

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CAMPUS DE ARARAQUARA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS PARA  
ADMINISTRAÇÃO CUTÂNEA DE DEXAMETASONA**

NATÁLIA BARBOSA VEDOVATO

ARARAQUARA –SP

2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CAMPUS DE ARARAQUARA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE SISTEMAS NANOESTRUTURADOS PARA  
ADMINISTRAÇÃO CUTÂNEA DE DEXAMETASONA**

NATÁLIA BARBOSA VEDOVATO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia – Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, área de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do grau de Farmacêutico-Bioquímico.

**ORIENTADORA:** PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. MARIA PALMIRA DAFLON GREMIÃO

**CO- ORIENTADORA:** DRA. HILRIS ROCHA E SILVA

ARARAQUARA – SP

2011

## RESUMO

Os sistemas nanoestruturados são capazes de aumentar a permeação de um fármaco sem alterar as suas propriedades e direcioná-lo para regiões específicas favorecendo a interação com sistemas biológicos. Algumas formações dos sistemas nanoestruturados cristais líquidos, microemulsões podem permitir a liberação lenta do fármaco o que propicia um efeito mais prolongado da ação deste, aumento da solubilidade e estabilidade de fármacos, capacidade de agir como sistemas reservatórios, diminuição da toxicidade, bem como melhor a biodisponibilidade dos fármacos. A dexametasona (DMA) é um corticóide muito utilizado, mas que possui muitos efeitos colaterais, como eritema, hipertensão arterial, acne, aumento de peso e apetite, entre outros, devido sua capacidade de atravessar o estrato córneo por difusão, assim ele é capaz de alcançar a circulação e causar efeitos colaterais sistêmicos. Para diminuir a ação desses efeitos indesejáveis é preciso controlar a permeação desta classe de fármaco e aumentando a sua retenção cutânea. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de sistemas nanoestruturados estabilizados com álcool cetílico etoxilado e propoxilado (PRO) como tensoativo, ácido oléico (AO) ou óleo mineral (OM) como fases oleosas para a administração cutânea de DMA. Estas fases oleosas foram selecionadas por apresentarem características físico-químicas diferentes, bem como promoveram diferenças estruturais em formulações de estudos anteriores. A caracterização por microscopia de luz polarizada mostrou que a dexametasona pouco interfere na estruturação das formulações. A reologia mostrou que as formulações, com ácido oléico como fase oleosa, AO1 e AO2 são as formulações com melhores condições de aplicação cutânea. Os cristais líquido de fase cúbica, foram os que mais foram capazes de solubilizar DMA, além de apresentarem as maiores forças de bioadesão. Ensaio de liberação *in vitro* em célula de difusão tipo Franz mostraram que a concentração de DMA permeada foi mais elevada quando incorporado nas formulações de fase cúbica de óleo mineral como fase oleosa, em relação as formulações de fase lamelar e microemulsões, mas que estas retém uma quantidade de fármaco maior na pele do que as demais.

Palavras-chave: dexametasona, cristais líquidos, microemulsões, bioadesão.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. OBJETIVOS .....	19
2.1. OBJETIVO GERAL.....	19
2.1.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	19
3.1. MATERIAIS E REAGENTES .....	19
3.2 EQUIPAMENTOS.....	20
3.3. MÉTODOS .....	20
3.3.1. DESENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS .....	20
3.3.2. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DA DEXAMETASONA. ....	22
3.3.3. AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA FORÇA BIOADESIVA.....	24
3.3.4. AVALIAÇÃO PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i> DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS.....	26
3.3.5. AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA PERMEAÇÃO CUTÂNEA.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
4.1. DESENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS.....	31
4.1.2. DIAGRAMA DE FASES .....	31
4.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS SISTEMAS COLOIDAIIS .....	33
4.2.1. MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA (MLP) .....	33
4.2.2. COMPORTAMENTO REOLÓGICO .....	36
4.3. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DA DEXAMETASONA. ....	40
4.3.1. ELABORAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE SOLUBILIZAÇÃO DA DMA. ....	40
4.3.2. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE SOLUBILIZAÇÃO DE DEXAMETASONA NOS SISTEMAS.....	42

4.4. AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA FORÇA BIOADESIVA .....	46
4.5. AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i> DAS FORMULAÇÕES SELECIONADAS .....	47
4.5.1. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA .....	47
4.6. AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA PERMEAÇÃO CUTÂNEA .....	52
5. CONCLUSÃO .....	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Estrutura química da dexametasona .....10
- Figura 2.** Diagrama de fases para o sistema estabilizado com PRO como tensoativo, fase oleosa miristato de isopropila e água. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL – Cristal líquido, EL – emulsão líquida, EV – emulsão viscosa e SF – separação de fases (Urban, 2004).....12
- Figura 3.** Figura representativa do teste de bioadesão das amostras de AO usando analisador de textura.....25
- Figura 4.** Figura representativa do teste de bioadesão das amostras de OM usando analisador de textura.....25
- Figura 5.**Diagrama de fases para o sistema estabilizado com álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP como tensoativo, fase oleosa ácido oléico e água destilada. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL- cristal líquido,EM- emulsão,SF – separação de fases.....31
- Figura 6.** Diagrama de fases para o sistema estabilizado com álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP como tensoativo, fase oleosa óleo mineral e água destilada. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL- cristal líquido, EM- emulsão e SF – separação de fases.....32
- Figura 7.** Fotografias obtidas por MLP das formulações estudadas sem o fármaco.....33

<b>Figura 8.</b> Fotografias das amostras obtidas por microscopia de luz polarizada (MLP).....	34
<b>Figura 9.</b> Comportamento reológico das formulações sem e com DMA.....	34
<b>Figura 10.</b> Comportamento de viscosidade das formulações.....	38
<b>Figura 11.</b> Curva analítica do DMA em etanol, obtida por espectroscopia no UV em 239 nm (n=3). $y = 0,0373x - 0,0214$ , $r^2 = 0,9988$ .....	40
<b>Figura 12.</b> Quantidade de DMA solubilizada nos constituintes empregados para elaboração das formulações.....	42
<b>Figura 13.</b> Gráfico comparativo da quantidade de DMA incorporada nas formulações. ....	44
<b>Figura 14.</b> Força de biadesão das formulações com e sem DMA em comparação com força de bioadesão do Carbopol®.....	45
<b>Figura15.</b> Curva analítica do DMA em solução tampão fosfato 50mM pH 7,2 + 0,5% de PRO obtida por análise cromatográfica em 239nm (n=3). $y = 0,0005x - 6E-05$ e $R^2 = 0,9998$ .....	47
<b>Figura 16.</b> Cromatograma da solução receptora, utilizando fase móvel metanol/água 65:35 (v/v).....	48
<b>Figura 17.</b> Cromatograma da solução receptora contendo DMA, na concentração 12,5µg/mL, utilizando fase móvel metanol/água 65:35 (v/v). ....	48
<b>Figura 18.</b> Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações de AO3,AO4 e AO5.....	52
<b>Figura 19.</b> Perfis de permeação <i>in vitro</i> das formulações de OM1 e OM2.....	52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Condições cromatográficas para obtenção da curva analítica em tampão fosfato 50mM pH 7,2 .....	27
<b>Tabela 2.</b> Porcentagem de componentes utilizado nas formulações selecionadas...	32
<b>Tabela 3.</b> Composição (%) das formulações para caracterização física do sistema e resultados de MLP. ....	35
<b>Tabela 4.</b> Valores das absorbâncias das soluções etanólicas de DMA obtidas por espectrofometria no comprimento de onda de 239 nm, média de três determinações, desvio padrão e coeficiente de variação. ....	41
<b>Tabela 5.</b> Ensaio prévio da incorporação do DMA nas formulações contendo ácido oléico e óleo mineral: quantidade de fármaco em que se observou dissolução completa e quantidade em que se observou precipitação. ....	42
<b>Tabela 6.</b> Quantidade máxima de DMA incorporada nas formulações (mg/g), média e desvio.....	43
<b>Tabela 7.</b> Resultados obtidos nos testes de recuperação para validação dos ensaios de liberação <i>in vitro</i> . ....	49
<b>Tabela 8.</b> Coeficientes de variação obtidos nas análises das amostras de concentração 0,5; 10 e 30µL de DMA para ensaios de precisão em solução receptora.....	50
<b>Tabela 9.</b> Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e de quantificação para validação dos ensaios de liberação <i>in vitro</i> . ....	50
<b>Tabela 10.</b> Quantidade de DMA permeada por área após 12h de experimento. ....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS

AO – Ácido oléico

CL – Cristal líquido

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

DMA – Dexametasona

EC – Estrato córneo

LD – Limite de detecção

LQ - Limite de quantificação

ME - Microemulsão

MLP – Microscopia de luz polarizada

OM – Óleo mineral

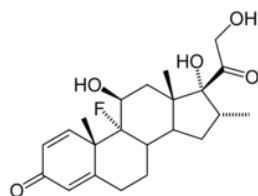
PRO - Álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP

## 1. INTRODUÇÃO

Desde 1948, com a introdução da cortisona e mais tarde a hidrocortisona (1951), os esteróides anti-inflamatórios tornaram-se uma proeminente da classe farmacológica. Elas são atualmente os fármacos de escolha para o tratamento de várias doenças, apesar dos seus efeitos secundários adversos, como eritema, hipertensão arterial, acne, aumento de peso e apetite, entre outros. (AVERY.et al.,1997) .

O uso de esteróides tópicos representou um grande avanço em dermatologia. O acetato de dexametasona (9-fluoro-11 $\beta$ ,17,21-triidroxi-16 $\alpha$ -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona) é um esteróide indicado para o tratamento de diversas patologias como por exemplo: afecções alérgicas graves, doenças reumáticas, herpes zoster oftálmico entre muitas outras, devido à sua ação antiinflamatória e imunossupressora, podendo prevenir ou suprimir processos inflamatórios de várias naturezas, inclusive resultantes de radiações, mecânicos, químicos e infecciosos. Embora o efeito não atinja a doença de base, seu uso é muitas vezes de vital importância na supressão do processo histopatológico natural ou para combater efeitos secundários de outros fármacos (Figura 1). (Gasco.et al.,1988)

**Figura 1. Estrutura química dexametasona**



Este esteróide é freqüentemente incorporado em pomadas, cremes, loções, aerossóis e microemulsões (GASCO.et al.,1988).

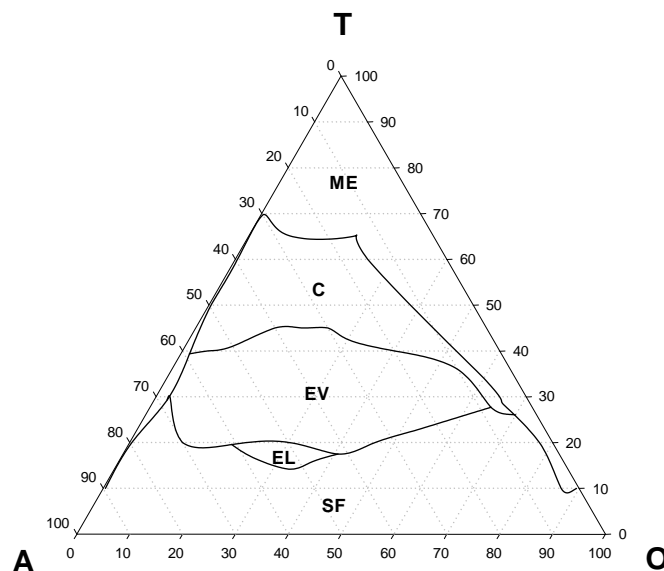
Vários estudos têm sido realizados para examinar os fatores que controlam a absorção percutânea desta classe de fármacos. Os corticóides atravessam o estrato córneo por difusão transepidérmica e sua concentração na epiderme depende da razão de penetração cutânea, da polaridade do fármaco e da perfusão sangüínea da derme. Deste modo, o corticóide atravessa a camada de queratina do estrato córneo e exerce seu efeito na camada granulosa da epiderme e, para alcançar a circulação e produzir os efeitos colaterais sistêmicos, deve penetrar na barreira entre a epiderme e a derme. Assim, para se obter um efeito tópico satisfatório, é desejável modular a permeação do fármaco, diminuindo sua migração para a derme(URBAN,2004) .

O corticosteróide aplicado topicamente produz seu efeito local pela ligação com receptores específicos de glicocorticóides localizados na epiderme e na derme, sendo a afinidade da ligação maior na epiderme do que na derme. Através de várias modificações moleculares conseguiu-se aumentar a atividade antiinflamatória dos corticosteróides, resultando em uma gama de compostos de variadas potências. Entretanto, o aumento da potência pode aumentar a ocorrência de efeitos colaterais e a aplicação destes corticóides em áreas extensas do corpo por períodos prolongados aumenta a probabilidade de ocorrer efeitos colaterais sistêmicos. Os efeitos colaterais locais observados na terapia tópica com corticosteróides incluem atrofia epidérmica, dérmica e subcutânea (AVERY.et al., 1997).

