



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

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA**

CAMPINA GRANDE

2017

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA**

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: Farmácia

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

CAMPINA GRANDE

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 de Conclusão de Curso.

L533d Leite, Joandra Maisa da Silva.
Desenvolvimento e caracterização de um sistema microemulsionado contendo Dexametasona [manuscrito] / Joandra Maisa da Silva Leite. - 2017
52 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.

1. Fármacos - Sistemas de liberação. 2. Microemulsão. 3. Anti-inflamatório. 4. Glicocorticoide.

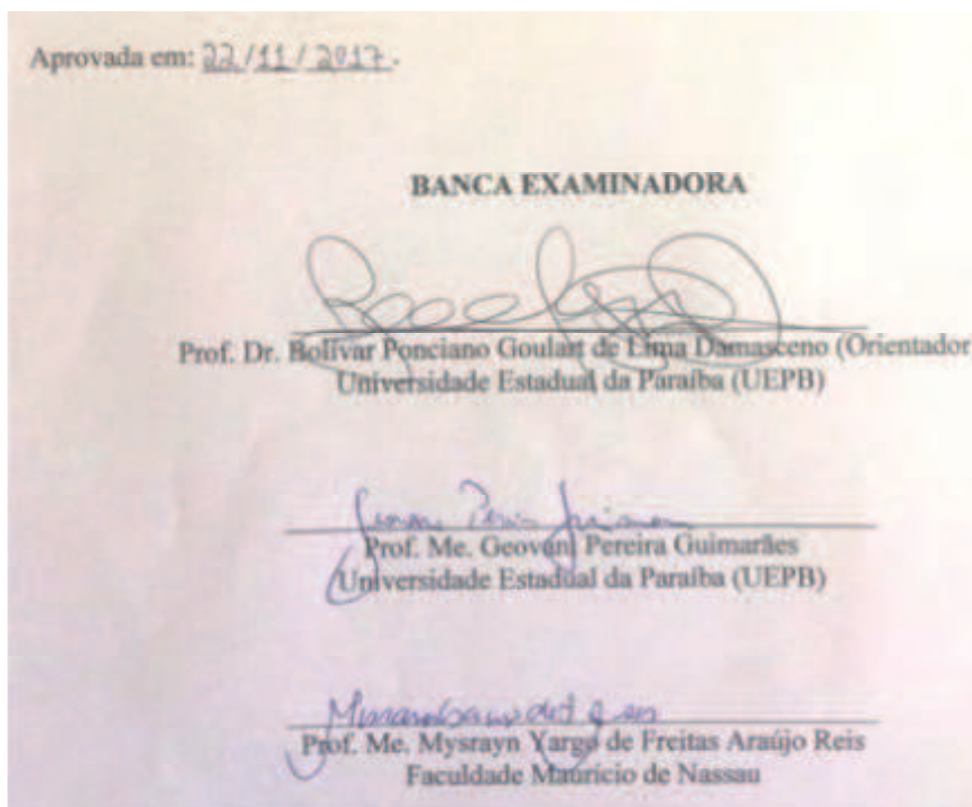
21. ed. CDD 615.1

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA
MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA

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: Farmácia



A Deus pela sua infinita bondade e à minha família,
por todo esforço e dedicação que me fizeram chegar
até aqui, dedico.

AGRADECIMENTOS

Á Deus e a Nossa Senhora, pelo o dom da vida, por me direcionar naquilo que já tinha sido planejado para minha vida.

Aos meus pais João Xavier e Nilda Silva, tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim. Por nunca medirem esforços para me dar uma boa educação. E por sempre me ensinaram agir com respeito, simplicidade, dignidade e honestidade. Mesmo distantes sempre foram meu escudo e proteção.

Ao meu irmão Johan Manoel pelo carinho, companheirismo e por estar sempre torcendo pelas minhas conquistas.

Aos meus avôs, avós, tios, tias, pelo carinho, apoio, torcida e por todas as orações em meu favor.

Ao meu orientador Bolívar P. G. de L. Damasceno pela sua competência, paciência. Seus ensinamentos foram essenciais para minha formação.

Ao professor Geovani Guimarães por sua disponibilidade, humildade e por sempre estar disposto a ajudar.

Ao professor Yargo Araújo por todo o auxílio, paciência e contribuições ao longo deste trabalho.

As minhas amigas Larissa, Alana, Renaly e Juliana, verdadeiros presentes que ganhei durante a graduação, sou muito feliz por ter conhecido vocês. Esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

As meus primos Maria Luíza, Ana Larissa, Albertinho, Sheyla que sempre estiveram presentes, ainda que à distância me apoiando, incentivando e sem contar os momentos de distração.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos, Larissa, Vandiará, Airlla, Lucas, Davidson, Livia, pelo o auxílio e colaboração prestada.

A todos os meus colegas de turma, por todos os momentos vividos em meio a toda pressão. Sei da capacidade de cada um. Sucesso a todos!

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

A todos, o meu muito obrigada!

RESUMO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA

¹ Joandra Máisa da Silva Leite; ² Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

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

¹ joandramaisa@hotmail.com

Nos últimos anos tem-se aumentado em um ritmo mais acelerado os estudos e o número de produtos farmacêuticos fundamentado nos novos sistemas de liberação de fármacos. As microemulsões (MEs) são de grande interesse como sistemas potenciais de liberação de fármacos devido à sua facilidade de preparação, clareza, baixa viscosidade, estabilidade e capacidade de incorporar fármacos de diferentes solubilidades. A dexametasona (DEXA) é um fármaco com atividade glicocorticóide e anti-inflamatória, seu uso contínuo na forma sistêmica e/ou tópica, acarreta o surgimento de efeitos indesejáveis. A utilização de ME visa formar um sistema com que possa incorporar a DEXA com o intuito de aumentar a sua eficácia e, conseqüentemente, diminuir os seus efeitos adversos. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um sistema microemulsionado para veiculação tópica da DEXA, como também realizar as análises de doseamento, eficiência de encapsulação (EE), estabilidade preliminar e caracterização físico-química, contemplando as análises de: aspecto macroscópico, pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta. O diagrama de fases pseudoternário (DFPT) foi construído utilizando a mistura de tensoativosna (Labrasol[®]/Brij[®] 52) na proporção de 9:1, tendo como fase oleosa o miristrato de isopropila e como fase aquosa a água deionizada. A partir da obtenção do DFPT foram selecionadas duas formulações classificadas visualmente como ME. A DEXA foi incorporada aos sistemas na concentração de 0,1% (m/m). A ME 1-DEXA obteve EE de 100%, enquanto a ME 2-DEXA obteve EE de 98%. Macroscopicamente os sistemas apresentaram-se como líquidos, transparentes, límpidos e homogêneos. Todas as formulações apresentaram pH dentro da faixa adequados para o uso tópico. No estudo de condutividade elétrica foram indicados MEs com estrutura do tipo O/A. Quanto ao tamanho médio de gotículas os valores foram inferiores a 100 nm estando dentro da faixa de tamanho proposto para ME. O índice de polidispersão indicou sistemas estáveis e monodispersos. O potencial zeta demonstrou que agregação de gotículas nos sistemas de ME não é esperada. E os sistemas demonstraram estabilidade preliminar. Portanto, os sistemas microemulsionados propostos foram capazes de incorporar a DEXA, sendo assim uma alternativa promissora a fim de aumentar a eficácia e conseqüentemente reduzir os efeitos adversos produzidos pela DEXA.

Palavras-Chave: Novos Sistemas de liberação de fármacos. Anti-inflamatório. Glicocorticóide. Caracterização físico-química. Estabilidade preliminar.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF A MICROEMULSIONED SYSTEM CONTAINING DEXAMETHASONE

¹ Joandra Máisa da Silva Leite; ² Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

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

¹ joandramaisa@hotmail.com

Studies and the number of pharmaceuticals based on new drug delivery systems have been increasing at a faster pace in recent years. Microemulsions (MEs) are of great interest as potential drug delivery systems because of their ease of preparation, clarity, low viscosity, stability and the ability to incorporate drugs of different solubilities. Dexamethasone (DEXA) is a drug with glucocorticoid and anti-inflammatory activity, its continuous use in the systemic and / or topical form, causes undesirable effects. The purpose of ME is to form a system with which it can incorporate DEXA in order to increase its effectiveness and, consequently, to reduce its adverse effects. The aim of the present work was to develop a microemulsion system for the topical delivery of DEXA, as well as the analysis of dosing, encapsulation efficiency (EE), preliminary stability and physico-chemical characterization, including macroscopic appearance, pH, conductivity electric ratio, refractive index, mean droplet size, polydispersity index and zeta potential. The pseudo-ternary phase diagram (DFPT) was constructed using the 9: 1 surfactant blend (Labrasol® / Brij® 52), having as the oil phase the isopropyl myristat and the deionized water as the aqueous phase. From the DFPT, two formulations were classified visually as ME. DEXA was incorporated into the systems at the concentration of 0.1% (w/w). ME 1-DEXA obtained EE of 100%, while ME 2-DEXA obtained EE of 98%. Macroscopically the systems were presented as liquid, transparent, clear and homogeneous. All formulations presented pH within the range suitable for topical use. In the study of electrical conductivity MEs with O/W type structure were indicated. Regarding the mean droplet size, the values were lower than 100 nm being within the proposed size range for ME. The polydispersity index indicated stable and monodisperse systems. The zeta potential demonstrated that droplet aggregation in ME systems is not expected. And the systems showed preliminary stability. Therefore, the proposed microemulsion systems were able to incorporate DEXA, thus being a promising alternative in order to increase the effectiveness and consequently reduce the adverse effects produced by DEXA.

Keywords: New Drug Release Systems. Anti-inflammatory. Glucocorticoid. Physical-chemical characterization. Preliminary stability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 1 – | Tipos de ME esquematizadas pela fase oleosa (cinza), pela fase aquosa (branca) e por um filme interfacial de tensoativo/cotensoativo..... | 18 |
| Figura 2 – | Classificação de Winsor..... | 19 |
| Figura 3 – | Esquema do efeito da temperatura (T) e da concentração de tensoativo no tipo de ME..... | 19 |
| Figura 4 – | Representação esquemática de um tensoativo..... | 21 |
| Figura 5 – | Representação esquemática dos tensoativos..... | 21 |
| Figura 6 – | Representação de um diagrama de fases pseudo-ternário..... | 24 |
| Figura 7 – | Estrutura química da dexametasona..... | 25 |
| Figura 8 – | Diagrama de fases pseudoternário..... | 33 |
| Figura 9 – | Aspecto macroscópico das formulações..... | 37 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Tipos de emulsão e suas características..... | 17 |
|---|----|

