



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

NATAN EMANUELL DE SOBRAL E SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES E
EMULSÕES GEL- LIKE PARA USO TÓPICO LOCAL**

**CAMPINA GRANDE -PB
2012**

NATAN EMANUELL DE SOBRAL E SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES E
EMULSÕES GEL- LIKE PARA USO TÓPICO LOCAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência
para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. BOLÍVAR PONCIANO
GOULART DE LIMA DAMASCENO

CAMPINA GRANDE -PB
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

S586d Silva, Natan Emanuell de Sobral e.
Desenvolvimento e caracterização de microemulsões e emulsões gel- like para uso tópico local / Natan Emanuell de Sobral e Silva. – 2012.
37 f. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

“Orientação: Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia.”

1. Microemulsão. 2. Nanotecnologia. 3. 6CN10. I.
Título.

21. ed. CDD 615.43

NATAN EMANUELL DE SOBRAL E SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES E
EMULSÕES GEL- LIKE PARA USO TÓPICO LOCAL**

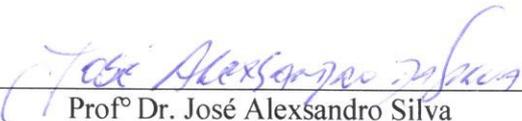
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação Farmácia Generalista da
Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento à exigência para obtenção do grau
de Bacharel em Farmácia.

Aprovado(a) em: 28 DE NOVEMBRO DE 2012

BANCA EXAMINADORA:



Prof^o Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno
Depto. Farmácia/CCBS/UEPB
Orientador(a)



Prof^o Dr. José Alexandro Silva
Depto. Farmácia/CCBS/UEPB
Examinador(a)



Prof^a Dr^a Rosemary Sousa Cunha Lima
Depto. Farmácia/CCBS/UEPB
Examinador(a)

DEDICATÓRIA

À minha avó (IN MEMORIUM) por ter sempre acreditado em mim e nos meus sonhos. À minha família, em especial, minha mãe por seus sábios conselhos e incentivos fundamentais para que este trabalho fosse realizado, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por toda proteção e discernimento que me fizeram crescer e, no tempo Dele, sempre ter atitude e fé para dar o próximo passo.

A minha mãe, Maria da Conceição de Sobral pelo amor incondicional, pela paciência e confiança, por todos os ensinamentos que me fizeram crescer com caráter, dignidade e fé. Amo vocês.

Aos meus avós Maria Eronilda Souza de Sobral (vó Liu) e Manoel Cirilo de Sobral (vô Neco) por terem sempre acreditado em mim, me ensinado a sonhar alto e, principalmente, por terem me oferecido condições para realizar estes sonhos. A vocês, a virtude da paciência, e o dom da motivação.

A toda minha família por todo carinho, torcida e por serem essenciais em minha vida.

Aos amigos Brunnin, Yuri e Jôffyli pelos momentos de descontração, inesquecíveis para mim.

A Itavielly Layany, por todo incentivo nos momentos de fraqueza, por me fazer acreditar, quando nem mesmo eu acreditava, seu otimismo me contagiou, não o perca.

A meus amigos Bidú, Arnessen, Jandeilson, Carlos, Diego, George, Manu e Eloisa, por juntos terem me proporcionado os melhores momentos da vida, verdadeiros irmãos.

Ao Mestrando e amigo Geovani Pereira pela paciência, atenção, apoio e orientação desde o início da elaboração deste trabalho.

Ao meu orientador prof. Dr. Bolívar P.G de L. Damasceno por todas as oportunidades concedidas e pelos ensinamentos na contribuição deste trabalho. Muito Obrigado!

Por fim, ao Laboratório de desenvolvimento e caracterização de produtos farmacêuticos (LDCPF), e a todos que o compõe pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÕES E EMULSÕES GEL- LIKE PARA USO TÓPICO LOCAL

SILVA, Natan Emanuell de Sobral¹; DAMASCENO, Bolívar Ponciano Goulart de Lima²

RESUMO

O aumento da incidência e gravidade de doenças fúngicas, aliado a defasagem dos medicamentos existentes no mercado faz com que surja a necessidade de alternativas terapêuticas mais eficazes. A síntese de novos fármacos antifúngicos como os derivados do tiofeno e o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, a exemplo as microemulsões, tem sido alvo de grande interesse pela comunidade farmacêutica. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver e caracterizar formulações semi-sólidas para incorporação de um antifúngico derivado tiofênico (6CN10). Os sistemas emulsionados e microemulsionados utilizados foram obtidos a partir da produção de diagramas de fase pseudo-ternário, tendo como tensoativo o Cremophor[®] EL e como co-tensoativo o álcool etílico, estes nas proporções de 10:0 e 9:1. Foi selecionada uma formulação de cada diagrama para incorporação do 6CN10 em diferentes concentrações. As formulações com e sem o fármaco foram caracterizadas pelo aspecto macroscópico, pH, condutividade elétrica e espalhabilidade. Para a doseamento do fármaco foi desenvolvido e validado um método espectrofotométrico de acordo com os parâmetros da Resolução 899/2003. Na avaliação da estabilidade preliminar, as formulações foram submetidas a estresse térmico, centrifugação e ciclo gelo/degelo. As formulações semi-sólidas obtidas mostraram valores de pH compatíveis com a administração tópica, apresentando boa espalhabilidade e relevante estabilidade preliminar para todas formulações, todavia, o sistema microemulsionado apresentou-se mais límpido e consistente, apresentando também melhores resultados nos estudos de estabilidade preliminar. Concluindo-se que as formulações propostas possuem potencial futuro para a terapêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Microemulsão, Nanotecnologia, 6CN10.

¹Graduando do Curso de Farmácia Generalista/ Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) /

²Professor do departamento do Curso de Farmácia Generalista/ Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) / natan.farmacia@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

A incidência e a severidade das doenças fúngicas tem aumentado recentemente, particularmente em pacientes com imunidade comprometida, o que explica a relevância de microorganismos como a *Candida* spp no novo quadro de infecções hospitalares (PINTO, et al, 2008).

Um fato importante a se ressaltar é que diversos fungos, como os do gênero *Candida*, são comumente encontrados na superfície da pele, mucosas, trato gastrintestinal e geniturinário de indivíduos saudáveis. No entanto, sob determinadas condições, esses microorganismos são capazes de causar diversos quadros clínicos onde se incluem infecções tanto a nível superficial quanto sistêmico (ARAÚJO, 2010). As infecções causadas por *Candida* estão se tornando uma preocupação crescente devido ao aumento do número de casos relatados e as limitadas opções disponíveis para a terapia (CASTON-OSORIO, 2008).

Um ponto preocupante no tratamento de infecções por fungos é o número limitado de drogas antifúngicas eficazes. Muitas das opções terapêuticas atualmente disponíveis são fungistáticas e não fungicidas, podendo ocasionar recorrência ou levar ao desenvolvimento da resistência em parte devido ao prolongado período de administração. Além disso, alguns destes fármacos apresentam toxicidade, apresentam um limitado espectro de atividade, baixa distribuição tecidual, fraca penetração no sistema nervoso central (SNC), ou custo elevado (ARAÚJO, 2010).

Devido a estas dificuldades tem se buscado novas armas contra esses microorganismos. O desenvolvimento de novas formas farmacêuticas e síntese de novos fármacos, como as moléculas derivadas do tiofeno, são potenciais alternativas a serem estudadas.

