurar que os resultados obtidos são confiáveis e adequados para o fim pretendido e para que isso possa acontecer devem utilizar da validação (FILIPA; MARTINS, 2016; INMETRO, 2003).

A validação de um método analítico é um dos meios mais reconhecidos universalmente, como parte necessária para a garantia do sistema de qualidade. Comprovando através do fornecimento de evidências, que o uso específico do método pretendido foi atendido (BRASIL, 2017; G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018). Métodos analíticos validados e, portanto confiáveis, são requeridos para a submissão a agências reguladoras nacionais e internacionais em todas as áreas de controle de qualidade (G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018).

O principal objetivo de uma validação de método analítico, no controle de qualidade de produtos farmacêuticos, é demonstrar que o método é apropriado para determinada finalidade, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos, deve estar de acordo com o objetivo do estudo (G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018). Desta forma, garantindo que a metodologia analítica seja exata, precisa, estável, reprodutível e flexível sobre uma faixa específica de uma substância em análise (BRASIL, 2017; INMETRO, 2003).

Em 2003 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a RESOLUÇÃO – RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003 – o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos", com isto revogando a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002 (ANVISA, 2003). Devido a desatualização da RE 899, os profissionais e pesquisadores estavam cobrando por uma publicação de uma nova diretriz. Diante desta necessidade, a ANVISA em 11 de Julho de 2017 publicou a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, de 24 de Julho de 2017, com novas diretrizes e estabelecendo critérios de como conduzir as validações de métodos analíticos (LIMA, 2017). Segundo a RDC, a validação de método analítico pode ser definido como uma avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos (BRASIL, 2017).

Além desta RDC, existe uma publicação realizada pelo INMETRO com o DOQ-CGCRE-008 - Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos, que define validação como a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos (INMETRO, 2016). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicou em 2015 um Manual de Garantia da Qualidade Analítica - Áreas de Identidade e Qualidade de Alimentos e de Insumos, que define validação de método analítico como um estudo

experimental e documentado que objetiva demonstrar que o procedimento analítico avaliado é adequado à finalidade proposta, de forma a colaborar com a confiabilidade dos resultados obtidos (BRASIL - MAPA, 2015). Portanto, validação de método analítico no Brasil é regulamentado pelas três agências citadas.

Em âmbito internacional, a regulamentação, parâmetros e metodologias para validação de métodos analíticos é realizada de acordo com as normas do ICH - Harmonised Tripartite Guideline, estando em concordância com Food and Drug Administration (FDA), a International Organization for Standardization (ISO) (GUIDELINE, 2005; SANTOS et al., 2018a).

Portanto, é de suma importância que ocorra o desenvolvimento de novos métodos analíticos, pois consiste em uma alternativa de métodos já estabelecidos pelas farmacopeias (DIAS, 2019). Para que corra sucesso na validação de método analítico é necessário profissionais qualificados, padrões e reagentes de qualidade, equipamentos calibrados e um ambiente laboratorial adequado, para que possa desenvolver métodos analíticos eficazes e confiáveis (DIAS, 2019).

2.7.1 Parâmetros da validação de método analítico

A seletividade é o primeiro parâmetro a ser analisado durante a validação de um método analítico, pois se o método não for seletivo, os demais parâmetros serão comprometidos (DIAS, 2019). Uma amostra, consiste basicamente em analito de interesse que vai ser quantificado ou identificado, da matriz e de outros componentes que podem ter algum efeito no momento da análise, mas que não se quer quantificar ou identificar (INMETRO, 2016).

Assim sendo, a seletividade pode ser definida como o parâmetro que irá demonstrar que o método analítico é capaz de identificar ou quantificar apenas o analito de interesse, independente de existir componentes na amostra como impurezas, diluentes e componentes da matriz (BRASIL, 2017). Logo, o método é considerado seletivo pela precisão de distinguir a resposta de um analito dos outros (NETO; BARROS, 2005; PAGAN et al., 2019)

Segundo as exigências da RDC nº 166, nos ensaios quantitativos e ensaios limite, a seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência do diluente, da matriz, de impurezas ou de produtos de degradação (BRASIL, 2017). Já para os ensaios de identificação, deve

ser demonstrada sua capacidade de obter resultado positivo para amostra contendo o analito e resultado negativo para outras substâncias presentes na amostra (BRASIL, 2017).

A linearidade de um método analítico pode ser definida como a capacidade do método em produzir um sinal que seja diretamente proporcional à concentração do analito, dentro de um intervalo específico, de uma determinada amostra (DIAS, 2019; FILIPA; MARTINS, 2016; FORTI; ALCAIDE, 2011; PEREZ, 2010).

A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real (FORTI; ALCAIDE, 2011; PAGAN et al., 2019). Na prática, para traçar a curva de calibração são necessários definir, no mínimo, cinco pontos, não incluindo o ponto zero da curva, para que não existam eventuais erros associados (PAGAN et al., 2019). É construído um gráfico por meio da relação dos resultados obtidos nas análises (eixo y) com as concentrações utilizadas (eixo x), sendo calculado o coeficiente de correlação e determinação. (DIAS, 2019).

A RDC 166 preconiza que nos testes estatísticos, deve ser utilizado um nível de significância de 5% (cinco por cento). O coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990. O coeficiente angular deve ser significativamente diferente de zero (BRASIL, 2017).

O efeito matriz pode ser definido e deve ser determinado por meio da comparação entre os coeficientes angulares das curvas de calibração construídas com a SQR do analito em solvente e com a amostra fortificada com a SQR do analito (BRASIL, 2017).

Conforme preconizado na RDC 166, o efeito matriz deve ser determinado por meio da comparação entre as curvas de calibração. Utilizando no mínimo 5 concentrações diferentes e em triplicata. Onde o paralelismo das retas é indicativo de ausência de interferência dos constituintes da matriz e a sua demonstração deve ser realizada por meio de avaliação estatística adequada, adotando nível de significância de 5% (cinco por cento) no teste de hipóteses (BRASIL, 2017).

Para qualquer método quantitativo, deve-se estabelecer uma faixa de concentração do analito ou valores no qual o método pode ser aplicado. Geralmente, os analistas definem o intervalo de trabalho (com base no valor de concentração do analito que desejam analisar) e depois, a partir da curva de calibração, determinam se a relação entre o sinal e a concentração é linear, por isso é necessário obter vários pontos de calibração,

de preferência maior ou igual a cinco, para determinar o intervalo de trabalho (FORTI; ALCAIDE, 2011).

Durante a realização de testes quantitativos sempre se obtêm erros, quando se conhece as possíveis causas, é possível fazer com que os erros sejam insignificantes ou mínimos (DIAS, 2019). Para poder afirmar que um método é preciso significa que, os resultados obtidos por meio de ensaios independentes repetidos com as mesmas amostras, preparadas de acordo com o método analítico a ser validado, estão em valores muito próximos, a um valor central (BRASIL, 2017; DIAS, 2019; FILIPA; MARTINS, 2016). Logo, a precisão é expressa por meio da repetibilidade, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade (BRASIL, 2017).

Na repetibilidade é preconizado que as amostras sejam avaliadas sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica (BRASIL, 2017; DIAS, 2019). Levando a uma proximidade entre os resultados realizados por nove determinações em três concentrações, baixa, média e alta, ambas sendo compostas por três réplicas de cada, ou seis réplicas com concentração em teste individualmente preparadas (BRASIL, 2017; DIAS, 2019).

Precisão intermediária estabelece a precisão, a aproximação dos resultados obtidos de análises feitas no mesmo laboratório, contudo, realizada em pelo menos dois dias diferentes, por operadores distintos (BRASIL, 2017; DIAS, 2019).

E por fim, a reprodutibilidade é quando ocorre aproximação entre os resultados do método analítico testado, em laboratórios diferentes, sendo aplicado em aplicável em estudos colaborativos ou na padronização de métodos analíticos para inclusão desses em compêndios oficiais, mediante testes estatísticos adequados (BRASIL, 2017; DIAS, 2019).

A precisão deve ser demonstrada por meio da dispersão dos resultados, calculando o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições, também conhecido como coeficiente de variação, conforme a fórmula “ $DPR = (DP/CMD) \times 100$ ”, em que DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada (BRASIL, 2017).

A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro (BRASIL, 2017; DIAS, 2019).

O limite de detecção (LD) deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não

necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2017). Ou seja, o limite de detecção é a concentração mais baixa do analito que pode ser detectado de forma confiável e distinto de zero, mas não necessariamente quantificado. Para a estimativa do LD pode ser realizado por métodos específicos para técnicas visuais, de sinal/ruído, ou pelos dados da curva analítica.

Já o limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2017). Ou seja, é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Para a estimativa do LQ pode ser realizado por métodos específicos para técnicas visuais, de sinal/ruído, ou pelos dados da curva analítica.

A robustez pode ser definida como um parâmetro realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (BRASIL, 2017). No método quantitativo, as modificações causadas por variações no resultado final deverão ser avaliadas de acordo com os critérios da exatidão, já no caso de métodos qualitativos, tem que ser verificado se as variações causaram mudança na resposta analítica (DIAS, 2019).

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Desenvolver, caracterizar e avaliar a estabilidade de sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida para clareamento dental.

3.2 Objetivos específicos

- 3.2.1 Obter peróxido de carbamida;
- 3.2.2 Realizar controle de qualidade físico-químico das matérias-primas;
- 3.2.3 Obter e selecionar sistemas nanodispersos para veicular o peróxido de carbamida;
- 3.2.4 Caracterizar físico-quimicamente os sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida;
- 3.2.5 Validar método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos;
- 3.2.6 Determinar teor do peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos por espectrofotometria UV;
- 3.2.7 Avaliar a estabilidade dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida 16%;
- 3.2.8 Avaliar o potencial de clareamento dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida 16%.

4. Materiais e Métodos

4.1 Obtenção do peróxido de Carbamida

Em um balão de fundo chato de 250 mL foi adicionado 50 mL de peróxido de hidrogênio 37,0% (Êxodo Científica) e 50,000 g de ureia PA (Dinâmica), previamente triturada, posteriormente promoveu o aquecimento da mistura que não excedeu 35°C. A mistura resultante do balão foi devidamente acondicionada em ambiente protegido de luz por 24 horas (APPEL; MÁRCIA REUS, 2005). Transcorrido este período o precipitado sólido foi filtrado sob pressão reduzida em funil de vidro com placa sinterizada. Os cristais obtidos foram armazenados em embalagem plástica e mantido sob refrigeração (4 - 8°C), para posterior caracterização de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Americana (Figura 4) (USP, 2019).

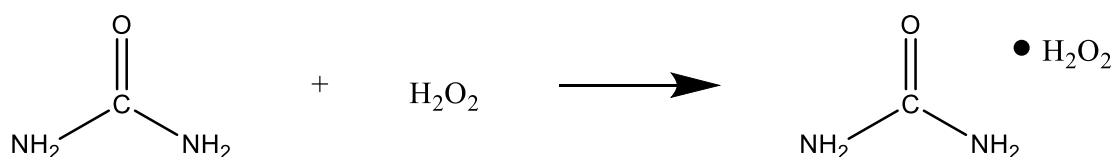


Figura 4. Esquema da síntese do peróxido de carbamida.

4.2 Controle de Qualidade físico-químico das matérias primas

Identificação de Peróxido de Carbamida

Foi preparada uma solução aquosa 10% (v/p) com o peróxido de carbamida 97,0% e adicionado 1 ml de ácido nítrico PA (Impex). Além disso, foi preparada uma solução aquosa 10% (v/p) com o PC que foi acidificado com ácido sulfúrico PA (Impex) para pH de 3,5, em seguida adicionado 0,100 g dicromato de potássio PA (Dinâmica), após agitação foi adicionado 1 ml de éter PA (Isofar) e observou a mudança na coloração da solução (USP, 2019).

Determinação do teor de peróxido de carbamida por volumetria de oxirredução - iodometria

Foi transferido quantitativamente 100,0 mg do SQR de peróxido de carbamida 97,0% (PC) (Sigma-Aldrich), para um a um erlenmeyer de 500 mL. Foram adicionados 25 mL de água deionizada, obtida pelo sistema de purificação Milli-Q (Millipore, EUA), 5 mL de ácido acético glacial P.A (Proquímios), 2,000 g de iodeto de potássio PA (Êxodo científica) e uma gota de molibdato de amônio TS. O frasco foi devidamente vedado e deixado em repouso por dez minutos. Foi realizada uma titulação do iodo liberado com o tiosulfato de sódio 0,103 M, acrescentando 3 mL de solução de amido (Êxodo científica) até o ponto final. Cada mL de tiosulfato de sódio 0,103 M, é equivalente a 4,840 mg de peróxido de carbamida (Figura 5) (USP, 2019).

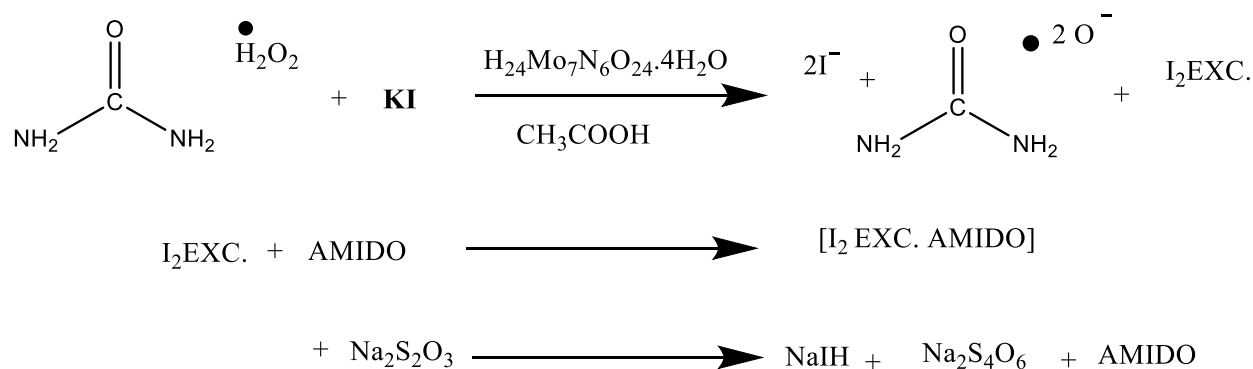


Figura 5. Esquema da análise quantitativa iodométrica do peróxido de carbamida.

Identificação da Ureia

Foi determinado o ponto de fusão no aparelho de ponto de fusão (PFM II). Ponto de fusão esperado 132 °C a 135 °C.

Para reações de identificação, em um tubo de ensaio foi dissolvido 0,100 g de ureia em 1 ml de água, em seguida foi adicionado 1 ml de ácido nítrico. Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,500 g de ureia e levou ao aquecimento, após resfriamento, foi dissolvido em 1 ml de solução aquosa 10% (p/v) de hidróxido de sódio PA (Isosfar) e adicionado mais 10 ml de água e 0,05 ml de solução aquosa 10% (p/v) de sulfato de cobre PA (Dinâmica) e observou a mudança da coloração da amostra (PHARMACOPOEIA EUROPEIA, 2011).

Identificação do peróxido de hidrogênio

Foi transferido 1 mL peróxido de hidrogênio 37% para um balão volumétrico de 100 mL, e diluído com água até completar o volume. Após uma alíquota de 20 mL desta solução foi retirada e transferida para um erlenmeyer com adição de 20 mL de ácido sulfúrico 2M e titulado com permanganato de potássio 0,1M. Cada mL de permanganato de potássio 0,1M é equivalente a 1,701 mg de peróxido de hidrogênio (USP, 2019).

4.3 Preparação e seleção dos sistemas nanodispersos

4.3.1 Construção do Diagrama de Fases Pseudo-Ternário

Foi construído um diagrama de fase de maneira tradicional por titulação lenta de uma série de misturas de óleo/tensoativos com uma fase aquosa, à temperatura ambiente. O diagrama construído tem a seguinte composição: fase oleosa composta por Miristato de Isopropila da Mapric (São Paulo, Brasil), a fase aquosa composta por água purificada e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por monooleato de glicerila (Span 80, Sigma Aldrich) Monolaurato de sorbitano etoxilado (Tween 20, Mapric)) e óleo de rícino hidrogenado e etoxilado (PEG 40, Mapric) na proporção de 1:1:1 (p/p/p).

4.3.2 Seleção dos sistemas nanodispersos

O sistema nanodisperso foi selecionado a fim de se verificar a influência tanto da (i) porcentagem de óleo como da (ii) mistura de tensoativos na veiculação do peróxido de carbamida. O diagrama obtido apontou a quantidade exata de óleo, tensoativo e fase aquosa, utilizados para obter o sistema. O peróxido de carbamida foi incorporado durante o preparo do sistema. A formulação com o peróxido de carbamida foi caracterizada conforme descrito nos itens a seguir.