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 – | Composição percentual (m/m) das formulações selecionadas..... | 34 |
| Tabela 2 – | Doseamento da DEXA no sistema microemulsionado..... | 37 |
| Tabela 3 – | Eficiência de encapsulação da DEXA nos sistemas microemulsionados..... | 36 |
| Tabela 4 – | pH, condutividade elétrica e índice de refração..... | 37 |
| Tabela 5 – | Tamanho médio de gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta..... | 39 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|--|
| ANVISA | Agência de Vigilância Sanitária |
| A/O | Água em óleo |
| DEXA | Dexametasona |
| DFPT | Diagrama de fases pseudo-ternário |
| DLS | Espalhamento dinâmico de luz |
| EE | Eficiência de encapsulação |
| EHL | Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo |
| ELL | Emulsão líquido leitosa |
| ELO | Emulsão líquido opaca |
| G | Energia livre de Gibbs |
| IR | Índice de refração |
| ME | Microemulsão |
| MEs | Microemulsões |
| ME-BRANCA | Microemulsão sem dexametasona |
| ME-DEXA | Microemulsão com dexametasona |
| MIP | Miristato de isopropilo |
| O/A | Óleo em água |
| SF | Separação de fases |
| ST | Sistema transparente |
| TMG | Tamanho médio de gotículas |
| UV-Vis | Espectrofotometria no ultravioleta-visível |
| Y _i | Tensão interfacial |
| λ | Comprimento de onda |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 14 |
| 2.1 Objetivo Geral | 14 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 15 |
| 3. REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 3.1 Os novos sistemas de liberação de fármaco | 15 |
| 3.2 Microemulsão | 16 |
| 3.3 Constituintes da microemulsão | 20 |
| 3.3.1 Água | 20 |
| 3.3.2 Fase Oleosa | 20 |
| 3.3.3 Tensoativos | 20 |
| 3.4 Formação das microemulsões | 22 |
| 3.5 Diagrama de fases | 24 |
| 3.6 Dexametasona | 25 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 27 |
| 4.1 Materiais | 27 |
| 4.2 Métodos | 27 |
| 4.2.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário | 27 |
| 4.2.2 Seleção das formulações | 28 |
| 4.2.3 Incorporação da dexametasona nas formulações | 28 |
| 4.2.4 Quantificação da dexametasona em sistemas microemulsionados | 28 |
| 4.2.4.1 Doseamento da Dexametasona no sistema microemulsionado | 28 |
| 4.2.4.2 Eficiência de encapsulação | 29 |
| 4.2.5 Caracterização físico-química e morfológica das formulações | 29 |
| 4.2.5.1 Análise macroscópica | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.5.2 Determinação do pH..... | 29 |
| 4.2.5.3 Determinação da Condutividade Elétrica | 30 |
| 4.2.5.4 Índice de Refração | 30 |
| 4.2.5.5 Tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta..... | 30 |
| 4.2.6 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações | 30 |
| 4.2.6.1 Teste de centrifugação | 30 |
| 4.2.6.2 Estresse térmico | 31 |
| 4.2.6.3 Ciclo gelo/degelo | 31 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| 5.1 Construção de diagramas de fases | 32 |
| 5.2 Seleção das formulações | 34 |
| 5.3 Incorporação da dexametasona nas formulações | 34 |
| 5.4 Quantificação da dexametasona nos sistemas microemulsionados | 35 |
| 5.4.1 Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado | 35 |
| 5.4.2 Eficiência de encapsulação | 35 |
| 5.5 Caracterização físico-química e morfológica das formulações..... | 36 |
| 5.6 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações..... | 40 |
| 5.6.1 Teste de centrifugação | 40 |
| 5.6.2 Estresse térmico | 40 |
| 5.6.3 Ciclo Gelo-Degelo | 40 |
| 6. CONCLUSÃO | 42 |
| REFERÊNCIAS..... | 43 |
| ANEXO | 49 |

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se aumentado em um ritmo mais acelerado os estudos e o número de produtos farmacêuticos fundamentado nos novos sistemas de liberação de fármacos. Este consiste em métodos e formulações tecnológicas a fim de transportar um composto farmacêutico, diminuindo a incidência de efeitos adversos e aumentando o índice terapêutico através de liberação controlada em sítios específicos (MATOS, 2016).

A nanotecnologia farmacêutica é a área das ciências farmacêuticas que tem como objetivo desenvolver, caracterizar e aplicar sistemas terapêuticos em escala nanométrica ou micrométrica. Dentre os sistemas farmacêuticos nanotecnológicos tem se destacado a microemulsão (ME) que é um sistema transportador de fármacos com grande potencial de aplicabilidade na área farmacêutica (PATRIOTA, 2015).

As microemulsões (MEs) pode ser definida como dispersões termodinamicamente estáveis de dois líquidos imiscíveis, estabilizados por películas interfaciais de moléculas de tensoativos. Nos últimos anos, as MEs têm atraído uma quantidade considerável de interesse como sistemas potenciais de liberação de fármacos, devido à sua facilidade de preparação, clareza, baixa viscosidade, estabilidade, aumento da solubilidade do fármaco e incorporar uma vasta gama de fármacos com diferentes solubilidades (PINEROS et al., 2017).

Um sistema microemulsionado para ser formado, envolve a combinação de três componentes, tais como tensoativo, água, óleo e se necessário, o co-tensoativo. Este sistema tem como vantagens a proteção do fármaco contra possíveis instabilidades no organismo, redução da toxicidade, liberação controlada de fármaco, possibilidade de incorporação de moléculas hidrofílicas e lipofílicas, diminuição da dose e número de administração e maior adesão do paciente a terapia (PATRIOTA, 2015).

A dexametasona (DEXA) é um corticosteroide sintético, com propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras, frequentemente utilizado como um agente anti-inflamatório, como também para tratar a alergia e doenças relacionadas à insuficiência do córtex adrenal (NEBSEN et al., 2013).

O uso contínuo de DEXA, na forma sistêmica e/ou tópica, pode provocar o aparecimento de reações adversas como exacerbação das lesões, afinamento da pele, estrias, eritema, hipertensão arterial, acne, aumento de peso, telangiectasias, hipopigmentação e efeito rebote após a interrupção do tratamento (FERRONY, 2012). Para diminuir a ação desses efeitos indesejáveis é preciso controlar a permeação desta classe de fármaco e aumentar a sua retenção cutânea (VEDOVATO, 2011). Portanto, a utilização de ME visa formar um sistema para incorporação da DEXA com o intuito de aumentar a sua eficácia.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar um sistema transportador de fármacos baseado em microemulsão para veiculação da dexametasona para uso tópico.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver e utilizar um diagrama de fases pseudo-ternário para obtenção de possíveis regiões de formação de sistemas opticamente transparentes;
- Selecionar dois sistemas opticamente transparentes para incorporar a dexametasona;
- Quantificar a dexametasona no sistema microestruturado bem como avaliar a eficiência de encapsulação;
- Caracterizar físico-quimicamente e morfológicamente os sistemas obtidos, contemplando as análises de: aspecto macroscópico, pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta;
- Avaliar a estabilidade preliminar dos sistemas obtidos, através dos ensaios de centrifugação, estresse térmico e ciclo gelo/degelo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Os novos sistemas de liberação de fármaco

Nos últimos anos tem-se aumentado num ritmo mais acelerado o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos. Estes produtos têm como finalidade de transportar um composto farmacêutico ao seu sítio específico, aumentando a eficácia terapêutica e reduzindo a toxicidade dos fármacos, conseqüentemente diminuindo a incidência de efeitos adversos e assim levando a uma maior adesão do paciente ao tratamento (BARROS, 2013).

A produção e o desenvolvimento dos sistemas de liberação de fármaco envolvem a produção destes sistemas em escala nanométrica ($10^{-9} = 1\text{nm}$). Neste âmbito envolve-se a nanotecnologia que é a ciência e tecnologia que consiste na habilidade de se trabalhar em nível atômico, molecular e macromolecular a fim de elaborar materiais, dispositivos e sistemas com propriedades e aplicações fundamentalmente novas (ASSIS, 2014).

A nanotecnologia nos últimos anos tem gerado um grande impacto em várias áreas de pesquisa. A concordância da nanotecnologia com outras disciplinas como as ciências farmacêuticas e medicamentos, ciência dos materiais, biologia celular e molecular resultaram em uma revolução tecnológica, que gerará um maior impacto no futuro devido às suas potenciais aplicações no diagnóstico, prevenção e tratamento de doenças (AGIRRE; CASTREJÓN; MÉNDEZ, 2016).

Os agentes terapêuticos modernos associados à nanotecnologia se mostram uma alternativa promissora para melhorar a efetividade de fármacos. Com isso foram desenvolvidos nanosistemas carreadores de fármacos, a fim de melhorar a eficácia terapêutica de certas drogas (GARCIA, 2014). Os principais nanosistemas de carreamento e liberação de fármacos de objeto de investigações na indústria farmacêutica são: ME, nanoemulsão lipossomas, micelas, dendrímeros, nanotubos de carbono, nanopartículas, nanocristais, conjugado polímero-droga, sistemas de distribuição de genes, entre outros (COSTA et al., 2014).

Segundo Irache (2008) os novos sistemas de liberação de fármacos têm como vantagens: proteger a molécula contra eventual degradação, encapsulando-a, desde o momento da administração no paciente, até atingir o seu local de ação; capacidade de atravessar barreiras biológicas tais como a pele, mucosa respiratória ou gastrointestinal, como também a barreira hemato-encefálica; eficiência em alcançar órgãos, tecido ou grupo de células, onde a molécula alvo tem de exercer a sua ação; competência de atingir compartimentos intracelulares; controlar a liberação da molécula ativa no seu local de ação.

3.2 Microemulsão

As emulsões são dispersões de duas fases líquidas imiscíveis entre si (usualmente água e óleo) estabilizadas pela presença de agentes tensoativos, localizados na interface óleo/água. Dependendo do tamanho do glóbulo formado e do processo utilizado, as emulsões podem ser classificadas em MEs, nanoemulsões e macroemulsões (Quadro 1) (PASCOA, 2012).

Quadro 1. Tipos de emulsão e suas características.

| Emulsão | Tipos | Tamanho da gota (diâmetro) | Energia necessária | Estabilidade |
|---------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------------|---------------|
| Macroemulsão | O/A ou A/O | >400 nm | Sim | Cinética |
| Nanoemulsão | O/A ou A/O | 100–400 nm | Sim | Cinética |
| Microemulsão | Tipo I: Bifásico O/A | 10–100 nm | Não | Termodinâmica |
| | Tipo II: Bifásico A/O | | | |
| | Tipo III: Trifásico bicontínuo | | | |
| | Tipo IV: monofásico | | | |

Fonte: CALLENDER et al., 2017.

Segundo Callender et al. (2017) as MEs foram reconhecidas em 1943, depois que Hoar e Schulman misturaram uma solução de aspecto leitoso com hexanol para produzir uma solução uniforme não-condutora. A primeira aplicação comercial de ME foi na formulação de ceras líquidas, descoberto por Rodawald em 1928. Em 1970, a pesquisa de ME atingiu o pico devido à sua aplicação na recuperação de petróleo.

As MEs atraem considerável atenção em vista de seu uso em muitos produtos, como tintas, refrigerantes, loções pós-barba, refrescantes bucais, substituintes do sangue, cosméticos e como carreadores de fármacos. No campo farmacêutico como carreador de fármacos as MEs atuam incrementando a solubilização, dissolução e biodisponibilidade de fármacos, além de permitirem liberação prolongada de fármacos pela via oral, parenteral, tópica, pulmonar, ocular e vaginal (DAMASCENO et al., 2011).

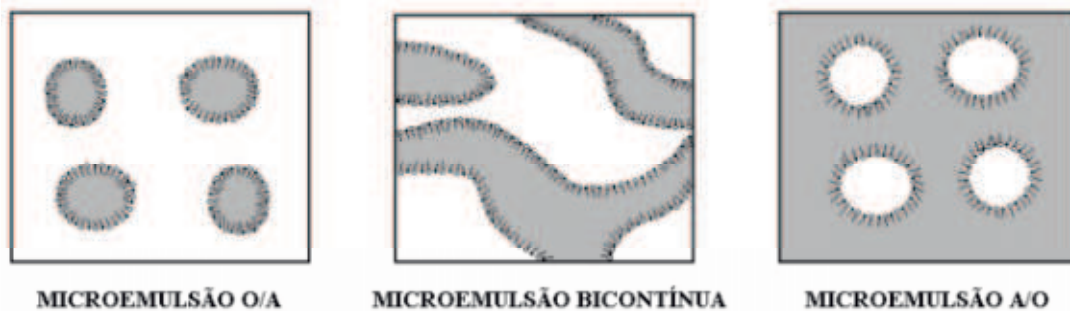
As ME são sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicas, opticamente transparentes. Uma mistura líquida de dois fluidos não miscíveis, tipicamente óleo e água, estabilizadas pelo tensoativo e, em alguns casos, por um co-surfactante adicional. Apresentam

uma baixa tensão interfacial, combinada com uma área interfacial alta entre os fluídos não miscíveis (OBERDISSE; HELLWEG, 2017).