Para algumas patologias, o aumento da concentração de fármacos no estrato córneo é mais importante para a eficácia e segurança do tratamento que o aumento

da absorção percutânea (HASHIGUCHI, 1997). Em razão disso, pesquisas sobre novas alternativas tecnológicas que modulem a liberação destes fármacos têm sido realizadas (AVERY.et al.,1997). Nosso grupo de pesquisa tem estudado sistemas coloidais bastante promissores para a liberação destes fármacos. Estes sistemas, compostos por um álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP, co-polímero tri-bloco, água e diferentes fases oleosas, podem formar sistemas termodinamicamente estáveis e com alta capacidade de solubilização de fármacos(URBAN,2004; LANDGRAF,2006). O comportamento de fase, que forma sistemas mais estruturados com o aumento da proporção de água, torna estes sistemas bastante interessantes para utilização na liberação de fármacos. As características físicas, químicas e físico-químicas deste tensoativo e das fases oleosas, assim como as proporções dos constituintes, são fatores essenciais na formulação desses sistemas coloidais. Urban (2004) verificou que sistemas compostos por Procetyl (PRO), água e miristato de isopropila apresentaram diferentes estruturas em função da variação da proporção entre os componentes (Figura 2).

**Figura 2. Diagrama de fases para o sistema estabilizado com PRO como tensoativo, fase oleosa miristato de isopropila e água. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL – Cristal líquido, EL – emulsão líquida, EV – emulsão viscosa e SF – separação de fases (Urban, 2004).**



A capacidade de incorporação da dexametasona nestes sistemas foi cerca de 10 vezes maior que em seus componentes isoladamente, sendo possível a incorporação de uma concentração 10 vezes maior que a dose farmacológica recomendada. Nesse trabalho, foi observado que a formulação de cristal líquido promoveu maior permeação e retenção de dexametasona em pele de orelha de porco que o creme, empregando os mesmos componentes (URBAN, 2004). Alterando a fase oleosa, foi possível obter sistemas com diferentes formas de agregação e concentrações de componentes (LANDGRAF, 2006).

Microemulsões são sistemas isotrópicos e termodinamicamente estáveis, geralmente composto de uma combinação de três a cinco componentes: óleo, água, tensoativo, co-tensoativo e substância ativa (CONSTANTINIDES,1997). As microemulsões apresentam um grande potencial como sistemas de carreamento do fármaco, porque eles podem melhorar a solubilidade, a absorção e a eficácia terapêutica do medicamento.(FORMARIZ,2005).

Os cristais líquidos (CLs) são conhecidos desde 1889, quando Lehmann descreveu um estado intermediário na transformação térmica a partir do estado sólido para um líquido. Em 1922, Friedel usou o termo “estado mesomórfico” (*mesos* – intermediário e *morphé* – forma) para definir este quarto estado da matéria; com isso, os CLs passaram a ser denominados como fases mesomórficas ou mesomórficas cristalinas. (MULLER-GOYMANN,1986; FERRARI,1998).

Esta fase intermediária apresenta propriedades características tanto de sólidos quanto de líquidos, ou seja, possui ordem estrutural, rigidez e ligações definidas como os sólidos e mobilidade, regiões desordenadas e fluidas como os líquidos (MULLER-GOYMANN,1986, MORAIS,2006).

Na caracterização de sistemas líquido-cristalinos, as medidas reológicas são de extrema importância, pois fornecem informações relacionadas ao arranjo das moléculas de tensoativo num sistema tensoativo/água/óleo. A fase lamelar geralmente apresenta-se como líquido viscoso e a fase hexagonal tem a viscosidade semelhante à de um gel, enquanto que a viscosidade da fase cúbica é extremamente elevada (GABBOUN, 2001; HYDE, 2001).

A utilização de CLs em produtos de uso tópico apresenta vantagens funcionais como controle da liberação de substâncias ativas; incorporar princípios ativos em matrizes líquido-cristalinas ou mesmo em formulações que os contenham, pois os CLs protegem as substâncias ativas sensíveis à degradação térmica ou fotodegradação; promoverem aumento da retenção de água no estrato córneo, proporcionando aumento na hidratação cutânea (MULLER-GOYMANN,1986; MORAIS,2006).

No desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos, é extremamente importante a escolha dos componentes, de maneira a atingir os critérios desejados, como eficácia, segurança, estabilidade e aceitação pelo consumidor. Logo, a tendência é ter se cada vez mais disponíveis matérias-primas que permitam bom sensorial e boa estabilidade da formulação, propiciando um prazo de validade viável para comercialização do produto (AYANNIDES,2002; LEONARDI,2006).

A interação entre fármaco e sistema desempenha um importante papel no controle da liberação, sendo que a velocidade e a extensão da liberação de fármacos incorporados nesses sistemas dependerão da estrutura do agregado, assim como das suas características físico-químicas. Essas propriedades tornam possível a utilização de microemulsões e cristais líquidos como veículos carreadores

de substâncias ativas, os quais devem ser capazes de controlar a liberação das substâncias neles incorporados (GABBOUN, 2001; URBAN,2004).

Esses sistemas coloidais têm sido utilizados como sistemas de liberação de fármacos em diferentes vias de administração e, dependendo dos constituintes utilizados, podem modular a liberação tanto de fármacos hidrofílicos como lipofílicos (BAROLI, 2000).

O sucesso terapêutico de produtos tópicos está relacionado também com a habilidade de se conseguir concentrações terapêuticas de fármaco na pele ou mucosa por um tempo tão longo quanto necessário (NACHT, 2002). Em razão disso, o tempo de residência da preparação no local de ação é outro fator que pode limitar a eficácia de preparações administradas por via tópica. Assim, o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos com propriedades bioadesivas tem sido amplamente explorado com o objetivo de aumentar o tempo de permanência da preparação no local de ação.( NACHT, 2002).

A bioadesão pode ser definida como o estado em que dois materiais, dentre os quais pelo menos um é de natureza biológica, são mantidos juntos por um período prolongado através de forças interfaciais (SMART, 2005). O potencial de sistemas bioadesivos consiste em prolongar o tempo de residência da preparação no local de ação, intensificando o contato com a barreira epitelial da pele ou mucosa (HÄGERSTRÖM,2003). Assim, o aumento do tempo de residência da preparação farmacêutica no local de ação, combinado com a liberação controlada do fármaco, pode favorecer a manutenção da concentração efetiva no local de ação, podendo com isso aumentar a eficiência terapêutica e reduzir a frequência de administração de fármacos (WOODLEY,2001; HUANG,2000).

É possível delinear um sistema bioadesivo nas mais variadas formas farmacêuticas, uma vez que a propriedade da adesão depende das características do material utilizado para sua preparação (EVANGELISTA, 2006). Alguns exemplos podem ser citados, como nano/micropartículas (Bravo-Osuna et al., 2007), microemulsões (Vyas et al., 2006), dispersões coloidais de polímeros bioadesivos (Kockisch, et al., 2001, sistemas semi-sólidos, mesofases líquido cristalinas (Bruschi et al., 2008) e hidrogéis (Bruschi. et al., 2007; Huang .et al., 2000).

Embora os estudos dos mecanismos envolvidos e o desenvolvimento de novos sistemas bioadesivos tenham evoluído nos últimos vinte anos, ainda não há uma tecnologia desenvolvida especialmente para analisar a bioadesão. A maioria dos testes foi adaptada de outras técnicas já existentes, mas são necessários para selecionar os promissores candidatos a material bioadesivo e também para estudar seus mecanismos de ação. A maioria das metodologias encontradas na literatura baseia-se na avaliação da força de bioadesão, ou seja, da força requerida para quebrar a ligação entre a membrana modelo e o material bioadesivo (CARVALHO, 2009).

Com o desenvolvimento de materiais bioadesivos mais eficientes, é possível conceber sistemas com propriedades carreadoras mais adequadas para veicular vários fármacos. Eles podem ser projetados para aderir tanto à pele quanto às mucosas e, assim, diminuir efeitos sistêmicos indesejáveis. Finalmente, com esses sistemas será possível desenvolver sistemas com fármacos já existentes e produzir novos produtos com respostas terapêuticas mais adequadas. (CARVALHO, 2009).

A reologia também é um estudo importante pois, ajuda a estabelecer um entendimento teórico das relações entre as propriedades viscoelásticas e as microestruturas do sistema (SIDDIG; RADIMAN; MUNIANDY, 2006).

A correlação entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento que define o comportamento de fluxo de um líquido é mostrada graficamente em diagramas chamados de curvas de fluxo. (SCHRAMM, 2006). Os diferentes tipos de curva de fluxo têm seus correspondentes tipos de curva de viscosidade. As curvas de fluxo representam duas partes do experimento, a curva ascendente que indica o aumento da taxa de cisalhamento, e a curva descendente, quando a taxa de cisalhamento é reduzida continuamente (SCHRAMM, 2006).

A curva ascendente representa o comportamento do fluxo, que pode ser comportamento de fluxo newtoniano, pseudoplástico, plástico e dilatante. O fluxo newtoniano é representado por uma reta, e a razão de todos os pares de valores de tensão e taxa de cisalhamento pertencentes a essa reta é constante. Isso significa que a viscosidade não é afetada por mudanças na taxa de cisalhamento, já que ela é a tangente do ângulo. O fluxo é pseudoplástico quando sofre diminuição de viscosidade quando a taxa de cisalhamento aumenta. Esse aumento favorece a reorientação das partículas rígidas na direção do fluxo, e as interações intermoleculares que causam resistência ao fluxo tornam-se menores, provocando o afinamento do fluxo, conhecido por *shear thinning*. O fluxo plástico é descrito como os líquidos pseudoplásticos, mas com limite de escoamento, e na curva intercepta a ordenada não na origem, mas no ponto crítico (*yield point*). O comportamento de fluxo dilatante é caracterizado pelo aumento da viscosidade quando a taxa de cisalhamento aumenta (SCHRAMM, 2006).

O comportamento reológico descreve o comportamento de um líquido, gás ou sólido quando submetido a uma dada tensão sob um intervalo de tempo (WOOD, 2001).

A viscosidade é uma expressão que representa a resistência do fluido ao fluxo (deformação ou escoamento). Quanto maior a viscosidade, maior a resistência, e esta é dada pela razão entre a tensão de cisalhamento aplicada e o gradiente de cisalhamento, sendo diretamente proporcional à temperatura (WOOD, 2001). Quando há uma relação linear direta entre a tensão e taxa de cisalhamento, os fluidos são chamados de Newtonianos, isto é, não é afetado pelas alterações da taxa de cisalhamento. Quando não há proporcionalidade entre tais parâmetros, os fluidos são não-Newtonianos, podendo ser plásticos, pseudoplásticos ou dilatantes (SCHRAMM, 2006).

O fluxo newtoniano é representado por uma reta, e a razão de todos os pares de valores de tensão e taxa de cisalhamento pertencentes a essa reta é constante. Isso significa que a viscosidade não é afetada por mudanças na taxa de cisalhamento. O fluxo é pseudoplástico quando sofre diminuição de viscosidade quando a taxa de cisalhamento aumenta. Esse aumento favorece a reorientação das partículas rígidas na direção do fluxo, e as interações intermoleculares que causam resistência ao fluxo tornam-se menores, provocando o afinamento do fluxo. O fluxo plástico é descrito como os líquidos pseudoplásticos, mas com limite de escoamento, e na curva intercepta a ordenada não na origem, mas no ponto crítico. O comportamento de fluxo dilatante é caracterizado pelo aumento da viscosidade quando a taxa de cisalhamento aumenta (SCHRAMM, 2006).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de sistemas coloidais estabilizados com álcool cetílico etoxilado e propoxilado(PRO) para a administração cutânea de dexametasona (DMA).

#### **2.1.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Construção de diagramas de fases com o tesoativo procetyl e as fases oleosas ácido oléico e óleo mineral;
- Escolha dos sistemas de interesse;
- Caracterização físico-química das formulações escolhidas por microscopia de luz polarizada e comportamento reológico;
- Determinação da capacidade de solubilização da DMA nas formulações;
- Estudo das propriedades bioadesivas;
- Avaliação da permeação *in vitro*.

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1. MATERIAIS E REAGENTES**

- Ácido oléico (Synth<sup>®</sup>);
- Água deionizada Milli-Q;
- Álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP (Procetyl AWS, CRODA);
- Álcool etílico (Quemis<sup>®</sup>).

- Dexametasona (Purifarma<sup>®</sup>);
- Metanol P.A. (Quemis<sup>®</sup>);
- Óleo mineral.

