



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Avaliação da Permeação Cutânea do Acetato de Dexametasona  
Incorporado em Sistemas Nanoestruturados**

Camila Conforto de Lima



Araraquara, 2013

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Avaliação da Permeação Cutânea do Acetato de Dexametasona  
Incorporado em Sistemas Nanoestruturados**

**Camila Conforto de Lima**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da  
Universidade Estadual Paulista para  
obtenção do grau de Farmacêutica-  
Bioquímica, sob orientação do Prof. Dr.  
Marlus Chorilli.

“Em algum lugar, pra relaxar. Eu vou pedir pros anjos cantarem por mim. Pra quem tem fé. A  
vida nunca tem fim. Não tem fim.”

O Rappa

Dedico este trabalho aos meus pais Carlos e Eunice,

Por sempre incentivarem meus estudos e me possibilitarem a concretizar o sonho de cursar a melhor faculdade de Farmácia-Bioquímica do país.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram não só para a concretização deste trabalho, mas que de alguma forma me ajudaram a construir a pessoa que sou.

A Deus todo poderoso, pelo dom da vida e a possibilidade de melhorar a cada dia.

Aos meus amados pais Carlos e Eunice pelo alicerce, companheirismo, confiança e exemplo de vida.

Aos meus queridos avós pela base familiar, amor e credibilidade.

Ao meu noivo Rafael da Rocha pelo companheirismo, carinho, dedicação e compreensão nos mais variados momentos da minha vida.

Aos meus grandes amigos André Torres, Hermano Bellato e Polyanna Aguilar pelos anos de convivência, amizade, risadas e por serem a minha família em Araraquara.

Ao meu querido orientador Prof. Dr. Marlus Chorilli pelos ensinamentos, compreensão e amizade.

À Márcia Oyafuso que, além de uma referência acadêmica, tornou-se uma amiga muito querida.

À Giovana Calixto que sempre foi muito prestativa e me auxiliou em muitos experimentos.

À Fernanda Kolenyak pelo auxílio, palavras de carinho e prestatividade.

À Prof. Dr. Maria Palmira Daflon Gremião por possibilitar o uso do permeador e de outros equipamentos.

À todos da turma 80 noturno por serem companheiros incríveis.

## RESUMO

O acetato de dexametasona (DXM) é um glicocorticoide com eficácia antiinflamatória e imunossupressora, sendo utilizado nas doenças autoimunes. Sua ação antiinflamatória advém da inibição do acúmulo de células (macrófagos, linfócitos e neutrófilos) na área da inflamação, inibindo também a liberação de mediadores da inflamação como interferon- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Já a atividade imunossupressora é alcançada com a redução do concentrado de linfócitos e inibição da síntese e/ou liberação de interleucinas. Porém o uso contínuo do DXM ocasiona uma série de efeitos colaterais sistêmicos, sendo interessante sua aplicação tópica para viabilizar a promoção do aumento da liberação e a estabilização dos níveis plasmáticos do fármaco. Sistemas nanoestruturados como microemulsões (ME) e os cristais líquidos (CL) vêm sendo estudados como novos sistemas de liberação, pois além de se comportarem como reservatórios de fármacos também possibilitam o aumento da estabilidade e da solubilidade dos princípios ativos. Os objetivos deste trabalho foram desenvolver e caracterizar sistemas micro e nanoestruturados, com intuito de incorporar DXM e avaliar sua permeação cutânea *in vitro*. Foram desenvolvidos sistemas utilizando água, silicone (DC<sup>®</sup> 193C fluido) e polioxietileno-20-oleil éter (Brij<sup>®</sup> 98). Os 36 pontos do diagrama de fases foram avaliados, sendo elaboradas formulações com diferentes proporções de água, óleo e tensoativo, sendo possível delimitar regiões como: sistemas transparentes de alta viscosidade (STAV), sistemas transparentes de baixa viscosidade (STBV), sistemas líquido-transparentes (SLT), emulsão viscosa (EV) e emulsão líquida (EL). Três formulações foram selecionadas para os ensaios de caracterização, fixando-se a concentração de tensoativo (T) em 40% e variando-se as concentrações de água e de silicone, denominadas A, B e C. As análises de microscopia de luz polarizada (MLP) evidenciaram estruturas anisotrópicas na forma de estrias, características de fase hexagonal, para as formulações A e B. Também foi observado “campo escuro” nas formulações de baixa viscosidade (C), sugerindo ser um sistema isotrópico, possivelmente

ME. Ensaios reológicos evidenciaram comportamento tixotrópico das formulações. O DXM foi incorporado na concentração de 0,1% nas formulações, que passaram a ser denominadas AF, BF e CF. Os testes de liberação mostraram que as formulações AF, BF e CF liberaram o fármaco respectivamente em 0,90%, 1,22% e 3,21% entretanto nos testes de permeação o DXM não permeou a partir dos sistemas desenvolvidos. Nos ensaios de retenção foi observada a retenção do fármaco no estrato córneo nas seguintes porcentagens 22,82% (AF), 35,74% (BF) e 25,66% (CF). Estatisticamente, as três formulações retiveram a mesma quantidade de acetato de dexametasona. Conclui-se então que os sistemas possibilitaram maior retenção do fármaco na pele, possibilitando maior efeito local. Portanto, esses sistemas podem ser considerados promissores para a administração cutânea do DXM.

**Palavras-chave:** *sistemas nanoestruturados, acetato de dexametasona, permeação cutânea.*

## ABSTRACT

The acethyl dexamethasone (DXM) is an effective glucocorticoid with anti-inflammatory and immunosuppressive, and is used in autoimmune diseases. Its anti-inflammatory action stems from the inhibition of the accumulation of cells (macrophages, lymphocytes and neutrophils) in the area of inflammation, also inhibiting the release of mediators of inflammation such as interferon -  $\gamma$  and TNF -  $\alpha$ . As for immunosuppressive activity is achieved by reducing the concentration of lymphocytes and inhibition of synthesis and / or release of interleukins. But the continued use of DXM causes a number of systemic side effects, it is interesting topical application to facilitate the promotion of increased release and stabilization of plasma levels of the drug. Nanostructured systems as microemulsions (ME) and liquid crystals (LC) have been studied as new delivery systems because in addition to behave as drug reservoirs, provide increased stability and solubility of the active ingredients. The objectives of this study were to develop and characterize micro and nanostructured systems, in order to incorporate DXM and evaluate their in vitro skin permeation. Systems have been developed using water, silicone (DC ® 193C fluid), and polyoxyethylene -20- oleyl ether (Brij<sup>®</sup> 98). The 36 points of the phase diagram were evaluated, formulations prepared with different ratios of water, oil and surfactant is possible to delineate regions as transparent high viscosity systems (STAV) systems, transparent , low viscosity (STBV) systems, fluid - transparent (SLT) , viscous emulsion (EV) and liquid emulsion (EL). Three formulations were selected for the characterization tests , determining the concentration of surfactant (T) by 40% and varying concentrations of water and silicon, termed A, B and C. The analysis of polarized light microscopy (PLM) showed anisotropic structures in the form of grooves, hexagonal phase characteristics for formulations A and B. It was also observed "dark field" in the low viscosity formulations (C), suggesting be an isotropic system, possibly ME. Rheological showed thixotropic behavior of the formulations.

DXM was incorporated at a concentration of 0.1 % in the formulations, which are now called AF, BF and CF. The tests showed that the release formulations AF, BF, and CF released the drug respectively 0.90%, 1.22 % and 3.21% however permeation tests DXM not permeated from the systems developed. In tests of retention was observed retention of the drug in the stratum corneum in the following percentages 22.82 % (AF), 35.74 % (BF) and 25.66 % (CF). Statistically, the three formulations retained the same amount of dexamethasone acetate. It was concluded that the systems have enabled higher drug retention in the skin, allowing a greater local effect. Therefore, these systems can be considered promising for dermal administration of DXM.