As ME podem apresentar dois tipos principais de estruturas, a primeira constituída de pequenas gotículas de água dispersas em óleo, denominada de ME (A/O), e a segunda composta de gotas de óleo dispersas em água, chamada de ME (O/A), observar as estruturas na Figura 1. As micelas conhecidas como microrreatores, são estabilizadas utilizando um ou mais tensoativos. Quando as micelas se colidem, se fundem e são separadas de forma periódica, é formado a ME bicontínua, como pode ser observado na Figura 1 (REYES; OLVERA, 2018).

Figura 1. Tipos de microemulsão.

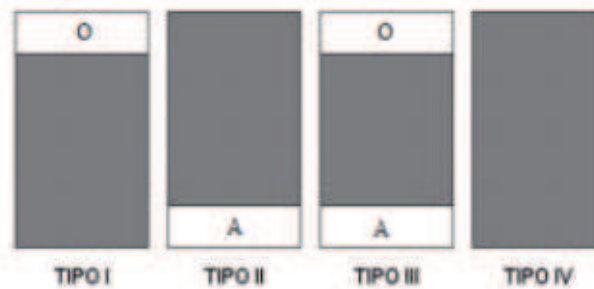
Fonte: DAMASCENO et al., 2011.



Legenda: As estruturas esféricas representam a fase de ME contendo micelas formadas por um filme interfacial de tensoativo/cotensoativo, as regiões cinzas representam a fase oleosa e as regiões branca representam a fase aquosa

Winson, 1948, propôs uma classificação que define os vários equilíbrios existentes entre a ME e as fases aquosa e oleosa. Os sistemas podem ser classificados em quatro tipos: Winsor I, II, III e IV, representados na Figura 2 (DAMASCENO et al., 2011). Um sistema Winsor I ocorre quando apenas uma pequena parcela da fase oleosa está em equilíbrio com a ME, apresentando um excesso de óleo na porção superior, formando um sistema bifásico. No tipo II, também bifásico, uma pequena parcela da fase aquosa está em equilíbrio com a ME, exibindo um excesso de água na parte inferior. No tipo III, a ME está em equilíbrio com excesso tanto de óleo quanto de água, formando um sistema trifásico. E por último, o tipo Winson IV, ocorre quando não há excesso de fase aquosa ou oleosa, formando um sistema homogêneo e monofásico (OLIVEIRA, 2014).

Figura 2. Classificação de Winsor.

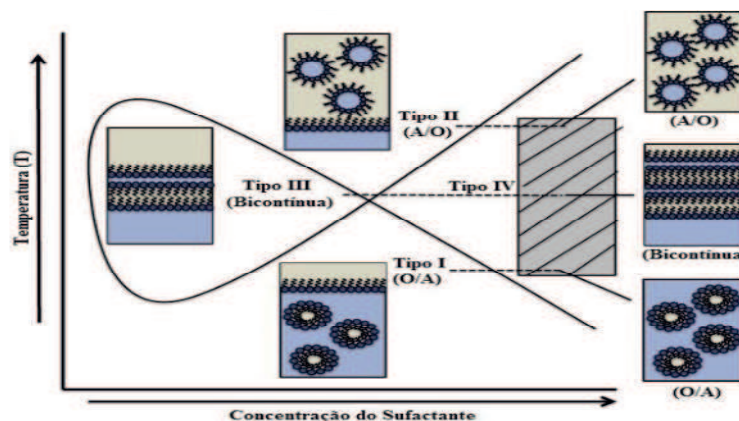


Fonte: Adaptado de (DAMASCENO et al., 2011).

Legenda: As regiões cinza representam as MEs, a regiões branca destacada pela letra “O” representa o excesso de óleo na porção superior, enquanto que as regiões branca destacada pela letra “A” representa o excesso de água na parte inferior.

Dependendo do tipo de tensoativo utilizado, as ME podem fazer uma transição entre cada tipo com bastante facilidade. Uma simples alteração na temperatura, aumento ou diminuição da concentração do tensoativo, ou até mesmo a mudança do tensoativo, por exemplo de um tensoativo não-iônico para um tensoativo iônico, podem mudar o tipo de ME (CALLENDER et al., 2017). As ME seguem a tendência do diagrama de peixes representado na Figura 3.

Figura 3. Esquema do efeito da temperatura (T) e da concentração de tensoativo no tipo de ME.



Fonte: Adaptado de (CALLENDER et al., 2017).

Legenda: As estruturas esféricas representam a fase de ME contendo micelas, as regiões amarelas representam o óleo e as regiões azuis representam a água.

Os vetores para o fornecimento de fármaco como as ME estão associadas a várias vantagens como a melhoria da solubilização do fármaco, a proteção contra a hidrólise enzimática, a absorção aumentada devido à permeabilidade induzida pelo tensoativo, a penetração aumentada de substâncias hidrofílicas, hidrofóbicas e anfílicas, maior mobilidade e melhoraram a biodisponibilidade de fármacos hidrofóbicos (KAUR; MEHTA, 2017).

3.3 Constituintes da microemulsão

3.3.1 Água

A água é considerada um solvente anfiprótico neutro estruturado, tendo como característica de apresentar auto associação entre as moléculas através de ligação hidrogênio, mantendo a estrutura cristalina do estado sólido a distâncias da ordem de grandeza molecular (SILVA et al., 2015).

Em sistemas estabilizados com tensoativos, como as ME, a água é comumente utilizada. Além de água, na fase aquosa de ME também pode ser utilizado soluções salinas, além disso, pode conter aditivos, como tampões, antibactericidas e agentes isotônicos (OLIVEIRA, 2014).

3.3.2 Fase Oleosa

O tamanho das moléculas de óleo e a sua polaridade influenciam na formação de ME. Estas para serem formadas, as moléculas da fase oleosa tem que está associada para assim penetrar no filme interfacial do tensoativo. Para facilitar a interação da fase oleosa com filme interfacial do tensoativo, o tamanho da molécula de óleo não deve ser muito grande ou pelo menos conter ligações insaturadas (OLIVEIRA, 2014).

Segundo Silva et al. (2015) o tamanho da cadeia alquílica do óleo influencia fortemente a distribuição do surfactante nas fases óleo e água, bem como a composição e as propriedade físico-químicas das microemulsões. O emprego de óleos de cadeias carbônicas longas é favorecido quando se há presença de surfactante não-iônicos e catiônicos.

O miristato de isopropila (MIP) $C_{17}H_{34}O_2$ é um óleo lipofílico não tóxico e biocompatível, amplamente utilizado em formulações cosméticas e farmacêuticas e em sistemas de administração de fármacos. Tem solubilidade baixa na água, mas esta pode ser melhorada por meio dos novos sistemas de liberação, como a ME (ZHANG et al., 2017).

3.3.3 Tensoativos

Os tensoativos ou surfactantes são compostos orgânicos com comportamento anfífilicos, orgânicos ou organometálicos, isto é, substâncias caracterizadas pela presença em suas estruturas moleculares de duas regiões, uma polar e hidrofílica e outra apolar e hidrofóbico (Figura 4) que possibilitam a interação entre meios que apresentam polaridades diferentes como água e óleo (SILVA et al., 2015).

Figura 4. Representação esquemática de um tensoativo.



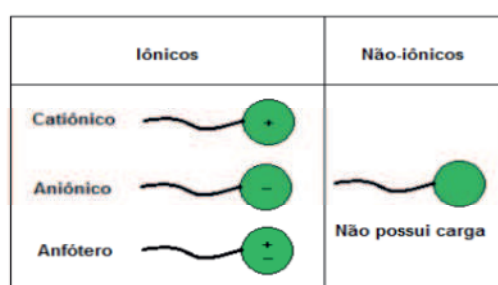
Fonte: CRUZ, 2013.

Os surfactantes atuam reduzindo a tensão interfacial entre o óleo e a fase aquosa. Este processo de redução ocorre com a diminuição da energia livre e aumento da área interfacial, permitindo a dispersão de um componente no outro (REYES; OLVERA, 2018).

Caso necessário, em MEs utiliza-se co-tensoativo, que são responsáveis pela redução adicional da tensão interfacial e superficial entre a água e o óleo, além de aumentar a flexibilidade do sistema, proporcionando a redução máxima do tamanho das gotículas da fase interna, ampliando assim as regiões de ME (OLIVEIRA, 2014).

Um tensoativo típico possui a estrutura R-X, onde R pode ser uma cadeia de hidrocarboneto variando de 8 –18 átomos (normalmente linear) e X é o grupo cabeça, polar (ou iônico), sendo esta a porção que o irá classificar. Dependendo de X, os tensoativos podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros, conforme ilustrado na Figura 5 (CRUZ, 2013).

Figura 5. Representação esquemática dos tensoativos.



Fonte: CRUZ, 2013

Os tensoativos catiônicos possuem grupamentos ionizáveis em fase aquosa, fornecendo íons com carga positiva, como exemplo prático têm-se os sais de amônio quaternário. Enquanto os tensoativos aniônicos apresentam grupos ionizáveis na fase aquosa e uma vez dissociados em água formam íon com carga negativa (VALE, 2009). Os tensoativos aniônicos são os mais baratos de se fabricar, sendo assim a classe mais produzida

mundialmente. E os mais importantes representantes deste grupo são os sabões sulfonados e sulfatados (CRUZ, 2013).

Os tensoativos anfóteros possuem caráter iônico duplo, ou seja, se comporta como tensoativo aniônico quando se encontra em um meio com altos valores de pH, e como tensoativo catiônico em meios com baixos valores de pH (pH > 4: catiônicos; pH de 4 a 9: não iônicos; pH entre 9 e 10: aniônicos), e os representantes desta classe são os aminoácidos e as betaínas (SANTOS, 2014).

Já os tensoativos não iônicos têm como característica não formar íons em solução aquosa e sua solubilidade em água se deve à presença de grupos funcionais que possuem forte afinidade pela água, como alcoóis, glicóis, éteres e ésteres. É a segunda maior classe de tensoativos produzidos, e são derivados de polioxietileno e polioxipropileno (CRUZ, 2013). Como exemplo de tensoativos não-iônicos: Brij[®] 52 (éter hexadecílico de polietilenoglicol), Labrasol[®] (PEG-8 cáprico/caprílico glicerideo), Triton[®] (tercotil fenol), Tween[®] 80 (mono-oleato de sorbitano), Tween[®] 60 (monoestearato de sorbitano), entre outros (SILVA et al., 2015).

3.4 Formação das microemulsões

Historicamente existem três teorias para explicar os fenômenos que levam a formação de uma ME, são elas: teoria de solubilização, teoria da tensão interfacial e a teoria termodinâmica (GUIMARÃES, 2013).

A mais simples das teorias, é a teoria da solubilização, que diz que a formação de uma ME ocorre simplesmente por meio de um intumescimento de micelas, no qual a água é solubilizada nas micelas reversas ou o óleo é solubilizado em micelas normais (DAMASCENO et al., 2011).

Uma tensão interfacial (γ_i) muito baixa ($\gamma < 10^{-3}$ dina/cm) é um pré-requisito para a formação de ME. A teoria da tensão interfacial propõe que à medida que o número de moléculas de tensoativo aumenta por unidade de área na interfase O/A elas começam a se comprimirem, umas ao lado das outras, desenvolvendo uma pressão lateral bidimensional (ASSIS, 2014). Esse fenômeno pode ser expresso na Equação 1:

$$\gamma_i = (\gamma_{O/A})a - \pi \quad (1)$$

Onde:

$(\gamma_{O/A})a$: é a tensão interfacial O/A após o potencial químico do tensoativo em cada fase ter sido equalizado por partição.

