

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO CONTENDO
MINOXIDIL PARA O TRATAMENTO DA ALOPECIA**

FERNANDA MESQUITA DE SOUZA

MANAUS

2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO CONTENDO
MINOXIDIL PARA O TRATAMENTO DA ALOPECIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Tecnologia farmacêutica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi.

MANAUS

2017

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729d Souza, Fernanda Mesquita de
Desenvolvimento de microemulsão contendo minoxidil para o
tratamento da alopecia / Fernanda Mesquita de Souza. 2017
105 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Microemulsão. 2. Reações adversas. 3. Propilenoglicol. 4.
Etanol. 5. Minoxidil. I. Santos, Kátia Solange Cardoso Rodrigues
dos II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Esta dissertação manteve-se sob sigilo no período de 30/03/2017 a 30/10/2019 e foi disponibilizada para
acesso aberto em 31/10/2019

FERNANDA MESQUITA DE SOUZA

DESENVOLVIMENTO DE MICROEMULSÃO CONTENDO MINOXIDIL PARA O TRATAMENTO DA ALOPECIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Tecnologia farmacêutica.

Aprovado em 30 de março de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Tatiane Pereira de Souza

Universidade Federal do Amazonas

Dr.^a Maria Katherine Santos de Oliveira

Centro de Biotecnologia da Amazônia

Prof.^a Dr.^a Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi

Universidade Federal do Amazonas

Agradecimentos

À Profa. Dra. Kátia Solange Cardoso Rodrigues dos Santos Geraldi, pela receptividade e compreensão quando a procurei precisando de orientação, mesmo sem me conhecer. Pela paciência, dedicação, respeito, profissionalismo e conhecimento passado, por sempre ceder um tempo para atender nossas dúvidas e fazer o possível para que tudo fique claro.

À Profa. Dra. Tatiane Pereira de Souza, pelo apoio financeiro, receptividade, atenção, disposição em ajudar e ceder o uso de reagentes, equipamentos e utensílios.

Ao técnico Newton, que sempre buscou ajudar em tudo que estava dentro do seu alcance.

Ao doutorando Fabrício Rolim, pelos ensinamentos passados e auxílio no viscosímetro.

Ao mestrando Rodrigo Queiroz Lima, pelas aventuras e grande ajuda nos momentos solicitados.

Aos alunos Kamilla Sousa e Rodrigo Silva, pela disposição em ajudar no momento em que precisei.

Ao mestrando Serafim Florentino Neto, companheiro de laboratório até as 21 horas ou mais.

Aos alunos de PIBIC Samir Carvalho, Natasha Fernandes pelas conversas e risadas.

Ao professor Leandro Pocrifka, por ceder o uso do condutivímetro.

À secretária do PPGCF, Cléo, sempre atenciosa e disposta a ajudar, por ter me indicado a Prof. Kátia quando eu precisava de orientação.

Aos programas de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) e Imunologia Básica e Aplicada (PPGIBA), pela oportunidade de crescimento pessoal e científico.

À coordenação do PPGCF.

À CAPES pela bolsa concedida.

RESUMO

O tratamento tópico usualmente empregado para o combate à queda de cabelos é a aplicação diária de loção de minoxidil (MX) (2 a 5%) diretamente no couro cabeludo. Entretanto, prurido, ressecamento, descamação do couro cabeludo e dermatite de contato são efeitos adversos ocasionados pela presença de propilenoglicol e etanol, constituintes da solução tópica de MX. O objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar sistemas microemulsionados contendo MX em concentrações iguais e superiores às disponíveis em mercado, livres de etanol e propilenoglicol. A seleção da fase oleosa para compor os sistemas microemulsionados ocorreu mediante a quantificação do minoxidil solubilizado em cada óleo, por espectrofotometria UV-vis. Para a seleção do tensoativo, cotensoativo e da razão cotensoativo/tensoativo (C/T) foi necessária a construção de diagramas de fases pseudoternários, pelo método de titulação. Na seleção do diagrama e dos pontos para o preparo das formulações foi priorizada a obtenção de sistemas do tipo óleo em água (O/A) com quantidades de tensoativo/cotensoativo mais baixas possíveis. Outro fator determinante foi a quantidade de MX incorporada. Cada formulação foi preparada pela adição do MX em pó à microemulsão (ME). Todas as formulações foram caracterizadas quanto tamanho de gotícula, índice de polidispersão (PDI), transmitância, pH, potencial zeta, índice de refração (IR), condutividade, viscosidade e quantidade de fármaco incorporada. O ácido oleico foi a fase oleosa que apresentou a maior quantidade de MX solubilizado ($211 \pm 3,57$ mg/mL) sendo, por este motivo, escolhido para a construção dos diagramas de fases pseudoternários. Após a construção e análise dos diagramas, o tensoativo Tween® 20 juntamente com o cotensoativo 1,2-hexanediol foram selecionados, na razão C/T 1:1. Ao total, seis formulações foram preparadas contendo 2, 5, 8, 9 e 10% de MX. O tamanho de gotícula nestas formulações variou de 25,33 a 151,63 nm. O PDI, de 0,256 a 0,398, indicando que a distribuição de gotículas é monodispersa. A transmitância variou entre 96,8 e 99,6%, e o índice de refração, de 1,403 a 1,4551, evidenciando a natureza transparente destas formulações. O pH medido ficou entre 5,3 e 5,89, compatível com o pH do couro cabeludo e o de estabilidade do MX. As MEs exibiram fluxo newtoniano com média de viscosidade baixa, entre 23,27 a 95,16 cP, característica destes sistemas. O uso de um tensoativo não-iônico resultou em um potencial zeta próximo de zero (-1,08 a 0,023). Considerando que as MEs foram obtidas com o uso de um tensoativo predominantemente hidrofílico e teor de água superior ao de óleo, todas as formulações desenvolvidas foram consideradas do tipo água em óleo (A/O) (condutividade 29,8 a 91,8 μ S/cm). O teor de fármaco nas formulações variou de 96,10 a 101,31%, confirmando que o MX acrescido a cada formulação foi efetivamente solubilizado pelo sistema microemulsionado. A quantidade de fármaco doseada nas formulações foi de 20,80 a 100,44 mg/mL, o que equivale, respectivamente, ao valor nominal de 2 e 5%, que é a concentração de minoxidil encontrada nas formulações comerciais, e superiores, 8 a 10%. Graças a veiculação do MX no ácido oleico, a retirada do propilenoglicol e etanol foi possível. O desenvolvimento de formulações sem estes adjuvantes são de suma importância para a adesão de pacientes que abandonam o tratamento em decorrência do surgimento de reações adversas a estes constituintes.

Palavras chave: minoxidil, microemulsão, propilenoglicol, etanol, dermatite de contato.

ABSTRACT

The topical treatment usually used to combat hair loss is the daily application of minoxidil lotion (MX) (2 to 5%) directly to the scalp. However, pruritus, dryness, scaling of the scalp and contact dermatitis are adverse effects caused by the presence of propylene glycol and ethanol, constituents of the topical MX solution. The objective of this study was to develop and characterize microemulsion systems containing MX in concentrations equal and superior to those available in the market, free of ethanol and propylene glycol. The selection of the oil phase to compose the microemulsion systems occurred by quantifying the solubilized minoxidil in each oil by UV-vis spectrophotometry. For the selection of the surfactant, cosurfactant and the cosurfactant / surfactant ratio (C / T), it was necessary to construct pseudoternary phase diagrams by the titration method. In the selection of the diagram and the points for the preparation of the formulations, it was prioritized to obtain oil-in-water (O / W) type systems with the lowest possible surfactant / cosurfactant amounts. Another determining factor was the amount of MX incorporated. Each formulation was prepared by adding powdered MX to the microemulsion (ME). All formulations were characterized as droplet size, polydispersity index (PDI), transmittance, pH, zeta potential, refractive index (IR), conductivity, viscosity and amount of drug incorporated. The oleic acid was the oil phase that presented the highest amount of solubilized MX (211 ± 3.57 mg / mL) and was therefore chosen for the construction of the pseudoternary phase diagrams. After the construction and analysis of the diagrams, the Tween® 20 surfactant together with the 1,2-hexanediol cosurfactant were selected in the 1: 1 C / T ratio. In total, six formulations were prepared containing 2, 5, 8, 9 and 10% MX. The droplet size in these formulations ranged from 25.33 to 151.63 nm. The PDI is 0.256 to 0.398, indicating that the droplet distribution is monodisperse. The transmittance varied between 96.8 and 99.6%, and the refractive index, from 1.403 to 1.4551, evidencing the transparent nature of these formulations. The measured pH was between 5.3 and 5.89, compatible with the pH of the scalp and the stability of the MX. The MEs exhibited Newtonian flow with low viscosity average, between 23.27 and 95.16 cP, characteristic of these systems. The use of a nonionic surfactant resulted in a zeta potential near zero (-1.08 to 0.023). Considering that the MEs were obtained with the use of a predominantly hydrophilic surfactant and water content higher than that of oil, all developed formulations were considered as water in oil (A / O) (conductivity 29.8 to 91.8 μ S / Cm). The drug content in the formulations ranged from 96.10 to 101.31%, confirming that the MX added to each formulation was effectively solubilized by the microemulsified system. The amount of drug dosed in the formulations was 20.80 to 100.44 mg / mL, which is equivalent respectively to the nominal value of 2 and 5%, which is the concentration of minoxidil found in the commercial formulations, and higher, To 10%. Thanks to the introduction of MX in oleic acid, the removal of propylene glycol and ethanol was possible. The development of formulations without these adjuvants are of great importance for the adhesion of patients who abandon treatment due to the appearance of adverse reactions to these constituents.

Key words: minoxidil, microemulsion, propylene glycol, ethanol, contact dermatitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquematização de um corte longitudinal de um folículo capilar.	16
Figura 2 - Estágios do ciclo de crescimento capilar.	17
Figura 3 - Organograma da classificação geral das alopecias.	19
Figura 4 - Estrutura química do minoxidil (3-óxido-2,4-diamino-6-piperidinopirimidina)....	22
Figura 5 - Fenômenos de instabilidade.	24
Figura 6 - Estrutura molecular básica de uma molécula de tensoativo.	26
Figura 7 - Papel das moléculas de tensoativo e cotensoativo na interface óleo/água.	29
Figura 8 - Influência do cotensoativo na fluidez do filme interfacial. (a) tensoativo linear, (b) tensoativo de cadeia dupla, (c) cotensoativo, (d) filme rígido, (e) filme com fluidez.	30
Figura 9 - Tipos de microemulsão: a – água em óleo, b – óleo em água, c – bicontínua.	33
Figura 10 - Curvatura do filme interfacial de acordo com o empacotamento dos tensoativos.	34
Figura 11 - Influência do empacotamento do tensoativo na curvatura do filme interfacial.	35
Figura 12 - Fatores que afetam a forma de empacotamento do tensoativo.	35
Figura 13 - Influência da estrutura molecular no parâmetro de empacotamento crítico do tensoativo.	36
Figura 14 - Classificação das microemulsões de acordo com Winsor.	37
Figura 15 - Representação das regiões de Winsor no diagrama de fases pseudoternário.	40
Figura 16 - Base triangular de composição de um diagrama de fases ternário.	41
Figura 17 - Representação de diagrama de fases ternário (a), quaternário (b) e pseudoternário (c).	41
Figura 18 - Organização das camadas da pele.	45
Figura 19 - Rotas de permeação de fármacos através do estrato córneo.	46
Figura 20 - Espectro de absorção na região do UV/Vis da solução de MX em metanol a 10 µg/mL. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.	58
Figura 21 - Curva de calibração do MX em metanol.	59
Figura 22 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 20 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.	61
Figura 23 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 80 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.	62
Figura 24 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Brij® 93 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.	63
Figura 25 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Span® 80 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.	64
Figura 26 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Span® 20, Span® 83, Span® 85 e o cotensoativo 1,2-hexanediol.	65
Figura 27 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 20 e Span® 83 e o cotensoativo 1,2-hexanediol, nas razões C/T de 1:2 e 2:1.	66
Figura 28 - Pontos escolhidos para o preparo das formulações F-1, F-2, F-3, F-4, F-5 e F-6.	69
Figura 29 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas da formulação F-1.	71
Figura 30 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas das formulações F-2 e F-3.	72
Figura 31 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas das formulações F-4 e F-5.	73
Figura 32 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas da formulação F-6.	74
Figura 33 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-1 e F-2.	76
Figura 34 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-3 e F-4.	77

Figura 35 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-5 e F-6.	78
Figura 36 - Espectro de absorção na região do UV/Vis da solução de MX em tampão fosfato a 10 µg/mL. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.....	81
Figura 37 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX e dos outros componentes da formulação em metanol. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.....	82
Figura 38 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX e dos outros componentes da formulação em tampão fosfato pH 7,4.	83
Figura 39 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX, microemulsão sem MX e com MX a 2% em metanol. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.....	84
Figura 40 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX, microemulsão sem MX e com MX a 2% em tampão fosfato pH 7,4.	85
Figura 41 - Curva de calibração do MX em tampão fosfato pH 7,4.	86
Figura 42 - Microemulsões após o teste de centrifugação.	88

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Diferenças entre os sistemas de liberação de fármacos emulsionados.	25
Quadro 2 - Tensoativos comumente empregados de acordo com as vias de administração..	28
Quadro 3 - Cotensoativos comumente empregados de acordo com suas vias de administração.....	31
Quadro 4 - Fases oleosas comumente empregadas de acordo com as vias de administração..	32
Quadro 5 - Mecanismos de difusão do fármaco pela via tópica.	47
Quadro 6 - Exemplos de promotores de permeação.	48
Quadro 7 - Solubilidade do Minoxidil (temperatura ambiente).....	57
Quadro 8 - Condutividade elétrica das microemulsões do tipo O/A e A/O.....	79
Quadro 9 - Tipos de microemulsão de acordo com o EHL e teor de óleo e água.....	79
Quadro 10 - Quantidade de minoxidil nos sistemas de liberação reportadas pela literatura. .	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantificação do MX solubilizado nas fases oleosas (mg/mL)	59
Tabela 2 - Composição dos diagramas de fases pseudoternários.	67
Tabela 3 - Composição das microemulsões (p/p) de acordo com a quantidade de MX.....	69
Tabela 4 - Tamanho de gotícula, índice de polidispersão (PDI), transmitância (T) e índice de refração (IR) nas microemulsões preparadas (média $\pm$ DP, n=3).....	70
Tabela 5 - Viscosidade, pH, potencial zeta e condutividade (média $\pm$ DP, n=3).	75
Tabela 6 – Quantificação do MX incorporado às formulações (mg/mL) e teor de fármaco (%) (média $\pm$ DP, n=3).	87

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Ciclo capilar.....	16
2.2 Alopecia.....	18
2.3 Minoxidil	21
2.4 Sistemas emulsionados	22
2.4.1 Microemulsões.....	25
2.4.1.1 Componentes	26
2.4.1.2 Tipos de microemulsão.....	33
2.4.1.3 Preparação e uso de diagramas para estudo das regiões de microemulsão	38
2.4.1.4 Sistemas microemulsionados como sistemas de liberação de fármacos	42
2.5.1.5 Aplicações farmacêuticas	43
3 OBJETIVOS.....	49
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
4.1 Material.....	50
4.1.1 Fase oleosas, tensoativos e cotensoativos.....	50
4.1.2 Fármaco	50
4.1.3 Solventes.....	50
4.1.4 Equipamentos	51
4.2 Métodos	51
4.2.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário para a delimitação da região de microemulsão.....	51
4.2.1.1 Seleção da fase oleosa	51
4.2.1.2 Seleção do tensoativo, cotensoativo e razão C/T	52
4.2.2 Seleção do diagrama e escolha da proporção de cada componente da formulação	53
4.2.3 Preparo das formulações.....	54
4.2.4 Caracterização físico-química das microemulsões.....	54
4.2.4.1 Índice de refração	54
4.2.4.2 Mensuração do tamanho de gotícula, potencial zeta e índice polidispersão (PDI)	54
4.2.4.3 Transmitância	54
4.2.4.4 Determinação do pH das microemulsões	54
4.2.4.5 Determinação da viscosidade e comportamento reológico das microemulsões	55

4.2.4.6 Condutividade elétrica.....	55
4.2.4.7 Quantificação do fármaco solubilizado na formulação através de espectrofotometria de UV (REDDY; MUTALIK; RAO, 2006).	55
4.2.4.8 Teste de centrifugação	56
4.2.5 Espectro de absorção dos componentes selecionados para formulação	56
4.2.6 Análise estatística	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário para a delimitação das regiões de microemulsão.....	57
5.1.1 Seleção da fase oleosa	57
5.1.2 Seleção do tensoativo, cotensoativo e razão C/T	60
5.2 Preparo das formulações.....	68
5.3 Caracterização físico-química das microemulsões.....	70
5.3.1 Índice de refração	70
5.3.2 Determinação do tamanho de gotícula e índice polidispersão (PDI)	70
5.3.3 Transmittância	74
5.3.4 Determinação do pH das microemulsões	74
5.3.5 Determinação da viscosidade e comportamento reológico das microemulsões	75
5.3.6 Condutividade elétrica.....	79
5.3.7 Potencial zeta.....	80
5.3.8 Quantificação de fármaco incorporado.....	81
5.3.9 Teste de Centrifugação	87
CONCLUSÃO.....	89
REFERÊNCIAS	90

1 INTRODUÇÃO

O termo alopecia é proveniente da palavra grega *alopekia*, que significa cabelos caindo (ROSA; SOARES; BARROS, 2007). A queda de cabelo está dentre as causas mais frequentes de visita ao dermatologista, especialmente em adultos jovens (KADUNC *et al.*, 2003). Não há dados epidemiológicos que incluam todos os tipos de alopecia (ROSA; SOARES; BARROS, 2007).

O cabelo contribui com algumas funções biológicas úteis, incluindo proteção do couro cabeludo, face e pescoço contra radiação ultravioleta solar, redução da perda de calor pelo couro cabeludo e percepção tátil (WOLFF; JOHNSON; SAAVEDRA, 2015).

Apesar de a alopecia ter poucos efeitos físicos nocivos, o cabelo contribui para a percepção psicológica da beleza, atratividade e identidade feminina, portanto, sua perda pode acarretar consequências psicológicas, incluindo altos níveis de ansiedade, depressão, fobia social e paranoia (KOO *et al.*, 1994; MCGARVEY *et al.*, 2001; HUNT; MCHALE, 2005; WOLFF; JOHNSON; SAAVEDRA, 2015).

As causas mais frequentes de queda de cabelo em pacientes pediátricos incluem *tinea capitis*, alopecia areata, alopecia por tração e tricotilomania, enquanto que na população adulta, as formas mais comuns são a alopecia androgenética e a alopecia areata (PHILLIPS; SMITH; STORER, 1986).

O MX é um fármaco de uso oral que foi desenvolvido para o tratamento de pacientes com hipertensão grave (ROGERS; AVRAM, 2008). A indução de hipertricrose decorrente do seu uso levou, em 1980, ao desenvolvimento de uma formulação destinada à aplicação tópica no couro cabeludo para o combate à queda dos cabelos. Em 1984, o MX por via tópica começou a ser utilizado para o tratamento da alopecia androgenética (PURNAK; SENEL; SAHIN, 2011). O uso de MX por via tópica também mostrou surtir efeito no tratamento da alopecia areata, induzida por quimioterapia, por tração e do eflúvio telógeno (FIEDLER-WEISS, 1987; ROGERS; AVRAM, 2008).

Para administração tópica, o MX pode ser encontrado em formulações líquidas ou de espuma, pelo nome comercial Regaine®, Rogaine®, Kirkland® e Foligan P5®, nas concentrações de 2% e 5%, para aplicação no couro cabeludo seco (PURNAK; SENEL; SAHIN, 2011; SCHACHNER; HANSEN, 2011).