**Keywords:** *nanostructured systems, dexamethasone acetate, permeation.*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
2.1.    Objetivos Especificos.....	20
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1.    Materiais.....	21
3.2.    Equipamentos .....	21
3.3.    Métodos.....	22
3.3.1.    Preparo das Formulações.....	22
3.3.1.1. Diagrama de Fases.....	23
3.3.2. Caracterização Físico-química.....	23
3.3.2.1. Microscopia de Luz Polarizada.....	23
3.3.2.2. Comportamento Reológico.....	24
3.3.3. Testes de Estabilidade.....	24
3.3.3.1. Avaliação Visual.....	24
3.3.3.2. Teste de Centrifuga.....	24
3.3.3.3. Determinação do pH das Formulações Envolvidas no Estudo.....	25
3.3.4. Ensaio de Permeação In Vitro.....	25
3.3.4.1. Escolha da Solução Receptora.....	25
3.3.4.2. Ensaio de Permeação Cutânea In Vitro.....	25
3.3.4.3. Retenção Cutânea In Vitro.....	27
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
4.1.    Preparo das Formulações.....	28
4.1.1.    Diagrama de Fases.....	28
4.2.    Caracterização Físico-Química .....	29
4.2.1.    Microscopia de Luz Polarizada .....	29
4.2.2.    Comportamento Reológico.....	32
4.3.    Teste de Estabilidade .....	34
4.3.1.    Avaliação Visual.....	34
4.3.2.    Teste de Centrifuga.....	34
4.3.3.    Determinação do pH.....	35
4.4.    Ensaio de Liberação, Permeação e Retenção in Vitro.....	36

4.4.1. Ensaio de Liberação in Vitro.....	36
4.4.2. Ensaio de Permeação e Retenção in Vitro.....	37
4.4.3. Análise de Variância entre as formulações AF, BF e CF.....	38
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações, em %, dos componentes das formulações.....	32
Tabela 2 – pH das amostras A, AF, B, BF, C e CF.....	35
Tabela 3 – Comparação da retenção no EC e na E + D do acetato de dexametasona entre as amostras.....	38
Tabela 4 – Comparação estatística dos Perfis de Liberação das Formulações AF, BF e CF...38	
Tabela 5 – Comparação estatística dos Perfis de Retenção no EC das formulações AF, BF e CF.....	39

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do acetato de dexametasona.....	19
Figura 2 - Sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus.....	25
Figura 3 - Diagrama de fases para o sistema estabilizado com polioxietileno 20 oleil éter como tensoativo, fase oleosa (silicone) e água destilada As áreas delimitadas representam: STL – sistema transparente líquido; STAV – sistema transparente de alta viscosidade; STBV – sistema transparente de baixa viscosidade; EL – emulsão líquida; EV – emulsão viscosa.....	28
Figura 4 – Fotomicrografia correspondente a MLP de CLs liotrópicos anisotrópicos de mesofase hexagonal, para formulação constituída por 40% de tensoativo, 20% de óleo e 40 % de água.....	29
Figura 5 – Fotomicrografia correspondente a MLP de CLs liotrópicos anisotrópicos de mesofase hexagonal para formulação constituída por 40% de tensoativo, 30% de óleo e 30% de água.....	30
Figura 6 – Fotomicrografia correspondente a MLP de MEs para formulação constituída por 40% de tensoativo, 40 % de óleo e 20% de água.....	30
Figura 7 – Diagrama de sistemas. As áreas delimitadas representam: STL CE – sistema transparente líquido campo escuro; STAV HEX – sistema transparente de alta viscosidade estrutura hexagonal; STBV HEX – sistema transparente de baixa viscosidade estrutura hexagonal; STBV ME sistema transparente de baixa viscosidade microemulsionado; EL – emulsão líquida; EV – emulsão viscosa.....	31
Figura 8 – Formulação A e Formulação AF.....	33
Figura 9 – Formulação B e Formulação BF.....	33
Figura 10 – Formulação C e Formulação CF.....	33
Figura 11– Perfil de liberação in vitro (%) do DXM incorporada nas formulações AF, BF e CF, contendo DXM 0,1 % (média de n=6).....	36

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AQ – fase aquosa

A/O – água em óleo

CL – Cristal líquido

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DP – Desvio Padrão

DXM – acetado de dexametasona

EC – Estrato Córneo

EP + D – Estrato Epidérmico + Dérmico

ME - Microemulsão

MLP – Microscopia de Luz Polarizada

O – Fase oleosa

STAV – Sistema Transparente de Alta Viscosidade

STBV – Sistema Transparente de Baixa Viscosidade

STL – Sistema Transparente Líquido

SVO – sistema viscoso opaco;

T – Tensoativo

T/A – tensoativo em água;

T/O – tensoativo em óleo;

## 1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de liberação controlada de fármacos têm sido extensamente estudados em função das vantagens farmacológicas que apresentam em relação às formas farmacêuticas convencionais. Dentre essas vantagens estão a manutenção do nível terapêutico com discreta oscilação; aumento da concentração plasmática do fármaco; aumento da segurança no uso de fármacos com alta potência e diminuição de efeitos tóxicos (VENDRUSCOLO et al., 2005). Diante dessas características presentes nos sistemas de liberação de fármacos, pode-se melhorar a adesão dos pacientes ao tratamento e conseqüentemente a eficácia deste.

Vendruscolo et al. (2005) define como fármacos mais adaptáveis aos sistemas de liberação de fármacos aqueles que, além de outras características, são úteis no tratamento de enfermidades crônicas.

Atenção especial recebem as microemulsões (ME) e os cristais líquidos (CL) no desenvolvimento de novos sistemas de liberação. Ambos possibilitam tanto a incorporação de fármacos hidrofílicos como de fármacos lipofílicos; aumentam a estabilidade e solubilidade dos fármacos e comportam-se como reservatórios de fármacos. (CONSTANTINIDES, 1995; BRINON et al., 1999; GABBOUN et al., 2001).

As microemulsões (ME) são caracterizadas como sistemas constituídos por dois líquidos imiscíveis, frequentemente água e óleo, estabilizados por um tensoativo na interface óleo/água (LAWRENCE, DALMORA, OLIVEIRA, 2004) que pode estar associado ou não a um co-tensoativo. A estabilização exercida no sistema pelo tensoativo é devido a sua propriedade de reduzir a tensão interfacial entre os líquidos imiscíveis, formando agregados esféricos e com diâmetros na ordem de 100 Å (OLIVEIRA et al., 2004). Os tensoativos não iônicos devem ser os de preferência para preparações farmacêuticas, pois são mais estáveis frente mudanças de pH e também minimizam a toxicidade (CRUZ, UCKUN, 2001).

As ME podem caracterizar-se basicamente como microemulsão óleo em água (O/A) e microemulsão água em óleo (A/O). Nas O/A, a água é a fase dispersante e o óleo está disperso na forma de gotículas coloidais e nas A/O, o óleo é a fase dispersante e a água está dispersa na forma de gotículas coloidais.

Devido à estabilidade termodinâmica das ME, estes sistemas possuem vantagens em relação a emulsões e suspensões, como por exemplo, maior tempo de vida útil, estabilidade elevada, opticamente transparentes e a incorporação de diferentes fármacos com as mais variadas propriedades físico-químicas (WARGAFTIG, 2000; CONSTANTINIDES, 2005). As ME quando utilizadas em sistemas de liberação de fármacos, otimizam a eficácia terapêutica de fármacos melhorando sua biodisponibilidade e, conseqüentemente reduzindo a dose administrada bem como os efeitos colaterais causados pelos fármacos (CERA, 2002), porém é necessário atentar-se para que o tamanho das gotículas da fase interna da microemulsão e a viscosidade do sistema sejam ideais, a fim de facilitar a difusão do fármaco no alvo terapêutico (CORREA, 1996). Fármacos lipofílicos em água têm sua solubilização melhorada em sistemas microemulsionados, pois se encontram localizados em gotículas internas as quais possuem características físico-químicas bem distintas da fase dispersante (BHARGAVA et al., 1987). As ME podem ser aplicadas em várias vias de administração como oral, vaginal, ocular, tópica entre outras.

Os cristais líquidos são sistemas de interesse na utilização como sistema de liberação de fármaco, pois possuem semelhança com as membranas biológicas. Também chamados de mesofases, devido à suas propriedades de condensar características de sólidos e líquidos (FORMARIZ et al., 2005), possuem como característica comum uma ordenada orientação das interfaces (EZRAHI et al., 1999). Dos sólidos, os cristais líquidos asseguram as características anisotrópicas e de ordenamento, já dos líquidos guardam as propriedades de fluidez e tensão superficial.