Os compostos heterocíclicos são atualmente bastante utilizados como base para a modificação molecular, visto que correspondem a cerca de 65% dos fármacos empregados atualmente na cura de infecções, onde 95% desses apresentam-se nitrogenados e outros 25% apresentam átomos de enxofre em sua composição química (BARREIRO e FRAGA, 2001). Os compostos heterocíclicos contendo enxofre abriram caminho para a investigação ativa na área da química farmacêutica. Nos dias de hoje, os derivados do benzotiofeno em associação com outros sistemas de anéis têm sido amplamente utilizados em aplicações farmacêuticas (ISLOOR, et al, 2009).

O desenvolvimento de novos sistemas transportadores de fármacos tem aumentado nos últimos anos. Inúmeros destes produtos apresentam a finalidade de melhorar o tratamento das

doenças no que diz respeito ao aumento da eficácia e redução da toxicidade dos fármacos, facilitando a adesão do paciente ao tratamento (DASMACENO, 2010).

Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver e caracterizar microemulsões e emulsões gel- like para uso tópico local.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Atualmente, há um direcionamento para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos como microemulsões, pois esses sistemas podem aumentar a adesão de pacientes em relação às vias parenteral e tópica, além de proporcionar uma farmacocinética mais adequada (KAYSER et al, 2003).

Microemulsão (ME) pode ser definida como uma emulsão transparente, na qual um óleo ou um fármaco lipofílico é disperso num meio aquoso, contendo um tensoativo, associado ou não a um co-tensoativo apropriado, gerando um sistema termodinamicamente estável (OLIVEIRA et al, 2004). As propriedades únicas das microemulsões incluem tensão interfacial baixa, grande área interfacial, baixa viscosidade e alta capacidade de solubilização (FANUN, 2011). Elas podem formar várias estruturas, tais como gotículas de óleo em água, gotículas de água em óleo, misturas bicontínuas, gotículas ordenadas e misturas lamelares com ampla faixa de equilíbrio entre elas e com excesso de fase oleosa e/ou aquosa, sendo que a formação dessas estruturas depende do tensoativo, do co-tensoativo e da natureza do óleo. Portanto, a escolha adequada e as concentrações desses componentes tornam-se extremamente importantes para a orientação desses sistemas (SIROTTI et al, 2002).

A construção de diagramas de fase pode ser uma ferramenta fundamental para caracterizar em que condições experimentais as microemulsões existem e em que proporções dos componentes outras estruturas podem estar presentes. A partir desses dados, pode-se selecionar a região do diagrama de fase que mais convenientemente represente a condição apropriada para que o fármaco seja incorporado (FORMARIZ, 2004).

Estruturalmente, existem três tipos de MEs: óleo em água (O/A), água em óleo (A/O) e bi- contínuas (Figura 1). Nas MEs tipo O/A, o componente lipofílico é disperso na forma de gotículas coloidais no componente hidrofílico; nas MEs tipo A/O ocorre o inverso, sendo o componente lipofílico disperso no componente hidrofílico. Já nas MEs do tipo bi- contínuas, os componentes lipofílicos e hidrofílicos se caracterizam por canais adjacentes alongados com nanogotículas contendo volumes semelhantes entre a fase aquosa e oleosa. Estes tipos

estruturais de microemulsões podem ser utilizadas como sistemas transportadores de fármacos, tanto hidrofílicos quanto lipofílicos (FORMARIZ et al, 2005).

Figura 1- Representação esquemática da organização das microemulsões.



Fonte: FORMARIZ et al, 2005.

Os nanossistemas, ou nanocarreadores coloidais, possuem características ideais para a penetração dérmica passiva: apresentam vesículas suficientemente deformáveis e elásticas capazes de penetrar na pele espontaneamente, formam uma camada semi-oclusiva que impede a eliminação de água pela pele, o que aumenta a hidratação e, assim, a permeabilidade do fármaco. Adicionalmente, são capazes de modular a atividade termodinâmica do fármaco na superfície da pele permitindo uma otimização da velocidade de cedência (VERMA, et al, 2003).

Estes sistemas têm atraído crescente interesse como veículos de administração tópica de fármacos. Destacam-se as microemulsões por apresentarem excelente taxa de penetração em camadas profundas do estrato córneo quando comparadas a formulações convencionais, sendo consideradas como sistema terapêutico nanotecnológico bastante promissor na permeação e direcionamento eficiente de fármacos através da pele (SILVA et al, 2010).

Estudos demonstraram o grande potencial das microemulsões como veículos de liberação de fármacos lipofílicos para administração tópica, tais como anti-inflamatórios, antifúngicos e antioxidantes (GRAMPUROHIT, RAVIKUMAR & MALLYA, 2009). Puranajoti e colaboradores (2002) desenvolveram com sucesso microemulsões contendo os antifúngicos miconazol, cetoconazol e itraconazol, todos fracamente hidrossolúveis.

Como passo inicial de um estudo de desenvolvimento galênico para uma forma farmacêutica se faz necessário a validação de uma metodologia analítica capaz de quantificar a molécula nos produtos farmacêuticos preparados a partir dela (SANTANA et al, 2004). Desde a década de 70 a validação de metodologias vem se destacando como tendência no meio científico. Exigências legais, técnicas e comerciais surgiram para justificar a

implantação de validação de métodos analíticos. Existem várias agências credenciadoras no mundo e no Brasil, ANVISA e INMETRO, e todas exigem a validação de métodos analíticos como requisito imprescindível para um laboratório ou indústria assegurar sua qualidade e demonstrar competência técnica (JARDIM, 2004).

Para métodos analíticos que não estão descritos nas farmacopéias ou formulários oficiais, a metodologia só será reconhecida pela ANVISA desde que sejam avaliados os parâmetros relacionados a seguir: especificidade e seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação (FERNANDES, 2003).

Os derivados do Tiofeno são fármacos que possuem atividade antifúngica. Devido à atividade farmacológica apresentada, esses compostos têm sido bastante estudados visando sua utilização na terapêutica

O tiofeno é um hidrocarboneto cíclico, de fórmula molecular C_4H_4S (Figura 2). Trata-se também de um composto heteroaromático visto que um dos pares de elétrons livres do enxofre tem potencial para participar da ressonância conjuntamente com elétrons π das duplas ligações.

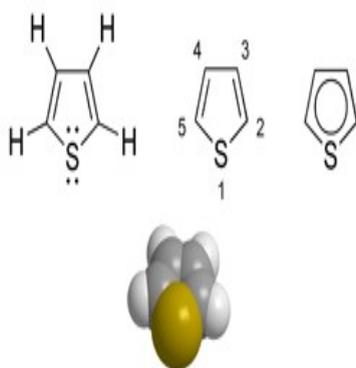


Figura 2 - Estrutura da molécula do tiofeno

3 REFERENCIAL METODOLÓGICO

Materias

- Molécula 6CN10;
- Clorofórmio (FMaia P.A/38923);
- Acetonitrila UV/ HPLC (JT Baker e Vetec/K04C55 e 1107038);
- Cremophor[®] EL (Sigma-Aldrich/ BCB5055V);
- Álcool etílico absoluto (P.A Cinética/ 17818);
- Miristato de isopropila (Via Farma/70641F);
- Água purificada (Gehaka[®]).