### **3.2 EQUIPAMENTOS**

- Balança semi-analítica Ohaus - AS200;
- Centrífuga Sorval, modelo TC 6 Du Pont;
- CLAE Varian, módulo de distribuição de solvente ProStar/Dynamax<sup>®</sup> 210/215, detector espectrofotométrico ProStar<sup>®</sup> 330 UV-VIS PDA e Rheodine<sup>®</sup> VS 7125, injetor automático Varian ProSar<sup>®</sup> modelo 410, coluna RP-18 (Varian<sup>®</sup> - Chromsep<sup>®</sup>) 250 mm x 4.6mm I.D. 5 µm tamanho de partícula;
- Dermatômetro (Nouvag TCM 300, Goldach, USA).
- Espectrofotômetro HP 8453;
- Microscópio Jenamed 2, Carl Zeiss – Jena;
- Purificador de água Milli-Q Plus – Millipore;
- Reômetro HAAKE, modelo RS1 (Rheowin 3.5);
- Sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus (Hanson Research Corporation<sup>®</sup>).

### **3.3. MÉTODOS**

#### **3.3.1. Desenvolvimento dos sistemas**

##### **3.3.1.1. Construção do diagrama de fases**

Construiu-se dois diagramas de fases variando as fases oleosas, para tanto utilizou-se Procetyl (PRO) como tensoativo, ácido oléico (AO) e óleo mineral (OM) como fase lipídica e água. Para isso, pesou-se os componentes e preparou-se nove formulações contendo proporções de tensoativo e óleo que variaram de 1:9 até 9:1 (tensoativo/óleo). Nestas, acrescentou-se água destilada em pequenas quantidades (100 µL) até que se obtivesse aproximadamente 100% de água. Durante o experimento, observou-se visualmente os sistemas que foram formados, e, posteriormente, plotou-se os resultados no software Sigma 10.0, obtendo-se os diagramas de fases para as duas fases oleosas testadas.

Assim foi possível classificar e eleger as formulações para caracterização.

### **3.3.1.2. Caracterização física dos sistemas coloidais**

#### **3.3.1.2.1. Microscopia de luz polarizada (MLP)**

As amostras selecionadas foram caracterizadas por MLP através de um microscópio de luz polarizada - Jenamed 2, Carl Zeiss – Jena. Realizou-se o teste primeiramente com as formulações sem DMA e posteriormente com as formulações contendo 0,1% de DMA. Colocou-se as amostras sobre uma lâmina de vidro e cobriu-se com uma lamínula, em seguida foram observadas no microscópio.

#### **3.3.1.2.2. Comportamento reológico**

O comportamento reológico das formulações selecionadas foi realizado através do teste de fluxo ou escoamento, que consiste na avaliação da estrutura da

formulação em relação ao fluxo bem como na determinação da viscosidade. Para esse estudo o equipamento utilizado foi um reômetro (HAAKE, modelo RS1), e o teste de fluxo determina os valores de gradiente de cisalhamento e de tensão, a partir dos quais foi possível determinar a viscosidade das formulações. O dispositivo utilizado foi do tipo placa.

Durante as determinações a temperatura foi controlada em 25°C +/- 1°C e as formulações foram submetidas a uma taxa de cisalhamento que variou de 0 a 200 1/s e respeitando um intervalo de 300 segundos na curva de ida e 300 segundos na curva de volta.

Para este estudo apenas as formulações de ácido oléico foram testadas, as de óleo mineral não foram analisadas, devido ao equipamento não suportar formulações com alta viscosidade.

### **3.3.2. Desenvolvimento de metodologia analítica por espectroscopia de UV-Visível, para determinação da incorporação da dexametasona.**

#### **3.3.2.1. Elaboração da curva analítica para determinação da capacidade de solubilização da DMA.**

Para determinação da quantificação de DMA nos sistemas, foi construída uma curva analítica em etanol, conforme metodologia validada por Landdgraff (2007). Para isso, preparou-se uma solução estoque de DMA em etanol na concentração de 100 µg/mL. Posteriormente adicionou-se 2,0 mL de etanol em uma cubeta de espectrofotômetro e foram adicionados volumes crescentes da solução etanólica de DMA, de modo a se obter diferentes concentrações. As leituras espectrofotométricas foram feitas em triplicata em  $\lambda = 239$  nm.

As diluições foram realizadas em triplicata para análise utilizando metodologia de espectroscopia no UV-Vis em espectrofotômetro no comprimento de onda de  $\lambda =$

239 nm. A curva e o coeficiente de correlação linear ( $r$ ). foram obtidos usando-se a média das três determinações.

### **3.3.3.2.2 Avaliação da capacidade de solubilização de dexametasona nos sistemas**

Primeiramente, avaliou-se a solubilidade da DMA nos constituintes empregados para a elaboração das formulações utilizadas.

Devido à viscosidade da maioria das amostras, a quantificação de DMA nas formulações, não foi possível de ser realizada por métodos tradicionais, como os que envolvem a solubilização de excesso do fármaco na amostra, posterior centrifugação e quantificação. Portanto, foi realizado um ensaio prévio de incorporação, que consistiu da adição de quantidade crescentes de DMA aos componentes e formulações em estudo, até a formação de precipitado, mediante observação visual.

Para isso, pesou-se 2g de formulação e acrescentou-se DMA em porcentagens crescentes, sob agitação manual, até que se observasse formação de precipitado. As formulações ficaram em repouso por 24h após cada adição de DMA. Ao final das 24h observou-se as formulações e registrou-se a quantidade de DMA que solubilizou e que precipitou.

A partir dos resultados obtidos, incorporou-se fármaco nas formulações e, após 24 h, pesou-se uma quantidade das mesmas que, ao se preparar diluições em etanol, a concentração final teórica de fármaco na solução estaria dentro da curva analítica desenvolvida.

As diluições preparadas foram analisadas em espectrofotômetro conforme item 3.2.2.1. Os valores de absorbância foram usados para calcular a concentração de fármaco solubilizado.

### **3.3.3. Avaliação *in vitro* da força bioadesiva**

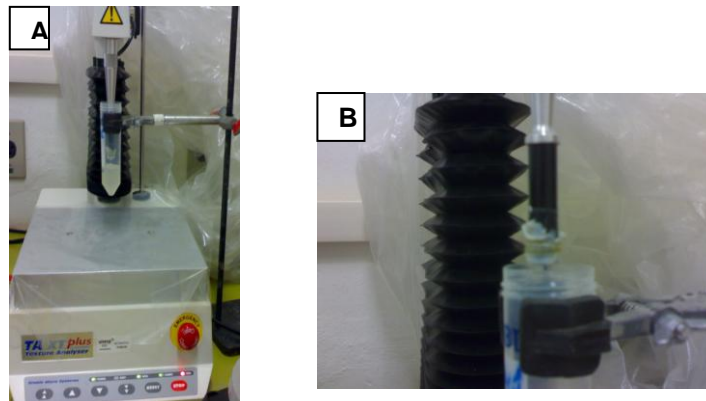
A maioria dos métodos usados para mensurar o efeito quantitativo bioadesivo encontrados na literatura estão baseados na força requerida para separar as pontes de ligação entre a membrana modelo e o adesivo. A força de tensão é um exemplo dentre as forças hoje estudadas e pode ser definida como a força que o material expressa para separar duas partes de forma longitudinal, sem sofrer nenhum tipo de dano (SUDHAKAR, KUOTSU, BANDYOPADHYAY, 2006). Os métodos utilizados medem a força requerida para separar as pontes adesivas entre a membrana usada e o sistema bioadesivo testado. (SUDHAKAR, KUOTSU, BANDYOPADHYAY, 2006).

Para este teste foi utilizado um analisador de textura TAXT *plus* através do teste *Hold Until Time*, o qual mede a força aplicada na remoção da formulação a partir de uma membrana modelo. No presente trabalho, utilizou-se a pele de orelha de porco, não escaldada e adquirida do frigorífico Olhos d'água, situado na cidade de Ipuã, São Paulo. As peles foram limpas e retiradas da região posterior da orelha do porco, sendo a camada subcutânea inteiramente retirada e os pelos cortados. As peles foram dermatomizadas em uma espessura de 500µm mantendo-se o estrato córneo, epiderme e parte da derme. As membranas foram lavadas com água destilada, secas e armazenadas à temperatura de -20°C até o momento de serem utilizadas

(LAFFORGUE. et al., 1997). As membranas foram utilizadas dentro do período de trinta dias após o abate do animal.

A pele de orelha de porco foi afixada no sensor primeiramente com uma fita dupla face, seguido de uma gota de cola Superbonder® e elásticos, conforme as figuras abaixo ilustram:

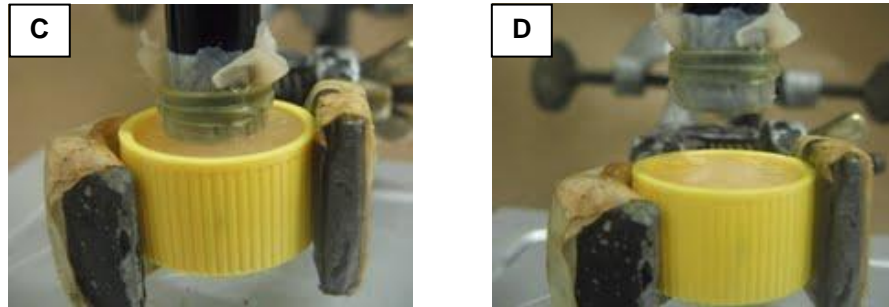
**Figura 3. Figuras representativas (A e B) do teste de bioadesão das amostras de AO usando analisador de textura.**



As amostras de ácido oléico foram pesadas e colocadas em tubos de centrifuga, tipo Falcon (BD®, 45 mL), e foram centrifugadas a 3500 rpm por 3 minutos, para tornar a superfície das amostras lisas.

Já as amostras de óleo mineral por serem muito viscosas, foram colocadas em frascos pequenos de plásticos rasos, com pouca profundidade, conforme mostra a figura 4. Elas foram misturadas e a superfície mantida lisa com espátulas a cada teste.

**Figura 4.** Figura representativa do teste de bioadesão das amostras de OM usando analisador de textura.



Também foi feito um gel de CARBOPOL<sup>®</sup> 974P, na concentração de 5%, e realizou-se os mesmos procedimentos citados acima, para posteriormente comparar o resultado com o das formulações escolhidas, uma vez que o CARBOPOL<sup>®</sup> é um polímero reconhecido na literatura por sua alta capacidade de bioadesão.

### **3.3.4. Avaliação da permeação *in vitro* das formulações selecionadas**

#### **3.3.4.1. Validação de metodologia analítica**

Para avaliar a permeação *in vitro* das formulações, validou-se uma metodologia analítica por CLAE de acordo com a resolução 899 de 29 de maio de 2003. (Anvisa, 2003).

A validação de um método analítico é definida como sendo um processo através do qual é possível garantir que o método em questão atenda às exigências desejadas (BRITTAIN, 1998), o que significa poder reproduzir um método e obter resultados seguros.

### 3.3.4.2. Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (Anvisa, 2003). Segundo a ANVISA, a linearidade deve ser determinada pela análise de no mínimo, 5 concentrações diferentes e o coeficiente de correlação ( $r$ ) dever ser = 0,99.

No presente trabalho, a linearidade consistiu na construção da curva analítica para quantificação de DMA por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a elaboração da curva analítica, preparou-se uma solução estoque contendo 0,1 g de DMA, diluída em 100 mL de metanol, obtendo-se assim uma concentração de 1,0 mg/mL. A partir desta solução foram feitas diluições, retirando-se alíquotas de 2,5; 5; 10; 50; 100; 200; 300; 400 e 500  $\mu$ L da solução estoque e colocando em um balão volumétrico de 10mL, completando-se o volume com tampão fosfato 50 mM pH 7.2 contendo 0,5% de PRO, que foi a solução receptora usada nos ensaios de permeação. As soluções foram analisadas por (CLAE), no comprimento de onda de 239 nm, usando os parâmetros relatados na tabela 1.

Os resultados obtidos foram relacionados em um gráfico da concentração da solução em função da área sob a curva. Desta forma a equação da reta e o coeficiente de correlação linear foram obtidos.

**Tabela 1. Condições cromatográficas para obtenção da curva analítica em tampão fosfato 50mM pH 7,2 .**

<b>Equipamento</b>	CLAE Varian Pro Star
<b>Detector / Comprimento de onda</b>	DAD / 239nm
<b>Coluna / Comprimento / Tamanho de partícula</b>	C18 / 250 x 4mm / 5µm
<b>Fase móvel</b>	metanol / água 65:35
<b>Fluxo</b>	1mL/min.
<b>Volume injetado</b>	20µL

#### **3.3.4.3. Especificidade**

É a capacidade que o método possui de determinar um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (Anvisa.2003). A especificidade foi avaliada através da análise comparativa dos cromatogramas da solução tampão e da solução tampão com DMA.

#### **3.3.4.4. Exatidão**

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro (rotulado). A exatidão é calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito

adicionado à amostra, ou como a diferença percentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança (Anvisa. 2003).