4.4 Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida

4.4.1 Microscopia de luz polarizada

A amostra selecionada a partir do diagrama de fase foi observada em Microscópio de Luz Polarizada. A amostra contendo peróxido de carbamida e a amostra sem ativo foram colocadas sobre lâminas de vidro cobertas por lamínulas e, posteriormente observadas no microscópio (Olympus BX-50).

4.4.2 Tamanho das gotículas e Índice de Polidispersividade

O tamanho de gotículas e o índice de polidispersividade do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado por dispersão dinâmica de luz utilizando um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK) com ângulo fixo de 173°, à temperatura de 25°C. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados foram coletados e analisados no Zetasizer Software (v. 6.12).

4.4.3 pH

O valor de pH do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado por um pHmetro MS- Tecnopom Instrumentação®, modelo mpA-210.

4.4.4 Condutividade

A condutividade (em $\mu\text{S}/\text{cm}$) do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado à temperatura ambiente com o auxílio de um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK) a fim de se prever se o sistema isotrópico em estudo apresenta água ou óleo na fase externa.

4.4.5 Potencial Zeta

O sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida teve o potencial zeta determinado por dispersão de luz eletroforética utilizando um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK), à temperatura de 25°C. A análise foi realizada em triplicata. Os dados foram coletados e analisados no Zetasizer Software (v. 6.12).

4.5 Validação de Método Analítico

O método proposto foi validado de acordo com os parâmetros recomendados pelos órgãos reguladores como a RDC 166 de 24/07/2017 da ANVISA (BRASIL, 2017), que estabelece critérios para a validação de métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção e recomendações do ICH (GUIDELINE, 2005). Os parâmetros avaliados foram: seletividade, linearidade/faixa de trabalho, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação e robustez. A confiabilidade estatística dos resultados foi estabelecida a

partir do desvio padrão relativo (RSD%). Os resultados foram tratados por análise estatísticas utilizando o software Action (EQUIPE ESTATCAMP, 2014).

4.5.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação das absorbâncias obtidas na região 350 nm de cada solução na presença e ausência do meio reacional. As amostras foram; a SQR (PC 16%), a solução amostra (sistema nanodisperso com PC 16%), a solução branca (sistema nanodisperso sem PC) e a amostra contendo apenas ureia na concentração de 16% (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.5.2 Linearidade/ Faixa de Trabalho

A linearidade do método foi determinada através da construção de três curvas analíticas na faixa de 0,00128 mg.mL⁻¹ a 0,00192 mg.mL⁻¹, abrangendo a faixa de trabalho de 80% a 120% da concentração teórica da formulação teste. Para a construção da curva de calibração foram preparadas cinco concentrações diferentes de PC (0,00128, 0,00144, 0,0016, 0,00176, 0,00192 mg.mL⁻¹) a partir da SQR de PC. Sendo que a linearidade foi verificada pela representação gráfica média das três curvas obtidas, pela representação gráfica da dispersão dos resíduos, por regressão linear estimada pelo método dos mínimos quadrados, coeficiente de correlação (r), de determinação (r²) e a avaliação do coeficiente angular (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.5.3 Precisão

4.5.3.1 Repetibilidade

A repetibilidade do método foi verificada pelo mesmo analista, mesma instrumentação e nas mesmas condições de trabalho, avaliando o intervalo linear do método analítico, ou seja, nas concentrações de 80, 100 e 120% (3 réplicas). Sendo avaliado de acordo com o objetivo do método (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.5.3.2 Precisão Intermediária

A precisão intermediária do método foi determinada através da análise de variações dentro do mesmo laboratório, em dois dias diferentes e por analistas diferentes.

Avaliando seis réplicas na concentração de 100%. Foi expresso pela proximidade entre os resultados obtidos das análises.

As análises para a repetibilidade e precisão intermediária foram realizadas em triplicatas. Os dados foram avaliados calculando o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições. Além disso, foi calculado o p-valor para a relação dia e analista (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.5.4 Exatidão

A exatidão do método foi determinada a partir de determinações nas concentrações de 80, 100 e 120% com três réplicas cada, ou seja, nove determinações contemplando o intervalo linear. As amostras foram preparadas de forma independentes, onde o analito em estudo foi adicionado à matriz. A exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.5.5 Limite de Quantificação

O limite de quantificação, ou seja, a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão, foi determinado baseado em parâmetros de três curvas analíticas, sendo calculado pela equação representada na figura 6 (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC}$$

Em que:

σ é o desvio padrão

IC é a inclinação da curva de calibração

Figura 6. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de quantificação.

4.5.6 Limite de Detecção

O limite de detecção, ou seja, a menor quantidade do analito presente em uma amostra, porém, não necessariamente quantificado, foi determinado baseado em

parâmetros de três curvas analíticas, sendo calculado pela equação representada na figura 7 (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC}$$

Em que:

σ é o desvio padrão

IC é a inclinação da curva de calibração

Figura 7. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de detecção.

4.5.7 Robustez

A robustez, capacidade do método em resistir pequenas variações das condições analíticas foi determinada em triplicata, na concentração 100%, a partir de soluções de PC, variando diferentes lotes de solventes e o modelo do espectrofotômetro, para avaliar estatisticamente foi utilizado o *Test T*-pareado (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

4.6 Determinação teor do peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos por espectrofotometria UV

Foi transferido 1,000 g do sistema contendo 0,1600 g peróxido de carbamida 98,68% para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água purificada. Desta solução, foi transferido 1 mL para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água deionizada. Foi retirada uma alíquota de 1 mL e transferido para um balão de 10 mL, em seguida foi adicionado o meio reacional (1 mL de ácido acético glacial PA, 2 mL de uma solução de Iodeto de Potássio 200 mg.mL⁻¹ e 20 microlitros de molibdato de amônio 0,065 mg.mL⁻¹). Avolumou-se com água deionizada e a solução foi deixada em repouso por 10 minutos, obtendo-se uma solução com concentração de 0,0016 mg.mL⁻¹. Após, foi realizado a leitura no espectrofotômetro de absorção atômica no comprimento de onda de 350 nm.

4.7 Avaliação de estabilidade

4.7.1 Teste de estabilidade preliminar – Centrifugação

O sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi centrifugado a 1710,54 rfc (força centrífuga rotativa) ou seja, 3000 rotações por minuto, imediatamente

após o preparo, por 30 minutos, à temperatura ambiente, a fim de se determinar sua estabilidade como um sistema isotrópico de fase única (ANVISA, 2004).

4.7.2 Estresse térmico

As amostras selecionadas foram submetidas ao aquecimento (estufa) na faixa de temperatura de 40 a 80°C \pm 5°C, durante ciclos de 30 minutos, com incrementos de temperatura de 5°C após cada ciclo. Após o término do teste, as amostras foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico, pH, potencial zeta e tamanho de gotículas, que foram registrados em cada ciclo em que as amostras foram submetidas a fim de avaliar a estabilidade (ANVISA, 2004).

4.7.3 Avaliação da estabilidade acelerada

As amostras foram submetidas a diferentes temperaturas (4 \pm 2°C, 25 \pm 2°C, 40 \pm 2°C) (BRASIL, 2004), por um período de 90 dias. As avaliações foram realizadas no tempo zero, 1°, 7°, 15°, 30°, 60° e 90° dias. As amostras foram avaliadas quanto a possíveis alterações nos aspectos macroscópicos, teor, variações nos valores de pH, condutividade, potencial zeta e tamanho de gotículas (ANVISA, 2004).

4.8 Avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%

Para a realização deste teste de clareamento, foram utilizados dentes bovinos, cordialmente cedidos pela Profa. Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas. Para analisar o potencial clareador da formulação, realizaram-se as seguintes etapas:

4.8.1 Manchamento

Os dentes bovinos passaram por uma etapa prévia de manchamento. Todos os dentes foram imersos em uma preparação de 120g do café Evolutto Extraforte para 1 litro de água destilada fervente. A mistura foi filtrada, e os 20 dentes foram colocados imersos no filtrado, o qual foi renovado diariamente por 7 dias consecutivos. A técnica foi baseada em Meireles et al., 2012.

4.8.2 Avaliação do clareamento dental

Para verificar as alterações de cor sofridas pelos dentes bovinos tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% foi utilizado o Espectrofotômetro de cor portátil – modelo SP62S (Espectrofotômetro de geometria

esférica, D/8°, X-Rite Incorporated, USA, 11/2012) (Figura 8), após a etapa de manchamento (prévia ao clareamento) e após a etapa de clareamento.



Figura 8. Espectrofotômetro de Cor Portátil X-Rite.

O padrão de observação simulado pelo método de refletância utilizado segue o sistema CIE $L^*a^*b^*$, recomendado pela CIE (Commission Internationale de L'Éclairage) (COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE, 2004) e amplamente usado atualmente. Unidades CIELAB, as quais quando analisadas matematicamente comparam os parâmetros de cor de diferentes objetos, são usadas para quantificação de cor (OKUBO et al., 1998). No sistema CIELAB, o espaço de cor consiste de três coordenadas: L^* , a^* e b^* . A coordenada L^* refere-se à coordenada de luminosidade, sendo sua faixa de valores de 0 (zero) para o perfeitamente preto a 100 (cem), para o perfeitamente branco. Já a^* e b^* são coordenadas de cromaticidade ou tonalidade, sendo a^* o eixo vermelho-verde e b^* o eixo amarelo-azul. Valores positivos de a^* indicam faixa de cor vermelha e valores negativos indicam faixa de cor verde. De maneira semelhante, valores positivos de b^* indicam faixa de cor amarela enquanto que valores negativos indicam faixa de cor azul (UCHIDA et al., 1998). As diferenças nas coordenadas luminosidade e cromaticidade (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) como resultado de uma exposição à luz UV foram determinadas e utilizadas para determinar a variação total de cor (ΔE^*_{ab}), calculada usando a relação abaixo (KNISPEL, 1991).

$$\Delta E^*_{ab} = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

onde

$$\Delta L^* = L^*_1 - L^*_0 \text{ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)}$$

$$\Delta a^* = a^*_1 - a^*_0 \text{ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)}$$

$$\Delta b^* = b^*_1 - b^*_0 \text{ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)}$$

Os dentes bovinos foram divididos em quatro grupos, com cinco dentes cada: (1) sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%; (2) sistema nanodisperso (sem PC); (3) Whiteness Perfect 16% FGM[®] (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol) e (4) Gel de Carbopol (sem PC). Posteriormente, cada um dos 4 produtos acima descritos foram colocados na superfície dos dentes com auxílio de hastes flexíveis contendo microcerdas Microbrush[®] e deixados em contato por um período de 2 horas, sendo lavados com água destilada e secos com papel absorvente. Este procedimento foi repetido por 15 dias. Após este período de tratamento, os dentes tiveram sua cor novamente determinada.

Para a determinação da cor dos dentes, estes foram posicionados em um molde de material emborrachado e posteriormente foram acoplados ao espectrofotômetro que, após o acionamento, na superfície do dente, detectou e registrou os valores de L^* , a^* e b^* de cada dente.

4.9 Tratamento dos resultados e análise estatística

Os cálculos estatísticos bem como todas as representações gráficas foram elaborados através dos programas GraphPad Prism[®] versão 6.0 cálculos adicionais foram realizados com auxílio do programa Microsoft[®] Excel 2013. Variações inter-grupo de diferentes parâmetros foram estimadas pela análise estatística de variância (ANOVA); tratamentos qualitativos foram comparados usando o teste de Tukey, com intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O teste t de *Student* foi utilizado para verificar o pareamento e comparar a variação entre dois grupos de tratamento.

5. Referências

ALENCAR, M. S. DE M. et al. Analysis of brazilian scientific articles about nanotechnology and health. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2017.

ALMEIDA, T. C. A. **Avaliação da estabilidade de emulsões concentradas em bebidas**. Dissertação de pós-graduação da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

ALVES, O. L. Nanotecnologias: elas já estão entre nós.... **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 22–23, 2017.

AMORIM, A. C. P. DE. **Clareamento dental em pacientes com sensibilidade: Efeito do uso prévio de dentifrícios dessensibilizantes**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas. 2017.

ANVISA. **RE Nº 899. Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasil, 2003.

ANVISA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos - séries temáticas** Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasil 2004. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>

ANVISA. **RDC Nº 3**, 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0003_18_01_2012.pdf>

ANVISA. **Farmacopeia Brasileira, 6ª edição**, 2019.

APPEL, G.; MÁRCIA REUS. **Formulações Aplicadas a Odontologia**. 2. ed. São Paulo - SP: 2012.

ARAÚJO, J. L. DOS S. et al. Técnicas de clareamento dental - revisão de literatura. **Revista Pró-UniverSUS**, v. 06, n. 03, p. 35–37, 2015.

ASSIS, L. M. DE et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.

BARBOSA, D. C. et al. Estudo comparativo entre as técnicas de clareamento dental em

consultório e clareamento dental caseiro supervisionado em dentes vitais: uma revisão de literatura. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 27, n. 3, p. 244, 2015.

BERSEZIO, C. et al. One-year bleaching efficacy using two HP products with different pH: A double-blind randomized clinical trial. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, n. May, p. jerd.12505, 2019.

BERTAZZO, E. L.; ANZILIERO, C. A.; ANZILIERO, L. Estudo dos efeitos do clareamento dental sobre o esmalte : uma revisão das evidências para a indicação. **Revista Perspectiva**, v. 38, n. 141, p. 99–108, 2014.

BHASKAR, S. N. **Histologia e Embriologia Oral**. 10. ed. 1989.

BRASIL. **RDC Nº 166. Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasil, 2017. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>

BRASIL - MAPA. **Manual de garantia da qualidade analítica** Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica. / Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária**, 2015. Disponível em: <[file:///C:/Users/carol/Downloads/Manual-de-Garantia-Analitica-ilovepdf-compressed-ilovepdf-compressed \(3\).pdf](file:///C:/Users/carol/Downloads/Manual-de-Garantia-Analitica-ilovepdf-compressed-ilovepdf-compressed%20(3).pdf)>

BRASIL; FILHO, S. **Projeto de Lei Nº 5133 DE 2013**, 2013.

BRASILINO, M. **Mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio no clareamento dental: uma revisão de literatura**. Trabalho de conclusão de curso da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.

CALDAS, A. et al. Produtos Clareadores Over the Counter. **Revista Bahiana de Odontologia**, v. 6, n. 2, p. 113–121, 2015.

CARDONA, M. I. et al. Development and in vitro characterization of an oral self-emulsifying delivery system (SEDDS) for rutin fatty ester with high mucus permeating properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 180–186, 2019.

CASTRO, C. M. L. DE et al. Spectrophotometric assessment of tooth bleaching under orthodontic braquets bonded with different materials. **Revista de Odontologia da**

UNESP, v. 46, n. 5, p. 267–272, 2017.

CASTRO, S. S. et al. Clareamento Dental Em Pacientes Com Hipersensibilidade: Série De Casos. **Journal of Dentistry & Public Health**, v. 6, n. 1, 2015.

CLÁUDIO, M. C. et al. Development, characterization and stability study of nanometric systems containing hydrogen peroxide for dental bleaching. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 11, p. 4551–4564, 2017.

COELHO, E. R. C. et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para análise de 2,4-D, 2,4-DCP e 2,4,5-T para monitoramento em água de abastecimento público. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1043–1051, 2018.

COLOGNI, J. **Clareamento endodôntico revisão bibliográfica e caso clínico**. Dissertação. Trabalho de conclusão de curso da Universidade Estadual de Londrina, 2013.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE. CIE 15: Technical Report: Colorimetry. **CIE Publication 15**, v. 552, n. 3, p. 1–82, 2004.

CRISTIANO, R. et al. Synthesis of liquid crystals derived from nitroazobenzene: a proposed multistep synthesis applied to organic chemistry laboratory classes. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 181–185, 2014.

CUNHA, A. C. DA. **Polpa Dental: constituintes e respostas frente a agentes agressores**. Trabalho de conclusão de curso da Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

DANTAS, L. DOS S. et al. Teeth whitening and its effects on the enamel morphological structure : a bibliographic review. **Revista Unimontes Científica**, v. 19, n. 1, p. 159–169, 2017.

DAUDT, R. M. et al. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e Cultura**, v. 65, n. 3, p. 28–31, 2015.

DIAS, F. R. S. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos**. Dissertação da pós-graduação da Universidade de São Paulo, 2019.

DOMINGUES, R. I. **Efeitos adversos do clareamento externo a estrutura dental**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Estadual de Londrina. 2014.

DORA, C. L.; PRIMO, F. T.; ARAÚJO, G. D. M. S. Bioethical Reflections on Innovation in Nanomedicines. **Revista de Bioética y Derecho Perspectivas Bioéticas**, n. c, p. 197–212, 2019.

DURÁN, G. et al. Evaluation of color change using CIE LAB coordinates on tooth structure subjected to different concentrations of peroxide carbamide. **Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral**, v. 11, n. 3, p. 143–146, 2018.

