



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

LARISSA PEREIRA ALVES

**ESTUDO CINÉTICO DE LIBERAÇÃO DO ACETATO DE DEXAMETASONA EM
DIFERENTES FORMULAÇÕES COMERCIAIS**

CAMPINA GRANDE-PB

2017

LARISSA PEREIRA ALVES

**ESTUDO CINÉTICO DE LIBERAÇÃO DO ACETATO DE DEXAMETASONA
EM DIFERENTES FORMULAÇÕES COMERCIAIS**

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

Área de concentração: Desenvolvimento e controle de qualidade de medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

Coorientador: Prof. Me. Geovani Pereira Guimarães

CAMPINA GRANDE-PB

2017

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A474e Alves, Larissa Pereira.
Estudo cinético de liberação do acetato de dexametasona em diferentes formulações comerciais [manuscrito] : / Larissa Pereira Alves. - 2017.
59 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."

"Coorientação: Prof. Me. Geovani Pereira Guimarães, Departamento de Farmácia - CCBS.""

1. Acetato de dexametasona. 2. Equivalência farmacêutica. 3. Medicamentos - Controle de qualidade.

21. ed. CDD 615.1

LARISSA PEREIRA ALVES

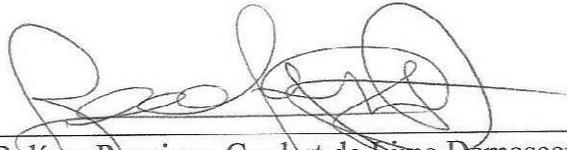
ESTUDO CINÉTICO DE LIBERAÇÃO DO ACETATO DE DEXAMETASONA EM
DIFERENTES FORMULAÇÕES COMERCIAIS

Trabalho de conclusão de curso submetido à
Universidade Estadual da Paraíba, como pré-
requisito para obtenção do grau de Bacharel
em Farmácia.

Área de concentração: Desenvolvimento e
controle de qualidade de medicamentos.

Aprovada em: 22/11/2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr. Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr. Ana Cláudia Dantas de Medeiros
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado o dom da vida e da sabedoria e poder chegar até o final do meu curso e poder enxergar que escolhi o curso certo. Por ter me dado força quando as dificuldades surgiam e alegria ao meu levantar. Enfim, não tenho palavras o suficiente de agradecimentos a Ele, mas principalmente agradeço por estar comigo mesmo quando ninguém mais estava.

Aos meus pais, Arnaldo Alves da Silva e Marizélia Maria José Pereira Alves, por todo o apoio, pelos conselhos, por ser meu refúgio, pelo amor, esforço e amparo durante toda a minha vida. Por fim, obrigada por tudo o que vocês sempre fizeram, serão sempre meus maiores exemplos e incentivadores.

À minha irmã Lysianne Pereira Alves, por estar sempre ao meu lado e ser minha enciclopédia nos momentos de necessidades. Será sempre meu espelho e exemplo.

Ao meu namorado Matheus Cavalcante Rique, por todo apoio, por seus ensinamentos, compreensão e por me alegrar quando ninguém mais conseguia arrancar um sorriso do meu rosto.

As minhas amigas de curso, em especial Alana Moura, Joandra Máisa, Juliana Svendsen e Renaly Ivyna, por todo companheirismo, paciência, inúmeras risadas e saídas inesperadas, formalizando dias melhores na graduação e na vida.

A todos pertencentes do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM), por toda receptividade e ensinamentos. Em especial a Vandiará Moreira por todas as risadas, por todo companheirismo na hora da novela e das madrugadas quando assim colhíamos meus resultados. À Joandra, Livia, Lucas e Emmilly por estarem sempre dispostos a ajudar. A Yargo, Malu e Airla por terem me proporcionado conhecimentos e práticas em bancada.

Ao meu orientador Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno e ao coorientador Geovani Pereira Guimarães, pelo incentivo ao longo desses anos de pesquisa;

A instituição, UEPB e a todos os meus professores por terem me acolhido e possibilitado a minha formação que me instigaram durante toda a caminhada acadêmica.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar, mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

ESTUDO CINÉTICO DE LIBERAÇÃO DO ACETATO DE DEXAMETASONA EM DIFERENTES FORMULAÇÕES COMERCIAIS

¹ Larissa Pereira Alves; ² Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno; ³ Geovani Pereira Guimarães

^{1,2,3} Universidade Estadual da Paraíba- UEPB

¹ larissaapereira@hotmail.com

Dentre os medicamentos registrados como sintéticos e semissintéticos destacam-se os medicamentos de referência, os genéricos e os similares. De acordo com a RDC 37/2011 as formulações de uso tópico não solicitam para medicamentos genéricos e similares o estudo de bioequivalência. Por isso deve-se a importância da equivalência farmacêutica, assumindo que os medicamentos registrados irão apresentar a mesma eficácia e segurança ao serem administrados, capazes assim de evidenciar a intercambialidade ou não dos mesmos. Sendo assim, alguns testes preconizados podem avaliar a qualidade das formulações sob aspectos biofarmacotécnicos como as propriedades físico-químicas e a determinação da velocidade de liberação de fármaco das formulações, através de testes *in vitro*. Um dos cremes dermatológicos destinados à aplicação na superfície na pele é o acetato de dexametasona, um glicocorticoide, potente imunossupressor e anti-inflamatório mais utilizado na clínica. Nesse sentido, o presente trabalho objetivou analisar formas farmacêuticas tópicas do acetato de dexametasona disponíveis no mercado, por meio de estudos de equivalência farmacêutica e estudo de liberação *in vitro* por células do tipo Franz. As formulações de creme de acetato de dexametasona 1mg/g foram avaliadas quanto aos parâmetros de ensaios organolépticos, pH, espalhabilidade, teste de centrifugação e estudo de liberação *in vitro*. Apresentando-se com características físico-químicas dentro das especificações exigidas e o estudo de liberação *in vitro* seguindo o modelo cinético de Higuchi. O creme genérico ofereceu um *lag time* de liberação e espalhabilidade maior entre as formulações. E a porcentagem de liberação e velocidade foi maior para o creme dermatológico de referência. Portanto, pôde-se concluir que apesar dos testes preconizados diante do estudo e das pequenas diferenças entre as formulações, os cremes dermatológicos de acetato de dexametasona genérico e similar são considerados equivalentes ao de referência.

Palavras-Chaves: Acetato de dexametasona. Equivalência farmacêutica. Liberação.

ABSTRACT

KINETIC STUDY OF DEXAMETHASONE ACETYL RELEASE IN DIFFERENTE COMMERCIAL FORMULATIONS

¹ Larissa Pereira Alves; ² Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno; ³ Geovani Pereira Guimarães

^{1,2,3} Universidade Estadual da Paraíba- UEPB

¹ larissaapereira@hotmail.com

Among the drugs registered as synthetic and semi-synthetic, reference, generic and similar drugs stand out. According to RDC 37/2011 topical formulations do not require the bioequivalence study for generic and similar drugs. Therefore, the importance of pharmaceutical equivalence must be taken into account, assuming that the registered drugs will have the same efficacy and safety when administered, thus showing the interchangeability of drugs. Therefore, some recommended tests can evaluate the quality of the formulations under biopharmacological aspects such as the physicochemical properties and determination of the drug release rate of the formulations through in vitro tests. One of the dermatological creams intended for surface application to the skin is dexamethasone acetate, a glucocorticoid, potent immunosuppressive and anti-inflammatory used in the clinic. In this sense, the present work aimed to analyze the topical dosage forms of dexamethasone acetate by means of pharmaceutical equivalence studies and in vitro release study by Franz type cells. Dexamethasone acetate cream formulations 1mg / g were evaluated for organoleptic assay parameters, pH, spreadability, centrifugation test and in vitro release study. It presents with physical-chemical characteristics within the required specifications and the in vitro release study following the kinetic model of Higuchi. The generic cream offered a lag time of release and greater spreadability among the formulations. And the rate of release and velocity was higher for the reference. Therefore, it was concluded that despite the tests advocated before the study and the small differences between the formulations, dermatological creams of generic dexamethasone acetate and similar are considered equivalent to the reference

Keywords: Dexamethasone acetate. Pharmaceutical equivalence. Release.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Esquema simplificado de uma seção transversal de pele..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2** Cascata da síntese de prostaglandinas e leucotrienos **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 3.** Representação esquemática da estrutura química geral dos glicocorticoides.... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5** Representação esquemática da célula de Franz **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6.**Sistematização da células de Franz em sextuplicata .. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7.** Espalhabilidade das formulações em estudo **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8.** Varredura espectrométrica da solução de dexametasona (0,019 mg/mL). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9.** Curva analítica das soluções de dexametasona em tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) nas concentrações de 0,078 a 0,0279 mg/mL.. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 10.** Perfil de liberação do acetato de dexametasona nos cremes dermatológicos em análise. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 11.** Perfil dos modelos cinéticos testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico similar 47
- Figura 12.** Perfil de modelos cinéticos de liberação testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico de genérico..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 13.** Perfil de modelos cinéticos de liberação testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico de referência..... 48

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Características organolépticas das formulações em análise de acordo com a classificação vigente.38
- Quadro 2.** Composição qualitativa dos cremes dermatológicos utilizados no estudo.51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de pH das formulações em análise.	37
Tabela 2. Precisão intracorrída e repetibilidade do método.	41
Tabela 3. Determinação do parâmetro da exatidão (n=3).....	41
Tabela 4. Determinação do parâmetro da robustez (n=3).....	42
Tabela 5. Quantidades liberadas da dexametasona ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e percentual de liberação em função do tempo (h).....	44
Tabela 6. Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico de acetato de dexametasona similar	48
Tabela 7. Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico do acetato de dexametasona genérico	48
Tabela 8. Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico do acetato de dexametasona de referência.....	48
Tabela 9. Parâmetros cinéticos da liberação após 24h dos cremes dermatológicos do acetato de dexametasona.....	49
Tabela 10. Comparações das formulações de creme de acetato de dexametasona com o de referência.	51
Tabela 11. Porcentagem do creme utilizado e de liberação através do experimento de liberação in vitro.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP-1	Proteína ativadora 1
COX	Cicloxigenases
CV%	Coefficiente de variação
DAG	Diacilglicerol
DEX	Dexametasona
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FNT- α	Fator de necrose tumoral
GMPC	Monofosfato ciclíco de guanósina
GTP	Trifosfato de guanósina
HPETEs	Hidroperoxieicosatetraenóicos
I κ B	Proteína inibitória kappa B
IL-1	Interleucina-1
IP3	Trifosfato de inositol
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
Log p	Coefficiente de partição
LTs	Leucotrienos
LXs	Lipoxinas
NF- κ B	Fator nuclear κ B
PGH ₂	Prostaglandina H ₂
PGs	Prostaglandinas
pH	Potencial hidrogênionico
Pip2	fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
pKa	Constante de ionização
r	Coefficiente de correlação
r ²	Coefficiente de determinação
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SCB	Classificação biofarmacêutica
TXs	Tramboxanos
UV-VIS	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GERAL	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 PELE.....	16
3.2 CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS	17
3.3 DEXAMETASONA	18
3.3.1 Aspectos fisiológicos	18
3.3.2 Aspectos físico-químicos	21
3.3.3 Aspectos farmacológicos	23
3.4 VALIDAÇÃO	25
3.4.1 Precisão	25
3.4.2 Exatidão	25
3.4.3 Robustez	26
3.4.4 Limite de detecção	26
3.4.5.Limite de quantificação	26
3.5 TESTE DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	26
3.5.1 Análise cinética	28
3.5.1.1. Modelo de primeira ordem.....	28
3.5.1.2. Modelo de Higuchi	29
3.5.1.3. Modelo de Korsmeyer-Peppas.....	29
3.5.1.4. Modelo de ordem zero.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 REAGENTES, MATÉRIA-PRIMA	30
4.2 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS	30

4.3 FORMULAÇÕES CREME AVALIADAS.....	31
4.4 MÉTODOS	31
4.4.1 Caracterização físico-química das formulações.....	31
4.4.1.1 Parâmetros de ensaios organolépticos	31
4.4.1.1.1 <i>Aspecto</i>	31
4.4.1.1.2 <i>Cor</i>	31
4.4.1.1.3 <i>Odor</i>	31
4.4.1.2 pH.....	32
4.4.1.3 Espalhabilidade	32
4.4.1.4 Teste de centrifugação.....	32
4.4.2 Validação da dexametasona	32
4.4.2.1 Determinação dos parâmetros analíticos	33
4.4.2.1.1 <i>Identificação e quantificação da dexametasona</i>	33
4.4.2.1.2 <i>Curva de calibração da dexametasona</i>	33
4.4.2.1.3 <i>Precisão</i>	33
4.4.2.1.4 <i>Exatidão</i>	33
4.4.2.1.5 <i>Robustez</i>	34
4.4.3 Estudo de liberação <i>in vitro</i>.....	34
4.4.3.1 Ensaio de liberação	34
4.4.3.2 Análise cinética	35
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FORMULAÇÕES.....	36
5.1.1 Características organolépticas	36
5.1.2 pH	36
5.1.3 Centrifugação.....	37
5.1.4. Espalhabilidade	37
5.2 ESTUDO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>	38

5.2.1 Desenvolvimento e validação do método de quantificação da dexametasona	38
5.2.1.1 Determinação do comprimento de onda	38
5.2.1.2 Linearidade	39
5.2.1.3 Limites de quantificação e de detecção	40
5.2.1.4 Precisão	40
5.2.1.5 Exatidão	41
5.2.1.6 Robustez.....	41
5.2.2 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	42
6. CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

Dentre os medicamentos registrados como sintéticos e semissintéticos no Brasil destacam-se os medicamentos de referência, genéricos e similares. Os medicamentos de referência são aqueles inovadores registrados e comprovados juntamente com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sua eficácia, segurança e qualidade (BRASIL, 1999).

Já os genéricos são produzidos a partir da expiração patentária de referência e são bioequivalentes a ele, onde passam a serem medicamentos mais baratos visto que o estudo de segurança e eficácia já foi realizado no de referência (BRASIL, 1999). Os medicamentos similares contém o mesmo princípio ou mesmos ativos do que o de referência, diferindo-se na forma do produto, prazo de validade, embalagem, excipientes e veículos (BRASIL, 2001).

Os medicamentos genéricos para fins de registro sempre tiveram a obrigatoriedade de apresentarem, além dos testes de equivalência farmacêutica, os ensaios de bioequivalência. Os medicamentos similares, por sua vez, só tiveram esta exigência a partir do ano de 2003, sendo sancionada pela Lei Federal 13.235/2015, que obriga a verificação da equivalência farmacêutica, bioequivalência/biodisponibilidade e perfil de dissolução (BRASIL, 2015).