Equipamentos

- pHmetro Hanna HI 2221;
- Condutivímetro Tecnocon MCA 150;
- Micro Centrífuga NOVA NI 1801 ;
- Sonicador Unique Modelo Desruptor;
- Banho de Ultra- som Unique USC 2800 A Agitador magnético;
- Espectrofotômetro UV/Visível UV mini 1240 Shimadzu;
- Balança analítica Ohaus AR2140;
- Balança semi-analítica BEL Mark 500;
- Banho Maria Solab SL 155/10;

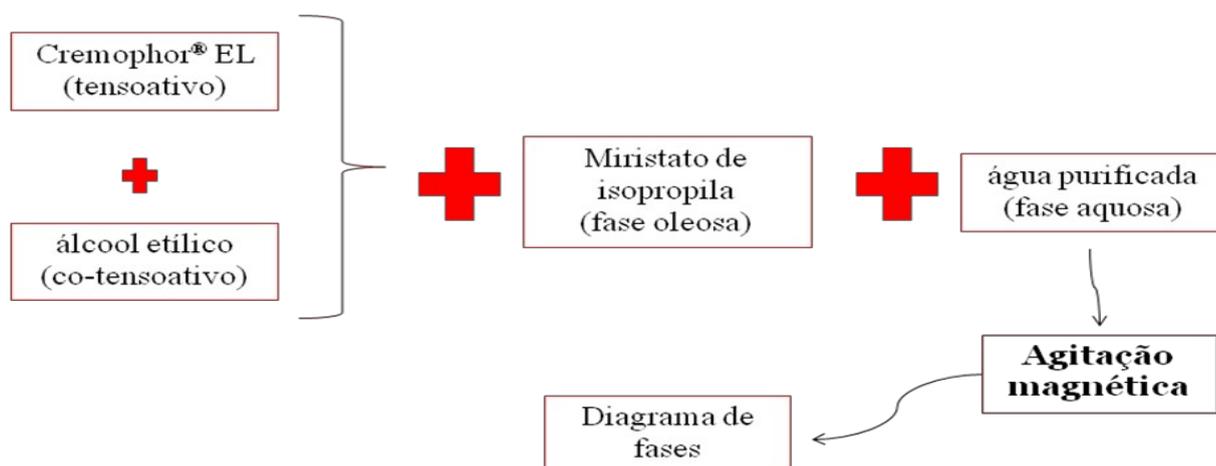
-

Agitador magnético IKA[®] RH BASIC.

Local da Pesquisa: Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) – UEPB Campus I- Bodocongó.

Produção do diagrama de fase pseudo-ternário (DFPT)

Para a produção dos DFPT, Cremophor® EL e álcool etílico foram misturados nas proporções 10:0 e 9:1, respectivamente, seguindo da adição de Miristato de isopropila nas proporções de 1:9 à 9:1 à cada proporção de tensoativos, da maneira que o esquema abaixo explana:



Com este procedimento, a transição de separação de fases, sistemas microemulsionados, emulsões semi-sólidas e emulsões líquidas puderam ser observados macroscopicamente. Os dados foram computados em planilhas no software Microsoft Excel® e com o auxílio do software OriginPro 8® foi possível plotar os DFPT com suas regiões específicas bem delimitadas.

Seleção das formulações

Partindo-se dos diagramas obtidos, foram selecionadas duas formulações para incorporação da molécula 6CN10 em diferentes concentrações, sendo uma de Microemulsão Gel like, e outra Emulsão Gel like.

O processo de incorporação iniciou-se com a solubilização do fármaco na fase oleosa (miristato de isopropila), seguindo-se da adição dos tensoativos, levando-se assim à sonicação

por 1 minuto. Por conseguinte, o volume correspondente de água para a formulação foi adicionado de modo fracionado em três partes, sendo cada adição de água acompanhada de sonicação por um minuto. Ao final, cada formulação obtida foi levada ao banho de ultra-som por dois minutos. As amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente precedendo 48 horas de sua utilização.

Caracterização físico-química das formulações

A avaliação dos parâmetros físico-químicos de sistemas microemulsionados é de fundamental importância na caracterização completa da estrutura microemulsionada. Além de se confirmar a formação dos sistemas, podem ser utilizados como parâmetros para modificar seu comportamento para uma finalidade específica (ROSSI et al., 2007). Foram analisadas alíquotas de todas as formulações, incluindo-se as formulações brancas, conforme metodologia adequada ao aparelho utilizado para as referidas medidas.

Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das formulações foi determinado no pHmetro. As amostras foram diluídas em água (1:10) e as medições foram realizadas em triplicata.

Condutividade elétrica

Para a determinação da condutividade foi utilizado o condutivímetro de bancada, com diluição prévia das amostras em água (1:10). As análises foram realizadas em triplicata.

Espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade foi realizada em duplicata de acordo com metodologia previamente descrita na literatura por Knorst (1991). No aparato utilizado, uma placa-molde circular de vidro com orifício central foi colocada sobre uma placa-suporte de vidro, posicionada sobre uma escala milimetrada. A amostra foi introduzida no orifício da placa-molde, e em seguida, foi colocada uma placa de vidro de peso conhecido. Após um minuto, foi realizada a leitura dos diâmetros abrangidos pela amostra, na vertical e horizontal, com auxílio da escala do papel milimetrado. Acrescentando-se sucessivamente outras placas,

em intervalos de um minuto, o procedimento foi repetido até que as 10 placas fossem colocadas. Posteriormente, foi calculado o diâmetro médio. A espalhabilidade foi calculada de acordo com a equação (1) abaixo:

$$E_i = d^2 \cdot \pi/4 \quad (1)$$

Onde: E_i é espalhabilidade da amostra para um determinado peso (mm^2) e d o diâmetro médio (mm).

Doseamento do 6CN10 nas formulações

Validação do método analítico espectrofotométrico para doseamento do 6CN10

O método foi validado de acordo com a RE n. 899, de 29 de maio de 2003, que dispõe sobre o Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (ANVISA, 2003). Os parâmetros avaliados foram: especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e de quantificação.

Varredura UV

Para determinação do comprimento de onda de maior absorção no espectro UV para o 6CN10, foram realizadas diluições do fármaco de modo a obter uma solução com concentração adequada para leitura em espectrofotômetro. Inicialmente dissolveu-se 10 mg do 6CN10 em 10mL de clorofórmio, obtendo-se uma a solução padrão com concentração de 1 mg/mL. A partir desta solução, efetuou-se uma diluição para 150 $\mu\text{g/mL}$ utilizando como solvente a acetonitrila, obtendo-se assim a solução 1 (S1), essa diluição em acetonitrila ocorreu devido a incompatibilidade das formulações com o clorofórmio. Em seguida, foi realizada outra diluição da amostra para a concentração de 16 $\mu\text{g/mL}$, sendo submetida à varredura (área espectral= 400 a 200nm) em espectrofotômetro ultravioleta/visível (UV/VIS), determinando-se o pico de absorbância para o 6CN10.

Linearidade

A partir da solução padrão, foram preparadas três curvas de calibração com 10 níveis de concentrações: 6, 8, 11, 14, 16, 18, 21, 23, 25 e 27 µg/mL diluídas em acetonitrila. Os resultados foram tratados estatisticamente para determinação do coeficiente de correlação (r) e obtenção da equação da reta.

Limite de detecção

Seu valor pode ser obtido através da seguinte equação (2)

$$LD = DP_a \times 3/IC \quad (2)$$

Onde, DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo das ordenadas e IC é a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2003).

Limite de quantificação

Seu valor pode ser obtido através da seguinte equação (3):

$$LQ = DP_a \times 10/IC \quad (3)$$

Onde, DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo das ordenadas e IC é a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2003)

Exatidão

A exatidão do método foi determinada a partir das absorbâncias de soluções do 6CN10 em três níveis de concentração: 8 µg/mL (Nível baixo), 16 µg/mL (Nível médio) e 25 µg/mL (Nível alto). As análises foram realizadas em triplicata.

Precisão

Para a precisão, foi realizada a leitura em sextuplicata de soluções do 6CN10 na concentração equivalente ao ponto médio da curva de calibração (16 µg/mL). As análises foram realizadas por operadores diferentes e em dias distintos.