EQUIPE ESTATCAMP. **Software Action**São Carlos - SP, Brasil, 2014. Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br/>>

FERNANDES, M. B. **Análise de alteração superficial do esmalte bovino submetido a agentes clareadores e substâncias com pH ácido**. Trabalho de conclusão de curso da Universidade de Santa Cruz do Sul, 2017.

FERREIRA, R. M.; ZATTI, R. A. Protocolo para Ensaio de Estabilidade Físico-Química de Fitocosméticos. **Anais V SIMPAC**, v. 5, p. 493–500, 2013.

FILIPA, A.; MARTINS, S. **Implementação e validação de métodos analíticos**. Dissertação de Mestrado em Química, Área de especialização em Controle de Qualidade e Ambiente. Universidade de Coimbra. 2016.

FIORILLO, L. et al. Dental whitening gels: strengths and weaknesses of an increasingly used method. **Revista Gels**, v. 5, n. 3, p. 35, 2019.

FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, 2005.

FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. **Validação de métodos analíticos do laboratório de aerossóis, soluções aquosas e tecnologias - LAQUATEC**. Brasil, 2011. Disponível em: <<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/39QJ7P2>>

FRANCCI, C. et al. Clareamento dental – Técnicas e conceitos atuais. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, n. 1, p. 78–89, 2010.

FREITAS, C. M. D. DE. **Teor de Peróxido de Carbamida em Clareadores Dentais Manipulados na cidade de Cascavel - PR.** Trabalho de Conclusão de Curso da Faculdade Assis Gurgacz, 2015.

G. CASTEX, M.; M. P. ABRANTES, S. Analytical Method Validation for Determination of Tuberculostatics in Fixed Dose Combination by Capillary Electrophoresis. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 6, p. 2237–2256, 2018.

GADANHA, A. N. et al. Stability of carbamide peroxide in gel formulation as prepared in Brazilian compounding pharmacies. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 94, n. 2, p. 115–119, 2013.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. **Cosméticos: a química da beleza.** 2011.

GIMENEZ, F. N. **A estética do Sorriso.** Trabalho Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Estadual de Londrina. 2016.

GOES JUNIOR, E. et al. Validação De Método Espectrofotométrico De Análise Para a Quantificação De Ácido Acetilsalicílico Em Formulações Farmacêuticas: Uma Proposta De Aula Experimental Para Análise Instrumental. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 99–104, 2018.

GOMES, C. DE S. et al. Avaliação de hipersensibilidade dentinária em função do procedimento clareador: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 194–197, 2014.

GREYCE A., S.; MARA E.F., B.; HUGO T.S., B. A Química na Odontologia. **Química Nova na Escola**, v. 39, p. 4–11, 2017.

GUIDELINE, I. H. T. **Validation of Analytical Prodedures: Text and Methodology Q2(R1)**, 2005.

INMETRO. **Orientações Sobre Validação De Métodos De Ensaio Químicos - Doq-Cgcre-008**Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial, 2003. Disponível em:

<http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_01.pdf>

INMETRO. Doq-Cgcre-008 - Orientação Sobre Validação De Métodos Analíticos.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, p. 31, 2016.

ITO, Y.; OTSUKI, M.; TAGAMI, J. Effect of pH conditioners on tooth bleaching. **Clinical and Experimental Dental Research**, n. November 2018, p. 212–218, 2019.

JUNIOR, E. J. A. G. et al. UV spectrophotometry analytical method validation for quantification of paracetamol in oral solution. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 4, p. 1747–1759, 2017.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e Embriologia Oral**. 2012. v. 3

KNISPTEL, G. Factors affecting the process of color matching restorative materials to natural teeth. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**, v. 22, n. 7, p. 525–31, 1991.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 175–193, 2012.

LEITE, M. F. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsões contendo extrato e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* para enxaguatório bucal**. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, 2009.

LIMA, F. V. **Estratégia de vetorização por nanotecnologia do ativo peróxido de carbamida para clareamento dental**. Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina. 2017.

LUCCA, É. G. **Síntese e Caracterização de Cristais Líquidos Doscóticos Derivados da Quercetina**. Dissertação de mestrado ao Programa de Pós- Graduação em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2018.

MACHADO, D. A. T. **Anomalias Dentárias e a Sua Importância no Processo de Identificação Humana**. Dissertação de Mestrado da Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde Porto, 2014.

MALAKAR, J. et al. Development and Evaluation of Microemulsions for Transdermal Delivery of Insulin. **ISRN Pharmaceuticals**, v. 2011, p. 1–7, 2011.

MANDARINO, F. **Clareamento Dental Caseiro**. Brasil. 2010.

MARQUES, C. S. F. et al. Use of pharmaceutical nanotechnology for the treatment of leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, n. 0, p. 0–1, 2019.

MARTINI, E. C. et al. Bleaching-induced tooth sensitivity with application of a desensitizing gel before and after in-office bleaching: a triple-blind randomized clinical trial. **Clinical Oral Investigations**, 2019a.

MARTINI, E. C. et al. Does the use of reservoirs in bleaching trays have any impact on the efficacy of at-home bleaching? A systematic review and meta-analysis. **Brazilian Dental Journal**, v. 30, p. 285–294, 2019b.

MATIAS, M. N. A. et al. Detin hypersensitivity: a review of literature. **Revista odontologia clínico- científica**, v. 9, n. 3, p. 205–208, 2010.

MAY, C. et al. **Gel de peróxido de carbamida: Critérios a manipulação**. Curitiba: Equilibra Instituto, 2006.

Ministério da Ciência, Tecnologia. **PORTARIA Nº 3.459, DE 26 DE JULHO DE 2019** Brasil, 2019. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-n-3.459-de-26-de-julho-de-2019-209514505>>

MISHRA, K. G. et al. Comparative study of nanoparticles doped in Liquid Crystal Polymer System. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, p. 668–671, 2016.

MJÖR, I. A.; NORDAHL, I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 41, n. 5, p. 401–412, 1996.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo Faculdade, 2006.

NETO, C. F. DE L. et al. Tooth whitening affects bond strength of adhesive systems in enamel. **Revista Materia**, v. 23, n. 4, p. 3–10, 2018.

NETO, L. G. A.; BARROS, K. V. G. **Validação Analítica Quantitativa : Comparação entre os parâmetros de desempenho da ANVISA e do INMETRO**. Dissertação de Mestrado Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2005.

NOLASCO, L. G.; SANTOS, N. DOS. Avanços Nanotecnológicos E Os Desafios Regulamentares. **Revista da Faculdade de Direito da UFMG**, v. 71, p. 375–420, 2017.

OKUBO, S. R. et al. Evaluation of visual and instrument shade matching. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 80, n. 6, p. 642–648, 1998.

PAGAN, F. DE S. et al. Validação de método analítico para quantificação do Fipronil por cromatografia líquida de alta eficiência. **Centro Científico Conhecer - Enci Bio**, p. 1261–1267, 2019.

PEIXOTO, A. C. et al. High-concentration carbamide peroxide can reduce the sensitivity caused by in-office tooth bleaching: a single-blinded randomized controlled trial. **Journal of Applied Oral Science**, v. 26, n. 0, p. 1–10, 2018.

PEREZ, M. Â. F. Validação De Métodos Analíticos: Como Fazer? **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 22, p. 1–9, 2010.

Pharmacopoeia Europeia. **British Pharmacopoeia**. 2011.

PINTO, W. T.; MIRENE, A.; LIMA, A. DE. Clareamento Dental De Consultório. **RFO**, p. 281–286, 2015.

PRÁ, V. D. et al. Formulation and characterization of ultrasound-assisted nanoemulsions containing palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq) in water. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 2, p. 941–947, 2019.

PRETO, V. L. S. M. **Desenvolvimento de microemulsões para aplicação tópica**. Dissertação apresentada à Escola Superior de Tecnologia e de Gestão do Instituto Politécnico de Bragança. 2016.

RAHMAN, M. A.; MUJAHID, M. Development of self-nanoemulsifying tablet (SNET) for bioavailability enhancement of sertraline. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 1, 2018.

RAMALHO, A. et al. Effect of bleaching teeth with hydrogen peroxide on the morphology, hydrophilicity, and mechanical and tribological properties of the enamel. **Wear**, v. 374–375, p. 21–28, 2016.

REZENDE, M. et al. Tooth sensitivity after dental bleaching with a desensitizer-containing and a desensitizer-free bleaching gel: a systematic review and meta-analysis. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 2, p. E58–E74, 2019.

RODRIGUES, R. F. et al. Development and characterization of evening primrose (*Oenothera biennis*) oil nanoemulsions. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 4, p. 422–425, 2015.

SALEM, H. F. et al. Development and characterization of a novel nano-liposomal formulation of Alendronate Sodium loaded with biodegradable polymer. **Ars Pharmaceutica**, v. 59, n. 1, p. 9–20, 2018.

SANTOS, G. M. DOS; PROCHNAU, I. S. Validação de Metodologia de Doseamento de Sulfametoxazol (matéria-prima) por espectrofotometria. **Saúde & Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 62–71, 2018.

SANTOS, P. D. S. et al. Analytical method development for fatty acid direct methylation in fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 8, p. 1645–1652, 2018a.

SANTOS, T. R. B. et al. Avaliação de diferentes protocolos no clareamento dentário. **Archives of Health Investigation**, v. 7, n. 10, p. 425–429, 2018b.

SILVA, A. C. C. DA. **Nanotecnologia em diagnóstico e terapia no Brasil**. [s.l.] UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2015.

SILVA, J. D. F. DA et al. Microemulsions: Components, Characteristics, Potentialities in Food Chemistry and Other Applications. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

SILVA, S. A. S. DA; FONSECA, R. B. **Influência da Aplicação Prévia de Dessensibilizantes no Clareamento Dental com Peróxido de Carbamida a 16% e Peróxido de Hidrogênio a 35%**. Dissertação apresentada na Faculdade de Odontologia da UFG, 2011.

SILVA, H. R. E et al. Validation of high-performance liquid chromatographic method for

analysis of fluconazole in microemulsions and liquid crystals. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, n. 2, p. 381–389, 2014.

SILVEIRA, C. C. DA et al. Scientometric study os nanocosmeticas. **Revista brasileira de iniciação científica**, p. 108–120, 2019.

SOARES, F. F. et al. Clareamento em dentes vitais: uma revisão literária. **Revista de Saúde**, v. 4, n. 1, p. 72–84, 2008.

SUNDFELD, R. H. et al. **Clareamento de Dentes Vitais com Peróxido de Carbamida**. Dissertação Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2013.

TEIXEIRA, L. M. DE S.; REHER, P.; REHER, V. G. S. **Anatomia Aplicada a Odontologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: 2012. v. 2

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (Helianthus annus L .) com cristal líquido : avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo, 2012.

UCHIDA, H. et al. Color stability of dental composites as a function of shade. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 79, n. 4, p. 372–377, 1998.

USP, U. P. C. **The United States Pharmacopeia**, 2019.

VIEIRA, B. et al. Consequência do clareamento em dentes vitais e na saúde geral do paciente. **Revista Campos do Saber**, v. 4, p. 33–47, 2018.

VILHENA, K. F. B. et al. Dental enamel bleached for a prolonged and excessive time: Morphological changes. **Revista Plos ONE**, v. 14, n. 4, p. 1–13, 2019.

6. Capítulo 1

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS NANODISPERSOS CONTENDO PERÓXIDO DE CARBAMIDA PARA CLAREAMENTO DENTAL

Lorena Alves de Oliveira Silva*¹, Mahala Correia Cláudio¹, Daniela Silva Barroso de Oliveira³, Brenda de Oliveira², Juliano Geraldo Amaral¹, Mateus Freire Leite^{1,2}

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil¹

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Brasil²

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, Brasil³

*Correspondência:

Lorena Alves de Oliveira Silva

Programa de Pós-graduação em Biociências,

Universidade Federal da Bahia,

Campus Anísio Teixeira,

Vitória da Conquista - BA

Email: Lorenaaosilva@gmail.com

RESUMO

O crescimento no ramo da odontologia estética tem aumentado, em consequência da exigência no padrão sorriso. Um sorriso saudável e bonito melhora a autoimagem e confiança, e está diretamente associada a busca por dentes mais brancos, o que torna o clareamento dental um procedimento bastante requisitado na atualidade. O clareamento consiste no resultado de uma complexa interação física e química entre o dente e o agente causador do manchamento. No ramo da odontologia tem-se pensado no desenvolvimento de novos produtos, a nanotecnologia tem sido apontada como a revolução tecnológica, que despertou um enorme interesse na comunidade científica ao longo das últimas décadas. Dentre os sistemas nanoestruturados pode-se citar as microemulsões e os cristais líquidos. Por se tratar de produtos envolvendo novas tecnologias, é necessário que métodos para a garantia de qualidade sejam devidamente desenvolvidos, sendo assim, a validação de um método analítico, é um dos meios mais reconhecidos universalmente,

como parte necessária para a garantia do sistema de qualidade. Neste trabalho foi desenvolvido, caracterizado e avaliada a estabilidade dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida 16% para clareador dental, com potencial de permeação nos canalículos dentinários a fim de otimizar o processo de clareamento. O método para quantificação do peróxido de carbamida por espectrofotômetro UV, foi devidamente validado conforme a RDC 166 - ANVISA. À formulação selecionada, a partir do diagrama de fases, foi incorporado o peróxido de carbamida a 16% e em seguida caracterizada (microscopia óptica, pH, tamanho de partículas, índice de polidispersividade, potencial zeta, condutividade). A formulação também foi submetida ao estudo de estabilidade preliminar e acelerada, além disso foi realizada a avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%. O produto contendo Peróxido de Carbamida 16% obteve valores de pH de $5,86 \pm 0,05$; potencial zeta de $-6,38 \pm 0,37$ mV; tamanho de gotículas de $22,52 \pm 0,37$ nm; Índice de Polidispersividade de $0,164 \pm 0,02$ e Condutividade de $0,163 \pm 0,001$ $\mu\text{s/cm}$. O método demonstrou ser linear, preciso, robusto, exato e apresenta limite de quantificação de $0,00019\text{mg.mL}^{-1}$ e detecção de $0,00007\text{mg.mL}^{-1}$. Apresentando faixa de trabalho $0,00128\text{mg.mL}^{-1}$ a $0,00192$ mg.mL^{-1} . O produto apresenta-se estável à baixas temperaturas e temperatura ambiente; no entanto, com pequenas alterações no pH, tamanho de gotícula e no teor à temperaturas elevadas. Observou-se aumento na variação de luminosidade e de cor dos dentes bovinos tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% em comparação com os dentes tratados com o produto comercial convencional Whiteness Perfect 16% FGM®. Os resultados obtidos sugerem um produto nanodisperso inovador de alto valor agregado, estável e capaz de substituir os clareadores convencionais mantendo, portanto, o objetivo de clareamento e com o diferencial deste sistema carreador poder levar a uma maior permeação do produto pelos canalículos dentinários.

Palavras-chave: Clareamento dental; peróxido de carbamida; microemulsão; validação de método analítico.

INTRODUÇÃO

A exigência no padrão estético envolvendo o sorriso tem levado a busca incessante pela perfeição, com isso o ramo da odontologia aumentou consideravelmente nos últimos anos. Um sorriso saudável e bonito melhora a autoimagem e confiança, projetando aos demais uma imagem de saúde, mas a busca do sorriso perfeito está diretamente associada à busca por dentes mais brancos, o que torna o clareamento dental um procedimento bastante requisitado na atualidade (VIEIRA et al., 2018).

A cor do dente está diretamente relacionada com a cor da dentina, sendo predominante amarelada, que pode ser mais clara ou mais escura em função da sua espessura e/ou da mineralização (GIMENEZ, 2016; TEIXEIRA; REHER; REHER, 2012). Logo, quando se trata em alterações na cor do dente, sabe-se que esse processo ocorre por fatores denominados extrínsecos ou intrínsecos. As alterações intrínsecas são

aquelas que podem estar ligadas a fatores como genética, idade, alterações na formação dos dentes, as doenças com distúrbios sistêmicos, os distúrbios caracterizados pela hipocalcemia, a febre reumática, a eristoblastose fetal e a porfiria congênita (ARAÚJO et al., 2015; COLOGNI, 2013). Já as alterações extrínsecas, são adquiridas após a erupção dentária, por sua vez, originam-se a partir da precipitação de substâncias químicas pigmentadas de produtos que se fixam na superfície do esmalte (CASTRO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b). Podendo citar as que estão presentes no café, no chá preto, no tabaco, em vinhos tintos, no chimarrão, na beterraba, em bebidas à base de cola, bem como hábito de higiene do paciente, como acúmulo de placa bacteriana e tártaro dentário (ARAÚJO et al., 2015; SANTOS et al., 2018b).