Dessa forma, a intercambialidade entre os medicamentos genéricos e de referência podem ser previstos pela Lei 9.787/1999 e a RDC 16/2007. Em 2014, por meio da RDC nº58/2014, os medicamentos similares passaram a ser intercambiáveis com os de referência, desde que estejam disponíveis no sítio eletrônico da ANVISA. Os medicamentos bioequivalentes possuem uma intercambialidade garantida, mas na hora de efetuar a compra os consumidores geralmente optam por aqueles medicamentos de preço mais baixo ou sofrem influências de balconistas, procedendo assim uma livre substituição de medicamentos que contenham o mesmo fármaco (RUMEL; NISHIOKA; SANTOS, 2008).

A fim de garantir que todos os requisitos que envolvam o controle de qualidade de medicamentos sejam avaliados, as indústrias farmacêuticas devem cumprir as decisões impostas pela ANVISA, definidas pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº17, de 16 de abril de 2010 que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BRASIL, 2010).

A via tópica é considerada uma alternativa válida, pois a administração de produtos é rápida e fácil, possibilita a interrupção imediata do tratamento, evitando riscos e

inconveniências de que outras formas farmacêuticas podem apresentar. Estas características fazem com que o tratamento pela via tópica apresente uma boa adesão dos pacientes (MARTINS, 2002).

No conjunto de fármacos destinados ao uso dermatológico, os corticosteroides representam uma classe significativa que tem sido empregado em diversas patologias cutâneas e utilizado no tratamento de patologias inflamatórias, proliferativas ou de causa imunológica na pele e estão entre os mais disponíveis na prática clínica (DRAKE, 1996). Um dos cremes dermatológicos destinados à aplicação na superfície na pele é o acetato de dexametasona, um glicocorticoide, potente imunossupressor e antiinflamatório, que age contra causas mecânicas, químicas, imunológicas e microbiológicas (KOROLKOVAS, 2001).

Por isso, deve-se a importância da equivalência terapêutica, assumindo que os medicamentos registrados irão apresentar a mesma eficácia e segurança ao serem administrados, capazes assim de evidenciar a intercambialidade ou não dos próprios. Sendo assim, alguns testes preconizados podem garantir a qualidade das formulações sob aspectos biofarmacotécnicos como as propriedades físico-químicas e a determinação da velocidade de liberação de fármaco das formulações através de testes *in vitro* (SANTIS, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Realizar uma análise de equivalência farmacêutica entre as formulações de creme dermatológico de dexametasona a partir da cinética de liberação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

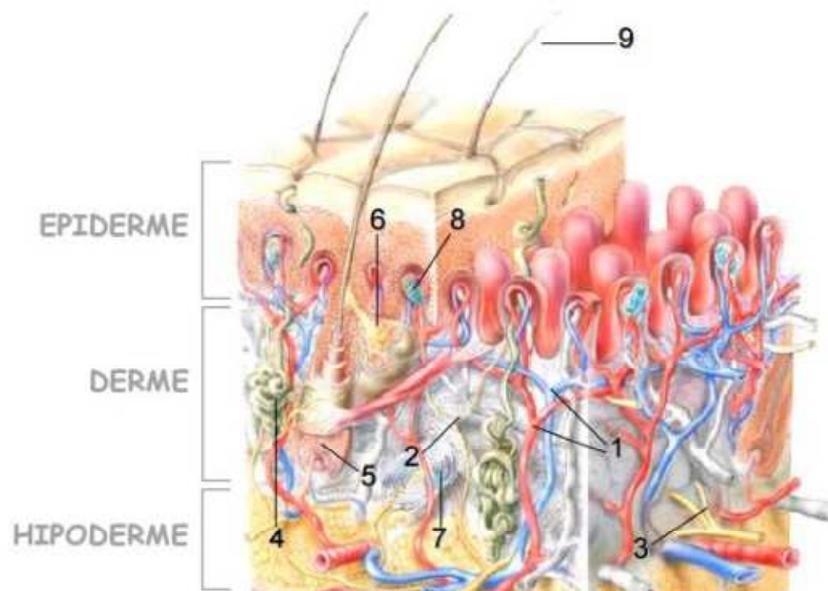
- Desenvolver e validar um método analítico espectrofotométrico para quantificação da dexametasona.
- Realizar ensaios de liberação em aparelho de células de Franz
- Analisar a taxa de liberação de formas farmacêuticas tópicas contendo dexametasona (genérico, similar, referência).
- Identificar a cinética de liberação de dexametasona (referência, genérico e similar).
- Avaliar as propriedades físico-químicas das formulações semissólidas.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PELE

A pele é o maior e mais complexo órgão do corpo humano e possui função essencial de proteção frente a agentes físicos, químicos e biológicos (BABY, 2008). A pele é dividida histologicamente em: epiderme, derme e hipoderme, sendo representada na Figura 1.

Figura 1. Esquema simplificado de uma seção transversal de pele



Legenda: 1- Vasos sanguíneos, 2-Terminações nervosas, 3- Vasos linfáticos, 4- Glândula sudorípara, 5-Raiz do pelo, 6- Glândula sebácea, 7-Corpúsculo de Vater-Pacini, 8- Corpúsculo de Ruffini, 9- Pelo

Fonte: FREINKEL, 2001

A epiderme é formada pelo estrato córneo, camada mais externa, constituindo um tecido queratinizado, composto por água, lipídeos e proteínas. Essa camada é recoberta por um filme, que oferece uma pequena resistência à penetração de fármacos devido à mistura de suor, sebo e células epidérmicas em sua composição (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2007).

Abaixo da epiderme está localizada a derme que, ao contrário da epiderme, é bastante vascularizada e constituída por um tecido conjuntivo denso que é responsável pelas propriedades elásticas da pele. Os considerados como apêndices da pele como as glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos são aqueles que originam da derme, atravessando-a e chegam à epiderme, emergindo-se da camada adiposa subcutânea (BARRY, 2005).

Já a hipoderme é um tecido subcutâneo formado por um tecido conjuntivo frouxo e caracterizada por células adiposas unidas por fibras de colágeno, funcionando como

amortecedor mecânico, barreira térmica e estoque de energia. Os adipócitos por sua vez são os responsáveis pela variedade de produção de mediadores da inflamação que influenciam nas demais células cutâneas como as prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, lipoxinas, dentre outros (BARRY, 2005; IYER et al., 2010).

O potencial hidrogeniônico (pH) da pele sadia geralmente oscila entre 5,5 a 8, mas pode variar dependendo da condição da pele (SILVA, 2009).

Ao administrar produtos farmacêuticos sob a pele estes podem diferenciar de acordo com o objetivo específico e a penetração do fármaco pelo estrato córneo é uma etapa limitante do processo. O sistema transdérmico promove a passagem do fármaco através da pele em quantidades terapêuticas para exercer efeitos sistêmicos, diferentemente das formulações tópicas que objetivam um tratamento local na pele. A eficácia de ambos os sistemas dependerá da liberação e penetração cutânea do fármaco (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Alguns fatores como as propriedades físico-químicas do fármaco (solubilidade aquosa, coeficiente de partição, tamanho e forma), tipo de associação entre o fármaco e a formulação, concentração do fármaco no veículo, excipientes da formulação e modulação por meio de promotores de permeação são cruciais para a velocidade e movimentação do fármaco através do estrato córneo. Sendo assim, os componentes das formulações tópicas dermatológicas são fatores decisivos para a eficácia clínica destes fármacos e de grande importância na bioequivalência entre formulações distintas (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2007; PARFITT, 2013).

3.2 CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS

O mercado farmacêutico mundial vem crescendo de forma constante nos últimos anos, o que acarreta uma maior preocupação nas indústrias farmacêuticas em satisfazerem os consumidores com medicamentos de qualidade. Durante a fabricação dos mesmos, o fabricante é o responsável pela qualidade dos medicamentos por ele obtidos, assegurando que sejam adequados aos fins a que se destinam, cumpram com os requisitos estabelecidos em seu registro e não coloquem os pacientes em risco por apresentarem segurança, qualidade ou eficácia inadequada (BRASIL, 2010).

De acordo com a RDC nº17da ANVISA, de 16 de abril de 2010, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, as indústrias farmacêuticas devem cumprir os requisitos por ela descritos, garantindo que o controle de qualidade de medicamentos seja exercido.

O controle de qualidade de medicamentos é o responsável pelas atividades referentes à amostragem, às especificações e aos ensaios, bem como à organização, à documentação e aos procedimentos de liberação que garantam que os ensaios sejam executados e que os materiais e os produtos terminados não sejam aprovados até que a sua qualidade tenha sido julgada satisfatória (BRASIL, 2010).

A partir do estudo de estabilidade das formulações farmacêuticas como estabilidade organoléptica, físico-química e microbiológica é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além de sua aceitação pelo consumidor, contribuindo para o aperfeiçoamento das formulações e estimativas do prazo de validade (ANVISA, 2004).

A comprovação da eficácia e segurança desses produtos é dada por meio dos estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência (BRASIL, 2007). A equivalência farmacêutica pode ser definida em que dois medicamentos, possuem o mesmo fármaco, na mesma dosagem e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos (FREITAS, 2005). Seus estudos compreendem um conjunto de ensaios físico-químicos e, quando aplicáveis, microbiológicos e biológicos (BRASIL, 2014).

Já a bioequivalência é dada se a velocidade e extensão da absorção são semelhantes entre as formulações, após administração na mesma dosagem. Para analisar a bioequivalência de formulações tópicas contendo glicocorticoide, diferentes métodos *in vitro* e *in vivo* vem sendo empregados (WIEDERSBERG, 2008).

De acordo com a RDC 37/2011 as formulações de uso tópico não solicitam para medicamentos genéricos e similares o estudo de bioequivalência, sendo assim o teste de equivalência farmacêutica é o teste exigido entre as formulações tópicas desde que apresentem a mesma concentração e excipientes da mesma função em relação ao medicamento de referência (BRASIL, 2011).

3.3 DEXAMETASONA

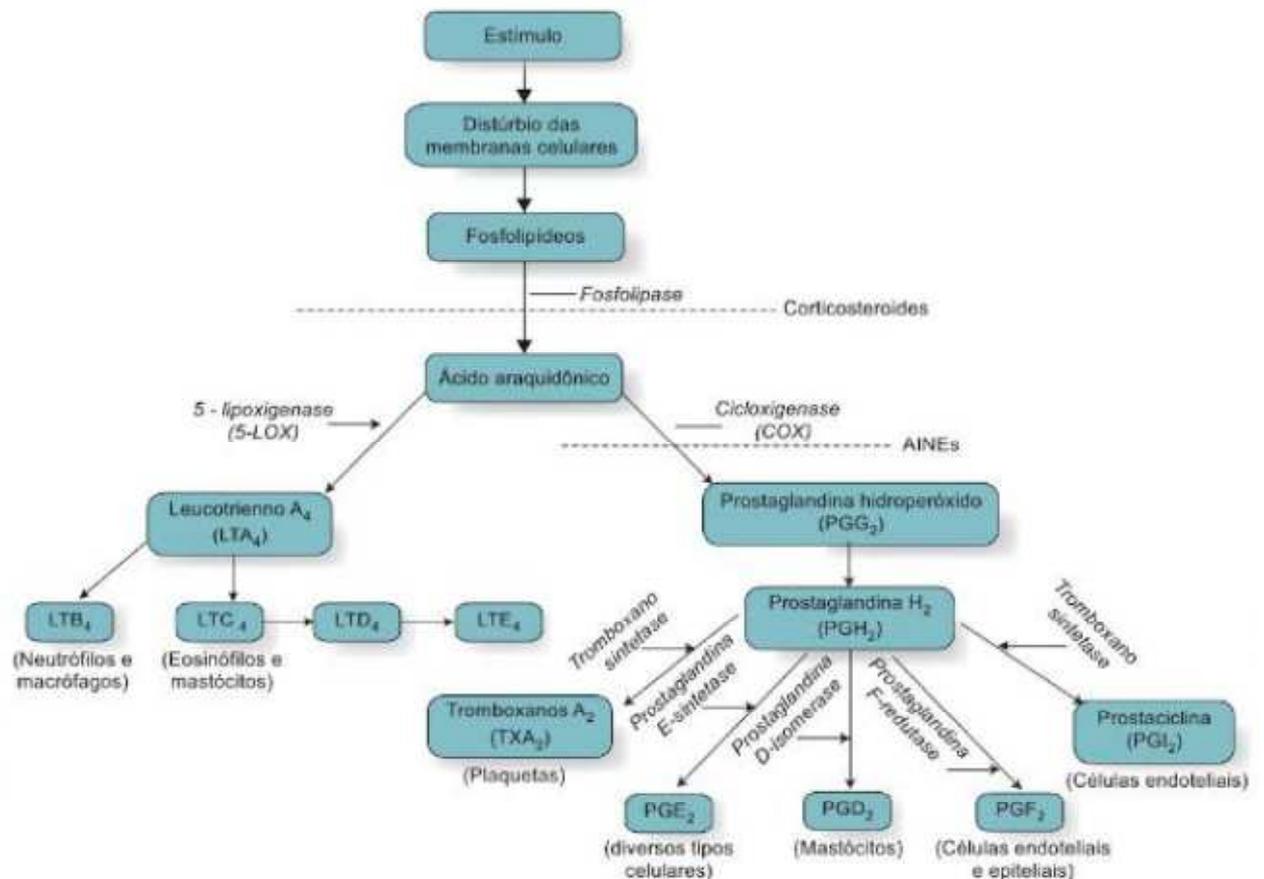
3.3.1 Aspectos fisiológicos

Após um dano tecidual causado por micróbios, agentes físicos (radiação, trauma, queimaduras), químicos (toxinas, substâncias cáusticas), necrose tecidual e/ou reações imunológicas, a primeira defesa do organismo é a resposta inflamatória. E estes processos são regulados por fatores pró e pré-inflamatórios, cujo objetivo é promover a cura e o reparo tecidual (LIMA, 2007).

No processo inflamatório alguns mediadores químicos são importantes para o desencadeamento da resposta inflamatória e podem variar de acordo com o processo específico, estas alterações apresentam manifestações clínicas clássicas como o rubor, dor, edema e calor. Na inflamação aguda tem-se a liberação do mediador pré-formado histamina, que promove uma vasodilatação, aumento da permeabilidade capilar e que estão localizadas principalmente na maior parte dos tecidos nos mastócitos e no sangue nos basófilos. Essa vasodilatação é provocada pela ligação da histamina a receptores H1 presentes nas células endoteliais e que são acoplados à proteína Gq, que ativa a fosfolipase C quebrando o fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (Pip2) em diacilglicerol (DAG) e trifosfato de inositol (IP3). O IP3 por sua vez retira o cálcio dos estoques, promove sua saída e ativa a enzima sintase de óxido nítrico, esta enzima se liga L-arginina transformando em óxido nítrico, que se difunde e entra no músculo liso vascular se ligando a guanilato ciclase e transformando trifosfato de guanossina (GTP) em monofosfato cíclico de guanossina (GMPc), que bloqueia a saída de cálcio dos estoques no músculo liso, evitando a contração (GILMAN, 2007; ARTES, 2012).