Robustez

Na robustez, foi realizada a análise em triplicata do ponto médio, efetuando-se pequenas modificações metodológicas, sendo elas:

- Diferentes fornecedores de acetonitrila (JT Baker e Fmaia);
- Tipo de solvente utilizado para dissolver a molécula 6CN10, utilizando-se acetonitrila e clorofórmio.

Seletividade e especificidade

Para esta análise foram realizadas diluições das formulações com e sem o fármaco em acetonitrila, de modo a avaliar a ocorrência de picos de absorção em cada amostra.

Doseamento

Para determinação da concentração de 6CN10 nas formulações obtidas, alíquotas de 1 grama de cada formulação foram inicialmente solubilizadas em acetonitrila. A solução resultante foi filtrada e posteriormente diluída até a concentração equivalente ao ponto médio da curva de calibração. Foram realizadas leituras no espectrofotômetro para cada solução, sendo o valor médio das absorbâncias obtidas (n=3) utilizado para determinação da

concentração real da amostra por meio da equação da reta obtida durante a determinação do parâmetro linearidade.

Estabilidade Preliminar

A estabilidade das formulações foi avaliada conforme o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2004) e o Guia para realização de estudos de estabilidade (BRASIL, 2005), contemplando as análises de centrifugação, estresse térmico e estabilidade preliminar (ciclo gelo-degelo).

Centrifugação

O teste de centrifugação produz condições de estresse na amostra com um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e simulando possíveis instabilidades. Estas poderão ser observadas na forma de precipitação, separação de fases, formação de caking e coalescência. A amostra é centrifugada em temperatura, tempo e velocidade padronizados. Em seguida avalia-se a mesma visualmente (ANVISA, 2004).

Na centrifugação, alíquotas de cada formulação foram acondicionadas em microtubos do tipo Eppendorf e submetidas a ciclos de 1000, 2500, 3500, 5000 e 7000 rpm (ou 89, 559, 1095, 2236 e 4382 g) durante 15 minutos em cada rotação à temperatura ambiente. Ao fim de cada ciclo verificou-se cada amostra quanto a ocorrência de possíveis modificações no sistema como separação de fases e formação de precipitados.

Estresse térmico

Nesta etapa, as amostras foram submetidas a aquecimento em banho termostaticado na faixa de temperatura de 40,0 a 80,0 °C. Realizou-se aumento gradativo da temperatura de 5 em 5°C, mantendo-se as amostras em cada temperatura por 30 minutos, com leitura sendo realizada ao término deste tempo, classificando as amostras como: sem alteração (SA), levemente modificada (LM), modificada (M), intensamente modificada (IM) e separação de fases (SF).

Ciclo gelo/degelo

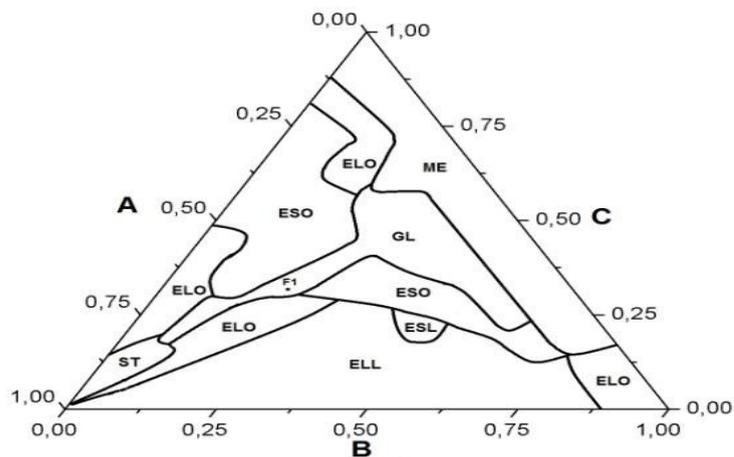
No ciclo gelo- degelo as amostras foram submetidas alternadamente a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24h e $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24h. A leitura dos parâmetros avaliados foi realizada antes do teste (após 24h de preparo) e ao final de cada ciclo (cada ciclo corresponde à 48h: 24h na geladeira e 24h na estufa). Desta forma, as amostras foram submetidas a 6 ciclos na geladeira e 6 ciclos na estufa, alternadamente, totalizando-se 12 dias de análise. Após esta etapa, as amostras foram avaliadas quanto às características organolépticas, pH e condutividade.

4 DADOS E ANÁLISE DA PESQUISA

Diagrama de fase pseudo-ternário (DFPT)

As Figuras 3 e 4 ilustram os DFPT obtidos neste estudo, utilizando as proporções 10:0 e 9:1 de tensoativo:co-tensoativo.

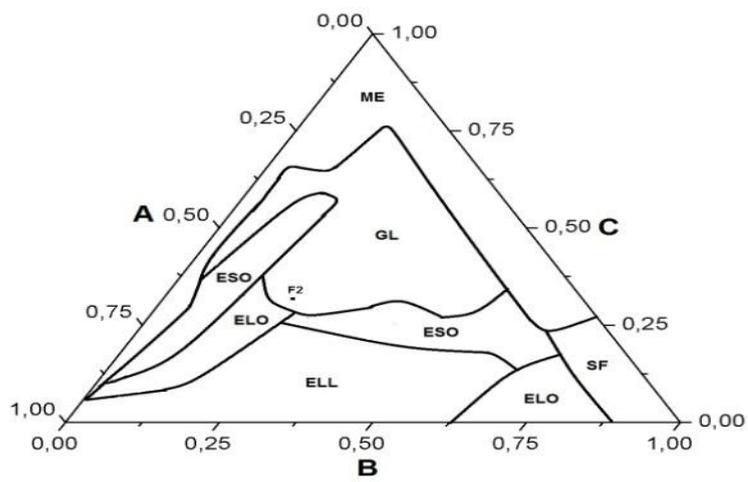
Figura 3 - Diagramas de fase pseudo ternário 10:0 evidenciado o ponto de formulação de ME- Gel like.



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Figura 4 - Diagrama de fase pseudo ternário 9:1 evidenciado o ponto de formulação de ME- Gel

like.



Fonte:
dados da
pesquisa,
2012.

P

ercede-

se a

presença de regiões representando os diferentes estados apresentados pelas combinações dos componentes do sistema, em especial as regiões formadoras de ME-

Gel like e Emulsão- Gel like (Figura 5), das quais foram selecionadas as formulações para incorporação do 6CN10 (Tabela 1).

O tensoativo não iônico selecionado, Cremophor[®] EL, possui menor toxicidade quando comparados aos tensoativos iônicos e apresenta boa compatibilidade cutânea (TENJARLA, 1999). Contudo, escolheu-se o ponto para formulação que conteve a menor proporção de tensoativos, a fim de obterem-se formulações adequadas ao uso tópico local.

Figura 5 - Microemulsão- Gel like e Emulsão- Gel like, respectivamente, sem o fármaco.



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Tabela 1 - Proporção das formulações

Componentes	Diagrama	Cremophor [®]	Álcool etílico	Miristato de Isopropila	Água
Formulação (F1)	1 10:0	31.7%	-	21.2%	47.1%
Formulação (F2)	2 9:1	28.5%	3.2%	21.2%	47.1%

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Ressaltando-se que a formulação F1 apresentou maior limpidez e transparência, ao ser observada macroscopicamente.

Incorporação da molécula 6CN10 nas formulações

Quatro concentrações da molécula 6CN10 foram estabelecidas para incorporação nas formulações anteriormente descritas: 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL e 1 mg/mL. Deste modo foram obtidas no total 8 formulações contendo o fármaco e 2 formulações sem o fármaco, classificadas de acordo com a Tabela 2.