Com o aumento da área interfacial por um aumento π , a γ_i se aproxima do zero favorecendo a dispersão de uma fase na outra. Esse resultado indica que os tensoativos de caráter muito hidrofílicos ou lipofílicos são inapropriados para a formulação de ME, mesmo com ajuda de co-tensoativos, pois mesmo com a adição desses compostos, a tensão interfacial não diminuirá suficientemente para a formação de um sistema microemulsionado (DAMASCENO et al., 2011).

Deve considerar o conceito de Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL), que é um parâmetro empírico representativo do conteúdo de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos de um tensoativo. O valor de EHL pode indicar a preferência de migração do tensoativo na interfase O/A, promovendo um caminho simples para a seleção do tensoativo de acordo com o tipo de ME desejado. Outro fator de influência é a posição geométrica dos tensoativos na interfase em termos de seus efeitos na curvatura e na fluidez da interface. A tensão interfacial de uma ME é muito baixa (2 a 10 mN/m) e a utilização de agentes co-tensoativos proporciona uma redução a mais da tensão (GUIMARÃES, 2013).

A teoria termodinâmica leva em consideração a energia livre de Gibbs (G) de acordo com a segunda Lei da Termodinâmica, no qual o G deve se tornar negativa para a formação espontânea de uma ME termodinamicamente estável (OLIVEIRA, 2014). Este fenômeno, em condições de temperatura constante, pode ser descrito pela Equação 2:

$$\Delta G = \gamma_i \times \Delta S \quad (2)$$

Onde:

ΔS – a diferença entre a área interfacial.

γ_i – a tensão interfacial entre a fase aquosa e oleosa à temperatura, volume e número de moles constante.

A área interfacial não pode ser zero, assim a tensão interfacial deve reduzir a um ponto que a energia livre do sistema também reduza. Para a formação da ME, a γ_i , tem uma tendência para se aproximar de zero; conseqüentemente, a variação de energia livre também tende a zero e, com isso, o sistema fica estável termodinamicamente ($\Delta G \rightarrow 0$). Quando a γ_i for negativo, ΔG será < 0 e a microemulsificação será espontânea (DAMASCENO et al., 2011).

A formação de ME é um processo espontâneo fortemente ligado à natureza do tensoativo e a natureza das fases. A estabilidade e termodinâmica dos sistemas microemulsionados é decorrente a combinação da redução da tensão interfacial e do aumento da entropia do sistema decorrente do tamanho reduzido das gotículas da fase dispersa (AUM, 2016).

3.5 Diagrama de fases

A construção do diagrama de fases é uma ferramenta ideal para caracterizar o domínio das regiões de ME, onde a interpretação leva a escolha de uma região que possua características como composição e viscosidade adequadas para uma melhor incorporação do fármaco (GUIMARÃES, 2013).

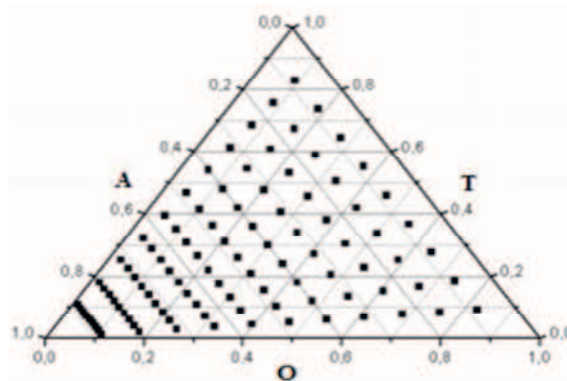
As formulações de ME comumente são desenvolvidas utilizando diagramas de fases pseudo-ternário (DFPT). Estes apresentam a forma de um triângulo equilátero, onde cada vértice representa um componente da ME, e a concentração de cada componente varia de 0 a 100%. Sua análise possibilita identificar os componentes mais adequados e suas proporções relativas para a obtenção de sistemas fisicamente estáveis e encontrar as regiões de transição entre emulsões, fases separadas e MEs (SILVA et al., 2015).

Os DFPT são geralmente construídos em duas dimensões a partir de dados obtidos por titulação ou pela preparação de um amplo número de amostras de diferentes composições. A vantagem do método de titulação é que ele pode ser usado para estudar um amplo número de amostras de diferentes composições (DAMASCENO et al., 2011).

Os sistemas obtidos no DFPT são diferenciados visualmente, onde se apresentam como emulsões líquido opacas, emulsões géis opacos, sistemas de viscosidade elevada, separação de fases, e sistemas translúcidos ou opticamente transparente. Este último é característico de ser um sistema microemulsionado (ASSIS, 2014).

As propriedades dos triângulos equiláteros devem ser extremamente exploradas, ou seja, a soma dos lados perpendiculares de um determinado ponto no triângulo é igual a sua altura. A Figura 6 representa a estrutura do triângulo, representado pela mistura de quatro componentes, onde os vértices representam: A – fase aquosa, O – fase oleosa e T - mistura de tensoativo/co-tensoativo (RESENDE, 2013).

Figura 6. Representação de um diagrama de fases pseudo-ternário.

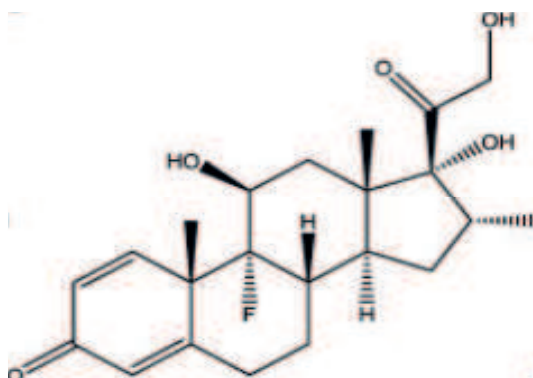


Fonte: DAMASCENO et al., 2011.

3.6 Dexametasona

A dexametasona (DEXA) ($C_{22}H_{29}FO_5$) possui massa molar de 392,47 g/mol, tendo como característica física de ser pó cristalino branco ou quase branco, e inodoro (Figura 7). Quanto a sua solubilidade, é praticamente insolúvel em água; facilmente solúvel em etanol, acetona, dioxano e metanol; levemente solúvel em clorofórmio; muito solúvel em éter (BRASIL, 2010).

Figura 7. Estrutura química da dexametasona.



Fonte: NEBSEN et al., 2013.

A DEXA é um potente corticosteroide sintético, derivado do núcleo ciclopentanoidrofenantreno, com propriedades anti-inflamatórias e imunossupressoras, frequentemente usado como um agente anti-inflamatório (NEBSEN et al., 2013).

Este fármaco difunde-se através das membranas celulares formando complexos com os receptores citoplasmáticos específicos e ao penetrar no núcleo da célula, unem-se ao DNA e estimulam a transcrição do mRNA. Como anti-inflamatório estimula a biossíntese da proteína lipomodulina, onde a mesma inibe a ação enzimática da fosfolipase A_2 e assim impede a liberação de ácido araquidônico, fazendo com que não ocorra a formação dos seus metabólitos, como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, que são os mediadores da inflamação (LIONZO, 2006). Como imunossupressor reduz a concentração de linfócitos, diminui a união das imunoglobulinas aos receptores celulares da superfície e inibe a síntese ou liberação de interleucinas (OYAFUSO, 2012).

Os corticosteroides aplicados topicamente produzem efeito local pela ligação com receptores específicos de glicocorticoides localizados na epiderme e na derme, com uma afinidade maior de ligação na epiderme do que na derme. Os corticosteroides passaram por várias modificações moleculares a fim de aumentar a atividade anti-inflamatória, e com estas modificações moleculares obteve-se uma gama de compostos de variadas potências. Contudo,

com o aumento da potência, aumentou-se também a ocorrência de efeitos colaterais e o uso tópico dos corticoides por períodos prolongados aumenta a probabilidade de ocorrer estes efeitos colaterais sistêmicos (VEDOVATO, 2011).

Os corticoides atravessam o estrato córneo por difusão transepidérmica e sua concentração na epiderme depende da razão de penetração cutânea, da polaridade do fármaco e da perfusão sanguínea da derme. Desta forma, o corticoide atravessa a camada de queratina do estrato córneo e exerce seu efeito na camada granulosa da epiderme e, para alcançar a circulação e produzir os efeitos colaterais sistêmicos, deve penetrar na barreira entre a epiderme e a derme. Logo, para se obter um efeito tópico satisfatório, é importante modular a permeação do fármaco, diminuindo sua migração para a derme (VEDOVATO, 2011).

A DEXA é o fármaco de maior potência dentre os glicocorticoides de ação sistêmica. Sua potência imunossupressora é cerca de 20-30 vezes a da hidrocortisona e 4-5 vezes a da prednisona. As potentes propriedades anti-inflamatórias dos glicocorticoides resultam da inibição de múltiplos tipos de células imunocompetentes tais como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, mastócitos, células endoteliais, monócitos/macrófagos e células dendríticas (WEICHHART et al., 2010).

Os efeitos colaterais locais observados na terapia tópica com corticosteroides incluem atrofia epidérmica, dérmica e subcutânea (VEDOVATO, 2011). O uso contínuo de DEXA, na forma sistêmica e/ou tópica, acarreta o surgimento de efeitos indesejáveis como exacerbação das lesões, afinamento da pele, estrias, telangiectasias, hipopigmentação e efeito rebote após a interrupção do tratamento (FERRONY, 2012).

Também como efeitos colaterais listaram-se: eritema, hipertensão arterial, acne, aumento de peso e apetite, no qual estes efeitos ocorrem devido a capacidade da DEXA de atravessar o estrato córneo por difusão, e assim é capaz de alcançar a circulação e causar efeitos colaterais sistêmicos. Para diminuir a ação desses efeitos indesejáveis é preciso controlar a permeação desta classe de fármaco e aumentar a sua retenção cutânea (VEDOVATO, 2011). A utilização de ME visa formar um sistema com que possa incorporar a DEXA com o intuito de aumentar a sua eficácia.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

- Dexametasona Base – Fragon, Brasil;
- Miristato de Isopropila – Deg, Brasil;
- Labrasol[®] (PEG-8 Caprylic/Capric Glycerides) – Gattefossé, França;
- Brij[®] 52 (Polyethylene Glycol Hexadecyl Ether) – Sigma, Brasil;
- Água Deionizada – Sana Farma, Brasil;
- Álcool Etílico Absoluto 99,5% P.A. – Neon, Brasil.

4.2 Métodos

4.2.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário

Os sistemas microemulsionados foram obtidos através do DFPT, com base na mistura de quatro componentes: água deionizada (fase aquosa), miristato de isopropila (MIP - fase oleosa), Labrasol[®]/Brij[®] 52 (tensoativos) em proporções definidas. A proporção de 9:1 para Labrasol[®]/Brij[®] 52 foi determinada após a realização dos cálculos de EHL (Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo) a fim de assemelhar o valor de EHL dessa mistura de tensoativos em função do valor de EHL do MIP baseados na Equação 3:

$$EHL_{mistura\ tensoativos} = \frac{\%p_{Labrasol^{\circledR}} \times EHL_{Labrasol^{\circledR}} + \%p_{Brij^{\circledR}\ 52} \times EHL_{Brij^{\circledR}\ 52}}{100} \quad (3)$$

Onde:

%p: é a porcentagem em peso para os tensoativos;

EHL: é o valor do equilíbrio hidrófilo-lipófilo específico para cada tensoativo.

A essa mistura de tensoativos foram adicionadas quantidades de MIP com o propósito de resultar nas seguintes proporções: 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, respectivamente. Em seguida foi adicionada a água deionizada a cada uma dessas proporções, pelo o método de titulação. Esta titulação foi realizada através de volumes pré-definidos, sendo que a cada titulação a mistura foi submetida à agitação em desruptor de células ultrassônicas (Desruptor Ultrassônico – Unique DES 500, Brasil), por 1 minuto em potência de 250 W e levada ao banho de ultrassom (Lavadora Ultrassônica – Unique USC 2800A, Brasil), por um período de 1 minuto (CAVALCANTI et al., 2016). Depois de todo esse processo, realizou-se a classificação visual dos sistemas obtidos em: separação de fases (SF); emulsão líquido leitosa

(ELL); emulsão líquido opaca (ELO); sistema transparente (ST). Os resultados da classificação dos sistemas foram plotados usando o Software Origin[®] Pro 8., no qual se obteve o modelo gráfico do diagrama (POOMANEE et al., 2017).