Alguns mediadores químicos como as prostaglandinas (PGs), leucotrienos (LTs), tromboxanos (TXs), lipoxinas (LXs) e hidroperoxieicosatetraenóicos (HPETEs) têm importante papel na fisiopatologia da inflamação e que tem origem a partir do ácido araquidônico. Este por sua vez é proveniente dos fosfolipídios de membrana a partir da ação da fosfolipase A₂ ou da própria dieta (COELHO, 2004; ARTES, 2012). A sua cascata de síntese encontra-se representada na Figura 2.

Figura 2 Cascata da síntese de prostaglandinas e leucotrienos



Fonte: FANTONI, 2012

O ácido araquidônico possui duas vias principais do metabolismo, podendo sofrer ação das lipoxigenases ou ciclooxigenases. A partir da 12-lipoxigenase ocorre a formação de 5-HPEYE, 12-HPETE e 15-HPETE, a 15-lipoxigenase produz as LXs e a 5-lipoxigenase produz diversos tipos de LTs, onde estes são responsáveis por produzirem uma contração lenta e prolongada da musculatura lisa e aumentam a permeabilidade capilar (ARTES, 2012).

O ácido araquidônico pode sofrer uma ação catalítica de enzimas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) transformando-o em prostaglandina G₂ (PGG₂), que não possui nenhuma atividade, mas sofre ação da peroxidase e produz a prostaglandina H₂ (PGH₂), sendo outro intermediário e que dependendo do mecanismo e da enzima presente no local, gerará diversas prostaglandinas. Portanto, se a PGH₂ for formada nas plaquetas, terá presente a enzima tromboxano sintetase que será responsável por transformar a PGH₂ em tromboxano, responsável pela agregação plaquetária. Mas a PGH₂ também poderá sofrer ação prostaglandinas sintases que formará PGD₂, PGE₂ e PGF_{2α} ou de prostaciclina sintetase que formará a prostaciclina (PGI₂) (GILMAN, 1991; COELHO, 2004 ARTES, 2012;).

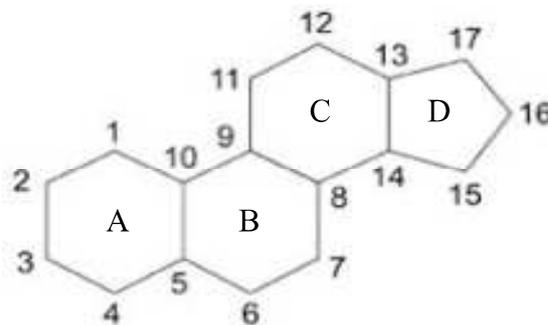
Essas prostaglandinas têm diversas funções no organismo, sendo responsável pelo processo de vasodilatação através da PGI_2 , ventilação, hiperalgesia, febre, diurese e imunomodulação através da PGE_2 , contração do músculo liso, broncoconstrição, risco de abortamento por $PGF_{2\alpha}$, contração do músculo liso e inibição de agregação a partir do PGD_2 . (GILMAN, 1991).

No estágio crônico, a interleucina-1(IL-1) e o fator de necrose tumoral α (FNT- α) são secretados por monócitos, macrófagos e outras células junto com outras citocinas induzindo a expressão de genes e a produção de proteínas que promovem e mediam a inflamação (ARTES, 2012).

3.3.2 Aspectos físico-químicos

Os glicocorticóides são drogas indicadas para diversos tratamentos, dentre eles se encaixam os distúrbios inflamatórios como alergias, asma, sepse, bem como doenças auto-imunes (RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A, 2005). Comparações estrutura química geral dos glicocorticóides encontra-se representada na Figura 3. Os glicocorticóides apresentam cadeias laterais alcoólicas e grupos polares como hidroxilas ou cetonas conjugadas na posição 3 (Anel A). São presentes normalmente grupos cetona ou hidroxila na posição 11 (Anel C) e uma cadeia lateral hidroxicetônica na posição 17 (Anel D). Alguns glicocorticóides apresentam substituições na posição 16 com grupos metílicos ou hidroxilas (COELHO, 2004).

Figura 3. Representação esquemática da estrutura química geral dos glicocorticóides

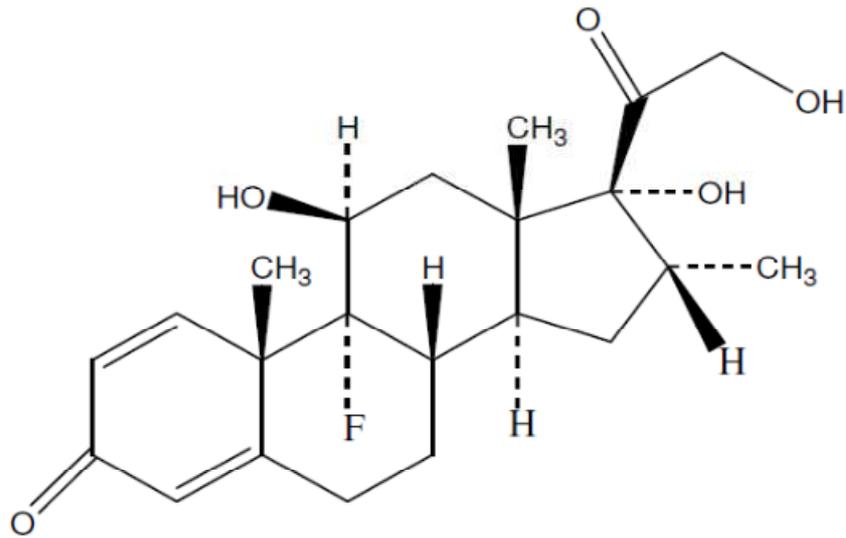


Fonte: VOET, 2013

A dexametasona (DEX) é classificado como um glicocorticoide sintético esteroidal também denominado pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) como (8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9- fluoro - 11, 17 - dihidroxi - 17 - (2 - hidroxiacetil) -10, 13, 16 - trimetil - 6, 7, 8, 11, 12, 14, 15, 16 octa - hidrociclopenta [a] fenantreno - 3 - ona. (ANVISA, 2009).

Comparando a estrutura da DEX com a fórmula estrutural básica de um esteroide (Figura 4), observa-se a presença do ciclopentanoperidrofenantreno, formado por quatro anéis saturados fusionados contendo um núcleo semelhante ao do fenatreno com seis átomos de carbono nos anéis A, B e C, ao qual está ligado ao anel D com cinco átomos de carbono. (VOET, 2013). Observa-se, portanto a presença de grupos polares cetônicos na posição 3 (Anel A) e de hidroxilas na posição 11 (Anel C) e 16 (Anel D).

Figura 4. Representação esquemática da estrutura química da dexametasona



Fonte: ANVISA, 2009

A DEX pode ser descrita como um pó cristalino branco, praticamente insolúvel em água, ligeiramente solúvel em etanol e pouco solúvel em cloreto de metileno. Apresenta ponto de fusão na temperatura de 255°C com decomposição, apresentando-se com fórmula molecular de $C_{22}H_{29}FO_5$ e massa molecular de 392,5g/mol, poder rotatório +72° a 80° em relação à substância dessecada e um valor de constante de ionização (pKa) teórico de 12,42 e coeficiente de partição (log p) octanol-água 1,83 (ANVISA, 2009; BASTOS,2015). Devido a essas características físico-químicas a DEX faz parte do sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) de classe II, ou seja, é um fármaco que apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (FERREIRA, 2008).

A dexametasona também pode estar presente em medicamentos na forma de acetato e fosfato dissódico. O acetato de dexametasona por sua vez apresenta massa molecular de 452,51 g/mol, log p(octanol-água) 2,91 e seus cristais possuem ponto de fusão de 238-240°C.

Já o fosfato dissódico é a forma hidrossolúvel, com o log p (octanol-água) 4,52 e massa molecular de 516,41 g/mol (ARSAND, 2010).

A DEX é comercializada na forma de elixir, comprimidos, solução nasal, solução, suspensão injetável e creme. As formas da dexametasona utilizadas nessas formulações estão de acordo com o critério de solubilidade. Por exemplo, o fosfato dissódico apresenta-se hidrossolúvel e, portanto, é utilizado como injetável (BERGAMINI, 2008; ARSAND, 2010).

3.3.3 Aspectos farmacológicos

No córtex da glândula adrenal são produzidos hormônios quimicamente classificados como esteroides, que por sua vez produzem vários hormônios potentes caracterizados pela presença do anel ciclopentanoperidrofenantreno. Os principais esteroides são os glicocorticoides, mineralocorticoides, os androgênios ou estrogênios (COELHO, 2004).

O cortisol é o principal glicocorticoide natural e atua primeiramente no metabolismo das proteínas, carboidratos e lipídeos. Os mineralocorticoides regulam o balanço de água e sais dentro do organismo, ou seja, atua no transporte de eletrólitos na retenção de sódio, excreção de potássio, tendo a aldosterona como o principal hormônio natural. Já os androgênios ou estrogênios atuam sobre as características sexuais secundárias específicas (COELHO, 2004; BRASIL, 2006).

Todos os glicocorticoides, naturais e sintéticos, são variações do anel ciclopentanoperidrofenantreno,. Apesar de possuírem a mesma ação, eles diferem-se na atividade mineralocorticoide e na sua potência (RANG et al., 2012). A dexametasona graças a sua maior afinidade pelo os receptores, ligação reduzida com as proteínas plasmáticas e menor velocidade de excreção, é extremamente potente e de longa duração e está entre os mais comumente descritos para uso sistêmico, mas possui efeito mineralocorticoide reduzido (JERICÓ, 1999; RANG et al., 2012). Sua potência anti-inflamatória em comparação com outros glicocorticoides é trinta vezes mais potente que o cortisol e seis vezes mais que a prednisona (BRASIL, 2006).

Algumas modificações químicas na estrutura do fármaco são essenciais para alterações nas propriedades e características do mesmo. A existência da dupla ligação, presente no anel A, nas posições 4,5 e grupo 3-ceto são essenciais para atividade glicocorticoide. Já no anel B a introdução da dupla ligação 1-2 modificam a atividade antiinflamatória e adição do flúor na posição 9, supostamente pelo seu efeito de retirada de

elétrons no grupo 11-hidroxi, aumenta todas as atividades biológicas. (GILMAN, 1991; COELHO, 2004)

No anel C o grupo 11 β -hidroxila é necessária para atividade glicocorticoide, mas não é necessária para elevada potência retentora de sódio. A presença da hidroxila na posição do C21 é requisito para atividade mineralocorticoide e a metilação na posição C16 elimina o efeito de retenção de sódio e modifica ligeiramente a potência e o metabolismo. O grupo 17 α -hidroxila aumenta a expressão dos efeitos reguladores de carboidratos e anti-inflamatórios, proporcionando uma ótima potência (GILMAN, 1991; COELHO, 2004).

A dexametasona é extensamente utilizada em preparações farmacêuticas administradas pela via cutânea, possuindo propriedade terapêutica de reduzir uma resposta inflamatória, suprimir a imunidade e agir sobre vasos sanguíneos (LOPEZ, 2000). O mecanismo de ação da DEX inicia-se primeiramente com o fármaco atravessando a membrana plasmática por difusão passiva e posteriormente interagindo com receptores proteicos citoplasmáticos que são amplamente distribuídos. Se este fármaco for administrado por via tópica os receptores estarão localizados em células da derme, como da intraderme; já na administração sistêmica dependerá da célula-alvo. Este complexo receptor-fármaco penetra no núcleo celular interage com o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) modificando a transcrição de genes induzindo a síntese de algumas proteínas, incluindo proteínas do sistema inflamatório lipocortina-1 e proteína inibitória kappa B (I κ B), que inibem a fosfolipase A₂ e regulam positivamente a multiplicidade de citocinas respectivamente. Devido a esta inibição, ocorre a diminuição da liberação do ácido araquidônico e conseqüentemente a diminuição na produção de prostaglandinas. Também podem atuar nos efeitos metabólicos como proteínas que promovem a gliconeogênese (RAMOS, 2004; BRASIL, 2006; ANTI, 2008; WOLVERTON, 2015).

Através da interação entre o receptor e o glicocorticoide, estes podem interagir com fatores de transcrição, promovendo a inibição das funções da proteína ativadora 1 (AP-1) e o fator nuclear kB (NF-kB). Essas proteínas por sua vez são responsáveis por ativar genes que codificam a COX-2. Como o glicocorticoide irá inibi-las, não vai ser gerado a COX-2 e conseqüentemente ocorrerá inibição das citocinas inflamatórias. Dentre essa interação, pode-se ainda destacar a diminuição da função auxiliadora (*helper*) de linfócitos T, inibição da migração dos macrófagos e leucócitos para área quando administrados topicamente sob a área inflamada, promovendo a permeabilidade e a dilatação vascular, com redução de edema,

eritema e prurido. Diversas citocinas que são responsáveis pela resposta imunológica são inibidas, como a IL-1, IL-2, IL-3, IFN- γ , e TNF- α (RAMOS, 2004; ANTI, 2008).

A dexametasona é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e podem ser utilizadas pela via tópica (BASTOS, 2015). Indicações terapêuticas podem estar inclusos no tratamento de processos alérgicos e inflamatórios graves como no alívio das manifestações inflamatórias e pruriginosas de dermatoses corticosteroide-responsivas, colite ulcerativa, insuficiência adrenocortical e insuficiência pulmonar pós-traumática. (FERREIRA, 2008).

A ligação com as proteínas plasmáticas é reversível com baixa capacidade de ligação, mas elevada afinidade para a globulina. O tempo de meia vida plasmática é de 300 minutos e meia vida biológica de 36-72h (ANTI, 2008; BARROS, 2011).

O metabolismo é hepático, e envolve principalmente o processo de oxidação na biotransformação da dexametasona em 6-hidroxi e 2-dihidroxi dexametasona. Comparado com os corticosteroides naturais, os corticosteroides sintéticos, como a dexametasona, possuem uma metabolização lenta, que se deve a baixa ligação às proteínas plasmáticas, possuindo efeito mais prolongado e potência elevada. A eliminação na sua forma inativa ocorre por via renal e é caracterizada pelas reações com o ácido ou sulfato glicurônico, formando ésteres de sulfato ou glicuronídicos (COELHO, 2004; ARSAND, 2010; BARROS, 2011).