A fórmula líquida é composta por água, álcool e propilenoglicol (PURNAK; SENEL; SAHIN, 2011). A absorção sistêmica após a aplicação tópica do fármaco é mínima

(FIEDLER-WEISS, 1987), porém o uso de propilenoglicol e etanol, necessários para promover a solubilização do minoxidil e melhorar a permeação cutânea, podem gerar efeitos adversos como prurido, ressecamento, irritação, descamação do couro cabeludo e dermatite de contato (TATA; WEINER; FLYNN, 1994; FRIEDMAN *et al.*, 2002; LACHENMEIER; 2008; PURNAK; SENEL; SAHIN, 2011; SHATALEBI; RAFIEI, 2014).

A presença de propilenoglicol em uma formulação pode exacerbar a resposta inflamatória já presente na pele (ACTON, 2013). Nestes casos, a formulação em espuma é uma alternativa, por não conter propilenoglicol (PURNAK; SENEL; SAHIN, 2011).

Já as formulações contendo etanol tem como desvantagem a tendência deste componente evaporar após aplicação na pele. Quando isto acontece, o MX retorna à forma cristalina insolúvel, e sua absorção pela pele fica prejudicada (BALAKRISHNAN *et al.*, 2009).

Visando minimizar os efeitos adversos destas formulações e a melhora da eficácia terapêutica, novas formulações para veiculação do MX, livres de solventes orgânicos e propilenoglicol, vêm sendo desenvolvidas, dentre elas lipossomas (MURA *et al.*, 2007), niossomas (BALAKRISHNAN *et al.*, 2009), géis (LOPEDOTA, *et al.*, 2015) e nanopartículas (PADOIS *et al.*, 2011). A quantidade máxima de MX adicionada a cada sistema citado foi de, respectivamente, 33,1 mg/mL, 48,76 mg/mL, 5% e 5%.

Após o sucesso de Sandimmune Neoral® (Ciclosporina A), Fortovase® (Saquinavir), Norvir® (Ritonavir), sistemas microemulsionados têm sido alvo de grande interesse da indústria farmacêutica. Algumas vantagens como estabilidade termodinâmica, capacidade de aumentar a solubilização e a biodisponibilidade de fármacos lipofílicos, baixa viscosidade, possibilidade de esterilização, facilidade de preparo, capacidade de potencializar a permeação tópica e a possibilidade de incorporação de altas concentrações do fármaco fazem das microemulsões interessantes sistemas de veiculação (SOLANS; KUNIEDA, 1997; PEIRA; SCOLARI; GASGO, 2001; DATE; NAGARSENKER, 2008).

O desenvolvimento de microemulsões contendo MX foram descritas por Jaipakdee *et al.* (2016) e Sakr *et al.* (2013), ambas contendo na sua composição propilenoglicol e etanol. A quantidade máxima de MX incorporada no primeiro estudo foi de 36 mg/mL, e no segundo, 5%.

Em virtude dos efeitos adversos ocasionados pelo uso do propilenoglicol e etanol presentes na solução de MX e, tendo em vista as vantagens relacionadas aos sistemas microemulsionados, este trabalho se propôs a substituir o uso de ambos os adjuvantes de

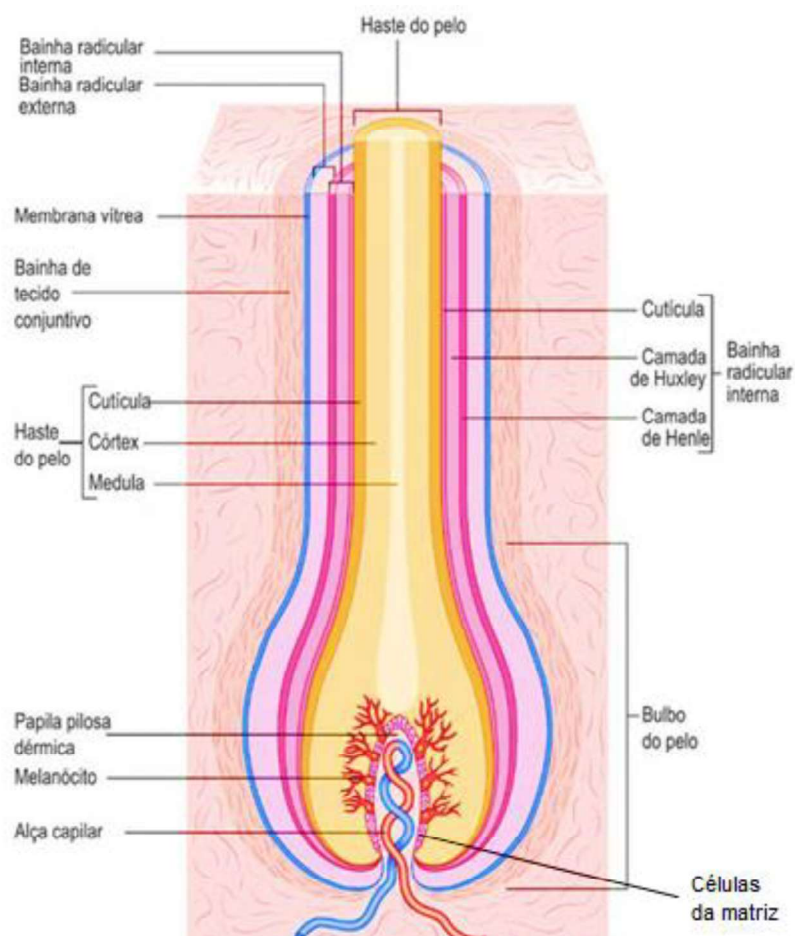
solubilização, veiculando o MX em um sistema microemulsionado e incorporar neste sistema uma quantidade de fármaco superior a concentração disponível comercialmente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo capilar

O cabelo, originado do folículo capilar (Figura 1), é um anexo da pele constituído por raiz e haste (UNDCP, 2001; NELIGAN; GURTNER, 2013). A raiz juntamente com a papila dérmica, compõem o bulbo capilar. A papila dérmica é rica em capilares que fornecem nutrientes e oxigênio para as células do folículo capilar, enquanto que o conjunto de células que compõe a raiz do cabelo, denominadas células matriciais, por meio da proliferação por divisões mitóticas, é responsável pelo alongamento ou crescimento do fio (KRSTIC, 1991; GARTNER; HIATT, 2007).

Figura 1 – Esquematização de um corte longitudinal de um folículo capilar.



Fonte: STANDRING, 2010.

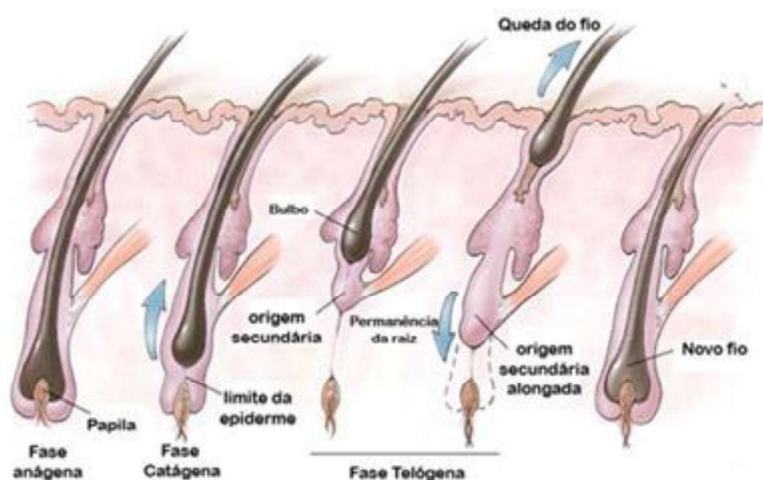
A formação capilar é um fenômeno cíclico resultante de sucessivos períodos de crescimento, involução e queda dos fios (PATTERSON, 2016).

Em um indivíduo normal, cerca de 85 a 90% dos fios do couro cabeludo estão na fase ativa de crescimento do cabelo, ou fase anágena, (Figura 2) que é a caracterizada pela proliferação das células da matriz, levando ao desenvolvimento e crescimento da haste capilar, a qual tem seu comprimento diretamente proporcional à duração desta fase, que costuma ser de 2 a 5 anos (KAMINER *et al.*, 2009; NELIGAN; GURTNER, 2013; PATTERSON, 2016).

Após o termino do crescimento da haste capilar, os folículos entram na fase catágena (BOLOGNIA; JORIZZO; SCHAFFER, 2015). Nesta etapa, a atividade mitótica da matriz germinal cessa e ocorre a condensação da base do pelo, que adquire forma de bastão. Em seguida, este se move ao nível do músculo eretor do pelo e o segmento inferior inteiro do folículo degenera. A papila dérmica também ascende e permanece junto da base do folículo encurtado e seu pelo em bastão incluso, uma situação que persiste durante a fase de repouso ou telógena (STANDRING, 2011). Esta fase dura de 2 a 3 semanas (NELIGAN; GURTNER, 2013).

Na fase telógena, os folículos presentes na derme superficial encontram-se em estado de repouso. Esta fase tem duração aproximada de 3 meses e corresponde a 10% dos fios presentes no couro cabeludo. Quando, a haste se desprende (queda do fio), o ciclo se reinicia novamente (KADUNC *et al.*, 2003; NELIGAN; GURTNER, 2013; PARKER; PICUT, 2016).

Figura 2 - Estágios do ciclo de crescimento capilar.



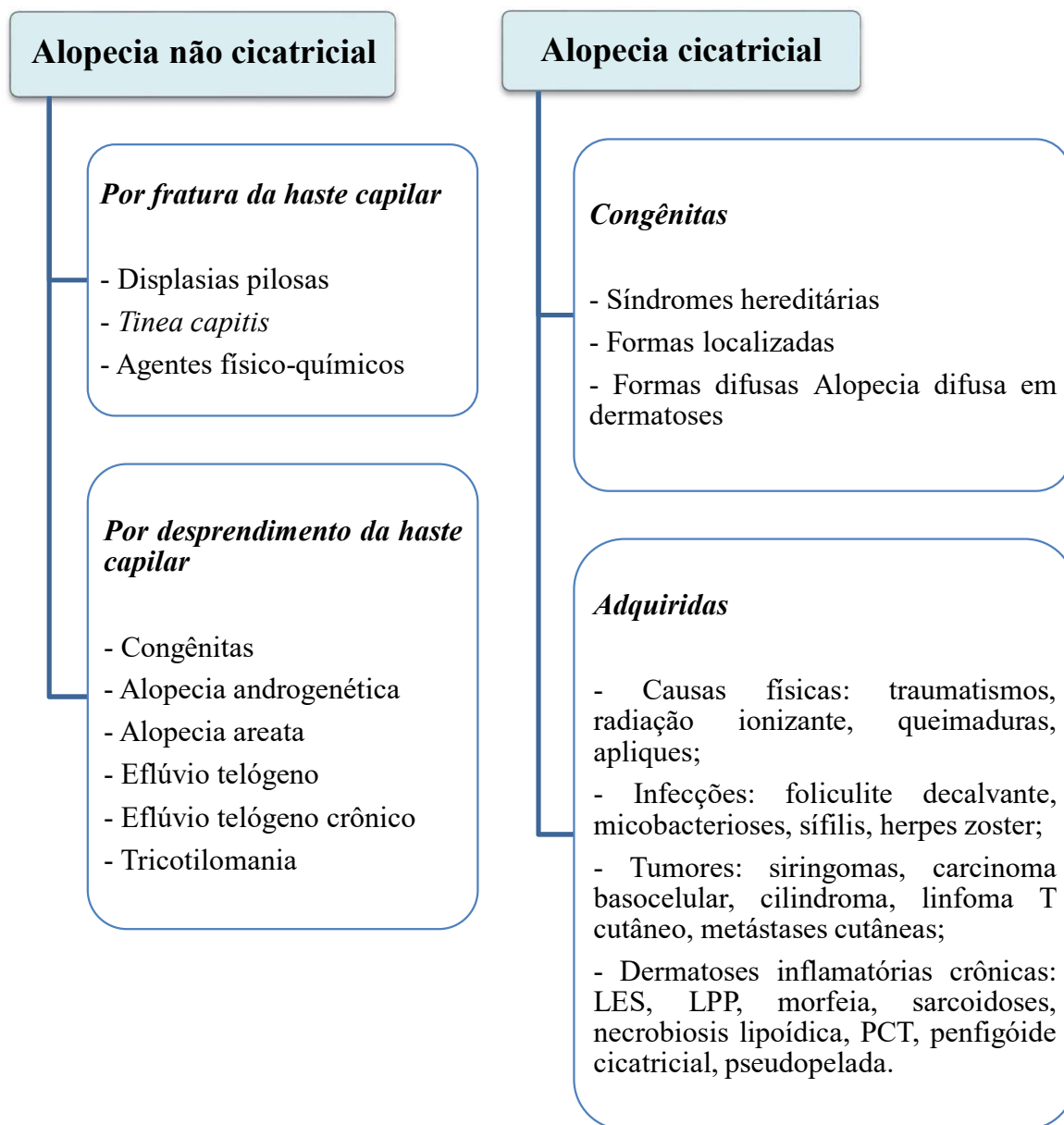
2.2 Alopecia

O termo alopecia define a ausência de crescimento de cabelo ou pelos em áreas da pele nas quais é usualmente presente (ALONSO *et al.*, 2014), ou, ainda, afecção dos fios que ocasiona perda parcial ou total de cabelos ou pelos (BARROS, 2009).

A alopecia possui origens diversas, podendo ser congênita, senil, prematura ou relacionada a problemas sistêmicos (BARROS, 2009). Pode ser classificada em cicatricial e não cicatricial (Figura 3). A alopecia cicatricial inclui um grupo de condições caracterizadas por perda capilar irreversível devido à destruição do folículo capilar. Apresentam evidências de destruição tecidual, como inflamação, atrofia e fibrose evidentes. É uma condição permanente, assim não pode ser revertida por tratamento (GORDON; TOSTI, 2011; KATSAMBAS *et al.*, 2015; WOLFF; JOHNSON; SAAVEDRA, 2015). Já na alopecia não cicatricial, a perda de fios é frequentemente reversível, pois o bulbo capilar ainda está vivo e, com tratamento efetivo, os folículos são capazes de se regenerar (SPERLING; LUPTON, 1995; FILBRANDT *et al.*, 2013). Pode ser causada por fatores relacionados a alterações no ciclo de crescimento capilar, anormalidades estruturais nos fios e traumas (SCHACHNER; HANSEN, 2011). Os tipos mais comuns de alopecia não cicatricial incluem a alopecia androgenética, alopecia areata, eflúvio telógeno, tricotilomania, alopecia de tração e *tinea capitis* (SPRINGER; BROWN; STULBERG, 2003).

A alopecia androgenética, mais comumente conhecida como calvície, é a forma mais comum de perda de cabelo em homens e mulheres, como demonstrado por RHODES e colaboradores, em 1998, pode afetar 16% dos homens com idade de 18 a 29 anos e 53% dos homens com idade de 40 a 49 anos; podendo atingir 80% dos homens caucasianos até os 70 anos (BOLOGNIA *et al.*, 2014). Nas mulheres com idade inferior a 50 anos e aos 70 anos ou mais, a prevalência relatada é de 6% e 40%, respectivamente (NORWOOD, 2001). É caracterizada por perda progressiva de diâmetro, comprimento e pigmentação capilar. Este processo ocorre em folículos do couro cabeludo suscetíveis a di-hidrotestosterona (produto da conversão da testosterona pela *5 α -reductase*). Ao se ligar ao receptor androgênico, a di-hidrotestosterona resulta na ativação de genes responsáveis pela gradual miniaturização dos folículos (PRICE, 1999; GORDON; TOSTI, 2011). O tratamento aprovado pelo órgão governamental “Food and Drug Administration” (FDA) para este tipo de alopecia é minoxidil, por via tópica, e finasterida (1 mg/dia), por via oral (OTBERG; FINNER; SHAPIRO, 2007; ROGERS; AVRAM, 2008).

Figura 3 - Organograma da classificação geral das alopecias.



Legenda:

LES: lúpus eritematoso sistêmico;

LPP: liqen plano pilar/ alopecia frontal fibrosante;

PCT: porfiria cutânea tardia.

Fonte: ALONSO et al., 2014 (adaptado).

A alopecia areata é uma condição comum em todas as idades, com 11% até 20% dos casos reportados antes dos 16 anos (SCHACHNER; HANSEN, 2011). Entre 1971 e 1974, a prevalência da alopecia areata, nos Estados Unidos, reportada pela “National Health and Nutrition Examination Survey” (NHAES-1), variou de 0,1% a 0,2% da população (SAFAVI, 1992). É uma doença autoimune em que os fios que estão em fase de crescimento (ou fase anágena), são conduzidos prematuramente à involução (fase catágena), resultando na distrofia e miniaturização capilar. Neste tipo de alopecia, os folículos não são destruídos pelo processo inflamatório, uma vez que cessada a inflamação, os fios voltam a crescer novamente (HARRIES *et al.*, 2010). Nas formas mais graves, o quadro pode se distribuir para todo o couro cabeludo (*alopecia totalis*) ou todos os pelos e cabelos do corpo (*alopecia universalis*) (KATIKANENI *et al.*, 2013; PRICE, 1999). O tratamento para a alopecia areata inclui uso de minoxidil, ditranol e corticosteroides (PRICE, 1999; MacDONALD HULL *et al.*, 2003; WASSERMAN *et al.*, 2007; ROGERS; AVRAM, 2008; SHAPIRO, 2013).

O eflúvio telógeno é uma condição na qual um número significativo de folículos capilares presentes na fase anágena são conduzidos, por algum estímulo, a parar prematuramente seu crescimento e entrar na fase catágena e, depois, na fase telógena (MALKUD, 2015; ROSA; SOARES; BARROS, 2007). Normalmente, somente 5 a 10% dos folículos estão na fase telógena, porém, o evento estressor induz cerca de 20 a 50% dos folículos capilares a entrarem e permanecerem na fase telógena (QI; GARZA, 2014). O eflúvio telógeno pode possuir inúmeros fatores desencadeantes, incluindo febre alta, hospitalização, cirurgia, hemorragia, mudanças de medicação, metais pesados, estresse emocional, desordens da tireoide, deficiência de ferro, uso de certas medicações (anticonvulsivantes, anticoagulantes, etc.), entre outros (GROVER; KHURANA, 2013). O tratamento do eflúvio telógeno agudo é direcionado ao seu fator desencadeante, ao passo que o crônico, que é comum em mulheres entre 30 a 50 anos, emprega-se solução de minoxidil a 5% (SCHACHNER; HANSEN, 2011; HABIF 2010 apud QI; GARZA, 2014; OTBERG; SHAPIRO 2012 apud QI; GARZA, 2014; MALKUD, 2015).

A tricotilomania é um termo aplicado para descrever um transtorno caracterizado pelo hábito impulsivo de puxar os cabelos (QI; GARZA, 2014). É a forma mais comum de alopecia na infância (SPRINGER; BROWN; STULBERG, 2003). Por ser um transtorno psicológico, seu tratamento de primeira escolha é o emprego do antidepressivo clomipramina (BOLOGNIA; JORIZZO; SCHAFFER, 2015).