A exatidão foi determinada em triplicata, com três concentrações diferentes da curva, 0,5, 10 e 30 µg/ml , expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a teórica correspondente (percentual de recuperação), conforme mostra a equação abaixo:

**Eq.1**

$$\% \text{ recuperação} = \frac{\text{valor encontrado na análise da amostra simulada} \times 100}{\text{quantidade real do padrão}}$$

#### **3.3.4.5. Precisão**

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas. (Anvisa.2003).

A precisão intra-corrida ou repetibilidade foi avaliada usando três concentrações diferentes da curva, 0,5, 10 e 30 µg/mL, no mesmo dia e sob as mesmas condições experimentais. Os resultados foram analisados através do coeficiente de variação. Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### **3.3.4.6. Limite de detecção e de quantificação**

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições

experimentais estabelecidas. Pode ser calculado baseando-se no desvio padrão da resposta e a inclinação da curva analítica. (Anvisa.2003).

O limite de quantificação de um método representa a mais baixa concentração da substância em exame presente na amostra que pode ser quantificada com adequada precisão e exatidão sob as condições experimentais estabelecidas. Pode ser calculado com base no desvio padrão da resposta e a inclinação da curva analítica (ICH, 1996; BRITAIN, 1998; USP, 2002).

Estes parâmetros foram avaliados com base na obtenção de 3 curvas analíticas do fármaco contendo concentrações próximas ao suposto limite de quantificação, utilizou-se as concentrações de 0,5, 1 e 5µg/mL. Calculou-se os desvios padrão dos coeficientes angulares das retas e os coeficientes lineares das mesmas e aplicou-se em equações indicadas pelo ICH (2005) e ANVISA (2003) para obter os valores de LQ e LD, conforme equações abaixo.

$$\text{Eq.2} \quad LD = \frac{3,3 \times \sigma}{S} \qquad \text{Eq.3} \quad LQ = \frac{10 \times \sigma}{S}$$

Onde:  $\sigma$  = desvio padrão e S = inclinação da curva de calibração.

### **3.3.5. Avaliação *in vitro* da permeação cutânea citar em quais formulações forma feitas.**

Para a determinação dos perfis de permeação *in vitro* dos fármacos, foi utilizado o Sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus (Hanson Research Corporation®). As membranas biológicas utilizadas foram peles de orelhas de porco, dissecadas e dermatomizadas como no teste de bioadesão. Os experimentos foram conduzidos a 37°C, 300 rpm, empregando o

como meio receptor tampão fosfato com pH 7,2 contendo 0,5% de PRO para manter as condições *sink*.

Sobre a extremidade das células foram colocadas as peles de orelha de porco, com a derme voltada para a solução receptora. Espalhou-se uniformemente sobre toda a área da membrana, aproximadamente, 300 mg da formulação contendo 0,1% de dexametasona. Foram coletadas amostras de 1,5 mL nos tempos de 30min,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12 horas.

As alíquotas foram filtradas por membranas de 0,45 $\mu$ m (MILLIPORE®) e quantificadas por CLAE conforme parâmetros relatados no item 3.3.4.1. Os experimentos foram realizados em triplicata.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. DESENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS**

#### **4.1.2. Diagrama de fases**

Após análise dos diagramas de fases, as formulações escolhidas foram as que se enquadraram nas regiões de cristal líquido e microemulsão, por terem características desejadas para os testes, ou seja, características de viscosidade e liberação controlada desejadas para aplicação cutânea. Os diagramas de fases estão representados nas figuras 5 e 6.

As concentrações de cada componente utilizado estão representadas na tabela 2. As formulações contendo ácido oléico como fase oleosa foram denominadas com AO e as contendo óleo mineral, com OM.

Figura 5. Diagrama de fases para o sistema estabilizado com álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP como tensoativo, fase oleosa ácido oléico e água destilada. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL- cristal líquido, EM- emulsão, SF – separação de fases

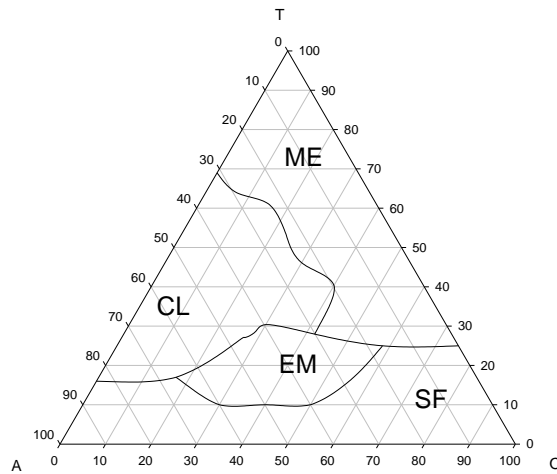


Figura 6. Diagrama de fases para o sistema estabilizado com álcool cetílico etoxilado 20 OE e propoxilado 5 OP como tensoativo, fase oleosa óleo mineral e água destilada. As áreas delimitadas representam: ME – microemulsão, CL- cristal líquido, EM- emulsão e SF – separação de fases.

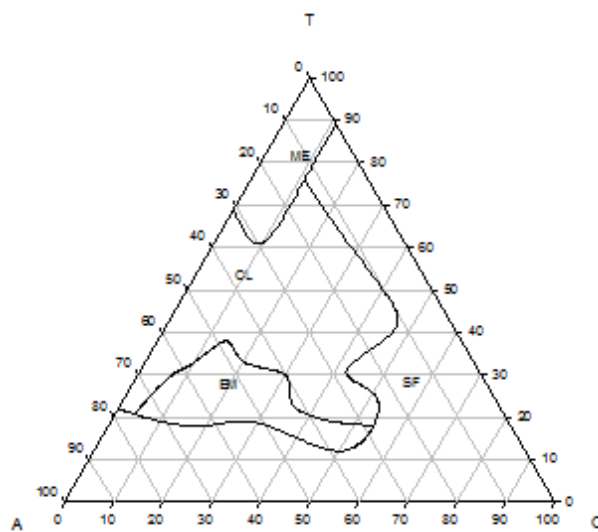


Tabela 2. Porcentagem de componentes utilizado nas formulações selecionadas

<b>Formulações</b>	<b>Tensoativo (%)</b>	<b>Fase oleosa %</b>	<b>Fase aquosa %</b>
<b>AO1</b>	40	10	50
<b>AO2</b>	40	20	40
<b>AO3</b>	40	30	30
<b>AO4</b>	40	40	20
<b>AO5</b>	40	50	10
<b>OM1</b>	40	10	50
<b>OM2</b>	50	10	40

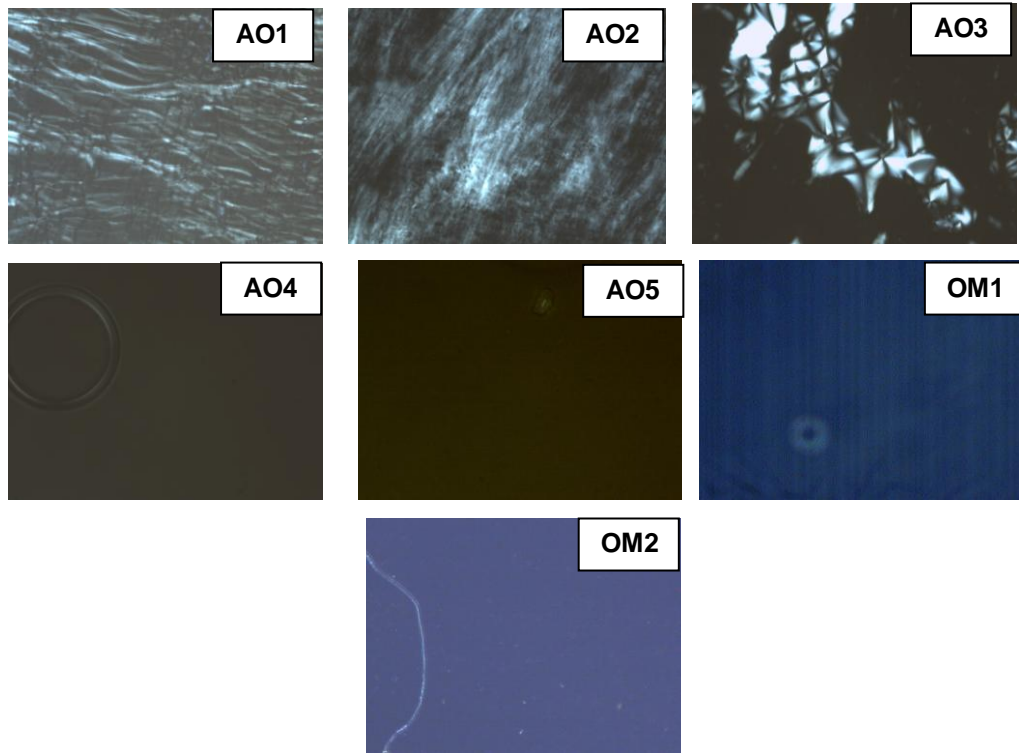
## **4.2. Caracterização físico-química dos sistemas coloidais**

### **4.2.1. Microscopia de luz polarizada (MLP)**

A microscopia de luz polarizada é uma técnica que possibilita a classificação quanto à isotropia e anisotropia dos sistemas, permitindo diferenciar microscopicamente os tipos de estruturação. Os sistemas isotrópicos são aqueles que não desviam luz sob o plano de luz polarizada, e os anisotrópicos desviam luz sob o plano de luz polarizada. (DAVIDSON, M.W et al., 2003)

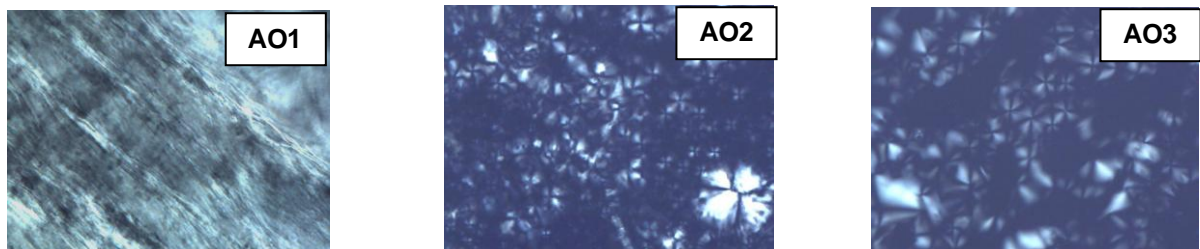
A figura 7 mostra os resultados de MLP para as formulações sem fármaco.

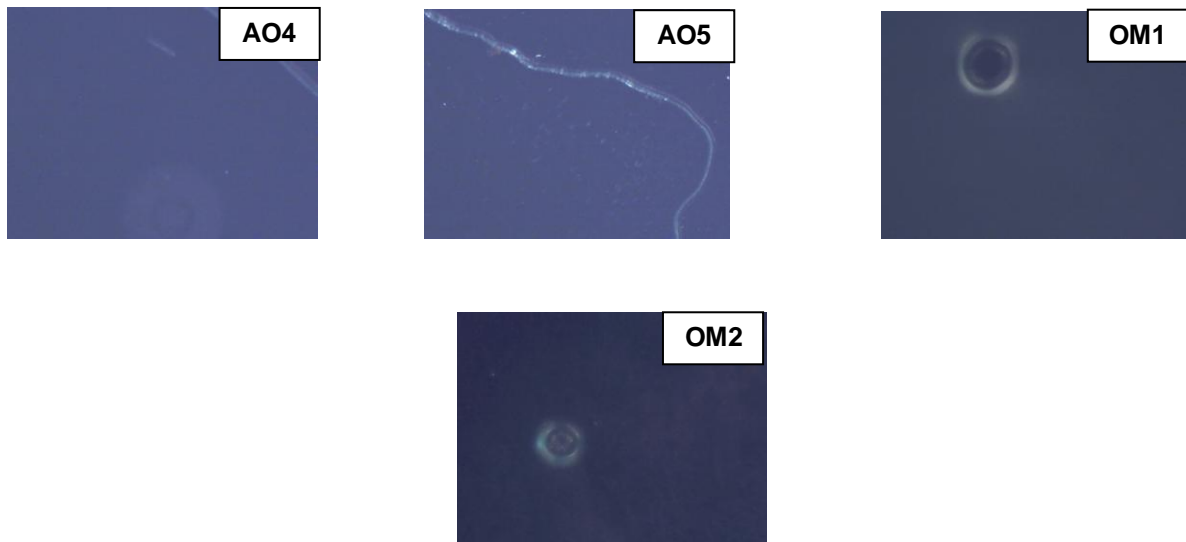
Figura 7. Fotografias obtidas por MLP das formulações estudadas sem o fármaco.