3.4 VALIDAÇÃO

3.4.1 Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003). Para o teste de precisão foram realizados procedimentos para o nível de análise de repetibilidade (precisão intra-corrída) e precisão (inter-corrídas). Ela é expressa pela equação do coeficiente de variação (CV%) descrita abaixo:

$$CV \% = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{concentração média determinada}} \times 100 \quad (1)$$

3.4.2 Exatidão

A exatidão é definida como sendo o grau de concordância entre os resultados encontrados em um determinado ensaio e o valor de referência aceito como verdadeiro. (INMETRO, 2003)

Sendo expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (ANVISA, 2003):

$$Exatidão = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad (2)$$

3.4.3 Robustez

É a capacidade de um método analítico em medir a sensibilidade que este apresenta em face de pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos (ANVISA, 2003).

3.4.4 Limite de detecção

Pode ser definido como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser confiavelmente detectada pelo método, sob as condições experimentais (ICH, 2005). Sendo determinado pela Equação 3:

$$LD = \frac{Dpa \times 3}{IC} \quad (3)$$

Onde Dpa é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y e IC é a inclinação da curva de calibração (BRASIL, 2003).

3.4.5. Limite de quantificação

É a menor quantidade do analito presente na amostra que pode ser determinada com confiabilidade de precisão e exatidão aceitáveis (LEITE, 2008). Este parâmetro é determinado principalmente para ensaios quantitativos de impurezas, produtos de degradação em fármacos e produtos de degradação em formas farmacêuticas (BRASIL, 2003). E pode ser expressa pela seguinte equação:

$$LD = \frac{Dpa \times 10}{IC} \quad (4)$$

Dpa é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y e IC é a inclinação da curva de calibração (BRASIL, 2003).

3.5 TESTE DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Segundo FDA (1998) o ensaio de liberação *in vitro* pode ser usado para isentar as menores dosagens de um produto que já tenha comprovado bioequivalência, comprovando seu desempenho através de produtos tópicos como cremes, géis e pomadas. Embora o estudo

in vitro não mimetize o comportamento *in vivo*, deve ser capaz de detectar o efeito de mudanças da formulação e processo que afetam o desempenho (UEDA et al.,2009).

No intuito da caracterização biofarmacêutica, controle de qualidade, desenvolvimento farmacotécnico e equivalência farmacêutica, nos ensaios de liberação *in vitro* são utilizadas as células de difusão do tipo Franz, tanto para formulações tópicas como transdérmicas (FDA, 1998; PRAÇA, 2010).

O aparato é caracterizado por um sistema estático que possui seis células de vidro termoaquecidas, composto por dois compartimentos denominados de receptor e doador, com uma membrana sintética separando-os (Figuras 5 e 6). No compartimento doador é adicionada a amostra do fármaco e no receptor uma solução que será coletada em tempos diferentes para quantificar o fármaco e determinar sua difusão (UEDA et al., 2009).

Figura 5. Representação esquemática da célula de Franz

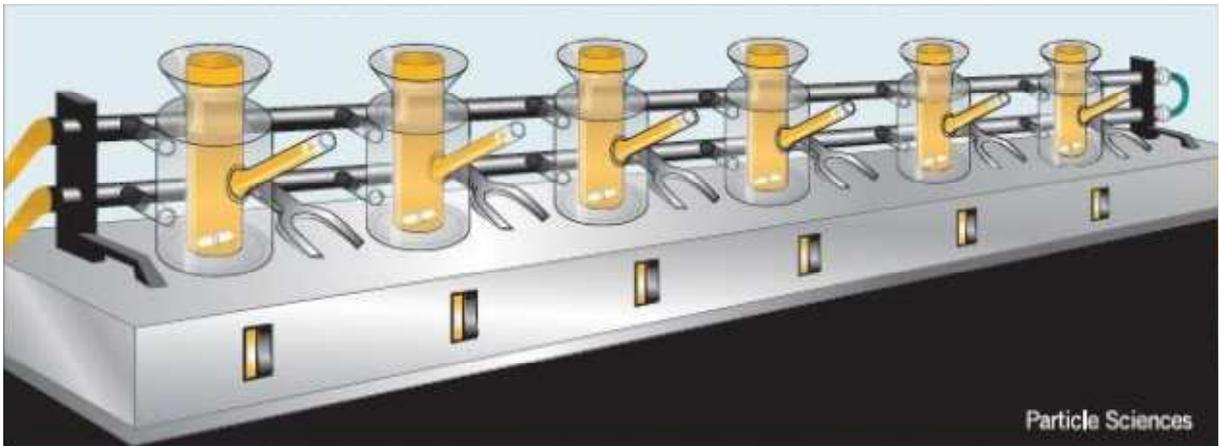


Fonte: Particle Sciences, 2009

A temperatura do sistema é controlada e envolve a câmara receptora e sua homogeneidade é alcançada pelo emprego de barras magnéticas externas (PRAÇA, 2010).

O meio receptor deve solubilizar o fármaco o suficiente para garantir as condições *sink*. As membranas por sua vez devem ser inertes, ou seja, não devem interagir com o fármaco nem com a solução receptora e as mais utilizadas durante o experimento são de acetato de celulose, silicone e polissulfona/poletersulfona (GOEBEL, 2012).

Figura 6. Sistematização da células de Franz em sextuplicata



Fonte: Particle Sciences, 2009

O modelo que caracteriza a difusão em membranas sintéticas foi descrito por Higuchi (1960). Quando um fármaco está disperso/suspenso em uma matriz semissólida a quantidade liberada em função do tempo pode ser descrita pela Equação 5:

$$M = \sqrt{2 \times C_o \times C_s \times D \times t}, \quad C_s \ll C_o \quad (5)$$

Se o fármaco estiver totalmente dissolvido no veículo (Equação 6):

$$M = 2 \times C_o \times \sqrt{\frac{D \times t}{\pi}} \quad (6)$$

Onde:

M = quantidade de fármaco liberado no meio por cm²

C_o = Concentração do fármaco na matriz

C_s = Solubilidade da droga na matriz

D = Coeficiente de difusão do fármaco através da matriz

t = tempo.

3.5.1 Análise cinética

Alguns modelos conhecidos são usados para analisar a liberação da substância ativa a partir de sistemas, tendo destaque o de primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas e ordem zero (COSTA et al, 2001).

3.5.1.1. Modelo de primeira ordem

É expresso pelo logaritmo decimal da quantidade liberada do fármaco em função do tempo, de modo que a quantidade liberada do fármaco de acordo com o tempo (h) diminua,

desta forma o gráfico será linear (MULYE et al.,2001). O modelo pode ser expresso pela Equação 3:

$$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{K_1 t}{2,303} \quad (7)$$

Onde: Q_t é a quantidade de fármaco liberado no tempo t , Q_0 é a quantidade inicial de fármaco na solução e K_1 é a constante de liberação de primeira ordem.

3.5.1.2. Modelo de Higuchi

É quantidade do fármaco que foi liberado por área em função da raiz quadrada do tempo, obtendo-se um gráfico linear (COSTA, et al., 2001). É expressa pela Equação 8:

$$F_t = K_H t^{1/2} \quad (8)$$

Sendo K_H a constante de liberação de Higuchi.

3.5.1.3. Modelo de Korsmeyer-Peppas

Relaciona exponencialmente a liberação do fármaco por área em função do tempo, ou seja, \ln da quantidade do fármaco que foi liberado por área versus o \ln do tempo t (h), formando uma linearização (KORSMEYER et al, 1983). A equação pode ser descrita como:

$$F_t = a t^n \quad (9)$$

Onde, a é uma constante que incorpora características estruturais e geométricas da forma farmacêutica, n é o expoente de liberação, indicativo do mecanismo de liberação do fármaco, e a função de t é M_t/M_∞ (liberação fraccional do fármaco).

3.5.1.4. Modelo de ordem zero

É expresso como a quantidade de fármaco que foi liberado por área *versus* o tempo (h), significando que o fármaco é liberado na mesma quantidade por unidade de tempo, tornando o gráfico linear (COSTA, et al., 2001). E pode ser expresso pela equação abaixo:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (10)$$

Onde, Q_t é a quantidade de fármaco liberada no tempo t , Q_0 a quantidade inicial de fármaco na solução (na maior parte das vezes, $Q_0=0$) e K_0 a constante de liberação de ordem zero.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES, MATÉRIA-PRIMA

- Álcool etílico, Anidrol, Brasil.
- Fosfato de sódio monobásico anidro PA, Dinamica, Brasil.
- Hidróxido de sódio em micro pérola PA, Neon, Brasil.
- Dexametasona, Fragon, China.
- Água deionizada, Gehaka, Brasil.
- Metanol PA, Synth, Brasil.
- Solução tampão pH 7.0, MS Tecnopon, Brasil.
- Solução tampão pH 4.0, MS Tecnopon, Brasil.

4.2 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS

- Aparato de células de Franz.
- Balança analítica, Adventurer, Ohaus, México.
- Balão volumétrico (1000mL) , Qualividros, Brasil.
- Banho-maria SL 155/10, Solab, Brasil.
- Béquer (10,50, 100,250, 1000 mL) Roni-Alzi, Brasil.
- Cubetas de cristal de quartzo ES 2 faces, 1,7mL, largura 6mm, Kasvi, China.
- Espátula metálica.
- Espectrofotômetro UV-VIS 1240, Shimadzu, Japão.
- Espectrofotômetro UV-VIS, 1800, Shimadzu, Japão.
- Eppendorf.
- Estante para tubo de ensaio.
- Medidor de pH Instrutemp, ITmPA 210, Brasil.
- Membrana de acetato de celulose 45 micra, 47 mm, Millipore Indústria e Comércio LTDA, Brasil.
- Micro-Centrífuga de bancada N11801, Nova Instruments, Brasil.
- Papel milimetrado, Jandaia, Brasil.
- Parafilm, Bemis, USA. - Parafilm, Bemis, USA.
- Pipetas graduada reguláveis (10 a 20 µl; 20 a 200 µl ,1000 a 5000 µl) Labmate soft, HTL lab solutions, Varsóvia.
- Pisseta.
- Ponteiras.

- Proveta, Diogolab, Brasil.
- Seringa 10 mL, Saldanha Rodrigues (SR), Brasil.
- Seringa de insulina, Saldanha Rodrigues (SR), Brasil.
- Tubos de ensaio.
- Ultra- Turrax, IKA, T25 digital, Germany.
- Vidro relógio.

4.3 FORMULAÇÕES CREME AVALIADAS

Foram avaliadas formulações semissólidas de acetato de dexametasona (1mg/g) creme tópico dermatológico similar, genérico e de referência disponíveis no mercado. Foi utilizado para as análises um fator de equivalência (F_{eq}) de 1,11.

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Caracterização físico-química das formulações

4.4.1.1 Parâmetros de ensaios organolépticos

As formulações foram avaliadas visualmente, tais como o odor, aspecto e cor de acordo com o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos (BRASIL, 2007).

4.4.1.1.1 *Aspecto*

As formulações foram avaliadas macroscopicamente, verificando a presença de alterações do tipo separação de fases, precipitação ou exsudação após 24h de exposição à luz solar. As amostras foram classificadas em normal (sem alteração), levemente separado e separado (BRASIL, 2007).

4.4.1.1.2 *Cor*

A análise foi realizada por meio visual, através da comparação da cor da amostra com a do padrão após permanecerem expostas por 15 dias à luz solar. Posteriormente essas amostras foram classificadas seguindo os seguintes critérios: normal, levemente modificada, modificada e intensamente modificada (BRASIL, 2007).

4.4.1.1.3 *Odor*

Foi analisado através da comparação entre a amostra e o padrão estabelecido, onde devem assim permanecer estáveis, por no mínimo 15 dias à luz solar. As amostras foram classificadas seguindo os critérios de normal, levemente modificada, modificada e intensamente modificada (BRASIL, 2007).

4.4.1.2 pH

A determinação do pH das formulações foi realizada utilizando um medidor de pH (Instrutemp, ITmPA 210) previamente calibrado com soluções de tampão de pH 4,0 e 7,0 à temperatura de 25 ± 2 °C, em triplicata. As amostras foram dispersas em água destilada (10% m/v), homogeneizada com o auxílio do Ultra- Turrax (IKA, T25) e em seguida lida através da imersão do eletrodo e de controle de temperatura sob a solução.

4.4.1.3 Espalhabilidade

Foi empregada a metodologia descrita por Knorst (1991). Utilizou-se uma placa-molde com orifício central de 1,3 cm inicialmente posicionada sobre uma placa-base de vidro que estava sobre o papel milimetrado.

Posteriormente foi adicionada a amostra no orifício e realizou a retirada da placa-molde com cuidado. Foram adicionadas placas de vidros com pesos pré-determinados, com intervalo de 1 minuto para ser realizado a leitura dos diâmetros do espalhamento das formulações. Os valores do diâmetro da espalhabilidade em função dos pesos adicionados foram determinados em triplicata, calculando-se a média entre elas e foram plotados em forma de gráfico. Os valores da espalhabilidade foram calculados através da equação abaixo:

$$Ei = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (7)$$

Onde: Ei: Espalhabilidade da amostra para um determinado peso (mm^2); d: diâmetro médio (mm)

Os dados da espalhabilidade foram comparados com a quantidade remanescente contida no meio doador da liberação *in vitro*, explanada no tópico 3.4.4.1.

4.4.1.4 Teste de centrifugação

As formulações acondicionadas em tubos tipo Eppendorf e centrifugadas utilizando Micro-Centrífuga de bancada (N11801, Nova Instruments, Brasil) sendo executada com tempo e velocidade padronizados de três períodos iguais de 15 minutos a 1000, 2500 e 3500 rpm. Após centrifugação as amostras foram avaliadas visualmente quanto à separação de fases (VELASCO, 2008).

4.4.2 Validação da dexametasona

A validação da metodologia analítica desenvolvida para análise da dexametasona base micro Fragon seguiu conforme a resolução N° 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA, que dispõe sobre o Guia de Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (BRASIL, 2003).

Utilizou neste estudo um espectrofotômetro com detector UV-VIS 1240, Shimadzu na faixa de comprimento de onda (λ) de 190 nm a 350 nm. Os parâmetros avaliados foram à linearidade, precisão, limite de detecção e quantificação, exatidão e robustez.

4.4.2.1 Determinação dos parâmetros analíticos

4.4.2.1.1 Identificação e quantificação da dexametasona

Realizou uma varredura em um espectro de absorbância, em espectrofotômetro UV-VIS 1240, Shimadzu no intervalo de comprimento de onda de 190 a 350 nm de uma solução de dexametasona em tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) na concentração de 0,019 mg/mL.

4.4.2.1.2 Curva de calibração da dexametasona

A curva analítica foi determinada, relacionando as concentrações do fármaco à resposta obtida pelas leituras dos valores de absorbância na espectroscopia na região do UV-VIS. A curva de calibração da cubeta estacionária foi o método selecionado para a construção da curva analítica.