A *tinea capitis* é uma infecção causada por fungos dermatófitos (usualmente espécies do gênero *Microsporum* e *Trichophyton*) presentes nos folículos capilares do couro cabeludo

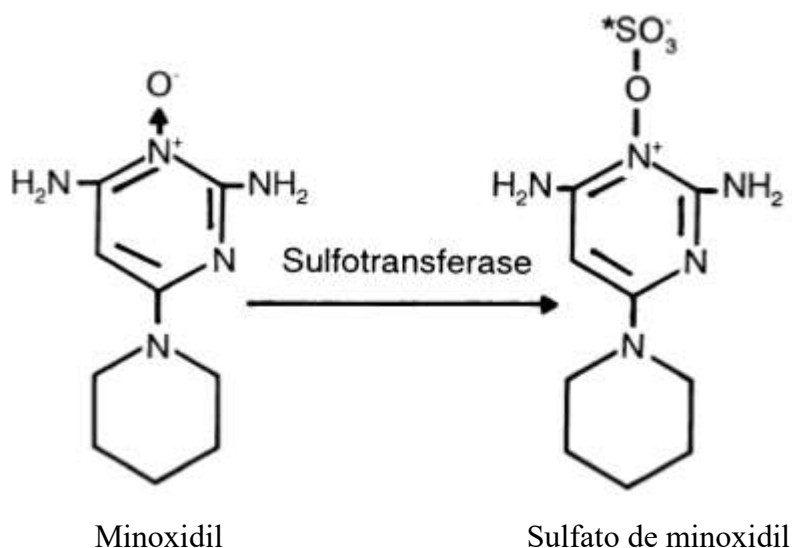
e na pele circundante (HIGGINS; FULLER; SMITH, 2000). Usualmente ocorrem em pacientes na pré-adolescência (SPRINGER; BROWN; STULBERG, 2003). O tratamento da *tinea capitis* tem por base o uso oral de antifúngicos como griseofulvina, terbinafina e itraconazol (HIGGINS; FULLER; SMITH, 2000).

Por último, a alopecia de tração, como o próprio nome já diz, é uma alopecia associada à tração não intencional dos fios na realização de certos tipos de penteado, por exemplo, tranças e rabo de cavalo (SPRINGER; BROWN; STULBERG, 2003). Casos de alopecia por tração são comuns na raça africana, acometendo 17,1% de meninas e jovens em fase escolar (6-21 anos) e 31,7% de mulheres (18-86 anos) (SCHACHNER; HANSEN, 2011). O tratamento deste tipo de alopecia tem por base mudanças no estilo do penteado, que, caso não aconteça, pode resultar no quadro de alopecia cicatricial (SPRINGER; BROWN; STULBERG, 2003). O uso de minoxidil a 2% tem sido reportado (SCHACHNER; HANSEN, 2011).

2.3 Minoxidil

Descoberto em 1965, é um anti-hipertensivo, da classe dos vasodilatadores, administrado oralmente para o tratamento de pacientes com hipertensão grave que não respondem a outras medicações anti-hipertensivas, especialmente em homens com insuficiência renal. O minoxidil é um pró-fármaco que, pela ação das sulfotransferases, é metabolizado na sua forma ativa, sulfato de minoxidil (Figura 4) (ANDERSON; KUDLACEK; CLEMENS, 1998; ARCHER; RUSCH, 2001; BRUNTON *et al.*, 2010; BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). O sulfato de minoxidil leva à ativação do canal de K^+ modulado pelo ATP no músculo liso, ocasionando a hiperpolarização e relaxamento do músculo liso arteriolar. O minoxidil provoca vasodilatação arteriolar praticamente sem nenhum efeito sobre os vasos de capacitância. Apesar de extremamente eficaz, seu uso é limitado devido alguns efeitos adversos que podem ser graves, como retenção de líquido e sal, efeitos cardiovasculares e hipertricose (BRUNTON *et al.*, 2010), e foi exatamente a observação deste último efeito adverso que estimulou seu uso tópico no tratamento de alguns tipos de calvície.

Figura 4 - Estrutura química do minoxidil (3-óxido-2,4-diamino-6-piperidinopirimidina).



Fonte: ANDERSON; KUDLACEK; CLEMENS, 1998.

O crescimento capilar decorrente do uso da formulação tópica contendo o fármaco é usualmente observado após dois meses do uso tópico, e cessa quando o tratamento é interrompido (OLSEN; WEINER, 1987; SCHACHNER; HANSEN, 2011). A queda dos fios adquiridos ocorre entre 4 a 6 meses após a suspensão da administração e o couro cabeludo retorna ao status de pré-tratamento (OLSEN; WEINER, 1987; TOSTI; CAMACHO-MARTINEZ; DAWBER, 1999).

Os mecanismos pelos quais o minoxidil estimula o crescimento capilar não são claros, mas o fármaco parece atuar prolongando a duração da fase anágena, ao atrasar a fase catágena, e aumentando o tamanho do folículo capilar. Algumas evidências relacionam que o crescimento de cabelos está ligado à abertura dos canais de potássio pelo sulfato de minoxidil. Outras associam ao estímulo do fluxo sanguíneo no couro cabeludo, aumentando a nutrição do bulbo e fortalecimento do fio (WESTER *et al.*, 1984; MESSENGER; RUNDEGREN, 2004; DAVIES *et al.* 2005; SHORTER *et al.*, 2008; TRUEB; LEE, 2014).

2.4 Sistemas emulsionados

A palavra emulsão deriva do verbo latino *emulgeo*, que significa mungir, aplicando-se, de um modo geral, a todas as preparações de aspecto leitoso com as características de um sistema disperso de duas fases líquidas (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992). Sistemas

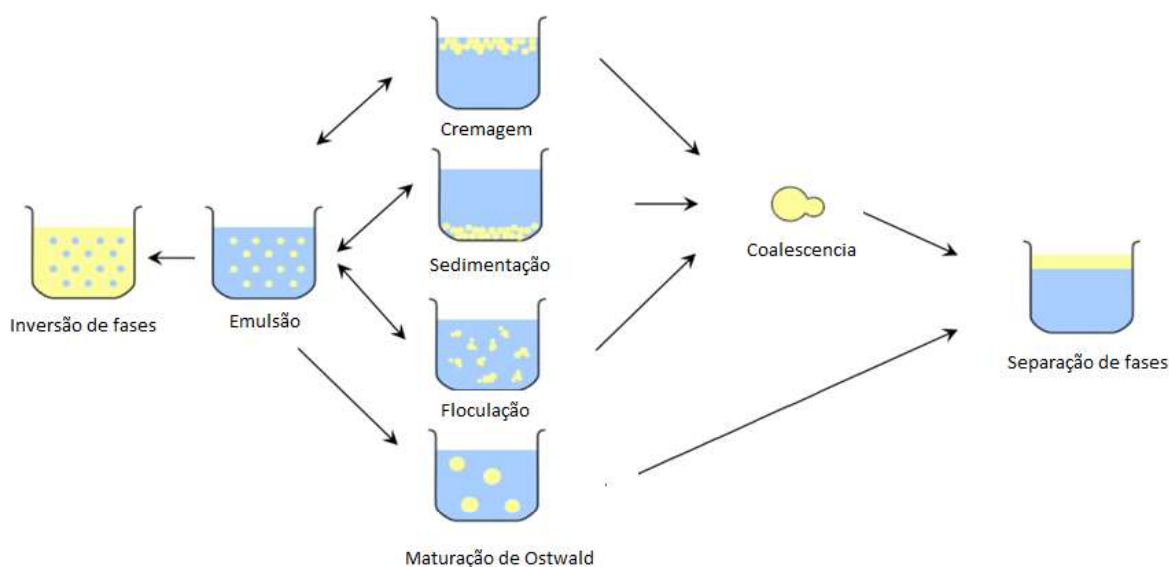
emulsionados ou emulsificados podem ser classificados de acordo com sua estabilidade termodinâmica e tamanho de gotículas (MISHRA, 2016).

Macroemulsões (ou simplesmente emulsões) são sistemas bifásicos definidos como uma mistura de dois líquidos imiscíveis, onde uma fase encontra-se dispersa no interior de outra na forma de gotículas, usualmente polidispersas com diâmetro entre 1 a 100 μm , cuja interface gerada é estabilizada pela presença de um agente emulsificante (JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015; MISHRA, 2016). São opticamente turvas e podem somente ser obtidas pela mistura mecânica e, geralmente, sob aquecimento, para a fusão de alguns dos seus componentes (BAGWE *et al.*, 2001). Além disso, são sistemas metaestáveis, ou seja, estáveis por longo período de tempo, mas termodinamicamente instáveis e que tendem à separação de fases (BAGWE *et al.*, 2001; MISHRA, 2016). Os principais mecanismos de desestabilização destes sistemas são a floculação, cremação e a coalescência (MISHRA, 2016) (Figura 5).

A cremação ou cremagem é um fenômeno no qual a fase dispersa pode subir até a superfície ou sedimentar por influência da gravidade, formando um creme sob repouso, em virtude de diferenças de densidade entre a fases dispersa e dispersante (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001; AULTON, 2005).

A floculação ocorre quando as gotículas da fase dispersa formam aglomerados frouxos resultante das forças atrativas de London-van der Waals (AULTON, 2005).

A coalescência, por sua vez, é caracterizada por um processo de crescimento de gotículas ocasionado pela fusão de duas ou mais gotículas (TADROS, 2016), gerando gotículas cada vez maiores até evoluir para a completa separação entre as fases aquosa e oleosa.

Figura 5 - Fenômenos de instabilidade.

Fonte: http://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/1-3.html

Nanoemulsões, por sua vez, são emulsões cujas gotículas possuem diâmetro médio na escala nanométrica, entre 20 a 600 nm (JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015). Apesar de termodinamicamente instáveis, são sistemas cineticamente estáveis frente à floculação e a cremação, uma vez que o diâmetro diminuto das gotículas diminui a frequência de choque entre elas, permitindo ao sistema manter-se disperso. A maturação de Ostwald é o principal mecanismo de instabilidade destes sistemas, por isso, as moléculas da fase dispersa devem ser essencialmente insolúveis na fase contínua para evitar tal fenômeno. O processo de emulsificação ocorre mediante a adição de energia por meio de métodos de baixa energia (temperatura de inversão de fases e emulsificação espontânea) ou de alta energia (homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores e ultrassom) (JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015). Comparada às microemulsões, menor quantidade de tensoativos é requerida para seu preparo (ABOOFAZELI, 2010).

Sob certas condições, as gotículas de óleo em uma emulsão podem se tornar pequenas ao ponto de não refratarem a luz, formando dispersões transparentes denominadas microemulsões (BAGWE *et al.*, 2001). Microemulsões são sistemas transparentes e isotrópicos, que possuem baixa viscosidade e estabilidade termodinâmica. São formados por água, óleo e tensoativo, e podem requerer a adição de cotensoativos como álcoois, amidas e

sulfóxidos para uma apropriada fluidez ou viscosidade da interface (BAGWE *et al.*, 2001; TALEGAONKAR *et al.*, 2008). Geralmente apresentam gotículas de tamanho inferior a 100 nm e, ao contrário das nanoemulsões que requerem adição de energia para seu preparo, estes sistemas, por possuírem estabilidade termodinâmica, geralmente formam-se espontaneamente, desde que os componentes sejam misturados em proporções adequadas (BAGWE *et al.*, 2001, MASON, *et al.*, 2006).

O Quadro 1 lista as principais diferenças entre emulsões, nanoemulsões e microemulsões.

Quadro 1 - Diferenças entre os sistemas de liberação de fármacos emulsionados.

Parâmetro	Emulsão	Nanoemulsão	Microemulsão
Tipo de dispersão	Grosseira	Coloidal	Coloidal
Tamanho da fase interna	1 a 100 µm	20 a 600 nm	< 100 nm
Estabilidade termodinâmica	Instável	Instável	Estável
Formação	Requer energia	Requer energia	Espontânea
Quantidade de tensoativo requerida para a estabilização	Baixa	Média	Alta
Características visuais			
Consistência	Fluida/ semissólida	Fluida	Fluida
Turbidez	Leitoso	Pode variar	Transparente

Fonte: BAGWE *et al.*, 2001; LOPES, 2014 (adaptado); JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015.

2.4.1 Microemulsões

As microemulsões foram descritas pela primeira vez, por Hoar e Schulman em 1943, como uma dispersão transparente, obtida pela titulação de uma emulsão leitosa, composta por fase oleosa, água e tensoativo iônico, com um álcool de cadeia média. Os autores acreditavam que em torno da fase dispersa havia uma monocamada composta pelo tensoativo iônico (sabão solúvel na água) intercaladas pelo cotensoativo, uma molécula anfipática não ionizada (HOAR; SCHULMAN, 1943).

Mais tarde, Bowcott e Schulman (1955) afirmaram que este complexo, formado pelo sabão solúvel na água e uma molécula anfipática solúvel no óleo na interface entre a fase oleosa e aquosa, era responsável por baixar a tensão interfacial entre as duas fases ao ponto da emulsificação espontânea acontecer e, conseqüentemente, responsável pela alta estabilidade do sistema. A interposição do tensoativo entre as fases produzia energia livre negativa necessária para estabilizar o sistema microemulsionado com maior área interfacial (SCHULMAN; MONTAGNE, 1961).

2.4.1.1 Componentes

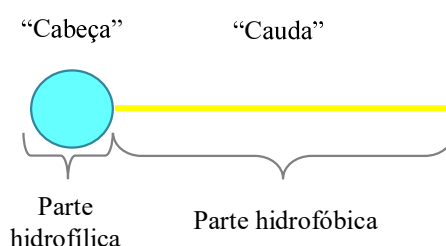
Um grande número de constituintes está disponível para uso em microemulsões, porém na escolha dos componentes que farão parte de formulações farmacêuticas, deve-se optar por aqueles que possuam baixa toxicidade, que sejam biocompatíveis e clinicamente aceitáveis (MISHRA, 2016).

A seleção dos componentes para solubilização e liberação do fármaco depende do conhecimento acerca do comportamento do fármaco no sistema de liberação e *in vivo* (BAGWE *et al.*, 2001).

2.4.1.1.1 Tensoativos

Tensoativos são moléculas anfifílicas compostas por uma parte solúvel em solventes polares que é hidrofílica e uma parte insolúvel em solventes polares que é hidrofóbica. A parte polar do tensoativo é referida como cabeça, e a parte apolar como cauda, esta característica confere a capacidade dos tensoativos de se adsorver nas superfícies e interfaces (Figura 6) (MISHRA, 2016).

Figura 6- Estrutura molecular básica de uma molécula de tensoativo.



Fonte: SZYMANSKI, 2008 (adaptado).

São classificados em iônicos (catiônicos e aniônicos), não iônicos e anfóteros. Tensoativos não iônicos e anfóteros tendem a ser menos tóxicos que os tensoativos iônicos, e, por este motivo, são os mais amplamente empregados para formulações farmacêuticas (TORCHILIN, 2006; BIRDI, 2016).

A alta concentração de tensoativos frequentemente necessária para formulação de sistemas microemulsionados pode gerar irritação. Sendo assim, é importante que estes componentes sejam utilizados em concentrações que resultarão em sistemas não agressivos (KREILGAARD, 2002; MISHRA, 2016).

De modo geral, tensoativos de origem natural (lecitinas e tensoativos a base de açúcares, como alquilpoliglicosídeos e os ésteres de sacarose) são preferidos em relação aos tensoativos sintéticos (LOPES, 2014; DATE; NAGARSENKER, 2008).

Segurança é o quesito primordial na escolha do tensoativo, mas outros critérios também podem ser levados em consideração, como a solubilidade e compatibilidade destes componentes com o fármaco a ser incorporado (LIU, 2008).

Em relação à formulação de sistemas microemulsionados, é necessário que o tensoativo selecionado seja capaz de reduzir a tensão interfacial a um valor muito baixo ($< 10^{-3} \text{mN/m}$) a fim de conduzir o processo de emulsificação espontânea e, estar em uma concentração que permita a estabilização das microgotículas produzidas pela tensão interfacial reduzida (BAGWE *et al.*, 2001). O uso de altas quantidades de tensoativos e cotensoativos, além de induzir à emulsificação espontânea, leva à redução do tamanho das gotículas (50 nm) da fase interna (VANDAMME, 2002).

A determinação ou o conhecimento do valor do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do tensoativo pode ser útil no processo de seleção do tipo de microemulsão desejada. Tensoativos com EHL maior que 20 frequentemente requerem o uso de um cotensoativo, a fim de reduzir o valor de EHL ao intervalo requerido para formação de microemulsões (AZEEM *et al.*, 2009; MISHRA, 2016).

O Quadro 2 lista os tensoativos farmacêuticamente aceitáveis para uso em cosméticos e medicamentos.

Quadro 2 - Tensoativos comumente empregados de acordo com as vias de administração.

Nome comercial	Descrição química	EHL	Via oral	Via parenteral	Via tópica	Referências
Brij® 58	Cetil éter de polioxietileno	15.7			X	(1)
Brij® 96	Oleil éter polioxietileno	12.4		X		(2)
Cremophor® EL	Óleo de ricino polioxil 35	12-14	X	X	X	(2) (3) (4)
Cremophor® RH 40	Óleo de ricino hidrogenado polioxil 40	14 -16	X	X		(2) (3)
Cremophor® RH 60	Óleo de ricino hidrogenado polioxil 60	15-17		X		(2)
Labrafil M-1944CS	Glicerídeos de polietilenoglicol oleil-6	4	X			(3)
Labrasol®	L-polietilenoglicol-8-caprilato/caprato	14	X		X	(3) (5)
Lecitina		3-4		X	X	(2) (6)
Pluronic® F-68	Polaxamer 188	>24		X		(2)
Solutol® HS 15	12 hidroxiestearato de polioxietileno-660	~15	X	X		(2) (3)
Span® 20	Monolaurato de sorbitano	8.6		X	X	(2) (7)
Span® 80	Monoleato de sorbinato	4.3	X			(3)
TPGS	Succinato de D-alfa-tocoferil polietilenoglicol 1000	13.2	X		X	(3) (9)
Tween® 20	Polissorbato 20	16.7	X	X		(2) (3)
Tween® 80	Polissorbato 80	15.0	X	X	X	(2) (3) (8)

Fonte: (1) KANTARCI, 2007 (2) DATE; NAGARSENKER, 2008 (3) STRICKLEY, 2004 (4) ZHU *et al.*, 2009 (5) HUA *et al.*, 2004 (6) HOELLER; KLANG; VALENTA, 2008 (7) HUANG *et al.*, 2008 (8) PELTOLA *et al.*, 2003 (9) SUPPASANSATORN *et al.*, 2007.

2.4.1.1.2 Cotensoativos

O cotensoativo é uma molécula anfifílica pequena, que apresenta grupos hidrofílicos e lipofílicos menores que uma molécula de tensoativo (BIRDI, 2016).

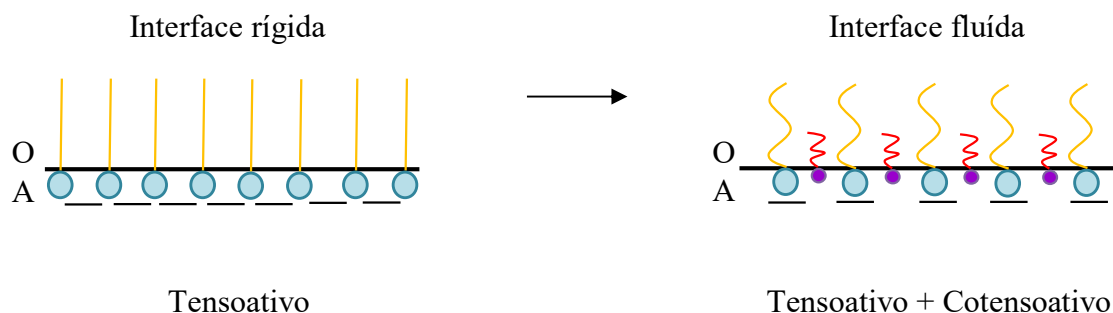
Os cotensoativos possuem basicamente três propriedades:

(i) capacidade de reduzir a tensão superficial, tanto para promover a emulsificação espontânea como para garantir sua estabilidade termodinâmica (VANDAMME, 2002);

(ii) modificar a curvatura interfacial (VANDAMME, 2002) - a adição de cotensoativos de cadeia curta favorecem a formação de sistemas do tipo O/A ao contribuir para a formação de uma curvatura positiva (Figura 11), enquanto que tensoativos de cadeia longa favorecem o tipo A/O, de curvatura negativa (FANUN, 2011);

(iii) atuam na fluidez do filme interfacial (VANDAMME, 2002) - por permitir a mobilidade dos tensoativos de cadeia longa (Figura 7); isso favorece a formação de microemulsões e desfavorece a formação de estruturas líquido cristalinas e géis (BAGWE, *et al.*, 2001; MISHRA, 2016).