4.2.2 Seleção das formulações

Após a construção do DFPT, foram selecionados dois pontos da região ST, deduzíveis de serem MEs. Obtendo assim as proporções de cada componente a ser utilizado nas formulações.

4.2.3 Incorporação da dexametasona nas formulações

A DEXA foi incorporada aos sistemas na concentração de 0,1% (m/m). O fármaco foi misturado ao óleo e aos tensoativos, logo após acrescentou-se a água e realizou-se 3 ciclos. Estes ciclos corresponde de homogeneização por 1 min em sonda de ultrassom (Desruptor Ultrassônico – Unique DES 500, Brasil) seguido por 1 min de tratamento em banho de ultrassom (Lavadora Ultrassônica – Unique USC 2800A, Brasil), para remover o excesso de bolhas de ar (CAVALCANTI et al., 2016).

4.2.4 Quantificação da dexametasona em sistemas microemulsionados

4.2.4.1 Doseamento da Dexametasona no sistema microemulsionado

A quantificação da DEXA nas formulações selecionadas foi realizada utilizando metodologia analítica desenvolvida e validada em espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-Vis) que encontra descrita no Apêndice. Foram feitas diluições em etanol, em triplicata, das MEs com DEXA (ME-DEXA), de modo a obter soluções com concentração teórica igual a 0,0173 mg/mL. Após as diluições foi feita a leitura das absorbâncias no UV-Vis (SHIMADZU 1800) em comprimento de onda (λ) de 241 nm. O valor médio da absorbância foi utilizado para determinação da concentração real da amostra por meio da equação da reta ($y = 50,076x - 0,117$), obtida durante a determinação da linearidade da validação espectrofotométrica (GUIMARÃES, 2013).

4.2.4.2 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação da DEXA foi determinada utilizando 1 mL das formulações ME-DEXA, em que as mesmas foram submetidas a centrifugação de 13000 rpm por 30 min (Nova Instruments NI1801). Ao término do ciclo da centrifugação, alíquotas do sobrenadante foram cuidadosamente extraídas e diluídas em etanol com a finalidade de se obter a concentração média observada na curva de calibração 0,0190 mg/mL. Após as diluições foi feita a leitura das absorbâncias no espectrofotômetro UV-Vis (SHIMADZU 1800) em λ de 241 nm (GUIMARÃES, 2013). A eficiência de encapsulação foi calculada conforme a Equação 4:

$$EE = \frac{ABS\ sob}{ABS\ form} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

EE: eficiência de encapsulação.

ABS sob: é a absorbância do sobrenadante da formulação pós-centrifugação no λ de 241 nm.

ABS form: é a absorbância da formulação antes da centrifugação no λ de 241 nm.

4.2.5 Caracterização físico-química e morfológica das formulações

As ME com e sem a DEXA (ME-DEXA/ME-BRANCA) foram caracterizadas físico-quimicamente. Ela permite análise da ME em aspectos de formação, comportamento estrutural e determinação das transições de fase e estabilidade (ALVARES, 2014).

4.2.5.1 Análise macroscópica

As formulações foram preparadas e deixadas em repouso por 48 h, em temperatura ambiente de (25° C), para só depois deste período avaliar as características organolépticas, homogeneidade da formulação, separação de fases ou presença de precipitado (CAVALCANTI et al., 2016).

4.2.5.2 Determinação do pH

O pH das formulações escolhidas foi analisado através de uma alíquota de 10 mL das mesmas utilizando-se um pHmetro digital (MS TECNOPON Instrumentação mPA210, Brasil) com eletrodo de vidro e sensor de temperatura, calibrado inicialmente com soluções

tampão pH 4,0 e 7,0 à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (NEVES et al., 2018). As análises foram realizadas em triplicata introduzindo o eletrodo no interior das amostras.

4.2.5.3 Determinação da Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica das formulações foi determinada através de uma alíquota de 10 mL das mesmas utilizando-se um condutivímetro digital (MS TECNOPON Instrumentação, mCA 150, Brasil), calibrado com solução de calibração apresentando condutância específica de $146,9 \mu\text{S cm}^{-1}$ à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (NEVES et al., 2018). As análises foram realizadas em triplicata e as determinações dos valores da condutividade são obtidas com a introdução do eletrodo no interior da formulação.

4.2.5.4 Índice de Refração

O índice de refração (IR) foi determinado utilizando refratômetro de bancada tipo Abbé. As análises foram realizadas em triplicata e o equipamento foi aferido com água deionizada (IR= 1,3325) à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (NEVES et al., 2018).

4.2.5.5 Tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta

Para determinação do tamanho médio das gotículas, assim como o potencial zeta e índice de polidispersão, utilizou-se a análise por espalhamento dinâmico de luz (DLS), através do equipamento Nanotracs (Nanotracs Wave Model MN401). As medições foram realizadas com um ângulo de dispersão de 90° com temperatura constante (25°C), e as amostras foram utilizadas sem diluição e as leituras foram realizadas em triplicata (KUMAR; SHISHU, 2015; POOMANEE et al., 2017; NEVES et al., 2018).

4.2.6 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações

4.2.6.1 Teste de centrifugação

Para centrifugação retirou-se uma alíquota de 1 mL das formulações e adicionou-se em um microtubo do tipo *Eppendorf* e submete-se à centrifugação em microcentrífuga (Nova

Instruments NI1801), com ciclo de 13.000 rpm por 30 min e por 1 h (TAO et al., 2017).. No fim de cada ciclo as amostras foram avaliadas quanto à ocorrência de possíveis modificações na estabilidade das formulações.

4.2.6.2 Estresse térmico

Retirou-se uma amostra de cada formulação a ser analisada e levou ao aquecimento em Banho-Maria (SOLAB SL155/10) a uma faixa de temperatura de 40 a 80 °C, com um aumento gradual da temperatura de 5 em 5 °C, mantendo-se as amostras em cada temperatura por 30 min (PATRIOTA, 2015). As amostras foram avaliadas ao término de cada temperatura.

4.2.6.3 Ciclo gelo/degelo

As amostras analisada foram submetidas a 6 ciclos, em que cada ciclo corresponde ao período de 48 h, distribuídos em 24 h na temperatura de 4° C na geladeira, seguido por 24 h na temperatura de 40 °C na estufa, totalizando-se 12 dias de análise (KUMAR; SHISHU, 2015). As amostras foram analisadas antes do teste e ao fim de cada ciclo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Construção de diagramas de fases

A construção de DFPT é uma das formas mais adequadas para estudar todos os tipos de formulações que podem ser obtidas a partir da mistura de água, óleo e tensoativos. Ao mesmo tempo, ela atinge todas as probabilidades de proporções de mistura em uma maneira mais sistemática (PINEROS et al., 2017). Dessa forma, permite descobrir a proporção correta de componentes para a produção de uma ME (TAO et al., 2017).

Foi selecionado como fase oleosa o MIP, este é aceito farmacologicamente e tem sido amplamente utilizado para formulações de ME (ZHANG et al., 2017). Além de ser um intensificador de penetração comumente utilizado em formulações tópicas e transdérmicas (ZHAO et al., 2016).

A seleção dos tensoativos utilizados para a obtenção de sistemas microemulsionados foi com base no conceito de EHL (GUIMARÃES, 2013). Baseado no EHL da fase oleosa pode-se direcionar a procura do sistema de tensoativos ideais para estabilizar formulações (ARAÚJO, 2013).

Partindo-se do valor requerido do EHL para o MIP (EHL: 11,5), construiu-se um diagrama de fases no qual a proporção de tensoativos é capaz de fornecer um valor próximo a este, favorecendo a formação de ME estáveis. Com base nisso, foi utilizada a proporção de 9:1 para a mistura de LAS[®] (EHL: 12) e Brij[®] 52 (EHL: 5). Nesta proporção foi possível obter formulações com valor de EHL de 11,3, sendo considerado um valor desejável, por está bem próximo ao valor de EHL da fase oleosa.

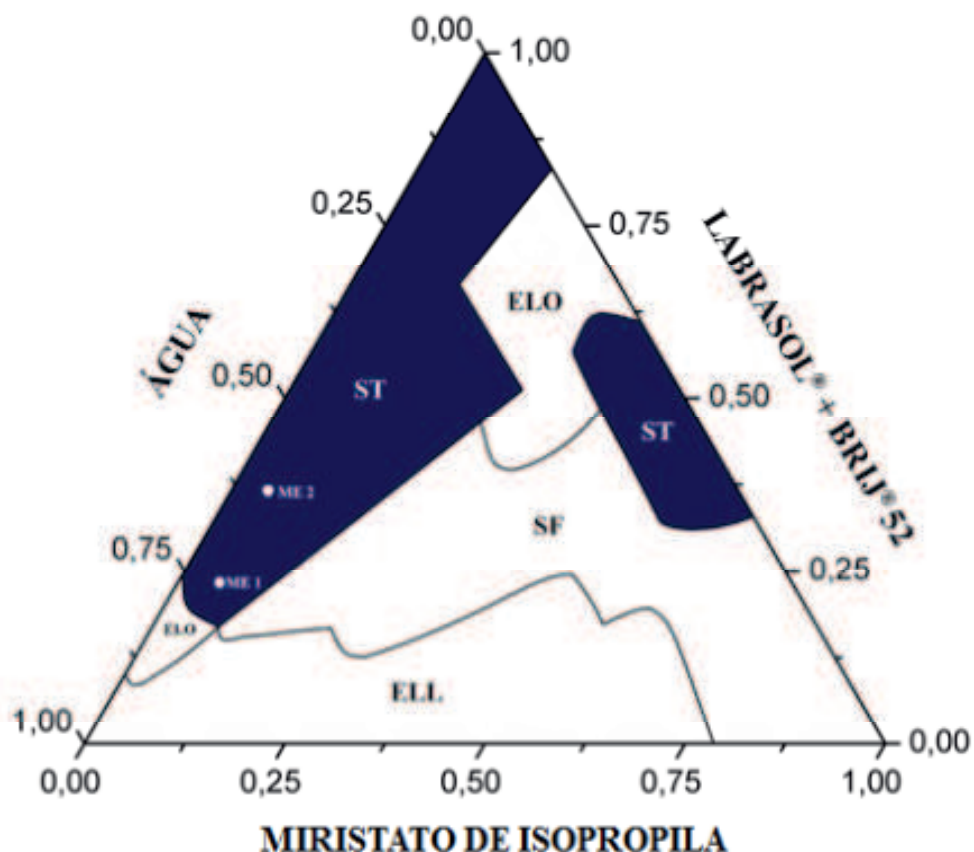
Além disso, os tensoativos LAS[®] e o Brij[®] 52 são tensoativos não iônicos vastamente utilizados em formulações tópicas pela sua capacidade de solubilizar insumos farmacêuticos ativos e reduzir a barreira da pele, aumentando assim a penetração e permeação dérmica de fármacos (CHAMIEH et al., 2016; NEVES et al., 2018). O Brij[®] 52 nesta formulação teve o objetivo de exercer a função de um co-tensoativo com o intuito de diminuir o tamanho das gotículas e estabilizar as formulações.