Foi preparada uma solução mãe de concentração de 0,4 mg/mL de dexametasona em tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40), 10 μ l desta solução foram adicionados a cubeta repetitivamente com uma quantidade inicial de 40 μ l, tendo 2000 μ l do tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) anteriormente na cubeta. Em seguida foi homogeneizada, obtendo-se os seguintes pontos de concentrações: 0,0078; 0,0098; 0,0117; 0,0135; 0,0154; 0,0172; 0,0190; 0,0209; 0,0226; 0,0244; 0,0262; 0,0279 mg/mL. O método foi realizado em triplicata e as leituras das absorbâncias foram obtidas por espectrofotômetro UV-VIS, no comprimento de onda de 241 nm.

4.4.2.1.3 Precisão

Através deste parâmetro a leituras foram realizadas em sextuplicata, com analistas diferentes e em dias diferentes utilizando a diluição da dexametasona em concentração equivalente ao ponto médio da curva de calibração (0,0190 mg/mL). Não se admitindo valores superiores a 5%, sendo expressa pelo CV (%).

4.4.2.1.4 Exatidão

Este parâmetro foi determinado contemplando o intervalo linear em três concentrações 0,0078 mg/mL (Nível baixo), 0,0190 mg/mL (Nível médio) e 0,0279 mg/mL (Nível alto). Realizou-se a leitura em triplicata no espectro UV-VIS em comprimento de onda de 241 nm.

4.4.2.1.5 Robustez

A robustez foi assim realizada variando o tipo de solvente utilizado (solução tampão pH 7,4/etanol e metanol) e equipamentos distintos com o espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 e 1800 . A análise foi efetuada em triplicata com análise do ponto médio (0,0190 mg/mL), lida no comprimento de onda a 241 nm e calculada pelo coeficiente de variação (%).

4.4.3 Estudo de liberação *in vitro*

4.4.3.1 Ensaio de liberação

Os perfis de liberação das amostras em análise foram avaliados a partir das células de difusão do tipo Franz, possuindo uma área difusional de 0,7539 cm² e com o volume de aproximadamente 6 mL. Para a realização do ensaio foram utilizadas membranas de acetato de celulose 0,45 µm (Millipore, Brasil) previamente hidratadas por 24h antes do experimento, sendo colocadas em contato com a solução de tampão fosfato 2,0M pH 7,4/ etanol (60:40).

As membranas foram adicionadas entre o compartimento doador e receptor, sendo seladas com o Parafilm[®]. O compartimento receptor foi preenchido com a solução de tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) , sendo homogeneizada constantemente com o uso de a barra magnética (peixinho) presente em seu interior. O sistema foi conectado a um banho termostaticado à 37°C ± 0,5°C. As amostras foram adicionadas no compartimento doador (parte superior da membrana) em torno de 0,9 g.

O meio receptor foi coletado em intervalos pré-determinados (0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6; 8; 12; 18; 24; 30; 36; 42 e 48h;), garantindo que todo o líquido presente neste compartimento tenha sido coletado. Logo em seguida a cada coleta realizada, foi repostado a solução de tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) no mesmo instante, satisfazendo a condição *sink* do sistema. As alíquotas coletadas foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis VIS 1800, Shimadzu, no comprimento de onda determinado durante a validação do método. Para a análise de cada formulação foram utilizadas seis células de difusão tipo Franz, ou seja, todo o experimento *in vitro* foi realizado em sextuplicata.

Após a finalização do experimento por um período de 48h, o remanescente das formulações contidas no meio doador foram medidas e calculada uma média percentual que diferencia a quantidade inicial utilizada das formulações com a final.

4.4.3.2 Análise cinética

Para avaliação do perfil de liberação do acetato de dexametasona foi plotado um gráfico que relaciona a quantidade que foi liberada (μg) do fármaco pela área difusional da célula de Franz ($0,7539 \text{ cm}^2$) em função do tempo t (MOSER et al., 2001)

Os gráficos foram organizados de acordo com a característica de cada modelo cinético escolhido. Após a plotagem destes gráficos no Excel 2010, o critério de escolha do modelo cinético foi estabelecido pelo coeficiente de correlação (r), sendo usado assim para determinar a melhor definição analítica em que o coeficiente de correlação seja entre eles o maior e não inferior a 0,99 (COSTA; LOBO, 2001)

O cálculo do percentual de liberação do acetato de dexametasona foi realizado através da correlação entre massa de acetato de dexametasona liberada no tempo t *versus* massa inicial do acetato de dexametasona presente no creme dermatológico (1 mg/g) multiplicado por 100, conforme equação abaixo (POPA, et al; 2010) :

$$\% \text{ do acetato dexametasona liberada} = \frac{\text{massa liberada}(t)}{\text{massa inicial}} \times 100 \quad (8)$$

A partir do modelo cinético de liberação obedecido para a formulação foram determinados matematicamente o fluxo (J) e o *lag time*. Para a efetivação foram escolhidos pontos deste gráfico, onde a quantidade de fármaco liberada por unidade de área ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) em função da raiz quadrada do tempo (h) permanecia constante. A plotagem destes valores por sua vez produziu uma linha reta, cujo coeficiente angular (a) da regressão linear dessa reta representa a velocidade de liberação (J) (UEDA et al. 2009). Após a obtenção deste dado, as a composição das formulações foram comparadas qualitativamente de acordo com o autor ALLEN (2013).

Já o *lag time* foi expresso quando a passagem da dexametasona através da membrana na liberação *in vitro* atingiu o equilíbrio, ou seja, quando a quantidade de fármaco liberada por unidade de área ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), a partir da extrapolação da reta de regressão linear seja igual à zero (AULTON, 2005).

Para realizar a comparação das velocidades de liberação das diferentes formulações com o de referência foi realizado o teste estatístico não paramétrico Wilcoxon Rank Sum/MannWhitney, que compara as medianas das velocidades de difusão dos produtos. Para ser considerado equivalente ao de referência o valor de confiança de 90% devem cair dentro dos limites de 75 a 133,3% (FDA, 1997).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DAS FORMULAÇÕES

5.1.1 Características organolépticas

As formulações estudadas foram avaliadas quanto às suas características organolépticas como aspecto, cor e odor. As três formulações apresentaram-se com aspecto homogêneo, de cor branca e odor característico. Não foram observadas alterações em suas características e nenhuma diferença entre as mesmas mesmo após serem expostas por um período de 15 dias a luz solar. (Quadro 1).

Quadro 1. Características organolépticas das formulações em análise de acordo com a classificação vigente.

Formulações	Aspecto	Cor	Odor
SIMILAR	Normal	Normal	Normal
GENÉRICO	Normal	Normal	Normal
REFERÊNCIA	Normal	Normal	Normal

Fonte: Próprio autor.

5.1.2 pH

Para que ocorra uma maior proteção bacteriana e fungicida na superfície da pele, o pH da mesma se encontra levemente ácido. A determinação e o controle do pH cutâneo é de extrema importância uma vez que este local passa a ter alterações em consequências a utilização de produtos tópicos inadequados (LEONARDI et al., 2002). Considerando a estabilidade dos componentes ativos utilizados e a tolerância biológica para os produtos cutâneos, o pH ideal das formulações devem estar entre 5,5 a 8,0 (SILVA, 2009). Um fator importante nas formulações, pois a partir dos valores da concentração hidrogeniônica das formulações pode ter informações sobre a qualidade do produto, das matérias-primas ou indicativos de reações químicas (SCHUELLER; ROMANOWSKI, 2002).

Os valores do pH obtidos se encontram na Tabela 1, todas as formulações em análise apresentaram-se com uma média pH ligeiramente ácida na faixa de temperatura de 24,2 a 26,3°C, apresentando portanto um pH compatível com a pele, variando de 5,5 a 5,91 nas formulações testadas.

Tabela 1. Valores de pH das formulações em análise.

Formulações	pH (média, n=3)
SIMILAR	5,91
GENÉRICO	5,50
REFERÊNCIA	5,60

Fonte: Próprio autor.

5.1.3 Centrifugação

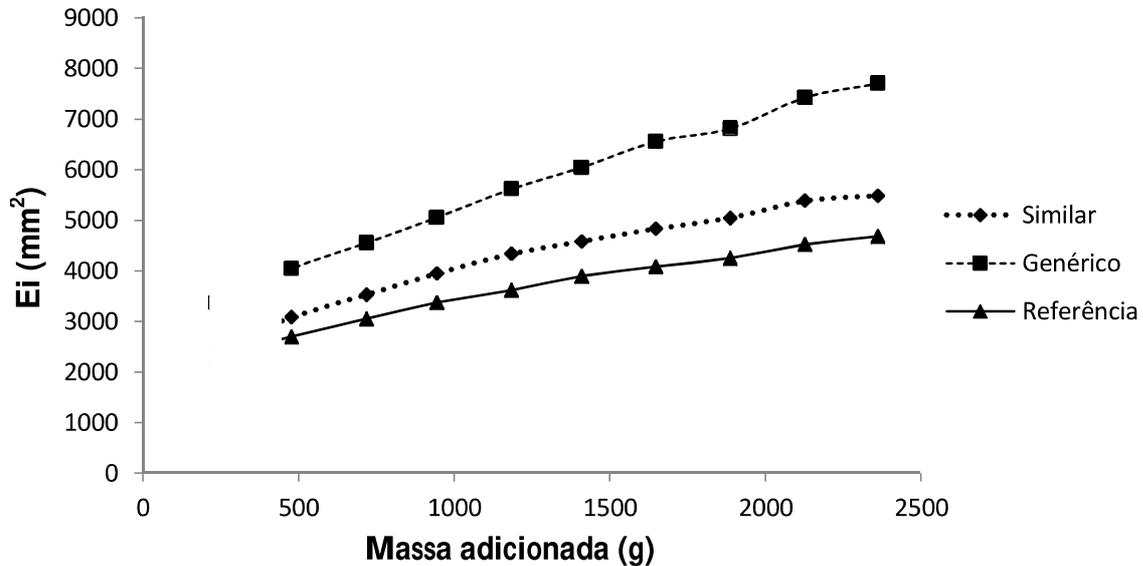
Em relação ao teste de centrifugação foi possível determinar o comportamento apresentado pelas formulações em estudo, após o estresse produzido sob a amostra, na forma de precipitação, coalescência, separação de fases (FRIEDRICH, 2007). Após o ensaio de centrifugação não foi observado nenhum sinal de separação de fases ou indicativos de instabilidade, demonstrando assim estabilidade física das formulações.

5.1.4. Espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade é uma análise importante nas formulações semissólidas, pois é passível de avaliar a expansão das mesmas sobre uma superfície, associando com aplicação no local desejado, após determinado período de tempo. Esta avaliação é um dado satisfatório nas formulações, pois consegue detectar mudanças na consistência dos produtos analisados (SAVIAN et Al., 2011)

Os valores de espalhabilidade obtidos para as formulações em estudo em função do peso adicionado foram plotados em gráfico e podem ser observados através da Figura 7, ressaltando uma ampliação gradual da área de espalhabilidade em função do peso adicionado, a formulação do creme genérico apresentou uma maior espalhabilidade frente as outras formulações.

Figura 7. Espalhabilidade das formulações em estudo



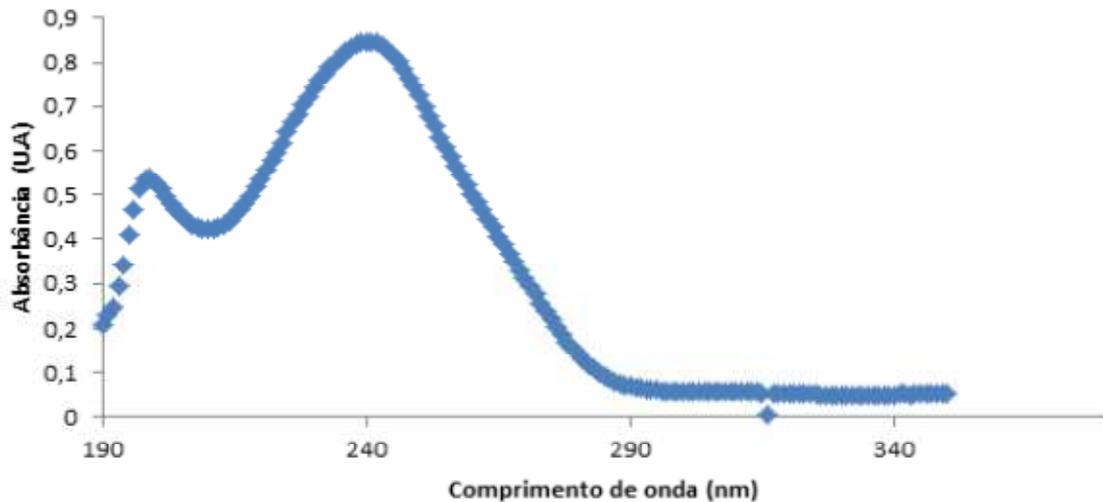
5.2 ESTUDO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

5.2.1 Desenvolvimento e validação do método de quantificação da dexametasona

5.2.1.1 Determinação do comprimento de onda

Para a determinação do espectro de absorção da dexametasona, foi feita uma varredura espectrofotométrica utilizando um intervalo de 190 a 350 nm. A solução de dexametasona em tampão fosfato 7,4/etanol (60:40) na concentração de 0,019 mg/mL apresentou um pico de máxima absorção no comprimento de onda de 241 nm (Figura 1). Desta forma para validação do método de quantificação bem como nas posteriores análises realizadas, foi utilizado o comprimento de onda de 241 nm.

Figura 8. Varredura espectrométrica da solução de dexametasona (0,019 mg/mL).