CLs quando formados pela adição de solventes, são denominados cristais líquidos liotrópicos (HYDE, 2001), usualmente estes são formados por definidas proporções de água e até dois tensoativos, sendo que a água (fazendo o papel do solvente) hidrata somente a parte hidrofílica da molécula do tensoativo (HYDE, 2001). Apresentam-se molecularmente ordenados intercalando-se regiões hidrofílicas e hidrofóbicas (GABBOUN et al., 2001). Já os CLs ditos termotrópicos são dependentes da temperatura para manterem sua estabilidade (HYDE, 2001).

Dependendo da concentração do tensoativo no sistema, os cristais líquidos adotam variadas formas líquido-cristalinas denominadas lamelares, cúbica e hexagonal (GABBOUN et al., 2001). Na fase hexagonal, cilíndricos longos formam os agregados estabelecendo-se estruturas bidimensionais e de viscosidade parecida com um gel; na fase cúbica, o arranjo molecular é tridimensional constituindo-se de bicamadas de tensoativo ou lipídios que envolvem duas redes de canais de água e possui alta viscosidade. Dentre as diferentes fases, a fase lamelar é a que melhor mimetiza a membrana biológica e é a mais recomendada para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos. Esta fase é constituída por bicamadas de tensoativo que estão desagregadas por camadas de solvente e sua apresentação é na forma de um líquido viscoso (GABBOUN e HYDE, 2001). Por meio de microscopia de luz polarizada é possível classificar as diferentes fases de cristal líquido; a amostra pode ser anisotrópica, desvia o plano de luz incidente (fases hexagonal e lamelar) ou isotrópica, não desvia o plano de luz incidente (fase cúbica) (NORLING et al., 1992).

Os CL são caracterizados por micelas ordenadas às quais apresentam intercaladamente suas porções hidrofílicas e lipofílicas, podendo o fármaco, de acordo com a sua característica, instalar-se nas regiões lipofílicas ou hidrofílicas, além da bicamada de tensoativo (MULLER-GOYMANN, FRANK, 1986). Muitas podem ser as vias de administração dos cristais líquidos, dentre elas a tópica que é a via de interesse nesse estudo.

A eficácia de um fármaco administrado topicamente está relacionada com as suas características farmacológicas e com a sua biodisponibilidade no alvo terapêutico (LOFTSSON, OLAFSSON,1998). Os tecidos profundos da pele, frequentemente, são os principais alvos dos fármacos utilizados para doenças dermatológicas, sendo assim, estes fármacos precisam atravessar o estrato córneo (fase limitante da absorção cutânea) para que em algumas etapas cheguem até à microcirculação (MARTINS e VEIGA, 2002).

A psoríase é uma doença inflamatória de pele, não contagiosa, crônica e de caráter autoimune. É mediada por linfócitos T que na epiderme liberam suas citocinas promovendo infiltração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos; hiperproliferação de queratinócitos e dilatação e aumento dos capilares da região (BERTH-JONES, 2009). As regiões mais afetadas são joelhos, cotovelos, couro cabeludo e órgãos genitais e, o tamanho da área afetada pode ser desde pequenas lesões até lesões que afetam todo o membro. Estudos mostram que portadores de psoríase frequentemente têm familiares afetados, para gêmeos univitelinos a concordância chega a 70%, porém o desenvolvimento da doença também depende de fatores ambientais que podem ser estresse, alguns medicamentos, infecções bacterianas e virais (HIV) (BERTH-JONES, 2009).

Um dos tratamentos mais utilizados para essa doença é a administração tópica de glicocorticoides (SENYGIT et al., 2009), pois possuem atividades antiinflamatória, imunossupressora e antiproliferativa. Introduzidos para o uso tópico no início da década de 1950, os corticoides são na atualidade os medicamentos mais prescritos pelos médicos dermatologistas (WIEDERSBERG et al., 2007).

Os receptores de glicocorticoides na pele são encontrados na derme, camada da pele na qual se encontra como principais células os fibroblastos que estão intimamente ligados com as respostas imunes e antiinflamatórias da pele. A absorção cutânea de medicamentos

que possuem em sua composição glicocorticoides é realizada em basicamente três etapas principais: liberação do fármaco (glicocorticoide), permeação na epiderme seguida de difusão até a derme e ligação com os receptores de glicocorticoides (WIEDERSBERG et al., 2007).

Mesmo sendo largamente utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias, os glicocorticoides podem causar efeitos adversos que vão de moderado à grave dependendo do tempo da corticoterapia e de sua duração. Doses antiinflamatórias de glicocorticoides durante um tratamento prolongado podem ocasionar, por exemplo resistência à glicose, osteoporose, erupções acneiformes e atrofia cutânea (CASTRO, 2005).

É interessante que fármacos com extensos efeitos adversos, como os glicocorticoides, possam ser administrados por via tópica, pois além da considerável diminuição de efeitos adversos pode-se promover o aumento da liberação de fármaco na área lesada e a estabilização dos níveis plasmáticos do fármaco (MARTINS, 2004).

O glicocorticoide acetato de dexametasona (DXM) é um eficaz antiinflamatório e imunossupressor utilizado nas doenças autoimunes como artrite e psoríase (BHARDWAJ, 2010). Sua ação antiinflamatória advém da inibição do acúmulo de células (macrófagos, linfócitos e neutrófilos) na área da inflamação, inibindo também a liberação de mediadores químicos da inflamação como interferon- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  (BERTH-JONES, 2009). Já a atividade imunossupressora é alcançada com a redução do concentrado de linfócitos e inibe síntese e/ou liberação de interleucinas.

A dexametasona também pode ser encontrada na forma de acetato de dexametasona, representado pela fórmula molecular  $C_{24}H_{31}FO_6$  (MERK INDEX, 2001). Pode ser identificado por meio de absorção infravermelha e absorção ultravioleta (MERK INDEX, 2001). A substância é um pó cristalino branco ou quase branco (Farmacopeia Britânica); solúvel em acetona, etanol, clorofórmio; levemente solúvel em cloreto de metileno; solúvel em água a

25°C na concentração de 10mg/100mL (MERK INDEX, 2001). A fórmula estrutural do acetato de dexametasona está representada na figura abaixo.

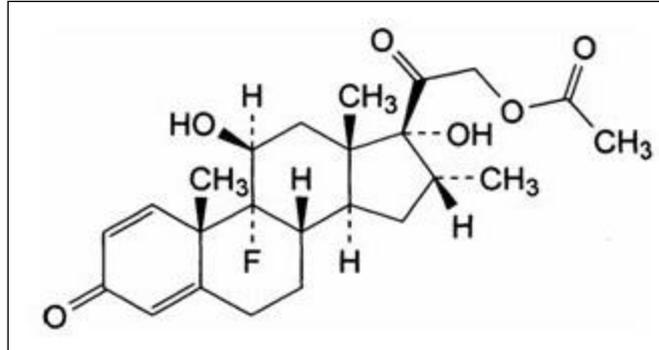


Figura 1. Estrutura química do acetato de dexametasona.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo desse projeto é avaliar a permeação cutânea do DXM incorporado em sistemas nanoestruturados.