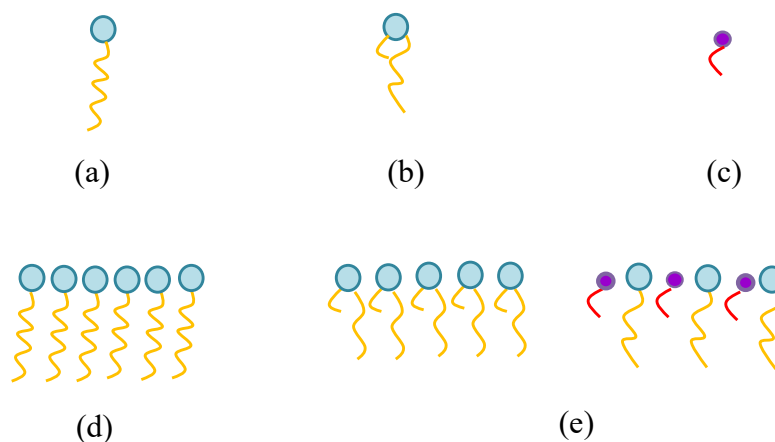
Figura 7 - Papel das moléculas de tensoativo e cotensoativo na interface óleo/água.



Fonte: ROMSTED, 2014 (adaptado).

Os cotensoativos que promovem a fluidez adicional são equivalentes aos tensoativos de cadeia dupla (Figura 8). A existência de ligações insaturadas na cadeia hidrocarbonada dos tensoativos igualmente aumentam a fluidez do filme (VANDAMME, 2002).

Figura 8 - Influência do cotensoativo na fluidez do filme interfacial. (a) tensoativo linear, (b) tensoativo de cadeia dupla, (c) cotensoativo, (d) filme rígido, (e) filme com fluidez.



Fonte: VANDAMME, 2002 (adaptado).

Cotensoativos com comprimento de cadeia curta (C_3 - C_5) tendem a ser mais hidrofílicos, enquanto que cotensoativos com comprimento de cadeia longa tendem a ser mais lipofílicos. O uso de tensoativos menos hidrofílicos requer o uso de cotensoativos de tamanho curto com (C_3 - C_5), enquanto que o uso de tensoativos menos lipofílicos requer o uso cotensoativos de cadeia longa (C_5 ou mais) (BIRDI, 2016).

Microemulsões podem ser preparadas na ausência de cotensoativo quando se faz o uso de tensoativos de dupla cadeia alquil ou de alguns tensoativos não iônicos, por exemplo, lecitinas e os éteres de polioxietileno (MALCOLMSON; LAWRENCE 1995; DREHER *et al.*, 1997; MISHRA, 2016).

Os cotensoativos utilizados geralmente são álcoois de baixo peso molecular e glicóis com cadeia carbônica com comprimento de dois a dez carbonos. Aminas de cadeia curta também podem ser empregadas (VANDAMME, 2002).

O Quadro 3, lista os cotensoativos farmacêuticamente aceitáveis para uso em cosméticos e medicamentos.

Quadro 3 - Cotensoativos comumente empregados de acordo com suas vias de administração.

Cotensoativo	Nome comercial	Via oral	Via parenteral	Via tópica	Referências
1,2-Hexanediol				X	(1)
1,2-Octanediol				X	(2)
Álcool benzil			X		(3)
Etanol		X	X	X	(3) (4) (5)
Etoxidiglicol	Transcutol®	X			(6)
Isopropanol				X	(5)
Isostearato de poliglicerila-6	Plurol® isostearique			X	(7)
N-propanol				X	(5)
Poligliceril-6 dioleato	Plurol® oleique	X			(8)
Propilenoglicol		X		X	(9) (10)

Fonte: (1) TROTTA *et al.*, 2003 (2) BAROLI *et al.*, 2000 (3) DATE; NAGARSENKER, 2008 (4) ZENG *et al.*, 2010 (5) KANTARCI, 2007 (6) PATEL *et al.*, 2012 (7) KREILGAARD; PEDERSEN; JAROSZEWSKI, 2000 (8) SARCIAUX; ACAR; SADO, 1995 (9) STRICKLEY, 2004 (10) KULSHRESHTHA; SINGH; WALL, 2010.

2.4.1.1.3 Fase oleosa

A escolha da fase oleosa para a formulação de sistemas microemulsionados é um balanço entre um componente que permita a formação do sistema e, ao mesmo tempo, que garanta a solubilidade do fármaco, se este for lipofílico (VANDAMME, 2002; TALEGAONKAR *et al.*, 2008).

Fases oleosas que apresentam cadeias hidrocarbônicas mais longas usualmente apresentam maior capacidade de solubilização de moléculas lipofílicas (VANDAMME, 2002).

Óleos de cadeia curta (ou de baixo volume molecular) como os triglicerídeos de cadeia média e os ésteres de ácido graxo são relativamente fáceis de microemulsificar (DATE; NAGARSENKER, 2008), pois possuem maior habilidade de penetrar e provocar o intumescimento da região lipofílica dos tensoativos do que os óleos de cadeia longa. Como consequência, há um incremento negativo sobre a curvatura (FANUN, 2011).

O Quadro 4, lista fases oleosas farmacologicamente aceitáveis para uso em cosméticos e medicamentos.

Quadro 4 - Fases oleosas comumente empregadas de acordo com as vias de administração.

Óleo	Nome comercial	Via oral	Via parenteral	Via tópica	Referências
<i>Triglicerídeos de cadeia longa</i>					
Óleo de amendoim		X			GIBAUD; ATTIVI, 2012
Óleo de milho		X			GIBAUD; ATTIVI, 2012
Óleo de soja		X	X	X	GIBAUD; ATTIVI, 2012; KANTARCI, 2007; DATE; NAGARSENKER, 2008
Óleo de sésamo		X			GIBAUD; ATTIVI, 2012
Óleo de rícino		X	X		GIBAUD; ATTIVI, 2012; DATE; NAGARSENKER, 2008
<i>Triglicerídeos de cadeia média</i>					
Óleo de coco		X			GIBAUD; ATTIVI, 2012
Triglicérides dos ácidos cáprico e caprílico	Miglyol 810, 812 Labrafac CC Crodamol GTCC Captex 300, 355		X X X X	X	LOPES <i>et al.</i> , 2010 DATE; NAGARSENKER, 2008 DATE; NAGARSENKER, 2008 DATE; NAGARSENKER, 2008 GIBAUD; ATTIVI, 2012
<i>Ésteres de ácido graxo</i>					
Miristato de isopropila			X	X	DATE; NAGARSENKER, 2008; GUPTA; MOULIK, 2008
Palmitato de isopropila			X	X	DATE; NAGARSENKER, 2008; JUNYAPRASERT <i>et al.</i> , 2008
<i>Outros</i>					
Ácido oleico		X		X	GIBAUD; ATTIVI, 2012; HUA <i>et al.</i> , 2004
Oleato de etila		X			GIBAUD; ATTIVI, 2012

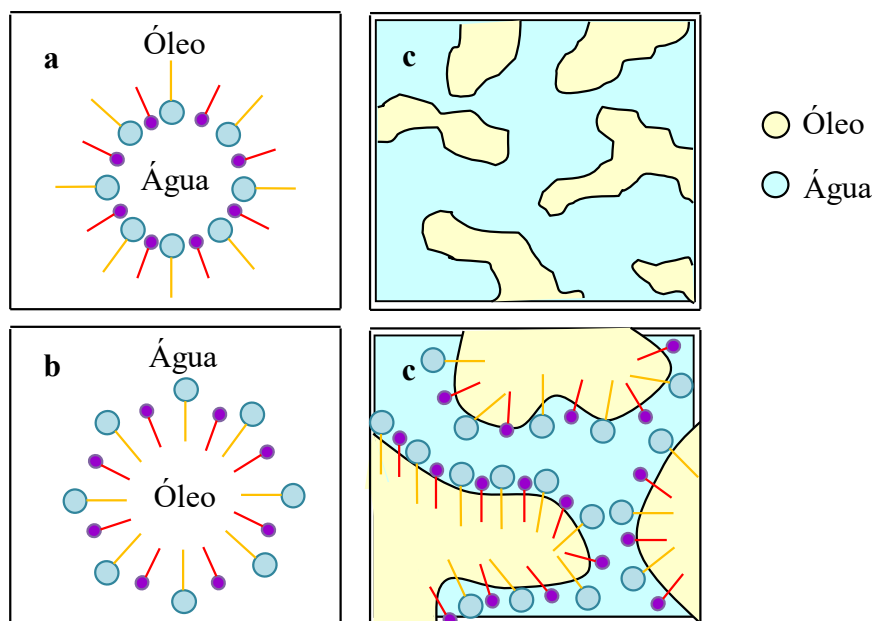
2.4.1.2 Tipos de microemulsão

Sistemas microemulsionados podem ser do tipo óleo em água (O/A), água em óleo (A/O), ou sistemas bicontínuos.

- Microemulsões do tipo água em óleo possuem gotículas de água, revestidas por tensoativo, dispersas em uma fase contínua oleosa;
- Microemulsões do tipo óleo em água possuem gotículas de óleo, revestidas por tensoativo, dispersas em uma fase contínua aquosa;
- Microemulsões bicontínuas são sistemas em que o óleo e a água são fases contínuas; os tensoativos atuam dividindo os domínios entre a água e o óleo (OLDFIELD, 1994; MISHRA, 2016).

Os três tipos de microemulsão estão representados na Figura 9.

Figura 9 - Tipos de microemulsão: a – água em óleo, b – óleo em água, c – bicontínua.



Fonte: OLDFIELD, 1994; ROSSI *et al.*, 2007 (adaptado).

Algumas teorias, descritas a seguir, tem sido propostas numa tentativa de explicar os fatores que determinam a formação destas estruturas específicas compostas por óleo, água e tensoativo (WASAN; GINN; SHAH, 1988).

2.4.1.2.1 Teoria do filme duplo

Segundo esta teoria, diferenças presentes na porção hidrofílica e hidrofóbica do tensoativo geram diferenças no arrançamento destes grupos (empacotamento) (Figura 10), o que acaba por gerar diferentes tensões entre o lado aquoso e oleoso, resultando na curvatura do filme interfacial e formação dos glóbulos. Assim, se os grupos hidrofóbicos forem mais volumosos que os grupos hidrofílicos, um filme fino de grupos hidrofóbicos tende a se aglomerar promovendo uma pressão superficial no lado da interface oleosa. A diferença de pressões entre cada lado irá resultar em um estresse na interface, que será aliviado pela curvatura do filme interfacial em direção à fase oleosa, dando origem a microemulsões A/O (Figura 11) (WASAN; GINN; SHAH,1988; TADROS, 2005; FANUN, 2011).

Deste modo, se molécula possui um grupo hidrofóbico volumoso, como o Aerosol OT[®], uma microemulsão água em óleo se formará. Ao contrário, se a molécula possui como grupo volumoso, como o álcool etoxilado com muitas unidades de etileno, a microemulsão óleo em água será produzida (TADROS, 2005).

Figura 10 - Curvatura do filme interfacial de acordo com o empacotamento dos tensoativos.

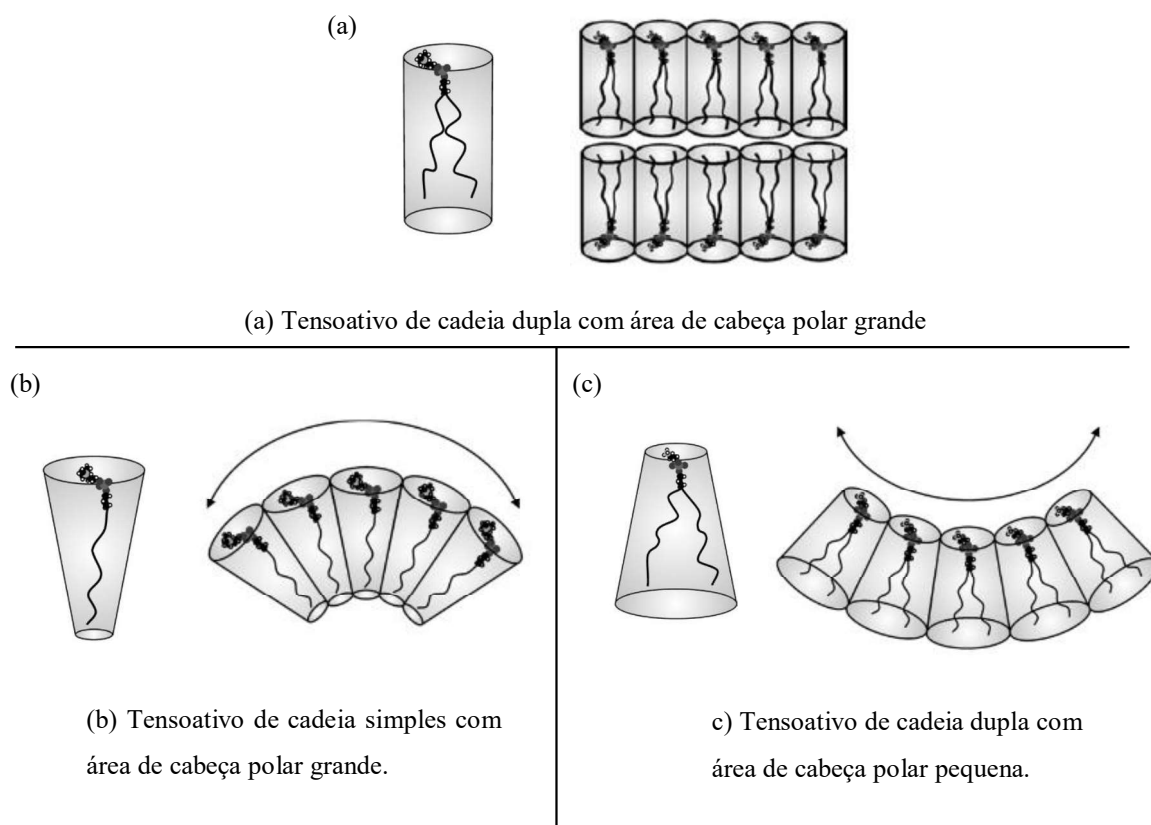
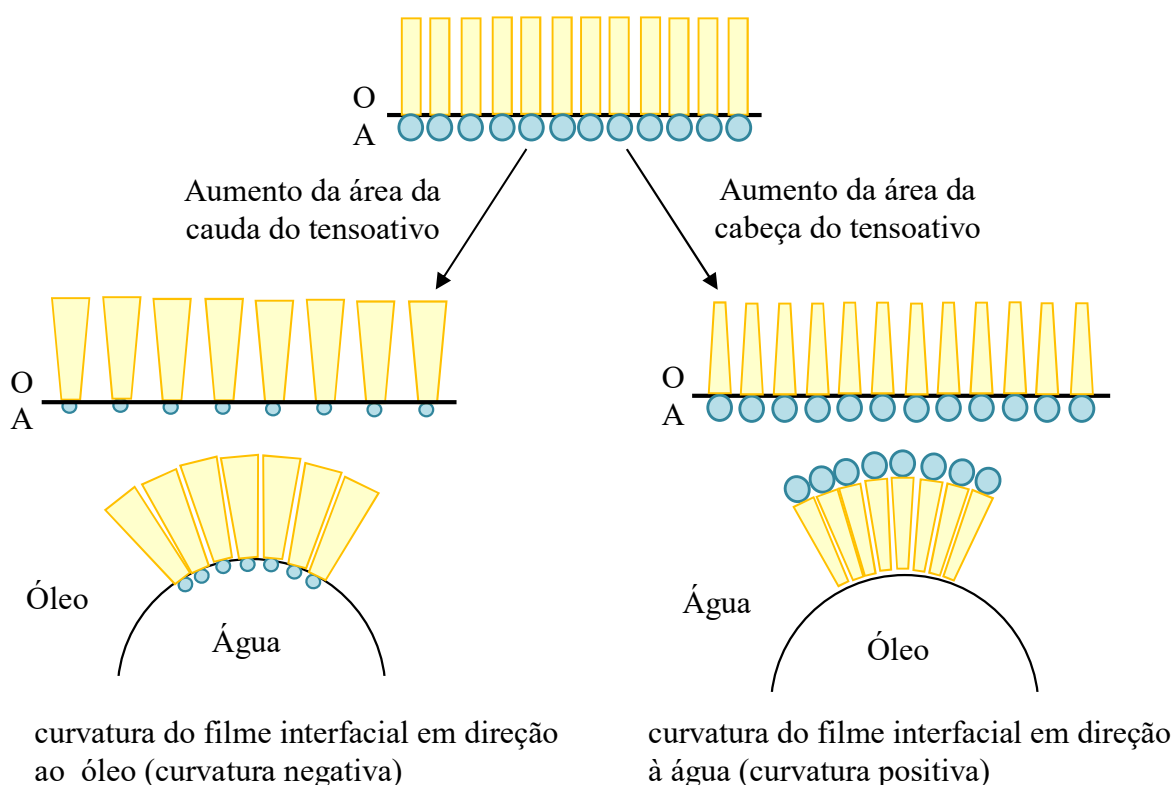


Figura 11 - Influência do empacotamento do tensoativo na curvatura do filme interfacial.



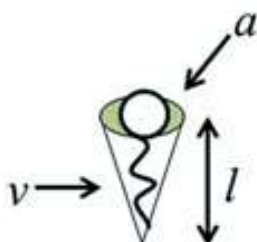
Fonte: WASAN; GINN; SHAH, 1988 (adaptado).

A direção da curvatura interfacial é basicamente resultante da razão de empacotamento, também chamado de parâmetro de empacotamento crítico (p), obtida pela fórmula:

$$p = \frac{v}{a \cdot l}$$

Onde v é o volume da parte hidrofóbica do tensoativo (Figura 12), a é a área da cabeça polar do tensoativo e o l é o comprimento da cauda hidrofóbica do tensoativo (TADROS, 2005).

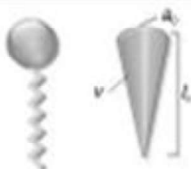
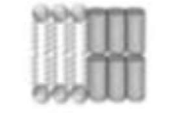
Figura 12 - Fatores que afetam a forma de empacotamento do tensoativo.



Fonte: SALIM *et al.*, 2014.

Se o p calculado variar entre 0 a 1, a interface curva-se em direção à água (curvatura positiva) e sistemas do tipo óleo em água são favorecidos (Figura 13), mas se o p for maior que 1, a interface curva-se espontaneamente em direção ao óleo (curvatura negativa) então microemulsões água em óleo são favorecidas. Em casos de curvatura zero, quando o EHL é balanceado (p é equivalente a 1), estruturas lamelares ou bicontínuas podem ser formadas (FANUN, 2011). O parâmetro de empacotamento crítico pode ser afetado por muitos fatores, incluindo a hidrofobicidade da cabeça polar, força iônica da solução, pH, temperatura, e a adição de compostos lipofílicos como cotensoativos (TADROS, 2005).

Figura 13 - Influência da estrutura molecular no parâmetro de empacotamento crítico do tensoativo.