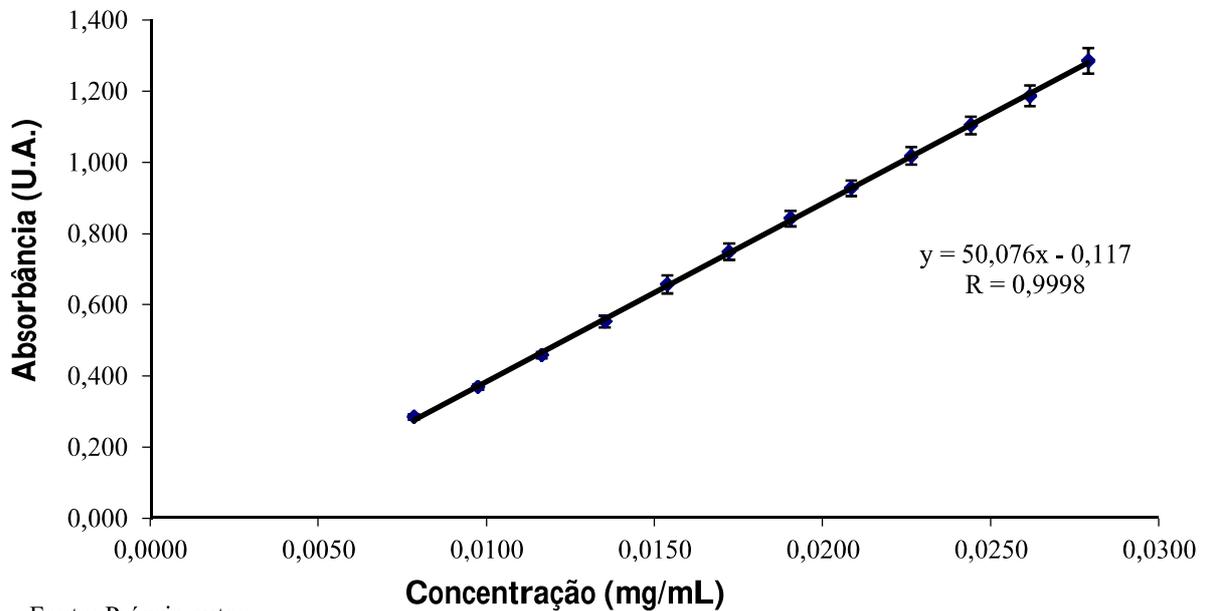


Fonte: Próprio autor.

5.2.1.2 Linearidade

A relação entre o sinal medido e a concentração ou massa da espécie de interesse pode determinar a linearidade de um método (ARAGÃO, 2009). A curva linear (Figura 8) foi construída em uma faixa de concentração mínima de 0,0078 mg/mL e uma concentração máxima de 0,0279 mg/mL, que pode ser descrita através da equação $y=50,076x - 0,117$, enquadrados em faixa analítica especificada, apresentando-se com o coeficiente de correlação (r) igual a 0,9998, demonstrando portanto a linearidade do método dentro da faixa de concentração analisada, já que o (r) evidenciou um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. Matematicamente o coeficiente de correlação (r) é um parâmetro que permite avaliar a estimativa da qualidade da curva analítica obtida, considerando que quanto mais próximo este coeficiente estiver perto de 1 menor será a dispersão dos valores (RIBANI, 2004). Sendo assim, a ANVISA recomenda que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) seja de 0,99 (BRASIL, 2003).

Figura 9. Curva analítica das soluções de dexametasona em tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) nas concentrações de 0,078 a 0,0279 mg/mL



Fonte: Próprio autor

5.2.1.3 Limites de quantificação e de detecção

A determinação do limite de quantificação e de detecção de 0,000856 e 0,000257 mg/ml respectivamente, indicam a capacidade do método para detectar e quantificar com confiabilidade a dexametasona nas condições analíticas propostas.

5.2.1.4 Precisão

A precisão foi avaliada em relação aos níveis de repetibilidade e precisão intermediária. Para se avaliar a repetibilidade do método, soluções de dexametasona a uma concentração de 0,0190 mg/mL foram analisadas em sextuplicata sob as condições de um mesmo analista e mesma instrumentação. Já a precisão intermediária foi utilizada a sextuplicata de uma amostra na mesma concentração, porém realizada por analistas diferentes. Para estes parâmetros foram feitas a estimativa do coeficiente de variação (CV) destas medidas. A ANVISA preconiza que este valor do coeficiente de variação não seja superior a 5% (BRASIL, 2003).

Conforme a Tabela 3 os dados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária apresentaram CV inferiores a 5%, o que indica que não houve variação significativa entre os resultados obtidos, demonstrando, portanto a precisão do método proposto.

Tabela 2. Precisão intracorrida e repetibilidade do método.

Analistas	Dia	Concentração (mg/mL)	Média das absorbâncias	DP	CV(%)
Analista 1	1	0,0190	0,8035	0,0093	1,1619
	2	0,0190	0,8018	0,0125	1,5532
Analista 2	1	0,0190	0,8146	0,0106	1,3016
	2	0,0190	0,8203	0,0068	0,8268

Fonte: Próprio autor.

5.2.1.5 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (BRASIL, 2003). Sendo assim foi realizada a partir da leitura de três réplicas no nível baixo (0,0078 mg/mL), no nível médio (0,0190 mg/mL) e no nível alto (0,0279 mg/mL).

A partir dos resultados obtidos apresentados na Tabela 3, constatou-se que os valores encontrados se aproximaram dos valores teóricos, apresentando percentual da exatidão entre 97 a 104%, demonstrando que o método pode satisfatoriamente ser aplicado na determinação da dexametasona.

Tabela 3. Determinação do parâmetro da exatidão (n=3).

Nível	Média das Absorbâncias	DV	CV(%)	Concentração teórica(mg/mL)	Concentração real (mg/mL)	Exatidão (%)
Baixo	0,2918	0,0064	2,2070	0,0078	0,0083	104,65
Médio	0,8176	0,0023	0,2802	0,0190	0,0187	98,23
Alto	1,2409	0,0024	0,1943	0,0279	0,0271	97,20

Fonte: Próprio autor

5.2.1.6 Robustez

Um método pode ser considerado robusto quando não é afetado por alguma modificação pequena e deliberada de suas condições analíticas (INMETRO, 2003). O parâmetro da robustez foi avaliado utilizando uma solução de dexametasona de concentração 0,0190 mg/mL (Tabela 4). Foram realizadas pequenas modificações como mudanças no solvente (tampão fosfato de pH 7,4/etanol (60:40) e metanol) e no modelo do espectrofotômetro (Shimadzu 1240 e 1800).

Tabela 4. Determinação do parâmetro da robustez (n=3).

Modificação		Médias das absorvâncias	Concentração teórica (mg/mL)	Concentração real \pm DP (mg/mL)	Precisão CV (%)	Exatidão (%)
Solvente	Tampão fosfato 7,4/etanol (60:40)	0,815	0,0190	0,0186 \pm 0,013	1,640	97,89
	Metanol	0,870	0,0190	0,0197 \pm 0,018	2,079	103,68
Equipamento	Espectro 1	0,849	0,0190	0,0193 \pm 0,013	1,522	101,58
	Espectro 2	0,829	0,0190	0,0189 \pm 0,032	3,924	99,47

Fonte: Próprio autor.

Os valores obtidos não apresentaram diferença significativa frente aos parâmetros avaliados, na faixa de concentração de 0,0190 mg/mL. Os coeficientes de variação não ultrapassaram o valor de 5% e a exatidão manteve-se no intervalo de confiança entre 99 a 103%, comprovando a robustez do método proposto.

5.2.2 Estudo de liberação *in vitro*

O estudo de liberação *in vitro* de um veículo dermatológico proporciona mais dados significativos sobre as características de liberação de um fármaco do que qualquer outro teste. Nesta avaliação alguns fenômenos entre a aplicação do produto e o efeito medido farmacologicamente podem ser observados (BORTOLON, 2008).

Dessa forma, o ensaio de liberação *in vitro* pode ser adequadamente empregado para realizar a seleção dos excipientes da formulação, garantir a semelhança do produto após a aplicação e posteriores mudanças, avaliar a capacidade do veículo em liberar o fármaco inserido e refletir parâmetros físico-químicos do sistema a partir dos dados da velocidade de liberação do fármaco (UEDA et al., 2009; SILVA et al., 2009).

Para o estudo foi utilizada a célula de difusão baseada no modelo de Franz, que é usualmente empregada para obtenção de perfis de liberação *in vitro* de formulações semissólidas tais como cremes, géis e pomadas (BORTOLON, 2008; PRAÇA, 2010).

A fim de garantir as condições *sink* e obter resultados efetivos, o tampão fosfato 2,0 M pH 7,4/etanol (60:40) foi utilizado como solução receptora durante o experimento *in vitro*.

Esta escolha da solução receptora deveu-se a solubilidade do fármaco acetato de dexametasona, que se apresenta como praticamente insolúvel em água. Devido a esta propriedade, misturas hidroalcoólicas são recomendadas pela Food and Drug Administration (FDA) para o uso como solução receptora no sistema de células bicompartimentais. (FDA, 1997).

Na Tabela 5 encontra-se a quantidade liberada de acetato de dexametasona através da membrana de acetato de celulose em cada tempo de coleta específico, bem como o percentual de liberação para os cremes dermatológicos similar, genérico e de referência. O doseamento do fármaco foi realizado por o espectrofotômetro UV-Vis 1800, Shimadzu, em 241 nm em conformidade com a metodologia de quantificação validada.

Observou-se através dos dados que os cremes referência, genérico e similar liberaram 55,18, 52,15 e 49,69% de dexametasona respectivamente, após 48 h do experimento. Com a formulação de referência observou-se uma quantidade relativamente maior do fármaco atravessando a membrana de acetato de celulose em comparação com as outras formulações. A liberação ocorreu de forma lenta e gradual, evidenciando a capacidade das formulações em controlarem a liberação.

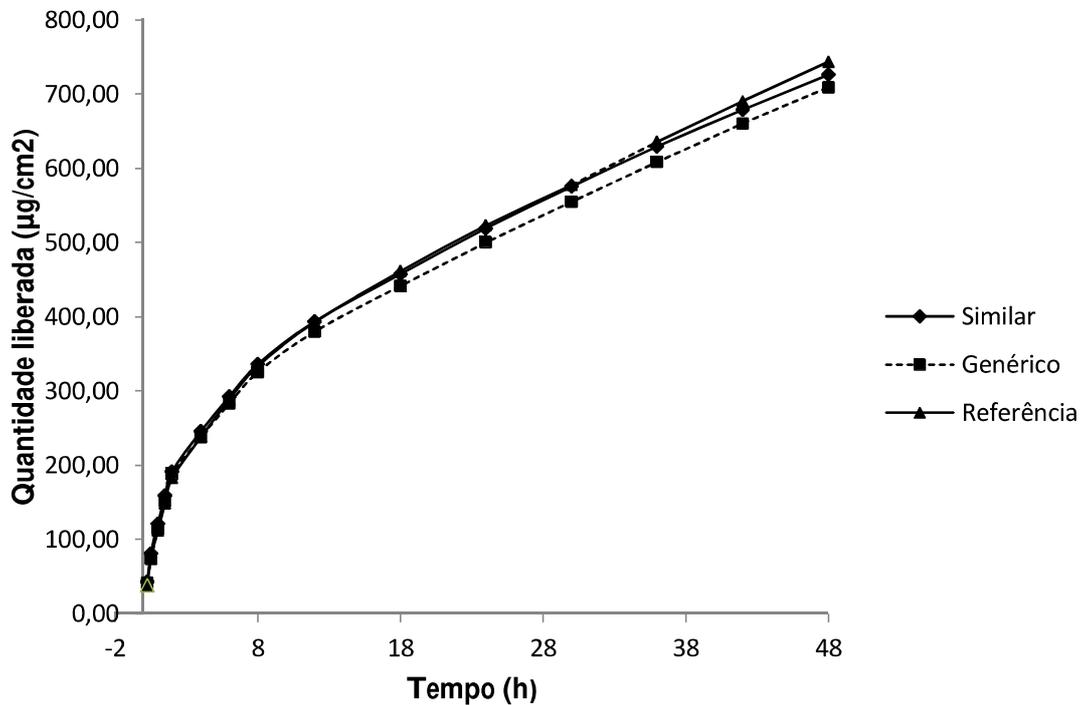
Tabela 5. Quantidades liberadas da dexametasona ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e percentual de liberação em função do tempo (h)

Tempo (h)	Quantidade liberada da Dexametasona ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) \pm DP (% liberada)		
	Similar	Genérico	Referência
0,25	42,96 \pm 4,25 (2,94%)	41,63 \pm 3,26 (3,06%)	38,41 \pm 1,00 (2,79%)
0,5	81,14 \pm 2,17 (5,55%)	74,48 \pm 1,79 (5,63%)	73,70 \pm 0,81 (5,36%)
1	121,31 \pm 2,12 (8,31%)	114,00 \pm 1,98 (8,38%)	112,00 \pm 1,1 (8,16%)
1,5	158,73 \pm 2,23 (10,87%)	151,18 \pm 2,24 (11,12%)	148,30 \pm 1,42 (10,8%)
2	191,48 \pm 1,35 (13,11%)	187,48 \pm 2,40 (13,79%)	182,37 \pm 1,32 (13,28%)
4	245,42 \pm 2,23 (16,80%)	237,65 \pm 1,86 (17,48%)	237,65 \pm 2,16 (17,39%)
6	292,04 \pm 3,29 (19,99%)	282,94 \pm 2,34 (20,81%)	288,38 \pm 2,27 (21,10%)
8	336,00 \pm 2,07 (23,00%)	325,34 \pm 1,21 (23,93%)	333,44 \pm 1,78 (24,38%)
12	394,00 \pm 3,26 (26,95%)	380,00 \pm 3,71 (27,96%)	393,00 \pm 3,30 (28,91%)
18	457,32 \pm 4,24 (31,30%)	441,56 \pm 5,47 (32,47%)	461,32 \pm 4,90 (34,14%)
24	519,26 \pm 6,59 (35,54%)	499,94 \pm 3,91 (36,77%)	523,25 \pm 4,43 (38,79%)
30	575,42 \pm 7,03 (39,39%)	554,89 \pm 4,07 (40,76%)	577,42 \pm 2,34 (43,09%)
36	629,37 \pm 4,71 (43,08%)	608,50 \pm 3,51 (44,75%)	635,70 \pm 3,11 (47,33%)
42	678,88 \pm 4,61 (46,47%)	660,45 \pm 3,83 (48,57%)	690,64 \pm 2,01 (51,33%)
48	725,94 \pm 3,79 (49,69%)	709,18 \pm 3,79 (52,15%)	743,70 \pm 2,14 (55,18%)

Fonte: Próprio autor

Os perfis de liberação do acetato de dexametasona dos cremes de referência, similar e genérico podem ser observados na Figura 10, que representa a quantidade liberada do fármaco em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ em função do tempo em horas no período de 48h do experimento. Na figura pôde-se perceber que a liberação das formulações em análise foi contínua e crescente até o encerramento em 48h, não havendo a formação de platô.

Figura 10. Perfil de liberação do acetato de dexametasona nos cremes dermatológicos em análise.