### 2.1. Objetivos Específicos

- Desenvolver sistemas nanoestruturados para incorporação do acetato de dexametasona
- Caracterizar estruturalmente os sistemas obtidos utilizando recursos como microscopia de luz polarizada e ensaios de reologia;
- Avaliar a estabilidade do acetato de dexametasona nos sistemas obtidos;
- Realizar testes de liberação, permeação e retenção cutânea *in vitro* das formulações desenvolvidas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Materiais

- Acetato de dexametasona (Purifarma<sup>®</sup>);
- Acetonitrila, J.T. Baker<sup>®</sup>, HPLC;
- Álcool propoxilado 5 OP (Procetyl<sup>®</sup> AWS, Croda);
- Água ultra pura (Milli'Q Plus<sup>®</sup>);
- Fosfato de potássio monobásico (Quimis<sup>®</sup>);
- Hidróxido de sódio (Quimis<sup>®</sup>);
- Metanol, J.T. Baker<sup>®</sup>, CLAE;
- Poliéter funcional siloxano (DC<sup>®</sup> 193) (Dow Corning);
- Polioxietileno 20 oleil éter (Brij<sup>®</sup> 98) (Sigma-Aldrich).
- Orelhas suínas (Frigorífico Olhos d'Água<sup>®</sup>)
- Cloreto de sódio (Vetec<sup>®</sup>);

#### 3.2. Equipamentos

- Cartucho SPE Strata C18-E 500mg/3mL (Phenomenex<sup>®</sup>);
- Discos brancos de papel filtro esterilizados (Labroclin<sup>®</sup>);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência Varian<sup>®</sup> ProStar 310;
- Dermatômetro Nouvag<sup>®</sup> TMC 300;
- Kits seringas da BD Biosciences Pharmingen<sup>®</sup>;
- Membrana de acetato celulose 0,45µm (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>);

- Microscópio Jenamed 2, Carl Zeiss – Jena<sup>®</sup>;
- Peagômetro MicroNal<sup>®</sup> B474;
- Instruments Rheometers AR 2000 TA, modelo AR 2000;
- Sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus (Hanson Research Corporation<sup>®</sup>);
- Analisador de textura TA-XTplus<sup>®</sup> (Stable Micro Systems, Surrey, UK);
- Ultra Turrax Quimis<sup>®</sup>;
- Vortex<sup>®</sup>;
- Banho de ultrassom, Unique<sup>®</sup>, Ultra Sonic Cleaner;
- Fitas adesivas (Scotch<sup>®</sup> 750 3M)
- Banho de ultrassom, Unique<sup>®</sup>, Ultra Sonic Cleaner;
- Centrífuga, Sorval<sup>®</sup>, modelo TC 6 Du Pont.

### 3.3. Métodos

#### 3.3.1. *Preparo das Formulações*

Preparou-se dois gramas de formulações compostas por água destilada, silicone (DC<sup>®</sup> 193 C fluido) e tensoativo polioxietileno 20 oleil éter (Brij<sup>®</sup> 98) em frascos transparentes com tampa, variando-se as concentrações dos componentes, conforme descrito no item 3.3.1.1.

### ***3.3.1.1. Diagrama de Fases***

Ao Brij<sup>®</sup> 98 (T) foi adicionada a fase oleosa silicone - DC<sup>®</sup> 193 C fluido (O), e para a obtenção do diagrama de fases foram utilizadas as relações de T/O na faixa de 1:9 até 9:1. A essa mistura, foi adicionada a água destilada com auxílio de uma micropipeta automática, realizando a pesagem de todos os componentes da formulação em balança analítica. As formulações foram levadas ao aquecimento em banho-maria a 65°C e depois de atingida a temperatura foram retiradas do banho e com um bastão agitados vigorosamente até o resfriamento.

As transições de mistura semi-sólida para sistema líquido transparente (SLT), sistema líquido transparente de alta viscosidade (STAV), sistema líquido transparente de baixa viscosidade (STBV), emulsão líquida (EL) e emulsão viscosa (EV) foram detectadas visualmente contra fundo escuro. Aos sistemas selecionados foi incorporado o fármaco acetato de dexametasona (DXM) numa concentração de 0,1%. O mesmo procedimento foi adotado para o sistema T/A, para titulação com a fase oleosa (O).

### ***3.3.2. Caracterização Físico-química***

Os sistemas selecionados foram caracterizados por estudos de microscopia de luz polarizada e comportamento reológico.

#### ***3.3.2.1. Microscopia de Luz Polarizada***

Uma pequena quantidade de formulação foi colocada, cada uma, sobre uma lâmina de vidro que foi coberta com lamínula e analisada em microscópio sob luz polarizada Jenamed 2, Carl Zeiss – Jena. Nesse ensaio avaliou-se a homogeneidade da dispersão e classificou as formulações quanto ao comportamento mediante ao plano de luz incidente. A análise foi realizada a temperatura ambiente.

### *3.3.2.2. Comportamento Reológico*

Para analisar o comportamento reológico empregou-se reômetro de gradiente e tensão de cisalhamento controlados Instruments Rheometers AR 2000 TA, modelo AR 2000, no modo de fluxo, na temperatura de 32°C com geometria cone-placa paralelas de 40mm de diâmetro, separadas por uma distância fixa de 0,052mm. Cuidadosamente, as amostras foram aplicadas à placa inferior, assegurando-se o mínimo cisalhamento da formulação e o tempo de repouso necessário (relaxamento da tensão introduzida prévia a análise) de 5 minutos anteriores a cada determinação. As curvas ascendente e descendente de fluxo foram geradas a partir de um gradiente de cisalhamento que tinha como intervalo de 0 s<sup>-1</sup> a 100 s<sup>-1</sup>. O gradiente de cisalhamento foi aumentado durante um período de 120s, mantido no limite superior por 10s e, então, diminuído durante um período de 120s. A seleção de faixa de cisalhamento foi determinada de acordo com a consistência de cada formulação (BRUSCHI, 2006; JONES et al., 2009).

### *3.3.3. Testes de Estabilidade*

#### *3.3.3.1. Avaliação Visual*

As amostras foram observadas visualmente quanto às alterações do tipo: separação de fases, cor e homogeneidade, no período de três meses, na temperatura entre 25 à 30°C.

#### *3.3.3.2. Teste de Centrifuga*

A avaliação da estabilidade frente à centrifugação foi realizada submetendo-se cinco gramas, de cada amostra em estudo, a 3000 rpm, por 30 minutos.

#### *3.3.3.3. Determinação do pH das Formulações Envolvidas no Estudo*

O equipamento foi calibrado com uma solução padrão de pH 7,0 e em seguida com outra solução padrão de pH 10. As medidas de pH foram realizadas em amostras diluídas em água destilada (5%) a  $25,0 \pm 0,5$  °C.

### **3.3.4. Ensaio de Permeação In Vitro**

#### *3.3.4.1. Escolha da Solução Receptora*

Foi utilizada como solução receptora a solução tampão fosfato 0,2M pH 7,4, acrescido de 0,5% de álcool cetílico propoxilado (Procetyl®).

#### *3.3.4.2. Ensaio de Permeação Cutânea In Vitro*

O ensaio foi realizado utilizando-se peles de orelha de porcos recém- abatidos e um sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus, apresentado na Figura 2.



Figura 2 – Sistema automático com célula de difusão vertical de Franz – Microette Plus.

As orelhas foram previamente higienizadas em água corrente e posteriormente removeu-se a cartilagem com tesoura e bisturi. Tecidos como adiposo e pelos foram retirados e as peles foram então dermatomizadas, utilizando-se um dermatômetro, na espessura de 500 $\mu$ m sendo isolados somente o estrato córneo, epiderme e derme.

No compartimento receptor, foi colocada solução tampão fosfato 0,2 M pH 7,4, as peles foram hidratadas e cortadas em tamanho apropriado para o ensaio de permeação, na sequência as peles foram colocadas na célula de difusão com o lado da derme voltado para baixo, ficando em contato com a solução receptora e a região do estrato córneo voltada para cima. Espalhou-se, de maneira uniforme, sobre toda a área da membrana, 0,30 g das formulações contendo 0,1% de acetato de dexametasona, sendo essa massa previamente obtida utilizando a peça de vidro unida ao anel dosador por fita adesiva que foram tarados e adicionada formulação até completar o anel dosador. O volume do meio receptor foi de sete mL e a área disponível para a difusão foi  $1,77 \text{ cm}^2$  (PRIMO et al., 2008).

O sistema de agitação foi acionado e amostras de 2,0 mL da fase receptora foram coletadas nos tempos de 30, 60, 120, 240, 480, 720, 960, 1200 e 1440 minutos.

A “condição sink” foi mantida repondo-se 2,0 ml da solução receptora ao sistema após cada coleta. O experimento foi realizado em hexaplicata, conduzido a  $32^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$  e a solução receptora foi constantemente agitada a  $300 \pm 0,2 \text{ rpm}$ .