Características do tensoativo	Parâmetro de empacotamento	Forma do tensoativo	Estruturas formadas
Tensoativos de cadeia simples com área de cabeça polar grande	$p < 1/3$		 Micela Hexagonal I
Tensoativos de cadeia dupla com área de cabeça polar grande	$1/3 < p < 1/2$		 Cilíndrica
Tensoativos de cadeia dupla com área de cabeça polar pequena	$p \sim 1$		 Lamelar Cúbica
Tensoativos de cadeia dupla com área de cabeça polar pequena	$p > 1$		 Micelas reversas Hexagonal II

Fonte: CONSOLA *et al.*, 2007; ISRAELACHVILI, 2011.

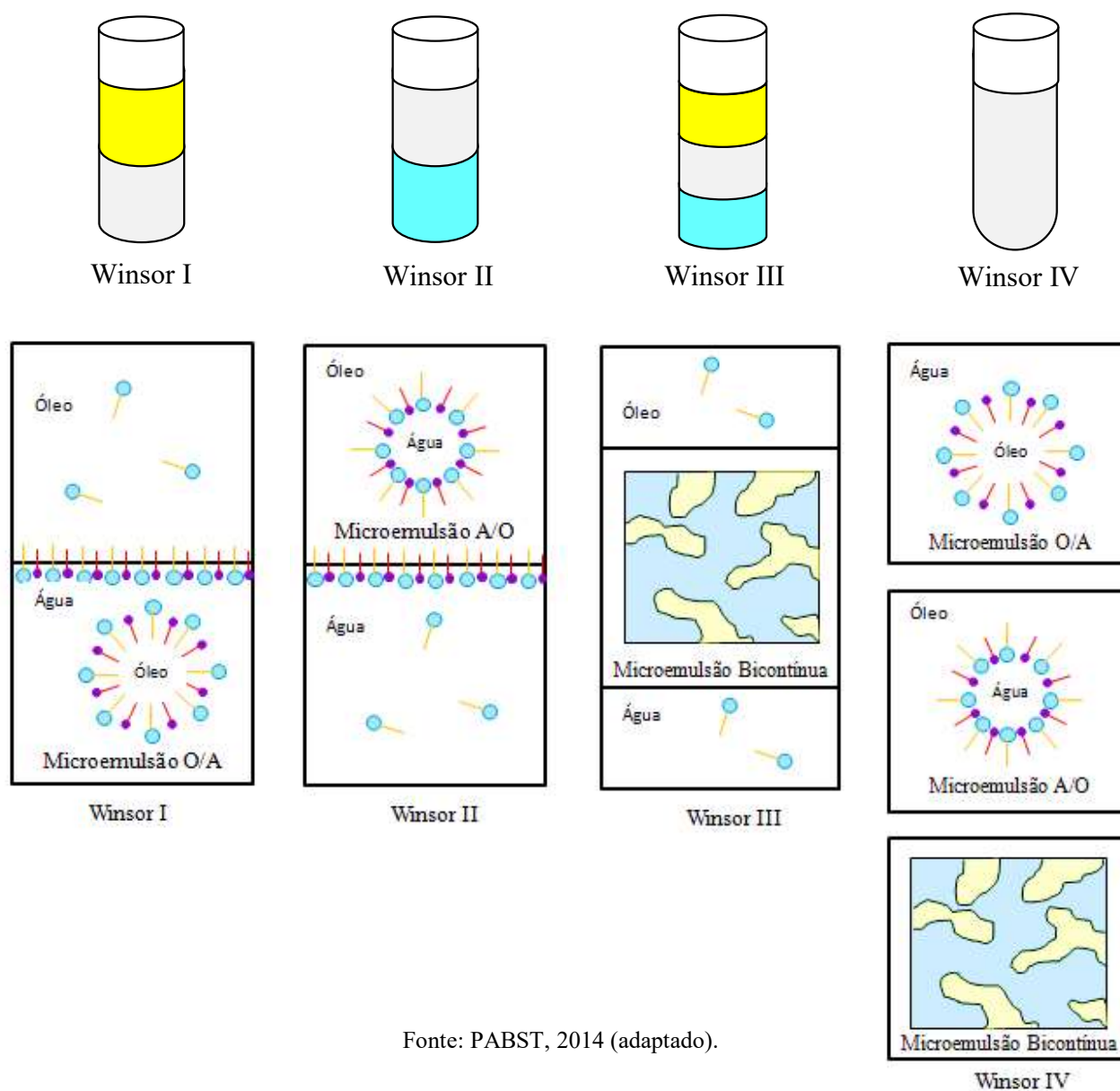
2.4.1.2.2 Teoria R

A teoria R foi primeiramente proposta por Winsor, em 1954. Esta teoria compara a tendência de um composto anfílico a se dispersar no óleo (A_{SO}) e a se dissolver na água (A_{SW}). Se uma fase é favorecida, a região interfacial tende a assumir sua curvatura definitiva.

$$R = \frac{A_{SO}}{A_{SW}}$$

Se a razão R , parâmetro adimensional, for maior que 1, a interface tende a aumentar sua área de contato com o óleo, enquanto que diminui a área de contato com a água. Como consequência, a fase oleosa tende a ser a fase contínua, formando microemulsão A/O em fase única, e, se não houver tensoativo em quantidade suficiente para incorporar o excesso de óleo, forma-se o equilíbrio do tipo Winsor I (duas fases - oleosa sobrenadante com microemulsão ao fundo) (Figura 14).

Figura 14 - Classificação das microemulsões de acordo com Winsor.



De forma oposta, se a razão R for maior do que 1, forma-se a microemulsão O/A em fase única, porém, se não houver tensoativo em quantidade suficiente para incorporar o excesso de água, forma-se o equilíbrio do tipo Winsor II (duas fases - microemulsão sobrenadante com água ao fundo). Quando R for igual a 1, ocorre a formação de Winsor III (três fases - óleo sobrenadante, água ao fundo e microemulsão ao meio) (CHATTOPADHYAY; MITTAL, 1996; COSGROVE, 2010).

2.4.1.2.3 Equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) do tensoativo

Este sistema baseia-se no reconhecimento de que todas as substâncias tensoativas são constituídas por uma parte hidrossolúvel e outra lipossolúvel (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992). Com base nas proporções relativas das partes hidrofílicas e hidrofóbicas da molécula de tensoativo um valor numérico de EHL é atribuído (de 1 a 50) (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992; AULTON, 2005). À medida que o tensoativo apresenta propriedades mais hidrofílicas ou polares, o valor de EHL cresce (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992). Como reportado por Bancroft, a fase em que o tensoativo é essencialmente solúvel tende a ser a fase contínua, assim, EHL menor que 10 favorece a formação de microemulsões do tipo A/O, EHL maior que 10, microemulsões do tipo O/A, enquanto que EHL próximo a 10, microemulsões bicontínuas (PRISTA; ALVES; MORGADO, 1992; COSGROVE, 2010).

2.4.1.3 Preparação e uso de diagramas para estudo das regiões de microemulsão

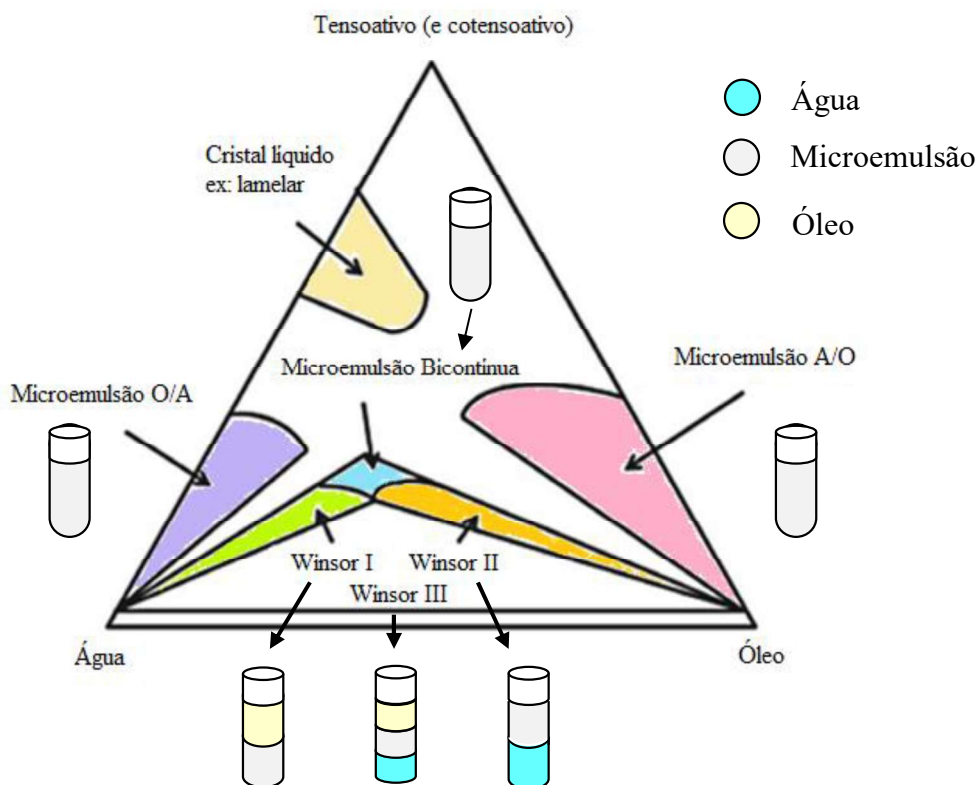
A formação da dispersão coloidal ocorre após a homogeneização suave dos componentes da formulação, sem a necessidade do emprego de métodos de alta energia (MISHRA, 2016). Os métodos de obtenção de microemulsões incluem o método de inversão de fases, no qual a inversão de fases ocorre após a adição da fase dispersa em excesso ou com alterações da temperatura (MISHRA, 2016); o método de titulação com água, o qual consiste na titulação de misturas compostas por tensoativo, cotensoativo e óleo com água. Neste método, a cada gota adicionada, após a homogeneização completa dos constituintes, o sistema obtido é examinado quanto à transparência (BAGWE *et al.*, 2001). Sistemas microemulsionados também podem ser obtidos por meio da titulação de cotensoativos a sistemas emulsionados (BAGWE *et al.*, 2001).

Dependendo da composição química e da concentração de cada componente, a interação entre água, óleo e tensoativo pode dar origem a formação de emulsões, microemulsões, géis e diferentes formas líquido-cristalinas, como lamelares, hexagonais e cúbicas (LAWRENCE; RESS, 2000; MISHRA, 2016).

A mistura micro-heterogênea também pode coexistir com excesso de óleo, água ou ambos. Winsor, em 1948, estabeleceu uma classificação para os principais tipos de sistemas obtidos ao se misturar água, óleo e uma molécula anfifílica (5-25%). Na classificação Winsor tipo I, sistemas do tipo óleo em água existem em equilíbrio com excesso de fase orgânica contendo uma pequena proporção dos outros componentes do sistema (Figura 14). Winsor tipo II representa sistemas do tipo óleo em água em equilíbrio com excesso de fase aquosa contendo uma pequena proporção dos outros componentes do sistema. Em sistemas Winsor tipo III, a fase bicontínua coexiste com excesso de água na parte inferior e óleo na parte superior e no Winsor tipo IV existe uma fase única microemulsionada em que todos os componentes do sistema estão mutuamente solubilizados (esta é a fase explorada por sistemas de liberação de fármacos) (WINSOR, 1948; LAWRENCE; REES, 2000; BIRDI, 2016).

Neste contexto, a construção de um diagrama de fases pode ajudar a delimitar a região de microemulsão (Figura 15), permitindo conhecer a proporção necessária de cada constituinte para sua obtenção (WARISNOICHAROEN; LANSLEY; LAWRENCE, 2000).

Figura 15 - Representação das regiões de Winsor no diagrama de fases pseudoternário.

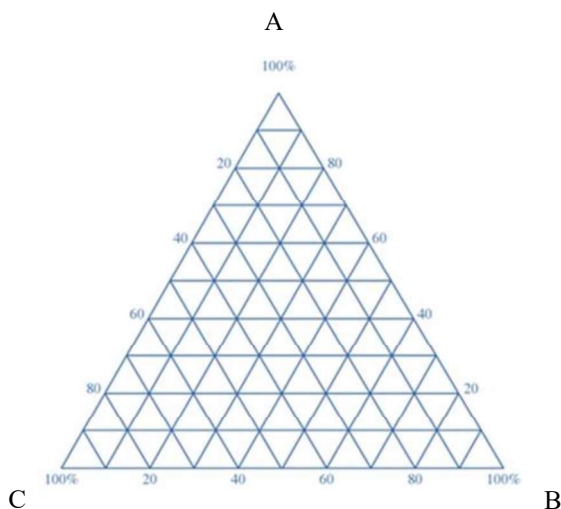


Fonte: PABST, 2014 (adaptado).

Diagramas de fases são representações gráficas utilizadas para entender aspectos relacionados ao comportamento das fases do sistema frente a variações no volume das diferentes fases constituintes (MALIK; WANY; HASHIM, 2012).

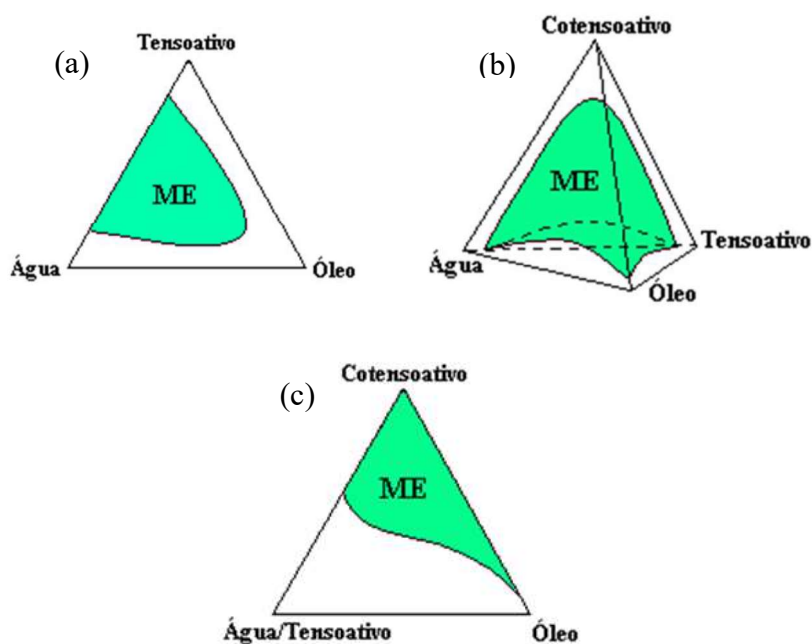
Sistemas microemulsionados formados por três constituintes são representados por diagramas ternários (Figura 16 e 17). Neste, cada sistema puro é representado em cada vértice do triângulo, A, B, C. O vértice do triângulo representa 100% de cada componente e o lado oposto 0%. Do vértice A até o seu lado oposto, linhas horizontais correspondem porcentagens decrescentes (BARROW, 1983).

Figura 16 - Base triangular de composição de um diagrama de fases ternário.



Fonte: SMITH; HASHEMI, 2012.

Figura 17 - Representação de diagrama de fases ternário (a), quaternário (b) e pseudoternário (c).



À medida que reduz a quantidade desse componente específico, aumenta a quantidade de um ou dos outros dois componentes (FANUN, 2014). Caso o sistema seja composto por quatro constituintes, estes podem ser representados em um diagrama tridimensional quaternário, cuja forma é um tetraedro regular. A caracterização completa destes sistemas consome tempo e requer um grande número de experimentos. Nestes casos, a representação gráfica em um diagrama pseudoternário é mais prática (FANUN, 2008).

O diagrama pseudoternário obedece ao mesmo princípio para diagramas ternários, sendo que em um dos vértices agrupam-se dois constituintes, como por exemplo, tensoativo e cotensoativo, de modo que esta relação seja constante (FANUN, 2008).

Em qualquer um dos métodos de obtenção adotados, o reconhecimento do sistema microemulsionado se dá pela inspeção visual da mistura obtida, se transparente, o valor dos componentes pesados para sua formação é convertido em porcentagem, com estes valores plota-se pontos no diagrama.

2.4.1.4 Sistemas microemulsionados como sistemas de liberação de fármacos

Sistemas microemulsionados apresentam algumas propriedades particulares que os tornam veículos interessantes para uso farmacêutico como:

- Transparência (SOLANS; KUNIEDA, 1997);
- Tecnologia de preparo simples e de baixo custo, não há necessidade do uso de equipamentos especializados, uma vez que a estabilidade termodinâmica destes sistemas permite a auto-emulsificação (SOLANS; KUNIEDA, 1997; KOGAN; GARTI, 2006);
- A fase dispersa, lipofílica ou hidrofílica, pode atuar como reservatório para fármacos lipofílicos e hidrofílicos, respectivamente, mantendo constante a concentração do fármaco na fase contínua (SOLANS; KUNIEDA, 1997; PEIRA; SCOLARI; GASGO, 2001);
- Altas concentrações do fármaco podem ser incorporadas em virtude das propriedades supersolventes do sistema (incluindo aqueles que são insolúveis em solventes aquosos e hidrofóbicos), provavelmente em decorrência da presença do tensoativo e cotensoativo (SOLANS; KUNIEDA, 1997; PEIRA; SCOLARI; GASGO, 2001);
- O tamanho de gotículas reduzido permite que sejam esterilizadas por filtração (SOLANS; KUNIEDA, 1997);
- Auto-oxidação lipídica em microemulsões O/A é mais baixa que em emulsões e soluções micelares (SOLANS; KUNIEDA, 1997);
- Permitem a incorporação simultânea de fármacos lipofílicos e hidrofílicos;
- Possuem baixa viscosidade (SOLANS; KUNIEDA, 1997);
- O uso deste sistema de liberação pode melhorar a eficácia do fármaco, permitindo que a dose total seja reduzida e os efeitos adversos minimizados (SOLANS; KUNIEDA, 1997);
- Fornecem proteção contra hidrólise enzimática e oxidação. O fármaco presente na fase dispersa não fica exposto ao ataque da água e ar (MISHA, 2016);

- Em comparação com as macroemulsões, causam embolia gordurosa e reações imunológicas mínimas (PAUL; MOULIK, 2001);
- Permitem a liberação controlada e sustentada para administração percutânea, tópica, transdérmica, ocular e parenteral (PAUL; MOULIK, 2001);
- Possuem a capacidade de potencializar a permeação tópica (KOGAN; GARTI, 2006);
- Domínios com diferentes polaridades permitem a encapsulação de fármacos de solubilidade variada. A partição do fármaco entre as fases lipofílicas e hidrofóbicas dependerá de sua lipofilicidade (GHOSH; MURTHY, 2006).

Para que ocorra a liberação dos fármacos de sistemas microemulsionados, é necessária à transferência do fármaco da fase dispersa para a fase contínua e, posteriormente, a difusão do fármaco da fase contínua para o meio externo. Este processo depende de alguns fatores como razão da fase oleosa/aquosa, tamanho de gotícula, distribuição e taxa de difusão do fármaco nas fases do sistema microemulsionado (TROTТА; GASCO; MOREL, 1989).

2.5.1.5 Aplicações farmacêuticas

Sistemas microemulsionados destinados à administração oral, parenteral, tópica, transdérmica têm sido desenvolvidos.

2.5.1.5.1 Administração oral de microemulsões

O desenvolvimento de sistemas de liberação oral tem sido um desafio por conta da eficácia restrita dos fármacos em virtude da instabilidade ou pouca solubilidade no fluido gastrointestinal. Como descrito anteriormente, sistemas microemulsionados podem aumentar a solubilização de fármacos pouco solúveis e superar problemas relacionados à biodisponibilidade, já que nestes sistemas os fármacos podem ser protegidos contra oxidação e degradação enzimática, além de ter sua permeabilidade potencializada (TALEGAONKAR *et al.*, 2008). Os fármacos ciclosporina, ritonavir e saquinavir são exemplos de substâncias muito lipofílicas incorporados em sistemas microemulsionados (GIBAUD; ATTIVI, 2012).