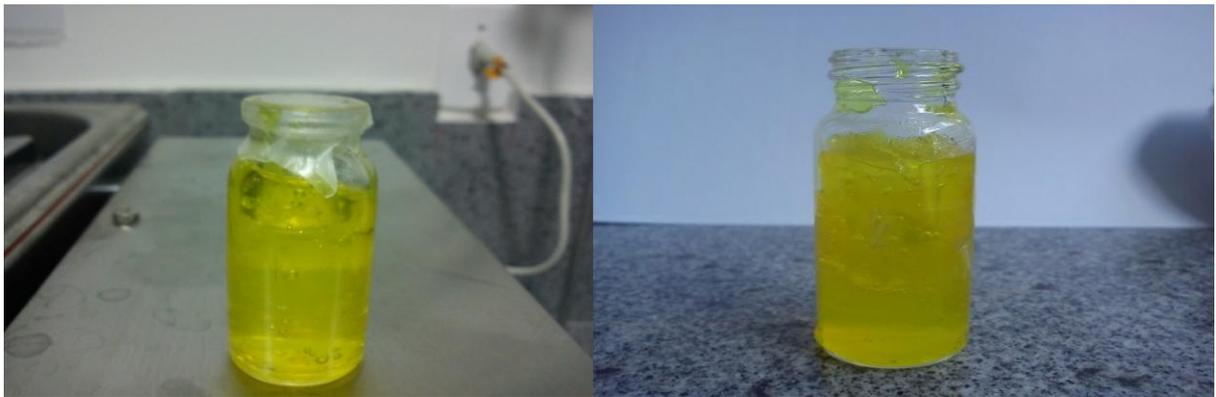
Tabela 2 – Classificação das formulações de acordo com a concentração do fármaco.

Formulação	Concentração do fármaco
F1	-
F1a	250 µg/mL
F1b	500 µg/mL
F1c	750 µg/mL
F1d	1 mg/mL
F2	-
F2a	250 µg/mL
F2b	500 µg/mL
F2c	750 µg/mL
F2d	1 mg/mL

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Em conformidade com Silva (2009), quando o mesmo incorporou o diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like, a incorporação do 6CN10 nos sistemas propostos não acarretou instabilidade termodinâmica aos sistemas visto que as características de limpidez e transparência (Figura 6) foram conservadas após a adição da molécula 6CN10.

Figura 6- Formulações 1 e 2 incorporadas com 1 mg/mL de 6CN10



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Caracterização físico-química das formulações incorporadas com o fármaco 6CN10

Na análise do pH dos sistemas desenvolvidos, avaliou-se sua adequabilidade das formulações para uso tópico local. A Tabela 3 apresenta os resultados da determinação do pH e da condutividade elétrica das formulações.

Tabela 3 - Médias das triplicatas de pH e condutividade elétrica das formulações

Formulação	Parâmetro físico-	
	pH	Condutividade (σ)
F 1	6,31 \pm 0,03	49,46 \pm 0,19
F1 a	6,38 \pm 0,05	44,54 \pm 0,13
F1 b	6,34 \pm 0,02	42,76 \pm 0,09
F1 c	6,44 \pm 0,12	43,13 \pm 0,07
F1 d	6,50 \pm 0,08	41,63 \pm 0,06
F 2	6,41 \pm 0,04	36,23 \pm 0,03
F2 a	6,63 \pm 0,13	38,90 \pm 0,05
F2 b	6,32 \pm 0,08	38,20 \pm 0,08
F2 c	6,54 \pm 0,06	41,75 \pm 0,14
F2 d	6,43 \pm 0,15	39,61 \pm 0,10

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

De forma geral, o pH ideal de uma formulação é padronizado de acordo com o pH de estabilidade dos componentes ativos utilizados e o de tolerância biológica, que para produtos cutâneos varia de 5,5 a 8,0 (AUTON, 2005). O pH final das formulações desenvolvidas nesta pesquisa, que apresentaram pH entre 6,31 e 6,63, encontra-se dentro da faixa de compatibilidade entre as formulações e a pele.

Medidas de condutividade apresentam-se como um importante meio na determinação de domínios contínuos aquosos ou oleosos em um sistema microemulsionado (LAWRENCE e REES, 2000). Nas formulações propostas os valores de condutividade elétrica obtidos (Tabela 3) eram esperados devido à proporção de água (47%) no sistema. Segundo Michniak-Kohn e Zhang (2011) pontos de formulações apresentando teor de água entre 33% e 60%, são compatíveis a sistemas microemulsionados bi-contínuos.

Assim como ocorrido nos estudos de Borges (2011) quando incorporou dapsona em microemulsões tópicas, a incorporação da molécula 6CN10 não provocou alterações nos parâmetros físico-químicos das formulações, indicando que não há mudança da microestrutura emulsionada.

Na determinação da espalhabilidade, os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, como mostra as figuras 7 e 8.

Figura 7- Espalhabilidade da formulação F1d

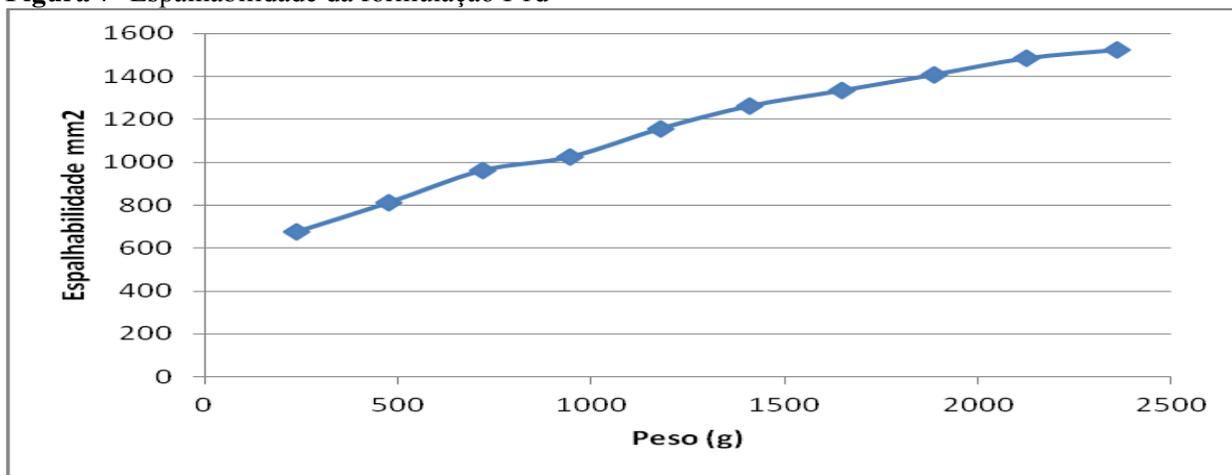
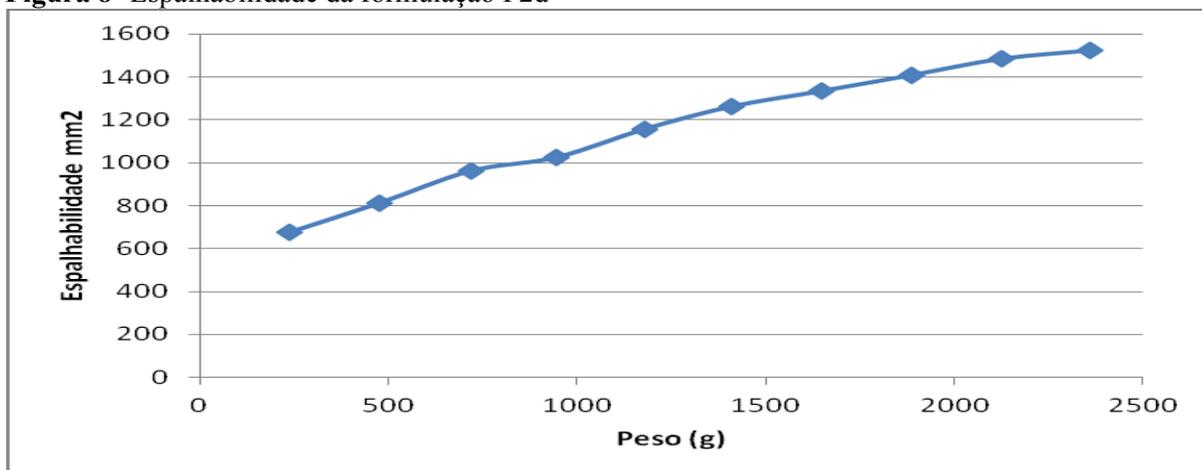