De acordo com Aronson (1993) e Bentley (2002), para calcular a quantidade permeada (Q), levaram-se em consideração as diluições posteriores à primeira coleta, utilizando-se a equação 1:

$$Q_{\text{real}, t} = C_{\text{mensurado}, t} \cdot V_r + \sum_{n=1}^{n-1} C_a \cdot V_a \text{ (equação 1)}$$

onde Q representa a quantidade permeada acumulada,  $Q_{\text{real}, t}$  indica o valor real no tempo t,  $C_{\text{mensurada}, t}$  é a concentração mensurada da coleta no tempo t,  $V_r$  representa o volume da solução receptora da célula de difusão,  $C_a$  é a concentração da amostra removida, e  $V_a$  é o volume removido de amostra.

A quantificação de DXM na solução tampão 0,2 M pH 7,4 foi feita por cromatografia de alta eficiência (CLAE), utilizando a curva analítica em solução tampão 0,2 M, pH 7,4, obtida no desenvolvimento do método analítico, para determinar a concentração de acetato de

dexametasona permeado. As peles submetidas ao estudo de permeação foram limpas com algodão embebido em água destilada e avaliadas quanto à retenção.

#### 3.3.4.3. Retenção Cutânea In Vitro

O ensaio de retenção no estrato córneo (EC) foi realizado expondo a pele de porco à permeação após higienização e fixação da mesma em placa de vidro com o auxílio de fita adesiva. Foram recortados 16 pedaços de fita adesiva (Fita Scotch<sup>®</sup> 3M 750) com tamanho da área semelhante ao que a pele ficou em contato com a formulação durante a permeação e, realizou-se a técnica de *tape stripping*, descartando-se a primeira fita, pois esta era apenas retirar algum resquício de excesso de formulação. Os tubos de ensaio foram então agitados em Vortex<sup>®</sup> por 2 minutos, a seguir colocados no ultrassom por 30 minutos, centrifugados e a solução filtrada em membrana Millipore<sup>®</sup> de 0,45µm.

Para o ensaio de retenção na epiderme + derme (E + D) a área de pele em contato com a formulação foi recortada em pequenas tiras e transferida para tubo de Beckman contendo 5 mL de metanol, agitada em Vortex<sup>®</sup> por 2 minutos e triturada com o auxílio de Turrax por 3 minutos. A suspensão de tecido ficou no ultrassom por 30 minutos e em seguida os tubos foram centrifugados. Com o uso de membrana Millipore<sup>®</sup> de 0,45 µm, o sobrenadante foi filtrado (ROSA et al., 2003).

Partindo da curva analítica em metanol obtida no desenvolvimento de metodologia analítica realizado por Oyafuso (2012), a quantificação de DXM foi realizada por CLAE para os dois ensaios. Mesmo existindo uma metodologia farmacopeica bem estabelecida fez-se necessário uma nova metodologia, pois os componentes da formulação poderiam interferir na quantificação do acetato de dexametasona (Oyafuso, 2012).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Preparo das Formulações

#### 4.1.1. Diagrama de Fases

Com a construção do diagrama de fases, foi possível caracterizar visualmente todas as formulações, obtendo-se o diagrama ilustrado na Figura 3.

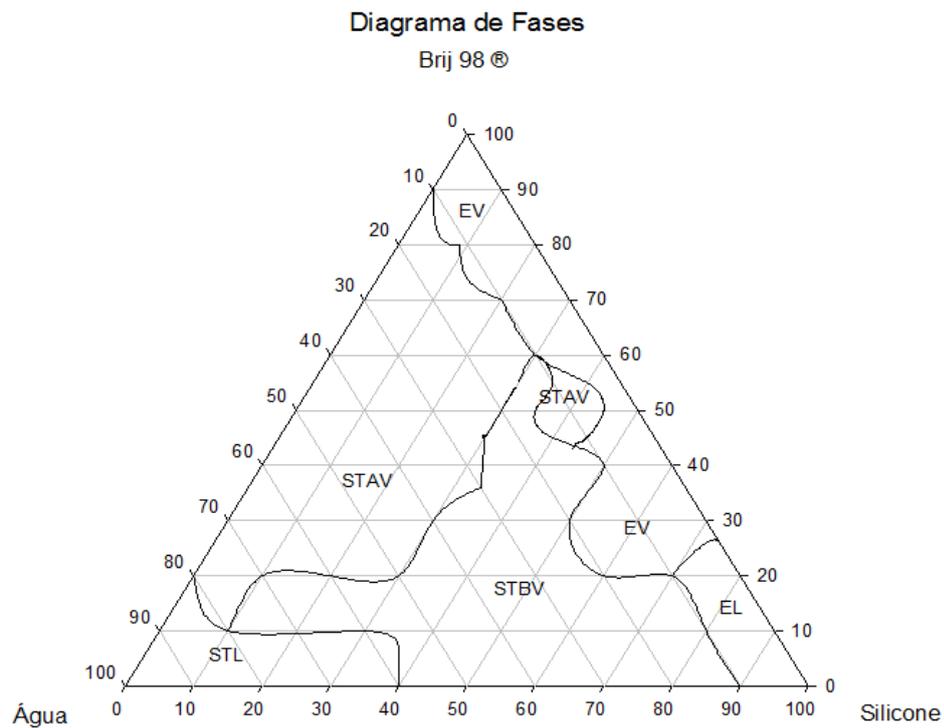


Figura 3. Diagrama de fases. As áreas delimitadas representam: STL – sistema transparente líquido; STAV – sistema transparente de alta viscosidade; STBV – sistema transparente de baixa viscosidade; EL – emulsão líquida; EV – emulsão viscosa.

As formulações, que se apresentaram como emulsões viscosas ou líquidas, foram descartadas da análise microscópica de luz polarizada, pois sua opacidade descaracteriza a presença de cristais líquidos e microemulsões. Todos os demais sistemas foram analisados. O tensoativo escolhido (Brij<sup>®</sup> 98) possui uma extensa cadeia carbônica ( $C_{18}H_{35}(OCH_2CH_2)NOH$ ) e caracteriza-se por ser um tensoativo não iônico. Esse tipo de tensoativo é ideal para aplicações farmacêuticas e formulações nanoestruturadas, pois é mais

estável frente a mudanças de pH e força iônica, além de minimizar problemas de toxicidade (FORMARIZ, 2005; CRUZ, UCKUN, 2001).

Por meio do diagrama de fases foi possível selecionar os SLC, STAV e STBV. Estes foram analisados por microscopia de luz polarizada (MLP) a procura de estruturas que caracterizassem cristais líquidos (anisotropia e isotropia) e microemulsões (isotropia).

## 4.2. Caracterização Físico-Química

### 4.2.1. Microscopia de Luz Polarizada

Através da MLP, foi realizada uma análise estrutural das formulações e posterior confirmação de características de CLs e MEs. Os CLs foram identificados pela presença de estrias, característico de mesofase hexagonal, como mostrado nas Figuras 4 e 5. As MEs têm como característica a presença de campo escuro e a baixa viscosidade do sistema.

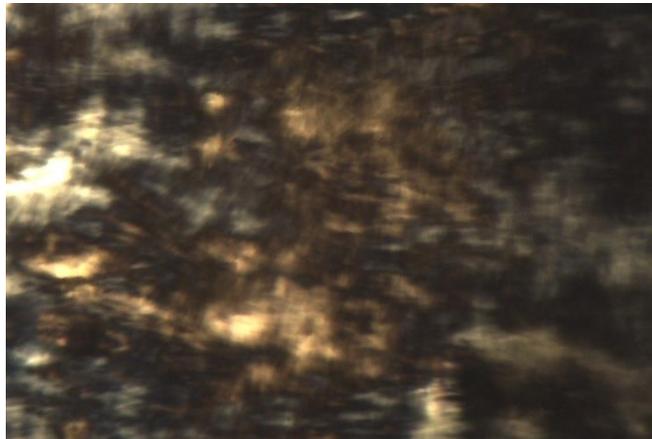


Figura 4 – Fotomicrografia correspondente a MLP de CLs liotrópicos anisotrópicos de mesofase hexagonal, para formulação constituída por 40% de tensoativo, 20% de óleo e 40 % de água. Aumento focal: 40x.