Os agentes clareadores são substâncias químicas que, quando entram em contato com o dente, tem a ação de remover as manchas do esmalte dentário. Os agentes clareadores mais utilizados são, o Peróxido de Carbamida e o Peróxido de Hidrogênio, ambos devem ser utilizados com a supervisão do profissional qualificado (FERNANDES, 2017; VILHENA et al., 2019). Diversas técnicas vêm sendo executadas com o objetivo de realizar o clareamento dental. Dentre as técnicas clareadoras utilizadas atualmente, destacam-se a técnica realizada em consultório (*in-office*), a técnica de clareamento caseiro supervisionado (*at-home*), os produtos de uso auto administráveis (ITO; OTSUKI; TAGAMI, 2019; MARTINI et al., 2019b; PEIXOTO et al., 2018; REZENDE et al., 2019).

O peróxido de carbamida (PC), pode ser encontrado sob o nome de peróxido de ureia ou ureia-peridrol, este é um cristal sólido, constituído de uma molécula de ureia ligada a uma molécula de peróxido de hidrogênio, conforme demonstrado na Figura 1 (FREITAS, 2015; GADANHA et al., 2013; LIMA, 2017; SOARES et al., 2008).

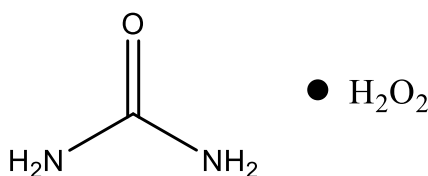


Figura 1. Estrutura molecular do peróxido de carbamida.

O PC é um produto da reação do peróxido de hidrogênio e da ureia. Sendo obtido por recristalização a partir de ureia em uma solução de peróxido de hidrogênio aquoso, na proporção de 1:1 (DURÁN et al., 2018; USP, 2019). Após a reação é obtido um

produto na forma sólida com maior estabilidade do que o próprio peróxido de hidrogênio (GADANHA et al., 2013; LIMA, 2017; SOARES et al., 2008).

Os produtos clareadores a base de peróxido de carbamida, comumente são encontrados no mercado odontológico na forma de gel, possuem em sua composição o peróxido de hidrogênio que é fundamental para a ocorrência do clareamento da estrutura dental. Destaca-se que, após o contato do peróxido de carbamida com a estrutura dental, com a umidade bucal e a com saliva, ele dissocia-se em peróxido de hidrogênio, que se decompõe em água e oxigênio. Já o peróxido de carbamida se degrada em ureia, em seguida em amônia e gás carbônico. A amônia desempenha função importante na elevação do pH salivar e da placa bacteriana, fazendo com que os agentes clareadores que apresentam pH ácidos entre 4,8 a 5,2 não causem a erosão do esmalte (PEIXOTO et al., 2018). Vale ressaltar que o oxigênio proveniente do peróxido de hidrogênio atua como o principal princípio ativo para o clareamento dental (BRASILINO, 2014; DOMINGUES, 2014).

No ramo da odontologia tem-se pensado no desenvolvimento de novos produtos, a nanotecnologia tem sido apontada como a revolução tecnológica, que despertou um enorme interesse na comunidade científica ao longo das últimas décadas, sendo um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019). Além disso, aumentou a demanda do consumidor por produtos inovadores, tecnológicos e com maior eficácia, com isso diversos setores industriais e econômicos, começaram a investir em pesquisa e desenvolvimento de produtos cada vez mais eficazes e sofisticados (DORA; PRIMO; ARAÚJO, 2019; SILVEIRA et al., 2019).

Por se tratar de produtos envolvendo novas tecnologias, é necessário que métodos para a garantia de qualidade sejam devidamente desenvolvidos, sendo assim, a validação de um método analítico, é um dos meios mais reconhecidos universalmente, como parte necessária para a garantia do sistema de qualidade. Comprovando através do fornecimento de evidências, que o uso específico do método pretendido foi atendido (BRASIL, 2017; G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018). Métodos analíticos validados e, portanto confiáveis, são requeridos para a submissão a agências reguladoras nacionais e internacionais em todas as áreas de controle de qualidade (G. CASTEX; M. P. ABRANTES, 2018).

Portanto, o número de produtos farmacêuticos baseados nos novos sistemas de transportes de moléculas, com intuito de aumentar a eficácia do produto é um processo

que continuará crescendo na indústria farmacêutica, neste contexto o objetivo do trabalho é desenvolver, caracterizar, avaliar a estabilidade de sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida, desenvolver e validar método de quantificação do ativo para clareamento dental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do peróxido de Carbamida

Em um balão de fundo chato de 250 mL foi adicionado 50 mL de peróxido de hidrogênio 37,0% (Êxodo Científica) e 50,000 g de ureia PA (Dinâmica), previamente triturada, posteriormente promoveu o aquecimento da mistura que não excedeu 35°C. A mistura resultante do balão foi devidamente acondicionada em ambiente protegido de luz por 24 horas (APPEL; MÁRCIA REUS, 2005). Transcorrido este período o precipitado sólido foi filtrado sob pressão reduzida em funil de vidro com placa sinterizada. Os cristais obtidos foram armazenados em embalagem plástica e mantido sob refrigeração (4 - 8°C), para posterior caracterização de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Americana (USP, 2019).

Controle de Qualidade físico-químico das matérias primas

Identificação de Peróxido de Carbamida

Foi preparada uma solução aquosa 10% (v/p) com o peróxido de carbamida 97,0% e adicionado 1 ml de ácido nítrico PA (Impex). Além disso, foi preparada uma solução aquosa 10% (v/P) com o PC que foi acidificado com ácido sulfúrico PA (Impex) para pH de 3,5, em seguida adicionado 0,100 g dicromato de potássio PA (Dinâmica), após agitação foi adicionado 1 ml de éter PA (Isofar) (USP, 2019).

Determinação do teor de peróxido de carbamida por volumetria de oxidirredução - iodometria

Foi transferido quantitativamente 100,0 mg do Padrão de peróxido de carbamida 97,0% (PC) (Sigma-Aldrich), para um a um erlenmeyer de 500 mL. Foram adicionados 25 mL de água deionizada, obtida pelo sistema de purificação Milli-Q (Millipore, EUA), 5 mL de ácido acético glacial P.A (Proquímios), 2,000 g de iodeto de potássio PA (Êxodo científica) e uma gota de molibdato de amônio TS. O frasco foi devidamente fechado e deixado em repouso por dez minutos. Foi realizada uma titulação do iodo liberado com o

tiosulfato de sódio 0,103 M, acrescentando 3 mL de solução de amido (Êxodo científica) até o ponto final. Cada mL de tiosulfato de sódio 0,103 M, é equivalente a 4,840 mg de peróxido de carbamida (USP, 2019).

Identificação da Ureia

Foi determinado o ponto de fusão no aparelho de ponto de fusão (PFM II). Ponto de fusão esperado 132 °C a 135 °C.

Para reações qualitativas e colorimétricas, em um béquer foi dissolvido 0,100 g de ureia em 1 ml de água, em seguida foi adicionado 1 ml de ácido nítrico. Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,500 g de ureia e levou ao aquecimento, após resfriamento, foi dissolvido em 1 ml de solução aquosa (1:10 p/v) de hidróxido de sódio PA (Isofar) e adicionado mais 10 ml de água e 0,05 ml de solução aquosa (1:10 p/v) de sulfato de cobre PA (Dinâmica) e observou a mudança da coloração da amostra (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2011).

Identificação do peróxido de hidrogênio

Foi transferido 1 mL peróxido de hidrogênio 37% para um balão volumétrico de 100 mL, e diluído com água até completar o volume. Após uma alíquota de 20 mL desta solução foi retirada e transferida para um erlenmeyer com adição de 20 mL de ácido sulfúrico 2M e titulado com permanganato de potássio 0,1M. Cada mL de permanganato de potássio 0,1M é equivalente a 1,701 mg de peróxido de hidrogênio (USP, 2019).

Preparação e seleção dos sistemas nanodispersos

Construção do Diagrama de Fases Pseudo-Ternário

Foi construído um diagrama de fase de maneira tradicional por titulação lenta de uma série de misturas de óleo/tensoativos com uma fase aquosa, à temperatura ambiente. O diagrama construído tem a seguinte composição: fase oleosa composta por Miristato de Isopropila da Mapric (São Paulo, Brasil), a fase aquosa composta por água purificada e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por monooleato de glicerila (Span 80, Sigma Aldrich) Monolaurato de sorbitano etoxilado (Tween 20, Mapric)) e óleo de rícino hidrogenado e etoxilado (PEG 40, Mapric) na proporção de 1:1:1 (p/p/p).

Seleção do sistema nanodisperso

O sistema nanodisperso foi selecionado a fim de se verificar a influência tanto da (i) porcentagem de óleo como da (ii) mistura de tensoativos na veiculação do peróxido de carbamida. O diagrama obtido apontou a quantidade exata de óleo, tensoativo e fase aquosa, utilizados para obter o sistema. O peróxido de carbamida foi incorporado durante o preparo do sistema. A formulação com o peróxido de carbamida foi caracterizada conforme descrito nos itens a seguir.

Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos contendo peróxido de carbamida

Microscopia de luz polarizada

A amostra selecionada a partir do diagrama de fase foi observada em Microscópio de Luz Polarizada. A amostra contendo peróxido de carbamida e a amostra sem ativo foram dispostas sobre lâminas de vidro cobertas por lamínulas e, posteriormente observadas no microscópio (Olympus BX-50).

Tamanho das gotículas e Índice de Polidispersividade

O tamanho de gotículas e o índice de polidispersividade do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado por dispersão dinâmica de luz utilizando um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK) com ângulo fixo de 173°, à temperatura de 25°C. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados foram coletados e analisados no Zetasizer Software (v. 6.12).

pH

O valor de pH do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado por um pHmetro MS- Tecnopom Instrumentação®, modelo mpA-210.

Condutividade

A condutividade (em $\mu\text{S}/\text{cm}$) do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi determinado à temperatura ambiente com o auxílio de um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK) a fim de se prever se o sistema isotrópico em estudo apresenta água ou óleo na fase externa.

Potencial Zeta

O sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida teve o potencial zeta determinado por dispersão de luz eletroforética utilizando um Zetasizer Nano ZS modelo ZEN3601 (Malvern Instruments Ltd., UK), à temperatura de 25°C. A análise foi realizada em triplicata. Os dados foram coletados e analisados no Zetasizer Software (v. 6.12).

Validação de Método Analítico

O método proposto foi validado de acordo com os parâmetros recomendados pelos órgãos reguladores como a RDC 166 de 24/07/2017 da ANVISA (BRASIL, 2017), que estabelece critérios para a validação de métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção e recomendações do ICH (GUIDELINE, 2005). Os resultados foram tratados por análise estatísticas utilizando o software Action (EQUIPE ESTATCAMP, 2014).

Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação das absorvâncias obtidas na região 350 nm de cada solução na presença e ausência do meio reacional. Todas as amostras foram preparadas em triplicata (BRASIL, 2017; GUIDELINE, 2005).

Linearidade/ Faixa de Trabalho

A linearidade do método foi determinada através da construção de três curvas analíticas na faixa de 0,00128 mg.mL⁻¹ a 0,00192 mg.mL⁻¹, abrangendo a faixa de trabalho de 80% a 120% da concentração teórica da formulação teste. Sendo que a linearidade foi verificada pela representação gráfica média das três curvas obtidas, pela representação gráfica da dispersão dos resíduos, por regressão linear estimada pelo método dos mínimos quadrados, coeficiente de correlação (r), de determinação (r²) e a avaliação do coeficiente angular (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

Precisão

Repetibilidade

A repetibilidade do método foi verificada pelo mesmo analista, mesma instrumentação e nas mesmas condições de trabalho, avaliando o intervalo linear do

método analítico, ou seja, nas concentrações de 80, 100 e 120% (3 réplicas) (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

Precisão Intermediária

A precisão intermediária do método foi determinada através da análise de variações dentro do mesmo laboratório, em dois dias diferentes e por analistas diferentes. Avaliando seis réplicas na concentração de 100%. Foi expresso pela proximidade entre os resultados obtidos das análises.

As análises para a repetibilidade e precisão intermediária foram realizadas em triplicatas. Os dados foram avaliados calculando o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições, além disso, foi calculado o p-valor para a relação dia e analista (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

Exatidão

A exatidão do método foi determinada a partir de determinações nas concentrações de 80, 100 e 120% com três réplicas cada, ou seja, nove determinações contemplando o intervalo linear. As amostras foram preparadas de forma independentes, onde o analito em estudo foi adicionado à matriz. A exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

Limite de Quantificação/ Limite de Detecção

O limite de detecção e de quantificação, foram determinados baseado em parâmetros de três curvas analíticas, sendo calculado pela equação representada na Figura 2 e 3 respectivamente (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC}$$

Em que:

σ é o desvio padrão

IC é a inclinação da curva de calibração

Figura 2. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de quantificação.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC}$$

Em que:

σ é o desvio padrão

IC é a inclinação da curva de calibração

Figura 3. Representação esquemática da fórmula para calcular o limite de detecção.

Robustez

A robustez, capacidade do método em resistir pequenas variações das condições analíticas foi determinada em triplicata, na concentração 100%, a partir de soluções de PC, variando diferentes lotes de solventes e o modelo do espectrofotômetro, para avaliar estatisticamente foi utilizado o *Test T*-pareado (BRASIL, 2017; EQUIPE ESTATCAMP, 2014; GUIDELINE, 2005).

Determinação teor do peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos por espectrofotometria UV

Foi transferido 1,0000 g do sistema contendo 0,1600 g peróxido de carbamida 98,68% para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água purificada. Desta solução, foi transferido 1 mL para um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água deionizada. Foi retirada uma alíquota de 1 mL e transferido para um balão de 10 mL, em seguida foi adicionado o meio reacional (1 mL de ácido acético glacial PA, 2 mL de uma solução de Iodeto de Potássio 200 mg.mL⁻¹ e 20 microlitros de molibdato de amônio 0,065 mg.mL⁻¹). Avolumou-se com água deionizada e a solução foi deixada em repouso por 10 minutos, obtendo-se uma solução com concentração de 0,0016 mg.mL⁻¹. Após, foi realizado a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 350 nm.

Avaliação de estabilidade

Teste de estabilidade preliminar – Centrifugação

O sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi centrifugado a 1710,54 rfc (força centrífuga rotativa) ou 3000 rotações por minuto, imediatamente após o preparo, por 30 minutos, à temperatura ambiente, a fim de se determinar sua estabilidade como um sistema isotrópico de fase única (ANVISA, 2004).

Estresse térmico

As amostras selecionadas foram submetidas ao aquecimento (estufa) na faixa de temperatura de 40 a 80°C \pm 5°C, durante ciclos de 30 minutos, com incrementos de temperatura de 5°C após cada ciclo. Após o término do teste, as amostras foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico, pH, condutividade, potencial zeta e tamanho de gotículas, que foram registrados em cada ciclo em que as amostras foram submetidas a fim de avaliar a estabilidade (ANVISA, 2004).

Avaliação da estabilidade acelerada

As amostras foram submetidas a diferentes temperaturas (4 \pm 2°C, 25 \pm 2°C, 40 \pm 2°C) (BRASIL, 2004), por um período de 90 dias. As avaliações foram realizadas no tempo zero, 1°, 7°, 15°, 30°, 60° e 90° dias. As amostras foram avaliadas quanto a possíveis alterações nos aspectos macroscópicos, teor, variações nos valores de pH, condutividade, potencial zeta e tamanho de gotículas (ANVISA, 2004).

Avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%

Para a realização deste teste de clareamento, foram utilizados dentes de boi, cordialmente cedidos pela Profa. Dra. Daniela Silva Barroso de Oliveira, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alfenas. Para analisar o potencial clareador da formulação, realizaram-se as seguintes etapas:

Manchamento

Os dentes bovinos passaram por uma etapa prévia de manchamento. Todos os dentes foram imersos em uma preparação de 120g do café Evolutto Extraforte para 1 litro de água destilada fervente. A mistura foi filtrada, e os 20 dentes foram colocados imersos no filtrado, o qual foi renovado diariamente por 7 dias consecutivos. A técnica foi baseada em Meireles et al., 2012.

Avaliação do clareamento dental

Para verificar as alterações de cor sofridas pelos dentes boi tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% foi utilizado o Espectrofotômetro de cor portátil – modelo SP62S (Espectrofotômetro de geometria esférica, D/8°, X-Rite Incorporated, USA, 11/2012), após a etapa de manchamento (prévia ao clareamento) e após a etapa de clareamento.