A figura 8 mostra o comportamento apresentado pelas formulações com a adição de 0,1% de DMA, na MLP:

Figura 8. Fotografias das amostras obtidas por microscopia de luz polarizada (MLP).





As formulações AO4, AO5, OM1, OM2 com e sem DMA mostraram campo escuro, ou seja não desviam a luz na MLP. Esse comportamento é característico de ME ou CL de fase cúbica, entretanto sabendo-se que as ME tende a ter baixa viscosidade e os CL de fase cúbica tem alta viscosidade (ALMEIDA,2003) classificou-se AO4 e AO5 como ME e OM1 e OM2 como CL de fase cúbica. As formulações AO2+DMA e AO3+DMA apresentaram comportamento anisotrópico, mostrando na MLP presença de “cruzes de malta”, sugerindo CL de fase lamelar. Já a AO1 foi possível observar a presença de estrias, na presença e na ausência de DMA, característico de CL de fase hexagonal (Figura8).

Comparando-se as formulações com DMA e sem DMA foi possível perceber que a única formulação que obteve mudança de estrutura foi a AO2+DMA passando da fase hexagonal para lamelar, o que pode ter ocorrido devido a presença de alguns grupamentos polares do fármaco que podem ter interagido com os demais constituintes da formulação proporcionando uma estruturação diferente.

**Tabela 3. Composição (%) das formulações para caracterização física do sistema e resultados de MLP.**

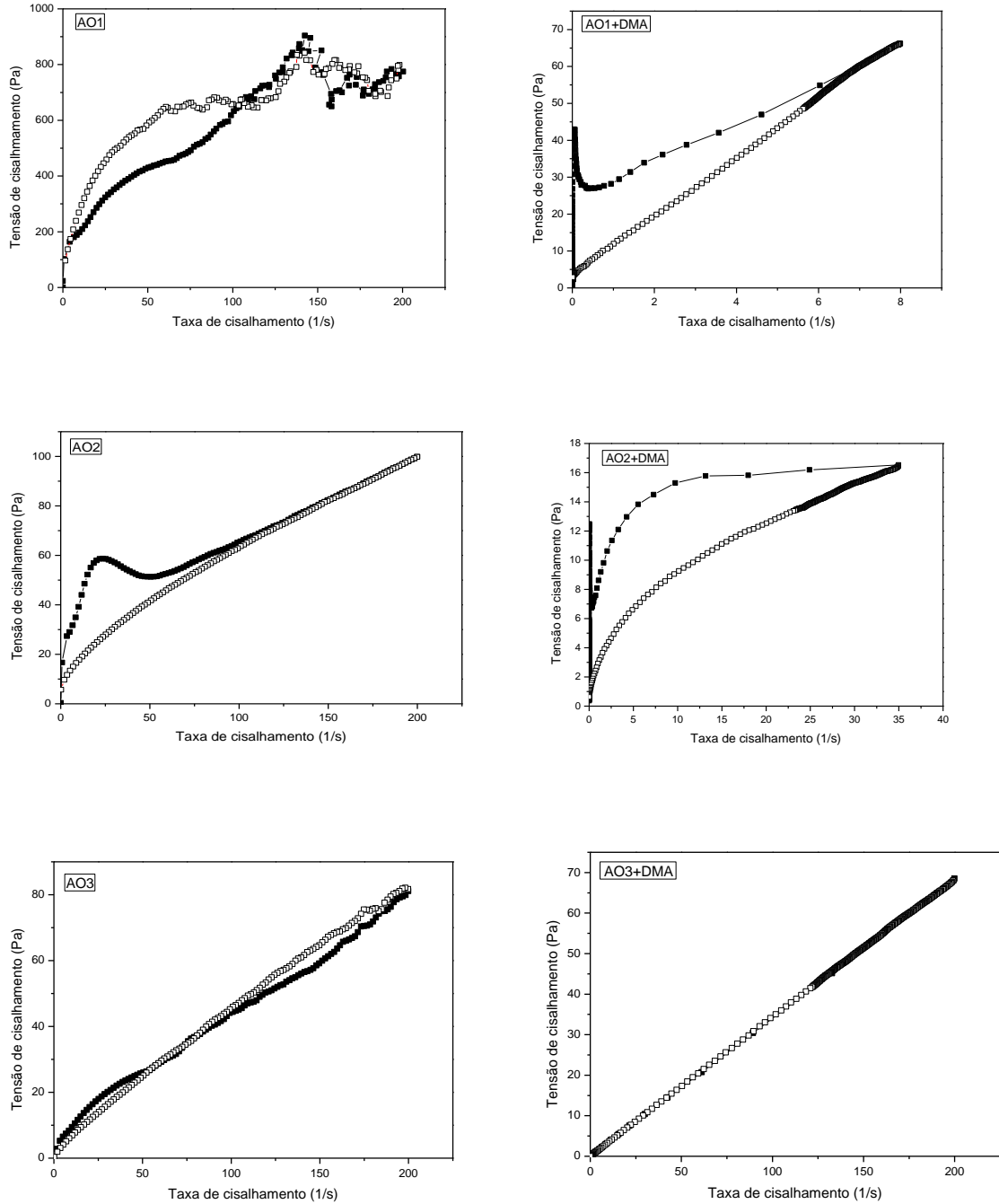
<b>Formulações \Componentes</b>	<b>Tensoativo (%)</b>	<b>Fase oleosa (%)</b>	<b>Fase aquosa (%)</b>	<b>MLP</b>
<b>AO1; AO1+DMA</b>	40	10	50	CL hexagonal <sup>#</sup> ;CL hexagonal <sup>#</sup>
<b>AO2; AO2+DMA</b>	40	20	40	CL hexagonal <sup>#</sup> ;CL lamelar <sup>*</sup>
<b>AO3; AO3+DMA</b>	40	30	30	CL lamelar <sup>*</sup> ; CL lamelar <sup>*</sup>
<b>AO4; AO4+DMA</b>	40	40	20	ME <sup>+</sup> ; ME <sup>+</sup>
<b>AO5;AO5+DMA</b>	40	50	10	ME <sup>+</sup> ; ME <sup>+</sup>
<b>OM1; OM1+DMA</b>	40	10	50	CL cúbica <sup>+</sup> ; CL cúbica <sup>+</sup>
<b>OM2; OM2+DMA</b>	50	10	40	CL cúbica <sup>+</sup> ;CL cúbica <sup>+</sup>

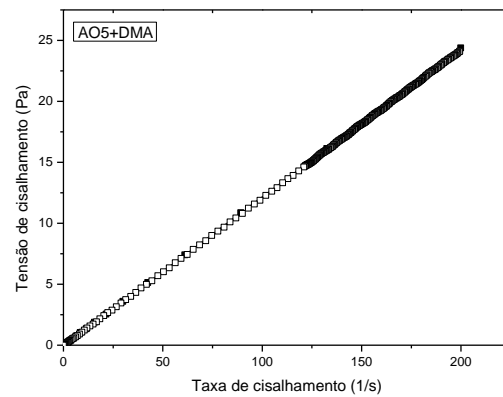
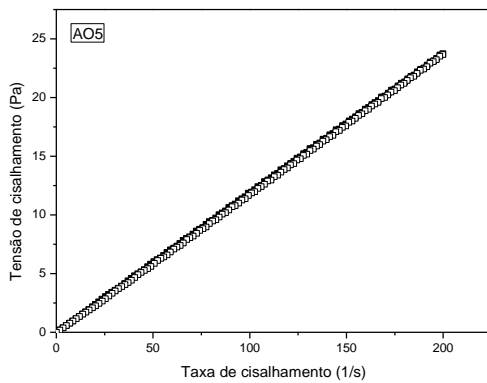
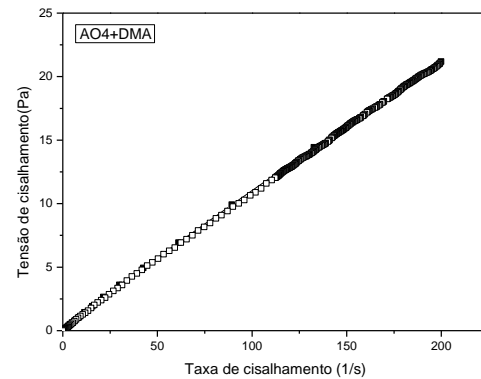
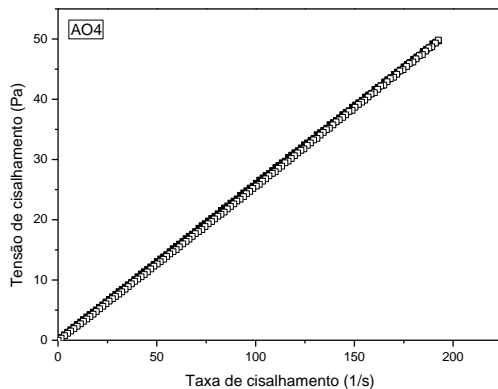
**Nota:** <sup>#</sup> estrias; <sup>\*</sup> cruz de malta; <sup>+</sup> campo escuro.

#### **4.2.2. Comportamento reológico**

A figura 9 mostra os resultados do teste de escoamento para as formulações selecionadas, com e sem farmaco. Abaixo seguem os gráficos representativos do comportamento reológico, das formulações escolhidas com e sem DMA:

Figura 9. Comportamento reológico das formulações sem e com DMA.





Obs:A linha preenchida é representativa da curva de ida e a vazada representativa da curva de volta.

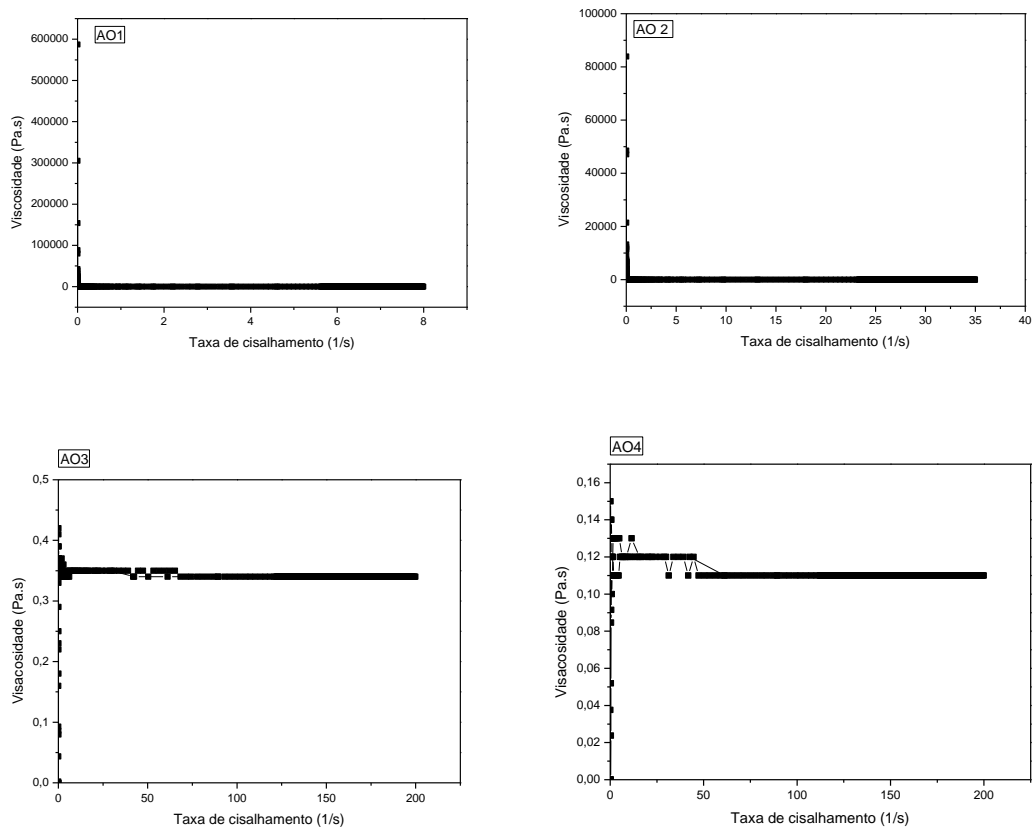
Observou-se que as formulações AO3, AO4 e AO5 obtiveram um comportamento semelhante ao newtoniano tanto nas formulações contendo DMA como nas formulações sem o fármaco, sugerindo-se que a viscosidade não é afetada por mudanças na taxa de cisalhamento.