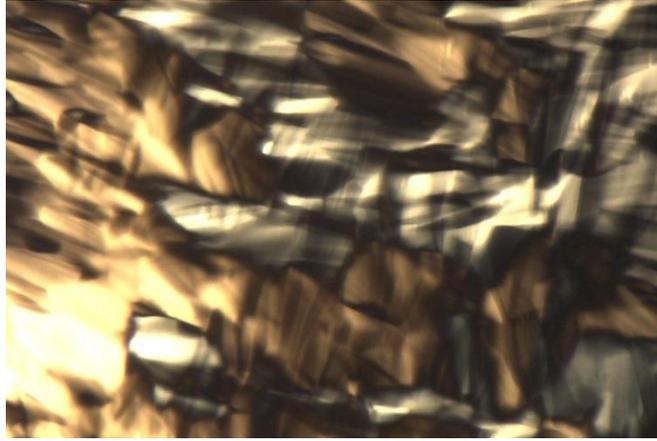


Figura 5 – Fotomicrografia correspondente a MLP de CLs liotrópicos anisotrópicos de mesofase hexagonal para formulação constituída por 40% de tensoativo, 30% de óleo e 30% de água. Aumento focal: 40x



Figura 6 – Fotomicrografia correspondente a MLP de MEs para formulação constituída por 40% de tensoativo, 40 % de óleo e 20% de água. Aumento focal: 40x.

As lâminas foram preparadas como descrito no 3.3.1, sendo obtido o diagrama de sistemas apresentados na Figura 7.

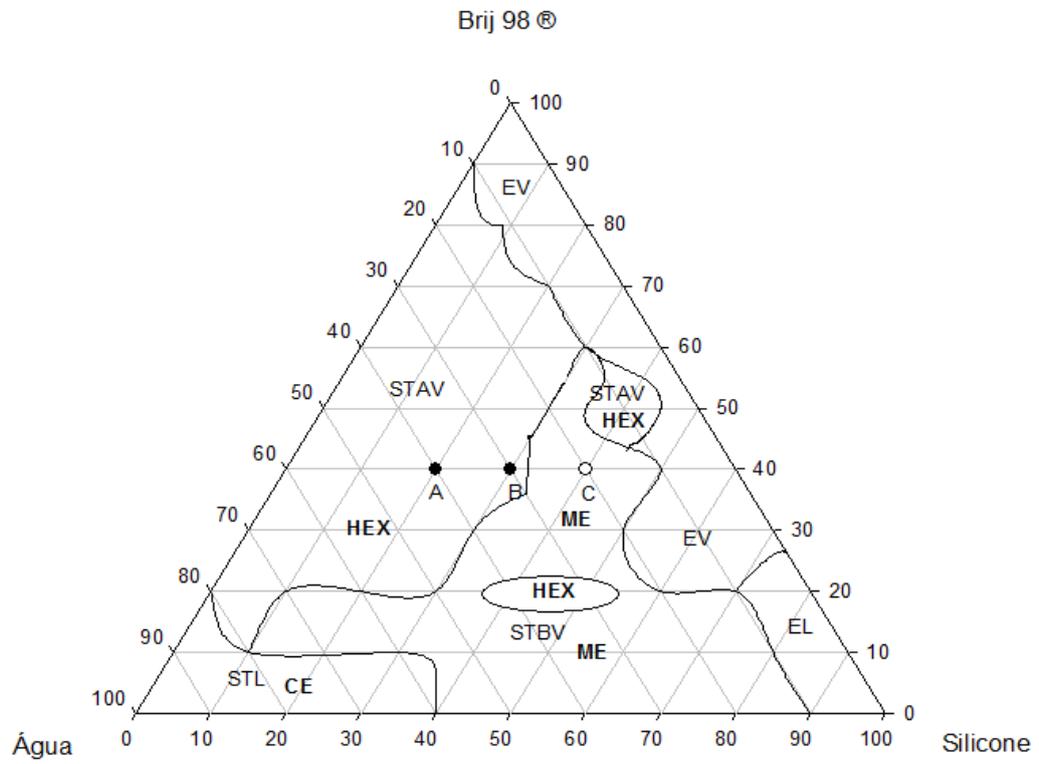


Figura 7 – Diagrama de sistemas. As áreas delimitadas representam: STL CE – sistema transparente líquido campo escuro; STAV HEX – sistema transparente de alta viscosidade estrutura hexagonal; STBV HEX – sistema transparente de baixa viscosidade estrutura hexagonal; STBV ME sistema transparente de baixa viscosidade microemulsionado; EL – emulsão líquida; EV – emulsão viscosa.

Através do diagrama de fases, selecionou-se formulações mais apropriadas para a incorporação do DXM, as quais foram posteriormente submetidas a testes de caracterização físico-química, estabilidade e permeação cutânea *in vitro*.

Selecionou-se três formulações, as quais as concentrações dos componentes estão apresentadas na Tabela 1. Essas formulações foram escolhidas levando-se em consideração a baixa concentração de tensoativo (40%), diminuindo assim quaisquer possíveis irritações

cutâneas. As formulações contendo DXM tiveram seu nome acrescido de um F (ex.: AF, BF e CF).

Tabela 1. Concentrações (%) dos componentes das formulações.

<b>Amostras</b>	<b>Fase oleosa (%)</b>	<b>Tensoativo (%)</b>	<b>Fase aquosa (%)</b>
A	20	40	40
B	30	40	30
C	40	40	20

#### ***4.2.2 Comportamento Reológico***

A reologia é um estudo que descreve as características de fluxo de sistemas líquidos, semi-sólidos e sólidos. Ela também pode ser definida como o estudo das propriedades de fluxo e deformação da matéria (AULTON, 2005; LAHOUD, 2009).

Sendo assim, o ensaio reológico se torna útil na avaliação de sistemas nanoestruturados, pois estes também são submetidos a tensões durante a aplicação dos mesmos na pele.

Avaliou-se o comportamento reológico das formulações, sem e com acetato de dexametasona, através do ensaio de escoamento utilizando-se reômetro com velocidade controlada – CR.

Foram obtidos diagramas que correlacionam tensão ( $\tau$ ) e taxa de cisalhamento ( $\lambda$ ), também conhecidos como curva de fluxo (SCHRAMM, 2006).

A seguir, seguem os diagramas na Figura 8.

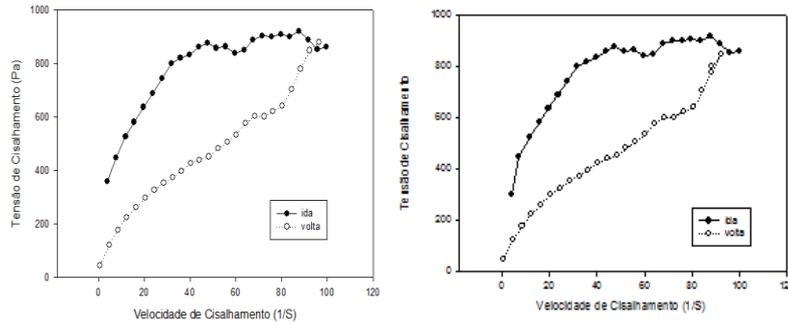


Figura 8: Formulação A e Formulação AF.

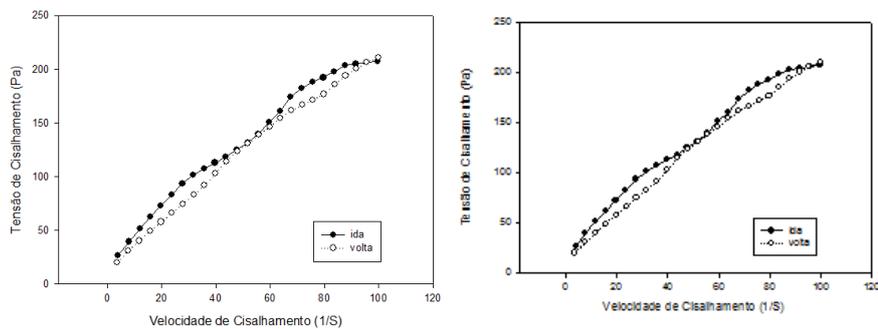


Figura 9: Formulação B e Formulação BF.