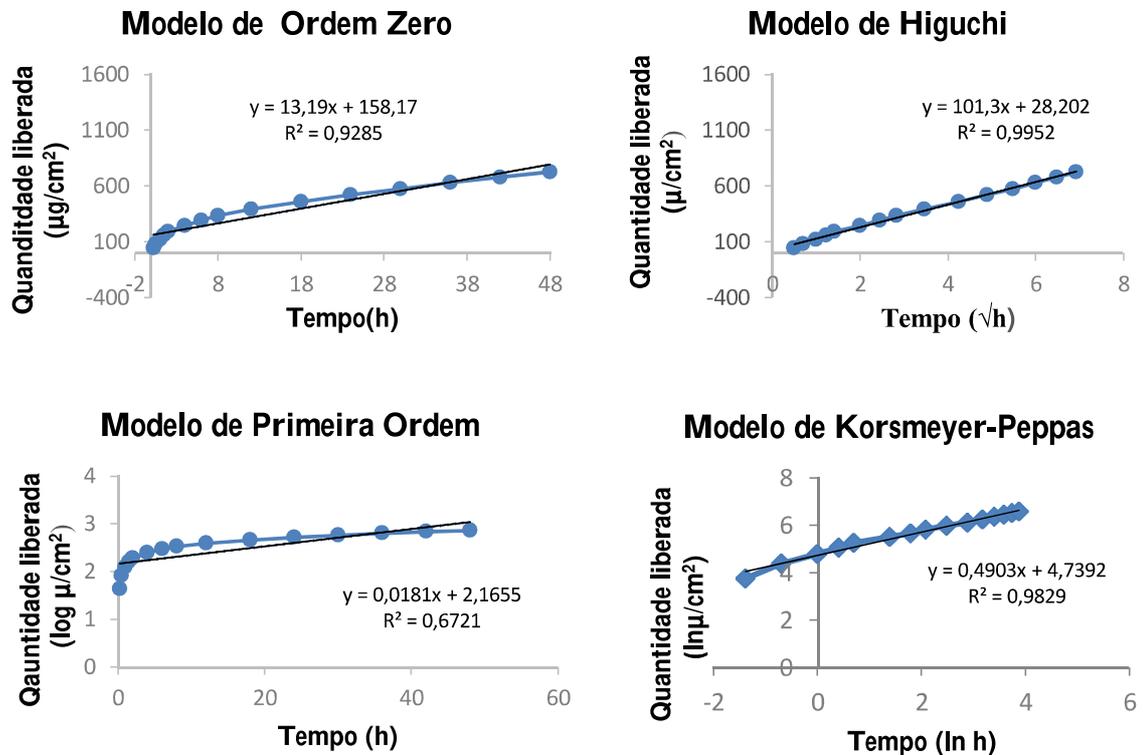


Fonte: Próprio autor.

A partir dos dados da liberação foi realizada análise de regressão linear, onde alguns modelos cinéticos como Ordem Zero, Higuchi, Primeira Ordem e Korsmeyer-Peppas foram avaliados de acordo com a quantidade de acetato de dexametasona liberada em função do tempo. Para a escolha do método mais adequado utilizou a constante de correlação linear (r), que foi devidamente calculada através do coeficiente de determinação (r^2), aproximando-se ao máximo da linearidade (COSTA; LOBO, 2001)

Nas Figuras 11, 12 e 13 estão representados na forma de gráfico os modelos cinéticos das formulações testadas, obtidos pela liberação *in vitro* dos cremes de acetato de dexametasona similar, genérico e de referência respectivamente. Já a equação da reta e coeficiente de correlação linear de cada tipo de creme estudada estão representados nas Tabelas 6, 7 e 8.

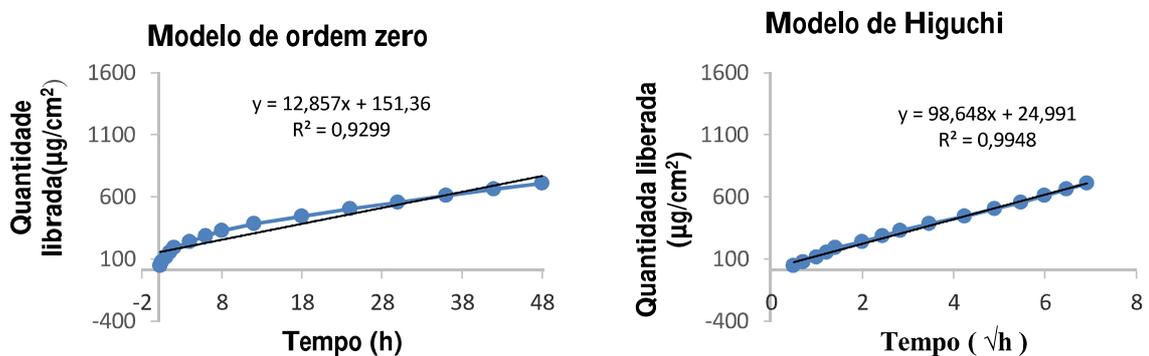
Figura 11. Perfil dos modelos cinéticos testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico similar.

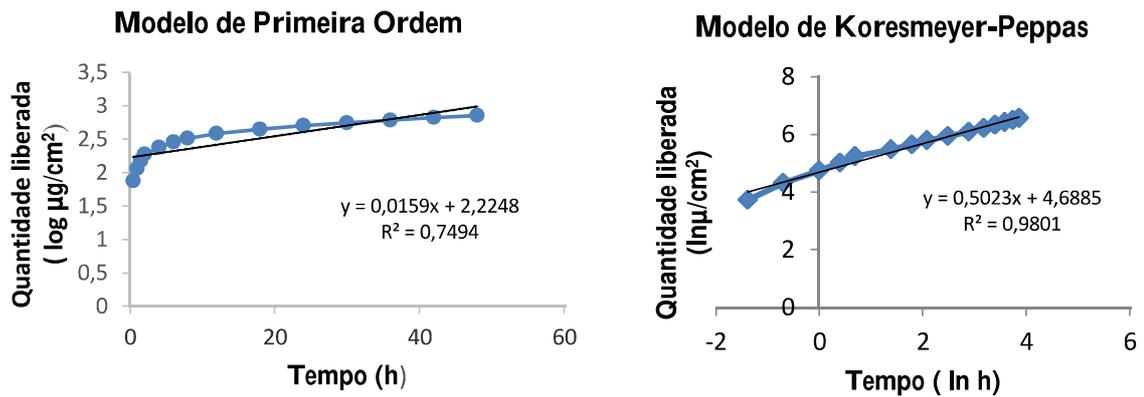


Fonte: Próprio autor

Legenda: Os modelos cinéticos testados foram de ordem zero ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Higuchi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \times \sqrt{\text{tempo}}$), Primeira Ordem ($\log \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Korsmeyer-Peppas ($\ln \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times \ln \text{tempo}$).

Figura 12. Perfil dos modelos cinéticos testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico genérico.

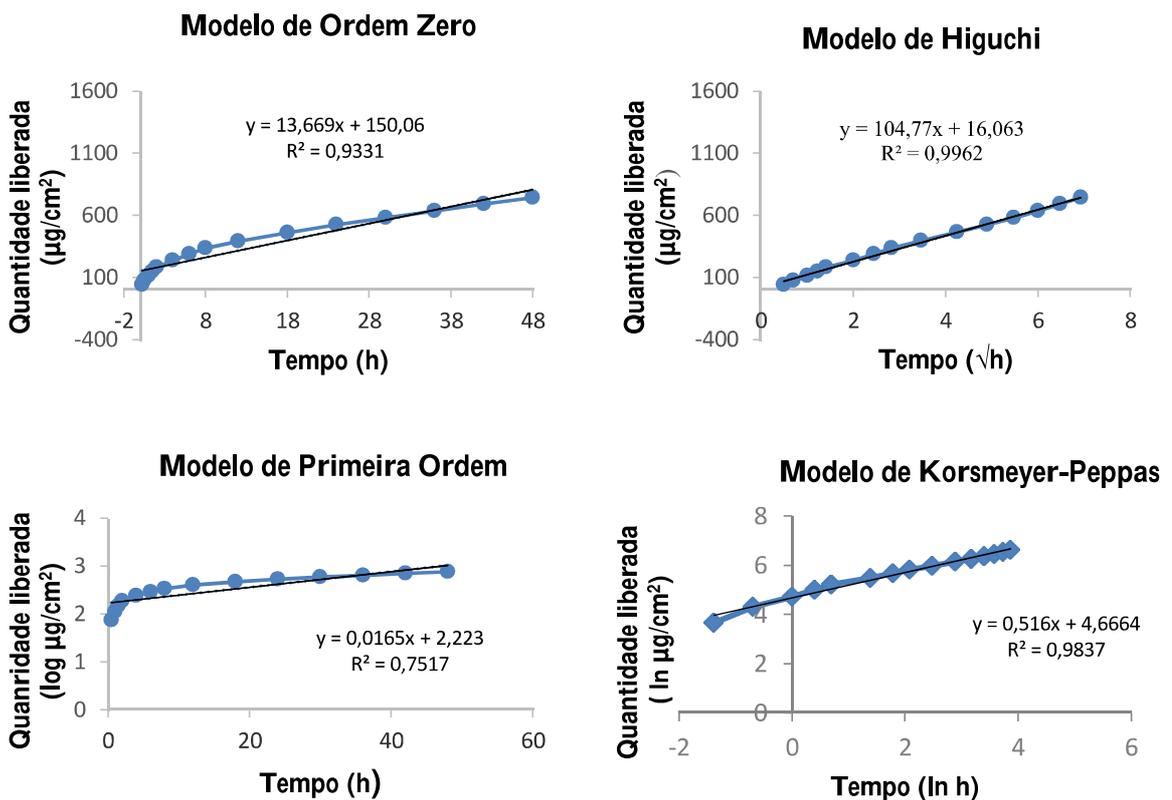




Fonte: Próprio autor

Legenda: Os modelos cinéticos testados foram de ordem zero ($\mu/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Higuchi ($\mu/\text{cm}^2 \times \sqrt{\text{tempo}}$), Primeira Ordem ($\log \mu/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Korsmeyer-Peppas ($\ln \mu/\text{cm}^2 \times \ln \text{tempo}$).

Figura 13. Perfil de modelos cinéticos de liberação testados do acetato de dexametasona no creme dermatológico de referência



Fonte: Próprio autor

Legenda: Os modelos cinéticos testados foram de ordem zero ($\mu/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Higuchi ($\mu/\text{cm}^2 \times \sqrt{\text{tempo}}$), Primeira Ordem ($\log \mu/\text{cm}^2 \times \text{tempo}$), Korsmeyer-Peppas ($\ln \mu/\text{cm}^2 \times \ln \text{tempo}$).

Tabela 6. Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico de acetato de dexametasona similar

Amostra	Modelos cinéticos	Equação da reta	Coefficiente de correlação linear (r)	Cinética de liberação escolhida
Creme dermatológico genérico	Ordem zero	$y=12,857x+151,36$	0,9643	Higuchi
	Higuchi	$y=98,648x+24,991$	0,9974	
	Primeira ordem	$y=0,0159x+2,2248$	0,8657	
	Korsmeyer-Peppas	$y=0,5023x+4,6885$	0,9900	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 7 Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico do acetato de dexametasona genérico

Amostra	Modelos cinéticos	Equação da reta	Coefficiente de correlação linear (r)	Cinética de liberação escolhida
Creme dermatológico similar	Ordem zero	$y=13,19x+158,17$	0,9636	Higuchi
	Higuchi	$y=101,3x+28,202$	0,9976	
	Primeira ordem	$y=0,0181x+2,1655$	0,8198	
	Korsmeyer-Peppas	$y=0,4903x+4,7392$	0,9914	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 8. Determinação da cinética de liberação do creme dermatológico do acetato de dexametasona de referência

Amostra	Modelos cinéticos	Equação da reta	Coefficiente de correlação linear (r)	Cinética de liberação escolhida
Creme dermatológico referência	Ordem zero	$y=13,669x+150,06$	0,9660	Higuchi
	Higuchi	$y=104,77x+16,063$	0,9981	
	Primeira ordem	$y=0,0165x+2,223$	0,8670	
	Korsmeyer-Peppas	$y=0,524x+4,6627$	0,9903	

Fonte: Próprio autor

Como visto nas Tabelas 6,7 e 8 pôde-se observar que os resultados obtidos para os cremes de acetato de dexametasona testados demonstraram uma boa linearidade para o fluxo, seguindo o modelo cinético de Higuchi. A boa linearidade foi confirmada pelo coeficiente correlação (r), onde todos os valores encontrados para este modelo foram acima de 0,99 e maior em comparação com os outros modelos cinéticos. Desta forma, a cinética Higuchi pôde ser de fato aplicada com a plotagem linear que descreve a liberação do fármaco como um processo de difusão baseado na lei de Fick, dependente da raiz quadrado do tempo (COSTA; LOBO, 2001). Este comportamento confirma a teoria de Higuchi (1960), que para os cremes e as pomadas na dissolução dessas formas farmacêuticas e de outras com uma matriz de liberação controlada, a taxa de liberação é proporcional à raiz quadrada da solubilidade do fármaco, a área de superfície exposta, a constante de difusão, inversamente o tempo.

Após a determinação do modelo cinético que as formulações seguem, foi possível determinar a velocidade de liberação (J), o *lag time* e o coeficiente de liberação (K_r). A partir de 24 h da liberação do acetato de dexametasona nas formulações foi o ponto escolhido para a resolução matemática destes parâmetros cinéticos (Tabela 9).

Tabela 9. Parâmetros cinéticos da liberação após 24h dos cremes dermatológicos do acetato de dexametasona.

Produto	Fluxo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\sqrt{\text{h}}$)	Coefficiente de correlação (r)	Lag Time (minutos)	Coefficiente de liberação (K_r) ($\text{g}/\text{cm}^2/\sqrt{\text{h}}$)	Porcentagem de liberação (%)
Similar	102,03	0,9999	25,20	0,1020	49,69%
Genérico	103,38	0,9996	17,91	0,1033	52,15%
Referência	109,23	0,9970	23,39	0,1092	55,18%

*Calculados usando os pontos após 24h

Fonte: Próprio autor.

Foi possível observar com a Tabela 9 que o creme genérico foi o que apresentou o menor *lag time*, de aproximadamente 18 minutos, enquanto que o de referência e o similar demoraram cerca de 23 e 25 minutos respectivamente para alcançar uma velocidade de liberação constante. Além de ser possível constar que a cada raiz do tempo foi capaz de liberar 0,102 0,1033 e 0,1092 g de acetato de dexametasona em 1 cm^2 pela formulação do similar, genérico e de referência, respectivamente. Este dado foi confirmado a partir do

cálculo do coeficiente de liberação (Kr).

Apesar do teste de liberação ser apenas um indicativo do desempenho das formulações quando são comparadas, observou-se que o creme dermatológico de referência se apresentou com uma maior velocidade de liberação. Apesar das divergências reduzidas, o creme similar apresentou-se com uma menor velocidade de liberação. Sendo assim, quando essas formulações são comparadas em relação à composição dos excipientes conforme demonstrado no Quadro 2, o creme dermatológico similar apresentou uma quantidade menor de promotores de permeação em sua composição. Ainda, o menor percentual de liberação do acetato de dexametasona a partir dessa formulação (Tabela 9), provavelmente está relacionado à composição dos excipientes e a afinidade do acetato de dexametasona por essa formulação, diminuído a quantidade de fármaco liberado para o meio receptor, fato perceptível nas determinações matemáticas.