Para construção DFPT utilizou-se a metodologia de titulação de água que pode ser usado para estudar um amplo número de amostras de diferentes composições de maneira rápida (NEVES, 2013). As amostras foram homogeneizadas em ultrassom (sonicação). Quando as ondas de ultrassom são transferidas através do meio líquido, elas criam fenômenos de cavitação que compõem a formação, crescimento e colapso implosivo de microbolhas no meio líquido. Estas condições de colapso transitório geram uma região de ponto quente localizado consistindo de uma temperatura muito alta até 5000 K e pressão até 1000 bar. Estas

condições de cavitação intensas podem iniciar a transformação física desejada durante a formação de sistemas emulsionados. E nesta formação, ocorre primeiro a geração de gotículas no campo acústico e em seguida, a criação de turbulência intensa e microjatos durante o colapso da cavidade assimétrica que causam a ruptura e dispersão de gotículas na fase contínua (CARPENTER; SAHARAN, 2017). Os benefícios do ultrassom incluem consumo menor de energia, utilização de menor quantidade de tensoativos (emulsionante) e produção de uma ME mais homogênea em comparação com os métodos mecânicos (HAMIDI et al., 2015).

Após as titulações foi possível definir as várias regiões do diagrama, como separação de fases (SF); emulsão líquido leitosa (ELL); emulsão líquido opaco (ELO); sistema transparente (ST), como representada na Figura 8.

Figura 8. Diagrama de fases pseudoternário.



Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: SF - Separação de Fases, ELL – Emulsão Líquido Leitosa, ELO - Emulsão Líquido Opaca, ST - Sistema Transparente.

5.2 Seleção das formulações

A partir da obtenção do DFPT selecionou-se dois pontos da região ST, e seus percentuais de composição estão descritos na Tabela 1. A região ST foi classificada visualmente como ME e foram escolhidos pontos do DFPT que possuíam alto teor de fase aquosa, sendo assim, um indicativo de formulações de ME do tipo O/A, a qual seria ideal para incorporação da DEXA, por esta possuir características hidrofóbicas.

Tabela 1. Composição percentual (m/m) das formulações selecionadas.

| Componentes | Composição centesimal (%) | |
|--|---------------------------|--------------|
| | Formulação 1 | Formulação 2 |
| Água deionizada | 73% | 65% |
| Miristato de isopropila | 5% | 5% |
| LAS [®] /Brij [®] 52 (9:1) | 22% | 30% |

Fonte: Dados da pesquisa.

Na escolha de formulações é importante não escolher pontos próximos à interface das áreas do diagrama, cujo comportamento de fases estará em transição (ASSIS, 2014).

5.3 Incorporação da dexametasona nas formulações

Após a escolha dos pontos das formulações a DEXA foi incorporada ao sistema na concentração de 0,1% (m/m). Esta quantidade de fármaco utilizada foi baseada em dados proveniente da literatura, em que a incorporação de acetato de dexametasona, em sistemas microemulsionados, ocorreu na concentração de 0,1 % (m/m) (URBAN; MAINARDES; GREMIÃO, 2009; OYAFUSO, 2012). Houve também o estudo de Vedovato (2011) que incorporou 0,1 % de dexametasona em sistemas nanoestruturados.

Guimarães (2013) em seu estudo avaliou dois métodos distintos de incorporação de fármacos, estes foram a incorporação por agitação magnética e incorporação baseada na homogeneização dos componentes por ultrassom (sonicação), no qual comprovou através da EE que o método de sonicação é capaz de proporcionar melhor incorporação, sendo este método rápido e eficiente para formação de ME com alta estabilidade, pequeno diâmetro de gotícula e baixo índice de polidispersão.

5.4 Quantificação da dexametasona nos sistemas microemulsionados

5.4.1 Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado

A quantificação de um fármaco em uma formulação e na sua forma isolada representa um aspecto fundamental da garantia da qualidade de medicamentos (BORBA et al., 2013). O doseamento da DEXA foi baseado na metodologia analítica desenvolvida e validada em espectrofotometria no ultravioleta-visível (UV-Vis).

A quantificação da DEXA incorporada na ME foi feita a partir de diluição em etanol para obter a concentração de 0,0173 mg/mL. Desta diluição foi feita a leitura no espectrofotômetro em comprimento de onda de 241 nm. As leituras foram feitas em triplicata e a média das absorvâncias foi utilizada na equação da reta ($y = 50,076x - 0,117$), para obter o valor real da concentração da DEXA (Tabela 2).

Tabela 2. Doseamento da DEXA nos sistemas microemulsionados.

| Formulação | Absorbância média | Desvio padrão | Coefficiente de variação (%) | Concentração da DEXA (mg/mL) |
|-------------|-------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
| ME 1 – DEXA | 0,746 | 0,026 | 3,52 | 0,0172 |
| ME 2 – DEXA | 0,746 | 0,025 | 3,41 | 0,0172 |

Fonte: Dados da pesquisa.

Foi observado que a concentração do fármaco tanto na ME 1- DEXA (0,0172 mg/mL), como na ME 2 – DEXA (0,0172 mg/mL), determinadas através da leitura das absorvâncias no espectrofotômetro, foi muito próxima a concentração real da DEXA incorporada no sistema (0,0173 – 0,1%). E assim, a dosagem por espectrometria UV/Vis é considerada como sensível e eficaz para determinar a concentração real do fármaco incorporado.

5.4.2 Eficiência de encapsulação

Após o doseamento da DEXA nos sistemas microemulsionados, procedeu-se à investigação da quantidade de fármaco doseado que estaria incorporado na fase interna do sistema. A EE refere-se à quantidade, expressa em porcentagem, de fármaco encapsulado pelas nanogotículas, e essa determinação especifica o quanto da substância ativa está efetivamente associada às gotículas e o quanto permanece livre na fase dispersante (BATTISTI, 2015; SHAH et al., 2016).

A EE é também um método de caracterização de sistema microemulsionado, que pode ser realizada por vários métodos, no qual dependerá da metodologia de preparo da formulação

e das propriedades físico-químicas do fármaco (DAMASCENO, et al., 2011). A metodologia proposta para determinação deste parâmetro foi baseada na comparação dos valores de absorvância em triplicata das soluções de ME-DEXA, antes e após o processo de centrifugação.

Na centrifugação, o fármaco que não estiver encapsulado dentro das gotículas da ME, ou seja, não incorporados no sistema irão sedimentar e formar um precipitado. As formulações de ME-DEXA foram centrifugadas a 13000 rpm por 30 min, e após este processo observou-se que as formulações estavam límpidas, sem formação de precipitado e sem separação de fases. E assim, procedeu-se o doseamento da DEXA, diluindo as alíquotas do sobrenadante em etanol para obter a concentração de 0,0173 mg/mL, seguida da leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 241 nm.

Com auxílio da (Equação 4) presente na metodologia (Item 5.4.2) efetuou os cálculos da EE, comparando a média da absorvância do pós-centrifugação (do sobrenadante), com a absorvância média da formulação obtida no doseamento (Item 6.4.1). A Tabela 3 expressa os valores obtidos no método de determinação da eficiência de encapsulação.

Tabela 3. Eficiência de encapsulação da DEXA nos sistemas microemulsionados.

| Formulação | Absorvância média | Desvio padrão | Coefficiente de variação (%) | EE DEXA (%) |
|-------------|-------------------|---------------|------------------------------|-------------|
| ME 1 – DEXA | 0,748 | 0,025 | 3,36 | 100 |
| ME 2 – DEXA | 0,730 | 0,008 | 1,10 | 98 |

Fonte: Dados da pesquisa.

A EE foi de 100% e 98% para ME1-DEXA e ME2-DEXA, respectivamente. Segundo Cavalcanti (2015), valores de EE acima de 80% são considerados significativos na incorporação de fármacos em sistemas microemulsionados.

Inúmeros são os fatores que podem influir na taxa de encapsulação de fármacos em sistemas nanoestruturados, entre os principais destacam-se as características físico-químicas do ativo (solubilidade), o tipo de tensoativo, características do lipídio, pH do meio e a quantidade de ativo utilizada (COLA, 2016).

5.5 Caracterização físico-química e morfológica das formulações

A avaliação macroscópica foi realizada 48 h após o preparo dos sistemas. Mesmo com a incorporação da DEXA, todas as amostras permaneceram com as mesmas características:

líquidas, transparentes, límpidas e homogêneas (Figura 9). Além disso, não apresentaram separação de fases ou presença de precipitado.

Figura 9. Aspecto macroscópico das formulações.



Fonte: Dados da pesquisa.

O pH adequado de uma formulação é padronizado conforme a tolerância biológica (CAVALCANTI, 2015). É um parâmetro de monitoramento da estabilidade em sistema emulsionado, pois alterações no seu valor podem indicar a ocorrência de reações químicas ou crescimento bacteriano, que podem comprometer a qualidade do produto final (PORTO, 2015).

A pele apresenta pH levemente ácido (4,6 – 5,8), o que contribui para que ocorra proteção bactericida e fungicida em sua superfície. Todavia, habitualmente, a pele sofre alterações em consequência da utilização de produtos tópicos inadequados, assim expondo a uma série de agressores, em especial microrganismos (NEVES, 2013). O valor do pH das formulações variaram entre 5,00 e 5,23 (Tabela 4), demonstrando que os sistemas desenvolvidos são adequados para serem utilizados na pele.

Tabela 4 – pH, condutividade elétrica e índice de refração das formulações.

| Parâmetro | ME 1 – BRANCA | ME 1 – DEXA | ME 2 – BRANCA | ME 2 – DEXA |
|--|------------------|---------------|------------------|----------------|
| Ph | 5,23 ± 0,21 | 5,00 ± 0,03 | 5,14 ± 0,06 | 5,15 ± 0,19 |
| Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) | 83,50 ± 3,2 | 101,60 ± 1,9 | 73,56 ± 1,2 | 79,54 ± 4,00 |
| Índice de Refração | 1,369 ± 0,001 | 1,369 ± 0,000 | 1,379 ± 0,000 | 1,379 ± 0,000 |

Fonte: Dados da pesquisa.

A condutividade elétrica é um método comum para identificar e diferenciar as regiões O/A, bicontínuas e A/O durante a formação de ME (LI et al., 2017). O aumento gradual da quantidade da fase aquosa conduz à transformação de uma ME A/O em um sistema bicontínuo. Um aumento adicional da quantidade de água no sistema pode levar à transformação em sistema O/A. Essas transições estruturais são frequentemente descritas como fenômeno de percolação e são refletidas pelas mudanças de condutividade elétrica relacionada às diferenças nas propriedades elétricas das fases de polaridade baixa e alta (FROELICH et al., 2017).

A água é um bom condutor de íons e, como tal, quanto maior o teor de água, maior o valor de condutividade (CALLENDER et al., 2017). Os valores obtidos da condutividade das formulações em estudo (Tabela 4) sugerem que se trata de sistemas do tipo O/A, por sua predominância de fase aquosa. A ME 1 apresentou uma condutividade maior do que a ME 2, isso pelo o fato da ME 1 ter uma maior concentração da fase aquosa.

O IR é a relação entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade da luz no interior da substância. Está relacionado com a estrutura física do meio através do qual a luz passa. E pode ser utilizado na identificação de amostras desconhecidas (MATOSO, 2013).

O IR das MEs foram medidos e os resultados obtidos estão demonstrados na (Tabela 4), em ambas as formulações o IR se encontrou próximo ao IR da fase aquosa. O aumento da quantidade da fase aquosa nas formulações influencia o IR, que diminui para valores mais próximos do IR da água (1,333) e se distanciando do IR do MIP (1,4320 – 1,4360).

Além do que, o IR permaneceu com valores iguais quando comparado a ME-BRANCA e a ME-DEXA, em ambos os casos. Substâncias consideradas isotrópicas possuem índice de refração único e constante em determinado comprimento de onda, temperatura e pressão, logo o raio de luz se propaga pela substância com a mesma velocidade em todas as direções consideradas (CAVALCANTI, 2015).