Figura 8- Espalhabilidade da formulação F2d



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

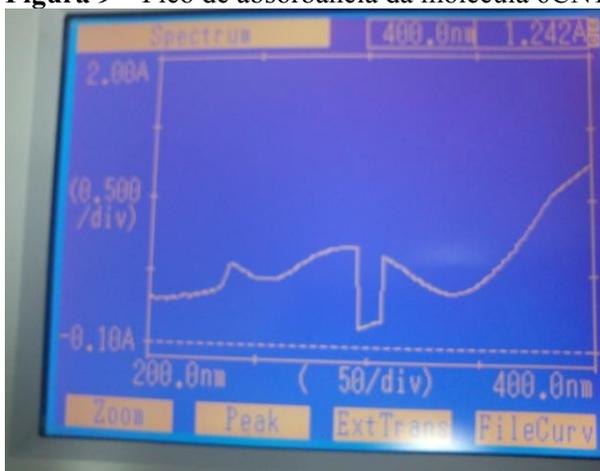
A espalhabilidade, definida como a expansão de uma formulação semi-sólida sobre uma superfície após um determinado período de tempo, é uma das características essenciais das formas farmacêuticas destinadas à aplicação tópica, pois está intimamente relacionada com a aplicação destas formulações no local de ação (KNORST, 2006). Não houve

discrepâncias significativas entre as formulações 1 e 2, bem como para as formulações com e sem o fármaco.

Validação do método espectrofotométrico para doseamento do 6CN10

A fim de se assegurar a confiabilidade dos resultados da metodologia analítica desenvolvida e demonstrar que o método é apropriado para a análise de teor dos sistemas microemulsionados, foram avaliados os seguintes parâmetros de validação: especificidade e seletividade, linearidade, precisão, limite de quantificação e de detecção. Através da varredura UV (400 a 200nm) da solução de 16 µg/mL, determinou-se o pico de absorbância (Figura 9) para o doseamento da molécula 6CN10 (307 nm).

Figura 9 – Pico de absorbância da molécula 6CN10

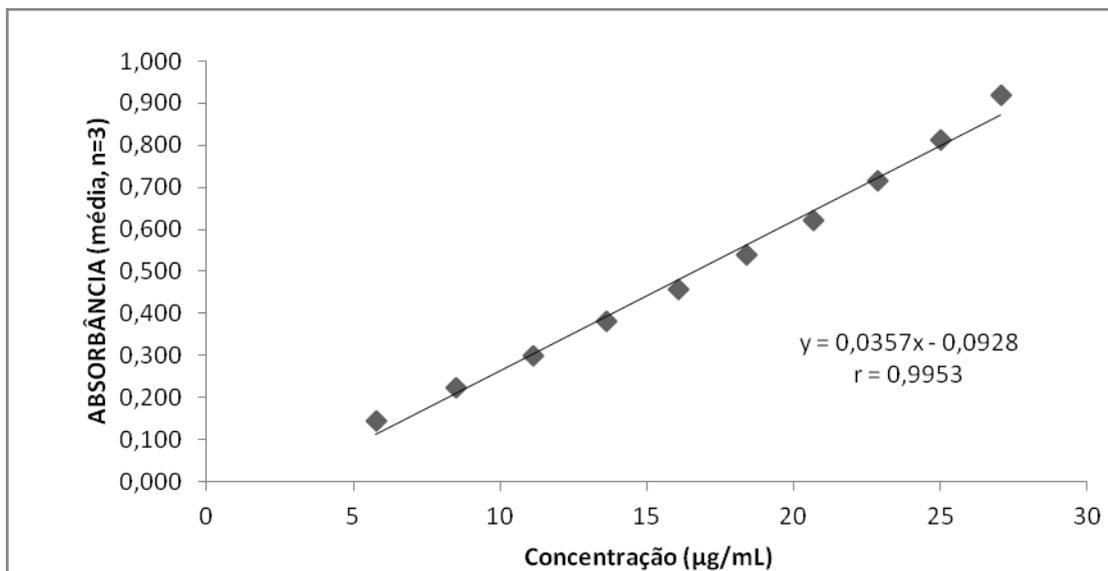


Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Linearidade

Linearidade é a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. (ANVISA, 2003). A curva obtida demonstrou que os resultados da metodologia analítica são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (Figura 8).

Figura 10 – Curva de calibração do 6CN10



Fonte:

dados da pesquisa, 2012.

A determinação da linearidade foi executada por meio da obtenção em triplicata da curva de calibração. Segundo a RDC 899/2003, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) da curva de calibração é de 0,99, sendo obtido um valor médio de 0,9953 no experimento, o que atesta a linearidade do método.

Exatidão

A exatidão de um procedimento analítico expressa o grau de concordância entre o valor que é aceito como um valor verdadeiro convencional ou um valor de referência aceito com o valor encontrado. (ICH, 2005). A partir dos valores de absorbância encontradas ($n=3$) nos níveis baixo (8 µg/mL), médio (16 µg/mL) e alto (25 µg/mL), pode-se observar a correlação entre resultados (Tabela 4), obtendo-se um coeficiente de variação menor que o aceitável pela legislação vigente (5%), assegurando a exatidão do método.

Tabela 4 - Resultado analítico e tratamento estatístico da exatidão.

Concentração (% em relação ao ponto médio)	Leitura (ABS)	Média	DP	CV(%)
		0,224	0,0045	2,01
		0,456	0,0040	0,88
		0,184	0,0017	0,17

50	0,2
50	0,2
50	0,2
100	0,4
100	0,4
100	0,4
150	0,8
150	0,8
150	0,8

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Precisão

A precisão de um procedimento analítico expressa o grau de dispersão entre uma série de medidas obtidas a partir de amostragem múltipla de uma mesma amostra homogênea nas condições previstas (ANVISA, 2003). Através da sextuplicata do ponto médio, determinou-se a precisão para o método, como segue a tabela 5.

Tabela 5 - Resultado analítico e tratamento estatístico da precisão.

Analista	Dia	Média	DP	CV (%)
1	1	0,5	0,0092	1,8
	2	0,5	0,0015	0,3

	1	0,5	0,0045	0,
	2	0,5	0,0028	0,

2

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que o método apresenta uma boa repetitividade, visto que o coeficiente de variação nas duas corridas se mostra inferior ao critério de aceitação, tornando o resultado adequado, já que a legislação (RDC 899/ 2003) não admite valores superiores a 5 % de variação.

A precisão e a exatidão juntas determinam o erro de uma medida analítica. O método desenvolvido foi considerado exato e preciso.