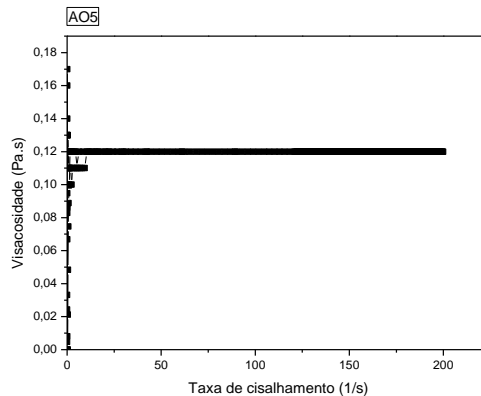
As formulações AO4 e AO5 foram caracterizadas como ME, já a AO3 como CL de fase lamelar. As formulações AO1 e AO2, que são CL de fase hexagonal e lamelar respectivamente, apresentaram um comportamento pseudoplástico, apresentam uma deformação em sua estrutura quando são submetidas a uma dada

tensão, essa deformação é representada pela área de histerese. AO1 e AO2 apresentaram a área de histerese na presença do fármaco, elas diminuem a viscosidade conforme são submetidas a uma taxa de cisalhamento.

A Figura 10 mostra os gráficos referente a avaliação da viscosidade das formulações, auxiliando numa melhor avaliação do comportamento das formulações com DMA em relação a variação da viscosidade versus à taxa de cisalhamento aplicada.

**Figura 10. Comportamento de viscosidade das formulações com DMA.**





As formulações AO1 e AO2 obtiveram a viscosidade diminuída ao serem submetidas a uma força de cisalhamento em relação às formulações AO3, AO4 e AO5. A diminuição da viscosidade juntamente com o comportamento pseudoplástico observado no ensaio de escoamento mostram que a formulação AO1 e AO2 tende a possuir uma facilidade maior na sua espalhabilidade sobre a pele, ou seja, ao ser aplicada ela consegue se espalhar com facilidade, devido a diminuição da viscosidade ao se aplicar uma certa força, e ao mesmo tempo possui a propriedade de permanecer no local da aplicação sem escorrer, o que deve ao seu comportamento pseudoplástico.

#### **4.3. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação da incorporação da dexametasona.**

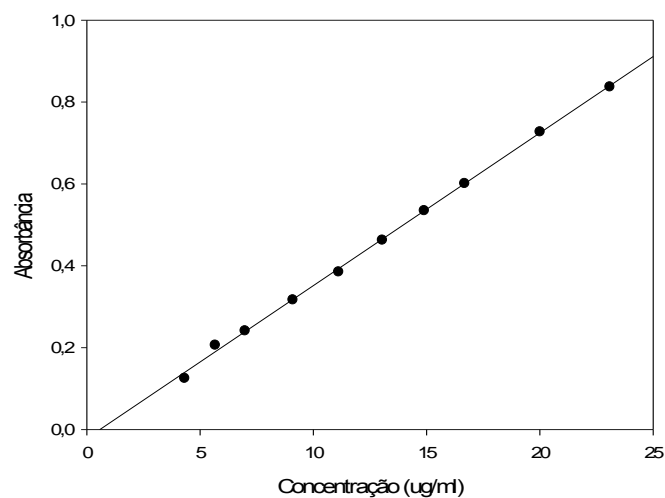
##### **4.3.1. Elaboração da curva analítica para determinação da capacidade de solubilização da DMA.**

A curva analítica do DMA em etanol, a equação da reta e o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) estão representados na figura 11.

Segundo a ANVISA (2003), recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, cinco concentrações diferentes e o intervalo de linearidade para ensaio de dissolução deve estar entre  $\pm 20\%$  sobre o menor e maior valor do fármaco. A curva analítica foi determinada a partir de dez concentrações, as quais foram lidas através de espectroscopia no UV, em triplicata, em  $\lambda = 239 \text{ nm}$ . O coeficiente de correlação encontrado foi de 0,9988 e a equação da reta  $y = 0,0373x - 0,0214$ .

A partir dessa equação e do valor de absorbância das soluções foi possível calcular a quantidade de fármaco incorporado nos diferentes solventes e nas formulações.

**Figura 11. Curva analítica do DMA em etanol, obtida por espectroscopia no UV em 239 nm (n=3).  $y = 0,0373x - 0,0214$ ,  $r^2 = 0,9988$ .**



**Tabela 4. Valores das absorvâncias das soluções etanólicas de DMA obtidas por espectrofometria no comprimento de onda de 239 nm, média de três determinações, desvio padrão e coeficiente de variação.**

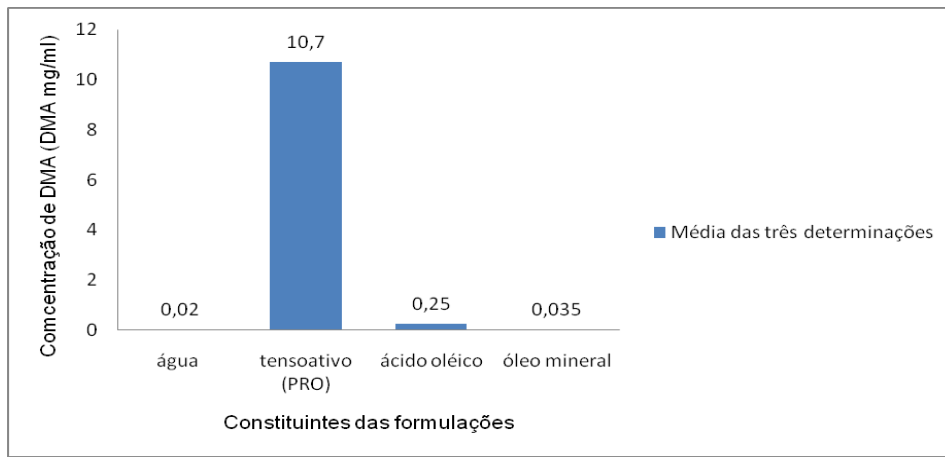
<b>Conc.D MA (µg/mL)</b>	<b>Abs1</b>	<b>Abs 2</b>	<b>Abs 3</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>CV (%)</b>
4,31	0,1278	0,1255	0,1243	0,126	0,0018	1,402
5,66	0,2050	0,2027	0,2125	0,207	0,0052	2,492
6,98	0,2389	0,2379	0,2482	0,242	0,0057	2,360
9,09	0,3182	0,3163	0,3180	0,317	0,0010	0,330
11,11	0,3866	0,3852	0,3850	0,386	0,0009	0,222
13,04	0,4535	0,4811	0,4554	0,463	0,0154	3,328
14,89	0,5271	0,5532	0,5253	0,535	0,0156	2,923
16,67	0,5909	0,6259	0,5881	0,602	0,0210	3,498
20,00	0,7182	0,7463	0,7184	0,728	0,0162	2,222
23,08	0,8381	0,8539	0,8209	0,838	0,0165	1,972

#### **4.3.2. Avaliação da capacidade de solubilização de dexametasona nos sistemas.**

Foi testada a solubilidade da DMA nos constituintes empregados para a elaboração das formulações utilizadas. É importante conhecer a solubilidade do fármaco em cada componente empregado na formulação, pois as partículas do fármaco inicialmente precisam ser solubilizadas para que então possam sofrer partição e se difundir para interface veículo/estrato córneo.

A DMA foi mais solúvel no tensoativo do que nas fases oleosas (Figura 12), possivelmente devido a característica polar do PRO ser maior do que das fases oleosas (maior caráter apolar).

**Figura 12. Quantidade de DMA solubilizada nos constituintes empregados para elaboração das formulações.**



**Tabela 5. Ensaio prévio da incorporação do DMA nas formulações contendo ácido oléico e óleo mineral: quantidade de fármaco em que se observou dissolução completa e quantidade em que se observou precipitação.**

Formulações	Quantidade de DMA incorporado		
	Dissolução	completa	(%)
<b>Precipitação (%)</b>			
<b>AO1</b>	0,4	0,6	
<b>AO2</b>	0,6	0,8	
<b>AO3</b>	0,2	0,4	
<b>AO4</b>	0,2	0,4	
<b>AO5</b>	0,2	0,4	
<b>OM1</b>	3	3,2	
<b>OM2</b>	4,3	4,5	

O ensaio prévio foi realizado para verificar qual a quantidade máxima de DMA seria possível dispersar nas formulações sem que houvesse a precipitação deste. A metodologia foi utilizada devido a viscosidade da maioria das formulações, por isso não se realizou o método tradicional de centrifugação.

Após o ensaio prévio, realizou-se o teste usando-se a metodologia por espectroscopia no UV, obtendo-se os valores de absorvância e calculando-se as concentrações de DMA incorporadas nas formulações, como é possível observar na Tabela 6.

**Tabela 6. Quantidade máxima de DMA incorporada nas formulações (mg/g), média e desvio.**

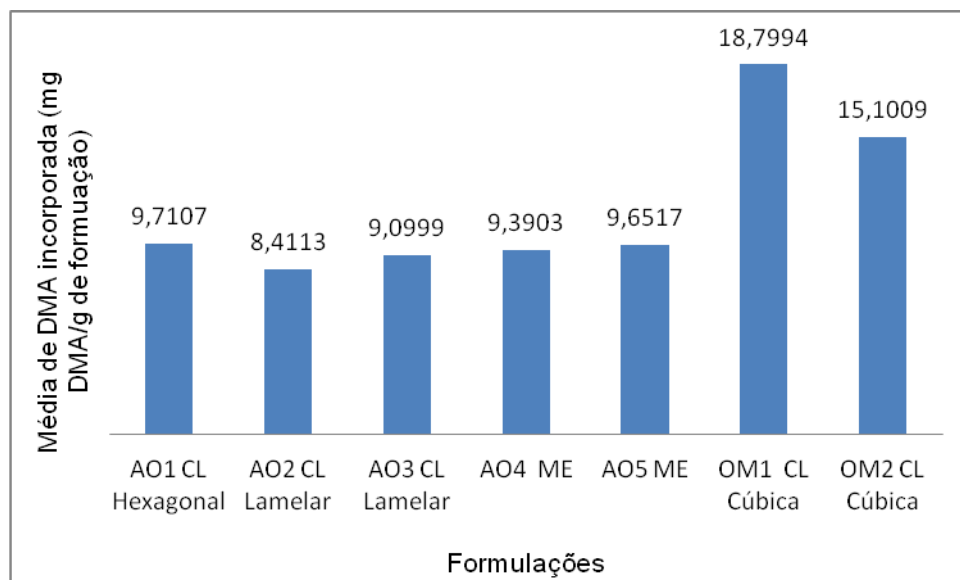
<b>Formulação</b>	<b>n1</b>	<b>n2</b>	<b>n3</b>	<b>MÉDIA*</b>	<b>DP*</b>
<b>AO1</b>	11,08	8,8	9,26	9,71	1,20
<b>AO2</b>	9,03	9,09	7,11	8,41	1,12
<b>AO3</b>	9,46	8,84	8,99	9,09	0,32
<b>AO4</b>	9,15	9,42	9,59	9,39	0,22
<b>AO5</b>	10,30	10,20	8,44	9,65	1,04
<b>OM1</b>	18,88	18,66	18,84	18,79	0,11
<b>OM2</b>	15,38	15,45	14,46	15,10	0,55

\*media e desvio padrão (DP) de triplicata

Os testes realizados nos mostram que as formulações que contêm OM como fase oleosa, conseguiram solubilizar uma quantidade de DMA de 15 a 18 vezes mais do que a concentração usual 1mg/g, sendo que a OM1 foi a formulação que mais incorporou DMA. As formulações que contêm AO como fase oleosa, incorporaram em média 9mg/g de fármaco (Tabela 6 e Figura 13), não sendo observado nenhuma diferença significativa entre as formulações de AO em relação a quantidade de fármaco solubilizada apesar de as mesmas apresentarem diferenças estruturais e diferenças na quantidade de componentes presentes.

No geral, observou-se que as formulações de fase cúbica solubilizaram uma quantidade de DMA maior quando comparado aos demais sistemas, sugerindo-se ser a melhor estrutura para este fármaco solubilizar.