O tamanho médio de gotículas (TMG) é um parâmetro importante a se avaliar, pelo fato de que gotículas menores proporcionam maior área superficial e, eventualmente, a absorção do fármaco será aumentada (AHMED et al., 2018). A técnica de DLS para determinação do TMG utiliza a flutuação da intensidade da luz espalhada pelas gotículas em suspensão, agindo em movimento Browniano, para obter a distribuição hidrodinâmica do seu tamanho (CAVALCANTI, 2015).

O TMG das formulações tanto sem e com fármaco foram inferiores a 100 nm (Tabela 5), sendo assim, um resultado satisfatório dentro da faixa de tamanho proposto para os

sistemas de microemulsão (NEVES et. al., 2018). Mesmo com a adição da DEXA nas formulações, não ocorreu uma diferenciação significativa quanto ao TMG.

Uma das explicações para o tamanho nanométrico de ME é o fato delas terem sido preparadas pelo processo de emulsificação por ultrassom, este considerado um método de alta energia, rápido e eficiente na produção estável de ME, com pequeno TMG e baixa polidispersão (ARAÚJO, 2013).

Tabela 5. Tamanho médio de gotículas, índice de polidispersão e potencial zeta das formulações.

| Parâmetros | ME 1 – BRANCA | ME 1 – DEXA | ME 2 – BRANCA | ME 2 – DEXA |
|----------------------------------|------------------|----------------|------------------|---------------|
| Tamanho médio das gotículas (nm) | 16,00 ± 0,62 | 16,03 ± 0,12 | 17,05 ± 0,18 | 17,63 ± 0,25 |
| Índice de Polidispersão | 0,0665 ± 0,12 | 0,0678 ± 0,31 | 0,0386 ± 0,82 | 0,0403 ± 0,73 |
| Potencial Zeta (mv) | -15,03 ± 0,35 | -23,14 ± 0,46 | -15,01 ± 0,17 | -14,66 ± 0,53 |

Fonte: Dados da pesquisa

O índice de polidispersão reflete ao perfil de homogeneidade e distribuição do tamanho das gotículas. Quando o índice de polidispersão está próximo de zero significa que as gotículas da amostra são mais homogêneas, enquanto que se estiver entre 0,1 e 0,2 indicam uma distribuição estreita. Índices acima de 0,5 demonstram uma distribuição muito ampla (CONTENTE, 2016). No estudo de Kumar & Shishu (2015), a sua ME apresentou um valor de PDI de 0,081, indicando uma homogeneidade da amostra e a estabilidade da sua ME. Quanto às formulações investigadas, estas apresentaram valores de índice de polidispersão próximo de zero (Tabela 5) indicando sistemas estáveis e monodispersos.

As cargas superficiais de partículas coloidais são caracterizadas pelo potencial zeta que se relaciona com a estabilidade dos sistemas de dispersão coloidal (SONGRO et al., 2014). O potencial zeta é a medida do potencial elétrico localizado no plano de cisalhamento da dupla camada até o interior do líquido, ou seja, a diferença de potencial entre o meio dispersante e a camada estacionária do líquido ligado à gotícula dispersa. Assim o potencial zeta não depende somente da superfície da gotícula, mas também do dispersante e condutividade entre suas cargas, além de concentração dos componentes da formulação, princípio ativo e força iônica do meio, podendo, dessa forma, assumir um valor positivo ou negativo (NEVES, 2013). Quando o valor do potencial zeta é maior do que o limite,

normalmente 30 mV (negativo ou positivo), poderosas forças repulsivas eletrostáticas são criadas e, assim, impedem a agregação de gotículas.

Todas as formulações analisadas mostraram valores negativos (Tabela 5), e assim a agregação de gotículas nos sistemas de ME não é esperada, tendo em vista que gotículas com carga agregam-se menos durante a estocagem devido à repulsão eletrostática.

5.6 Avaliação da estabilidade preliminar das formulações

5.6.1 Teste de centrifugação

A centrifugação produz um estresse na amostra, simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das gotículas e antecipando possíveis instabilidades. As instabilidades são observadas na forma de precipitação, separação de fases, coalescência, entre outras. As amostras de ME com e sem fármaco não mostraram alteração com a centrifugação. Não houve separação de fases, turbidez ou qualquer precipitação de fármaco.

5.6.2 Estresse térmico

No teste de estresse térmico aplicam-se condições extremas de temperatura em períodos pré-determinados de tempo. Tanto as MEs-BRANCA quando as MEs-DEXA foram mantidas a uma faixa de temperatura de 40 a 80 °C, com um aumento gradual da temperatura de 5 em 5 °C, por 30 min em cada temperatura. Nas faixas de temperatura estudadas, os sistemas mantiveram a estabilidade até 40 °C. Quando as formulações foram submetidas à temperatura de 45 °C ocorreu separação de fases. A análise procedeu-se até a temperatura de 80° C continuando também com separação de fases.

As ME são sensíveis a mudanças de temperatura, no qual podem sofrer alterações de fase quando expostas a temperaturas mais altas ou inferiores às temperaturas normais. Quando ocorrem estas mudanças na temperatura, dependendo do sistema, poderá levar a quebra da ME e, eventualmente, a separação de fases (CALLENDER et al., 2017).

5.6.3 Ciclo Gelo-Degelo

Ensaio que envolve a submissão de formulações a condições extremas de temperatura possuem como finalidade o aumento da degradação química e a indução a modificações físicas (CAVALCANTI, 2015).

O ciclo gelo/degelo tem como objetivo avaliar se os limites extremos de frio e calor são capazes de desestabilizar sistemas. As formulações foram capazes de suportar o ciclo de

congelamento-descongelamento, onde todos os sistemas permaneceram estáveis durante os 12 dias de análise.

6. CONCLUSÃO

- A técnica utilizada para a construção do DFPT mostrou-se simples, reprodutível e de grande utilidade, sendo possível observar com clareza as várias regiões do diagrama, incluindo as regiões possíveis de formação de ME, e assim tendo facilidade na escolha da proporção dos componentes;
- O ensaio de eficiência de encapsulação demonstrou que a taxa de DEXA incorporada a ME foi adequada;
- O pH das formulações propostas enquadrou-se dentro da faixa de pH ótimo para permitir o uso por via tópica;
- A condutividade elétrica sugeriu serem sistemas com estrutura do tipo O/A;
- O TMG das formulações tanto sem e com fármaco foram inferiores a 100 nm, e assim indicando serem MEs;
- O valor de PDI foi próximo de zero indicando sistemas estáveis e monodispersos;
- O PZ das formulações analisadas mostrou valores negativos e assim a agregação de gotículas nos sistemas de ME não é esperada;
- As MEs selecionadas apresentaram estabilidade preliminar diante dos testes propostos;
- Os sistemas microemulsionados propostos foram adequadas para a incorporação da DEXA, sendo assim uma alternativa promissora para veiculação tópica da DEXA.

REFERÊNCIAS

AGIRRE, Y. R.; CASTREJÓN, K. A.; MÉNDEZ, I. G. La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer? **Educación Química**, v. 27, n. 4, p. 286-291, 2016.

AHMED, S.; GULL, A.; ALAM, M.; AQIL, M. SULTANA, Y. Ultrasonically tailored, chemically engineered and “QbD” enabled fabrication of agomelatine nanoemulsion; optimization, characterization, *ex-vivo* permeation and stability study. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 41, p. 213-226, 2018.

ALVARES, G. L. M. Desenvolvimento de sistema microemulsionado para transfecção de RNA interferente. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

ARAÚJO, G. M. F. Nanoemulsões de Anfotericina B: desenvolvimento, caracterização e atividade leishmanicida. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

ASSIS, G. B. Desenvolvimento e caracterização de microemulsão contendo óleo essencial de alecrim – *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

AUM, Y. K. P. G. Sistemas microemulsionados visando à remoção de depósitos parafínicos. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

BATTISTI, M. A. Desenvolvimento de nanocarreador lipídico contendo extrato padronizado de folhas de *Cecropia pachystachya* Trécul visando à obtenção de medicamento de uso tópico. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

BARROS, A. R. A. Desenvolvimento, caracterização e atividade antifúngica de microemulsões o/a contendo anfotericina B. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

BORBA, P. A. A.; RIEKES, M. K.; PEREIRA, R. N.; STULZER, H. K.; VECCHIA, D. D. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. **Química Nova**, v. 36, n. 4, p.582-586, 2013.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 5ª edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2010. 546p.

CALLENDER, S. P.; MATHEWS, J. A.; KOBERNYK, K.; WETTIG, S. D. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 526, n. 1-2, p. 425-442, 2017.

CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 422-430, 2017.

CAVALCANTI, A. L. M.; REIS, M. Y. F. A.; SILVA, G. C. L.; RAMALHO, Í. M. M.; GUIMARÃES, G. P.; SILVA, J. A.; SARAIVA, K. L. A.; DAMASCENO, B. P. G. L. Microemulsion for topical application of pentoxifylline: *In vitro* release and *in vivo* evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 506, n. 1-2, p. 351-360 2016.

CAVALCANTI, A. L. M. Sistema microemulsionado contendo pentoxifilina para tratamento de afecções dermatológicas. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

CHAMIEH, J.; JANNIN, V.; DEMARNE, F.; COTTET, H. Hydrodynamic size characterization of a self-emulsifying lipid pharmaceutical excipient by Taylor dispersion analysis with fluorescent detection. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1-2, p. 262-269, 2016.

COLA, D. F. Nanopartículas lipídicas como sistemas carreadores para ivermectina e metopreno visando aplicações em veterinária. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Sorocaba, 2016.

CONTENTE, D. M. L. Obtenção e caracterização de nanoemulsão óleo em água a partir de óleo de açaí (*Euterpe oleracea M*). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pará, Belém, 2016.

COSTA, M. P.; MARQUES, L. G.; OLIVEIRA, F. C. E.; PESSOA, C. Uma abordagem atual sobre o impacto dos sistemas de liberação de drogas nos avanços em nanomedicina. **Boletim Informativo Geum**, v.5, n.2, p.124-133, Abr./Jun. 2014.

CRUZ, K. G. Sistemas microemulsionados á base de tensoativos hidrcarbônicos para a aplicação como suportes para dispersão de compostos antibióticos. Dissertação (Mestrado em Agroquímica), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVERA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

FERRONY, D.; ROGGIA, I.; ALVES, M. P. Avaliação da liberação “in vitro” da dexametasona nanoestruturada e incorporada em um creme gel. **Ciências da Saúde Santa Maria**, v. 13, n. 1, p. 51-62, 2012.

FROELICH, A.; OSMALEK, T.; SNELA, A.; KUNSTMAN, P.; JADACH, B. OLEJNICZAK, M.; ROSZAK, G.; BIALAS, W. Novel microemulsion-based gels for topical delivery of indomethacin: Formulation, physicochemical properties and *in vitro* drug release studies. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 507, p. 323-336, 2017.

GARCIA, F. M. Avanços da nanomedicina: A nova fronteira da medicina – Artigo de atualização. **Revista Ciências da Saúde Nova Esperança**, vol. 12, n. 1, p. 110, junho 2014.

GUIMARÃES, G. P. Desenvolvimento e caracterização de microemulsão antifúngica contendo derivado do tiofeno. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

HAMIDI, H.; MOHAMMADIAN, E.; ASADULLAH, M.; AZDARPOUR, A.; RAFATI, R. Effect of ultrasound radiation duration on emulsification and demulsification of paraffin oil and surfactant solution/brine using Hele-shaw models. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 26, p. 428-436, 2015.

IRACHE, J. M. Nanomedicina: nanopartículas con aplicaciones médicas. **Anales Sis San Navarra**, v. 31, n. 1, p. 7-10, 2008.

KUMAR, N.; SHISHU. D-optimal experimental approach for designing topical microemulsion of itraconazole: Characterization and evaluation of antifungal efficacy against a standardized Tinea pedis infection model in Wistar rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 67, p. 97-112, 2015.

KAUR, G. MEHTA, S. K. Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 529, n. 1-2, p. 134-160, 2017.