2.5.1.5.2 Administração parenteral de microemulsões

Em alguns casos, a via parenteral é a única opção para fármacos pouco absorvíveis pela via oral ou aqueles que causam efeitos adversos gastrointestinais, nesta via o fármaco não passa pelo metabolismo hepático (ROMSTED, 2014). A administração parenteral de microemulsões garante que a formação de embolias seja insignificante e o tamanho reduzido das gotículas pode resultar em um maior tempo de circulação sanguínea, o que pode ser útil em certos casos (DATE; NAGARSENKER, 2008). Os excipientes que compõem formulações parenterais devem ser biocompatíveis, estéreis, não pirogênicos, não irritantes e não hemolíticos (ROMSTED, 2014).

Microemulsões parenterais do tipo óleo em água são usadas principalmente como carreadoras de fármacos lipofílicos, permitindo prolongar sua liberação e possibilitar a administração parenteral de substâncias lipofílicas, não são solúveis em água. Podem ser administradas por via intravenosa, muscular e subcutânea. As microemulsões do tipo água em óleo podem ser usadas para administração intramuscular e subcutânea, sendo indicadas para administração de fármacos hidrofílicos quando se objetiva prolongar sua liberação (SOLANS; KUNIEDA, 1997).

Alguns fármacos estudados para compor formulações microemulsionadas para administração parenteral são: paclitaxel, flurbiprofeno, vincristina, ibuprofeno, artemeter, anfotericina B e propofol (ROMSTED, 2014).

2.5.1.5.3 Administração tópica de microemulsões

A administração de fármacos pela via tópica pode proporcionar ação local ou sistêmica (UEDA et al., 2009). Esta via apresenta como vantagem a característica de não ser invasiva e permitir a autoadministração. Na via transdérmica o fármaco, que é administrado na pele, tem como alvo a circulação sistêmica (UEDA *et al.*, 2009). A liberação de fármacos por esta via pode ser vantajosa quando se tem interesse em evitar o metabolismo hepático ou certas aplicações injetáveis dolorosas, além de proporcionar a liberação do fármaco por longos períodos de tempo (PRAUSNITZ *et al.*, 2008).

Formulações de ação local incluem aquelas que exercem funções sobre o extrato córneo e aquelas que modulam a função da epiderme e/ou derme (UEDA *et al.*, 2009). São indicados quando há necessidade que os ativos da formulação permaneçam na superfície da pele, por exemplo, repelentes, desinfetantes, produtos para fins cosméticos, para tratamento

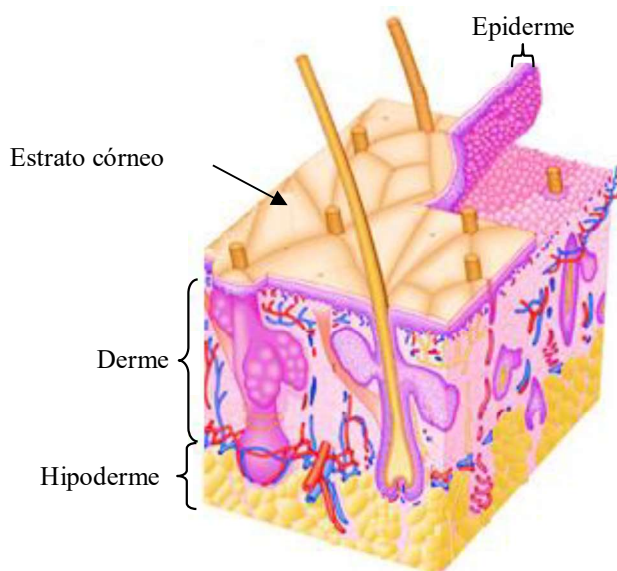
de infecções de pele e outras desordens dermatológicas, ou atinja regiões mais profundas da pele, como a epiderme viável e a derme, sem que a substância atinja a circulação sistêmica, por exemplo, anestésicos locais ou agentes anti-inflamatórios (MEHTA, [200-?]); TROMMER; NEUBERT, 2006).

Uma completa separação entre a liberação local e transdérmica não é possível, mas alguns ajustes na formulação permitem que uma ou outra seja favorecida (ROMSTED, 2014).

Apesar do grande potencial desta via de administração, somente algumas formulações estão disponíveis comercialmente. Isto porque a pele humana é considerada o epitélio mais impermeável para substâncias exógenas (KREILGAARD, 2002).

A pele é composta por três camadas: epiderme, derme e hipoderme (Figura 18) (ESCOBAR-CHÁVEZ, 2010). A epiderme é composta pelo estrato córneo (15-20 μm) e a epiderme viável (50-100 μm) (RANADE; CANNON, 2011). O estrato córneo é a camada mais externa da epiderme. Esta camada, apesar da pouca espessura, promove uma barreira efetiva à penetração de fármacos para as camadas posteriores da pele (KOGAN; GARTI, 2006).

Figura 18 - Organização das camadas da pele.

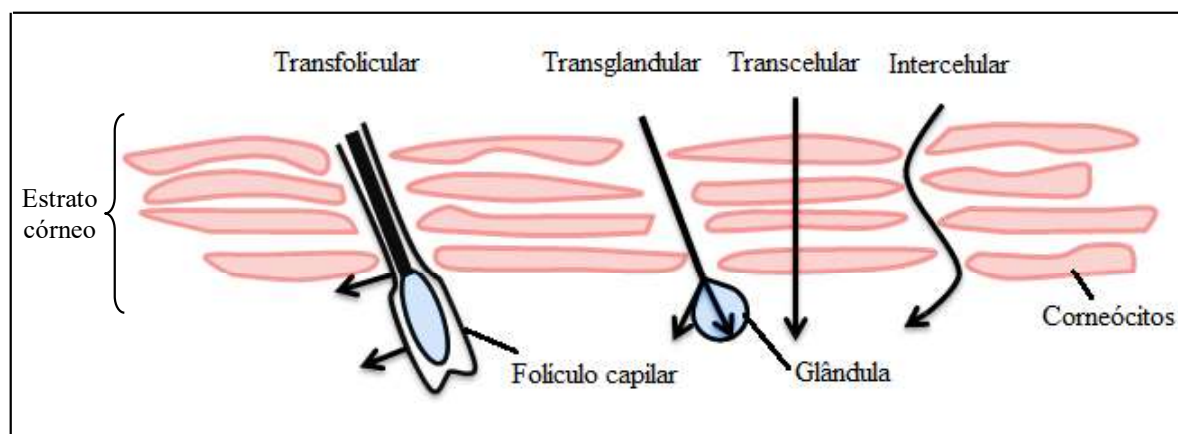


Fonte: STANDRING, 2010

A permeação dos fármacos por difusão através do estrato córneo pode ocorrer por rota transepidérmica, a qual inclui a rota transcelular e intercelular, e transfolicular, que ocorre através de anexos da pele, via glândulas écrinas ou folículos capilares (Figura 19) (KOGAN;

GARTI, 2006). Pela rota transcelular, o fármaco tem que atravessar diretamente a pele, passando através de estruturas lipídicas do estrato córneo e do citoplasma de queratinócitos mortos. Apesar de ser uma rota mais curta, o fármaco encontra resistência significativa por ter que atravessar estruturas lipofílicas e hidrofílicas. A rota mais comum para permeação de fármacos na pele é a intercelular, na qual a passagem acontece entre os corneócitos. Os anexos da pele ocupam somente 0,1% da superfície da pele humana total (TROMMER; NEUBERT, 2006).

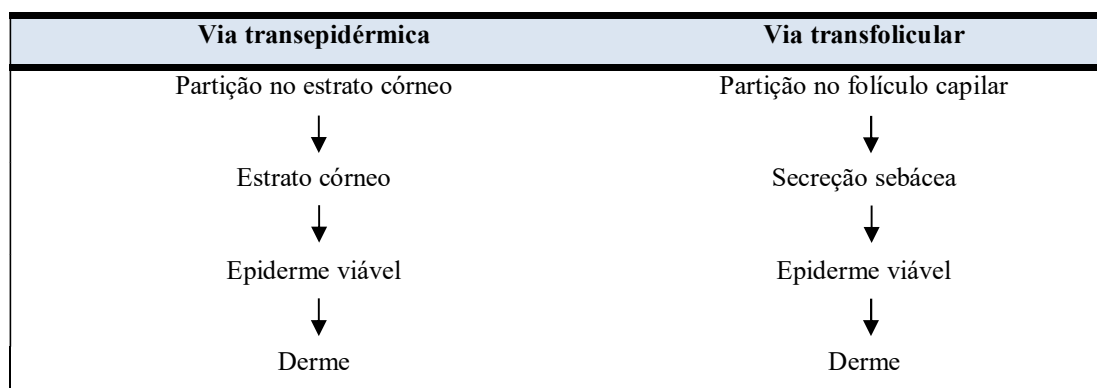
Figura 19 - Rotas de permeação de fármacos através do estrato córneo.



Fonte: TROMMER; NEUBERT, 2006 (adaptado).

Após a aplicação da formulação tópica na pele, inicialmente, o fármaco é liberado do seu veículo e particiona no estrato córneo. As moléculas do fármaco, então se difundem (em virtude do gradiente de concentração) através do estrato córneo, epiderme viável, e derme, nesta última camada o fármaco pode ser retirado da pele pelas veias da vasculatura e atingir a circulação sistêmica (GUY; HANDGRAFT; BUCKS, 1987).

Se a permeação do fármaco ocorrer por rota transfolicular, após a partição no folículo capilar, o fármaco passa pela secreção sebácea e da mesma forma, segue pela epiderme viável, e derme (Quadro 5) (SHAH; MAIBACH, 1993).

Quadro 5 - Mecanismos de difusão do fármaco pela via tópica.

Fonte: (SHAH; MAIBACH, 1993).

Folículos capilares representam eficientes vias de penetração e atuam como reservatórios para substâncias aplicadas topicamente. Esta rota, além de ser importante para a permeação do minoxidil, parece ser a determinante para a promoção do crescimento capilar ocasionada por este fármaco. (LADEMANN *et al.*, 2008; GRICE *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2011; BLUME-PEYTAVI *et al.*, 2010).

Sistemas microemulsionados possuem a capacidade de interagir com lipídios do estrato córneo e potencializar a permeação de fármacos pela pele. Esta propriedade provavelmente está relacionada à combinação de vários mecanismos como: tamanho de gotícula reduzido, ação de constituintes da formulação que podem atuar como promotores de permeação, capacidade da microemulsão aumentar a hidratação da pele, e /ou ainda a capacidade do sistema em carrear grandes quantidades de fármaco (LEHMANN; KEIPERT; GLOOR, 2001; LOPES, 2014; CONEAC *et al.*, 2015).

Promotores de permeação são substâncias capazes de promover o transporte de ativos através da pele. Eles permitem que os fármacos rapidamente penetrem em tecidos viáveis e na circulação sistêmica (BARRY, 1987; TROMMER; NEUBERT, 2006).

Tensoativos, cotensoativos e óleos e outros promotores de permeação incorporados nestes sistemas podem se difundir para a superfície da pele e aumentar a permeação de fármacos seja por perturbar a estrutura lipídica do estrato córneo (facilitando a difusão através da barreira da pele) ou por aumentar da solubilidade do fármaco na pele (isto é, aumentando o coeficiente de partição entre a pele e o veículo). (KREILGAARD, 2002; SANTOS *et al.*, 2008).

É provável que microemulsões compostas por promotores cutâneos que atuam por ruptura do estrato córneo resultem na liberação dérmica e transdérmica do fármaco, e que os que aumentam a partição para a pele, liberação dérmica (KREILGAARD, 2002).

Constituintes que podem atuar como promotores de permeação em formulações estão citados no Quadro 6.

Quadro 6 - Exemplos de promotores de permeação.

Classificação química	Promotores de permeação
Álcoois	<i>Álcool de cadeia curta</i> Etanol, Álcool isopropílico <i>Álcool de cadeia longa</i> Decanol, Hexanol, Álcool lauril, Octanol
Éster	<i>Alquil éster</i> Acetato de etila <i>Ésteres de ácido graxo</i> Oleato de etila, Monooleato de glicerila, Miristato de isopropila, Palmitato de isopropila, Monolaurato de propilenoglicol, Monocaprilato de propilenoglicol
Éter álcoois	Transcutol®
Ácidos graxos	Ácido láurico, Ácido linoleico, Ácido linolênico, Ácido mirístico, Ácido oleico, Ácido palmítico, Ácido esteárico
Tensoativos	<i>Tensoativos não-iônicos</i> Brij 36T Tween® 80

Fonte: LANE, 2013 (adaptado).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um sistema microemulsionado contendo MX destinado à aplicação tópica.

3.2 Objetivos específicos

- ✚ Substituir o uso de etanol e propilenoglicol nas formulações;
- ✚ Determinar a solubilidade do MX nas fases oleosas disponíveis;
- ✚ Selecionar o diagrama com a maior região de ME, variando a composição de tensoativo, cotensoativo, fase oleosa e razão C/T.
- ✚ Incorporar MX em concentração igual ou superior à disponível no mercado;
- ✚ Realizar a caracterização físico-química das formulações obtidas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Fase oleosas, tensoativos e cotensoativos

- Tween[®] 20 (Sigma-Aldrich)
- Tween[®] 80 (Sigma-Aldrich)
- Span[®] 20 (Sigma-Aldrich)
- Span[®] 80 (Sigma-Aldrich)
- Span[®] 83 (Sigma-Aldrich)
- Span[®] 85 (Sigma-Aldrich)
- Brij[®] 93 (Sigma-Aldrich)
- 1,2-hexanediol (Sigma-Aldrich)
- 1,2-octanediol (Sigma-Aldrich)
- Etanol 95% (Merck)
- 2-propanol (Sigma-Aldrich)
- Ácido oleico (Nuclear)
- Miristato de isopropila (Sigma-Aldrich)

4.1.2 Fármaco

- Minoxidil (Fragron)

4.1.3 Solventes

- Solução tampão fosfato 0,01M pH 7,4

Dissolver 4,4 g de fosfato de sódio bibásico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Nuclear) e 0,4948 g de fosfato de sódio monobásico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Nuclear) em um balão volumétrico com capacidade para 2000 mL de água destilada.

- Metanol (Sigma-Aldrich)

4.1.4 Equipamentos

- Centrifuga (Centribio)
- Espectrofotômetro (marca Shimadzu, modelo UV-1700 PharmaSpec)
- Espectrofotômetro (marca Even)
- Zetasizer ZS (Malvern Instruments)
- Agitador magnético (Nova ética)
- Refratômetro de bancada do tipo Abbé (Quimis)
- Potenciômetro (Hanna Instruments)
- Condutivímetro (Quimis)
- Balança analítica (marca Gehaka, modelo AG 220A)
- Reômetro Brookfield Viscometer modelo DV-II + Pro (Brookfield)

4.2 Métodos

4.2.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário para a delimitação da região de microemulsão

4.2.1.1 Seleção da fase oleosa

4.2.1.1.1 Determinação do comprimento de onda de absorção máxima do MX

Para a preparação da solução-mãe (100 µg/mL), solubilizou-se 100 mg de MX em 1000 mL de metanol. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 1 mL e diluiu-se em 10 mL de metanol, o que resultou numa solução de MX a 10 µg/mL, que foi levada para leitura em espectrofotômetro de UV, no intervalo de 200-800 nm, em cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

4.2.1.1.2 Elaboração da curva de calibração para quantificação do MX

Uma vez definido o comprimento de onda de absorção do MX, construiu-se a curva de calibração nas concentrações de 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 µg/mL. As concentrações foram

preparadas, respectivamente, após a diluição de alíquotas de 0,1 mL, 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL, 0,6 mL e 0,7 mL da solução da solução-mãe em 10 mL de metanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata no comprimento de onda que foi definido no item 4.2.1.1.1. A curva de calibração foi gerada pelo método de regressão linear simples e a linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação linear usando o *software* Excel®.

4.2.1.1.3 Solubilização e quantificação do MX na fase oleosa (DIVYA *et al.*, 2014)

A 12 g dos óleos disponíveis em laboratório (ácido oleico e miristato de isopropila), foi acrescentada quantidade excessiva de MX em pó, cuja mistura resultante foi mantida sob agitação constante por 72 horas. Passado esse período, o sistema foi centrifugado a 3000 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado e filtrado em membrana Millipore® (47 mm e poro de 0,45µm). O filtrado obtido foi pesado e, após as devidas diluições com metanol, tiveram suas absorbâncias lidas no comprimento de onda que foi definido no item 4.2.1.1.1, em espectrofotômetro UV. As respectivas concentrações foram calculadas pela equação da reta gerada pela curva de calibração originada pelo método descrito no tópico 4.2.1.1.2.

4.2.1.2 Seleção do tensoativo, cotensoativo e razão C/T

Os diagramas de fases psedoternários foram construídos pelo método de titulação com água destilada a uma série de misturas constituídas por fase oleosa (selecionada no tópico anterior), tensoativo e cotensoativo (Tabela 2), pesados em proporções pré-estabelecidas, conforme a Tabela 3. Após a pesagem e a completa homogeneização dos componentes num sistema monofásico transparente, esse sistema titulado com água destilada, gota a gota e sob agitação constante, até o surgimento de turbidez, que indica o fim da região de microemulsão. A composição dos diferentes pontos do diagrama foi calculada pela equação: $\% CT + \% F.O + \% F.A = 100\%$, onde C/T representa a mistura tensoativo/cotensoativo, o F.O, a fase oleosa e a F.A, fase aquosa. Os diagramas foram construídos com auxílio do software ORIGIN®. Todos os diagramas foram construídos na razão C/T 1:1. Os diagramas com as maiores áreas de microemulsão foram empregados para estudo da razão C/T, que foi variada nas proporções de 1:2 e 2:1 (NEMICHAND; LAXMAN; 2016).

Tabela 2 - Tensoativos e cotensoativos estudados na formulação das microemulsões.

<i>Tensoativo</i>	<i>Cotensoativo</i>
Tween® 80	Etanol 95%
Tween® 20	2-propanol
Span® 20	1,2-hexanediol
Span® 80	1,2-octanediol
Brij® 93	
Span® 83	
Span® 85	

Tabela 3 - Quantidades de cotensoativo/tensoativo (razão 1:1) e fase oleosa para construção do diagrama de fases.

Ponto	C/T		Fase oleosa		Total
	%	massa (g)	%	massa (g)	
1	100	0,95	0	0,05	1 g
2	90	0,9	10	0,1	1 g
3	80	0,8	20	0,2	1 g
4	70	0,7	30	0,3	1 g
5	60	0,6	40	0,4	1 g
6	50	0,5	50	0,5	1 g
7	40	0,4	60	0,6	1 g
8	30	0,3	70	0,7	1 g
9	20	0,2	80	0,8	1 g
10	10	0,1	90	0,9	1 g
11	5	0,05	95	0,95	1 g

Legenda: C/T - Cotensoativo/tensoativo.

4.2.2 Seleção do diagrama e escolha da proporção de cada componente da formulação

Após a obtenção e análise de todos os diagramas, o sistema selecionado foi aquele que apresentou maior região de microemulsão na área com maior teor de água, uma vez que neste estudo havia interesse na obtenção de formulações do tipo óleo em água (O/A), com quantidades de tensoativo/cotensoativo mais baixas possíveis, para não onerar o custo de produção. Um outro critério que interferiu nos citados foi a quantidade de MX incorporado a cada formulação.

4.2.3 Preparo das formulações

Para o preparo das formulações, pesou-se cada componente no mesmo recipiente e após a obtenção do sistema microemulsionado, o MX foi adicionado em pequenas frações, sob agitação magnética até a completa homogeneização do sistema. Foram estudadas 6 microemulsões com diferentes composições e variável capacidade de incorporação do fármaco.