Robustez

Os testes de robustez são de fundamental importância para que os analistas possam conhecer quais os fatores devem ser estritamente controlados durante a execução de um método. Se as alterações das condições de análise produzirem resultados dentro dos limites aceitáveis de seletividade, exatidão e precisão, o método pode ser considerado robusto e tais variações podem ser incorporadas ao procedimento, afirmando assim que seu método pode reproduzir um resultado semelhante mesmo com algumas mudanças na execução (CASSIANO et al., 2009). Como se pode notar nas Tabelas 6 e 7, a mudança do fornecedor do solvente, ou do tipo de solvente, respectivamente, não acarretou alterações significativas no coeficiente de variação, atestando que o método proposto é robusto.

Tabela 6 - Resultado analítico e tratamento estatístico da robustez

Fornecedor de acetonitrila	Média	D	CV (%)
FMai	0,4	0,0040	0,885636
a	56		
JT	0,4	0,0026	0,584051
Baker	53		

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Tabela 7 - Resultado analítico e tratamento estatístico da robustez

Tipo de solvente	Média	D	CV (%)
Clorofórmio	0,5	0,0061	1,16088
Acetonitril	0,5	0,0075	1,393358

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Seletividade

A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção. Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado específico. Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo. (ANVISA, 2003).

As formulações F1 e F2 foram diluídas na acetonitrila e postas em varredura na faixa de 300 a 400 nm (Figura 9), sendo assim avaliada a interferência das formulações brancas no comprimento de onda utilizado para o doseamento, 307 nm. Observa-se a ausência de picos nesta faixa de comprimentos de onda. Posteriormente, a formulação F1b foi também diluída e

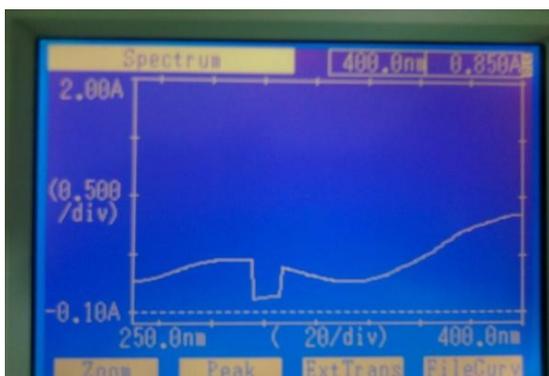
posta em varredura, e através do pico obtido por essa (Figura 11), pôde-se observar que o método apresenta especificidade para a molécula 6CN10, uma vez que nenhum componente da formulação ocasionou interferência no comprimento de onda máximo da molécula.

Figura 11 – Varredura da formulação F1 (branca)



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Figura 11 - Varredura da formulação F1b (500 µg/mL)



Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Doseamento

De acordo com a equação da reta, obtida na linearidade:

$$y = 0,0357x - 0,0928$$

Como y = ao valor da absorbância média para a concentração de 16 $\mu\text{g/mL}$, tem-se:

$$0,456 = 0,0357x - 0,0928$$

Então: $x = 15,37$ (96%) do valor teórico (16 $\mu\text{g/mL}$), obtendo-se um doseamento satisfatório.

Limite de detecção e limite de quantificação

As determinações de LQ e LD são essenciais para garantir a quantificação e a detecção do fármaco desde os pontos iniciais de amostragem. Os valores estimados de LD e LQ foram de 0,02 µg/mL e 0,06 µg/mL, respectivamente.

Deste modo, os resultados da validação demonstraram que a metodologia de quantificação por espectrofotometria UV desenvolvida é adequada visto que foi comprovada sua seletividade, linearidade, precisão e exatidão na análise quantitativa da molécula 6CN10 nas formulações.

Estabilidade preliminar das formulações

O teste de centrifugação é considerado como um teste de triagem e não deve necessariamente indicar a estabilidade física real das preparações cosméticas, porém é eficiente para selecionar as emulsões que devem se submetidas aos testes de estabilidade acelerada e de prateleira. (ANVISA, 2004). Realizou-se a centrifugação de todas as formulações, que permaneceram estáveis visualmente após cada um dos ciclos (89, 559, 1095, 2236 e 4382 g). Desta forma, as formulações foram submetidas ao estresse térmico e a estabilidade acelerada.

Para o teste de estresse térmico, aplicam-se condições de extrema temperatura em períodos pré- determinados de tempo e em conjunto com o teste de centrifugação, são importantes para prever a estabilidade físico-química de sistema emulsionados (MORAES, 2006). Como a Tabela 7 mostra, as formulações começaram a sofrer influência da temperatura entre 70 e 80° C.

Tabela 7 – Resultados do estresse térmico.

Formulação	T								
	40°	45°	50°	55°	60°	65°	70°	75°	80°
F1	S	S	S	S	S	S	S	LM	I
	A	A	A	A	A	A	A		M
F1a	S	S	S	S	S	S	S	LM	I
	A	A	A	A	A	A	A		M
F1b	S	S	S	S	S	S	S	LM	I
	A	A	A	A	A	A	A		M
F1c	S	S	S	S	S	S	S	LM	I
	A	A	A	A	A	A	A		M
F1d	S	S	S	S	S	S	S	LM	I
	A	A	A	A	A	A	A		M
F2	S	S	S	S	S	S	LM	M	I
	A	A	A	A	A	A			M
F2a	S	S	S	S	S	S	LM	M	I
	A	A	A	A	A	A			M
F2b	S	S	S	S	S	S	LM	M	I
	A	A	A	A	A	A			M
F2c	S	S	S	S	S	S	LM	M	I
	A	A	A	A	A	A			M
F2d	S	S	S	S	S	S	LM	M	I
	A	A	A	A	A	A			M

Legenda: SA: sem alteração, LM: levemente modificada, M: modificada, IM: intensamente modificada.

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

As formulações F2 sofreram alterações em sua viscosidade, visto que a partir de 70°C, tornaram-se parcialmente líquidas, intensificando-se nas temperaturas de 75 e 80° C, para essas duas últimas temperaturas também houve turvação no sistema, de forma leve à 75° C e moderada para 80° C.

Para as formulações F1, não ocorreu turvação do sistema em nenhuma temperatura aplicada, contudo também se tornaram líquidas, mas de forma mais branda que as das formulações F2. Essa alteração na viscosidade do sistema era de certa forma esperada, e pode ser explicada pela razão inversamente proporcional da viscosidade com a temperatura.

Na avaliação do estresse quente/frio, as formulações permaneceram estáveis durante os 6 ciclos de 48h (24h na geladeira/24h na estufa), não sofrendo danos como turvação ou separação de fases. Ao término do ciclo gelo/degelo, averiguo-se o pH e condutividade elétrica das formulações, não observando-se mudanças significativas nos nesses valores, atestando-se desta forma, a estabilidade físico- química das formulações.

Alteração da condutividade elétrica de sistemas dispersos pode ser indicativa de instabilidades. O aumento da condutividade pode estar relacionado com a coalescência; enquanto a diminuição, com a agregação (ANVISA, 2004).

As formulações, portanto, apresentaram um bom potencial nos estudos de estabilidade preliminares, permanecendo estáveis sob diversas perturbações aplicadas no sistema. Contudo, as formulações F1 (sem o álcool etílico) se apresentaram com melhor aspecto e mais estáveis que as formulações F2 (com álcool etílico).

5 CONCLUSÃO

Os diagramas pseudo- ternários produzidos foram bastante satisfatórios dando a possibilidade de analisar cuidadosamente os pontos mais adequados para a incorporação dos fármacos, resultando-se em formulações estáveis e compatíveis com formulações de uso tópico local. A metodologia analítica desenvolvida por espectroscopia foi validada, demonstrando ser linear, específica, precisa e exata para análise de teor de 6CN10 em sistemas microemulsionados sendo considerada adequada para os devidos fins.