O padrão de observação simulado pelo método de refletância utilizado segue o sistema CIE $L^*a^*b^*$, recomendado pela CIE (Commission Internationale de L'Éclairage) (COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE, 2004) e amplamente usado atualmente. Unidades CIELAB, as quais quando analisadas matematicamente comparam os parâmetros de cor de diferentes objetos, são usadas para quantificação de cor (OKUBO et al., 1998). No sistema CIELAB, o espaço de cor consiste de três coordenadas: L^* , a^* e b^* . A coordenada L^* refere-se à coordenada de luminosidade, sendo sua faixa de valores de 0 (zero) para o perfeitamente preto a 100 (cem), para o perfeitamente branco. Já a^* e b^* são coordenadas de cromaticidade ou tonalidade, sendo a^* o eixo vermelho-verde e b^* o eixo amarelo-azul. Valores positivos de a^* indicam faixa de cor vermelha e valores negativos indicam faixa de cor verde. De maneira semelhante, valores positivos de b^* indicam faixa de cor amarela enquanto que valores negativos indicam faixa de cor azul (UCHIDA et al., 1998). As diferenças nas coordenadas luminosidade e cromaticidade (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) como resultado de uma exposição à luz UV foram determinadas e utilizadas para determinar a variação total de cor (ΔE^*_{ab}), calculada usando a relação abaixo (KNISPEL, 1991).

$$\Delta E^*_{ab} = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$$

onde

$\Delta L^* = L^*_1 - L^*_0$ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)

$\Delta a^* = a^*_1 - a^*_0$ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)

$\Delta b^* = b^*_1 - b^*_0$ (leitura após clareamento menos leitura prévia ao clareamento)

Os dentes de boi foram divididos em quatro grupos, com cinco dentes cada: (1) sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%; (2) sistema nanodisperso (sem PC); (3) Whiteness Perfect 16% FGM® (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol) e (4) Gel de Carbopol (sem PC). Posteriormente, cada um dos 4 produtos acima descritos foram colocados na superfície dos dentes com auxílio de hastes flexíveis contendo microcerdas Microbrush® e deixados em contato por um período de 2 horas, sendo lavados com água destilada e secos com papel absorvente. Este procedimento foi repetido por 15 dias. Após este período de tratamento, os dentes tiveram sua cor novamente determinada.

Para a determinação da cor dos dentes, estes foram posicionados em um molde de material emborrachado e posteriormente foram acoplados ao espectrofotômetro que,

após o acionamento, na superfície do dente, detectou e registrou os valores de L^* , a^* e b^* de cada dente.

Tratamento dos resultados e análise estatística

Os cálculos estatísticos bem como todas as representações gráficas foram elaborados através dos programas GraphPad Prism[®] versão 6.0 cálculos adicionais foram realizados com auxílio do programa Microsoft[®] Excel 2013. Variações inter-grupo de diferentes parâmetros foram estimadas pela análise estatística de variância (ANOVA); tratamentos qualitativos foram comparados usando o teste de Tukey, com intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O teste t de *Student* foi utilizado para verificar o pareamento e comparar a variação entre dois grupos de tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção Peróxido de Carbamida

Com a síntese realizada do peróxido de carbamida obteve-se um rendimento médio de $69,5 \pm 2,4$. Existem várias metodologias descritas para preparar o PC, no entanto, essas metodologias são baseadas em uma reação de complexação espontânea entre ureia e peróxido de hidrogênio em solução. Os cristais de PC que são formados, são considerados complexos, sendo estáveis e promovem a liberação controlada do peróxido de hidrogênio (GADANHA et al., 2013). Sabendo que o oxigênio presente na estrutura química dos cristais de PC é o principal responsável pelo clareamento dos dentes, alguns cuidados foram realizados durante a síntese, podendo destacar, o aquecimento brando (abaixo de 35°C) para a dissolução total da ureia, a manipulação com materiais plásticos, proteção da luz durante a síntese e o armazenamento e conservação sob refrigeração dos cristais (MAY et al., 2006).

Controle de qualidade físico-químico das matérias-primas

Para a realização do controle de qualidade físico-químico das matérias-primas, foram realizados testes de identificação e o doseamento. Para a solução de peróxido de carbamida na presença de ácido nítrico foi observado a formação de um precipitado cristalino e na presença de ácido sulfúrico a solução apresenta coloração azulada e quando misturado com quantidade igual de éter a solução separa as fases e a cor azulada é

encontrada na fase com éter, o doseamento realizado em triplicata por titulação obteve-se uma média percentual de $99,31\% \pm 1,08$.

Já a identificação da ureia foi comprovada através do ponto de fusão obtido que foi de 135°C . Em solução aquosa de ureia na presença de ácido nítrico PA foi formado um precipitado cristalino. Na presença de hidróxido de sódio e sulfato de cobre, a solução de ureia apresentou coloração avermelhado-violeta.

Em relação ao peróxido de hidrogênio utilizado para a síntese do PC, foi realizado o doseamento por titulação onde obteve-se uma média percentual de 29,77%. Portanto, cumprindo os testes exigidos pelos compêndios oficiais, as matérias primas encontram-se aprovadas para utilização.

Preparação e seleção do sistema nanodisperso

Para se obter formulações de sistemas nanodispersos geralmente utiliza-se de diagramas de fase pseudoternários. É a partir do diagrama que é possível identificar os componentes mais adequados e suas concentrações para a obtenção de sistemas fisicamente estáveis (PRETO, 2016; SILVA, 2015). Analisando os diagramas de fases pode-se obter as regiões de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões O/A e A/O e, conseqüentemente, a obtenção da formulação ideal, com as propriedades físico-químicas desejadas (PRETO, 2016; SILVA et al., 2015). Graficamente este diagrama é representado de forma triangular, onde em cada vértice é representado 100% de um determinado componente (PRETO, 2016; SILVA, 2015).

O diagrama de fase selecionado reporta-se ao trabalho de Cláudio e colaboradores (2017), contém como fase oleosa o miristato de isopropila, a fase aquosa a água e os tensoativos são o PEG 40, Span 80 e Tween 20 na proporção de 1:1:1 (p/p/p). Conforme podemos observar na Figura 4, os sistemas que foram obtidos ao decorrer da titulação lenta da água, são classificados em sistemas viscosos e líquidos transparentes, sistemas estes que sugerem microemulsões ou cristais líquidos, mas que só a partir de testes específicos para a correta definição, além de sistemas bifásicos e dispersões opacas.

A partir dos dados obtidos no diagrama de fases, foi realizado a seleção de possíveis sistemas para o produto em estudo. Os sistemas nanodispersos foram selecionados a fim de verificar a influência tanto da porcentagem de óleo como da mistura de tensoativos na veiculação do peróxido de carbamida. Assim sendo, foi necessário caracterizar os sistemas selecionados, com intuito de confirmar se são sistemas

microemulsionados, conforme descrito nos itens a seguir, representados nas tabelas 01 e 02.

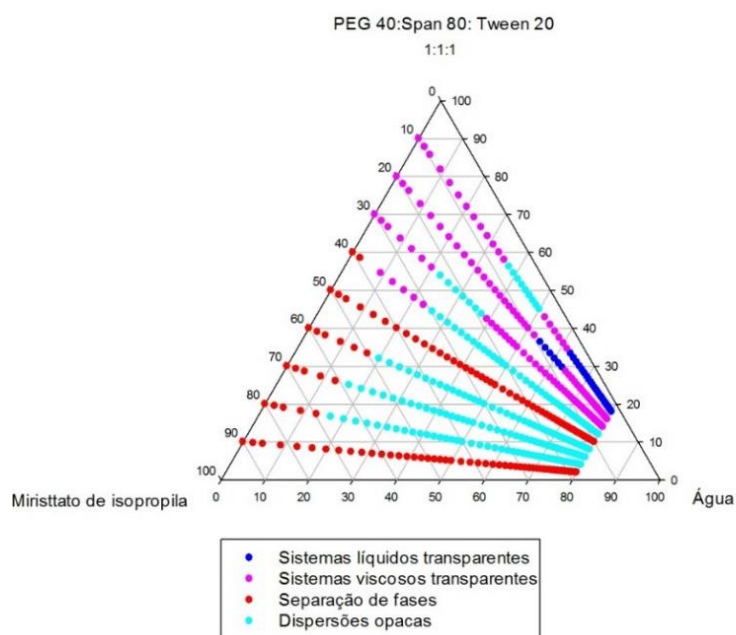


Figura 4. Diagrama de fases pseudo-ternário, formado por PEG 40/Tween 20 Span 80 (1:1:1). (CLÁUDIO et al., 2017).

Tabela 01. Composição percentual dos sistemas nanodisperso selecionados.

Proporção T/FO	Denominação	Água (%)	Óleo (%) Miristato de Isopropila	Tensoativos (%) PEG 40, Span 80, Tween 20 (1:1:1)
8:2	1	45,95	10,81	43,24
8:2	2	47,37	10,53	42,11
8:2	3	50,00	10,00	40,00

Os sistemas 1, 2 e 3 foram selecionados por se tratar de sistemas com índice de consistência intermediária a elevada e por serem translúcidos, já que para ser empregado como agente clareador, o sistema precisa ser viscoso, para que ocorra uma boa aplicação no momento de realizar a técnica do clareamento dental e translúcido na tentativa de obter um sistema nanodisperso.

Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos sem peróxido de carbamida

Tabela 02. Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos selecionados.

Parâmetro físico-químico	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3
Potencial zeta (mV)	$-9,34 \pm 1,09$	$-6,28 \pm 1,39$	$-2,81 \pm 0,17$
Tamanho de gotículas (nm)	$25,33 \pm 3,05$	$21,63 \pm 0,25$	$20,70 \pm 0,08$
Índice de polidispersividade	$0,261 \pm 0,06$	$0,209 \pm 0,02$	$0,181 \pm 0,006$
pH	$6,29 \pm 0,05$	$5,88 \pm 0,02$	$5,92 \pm 0,02$

Após caracterizar os três sistemas selecionados conforme na tabela 02, observa-se que as características físico-químicas são muito semelhantes, portanto, o sistema selecionado foi a formulação 2. Pois foi realizado uma avaliação qualitativa, onde observou-se um índice de consistência intermediário, o que corroborou para a escolha, já que o sistema apresenta tamanho de gotícula pequeno e potencial zeta diferente de zero.

Caracterização físico-química dos sistemas nanodispersos contendo Peróxido de Carbamida

Microscopia de luz polarizada

Uma amostra é considerada anisotrópica se for capaz de desviar o plano de luz incidente e isotrópica se não desviar a luz. Os cristais líquidos lamelares e hexagonais são anisotrópicos, enquanto os cristais líquidos cúbicos são isotrópicos. Microemulsões também tem como característica a isotropia. Essas amostras isotrópicas quando analisadas em microscópio de luz polarizada não causam birrefringência, e por isso, não ficam visíveis nas objetivas do equipamento (FORMARIZ et al., 2005; MORAIS, 2006). Sendo assim, os sistemas nanodispersos sem a adição de PC (Figura 5 A) e com a adição de PC (Figura 5 B) analisados tem como característica a isotropia, sugerindo, portanto, ser uma microemulsão ou cristal líquido de fase cúbica.

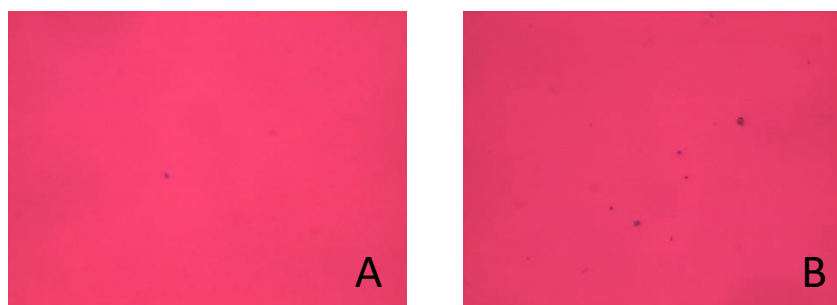


Figura 5. Amostra observada em microscópio de luz polarizada. Figura A sistema nanodisperso sem adição do ativo e figura B sistema nanodisperso com ativo incorporado.

Índice de Polidispersividade e Tamanho das gotículas

O índice de polidispersividade (PDI) reflete a uniformidade do diâmetro das gotículas e pode ser usado para representar a distribuição do tamanho da população dos sistemas nanodispersos (PRÁ et al., 2019; RAHMAN; MUJAHID, 2018). Altos níveis de polidispersividade ($> 0,500$) sugerem que os sistemas não apresentem comportamento estável, podendo ocorrer separação de fases (CARDONA et al., 2019; RODRIGUES et al., 2015). O PDI do sistema nanodisperso escolhido após a inclusão do peróxido de carbamida foi de $0,164 \pm 0,02$, sendo considerado um valor vantajoso para a estabilidade do sistema. O alvo do sistema nanodisperso desenvolvido é a permeação nos túbulos dentinários, os quais possuem tamanho variado, com micro ramificações de no mínimo 25 nm (MJÖR; NORDAHL, 1996). Já em relação ao tamanho das gotículas o valor médio foi de $22,52 \pm 0,37$ nm.

pH

Sabe-se que, o pH normal da boca é em torno de 6,8, e a desmineralização dos tecidos dentais ocorre em pH abaixo de 5,5, mas no caso do peróxido de carbamida que se degrada em ureia, em seguida em amônia e gás carbônico, vale ressaltar que a amônia desempenha função importante na elevação do pH salivar e da placa bacteriana, fazendo com que os agentes clareadores não causem a erosão do esmalte (DURÁN et al., 2018; FERNANDES, 2017; GREYCE A.; MARA E.F.; HUGO T.S., 2017). O valor de pH do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida foi de $5,86 \pm 0,05$, estando dentro do limite aceitável.

Condutividade

A determinação da condutividade elétrica das formulações é um teste para se determinar o tipo de sistema formado. A condutividade depende do tipo da fase externa da formulação, podendo ser classificada em água em óleo (A/O), óleo em água (O/A) e

bicontínua. Se o sistema for do tipo O/A, é classificada como uma boa condutora, mas se é tipo A/O, é má condutora (MORAIS, 2006). Os sistemas dispersos do tipo A/O à parte hidrofílica se encontram disperso na forma de gotículas coloidais no componente lipofílico. Já nos sistemas O/A, o arranjo é caracterizado pelo componente lipofílico disperso na forma de gotículas coloidais no componente hidrofílico (FORMARIZ et al., 2005). Portanto, sugere-se que o produto desenvolvido possui uma organização do tipo O/A devido a sua condutividade, apresentando valores de $106,3 \pm 0,001 \mu\text{S}/\text{cm}$.

Potencial Zeta

O potencial Zeta é uma medida da carga elétrica presente na superfície das gotículas dos sistemas nanodispersos, sendo assim um bom indicador da estabilidade do sistema. As gotículas com cargas superficiais iguais tendem a se repelirem, enquanto as gotículas de cargas superficiais diferentes tendem a se traírem, ou seja, um potencial zeta alto (positivo ou negativo), diferente de zero é muito importante para a estabilidade físico-química do sistema (CLÁUDIO et al., 2017; SALEM et al., 2018). Caso o potencial zeta se iguale a zero, o sistema poderá flocular, as partículas irão se agregar. Foi observado na formulação selecionada valores de $-6,38 \pm 0,37 \text{ mV}$, nota-se que o sistema possui predomínio de cargas negativas e distantes do valor zero, favorecendo, portanto, uma maior estabilidade da formulação. Um elevado potencial zeta, em módulo é importante para a estabilidade físico-química da solução (ALMEIDA, 2012). Diante dos valores de potencial zeta obtidos, possivelmente os fenômenos de repulsão entre as gotículas dispersas no sistema sejam mais evidentes do que atração. Isso faz com que a probabilidade de haver agregação entre as gotículas seja menor (SALEM et al., 2018).

Validação de Método Analítico

Segundo a farmacopeia americana (USP, 2019), a quantificação de peróxido de carbamida incorporado em soluções tópicas é realizada pelo método de volumetria de óxido-redução do tipo iodometria. Por se tratar de um produto nanodisperso e não possuir metodologia oficial, foi necessário o desenvolvimento e validação do método analítico, utilizando espectrofotometria UV, sendo uma técnica útil no controle de qualidade de produtos farmacêuticos, pois a maioria dos compostos absorvem energia na região do ultravioleta; com isso os resultados podem ser obtidos rapidamente, a análise é simples, utiliza menos solvente, tornando isso valioso na análise (SANTOS; PROCHNAU, 2018).

Inicialmente, realizou uma varredura na faixa de 270-600 nm, para poder observar a banda com absorção máxima do PC 16%; Portanto, para a validação do método analítico utilizou-se o comprimento de onda de 350 nm (JUNIOR et al., 2017).

O estudo de seletividade foi realizado comparando os espectros obtidos das soluções amostras na presença e ausência do meio reacional, como pode-se observar nas Figuras 6 e 7. Nota-se que a ureia na presença do meio reacional não apresenta leitura, assim como o sistema nanodisperso sem ativo, a água e o meio reacional. Portanto, os insumos não interferem na quantificação do ativo, logo o método desenvolvido para quantificação de PC 16% em sistema nanodisperso é seletivo (BRASIL, 2017).