Quadro 2. Composição qualitativa dos cremes dermatológicos utilizadas no estudo.

Excipiente	Função	Similar	Genérico	Referência
Acetona *	Solvente		X	
Água	Solvente	X	X	X
Álcool cetosteárilico	Emulsificante	X	X	
Álcool cetosteárilico etoxilado	Emulsificante		X	
Álcool etílico *	Conservante, solvente		X	X
Cera autoemulsionante não iônica	Emulsificante			X
Edetato dissódico	Agente quelante		X	X
Glicerol	Emoliente, umectante		X	
Metilparabeno	Conservante	X	X	X
Oleato de decila	Emoliente		X	
Petrolado líquido	Emoliente	X		
Polissorbato 60	Emulsificante, solubilizante	X		
Polissorbato 80*	Emulsificante, solubilizante		X	X
Propilenoglicol *	Emoliente, umectante	X		X
Propilparabeno	Conservante	X	X	X
Simeticona	Antiespumante		X	

*Promotores de permeação

Fonte: Próprio autor.

Após a determinação da velocidade de liberação das formulações, os cremes dermatológicos similar e genérico foram comparados com o de referência com o método não-paramétrico Wilcoxon Rank Sum/Mann-Whitney, conforme preconizado pelo guia FDA (FDA, 1997). Os valores do limite de confiança de 90% para a razão das medianas das velocidades de liberação do acetato de dexametasona estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 Comparações das formulações de creme de acetato de dexametasona com o de referência.

Creme dermatológico	Valores limites do intervalo de confiança de 90%	Conclusão*
Referência X Similar*	85,29 - 94,7%	Equivalente
Referência X Genérico*	88,24 - 99,64%	Equivalente

*Critério para equivalência: 75% -133,33% (FDA, 1997).

Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos pelo método não-paramétrico foram por sua vez comparados com o intervalo limite de 75% a 133,33% como critério de semelhança. Pôde-se então afirmar que os cremes dermatológicos do acetato de dexametasona similar e genérico puderam ser considerados equivalentes ao produto de referência.

Nos produtos semissólidos, sabe-se que a espalhabilidade está diretamente relacionada com as características reológicas da formulação, esta por sua vez consiste estabelecer relações entre as propriedades reológicas do material e sua composição, além de afetarem a liberação do fármaco e a absorção cutânea da formulação (MIERS, 2015; BRASIL, 2010). Uma seleção das matérias-primas empregadas na formulação do produto, em especial os emolientes, solventes e emulsionantes, podem proporcionar características diferenciadas aos produtos (MILESI, GUTERRES, 2002).

Considerando os dados obtidos, o creme dermatológico genérico apresentou uma maior espalhabilidade (Figura 7). Ao comparar este parâmetro com o percentual de formulação utilizada durante o experimento de liberação *in vitro*, o creme genérico utilizou apenas 23,4% da formulação inicial, para liberar 52,15% do acetato de dexametasona, diferente do similar e de referência que utilizou 33 e 28% da formulação inicial e liberou 49,69% e 55,18% do fármaco respectivamente. Esses dados estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11. Percentual do creme utilizado e de liberação através do experimento de liberação *in vitro*

Produto	Porcentagem do creme utilizado (%)	Porcentagem de liberação (%)
Similar	33,00	49,69
Genérico	23,41	52,15
Referência	28,00	55,18

Fonte: Próprio autor.

As diferenças observadas podem ser explicadas pela diferença de composição entre as formulações em estudos, estando relacionadas com a mudança das características dos produtos. O creme genérico apresentou uma quantidade maior de emolientes em comparação com as outras formulações, e estes atuam sobre a espalhabilidade melhorando-a (SIQUEIRA, 2016).

Durante o experimento de liberação *in vitro*, o creme genérico necessitou de uma quantidade inferior de formulação para liberação. Este fato pode estar relacionado à espalhabilidade, pois as formulações que apresentem uma maior espalhabilidade poderão ser utilizadas no momento da aplicação em menor quantidade, levando uma redução do consumo dessa preparação com a mesma eficácia terapêutica (BORELLA et al., 2010). Entretanto, como as formulações em estudo apresentaram-se com composições que as diferenciam, podem gerar características físico-químicas diferentes, tornando-se difícil uma comparação direta entre as formulações.

6. CONCLUSÃO

O método espectrométrico utilizado ($\lambda=241$ nm) para a quantificação da dexametasona foi validado quanto aos seus parâmetros, demonstrando que o método pode ser aplicado em outros laboratórios e em qualquer fabricante de medicamento que queira assegurar seus resultados.

Os cremes dermatológicos de acetato de dexametasona utilizados neste estudo apresentaram características físico-químicas dentro das especificações exigidas para as formulações semissólidas.

As formulações apresentaram uma boa linearidade para o fluxo na liberação *in vitro* e todas seguiram o modelo cinético de Higuchi. Já a velocidade e porcentagem de liberação da formulação de referência apresentaram-se maior quando comparada às outras formulações, podendo ser justificada pela divergência de excipientes e promotores de permeação presentes nos cremes.

A formulação do creme genérico precisou de um menor tempo para alcançar a velocidade de liberação constante e apresentou uma maior espalhabilidade, necessitando de uma menor quantidade do creme para promover a liberação do fármaco.

Porém, o teste de liberação *in vitro* fornece apenas um indício de desempenho das formulações. Sendo assim, devem ser exigidos outros critérios que possam realmente evidenciar através da composição qualitativa desses cremes, que eles sejam intercambiáveis.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, L. V. JR.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1. ed. Brasília, 2004.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, Monografia da Dexametasona V. 2. 5º edição, 2009.
- ANTI, S.M. A; GIORGI, R.D. N; CHAHADES, W.H. Antiinflamatórios hormonais: Glicocorticóides. **Einstein**, v.6, n.1, p.S159-S65, 2008.
- ARAGÃO, N.M.; VELOSO, M. C. da C.; ANDRADE, J. Validação de métodos cromatográficos de análise: um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da "Química Verde" na determinação de metilxantinas em bebidas. **Química Nova**. 2009, vol.32, n.9, pp.2476-2481.
- ARTES, G.E. **Estudo comparativo dos efeitos da dexametasona e do diclofenaco sódico sobre o processo reparativo de feridas induzidas no ventre lingual de ratos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas)- Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ARSAND, D.R. **Anti-inflamatório dexametasona: estudos de biodegradabilidade, toxicidade, ocorrência e degradação oxidativa avançada em efluente hospitalar**. 2010.146f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BABY, A.R. **Avaliação *in vitro* da permeabilidade cutânea da rutina em emulsões cosméticas** .2007. 170 f. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- BARROS, B.J. Avaliação do efeito imunodepressor da dexametasona em camundongos inoculados com bacterina de Staphylococcus aureus. **Interbio** v.5 n.1 2011.
- BARRY, B. W. Liberação transdérmica de fármacos. **Delineamento de formas farmacêuticas**. Segunda edição. Porto Alegre: Artmed,. p. 504-536. 2005.
- BASTOS, F. L. A. **Desenvolvimento e incorporação de nanocristais de dexametasona em sistemas poliméricos híbridos orgânico-inorgânicos para administração cutânea**. 2015. 138 f. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlia de Mesquita Filho”, Araraquara, 2015.
- BERGAMINI, G. **Dexametasona: interação com ácidos carboxílicos aromáticos no estado sólido**. 2008. 157 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 37, de 3 de agosto de 2011. Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. **Diário Oficial da União**, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 16, de 2 de março de 2007. Aprova o regulamento técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 60, de 10 de outubro de 2014. Critérios para a concessão e renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares. Brasil, **Diário Oficial da União**, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. **Diário Oficial**, Brasília, DF, Nº 195, terça-feira, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitário. Resolução- RDC nº17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial**, Brasília, DF, 2010.

BRASIL. lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, Dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, v.7, 1999.

BRASIL. lei nº 13.235, de 29 de dezembro de 2015. Dispõe para equiparar o controle de qualidade de medicamentos similares ao de medicamentos genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2015.

BRASIL. Medida provisória nº 2.190-34, de 23 de agosto de 2001. Altera dispositivos das Leis nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, que define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, que configura infrações à legislação sanitária federal e estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

BRASIL. Memento terapêutico. Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. – Brasília: Ministério da Saúde, 302 p. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitário. Resolução RE nº 899, 02 de junho de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos; **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2003.

BORTOLON, F.F. et al. Effect of enhancers on the *in vitro* percutaneous absorption of piroxicam from compounding formulations. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 44, n. 3, p.433-49, 2008.

COELHO, A. L. **Desenvolvimento de procedimento de derivatização fotoquímica para dois glicocorticóides sintéticos (prednisolona e triancinolona acetinado) visando à análise espectrofluorimétrica de formulações farmacêuticas**. 2004. 25f. Dissertação (Mestrado em Química), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

COSTA, P., LOBO, J. M. S. Influence of dissolution medium agitation on release profiles of sustained-release tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 27, n. 8, p. 811-817, 2001.

DRAKE, L.A; DTNEHART, S.M; FARNER, E.R et al., Guidelines of care for the use of topical glucocorticosteroids. **Journal of the American Academy of Dermatology**, , oct; 35 (4): 615-9. 1996.

FANTONI, D.T. **Tratamento da dor na clínica de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

FDA U. Guidance for Industry. Nonsterile semisolid dosage forms, scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls; in vitro release testing and *in vivo* bioequivalence documentation. Rockville: Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 1997

FERREIRA, A.O. **Guia prático da farmácia magistral**. 3.ed. São Paulo: Pharmabooks, 2008.

FERREIRA, F.S. **Estudo da encapsulação de nanopartículas magnéticas em vesículas lipídicas e poliméricas associadas ou não a fármacos esteroides**. 2008. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

FREINKEL, R.K., WOODLEY, D.T. **Skin Biology**. Taylor & Francis Group, New York, 2001.

FREITAS, Z.M.F. **Avaliação biofarmacotécnica de formulações dermatológicas semi-sólidas de cetoconazol**. 2005. 160 f. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

FRIEDRICH, M. et al. Avaliação da estabilidade físico-química de creme não iônico inscrito no Formulário Nacional. **Latin American Journal of Pharmacy**, 26(4):558-62, 2007.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P.(Ed.). **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

GOEBEL, K. **Estudo de liberação *in vitro* do diclofenaco dietilamônio em especialidades farmacêuticas**. 2012. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade Universidade do Paraná, Curitiba, 2012.

HIGUCHI, T. Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**. 85–97. 1960.

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

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, Rio de Janeiro, 2003.

JERICO, M. M. Antiinflamatórios esteróides. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

KNORST, M.T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae – marcela**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.

KOROLKOVAS, A.; DE FRANÇA, F.F.A.C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001-2002.

KORSMEYER, R. W., GURNY, R., DOELKER, E., BURI, P., PEPPAS, N. A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v.15, p. 25-35, 1983

LEITE, F. **Validação em análise química**. 5ª. ed. Campinas: Editora Átomo,. 357 p. 2008.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L.;CAMPOS, P.M.B.G. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro,2002.

LIMA, R.; COSTA, A.M.R.; SOUZA, R. D.; GOMES-LEAL, W. .Inflamação em doenças neurodegenerativas. **Revista Paraense de Medicina.**, v.21, n.2, p.29-34, 2007.

LOPEZ, R.F.V.; COLLET, J.H.; BENTLEY, M.V.L.B. Influence of cyclodextrin complexation on the *in vitro* permeation and skin metabolism of dexamethasone. **International Journal of Pharmaceutics**, v.200, p.127-132, 2000.

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**, v.38 (1), p.33-54, 2002 .

MIERES,G. **Liberação de ácido Kójico a partir de formas farmacêuticas semissólidas** 2015. 101 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade Ciências de Saúde – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MILESI, S.S; GUTERRES, S.S. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, v.18, n.2, p.81-87, 2002

MOSER, K.et. al. Permeation enhancement of a highly lipophilic drug using supersaturated systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.90, n.5, p.607-616, 2001.

MULYE, N. V., TURCO, S. J. A simple model based on first order kinetics to explain release of highly water soluble drugs from porous dicalcium phosphate dihydrate matrices. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 21, n. 8, p. 943-953, 1995.

PARFITT, N.R.et al. Bioequivalence of topical clotrimazole formulations: an improved tape stripping method. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, 2011..

Particle Sciences Technical brief, **Development and validation of in vitro release testing methods for semisolid formulations**.

Disponível:<<http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2009/in-vitro-release-testing-methods.html>>. Acesso em: 20 outubro 2017.

POPA, N. et al. Hydrogels based on chitosan-xanthan for controlled release of theophylline. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.21, p.1241-1248,2010.

PRAÇA, F.S.G. **Liberção e permeação in vitro de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e condições experimentais**. 2010.44p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas)-. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

RANG, H.P, et al. **Farmacologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory action of glucocorticoids-new mechanisms for old drugs. **The New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 16, p. 1711-1723, 2005.

RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova** vol.27, n.5, pp.771-780, 2004.

RUMEL, D.; NISHIOKA, S.A.; SANTOS, A.A.M. Intercambialidade de medicamentos: abordagem clínica e o ponto de vista do consumidor. **Revista Saúde pública**, v.40, n.5, p.921-927, 2008.

SANTIS, A.N. **Formas farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico contendo nifedipina: desenvolvimento galênico e avaliação biofarmacotécnica**. 2008. 157f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2008.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 91, n. 2, p. 82-88, 2011.

SCHUELER, R; ROMANOVSKI,P. **Iniciação à Química cosmética**. v.3, 1.Ed.Technopress, 2002.

SILVA, J. A.et al. Estudo de liberação e permeação *in vitro* do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**. 2009, vol.32, n.6, pp.1389-1393. ISSN 0100-4042.

SIQUEIRA, J. C. de. **Avaliação da estabilidade de uma emulsão cosmética cold cream contendo diferentes tipos de ceras**, 2016. Monografia (Graduação em Química Industrial) – Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 29 nov. 2016.

UEDA, C.T, et al. A. Topical and Transdermal Drug Products. **The United States Pharmacopeial Convention, Inc. Pharmacopeial Forum**, v. 35, p. 750–764, 2009.

VELASCO, M.V.R. et al. Desenvolvimento e teste preliminar da estabilidade de formulações cosméticas acrescidas do extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Bentham. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica Apl**. v.29, n.2, p.181-196, 2008.

VOET, D; VOET, J.G. **Bioquímica**. 4 ed. Porto Alegre, Artmed, 2013.

WIEDERSBERG, S.; LEOPOLD, C.S.; GUY, Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2008, 68(3): 453-466.

WOLVERTON, S.E. **Terapêutica dermatológica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

IYER, A. et al. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v.6,p; 71-87, 2010.