**Figura 13. Gráfico comparativo da quantidade de DMA incorporada nas formulações.**

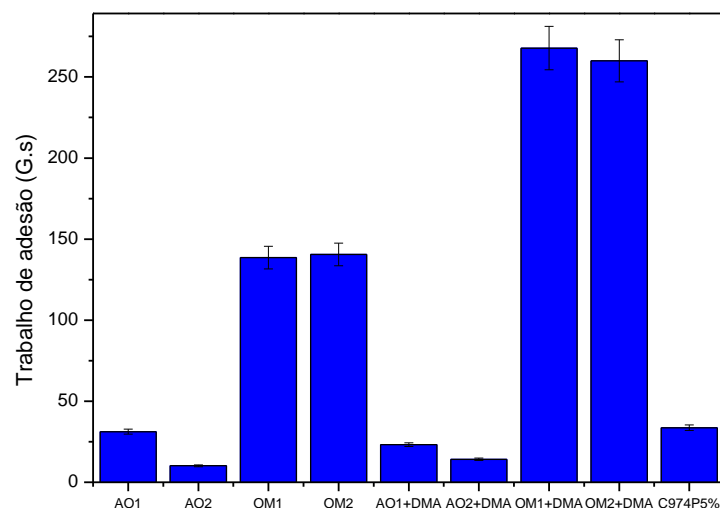


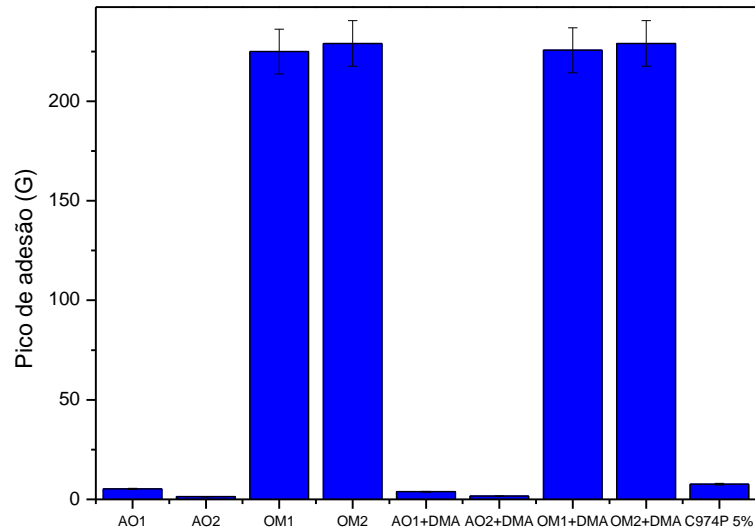
#### 4.4. Avaliação *in vitro* da força bioadesiva

Na década de 1980 esse conceito começou ser aplicado em sistemas de liberação de fármacos. Ele consiste na incorporação de moléculas adesivas em algum tipo de formulação farmacêutica, a qual fica em contato íntimo com o tecido de absorção, liberando o fármaco perto do local de ação, com o conseqüente aumento da biodisponibilidade, promovendo efeitos locais e sistêmicos (HÄGERSTRÖM, 2003; WOODLEY, 2001).

A tabela 7 apresenta os resultados obtidos para o teste de bioadesão realizado com as formulações selecionadas, comparando-se com o gel de CARBOPOL<sup>®</sup> 974P a 5%.

**Figura 14. Força de bioadesão das formulações com e sem DMA em comparação com força de bioadesão do Caropol<sup>®</sup>.**





A figura 14 mostra que as formulações OM1 e OM2 com ou sem fármaco apresentaram uma grande força de bioadesão, até mesmo quando comparados com sistemas que já são comprovados pela literatura, que possuem uma alta bioadesão, como o Carbopol®.

A força de bioadesão dessas formulações são muito superiores as demais formulações estudadas, podendo-se atribuir a sua estrutura cúbica, essa alta propriedade de adesão.

## 4.5. Avaliação da permeação *in vitro* das formulações selecionadas

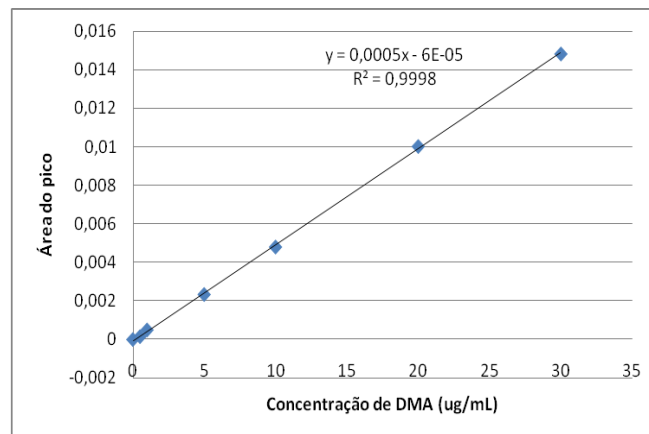
### 4.5.1. Validação da metodologia analítica

A curva analítica do DMA em tampão fosfato 50mM pH 7,2 + 0,5% de PRO foi obtida através de análises cromatográficas, em triplicata, em comprimento de onda  $\lambda$

= 239 nm. A equação representativa da regressão linear foi  $y = 0,0005x - 6E-05$ , com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9998 (Figura 15).

A partir dessa equação e do valor da área do pico das soluções foi possível calcular a quantidade de fármaco liberado, a partir da formulação, no meio receptor.

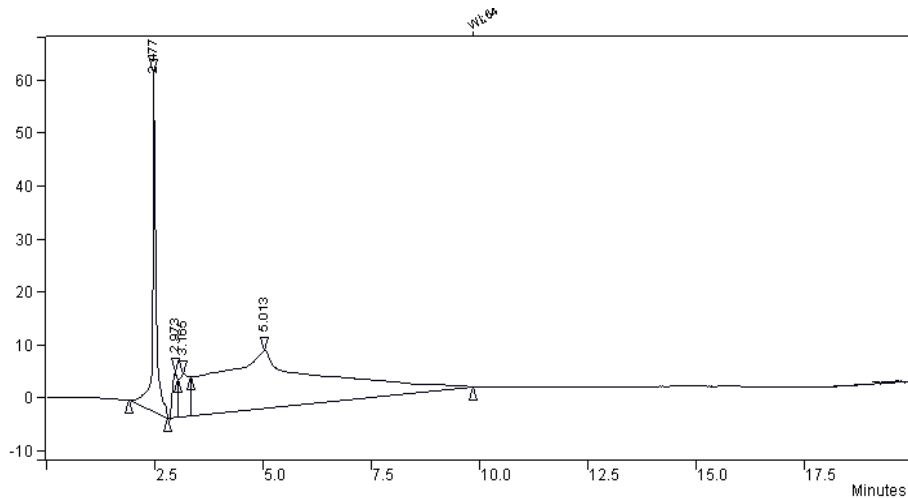
**Figura15. Curva analítica do DMA em solução tampão fosfato 50mM pH 7,2 + 0,5% de PRO obtida por análise cromatográfica em 239nm (n=3).  $y = 0,0005x - 6E-05$  converter e  $R^2 = 0,9998$ .**



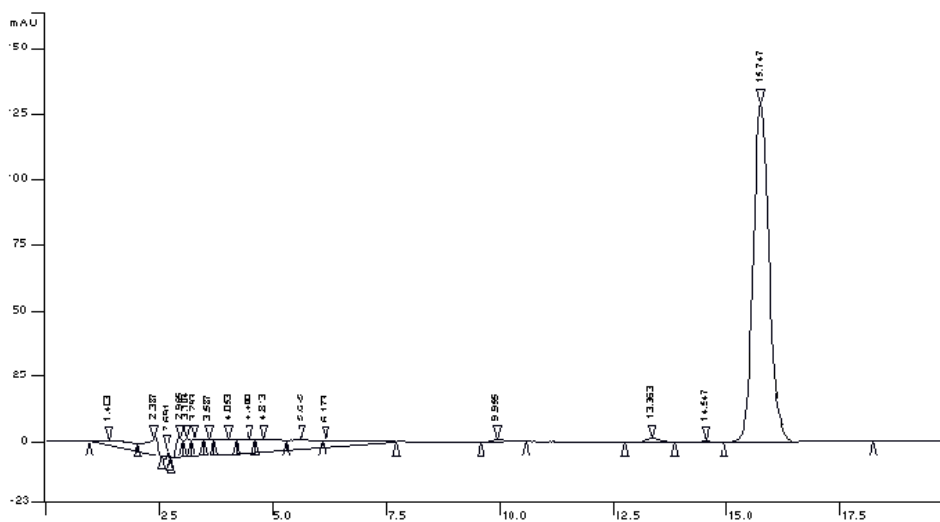
#### 4.5.1.2 Especificidade

A especificidade do método foi avaliada através da comparação dos cromatogramas da solução receptora (tampão fosfato 50mM pH 7,2 + 0,5% de PRO) e solução receptora contendo DMA (Figuras 16 e 17).

**Figura 16. Cromatograma da solução receptora, utilizando fase móvel metanol/água 65:35 (v/v).**



**Figura 17. Cromatograma da solução receptora contendo DMA, na concentração 12,5µg/mL, utilizando fase móvel metanol/água 65:35 (v/v).**



A especificidade que é a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto na presença de outros componentes, tais como impurezas, produtos de degradação (ANVISA, 2003), inclusive o fluído receptor e dos

componentes das formulações foi confirmada pela comparação dos cromatogramas ilustrados nas figuras 16 e 17. Os picos mostram boa resolução, indicando alta especificidade seletividade do método.

Observou-se que a fase móvel não interferiu no aparecimento do pico do fármaco, que foi em aproximadamente 15 minutos, portanto o método mostrou-se específico.

#### 4.5.1.3 Exatidão

A exatidão foi determinada pelo ensaio de recuperação. Os resultados mostrados na Tabela 8 referem-se à média de três determinações para cada concentração.

**Tabela 7. Resultados obtidos nos testes de recuperação para validação dos ensaios de liberação *in vitro*.**

<b>Concentração de DMA (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Recuperação (%)</b>
0,5	0,53	0,023352	105,47
10	9,76	0,189487	97,57
30	29,61	0,91381	98,70

A recuperação foi calculada através da injeção de soluções de trabalho nas concentrações de 0,5, 10 e 30 $\mu\text{g/mL}$  de DMA, em triplicata. Os valores das porcentagens de recuperação estão na tabela 8 e estão dentro da faixa limite preconizada pela ANVISA(2003) que é de 80 a 120%.

#### 4.5.1.4 Precisão

Os resultados dos ensaios de precisão foram expressos como desvio padrão e coeficiente de variação (CV) e podem ser observados na Tabela 9.

**Tabela 8. Coeficientes de variação obtidos nas análises das amostras de concentração 0,5; 10 e 30µL de DMA para ensaios de precisão em solução receptora.**

Parâmetros (µg/mL)	Solução receptora contendo DMA		
	0,48	9,86	27,25
Média*	0,48	9,86	27,25
Desvio padrão	0,01	0,09	0,26
Coeficiente de variação (%)	1,47	0,93	0,96

\* Corresponde a três determinações

A precisão representa a variabilidade dos resultados em séries repetidas de análises, sob as mesmas condições experimentais. Os resultados (Tabela 11) mostram baixa variabilidade, devido aos CVs menores de 5 % que é o valor preconizado pela ANVISA (2003).

#### 4.5.1.5. Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

A Tabela 10 mostra os resultados obtidos para os limites de detecção e quantificação.

**Tabela 9. Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e de quantificação para validação dos ensaios de liberação *in vitro*.**

<b>Concentração (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>média e desvio*</b>
0,5	0,000189 ; 0,00000569
1	0,000433 ; 0,00000404
5	0,002424 ; 0,0000344
Desvio padrão médio ( $\sigma$ )	0,0000147
Inclinação da curva padrão (S)	0,0005
<b>Limite de detecção</b>	0,10 $\mu\text{g/mL}$
<b>Limite de Quantificação</b>	0,29 $\mu\text{g/mL}$

\* Os dados representam a média e desvio padrão de três determinações.

Os LD e LQ são muito importantes porque os sistemas de liberação podem liberar quantidades muito baixas de fármaco. O LD foi 0,10  $\mu\text{g/mL}$  e LQ foi 0,29  $\mu\text{g/mL}$ .(Tabela 10).

#### **4.6. Avaliação *in vitro* da permeação cutânea**

Esse estudo nos permite correlacionar a influência da estrutura físico-química das formulações, juntamente com a sua capacidade bioadesiva em função da capacidade de penetração ou permeação do fármaco, o que proporciona um perfil de permeação e uma idéia de como essas formulações podem se comportar durante a administração cutânea. A Tabela 11 e as figuras 18 e 19 mostram os resultados.

Tabela 10. Quantidade de DMA permeada por área após 12h de experimento.