4.2.4 Caracterização físico-química das microemulsões

4.2.4.1 Índice de refração

O índice de refração (IR) foi determinado por meio do refratômetro de bancada do tipo Abbé, aferido com água destilada.

4.2.4.2 Mensuração do tamanho de gotícula, potencial zeta e índice polidispersão (PDI)

As medidas relativas aos tamanho de gotícula, potencial zeta e PDI foram obtidas com o auxílio do equipamento Zetasizer ZS.

4.2.4.3 Transmitância

Neste método, a porcentagem de transmitância das formulações foi mensurada em espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda de 650 nm, usando água destilada como branco (NEMICHAND; LAXMAN; 2016).

4.2.4.4 Determinação do pH das microemulsões

A determinação do pH das microemulsões foi realizada através de um potenciômetro previamente calibrado com as soluções tampão de pH 4,0 e 7,0. O eletrodo foi introduzido em um volume de 10 mL da formulação.

4.2.4.5 Determinação da viscosidade e comportamento reológico das microemulsões

A determinação da viscosidade e o comportamento reológico das microemulsões foram avaliadas em reômetro Brookfield Viscometer modelo DV-II + Pro (Spindle: SC4-18) com auxílio do *software* Brookfield Rheocalc versão 3.2.

4.2.4.6 Condutividade elétrica

O ensaio da condutividade elétrica foi realizado em condutivímetro, após calibração com solução de calibração de condutância 1408 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à temperatura de 25°C.

4.2.4.7 Quantificação do fármaco solubilizado na formulação através de espectrofotometria de UV (REDDY; MUTALIK; RAO, 2006).

Para este teste, 0,5 - 1 g de cada formulação foi pesado e dissolvido em 50 mL de tampão fosfato pH 7,4. Em seguida, uma alíquota de 300 μL dessa solução foi diluída em 50 mL do mesmo solvente para leitura em espectrofotômetro UV-Vis. A metodologia para a seleção do comprimento de onda e para a obtenção da curva de calibração foi a mesma descrita nos itens 4.2.1.1.1 e 4.2.1.1.2 respectivamente, sendo que o solvente utilizado para solubilizar o MX, neste caso, foi o tampão fosfato pH 7,4. Para o branco, foram preparadas microemulsões sem a adição do fármaco com composição idêntica a cada formulação analisada, todas elas foram submetidas as mesmas pesagens e diluições que a amostra correspondente. O MX solubilizado na microemulsão foi quantificado pela equação da reta gerada pela curva de calibração. O teor de fármaco solubilizado foi calculado, pela razão da quantidade efetivamente doseada pela da quantidade de fármaco acrescentada à formulação, conforme a fórmula:

$$\text{Teor de fármaco solubilizado} = \frac{(g) \text{ fármaco experimental}}{(g) \text{ fármaco teórico}} \times 100.$$

4.2.4.8 Teste de centrifugação

As amostras foram submetidas a centrifugação a 3000 rpm por 120 minutos. Após essa etapa, as microemulsões sofreram inspeção visual e sistemas em que não foram evidenciadas separação de fases foram considerados estáveis.

4.2.5 Espectro de absorção dos componentes selecionados para formulação

Para investigar a especificidade do método descrito no item 4.2.4.7, em quantificar o MX na presença dos outros componentes da ME, uma comparação da varredura dos componentes isolados e na microemulsão, nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm, com as varreduras das soluções de minoxidil (itens 4.2.1.1.1 e 4.2.4.7) foi realizada. Os componentes isolados e a microemulsão foram diluídas tanto metanol como em tampão fosfato pH 7,4.

4.2.6 Análise estatística

A média e o desvio padrão foram calculados pelo *software* Excel.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Construção do diagrama de fases pseudoternário para a delimitação das regiões de microemulsão

5.1.1 Seleção da fase oleosa

A origem deste estudo foi baseada na problemática já bem descrita na literatura dos efeitos adversos decorrentes do uso de etanol e propilenoglicol como solventes na composição de formulações de uso farmacêutico. O MX é pouco solúvel em água (Quadro 7), mas solúvel em propilenoglicol e etanol. Neste estudo, buscou-se uma fase oleosa em que o fármaco apresentasse solubilidade semelhante ou maior a ambos os componentes, afim de substituí-los na formulação.

Quadro 7 - Solubilidade do Minoxidil (temperatura ambiente).

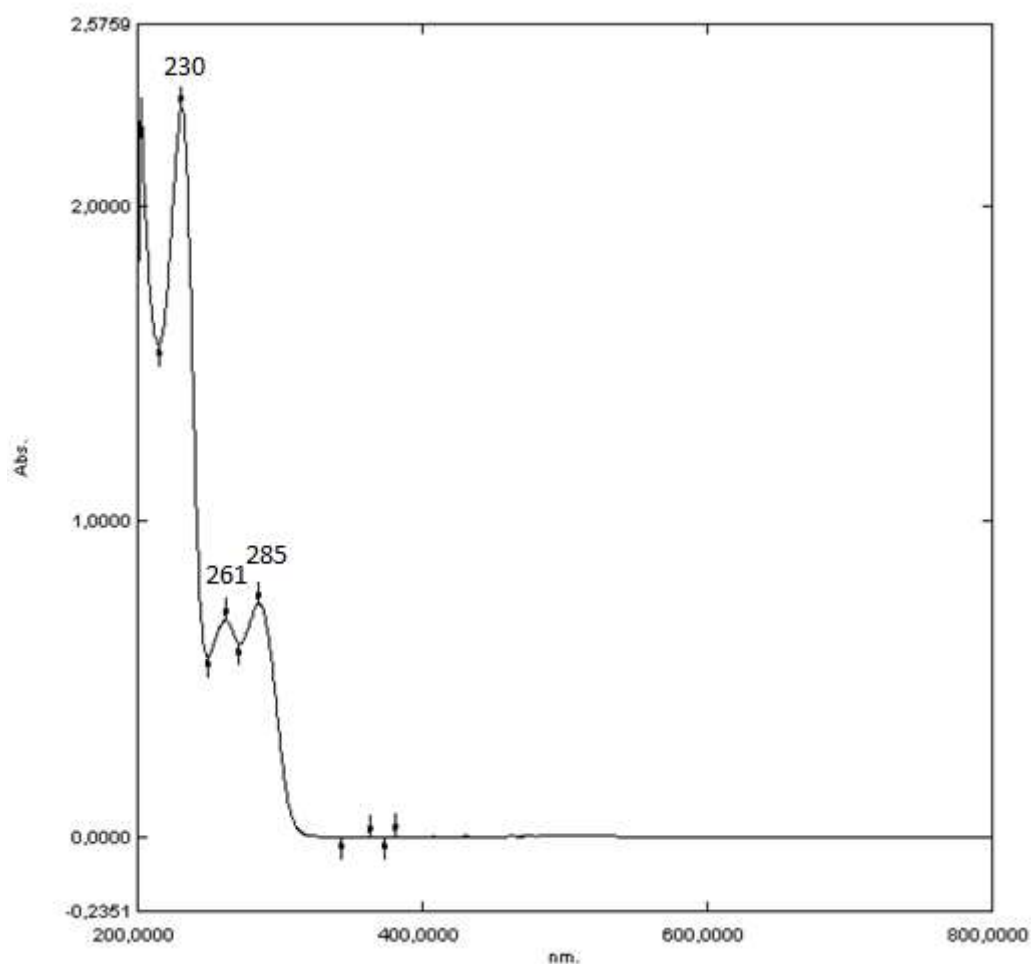
Solvente	Solubilidade (mg/ mL)
Propilenoglicol	75
Metanol	44
Etanol (95%)	29
2-Propanol	6,7
Água	2,2
Clorofórmio	0,5
Acetona	< 0,5

Fonte: FLOREY, 1996.

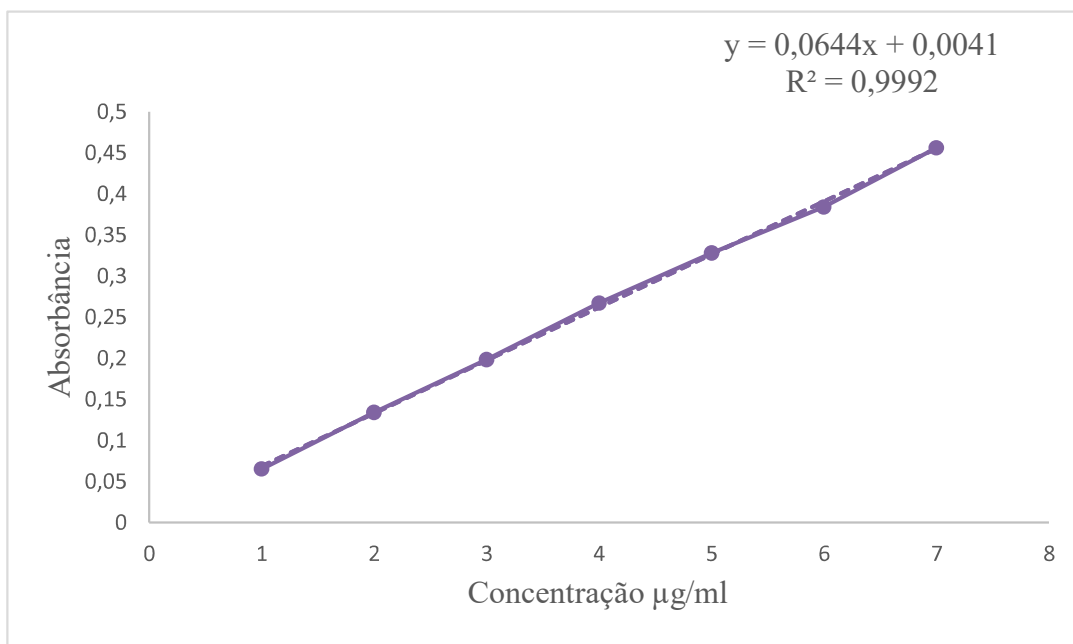
Para isso, MX em excesso foi adicionado às fases oleosas acessíveis no Laboratório de Inovação e Desenvolvimento de Tecnologia Farmacêutica – LIDETEF, (ácido oleico e miristato de isopropila). Para a quantificação do MX que foi solubilizado, determinou-se o comprimento de onda de absorção máxima para este fármaco.

A partir da análise da varredura da solução de MX em metanol na Figura 20, fica evidente que o fármaco estudado gerou picos de absorção máxima nos comprimentos de onda 230.7, 261.89 e 285.2 nm. Estes picos de absorção são semelhantes aos obtidos por Florey, 1996 (230.8, 261.4, 286.3 nm). Neste estudo, optou-se pelo uso do comprimento de onda de 285 nm.

Figura 20 - Espectro de absorção na região do UV/Vis da solução de MX em metanol a 10 µg/mL. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.



Após a seleção do comprimento de onda, a elaboração da curva de calibração (Figura 21) resultou a equação da reta $y = 0,0644x + 0,004$. A faixa de concentração estudada (1 a 7 µg/ mL) apresentou como coeficiente de correlação linear $r^2 = 0,999$, comprovando que há linearidade no intervalo escolhido. A validação do método espectrofotométrico em UV para quantificação de MX foi realizada por Singh *et al.* (2016).

Figura 21 - Curva de calibração do MX em metanol.

A quantidade de MX solubilizado foi doseado nas fases oleosas, conforme demonstrado na Tabela 4. Nos dados tabulados, fica nítido que a solubilidade do MX no ácido oleico foi muito superior à quantidade solubilizada no miristato de isopropila, sendo por isso escolhido como fase oleosa para a construção dos diagramas de fases pseudoternários. A quantidade doseada, em mg/mL, para o ácido oleico foi superior ainda a solubilidade do MX relatada na literatura para o etanol e propilenoglicol (Quadro 7), o que permite a substituição de ambos adjuvantes pela fase oleosa e, ainda, a solubilização de uma maior quantidade de MX.

Assim como o propilenoglicol, o ácido oleico também atua como um promotor da permeação (Quadro 6).

Tabela 1 - Quantificação do MX solubilizado nas fases oleosas (mg/mL)

Fase oleosa	Quantidade doseada (mg/mL)
Ácido oleico	$211 \pm 3,57$
Miristato de isopropila	$0,021 \pm 0,0007$

O ácido oleico já vem sendo empregado em formulações microemulsionadas nos quais os fármacos a serem incorporados apresentam alta solubilidade nesta fase, como o aciclovir, (MADHURA *et al.*, 2013), tenofovir (DIVYA *et al.*, 2014), MX (SUNITHA *et al.*, 2013), nebivolol (NEMICHAND; LAXMAN; 2016), piroxicam (ABD-ALLAH; DAWABA; AHMED, 2010) e carbamazepina (ACHARYA *et al.*, 2013).

5.1.2 Seleção do tensoativo, cotensoativo e razão C/T

Todos os tensoativos utilizados neste estudo são de natureza não iônica, que é considerada menos irritante e tóxica em comparação aos tensoativos de categoria iônica (EFFENDY; MAIBACH, 1995; KUMAR; MITTAL, 1999).

Dentre os cotensoativos, os álcoois de cadeia média e curta são associados a efeitos adversos tóxicos (KUMAR; MITTAL, 1999)

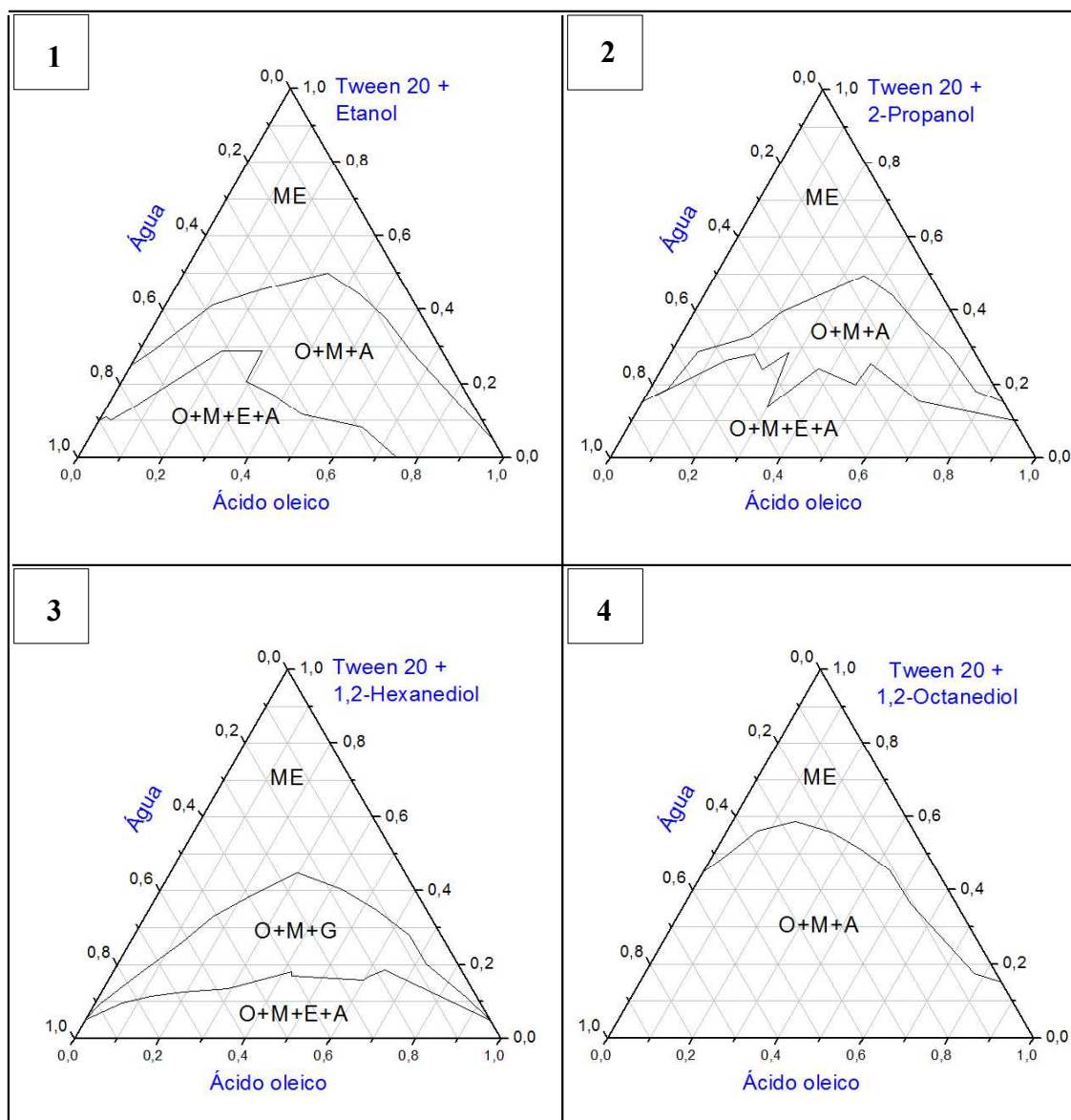
1,2-Alcanedióis como 1,2-pentanediol (C5), 1,2-hexanediol (C6) ou 1,2-octanediol (C8) possuem excelente propriedade hidratante, alta solubilidade em água e eficiência como solvente, e por este motivo são frequentemente utilizados em formulações cosméticas (LEE *et al.*, 2011).

Dentre os 1,2-alcanedióis 1,2-butanediol, 1,2-pentanediol, 1,2-hexanediol, 1,2-octanediol e 1,2-decanediol, o que apresenta menor potencial irritante é o 1,2-hexanediol (LEE *et al.*, 2011). Em comparação aos cotensoativos listados para este estudo, o mais seguro para uso em formulações farmacêuticas.

As Figuras de 22 a 27 detalham os diagramas obtidos variando-se os cotensoativos listados na Tabela 7 com os tensoativos Tween[®] 20, Tween[®] 80, Span[®] 80 e Brij[®] 93. Pode-se notar que os diagramas construídos com o cotensoativo 1,2-hexanediol foram os que apresentaram maior região de microemulsão. Considerando este dado e o quesito segurança, os diagramas contendo os tensoativos Span[®] 20, Span[®] 83 e Span[®] 85 foram construídos somente com este cotensoativo.

Dos 19 diagramas construídos na razão C/T 1:1 (Tabela 5), os sistemas que usaram o cotensoativo 1,2-hexanediol juntamente com os tensoativos Tween[®] 20, Tween[®] 80 e Span[®] 83, foram os que apresentaram áreas de microemulsão mais extensas, sendo a maior região obtida com o uso do tensoativo Tween[®] 20 (Figura 22, D-3). Ao contrário do diagrama construído com o tensoativo Span[®] 83, os diagramas D-3 e D-7 (Figura 23) possibilitam o desenvolvimento de formulações do tipo O/A com menores quantidades da mistura tensoativo/cotensoativo, mesmo em áreas com maior teor de fase oleosa.

Figura 22 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 20 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.