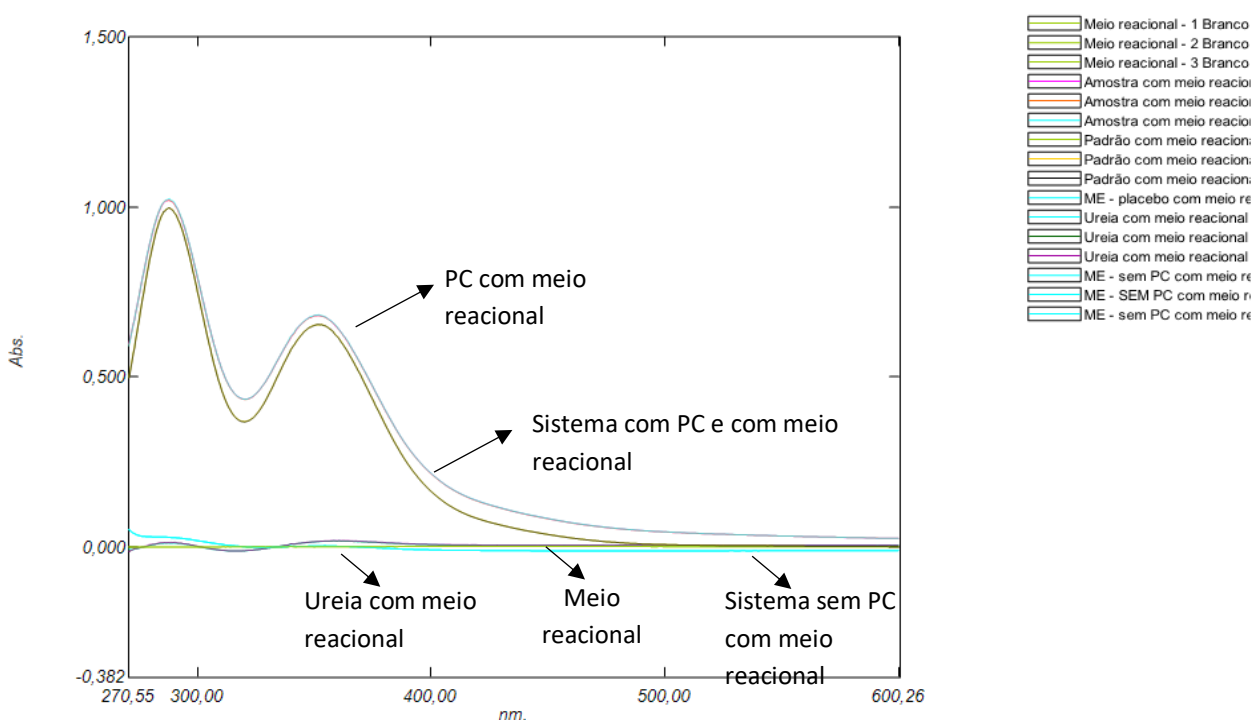


Figura 6. Espectros de absorção no UV obtidos para peróxido de carbamida 16% na presença do meio reacional.

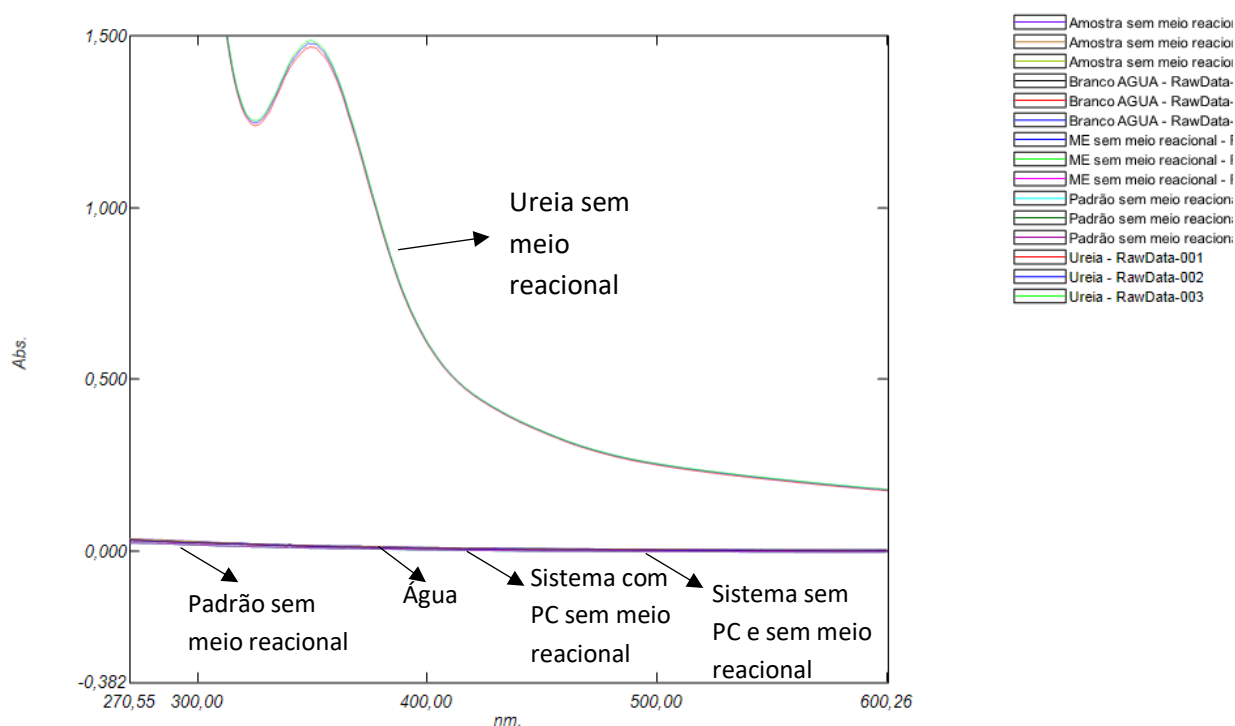


Figura 7. Espectros de absorção no UV obtidos para peróxido de carbamida 16% na ausência do meio reacional.

A linearidade do método foi determinada através da representação gráfica média das três curvas analíticas obtidas, onde apresentou a equação $y = 432,08x - 0,2279$. Com isso obteve-se a representação gráfica da dispersão dos resíduos, onde constatou que os resultados estão contidos na banda de confiança, o que sugere a normalidade para os erros experimentais, além disso supõe-se que a variância dos erros experimentais é homoscedástica e há independência dos erros experimentais. Para a análise regressão linear estimada pelo método dos mínimos quadrados, foi obtido um p-valor menor que o nível de significância (5%) onde confirma que existe diferença significativa entre os níveis de concentração. Já em relação ao coeficiente de correlação (r), obteve-se um valor de 0,996, sendo este valor maior que o especificado pela agência reguladora; portanto existe uma relação linear adequada, indicando que as variáveis concentração e absorbância se movem juntas. E o coeficiente de determinação (r^2) apresentou um valor de 0,998, se aproximando de 1,0, corroborando o coeficiente de correlação. Portanto, o método desenvolvido se demonstrou linear e apresenta faixa de trabalho de $0,00128 \text{ mg.mL}^{-1}$ a $0,00192 \text{ mg.mL}^{-1}$ e se encontra de acordo com os critérios mínimo aceitáveis descrito na Resolução para Validação de Métodos Analíticos da ANVISA (BRASIL, 2017).

A repetibilidade do método foi verificada pelo mesmo analista, mesma instrumentação e nas mesmas condições de trabalho, avaliando o coeficiente de variação obtido para cada concentração, logo obteve-se coeficiente de variação abaixo de 3%, conforme a legislação vigente. Em relação a precisão intermediária do método, foi observado através da análise estatística ANOVA, que não existe diferenças significativas entre os dias (p-valor de 0,73), nem mesmo entre os analistas (p-valor de 0,5). Portanto, como o coeficiente de variação encontra-se abaixo de 3% e não foi encontrado diferenças significativas entre os fatores dia e analista. Assim, observa-se que o método espectrofotométrico foi preciso nos dois níveis: repetibilidade e precisão intermediária, para a quantificação de PC 16% no sistema nanodisperso, garantindo a reprodutibilidade do método.

Os valores de recuperação obtido na análise de exatidão do método foi de 99,5% com um coeficiente de variação menor que 3%. Portanto o método se demonstra exato para a quantificação de PC 16% em sistemas nanodisperso.

A determinação dos valores de LQ e LD para o princípio ativo peróxido de carbamida originou-se a partir da regressão de três curvas analíticas. Logo, obteve-se os limites de detecção $0,00007 \text{ mg.mL}^{-1}$ e quantificação $0,00019 \text{ mg.mL}^{-1}$ em termos de concentração (PAGAN et al., 2019). Vale ressaltar que, o limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra, que o método consegue identificar e não necessariamente quantificar. Os valores de LD e LQ foram considerados satisfatórios, pois o método analítico proposto pode detectar e quantificar uma ampla faixa de concentração de PC com segurança, podendo ser aplicado na detecção e quantificação de PC em sistemas nanodispersos (COELHO et al., 2018; GOES JUNIOR et al., 2018).

Com o objetivo de avaliar a robustez, capacidade do método proposto em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos, verificou-se o comportamento dos resultados em relação a variação de dois reagentes para a preparação do meio reacional e a marca do espectrofotômetro utilizado para realizar as análises (BRASIL, 2017). A análise estatística dos dados obtidos, realizada por meio do teste T-pareado com nível de confiança de 95% (probabilidade inferior a 5% - $p < 0,05$), onde os valores de p-valor foram maiores que 0,05; portanto não existe uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com isso o método pode ser considerado robusto para a quantificação de PC 16% em sistema nanodisperso.

Determinação do teor do peróxido de carbamida em sistemas nanodispersos por espectrofotometria

Segundo a farmacopeia americana (USP, 2019) os produtos desenvolvidos utilizando o peróxido de carbamida, não podem conter menos de 96,00% e não mais que 102,00% do ativo. A determinação quantitativa do ativo em formulações é de suma importância para o controle de qualidade do produto e para atender as exigências impostas pelos órgãos reguladores.

Com isso, para a quantificação do peróxido de carbamida foi construída uma curva analítica, para obter a equação da reta e poder quantificar o ativo em estudo. Com os valores das absorvâncias obtidas pelo espectrofotômetro, foi obtido uma média de 100,30% \pm 0,8, com coeficiente de variação de 0,86, para a quantificação do PC, no sistema nanodisperso; com isso o produto contendo peróxido de carbamida 16% encontra-se dentro do limite especificado pela farmacopeia.

Avaliação de estabilidade do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%

Teste de estabilidade preliminar – Centrifugação e estresse térmico

Segundo a ANVISA (2004) os testes realizados para o estudo de estabilidade preliminar não têm a finalidade de estimar o prazo de validade do produto, e sim auxiliar na triagem das formulações, por se tratar de testes com durações reduzidas.

A centrifugação é um teste realizado com intuito indicativo que o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade acelerada sem necessidade de reformulação (FERREIRA; ZATTI, 2013). Este teste produz uma condição de estresse na amostra, pois ocorre um aumento na força de gravidade podendo-se observar instabilidades físicas e químicas, acelerando o processo de separação de fases do sistema (MORAIS, 2006). Portanto, o sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% foi centrifugado após o preparo, notou-se que é um sistema disperso de fase única, não ocorrendo a separação de fases e nem surgimento de precipitados de alguma substância, mantendo suas características macroscópicas sem alterações.

O estresse térmico é uma técnica onde avalia-se as propriedades físico-químicas às quais a formulação foi submetida em função do aumento gradativo da temperatura, ou seja, a temperatura é empregada como condição de estresse sobre a formulação. Desta forma é possível observar alterações que poderão acontecer no transcorrer do teste de estabilidade acelerada (TOPAN, 2012). Vale ressaltar que, a temperatura é de suma

importância na estabilidade do produto, já que não pode isolá-lo do meio ambiente; variações de temperatura no momento de estocagem devem ser cuidadosamente controlada (MORAIS, 2006).

A partir dos resultados obtidos com o teste de estresse térmico, representados na Figura 8, observa-se que os sistemas nanodispersos apresentaram aumento nos valores médios de PDI, mas não o suficiente para alterar o tamanho médio de gotículas, que se manteve estável durante a rampa de aquecimento. Nas demais determinações, o sistema manteve-se estável.

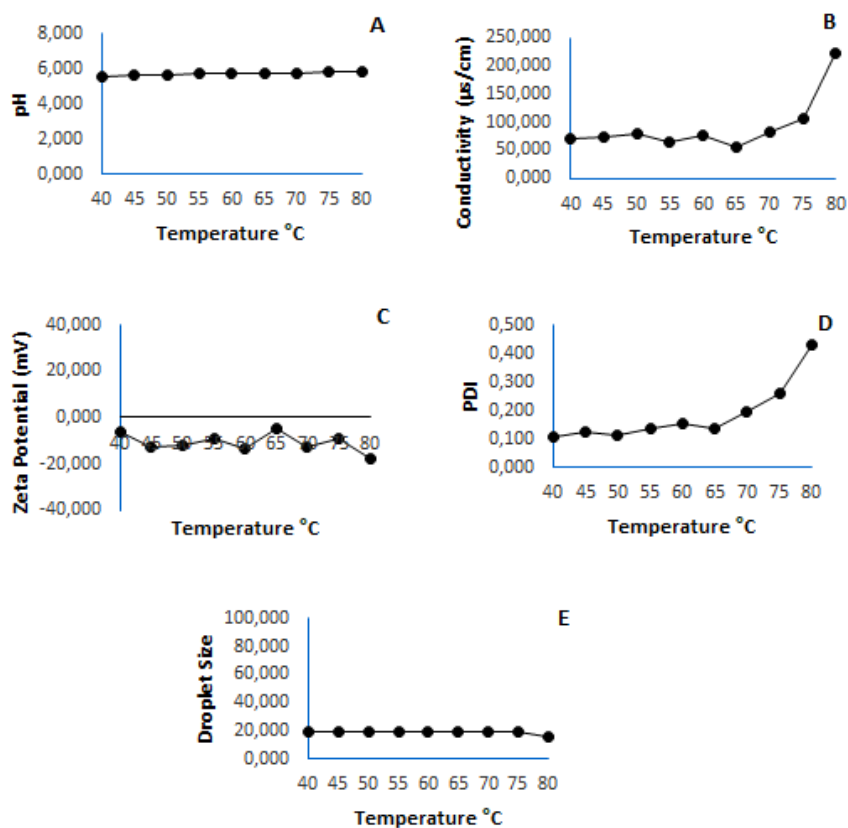


Figura 08. Avaliação das diferentes características físico-químicas do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida durante o estresse térmico. Os valores representam a média ($n = 3$). (A) pH, (B) Condutividade, (C) Potencial zeta, (D) Índice de polidispersividade (PDI), (E) Tamanho de gotículas.

Estudo de estabilidade acelerada

Segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (2004), define o estudo estabilidade acelerada como estabilidade normal ou exploratória, que tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento. O estudo fornece indicações sobre

o comportamento da formulação estudada em determinado intervalo de tempo, frente a diversas condições ambientais a que possa ser submetido desde a fabricação até o término da validade. Este estudo é considerado preditivo, onde pode estimar o prazo de validade do produto, que deve ser confirmado com o prazo de prateleira (ANVISA, 2004).

O sistema formulado foi avaliado em condições de temperatura elevada ($40 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$), temperatura ambiente ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) e baixa temperatura ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$). Para o aspecto macroscópico das formulações submetidas a essa variação de temperatura, não houve alteração para nenhuma das concentrações avaliadas durante os 90 dias. Foram realizadas análises de pH, potencial zeta, PDI, tamanho de gotículas e quantificação do ativo.

O pH é uma propriedade importante quando se trata de um produto cosmético, pois deve ser o mais próximo possível da região onde será aplicado (GALEMBECK; CSORDAS, 2011). Vale ressaltar que a desmineralização dos tecidos dentais ocorre em pH abaixo de 5,5 e no estudo de estabilidade não foi observado valores abaixo do aceitável. Como pode ser visto na Figura 9, o pH, sofreu alteração a partir do dia 60 na maior temperatura (40°C). O aumento observado não interferiu diretamente a formulação, pois se encontra na faixa de pH adequado para a utilização no dente.

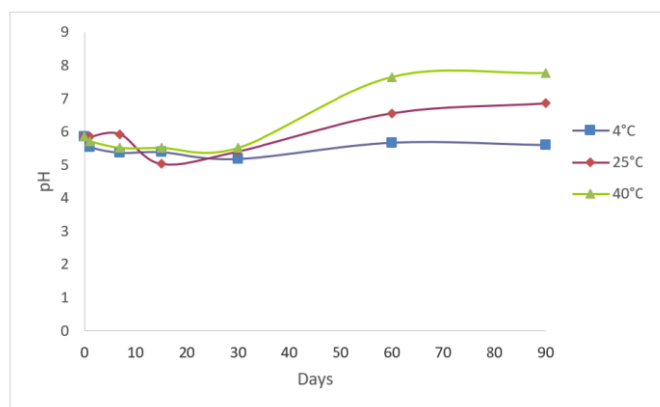


Figura 097. Dados da análise de pH durante teste de estabilidade acelerada para as temperaturas de $4^{\circ}\text{C} \pm 2$, $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $40^{\circ}\text{C} \pm 2$ analisadas no sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%.