LI, Y.; YOKOYAMA, W.; XU, S.; ZHU, S.; MA, J.; ZHONG, F. Formation and stability of W/O microemulsion formed by food grade ingredients and its oral delivery of insulin in mice. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 134-141, 2017.

LIONZO, M. I. Z. Micropartículas de p(hbhv) e de blendas de p(hbhv):pcl contendo dexametasona ou acetato de dexametasona como modelos de fármacos: caracterização físico-química e perfis de liberação *in vitro*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul. . Faculdade de Farmácia, 2006.

MATOS, C. C. Síntese e Caracterização de Nanofibras de Polocaprolactona com Adição de Progesterona Utilizando o Solvente Ácido Acético pelo Método de Eletrofiação. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

MATOSO, C. L. Método Crioscópico Para Quantificação de Etanol em Bebidas. 2013. 26 Folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Engenharia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

NEBSEN, M.; GHADA, M. E.; ELKHATEEB, S. Z. Determination of ofloxacin and dexamethasone in Dexaflox eye drops through different ratio spectra manipulating methods. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**, v. 51, n. 2, p. 175-184, 2013.

NEVES, J. K. O.; APOLINÁRIO, A. C.; SARAIVA, K. L. A.; SILVA, D. T. C.; REIS, M. Y. F. A.; DAMASCENO, B. P. G. L.; PESSOA-JÚNIOR, A.; GALVÃO, M. A. M.; SOARES, L. A. L.; VEIGA-JÚNIOR, V. F.; SILVA, J. A.; CONVERTI, A. Microemulsions containing *Copaifera multijuga* Hayne oil-resin: Challenges to achieve an efficient system for β -caryophyllene delivery. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 185-192, 2018.

NEVES, J. K. O. Desenvolvimento e caracterização de microemulsões antimicrobianas e anti-inflamatórias contendo óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

OBERDISSE, J.; HELLWEG, T. Structure, interfacial film properties, and thermal fluctuations of microemulsions as seen by scattering experiments. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 247, p. 354-362, 2017.

OLIVEIRA, D. X. Estudo da formação de micelas e microemulsões contendo nifedipina: influência das fases na estrutura dos sistemas. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Sergipe, 2014.

OYAFUSO, M. H. Desenvolvimento e caracterização de sistemas micro e nanoestruturados para a administração cutânea de acetato de dexametasona. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

PASCOA, H. Desenvolvimento e caracterização de microemulsão à base de óleo de sucupira (*P. emarginatus* Vog. Fabaceae) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Goiânia, 2012.

PATRIOTA, Y. B. G. Desenvolvimento, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de microemulsão contendo derivado tiofênico para administração oral. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

PINEROS, I.; SLOWING, K.; SERRANO, D. R.; PABLO, E.; BALLESTEROS, M. P. Analgesic and anti-inflammatory controlled-released injectable microemulsion: Pseudo-ternary phase diagrams, *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, p. 220-227, 2017.

POOMANEE, W.; CHAIYANA, W.; WICKETT, R. R.; LEELAPORNPISID, P. Stability and solubility improvement of Sompoi (*Acacia concinna* Linn.) pod extract by topical microemulsion. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 4, p. 386-393, 2017.

PORTO, A. S. Desenvolvimento de nanoemulsão o/a a base de óleo de copaíba, incorporadas com nanopartículas magnéticas de zinco. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Nanotecnobiologia), Universidade de Brasília, 2015.

RESENDE, Q. G. M. Estudo da formação de microemulsões contendo óleo essencial de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck : efeito dos co-tensoativos e avaliação da interação das microemulsões com modelo de estrato córneo. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Sergipe, 2013.

REYES, A. M. P.; OLVERA, M. L. Synthesis of ZnO nanoparticles from water-in-oil (w/o) microemulsions. **Materials Chemistry and Physics**, v. 203, p. 141-147, 2018.

SANTOS, D. F. Síntese e caracterização de tensoativos e estudo do equilíbrio de fases dos sistemas $C_nH_{2n+2}/H_2O/C_nH_{2n+1}COONa/But-OH$. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

SHAH, R. M.; ELDRIDGE, D. S.; PALOMBO, E. A.; HARDING, I. H. Encapsulation of clotrimazole into solid lipid nanoparticles by microwave-assisted microemulsion technique. **Applied materialstoday**, v. 5, p. 118-268, 2016.

SILVA, J. D. F.; SILVA, Y. P.; PIATNICKI, C. M. S.; BÖCKEL, W. J.; MENDONÇA, C. R. B. Microemulsão: componentes, características, potencialidades em química de alimentos e outras aplicações. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1-11, 2015.

SONGRO, S.; LO, N. L.; TANMANEE, N.; MANEENUAN, D.; BOONME, P. *In vitro* release, skin permeation and retention of benzophenone-3 from microemulsions (o/w and w/o). **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 24, p. 703-711, 2014.

TAO, J.; ZHU, Q.; QIN, F.; WANG, M.; CHEN, J.; ZHENG, Z. P. Preparation of steppogenin and ascorbic acid, vitamin E, butylated hydroxytoluene oil-in-water microemulsions: Characterization, stability, and antibrowning effects for fresh apple juice. **Food Chemistry**, v. 224, p. 11-18, 2017.

URBAN, M. C. C.; MAINARDES, R. M.; GREMIÃO, M. P. D. Development and validation of HPLC method for analysis of dexamethasone acetate in microemulsions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, 2009.

VALE, T. Y. F. Desenvolvimento de tensoativos e sistemas microemulsionados para a recuperação de petróleo. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

VEDOVATO, N. B. Avaliação do potencial de sistemas nanoestruturados para a administração cutânea de dexametasona. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Araraquara, 2011.

WEICHHART, T.; BRANDT, O.; LASSNIG, C.; MÜLLER, M.; HÖRL, W. H.; STINGLET, G.; SÄEMANN, M. D. The anti-inflammatory potency of dexamethasone is determined by the route of application *in vivo*. **Immunology Letters**, v. 129, n. 1, p. 50-52, 2010.

ZHANG, Y.; ZHANG, X. Y.; CHAI, J. L.; CUI, X. C.; PAN, J.; SONG, J. W.; SUM, B.; LU, J. J. The phase behavior and solubilization of isopropyl myristate in microemulsions containing hexadecyl trimethyl ammonium bromide and sodium dodecyl sulfate. **Journal of Molecular Liquids**, v. 244, p. 262-268, 2017.

ZHAO, C.; QUAN, P.; LIU, C.; LI, Q.; FANG, L. Effect of isopropyl myristate on the viscoelasticity and drug release of a drug-in-adhesive transdermal patch containing blonanserin. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 6, n. 6, p. 623-628, 2016.

ANEXO

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA DEXAMETASONA

1. VALIDAÇÃO

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.

2. METODOLOGIA

2.1 Preparação do tampão fosfato pH 7,4

A preparação da solução tampão em pH 7,4 seguiu de acordo com a Farmacopeia Brasileira de 2010.

2.2 Preparação do hidróxido de sódio 0,2 M

Pesou-se 4 g de hidróxido de sódio em um vidro relógio em uma balança analítica, transferiu gradativamente para um becker para a devida diluição com água deionizada, em seguida transferiu para um balão volumétrico de 500 mL e completou com água deionizada.

2.3 Preparação do fosfato de potássio

Pesou-se 27,22 g de fosfato de potássio monobásico em um vidro relógio. Adicionou em um Becker acrescentando aos poucos água deionizada para a diluição. Com o auxílio de um bastão de vidro será realizado a quebra dos cristais de fosfato de potássio e em seguida transferiu para um balão volumétrico de 1000 mL e completou com água deionizada.

2.4 Elaboração

Com o auxílio de uma proveta mediu-se 195,5 mL da solução de hidróxido de sódio 0,2 M, 250 mL da solução de fosfato de potássio e 450 mL de água, verteu em um Becker e ajustou o pH em 7,4 \pm 0,1 utilizando a solução de hidróxido de sódio 0,2 M.

2.5 Preparação do tampão fosfato 7,4/ etanol (60:40)

Mediu-se em uma proveta 400 mL de álcool etílico absoluto e 600 mL do tampão fosfato, transferiu para um béquer e homogeneizou com o bastão de vidro.

2.6 Diluição da dexametasona

Pesou-se 10 mg de Dexametasona base micro em um vidro relógio na balança analítica Adventurer, prosseguiu a diluição em tampão fosfato pH 7,4/etanol (60:40) medindo 25 mL em uma pipeta graduada. Obtendo-se uma solução de concentração de 0,4 mg/mL.

2.7 Determinação do comprimento de onda de absorção máxima da Dexametasona em espectrofotômetro.

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

2.8 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 serão 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 será homogeneizada, obtendo-se os seguintes pontos de concentrações: 0,0078 mg/mL; 0,0098 mg/mL; 0,0117 mg/mL; 0,0135 mg/mL; 0,0154 mg/mL; 0,0172 mg/mL; 0,0190 mg/mL; 0,0209 mg/mL; 0,0226 mg/mL; 0,0244 mg/mL; 0,0262 mg/mL; 0,0279 mg/mL. O método foi realizado em triplicata e as leituras das absorbâncias serão obtidas por espectrofotômetro UV-VIS, no comprimento de onda de 241 nm.

2.9 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 (%).

2.10 Exatidão

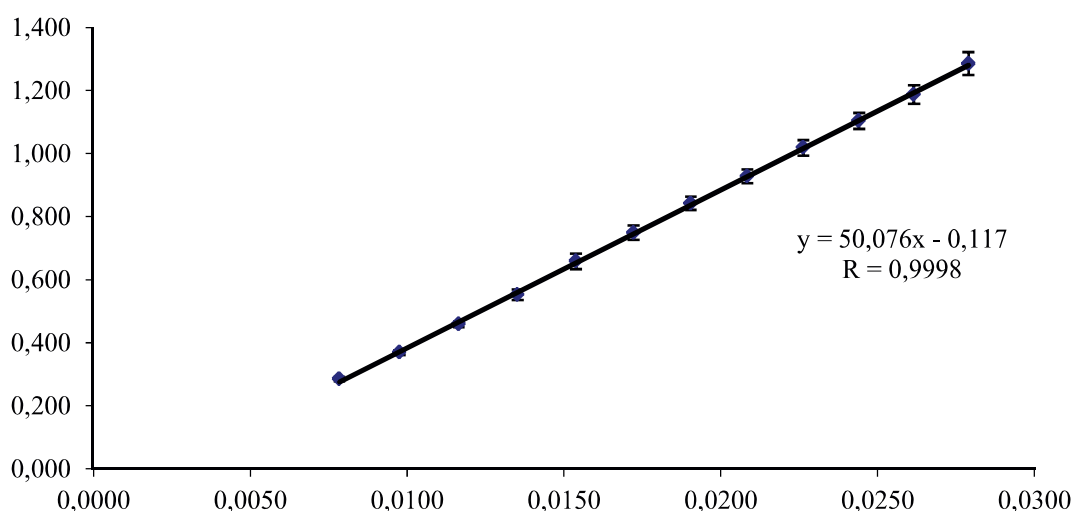
Este parâmetro foi determinado contemplando o intervalo linear em três concentrações 0,0078 mg/mL (Nível baixo), 0,0190 mg/mL (Nível médio) e 0,0279 mg/mL (Nível alto). Realizou-se a leitura em triplicata no espectro UV-VIS em comprimento de onda de 241 nm.

2.11 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 (%).

3. RESULTADOS

Figura 1. Curva de analítica para solução de dexametasona utilizando método espectrofotométrico.



Fonte: Dados da pesquisa

Tabela 1. Precisão do método espectrofotométrico validado.

| 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: Dados da pesquisa

Tabela 2. Exatidão do método espectrofotométrico validado.

| 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: Dados da pesquisa.

Tabela 3. Robustez do método espectrofotométrico validado.

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

Fonte: Dados da pesquisa.