Concluindo-se que, esses sistemas têm um grande potencial para estudos mais elaborados, a fim de futuramente, serem uma alternativa farmacêutica útil para terapêutica antifúngica.

ABSTRACT

The increased incidence and severity of fungal diseases, combined with a lack of existing drugs on the market makes it so that the need of more effective therapeutic alternatives arises. The synthesis of new antifungal drugs such as derivatives of thiopene and development of novel dosage forms, such as microemulsions, has been the subject of great interest in the pharmaceutical community. This study is aimed to develop and characterize semisolid formulations for embedding a derivative antifungal thiophenic (6CN10). The emulsion and microemulsion systems used were obtained from the production of pseudo-ternary phase diagrams, with the surfactant Cremophor® EL and co-surfactant ethanol using proportions of 10:0 to 9:1. A formulation was selected from each of 6CN10 diagrams for incorporation in different concentrations. The formulations with and without the drug were characterized by macroscopic appearance, pH, electrical conductivity and spreadability. For the analysis and assaying of the drug, a spectrophotometric method was developed and validated according to the parameters of Resolution 899/2003. In the preliminary evaluation of the stability, the formulations were subjected to heat stress and spin cycle freeze / thaw. The semi-solid formulations obtained showed pH values compatible with topical administration, with good spreadability and relevant primary stability for all formulations. However, the microemulsion system is made more clear and consistent also showing best results in preliminary stability studies. Therefore, it is concluded that the proposed formulations has great potential for future therapy.

KEYWORDS: Microemulsion, Nanotechnology, 6CN10

6 REFERÊNCIAS

ANVISA, Resolução RE n. 1, de 01 de agosto de 2005. **Guia para realização de estudos de estabilidade**. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 13 de novembro de 2012.

ARAÚJO, R. S. A. **Obtenção e avaliação da atividade antifúngica de derivados sintéticos do tiofeno**. 2010. 73f. Trabalho de conclusão de curso – Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, 2010.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. trad. ORTEGA, et al. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 504-536, 2005.

BARREIRO, E. J; FRAGA, C.A.M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Edirota Artmed, Porto Alegre, 2001.

BORGES, V. R. A. **Desenvolvimento de novas microemulsões de dapsona para o tratamento tópico da hanseníase**. 2011 137f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. Brasília: ANVISA, 2004. p.21-22.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução - RDC Nº 899 de 29/05/2003**. Dispõe sobre o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial [da] República República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

CASSIANO, N. M. et al. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CASTÓN-OSORIO, J.J.; RIVERO, A.; TORRE-CISNEROS J.. *Epidemiology of invasive fungal infection*. **International Journal of Antimicrobial Agents**. Córdoba, Vol. 32, n.2, 2008.

DAMASCENO, B. P. G. L. **Sistemas microemulsionados como carreador lipídico para fármacos insolúveis**. 2010. 61f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2010.

FANUN, M. Reprint of “Properties of microemulsions with mixed nonionic surfactants and citrus oil.” *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. Vol. 382, p.226–231, 2011.

FERNANDES, T. R. P. **Desenvolvimento farmacotécnico e validação metodológica analítica para comprimidos revestidos à base de diclofenaco de potássio**. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

FORMARIZ, T. P. **Incorporação da doxorrubicina em microemulsões estabilizadas por fosfatidilcolina de soja e estudo da atividade antiproliferativa “in vitro” através de cultura de células**. 2004. 199p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2004.

FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; JÚNIOR, A.A.S.; GREMIÃO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 03, p. 301 – 313, jul./set. 2005.

GRAMPUROHIT, N.; RAVIKUMAR, P.; MALLYA R. Microemulsions For Topical Use – A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, v.45, n.1, p.100 – 108, jan./mar., 2011.

ICH EXPERT WORKING GROUP. **Internacional Conference of harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use**. 2005.

ISLOOR, Arun M.; KALLURAYA, BALAKRISHNA.; PAI, K. SRIDHAR. Synthesis, characterization and biological activities of some new benzo[b]thiophene derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. V.45, p. 825-830, 2010.

JARDIM, I.C.S.F. *et al* Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Química Nova*, V. 27, n. 5, p.771-780, 2004.

KAYSER, O.; OLBRICH, C.; YARKEY, V.; KIDERLEN, A.F.; CROFT, S.L Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 254, p.73-75, 2003.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de Achyrocline satureioides**. *Lam. DC. Compositae*. Porto Alegre, 1991. 228p. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul].

KNORST, M. T.; BORGHETTI, G. S. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** v.42, n.4 p. 531- 537, 2006.

LAWRENCE, M.J.; REES, G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.45, n.1, p.89-121, 2000.

MICHNIAK-KOHN; ZHANG. Investigation of microemulsion microstructures and their relationship to transdermal permeation of model drugs: Ketoprofen, lidocaine, and caffeine. **International Journal of Pharmaceutics** v. 421, p 34-44, 2011.

MO, C.; ZHONG, M.; ZHONG, Q. Investigation of structure and structural transition in microemulsion systems of sodium dodecylsulfonate + n-heptane + n-butanol + water by cyclic voltammetric and electrical conductivity measurements. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.493, n.1-2, p.100-107, 2000.

MORAES, J.M *et al.* *Physicochemical characterization of Canola oil/ Water Nano emulsions obtained by determination of required HLB number and emulsion phase inversion methods*. **Journal of Dispersion Science and Technology**. Vol. 27, p. 109-115, 2006.

OLIVEIRA, A.O; SCARPA, M.V; CORREA, M.A; CERA, L.F.R; FORMARIZ, T.P. Microemulsões: Estrutura e Aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v.27, n.1, p.131-138, 2004.

PINTO, P. M. *et al.* Genetic variability analysis among clinical *Candida* spp. Isolates using random amplified polymorphic DNA. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 2, p. 147-152, 2008.

PURANAJOTI P.R.; PATIL, T.; SHETH, P.D.; BOMMAREDDY, G.P.; EGBARIA, D.K. **Design and development of topical microemulsion for poorly watersoluble antifungal agents**. The Journal of Applied Research, v. 2, n. 1, p. 27-28, 2002.

ROSSI ,C. G. F. T. ; DANTAS,T. N. de C.; NETO, A. A.D.; MACIEL, M. A. M. *Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial*. **Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra**, Seropédica, RJ: EDUR , v. 26, n. 1-2, p. 45-66, 2007.

SANTANA, D.P. *et al.* *Validação de Metodologia Analítica para doseamento de soluções de Lapachol por CLAE*. **Química Nova**, V. 27, n. 1, p. 157-159, 2004.

SILVA, J. A., et al. *Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like*. **Química Nova**. Vol.32, n.6, p.1389-1393. 2009.

SILVA, J.A.; APOLINÁRIO, A.C.; SOUZA, M.S.R.; DAMASCENO, B.P.G.L.; MEDEIROS, A.C.D. **Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas**. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 31, n. 3, p.125-134, 2010.

SIROTTI, C. *et al. Modeling of drug release from microemulsions: a peculiar case*. **Journal**

Membrane Science, Amsterdam, v. 204, p. 401-412, 2002.

TENJARLA, S. Microemulsions: An overview and pharmaceutical applications. **Critical Reviews in Therapeutic Drug carrier Systems**, v.16, n.5, p. 461-521. 1999.

VERMA, D.D.; VERMA, S.; BLUME, G.; FAHR, A. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 258, n.1-2, p.141-151, 2003.