A medida do potencial zeta (Figura 10) representa uma ferramenta útil no acompanhamento da estabilidade do sistema ao longo do tempo. Caso o valor do potencial zeta apresenta-se próximo de zero, haverá probabilidade de que ocorra atração entre as partículas, podendo ocorrer agregação entre as gotículas (SALEM et al., 2018). Embora os valores de potencial zeta para as temperaturas 4°C e 25°C tenham oscilado ao longo

dos 90 dias, mantiveram uma tendência de estabilização permanecendo distante de zero, característica que diminui a probabilidade de agregação das partículas uma vez que nessa condição as forças repulsivas prevalecem. Na temperatura 40°C, observa-se que no dia 90 o potencial zeta se iguala a zero, logo demonstra que altas temperaturas podem ser prejudiciais ao sistema ao longo do tempo.

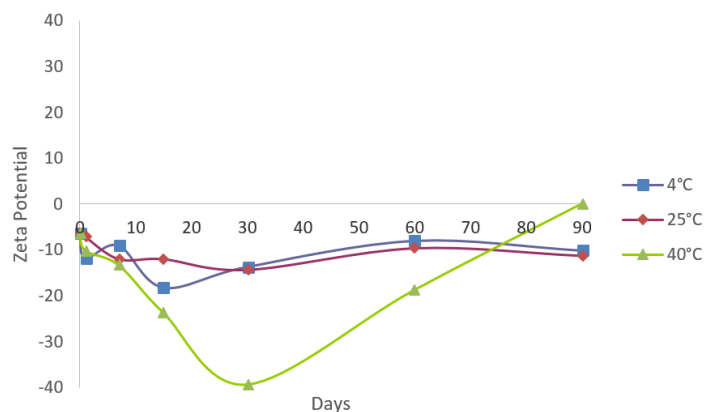


Figura 10. Dados da análise de potencial zeta durante teste de estabilidade acelerada para as temperaturas de $4^{\circ}\text{C}\pm 2$, $25^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ analisadas no sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%.

Os resultados do PDI, apresentado na figura 11, observa-se que houve oscilações ao longo dos dias, mas essas variações não influenciaram diretamente a homogeneidade das gotículas presentes no sistema, pois ao longo do tempo de estudo, o índice de polidispersividade do sistema, nas três diferentes temperaturas analisadas, não ultrapassou o limite de referência de 0,500 (PRÁ et al., 2019). Desta forma, o sistema nanodisperso contendo PC 16% reflete a uniformidade no diâmetro das gotículas, se apresentando estável, o que desfavorece o surgimento de fenômenos de instabilidade e menor probabilidade de agregação.

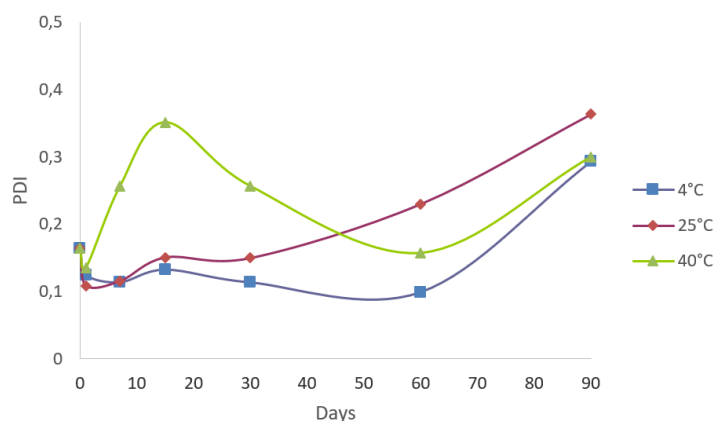


Figura 11. Dados da análise de PDI durante teste de estabilidade acelerada para as temperaturas de $4^{\circ}\text{C}\pm 2$, $25^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ analisadas no sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%.

O tamanho de gotículas determinado é baseado na análise do espalhamento da luz das partículas em movimento. Os sistemas selecionados confirmaram a propriedade nanométrica, apresentando tamanho médio de gotículas dentro do especificado para essa classificação (FORMARIZ et al., 2005). Durante o teste e nas três diferentes temperaturas às quais o produto foi submetido, os valores se mantiveram estáveis, como pode ser observado na Figura 12, apenas no dia 90 na temperatura 40°C que houve um aumento no tamanho médio de gotículas do sistema, embora mantendo-se abaixo dos 100nm de diâmetro médio.

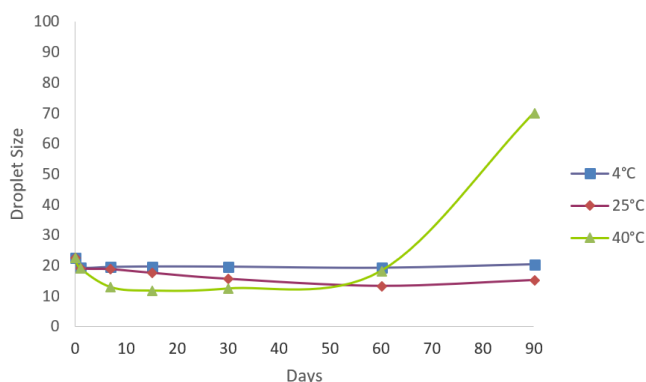


Figura 12. Dados da análise de Tamanho de gotículas durante teste de estabilidade acelerada para as temperaturas de $4^{\circ}\text{C}\pm 2$, $25^{\circ}\text{C}\pm 2$ e $40^{\circ}\text{C}\pm 2$ analisadas no sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%.

Na Figura 13 estão apresentados os valores de quantificação do peróxido de carbamida 16% no sistema nanodisperso nas temperaturas de 4°C , 25°C e 40°C , durante o estudo de estabilidade acelerada. De acordo com a Farmacopeia brasileira (2019), o

doseamento do ativo de uma formulação é um quesito muito importante para atender as exigências e garantir que o teor esteja dentro dos limites especificados para o produto. O sistema apresenta-se estável, nas temperaturas de $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, mantendo o teor de PC dentro dos limites farmacopeicos. No entanto, o sistema mantido à temperatura de 40°C , apresentou teor de PC estável apenas até o dia 30. A partir daí, o sistema apresentou leve queda no teor de PC, embora mantendo tendência de estabilidade, apresentando valores abaixo das especificações, sendo o mínimo aceitável de 96,00% (USP, 2019).

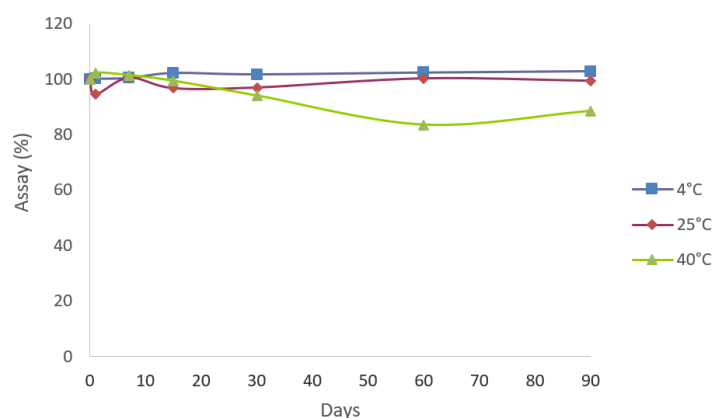


Figura 13. Dados da análise de quantificação do peróxido de carbamida durante teste de estabilidade acelerada para as temperaturas de $4^{\circ}\text{C} \pm 2$, $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $40^{\circ}\text{C} \pm 2$ analisadas no sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%.

Avaliação do potencial de clareamento do sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%

Os resultados das análises de potencial de clareamento dos dentes colocados em contato com: (1) sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16%; (2) sistema nanodisperso (sem PC); (3) Whiteness Perfect 16% FGM[®] (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol) e (4) Gel de Carbopol (sem PC) estão apresentados abaixo. Na Figura 14 estão apresentados os valores de ΔL da alteração de luminosidade dos dentes bovinos.

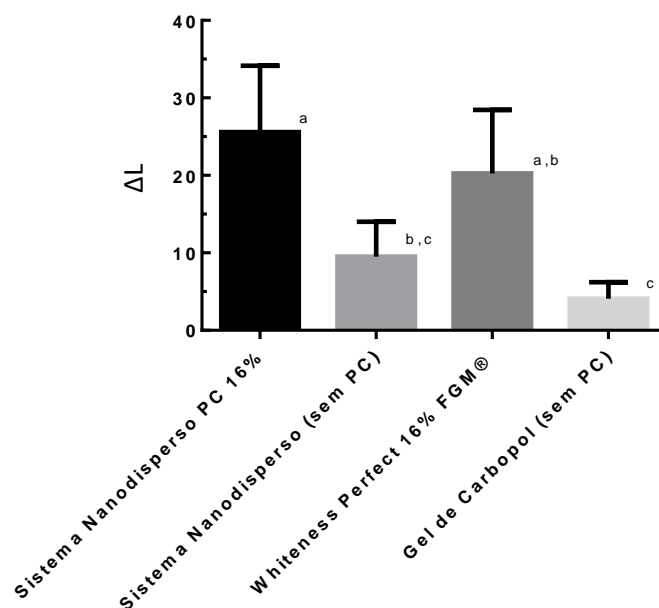


Figura 14. Valores de ΔL da alteração de luminosidade dos dentes bovinos.

*Barras seguidas de letras diferentes apresentam diferença estatística ($p < 0,05$).

**Análise Estatística por Variância ANOVA.

É possível observar que os dentes tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% promoveu um aumento na coordenada de luminosidade quando comparado com os dentes tratados com o produto clareador dental em veículo convencional Whiteness Perfect 16% FGM® (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol); sugerindo clareamento superior. No entanto, de acordo com o teste estatístico aplicado (ANOVA) esta variação de luminosidade não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com o produto em sistema nanodisperso e o produto comercial convencional.

Na figura 15 estão apresentados os valores de ΔE da alteração de cor dos dentes bovinos.

De forma similar, observou-se aumento na variação de cor dos dentes bovinos tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% em comparação com os dentes tratados com o produto comercial convencional Whiteness Perfect 16% FGM® (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol).

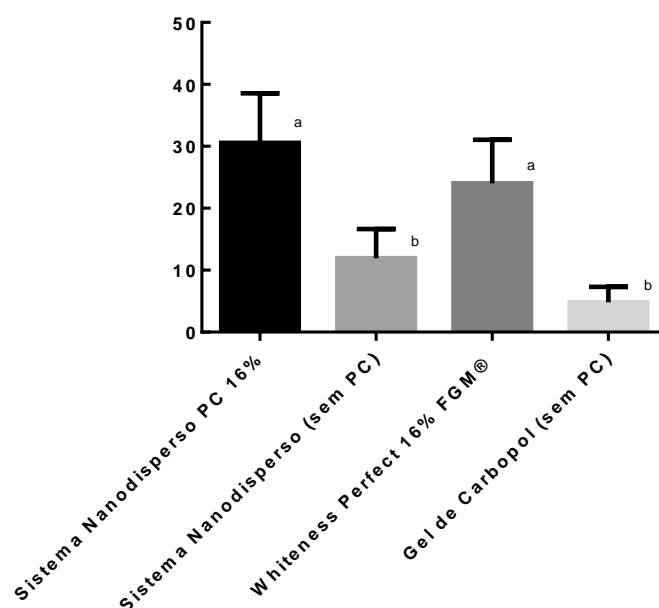


Figura 15. Valores de ΔE da alteração de cor dos dentes de boi.

Foi relatado que aproximadamente uma unidade de mudança de cor CIELAB poderia ser percebida por 50% dos observadores humanos normais (HAUGH et al., 1999; JOHNSTON; REISBICK, 1997) e que valores ΔE^* maiores que 2 unidades são sempre detectáveis (YANNIKAKIS; POLYZOIS, 1998), sugerindo que as variações de cor apresentada pelos dentes tratados podem ser detectáveis pelo olho humano. No entanto, de acordo com o teste estatístico aplicado (ANOVA) os grupos tratados com sistema nanodisperso contendo peróxido de carbamida 16% e Whiteness Perfect 16% FGM® (contendo peróxido de carbamida 16% em gel de carbopol) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si.

CONCLUSÃO

O sistema nanodisperso foi obtido de forma satisfatória para veiculação de peróxido de carbamida na concentração de 16% para utilização como clareador dental. O método desenvolvido e validado se mostra seletivo, linear, robusto, preciso e exato para a quantificação de peróxido de carbamida 16% em sistemas nanodispersos. As formulações foram caracterizadas como sistemas nanodispersos com características que

sugerem a classificação como cristal líquido de fase cúbica (embora possa tratar-se de microemulsões); no entanto, há a necessidade de confirmação por espalhamento de raio X a baixo ângulo (SAXs). De um modo geral o sistema manteve-se estável à temperatura ambiente e baixa temperatura; no entanto, temperaturas elevadas ao longo do tempo indicam uma possível redução do prazo de validade do produto, os resultados obtidos sugerem um produto nanodisperso inovador de alto valor agregado, estável e capaz de substituir os clareadores convencionais mantendo, portanto, o objetivo de clareamento e com o diferencial deste sistema carreador poder levar a uma maior permeação do produto pelos canalículos dentinários, aumentando a eficácia do clareamento com perspectivas de aumento de segurança, seja por diminuição da dose ou por redução do tempo de exposição, que poderia ser avaliada em etapa futura.

REFERENCIAS

ALMEIDA, T. C. A. **Avaliação da estabilidade de emulsões concentradas em bebidas**. Dissertação apresentada a Universidade Federal do Rio De Janeiro, 2012.

ANVISA. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos - séries temáticas** Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos, 2004. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>

APPEL, G.; MÁRCIA REUS. **Formulações Aplicadas a Odontologia**. 2. ed. São Paulo - SP. 2005.

ARAÚJO, J. L. DOS S. et al. Técnicas de clareamento dental - revisão de literatura. **Revista Pró-UniverSUS**, v. 06, n. 03, p. 35–37, 2015.

BRASIL. **RDC Nº 166** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasil, 2017. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>

BRASILINO, M. **Mecanismo de ação do peróxido de hidrogênio no clareamento dental: uma revisão de literatura**. Dissertação. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2014.

CARDONA, M. I. et al. Development and in vitro characterization of an oral self-emulsifying delivery system (SEDDS) for rutin fatty ester with high mucus permeating properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 180–186, 2019.

CASTRO, S. S. et al. Clareamento Dental Em Pacientes Com Hipersensibilidade: Série De Casos. **Journal of Dentistry & Public Health**, v. 6, n. 1, 2015.

CLÁUDIO, M. C. et al. Development, characterization and stability study of nanometric systems containing hydrogen peroxide for dental bleaching. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 11, p. 4551–4564, 2017.

COELHO, E. R. C. et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para análise de 2,4-D, 2,4-DCP e 2,4,5-T para monitoramento em água de abastecimento público. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1043–1051, 2018.

COLOGNI, J. **Clareamento endodôntico revisão bibliográfica e caso clínico**. Dissertação Universidade Estadual de Londrina, 2013.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE. CIE 15: Technical Report: Colorimetry. **CIE Publication 15**, v. 552, n. 3, p. 1–82, 2004.

DOMINGUES, R. I. **Efeitos adversos do clareamento externo a estrutura dental**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2014.

DORA, C. L.; PRIMO, F. T.; ARAÚJO, G. D. M. S. Bioethical Reflections on Innovation in Nanomedicines. **Revista de Bioética y Derecho Perspectivas Bioéticas**, n. c, p. 197–212, 2019.

DURÁN, G. et al. Evaluation of color change using CIE LAB coordinates on tooth structure subjected to different concentrations of peroxide carbamide. **Revista clínica de periodoncia, implantología y rehabilitación oral**, v. 11, n. 3, p. 143–146, 2018.

EQUIPE ESTATCAMP. **Software Action**São Carlos - SP, Brasil, 2014. Disponível em: <<http://www.portalaction.com.br/>>

FERNANDES, M. B. **Análise de alteração superficial do esmalte bovino submetido a agentes clareadores e substâncias com pH ácido**. Dissertação Universidade de Santa Cruz do Sul, 2017.

FERREIRA, R. M.; ZATTI, R. A. Protocolo para Ensaio de Estabilidade Físico-Química de Fitocosméticos. **Anais V SIMPAC**, v. 5, p. 493–500, 2013.

FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de

liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, 2005.

FREITAS, C. M. D. DE. **Teor de Peróxido de Carbamida em Clareadores Dentais Manipulados na cidade de Cascavel - PR**. Dissertação. Faculdade Assis Gurgacz, 2015.

G. CASTEX, M.; M. P. ABRANTES, S. Analytical Method Validation for Determination of Tuberculostatics in Fixed Dose Combination by Capillary Electrophoresis. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 6, p. 2237–2256, 2018.