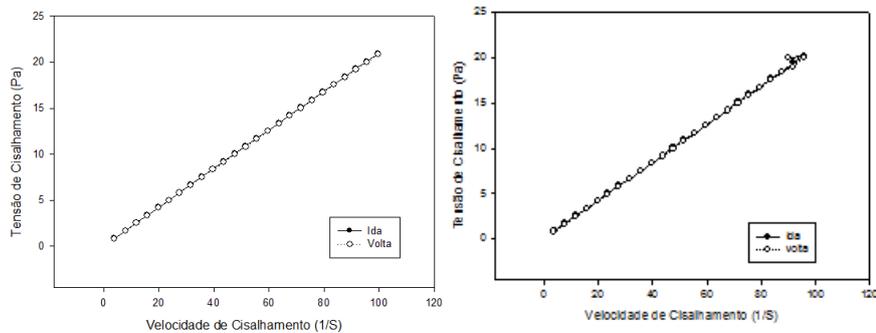


Figura 10: Formulação C e Formulação CF.

Todas as amostras apresentavam comportamento não newtoniano, ou seja, não apresentavam linearidade entre a tensão e a taxa de cisalhamento. Os reogramas evidenciaram a presença de tixotropia nos sistemas, ou seja, a curva de volta (descendente), encontra-se desarticulada em um plano inferior á curva ascendente. (FORMARIZ, 2006). A tixotropia está associada a uma lenta recuperação do arranjo e consistência do sistema que fora perdida durante o cisalhamento.

Todos os reogramas apresentados indicam presença de tixotropia nesses sistemas, com perfil de reconstrução tempo dependente, ou seja, com área de histerese, a qual indica a energia necessária para desestruturar a estrutura tixotrópica (SCHRAMM, 2006).

O perfil tixotrópico é uma importante característica para formulações tópicas, pois com a tensão de cisalhamento exercida durante a aplicação do produto, a formulação fica menos viscosa, facilitando a aplicação e quando a tensão é retirada, a formulação recupera gradativamente a consistência, aderindo assim na pele.

### **4.3. Testes de Estabilidade**

#### ***4.3.1. Avaliação Visual***

As amostras, previamente preparadas, foram armazenadas em frasco de vidro transparente com tampa, ao abrigo da luz e na faixa de temperatura de 25 a 35°C. Passado três meses, as amostras foram avaliadas quanto à alteração de cor e separação de fases. As amostras A, AF, B, BF, C e CF mantiveram-se transparentes e homogêneas. Sendo assim, a metodologia de preparo das amostras, bem como o armazenamento foram realizados com êxito.

#### ***4.3.2. Teste de Centrífuga***

Após o teste de centrífuga, 3000 rpm por 30 minutos, não houve separação de fases das amostras A, AF, B, BF, C e CF, indicando que as amostras possuíam estabilidade físico-química.

### 4.3.3. Determinação do pH

O pH das amostras A, AF, B, BF C e CF estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – pH das amostras A, AF, B, BF, C e CF.

<b>Amostra</b>	<b>pH</b>
A	4,88
AF	4,45
B	4,60
BF	4,23
C	4,71
CF	4,23

As amostras acrescidas de DXM apresentaram uma ligeira diminuição de pH em relação as formulações ausentes de fármaco, resultado esperado, já que o ativo tem características ácidas. Mesmo com a diminuição do pH, espera-se que as formulações sejam toleradas pela a maior parte da população, quando utilizadas topicamente, uma vez que a pele secreta uma substância com importante capacidade tamponante, tolerando formulações com pH entre 3 e 9 (LEONARDI et al., 2002).

#### 4.4. Ensaio de Liberação, Permeação e Retenção In Vitro

##### 4.4.1. Ensaio de Liberação In Vitro

Os testes de liberação in vitro foram realizados nas formulações AF (hexagonal), BF (hexagonal) e CF (microemulsão) contendo 0,1 % de DXM. O intuito deste experimento foi de avaliar o perfil de liberação do DXM a partir das formulações.

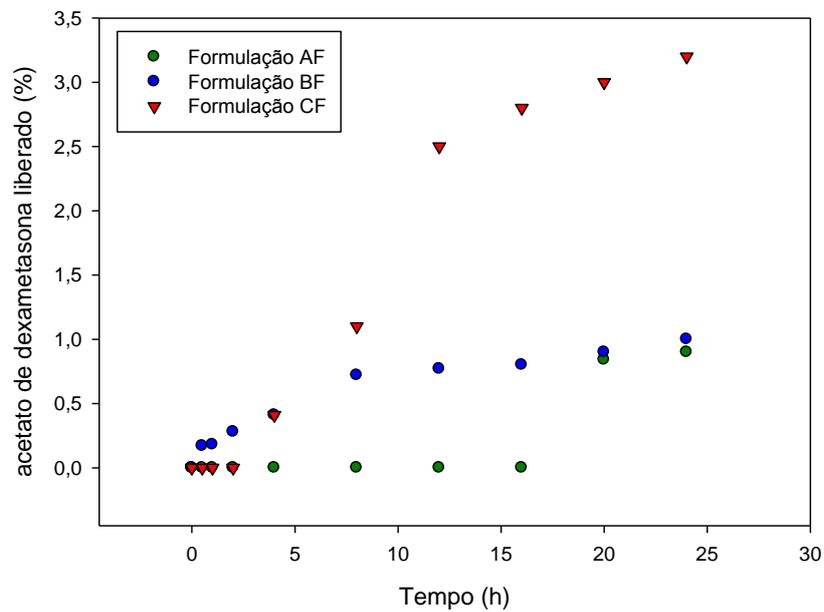


Figura 11. Perfil de liberação in vitro (%) de DXM incorporada nas formulações AF, BF e CF, contendo DXM 0,1 % (média de n=6).

A formulação AF (hexagonal) promoveu a liberação do fármaco somente depois de 20 horas de experimento e a porcentagem máxima de liberação foi de 0,90%.

A formulação BF (hexagonal) liberou o fármaco a partir da primeira hora de experimento e a porcentagem máxima de liberação foi de 1,22%.

A formulação CF permitiu a liberação do fármaco a partir de duas horas de experimento e a porcentagem máxima de liberação foi de 3,21%.

Estatisticamente as formulações BF e CF não diferem entre si, quando comparadas em relação à quantidade de fármaco liberado. Já a formulação AF é estatisticamente diferente das demais ( $p < 0,05$ ), indicando que a quantidade de fármaco liberada por ela foi menor.

Os experimentos acima sugerem que o silicone (fase oleosa dos sistemas) pode auxiliar na liberação de acetato de dexametasona, visto que a formulação AF, que possui a menor porcentagem de silicone, liberou menor quantidade do fármaco quando comparada com as demais.

#### ***4.4.2. Ensaio de Permeação e Retenção In Vitro***

Os experimentos de permeação e retenção são válidos para estimar as interações que a formulação constitui com a pele, mostrando como se dará a difusão do fármaco nas diferentes camadas da pele, se o fármaco ficará retido ou não no estrato córneo (camada mais externa da pele) e se o fármaco atingirá camadas mais profundas desse órgão.

Durante todo o intervalo de tempo utilizado para realização dos experimentos de permeação cutânea das formulações AF, BF e CF, não foram constatadas qualquer evidência de permeação do fármaco, sugerindo que o silicone possa formar uma película e esta, ajuda a reter o DXM na pele.

Os estudos de retenção mostraram que o acetato de dexametasona ficou retido no estrato córneo, não havendo assim retenção na epiderme + derme. As formulações AF, BF e CF, estatisticamente, retiveram a mesma quantidade de fármaco. Com isso podemos concluir que essas formulações são adequadas para a utilização via tópica, onde se deseja um efeito local do fármaco, como a dexametasona.

Tabela 3 – Comparação da retenção no EC e na E + D do acetato de dexametasona entre as amostras.

	Retenção EC [µg/ml]	Retenção E + D [µg/ml]
AF	22,82	0
BF	35,74	0
CF	25,66	0

#### 4.4.3. Análises de Variância entre Formulações AF, BF e CF

A análise de variância foi utilizada para comparar os perfis de liberação e de retenção cutânea das formulações AF, BF e CF. Utilizou-se o *Test T* para comparar as formulações. Quando  $p < 0,05$  constata-se que houve diferença significativa entre as formulações. Ao se realizar as análises para o perfil de liberação, pode-se observar que as formulações BF e CF não tiveram diferença significativa, porém ambas diferiram quando comparadas com a formulação AF. Para análise de perfil de retenção cutânea, nenhuma das formulações apresentou diferença significativa em relação às demais.