Formulação	Estrutura	Qreal ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )
AO3	CL Lamelar	41,0
AO4	ME	21,0
AO5	ME	23,6
OM1	CL Cúbica	18,0
OM2	CL Cúbica	74,19

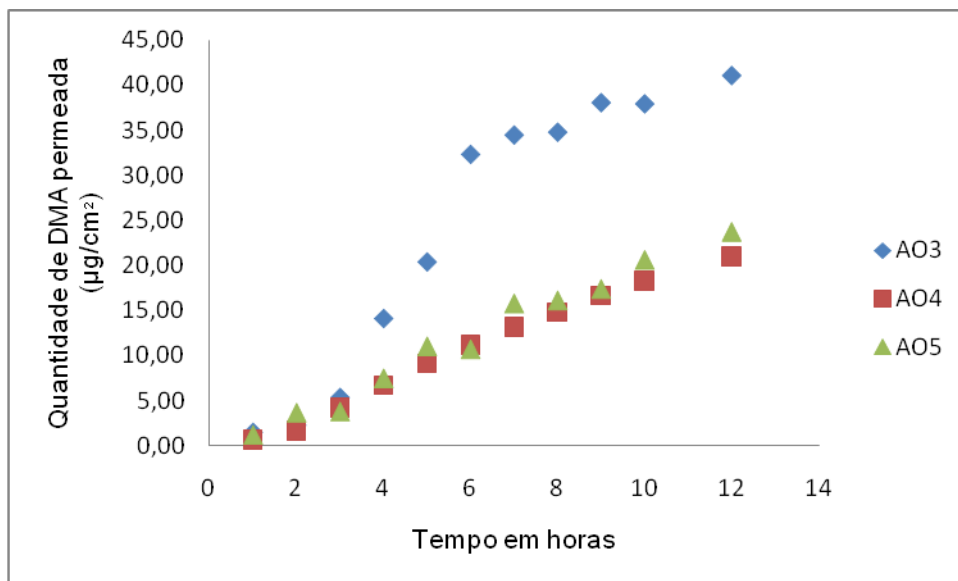
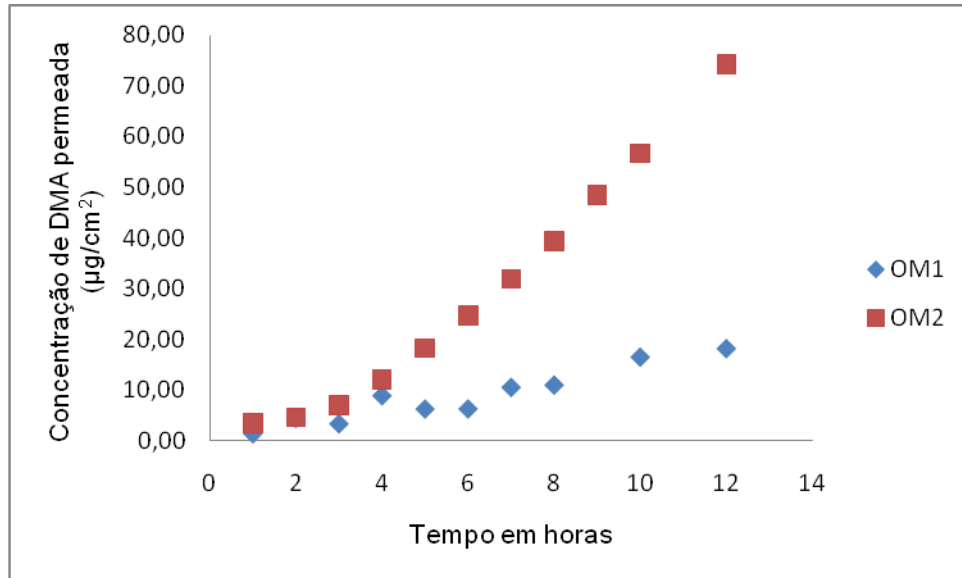
Figura 18. Perfis de permeação *in vitro* das formulações de AO3, AO4 e AO.

Figura 19. Perfis de permeação *in vitro* das formulações de AM1 e OM2.



Os perfis de permeação das formulações estudadas mostraram que as formulações AO3 e OM2 atingem seu platô de liberação por entre 10 e 12 horas ,já a formulação OM1, AO4 e AO5 apresentaram uma tendência crescente de liberação de fármaco.

A formulação OM2 foi a que apresentou maior liberação de DMA em relação as demais, conforme mostra a Tabela 11. Essa formulação foi caracterizada como CL de fase cúbica.

Nos testes de bioadesão, OM2 ,assim como a OM1, foi uma das formulações que se no teste da bioadesão.A sua alta bioadesividade pode ter resultado em uma propriedade de maior liberação de fármacos em relação as demais formulações.

## 5.CONCLUSÃO

- As formulações foram caracterizadas por MLP e verificou-se que o tipo e concentração de fase oleosa são importantes para a formação de diferentes estruturas. As formulações com óleo mineral apresentaram maior viscosidade em relação às de ácido oléico, o que é característico de cristais líquido de fase cúbica conforme mostrou a MLP. A adição de DMA não alterou o tipo de fase formada nas formulações, com exceção de AO2 que obteve uma mudança estrutural de fase hexagonal para lamelar.
- Os estudos de reologia mostraram que dentre as formulações escolhidas as AO1 e AO2 são as que melhores apresentaram características de espalhabilidade, por terem características tixotrópicas.
- Os ensaios de solubilidade da DMA indicaram sua superior capacidade de solubilização no tensoativo (PRO) do que nos demais constituintes das formulações isoladamente, além disso, as formulações de óleo mineral incorporaram uma quantidade significativa maior de fármaco do que as formulações de ácido oléico, essa propriedade pode ter se dado devido a estruturação de fase cúbica, que é típico de alta viscosidade. Já as formulações de ácido oléico incorporaram praticamente a mesma quantidade de DMA, apesar de serem de fases diferentes (hexagonal, lamelar, ME) todas apresentavam baixa viscosidade como característica em comum.
- A bioadesão também apresentou resultados muito diferentes em relação as formulações de AO e OM, estas obtiveram resultados satisfatórios sobre a força de bioadesão, provavelmente também devido ao tipo de estrutura já mencionado acima. Na permeação *in vitro*, os perfis obtidos nos mostram que

as formulações de AO tiveram perfis bem parecidos,excedendo a formulação AO3 ,não alterando muito de uma formula para outra, já as formulações de OM, mais uma vez se destacaram, mostraram uma alta capacidade de permeação de fármaco;

- A alta viscosidade, alta capacidade de incorporação do fármaco, a capacidade de bioadesão, juntamente com o perfil de permeação das formulações de OM fazem desses sistemas interessantes para o estudo de fórmulas para a administração cutânea de fármacos .

## 6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I.F.; BAHIA, M.F. Reologia: interesse e aplicações na área cosméticofarmacêutica. **Cosm. Toil.**, v. 15, p. 96-100, 2003.

ANVISA. Resolução - RE Nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em [www.anvisa.org.br](http://www.anvisa.org.br). Acesso em: 28 de jun. de 2011.

AVERY, M.A.; WOOLFREY, J.R. Antiinflammatory steroids. In: WOLFF, M.E. (Ed.) **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery**, 5.ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. cap. 65, p. 281-376.

AYANNIDES, C. A.; Ktistis, G. G.; *J. Cosmet. Sci.* 2002, 53, 165.

BAROLI, B.; López-quintela, M.A.; DELGADO-CHARRO, M.B.; FADDA, A.M.; BLANCO-MÉNDEZ, J.,J. Behaviours of the hexagonal and lamellar phases of glucopone (APG) surfactant. **Control Release**, 69, p. 209-218, 2000.

BRITAIN, H.G. Validação de métodos analíticos não cromatográficos. **Pharm. Technol.**, p. 4-9, 1998.

BRUSCHI, M. L.; FREITAS, O. Oral Bioadhesive Drug Delivery Systems. **Drug Ind. Pharm.**, v. 31, p. 293-310, 2005.

BRUSCHI, M.L.; JONES, D. PANZERI, H.; FREITAS, O, GREMIÃO, M.P.D., LARA, E.M.G. Semisolid Systems Containing Propolis for the Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Kinetics, Syringeability, Rheological, Textural and Mucoadhesive Properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 96 (8) 2077-2089, 2008.

CARVALHO, F. C.; BRUSCHI, M. L.; EVANGELISTA, R. C.; GREMIAO, M. P. D.. Sistemas mucoadesivos para liberação de fármacos. RBCF. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 2009.

CONSTANTINIDES, P.P.; Scalart, J.P. Formulation and physical characterization of water-in-oil microemulsions containing long- versus medium-chain glycerides. **Int. J. Pharm.**, v.158, p.57-68, 1997.

DAVIDSON, M.W.; ABRAMOWITZ, D. Polarized Light Microscopy. **Olympus America Inc. and The Florida State University**. Disponível em <<http://microscope.fsu.edu/primer/techniques/polarized/polarizedhome.html>>. 2003. Acesso em: 15 set. 2011.

EVANGELISTA, R. C. **Sistemas de liberação controlada de fármacos**. Araraquara:Tese (Livre Docência), 2006, 345 f. (Texto sistemático apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos do concurso para obtenção do Título de Livre-Docente em Farmacotécnica).

FERRARI, M.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1998.

FORMARIZ, T. P., URBAN, M. C. C., SILVA-JR, A. A., GREMIÃO, M. P. D., OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fase líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n 3, 301-312, 2005.

GABBOUN, N.H.; NAJIB, N.M.; IBRAHIM, H.G.; ASSAF, S. Release of salicylic acid and diclofenac acid salts from isotropic and anisotropic nonionic surfactant systems across rat skin. **Int. J. Pharm.**, 212, p. 73-80, 2001.

GASCO, M.R.; Gallarate, M.; Pattarino, F. On the release of prednisone from oil in water microemulsions. **Farmaco**, v.43, p. 325-350, 1988.

HÄGERSTRÖM, H. Polymer Gels as Pharmaceutical Dosage Forms: Rheological performance and physicochemical interactions at the gel-mucus interface for formulations intended for mucosal drug delivery. **Upsala: Acta Universitatis Upsaliensis**, 2003. n. 293, 76p. (Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy).

HASHIGUCHI, T.; YASUTAKE, T.; MANAKO, T.; OTAGIRI, M. In vitro percutaneous absorption of prednisolone derivatives based on solubility parameter. **Int. J. Pharm.**, 158, p. 11-18, 1997.

HUANG, Y.; LEOBANDUNG, W.; FOSS, A.; PEPPAS, N. A. Molecular aspects of muco- and bioadhesion: Tethers structures and site-specific surfaces. **J. Control. Rel.**, v. 65, p. 63-71, 2000.

HYDE, S.T. Identification of lyotropic liquid crystalline mesophases. In: HOLMBERG, K. (Ed.) **Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. cap. 16, p. 299-332.

ICH-Q2B **Validation of analytical procedures: Methodology**. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical Human Use, Geneva, Switzerland, November 1996.

JUNGINGER, H. E.; THANOU, M.; VERHOEF, J. C. Drug Delivery: **Mucoadhesive Hydrogels**. : Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 3. ed. Informaworld. Disponível em: <http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a758558230~tab=content>. Acesso em: 31 out. 2011.

LANDGRAFF, D. S.; GREMIÃO, M. P. D.; URBAN, M. C. C.; QUEIROZ, M. D. L.; CHIVACCI, L. A.. **Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados para liberação de fármacos empregando álcool cetílico etoxilado e propoxilado**. In: 58ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2006, FLORIANOPOLIS, 2007.

LEHMANN, L.; KEIPERT, S.; GLOOR, M. Effects of microemulsion on the stratum corneum and hydrocortisone penetration. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 52, p. 129-136, 2001.

LEONARDI, G. R.; **Cosmetologia aplicada**, MedFarma: São Paulo, 2006.

LEONARDI, G. R. **Cosmetologia Aplicada**. São Paulo : Editora Medfarma, 2006.

MAINARDES, R.M.; URBAN, M.C.C.; CINTO, P.O.; CHAUD, M.V.; EVANGELISTA, R.C.; GREMIÃO, M.P.D. Liposomes and Micro/Nanoparticles as Colloidal Carriers for Nasal Drug Delivery. *Current Drug Delivery*, 3, p.275-285, 2006.

MORAIS, G. G.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2006.

MULLER-GOYMANN, C.C.; FRANK, S.G. Interaction of lidocaine and lidocaine HCl with the liquid crystal structure of topical preparation. **Int. J. Pharm.**, v.29, p. 147-159, 1986.

NACHT, S. Encapsulation and other topical delivery systems. *Cosmet. Toil.*, Oak Park, NETZ, P. A.; ORTEGA, G.G. **Fundamentos de Físico-química: Uma Abordagem Conceitual para as Ciências Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

NARISHETTY, S. T. K.; PANCHAGNULA, R. Transdermal Delivery System for Zidovudine: in vitro, ex vivo and in vivo Evaluation. **Biopharm. Drug Disposition**, v.25, p. 9–20, 2000b.

SANTOS, O. D. H.; Miotto, J. V.; Morais, J. M.; Rocha-Filho, P. A.; Oliveira, W. P.; *J. Dispersion Sci. Technol.* 2005, 26, 243.

SCHRAMM, G. **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo:Artliber Editora. 2 ed., 2006.

SIDDIG, M. A.; RADIMANC, S.; JAN L. S.; MUNIANDY, S. V. Rheological SMART, J.D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Adv. Drug Del. Rev.**, n. 57, p. 1556-1568, 2006.

SMART, J.D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Adv. Drug Del. Rev.**, n. 57, p. 1556-1568, 2005.

SUDHAKAR, Y.; KUOTSU, K.; BANDYOPADHYAY A. K. Buccal bioadhesive drug delivery--a promising option for orally less efficient drugs. **Journal of Controlled Release**, v.114, n.1, p.15-40, ago. 2006.

URBAN, M.C.C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea do acetato de dexametasona**. Araraquara, 2004. 137f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

WOODLEY, J. Bioadhesion, new possibilities for drug administration. **Clin. Pharmacokinet**, v.40(2), p. 77-84, 2001.