GADANHA, A. N. et al. Stability of carbamide peroxide in gel formulation as prepared in Brazilian compounding pharmacies. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 94, n. 2, p. 115–119, 2013.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. **Cosméticos: a química da beleza**. 2011

GIMENEZ, F. N. **A estética do Sorriso**. Trabalho Conclusão de Curso da Universidade Estadual de Londrina, 2016.

GOES JUNIOR, E. et al. Validação De Método Espectrofotométrico De Análise Para a Quantificação De Ácido Acetilsalicílico Em Formulações Farmacêuticas: Uma Proposta De Aula Experimental Para Análise Instrumental. **Química Nova**, v. 42, n. 1, p. 99–104, 2018.

GREYCE A., S.; MARA E.F., B.; HUGO T.S., B. A Química na Odontologia. **Química Nova na Escola**, v. 39, p. 4–11, 2017.

GUIDELINE, I. H. T. **Validation of Analytical Prodedures: Text and Methodology Q2(R1)**, 2005.

ITO, Y.; OTSUKI, M.; TAGAMI, J. Effect of pH conditioners on tooth bleaching. **Clinical and Experimental Dental Research**, n. November 2018, p. 212–218, 2019.

JUNIOR, E. J. A. G. et al. UV spectrophotometry analytical method validation for quantification of paracetamol in oral solution. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 4, p. 1747–1759, 2017.

KNISPEL, G. Factors affecting the process of color matching restorative materials to natural teeth. **Quintessence international (Berlin, Germany : 1985)**, v. 22, n. 7, p. 525–31, 1991.

LIMA, F. V. **Estratégia de vetorização por nanotecnologia do ativo peróxido de carbamida para clareamento dental**. Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina. 2017.

MARTINI, E. C. et al. Does the use of reservoirs in bleaching trays have any impact on the efficacy of at-home bleaching? A systematic review and meta-analysis. **Brazilian Dental Journal**, v. 30, p. 285–294, 2019.

MAY, C. et al. **Gel de peróxido de carbamida: Critérios a manipulação**. Curitiba: Equilibra Instituto, 2006.

MJÖR, I. A.; NORDAHL, I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 41, n. 5, p. 401–412, 1996.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo Faculdade, 2006.

OKUBO, S. R. et al. Evaluation of visual and instrument shade matching. **The Journal of prosthetic dentistry**, v. 80, n. 6, p. 642–648, 1998.

PAGAN, F. DE S. et al. Validação de método analítico para quantificação do Fipronil por cromatografia líquida de alta eficiência. **Centro Científico Conhecer - Enci Bio**, p. 1261–1267, 2019.

PEIXOTO, A. C. et al. High-concentration carbamide peroxide can reduce the sensitivity caused by in-office tooth bleaching: a single-blinded randomized controlled trial. **Journal of Applied Oral Science**, v. 26, n. 0, p. 1–10, 2018.

Pharmacopoeia Europeia, T. S. O. **British Pharmacopoeia**. 2019.

PRÁ, V. D. et al. Formulation and characterization of ultrasound-assisted nanoemulsions containing palm oil (*Elaeis guineensis* Jacq) in water. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 2, p. 941–947, 2019.

PRETO, V. L. S. M. **Desenvolvimento de microemulsões para aplicação tópica**. Dissertação apresentada à Escola Superior de Tecnologia e de Gestão do Instituto Politécnico de Bragança. 2016.

RAHMAN, M. A.; MUJAHID, M. Development of self-nanoemulsifying tablet (SNET) for bioavailability enhancement of sertraline. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 1, 2018.

REZENDE, M. et al. Tooth sensitivity after dental bleaching with a desensitizer-containing and a desensitizer-free bleaching gel: a systematic review and meta-analysis. **Operative Dentistry**, v. 44, n. 2, p. E58–E74, 2019.

RODRIGUES, R. F. et al. Development and characterization of evening primrose (*Oenothera biennis*) oil nanoemulsions. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 4, p. 422–425, 2015.

SALEM, H. F. et al. Development and characterization of a novel nano-liposomal formulation of Alendronate Sodium loaded with biodegradable polymer. **Ars Pharmaceutica**, v. 59, n. 1, p. 9–20, 2018.

SANTOS, G. M. DOS; PROCHNAU, I. S. Validação de Metodologia de Doseamento de Sulfametoxazol (matéria-prima) por espectrofotometria. **Saúde & Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 62–71, 2018.

SANTOS, T. R. B. et al. Avaliação de diferentes protocolos no clareamento dentário. **Archives of Health Investigation**, v. 7, n. 10, p. 425–429, 2018.

SILVA, A. C. C. DA. **Nanotecnologia em diagnóstico e terapia no Brasil**. Dissertação apresentada na Universidade de São Paulo, 2015.

SILVA, J. D. F. DA et al. Microemulsions: Components, Characteristics, Potentialities in Food Chemistry and Other Applications. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1196–1206, 2015.

SILVEIRA, C. C. DA et al. Scientometric study os nanocosmeticas. **Revista brasileira de iniciação científica**, p. 108–120, 2019.

SOARES, F. F. et al. Clareamento em dentes vitais: uma revisão literária. **Revista de Saúde**, v. 4, n. 1, p. 72–84, 2008.

TEIXEIRA, L. M. DE S.; REHER, P.; REHER, V. G. S. **Anatomia Aplicada a Odontologia**. 2. ed. Rio de Janeiro. 2012. v. 2

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) com cristal**

líquido : avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas na Universidade de São Paulo, 2012.

UCHIDA, H. et al. Color stability of dental composites as a function of shade. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 79, n. 4, p. 372–377, 1998.

USP, U. P. C. **The United States Pharmacopeia**, 2019.

VIEIRA, B. et al. Consequência do clareamento em dentes vitais e na saúde geral do paciente. **Revista Campos do Saber**, v. 4, p. 33–47, 2018.

VILHENA, K. F. B. et al. Dental enamel bleached for a prolonged and excessive time: Morphological changes. **Revista Plos ONE**, v. 14, n. 4, p. 1–13, 2019.

MATERIAL COMPLEMENTAR

**Tabela 01. Método dos Mínimos Quadrados Ordinários:
Estimação**

Tabela da ANOVA					
Fatores	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estat. F	P-valor
Concentracao	1	0,143382533	0,143382533	3618,896454	2,74E-17
Resíduos	13	0,000515067	3,96205E-05		

Análise exploratória (resíduos)					
Mínimo	1Q	Mediana	Média	3Q	Máximo
-0,01127	-0,004533	-0,0006667	1,301E-19	0,005733	0,01087

Coefficientes				
Preditor	Estimativa	Desvio Padrão	Estat.t	P-valor
Intercepto	-0,227933333	0,011606453	-19,63850108	4,78069E-11
Coefficientes	432,0833333	7,182562871	60,15726435	2,73567E-17

Medida Descritiva da Qualidade do Ajuste			
Desvio Padrão dos Resíduos	Graus de Liberdade	R²	Coefficiente de Correlação
0,006294483	13	0,996420603	0,998208697

Intervalo de confiança para os parâmetros		
Preditor	Limite Inferior	Limite Superior
Intercepto	-0,25300755	-0,202859117
Concentracao	416,5663496	447,600317

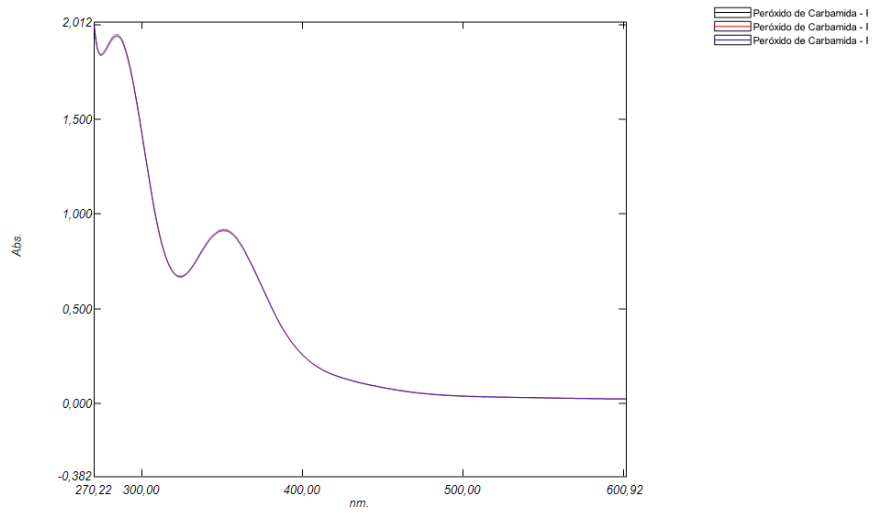


Figura 8. Representação gráfica da varredura

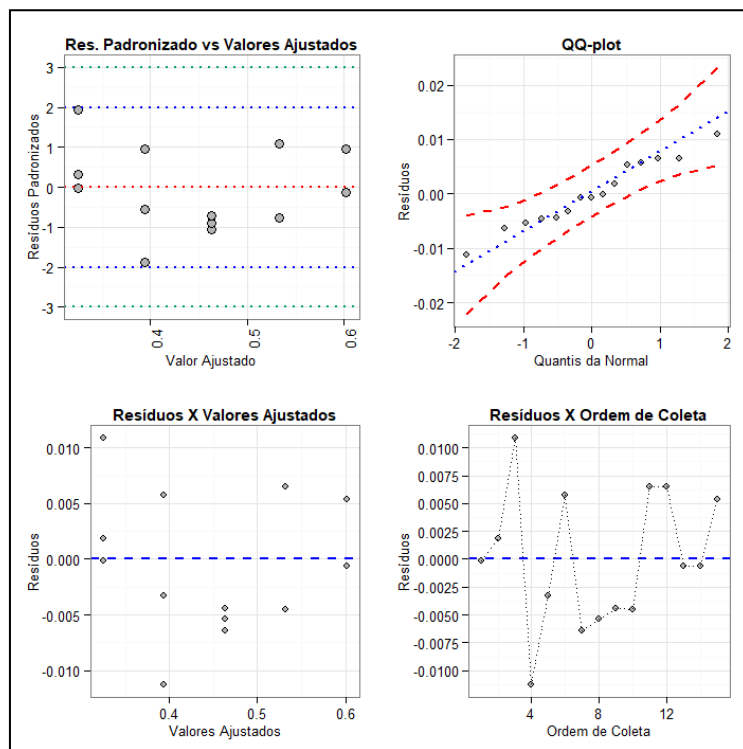


Figura 9. Representação gráfica da dispersão dos resíduos.

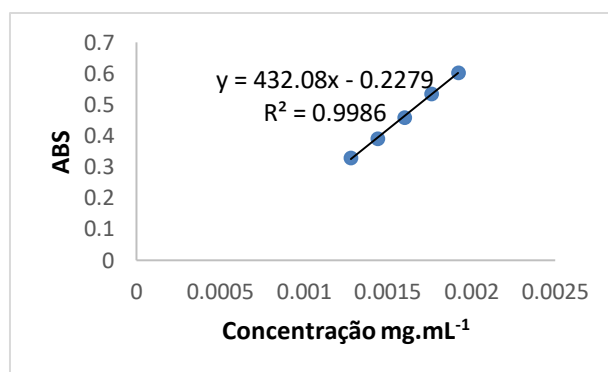


Figura 10. Representação gráfica média das três curvas analíticas obtidas.

Tabela 02. Representação dos resultados da repetibilidade da validação do método analítico.

Nível Teórico	Média concentração (mg.mL ⁻¹)	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
80	0,00127	0,00002	1,20795
100	0,00159	0,00004	2,37513
120	0,00192	0,00003	1,66864

Tabela 03. Representação dos resultados da precisão intermediária da validação do método analítico.

<i>Tabela da ANOVA</i>					
	<i>G.L.</i>	<i>Soma dos quadrados</i>	<i>Quadrados Médios</i>	<i>Estatística F</i>	<i>P-Valor</i>
DIA	1	1,66667E-05	1,66667E-05	0,20661157	0,728400502
ANALISTA	1	8,06667E-05	8,06667E-05	1	0,5
Interação	1	8,06667E-05	8,06667E-05	5,020746888	0,036555657
Repetitividade	20	0,000321333	1,60667E-05		

Tabela 04. Representação dos resultados da exatidão da validação do método analítico.

<i>Exatidão</i>	Valores
Recuperação (%)	99,515
Desvio Padrão	2,075
Limite Inferior	98,834

Limite Superior	100,196
-----------------	---------

Tabela 05. Representação do limite de quantificação do método analítico.

Resultados do Limite de Quantificação (LQ)	
	Valores
Desvio Padrão dos Resíduos	0,00880
Limite de Quantificação (mg.mL ⁻¹)	0,00019

Tabela 06. Representação do limite de detecção do método analítico.

Resultados do Limite de Detecção (LD)	
	Valores
Desvio Padrão dos Resíduos	0,00926
Limite de Detecção (mg.mL ⁻¹)	0,00007

Tabela 07. Representação dos resultados da robustez do método analítico, TESTE T – PAREADO, diferentes fornecedores de ácido acético.

Resultados da Análise

<i>Resultados</i>	
Estatística T	-1,732051
Graus de Liberdade	2
P-valor	0,2254033
Média de a	0,451
Média de b	0,452
Desvio Padrão das diferenças	0,001
Tamanho das Amostras	3
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
	-
Limite Inferior	0,003484138
Limite Superior	0,001484138

Tabela 08. Representação dos resultados da robustez do método analítico, TESTE T – PAREADO, diferentes fornecedores de Iodeto de Potássio.

<i>Resultados</i>	
Estatística T	2
Graus de Liberdade	2
P-valor	0,1835034
Média de a	0,4486667
Média de b	0,4473333
Desvio Padrão das diferenças	0,001154701
Tamanho das Amostras	3
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
	-
Limite Inferior	0,001535102
Limite Superior	0,004201768

Tabela 09. Representação dos resultados da robustez do método analítico, TESTE T – PAREADO, diferentes marcas de espectrofotômetro.

<i>Resultados</i>	
Estatística T	2,773501
Graus de Liberdade	2
P-valor	0,1091292
Média de a	0,4606667
Média de b	0,4573333
Desvio Padrão das diferenças	0%
Tamanho das Amostras	3
Hipótese Alternativa Diferente de	0
Nível de Confiança	95%
	-
Limite Inferior	0,001837812
Limite Superior	0,008504478

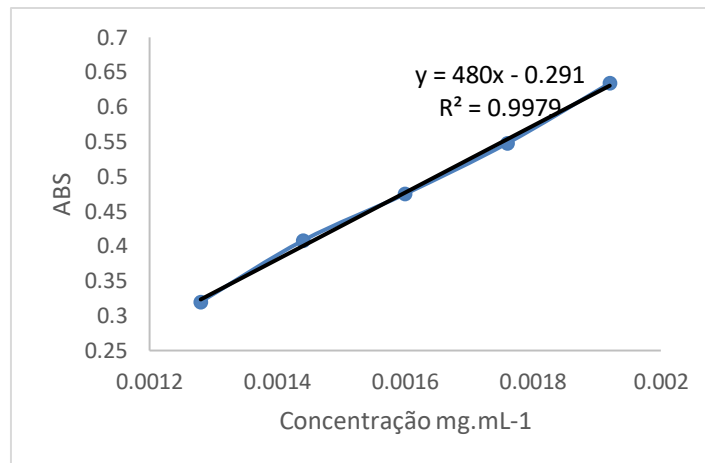


Figura 11. Representação gráfica da concentração (mg.mL⁻¹) versus a absorbância (ABS), em função da obtenção da curva de calibração do peróxido de carbamida 16% por espectrofotometria.



Figura 12. Representação do clareamento in vitro dos dentes bovinos.

7. Considerações Finais

O peróxido de carbamida foi sintetizado de forma satisfatória, assim como o controle de qualidade das matérias-primas atenderam aos requisitos estabelecidos pela farmacopeia.

O sistema nanodisperso foi obtido de forma satisfatória para veiculação de peróxido de carbamida na concentração de 16% para utilização como clareador dental.

O método validado se mostra seletivo, linear, robusto, preciso e exato para a quantificação de peróxido de carbamida 16% em sistemas nanodispersos.

As formulações foram caracterizadas como sistemas nanodispersos com características que sugerem a classificação como cristal líquido de fase cúbica (embora possa tratar-se de microemulsões); no entanto, há a necessidade de confirmação por Espalhamento de raio X a baixo ângulo (SAXs). De um modo geral o sistema manteve-se estável à temperatura ambiente e baixa temperatura; no entanto, temperaturas elevadas ao longo do tempo indicam uma possível redução do prazo de validade do produto.

Os resultados obtidos sugerem um produto nanodisperso inovador de alto valor agregado, estável e capaz de substituir os clareadores convencionais mantendo, portanto, o objetivo de clareamento e com o diferencial deste sistema carreador poder levar a uma maior permeação do produto pelos canalículos dentinários, aumentando a eficácia do clareamento com perspectivas de aumento de segurança, seja por diminuição da dose ou por redução do tempo de exposição, que poderia ser avaliada em etapa futura.