Tabela 4 – Comparação estatística dos Perfis de Liberação das Formulações AF, BF e CF.

Comparação de Perfis de Liberação das Formulações		
AF e CF	AF e BF	BF e CF
$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$
Estatisticamente diferentes	Estatisticamente diferentes	Estatisticamente não diferentes

Tabela 5 – Comparação estatística dos Perfis de Retenção no EC das formulações AF, BF e CF.

Comparação de Perfis de Retenção EC das Formulações		
AF e CF	AF e BF	BF e CF
$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Estatisticamente iguais	Estatisticamente iguais	Estatisticamente iguais

## 5. CONCLUSÃO

O diagrama de fases possibilitou a análise estrutural das formulações geradas a partir das diferentes concentrações de tensoativo, fase oleosa e fase aquosa.

A microscopia de luz polarizada foi imprescindível para caracterizar os sistemas formados, sugerindo que as formulações AF e BF, pela anisotropia e presença de “estrias”, fossem cristais líquidos de fase hexagonal e que, a formulação CF, pela isotropia e consistência, fosse um sistema microemulsionado.

Os estudos reológicos caracterizaram as formulações como possuindo perfil tixotrópico em A, AF, B, BF, C e CF.

Os ensaios de liberação mostraram que as formulações AF, BF e CF liberam respectivamente 0,90%, 1,22% e 3,21% do fármaco. A formulação AF liberou estatisticamente menor quantidade de fármaco, sugerindo que o silicone facilita a liberação do DXM.

Os ensaios de permeação, para todas as formulações não mostraram nenhuma evidência de que o fármaco permeou.

Todas as formulações estudadas foram estatisticamente iguais na retenção do DXM no estrato córneo, AF (22,82%), BF (35,74%) e CF (25,66%), demonstrando que estas são potenciais formulações a serem utilizadas via tópica, pois permitiram a retenção local do fármaco, minimizando eventuais efeitos adversos.

## 6. REFERÊNCIAS

- ARONSON, H. Correction factor for dissolution profile calculations. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 82, n. 11, 1993.
- AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BERTH-JONES J., THOMPSON J., PAPP K. A study examining inter- and intra-rater reliability of a novel instrument for assessment of psoriasis: The Copenhagen psoriasis severity index (CoPSI). *Br J Dermatol* 2008; 159: 407–12.
- BHARDWAJ. U., BURGESS, D.J. Physicochemical properties of extruded and non-extruded liposomes containing the hydrophobic drug dexamethasone. *Internacional Journal of Pharmaceutics*, 2010, pages 181-189.
- BRINON, L.; GEIGER, S.; ALARD, V.; DOUCET, J.; TRANCHANT, J-T., COUARRAZE, G. Percutaneous absorption of sunscreens form liquid crystalline phases. *J. Control. Rel.*, Arlington, v.60, p.67-76, 1999.
- BRUSCHI, M.L., et al. Semisolids systems containing própolis for the treatment of periodontal disease: In Vitro release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. *J. Phram. Sci.*, v. 96, p. 2074 – 2089, 2007.
- CASTRO, M. Efeitos antiinflamatórios e antiproliferativos dos glicocorticóides concordância ou discordância? *Arq. Brás. Endocrinol Metab.* vol. 49 no.3 São Paulo Junho 2005. Scielo.Brasil.

CERA, R.F.L. Estudo da incorporação do diclofenaco sódico com microemulsão lipídicas: formulação e liberação in vitro. Araraquara, 2001. 145p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista].

CRUZ, D'J.O.; UCKUN, M.F. Gel-microemulsions as vaginal spermicidal and intravaginal drug delivery vehicles. *Contraception*, Stoneham, v. 64, p.113-123, 2001.

CONSTANTINIDES, P.P. Lipid microemulsions for improving drug dissolution and oral absorption: physical and biopharmaceutical aspects. *Pharm. Res.*, Arlington, v.12, p.1561-1572, 1995.

CORREA, M.A. Incorporação de naproxeno em sistema microemulsionado: liberação in vitro e avaliação biológica. São Paulo, 1996. 146p. [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV) microemulsion systems. In: KUMAR, P.; MITTAL, K.L., ed. *Handbook of Microemulsion Science and Technology*. New York: Marcel Dekker, 1999. cap.7, p.195-240.

FORMARIZ, T. P.; O, M. C. C.; SILVA JUNIOR, A.A. ; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** , v.41, no.3, p.301-313, 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.*, Amsterdam, v.212, p.73-80, 2001.

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.

JONES, DS. et al. Rheological, mechanical and mucoadhesive properties of thermoresponsive, bioadhesive binary mixtures composed of poloxamer 407 and carbopol 974P designed as platforms for implantable drug delivery systems for use in the oral cavity. *Int. J. Pharm.*, v. 372, p. 49-58, 2009.

LAHOUD, Mateus Humberl; CAMPOS, Ranieri. Aspectos teóricos relacionados à reologia farmacêutica. *Visão Acadêmica, Curitiba*, v.11, p. 65-73, n.1, Jan. - Jun./2010.

LAWRENCE, M.J; REES, D.G. Microemulsions-based as novel drug delivery systems. *Adv. Drug Del. Rev.*, Arlington, v.45, p.89-121, 2000. *MERK INDEX, THE 13° ed.*, 2001- pag.158.

LOFTSSON, T., OLAFSSON, J. H. Cyclodextrins: new drug delivery systems in dermatology. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.37, p. 241-246, 1998d.

MARTINS, M.R.F.M. VEIGA, F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 38, n. 1, Jan./mar., 2002

MULLER-GOYMANN, C. C.; FRANK, S. G.; *Int. J. Pharm.* 1986, 29, 147.

NAUMANN, L.; FEIST, E.; STRAUB, R. H.; BURMESTER, G.R.; BUTTGEREIT, F. Potencies of topical glucocorticoids to mediate genomic and nongenomic effects on human peripheral blood mononuclear cells. *Biochemical Pharmacology*, p.530-539, 2006.

OLIVEIRA, A.G. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Química Nova*, v.27, p.131-13, 2003

PRIMO, F. L.; BENTLEY, M. V. L. B.; TEDESCO, A. C. Photophysical studies and in vitro skin permeation/retention of foscan/nanoemulsion (NE) applicable to PDT skin cancer treatment. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, v. 8, p. 340-347, 2008.

NORLING, T.; LADING, P.; ENGSTRON, S.; LARSSON, K.; KROG, N.; NISSEN, S.S. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.19, p.687-692, 1992.

OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V.; CORREA, M.A.; CERA, L.F.R.; FORMARIZ, T.P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Quim. Nova*, São Paulo, v.27, p.131-138, 2004.

OYAFUSO, M. H. Desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoestruturados para a administração cutânea de acetato de dexametasona. Araraquara, 2012. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”].

PYTEL, R.F.; SILVA, L.V.N.; NUNES, A.S.; GESZTESI, J.L.; COSTA, f. Estudo in vivo de atividade antirradicalar por quantificação de peróxidos cutâneos. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v.80, sup.3, p.S323-328, 2005.

P.S. PRESTES, M. CHORILLI, L.A. CHIAVACCI, M.V. SCARPA, G.R. LEONARDI, J. *Dispersion Sci. Technol.* 31 (2010) 117.

ROSA, F.S., et al. In vitro skin permeation and retention of 5-aminolevulinic acid ester derivatives for photodynamic therapy. *J. Control. Release*, v.89, n.2, p.261-269, 2003.

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

SENYIGIT, T.; PADULA, C.; OZER, O.; SANTI, P. Different approaches for improving skin accumulation of topical corticosteroids. **Biochemical Pharmacology**, p. 155-160, 2009.

VENDRUSCOLO, C.W. Goma xantana e galactomanana (*M. scabrella*): desenvolvimento de matrizes hidrofílicas para liberação modificada de teofilina. Itajaí, 2005. 112p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí].

WARGAFTIG, T.N. Desenvolvimento de microemulsões lipídicas estabilizadas com fosfatidilcolina de soja para veiculação de vacina de DNA contra tuberculose. Araraquara, 2000, 90p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista].

WIEDERSBERG et al. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.68, p.453-466, 2008.

13 de dezembro de 2013.

---

**Discente**

Camila Conforto de Lima

De acordo:

---

**Orientador**

Marlus Chorilli