Legenda:

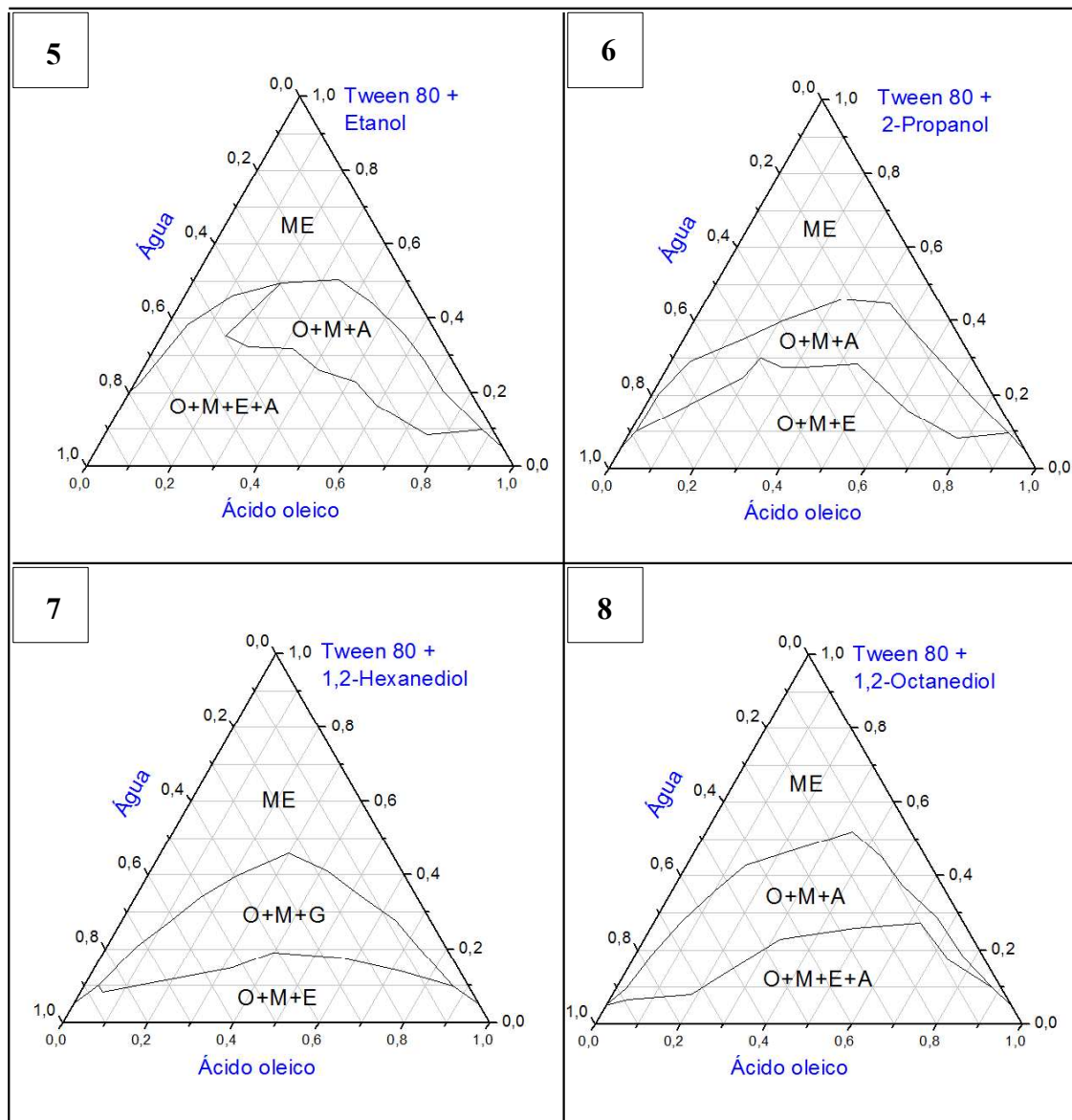
ME: microemulsão;

O+M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+G: óleo + microemulsão + gel;

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Figura 23 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 80 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.



Legenda:

ME: microemulsão;

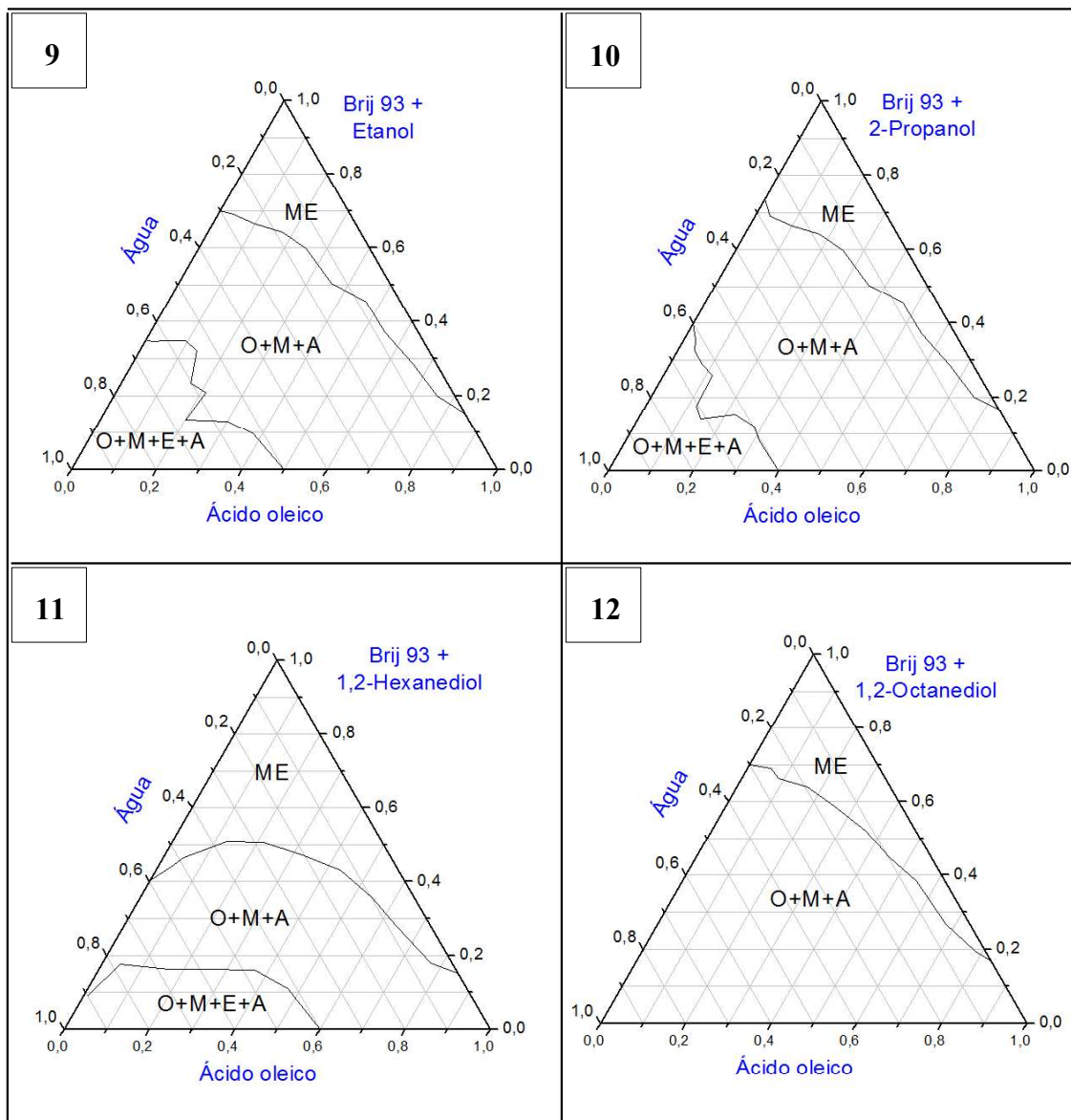
O+M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+G: óleo + microemulsão + gel;

O+M+E: óleo + microemulsão + emulsão

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Figura 24 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Brij® 93 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.

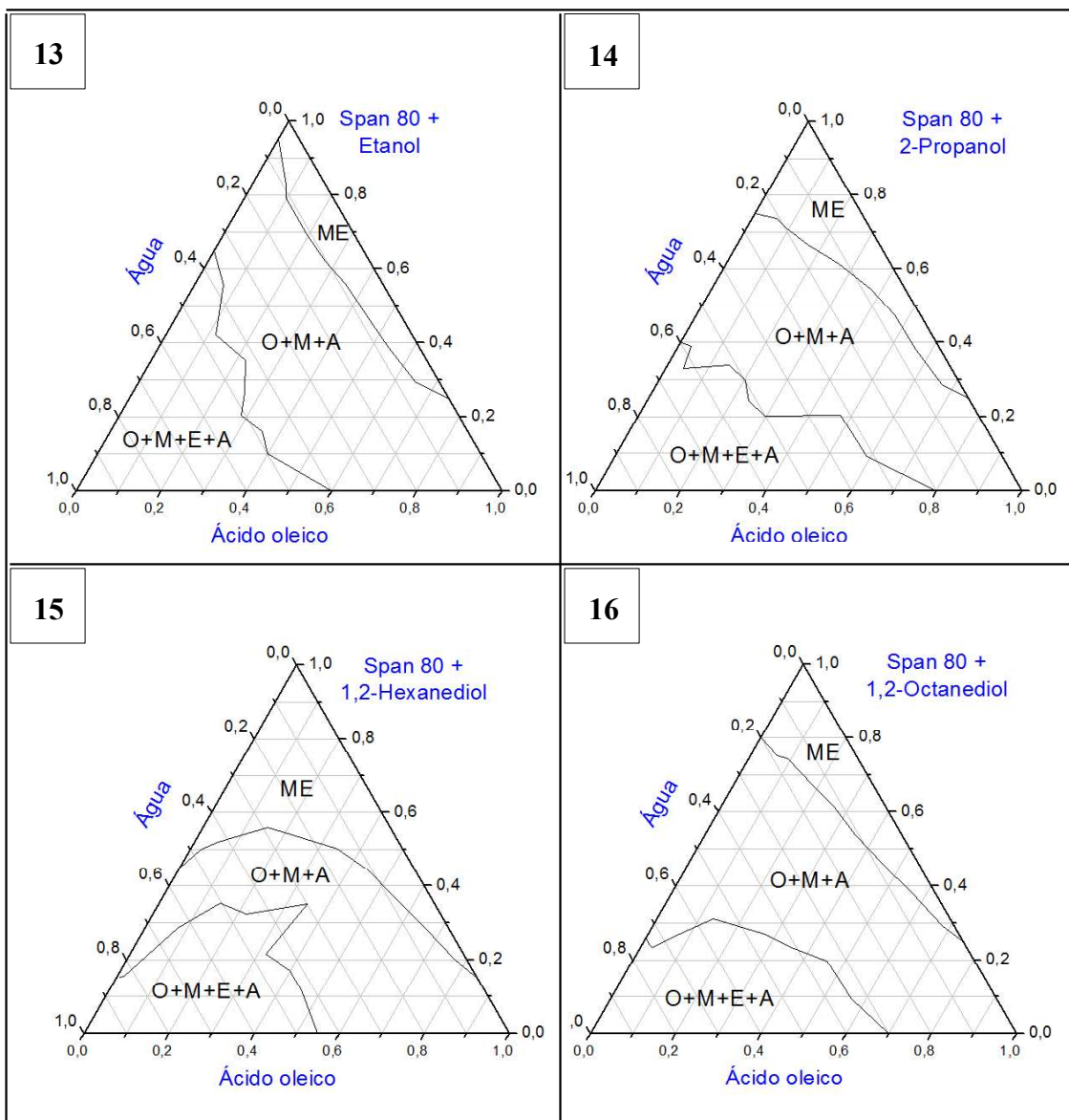


Legenda:

ME: microemulsão; +M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Figura 25 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Span[®] 80 e os cotensoativos etanol, 2-propanol, 1,2-hexanediol e 1,2-octanediol.



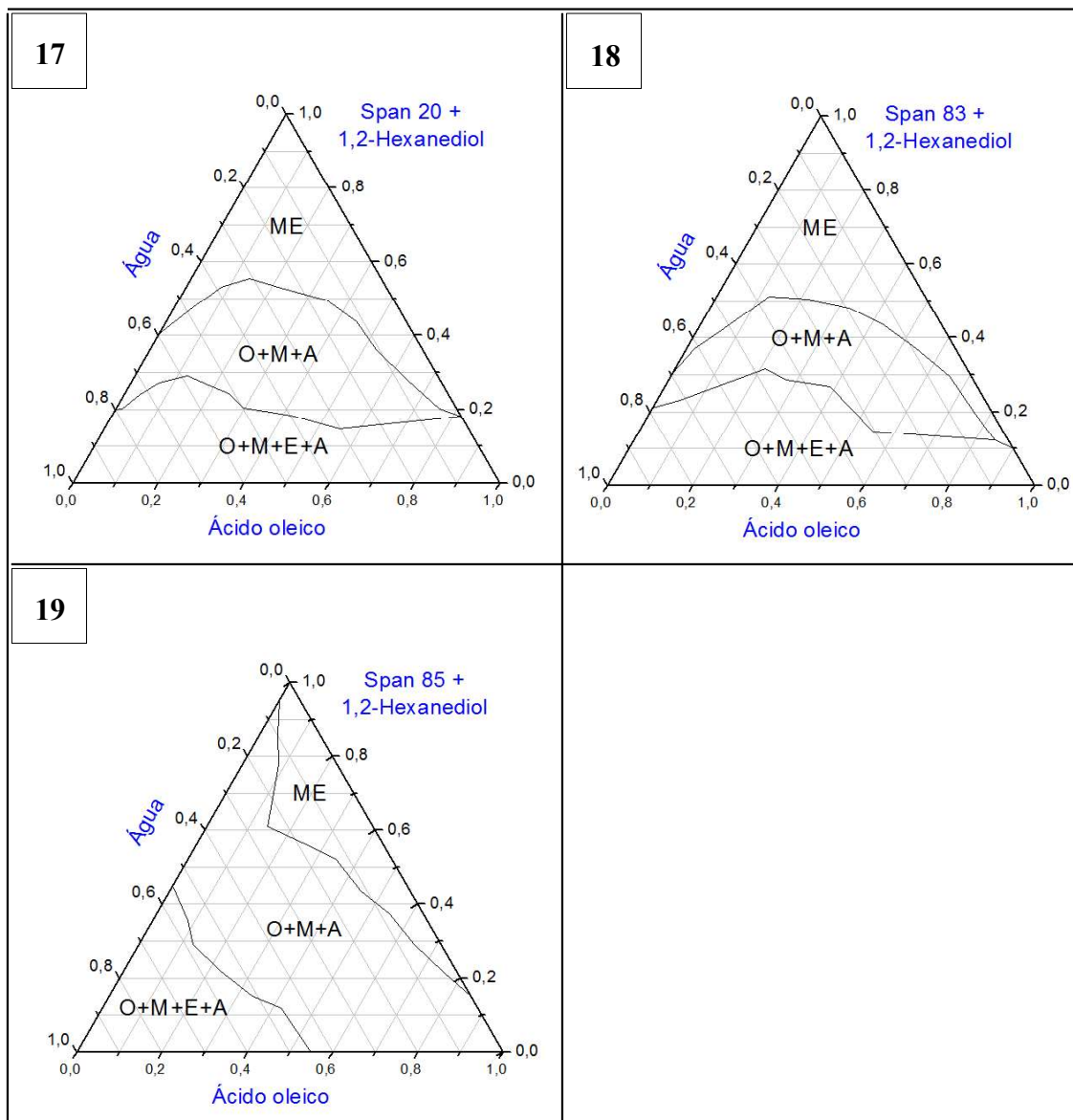
Legenda:

ME: microemulsão;

O+M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Figura 26 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Span[®] 20, Span[®] 83, Span[®] 85 e o cotensoativo 1,2-hexanediol.



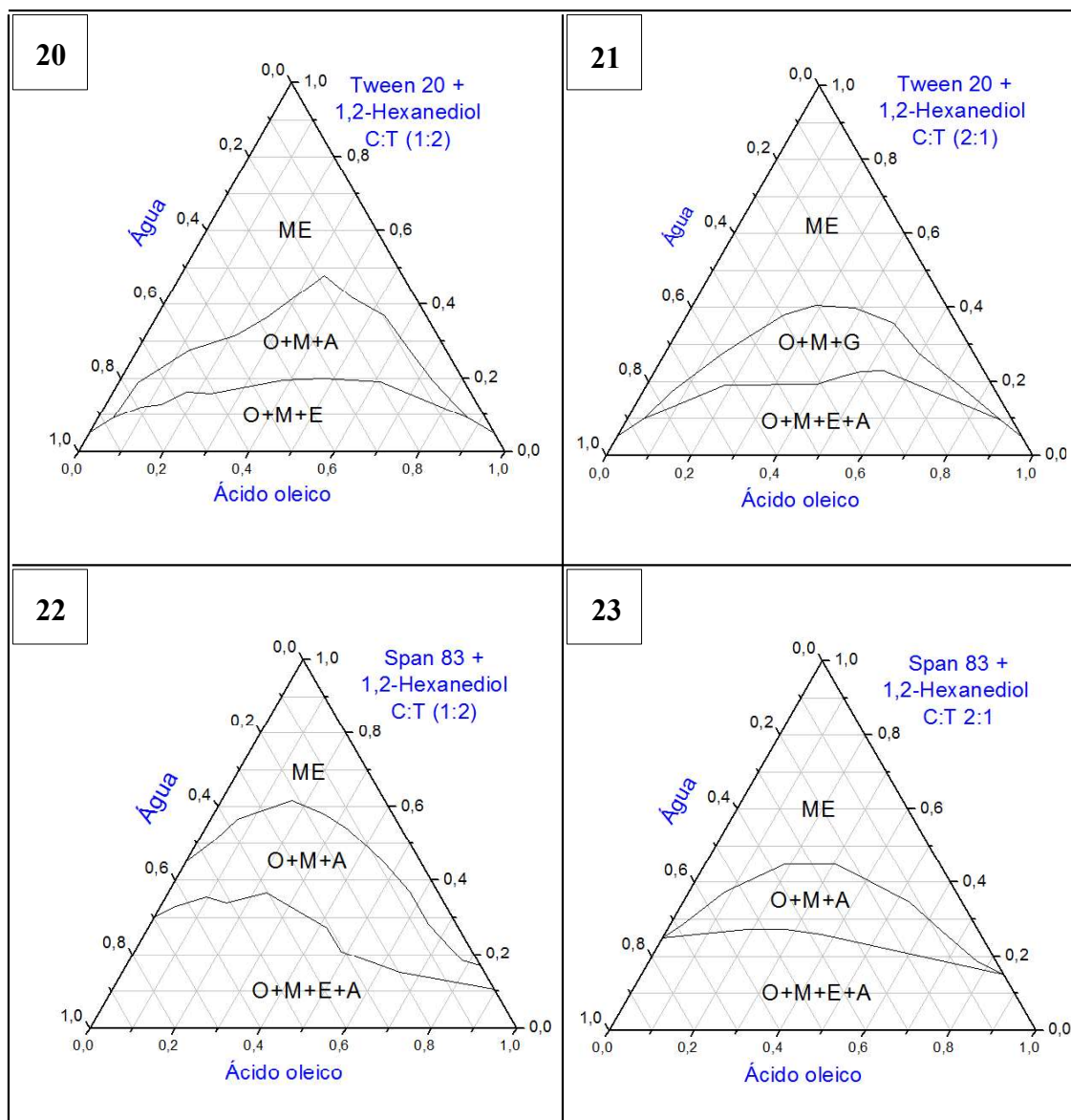
Legenda:

ME: microemulsão;

O+M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Figura 27 - Diagramas de fases pseudoternários construídos com ácido oleico, água, Tween® 20 e Span® 83 e o cotensoativo 1,2-hexanediol, nas razões C/T de 1:2 e 2:1.



Legenda:

ME: microemulsão;

O+M+A: óleo + microemulsão + água;

O+M+G: óleo + microemulsão + gel

O+M+E+A: óleo + microemulsão + emulsão + água.

Tabela 2 - Composição dos diagramas de fases pseudoternários.

Diagrama	Razão C/T	Tensoativo	Cotensoativo	Fase oleosa	Fase aquosa
D -1	1:1	Tween® 20	etanol	ácido oleico	água
D -2	1:1	Tween® 20	2-propanol	ácido oleico	água
D -3	1:1	Tween® 20	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -4	1:1	Tween® 20	1,2-octanediol	ácido oleico	água
D -5	1:1	Tween® 80	etanol	ácido oleico	água
D -6	1:1	Tween® 80	2-propanol	ácido oleico	água
D -7	1:1	Tween® 80	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -8	1:1	Tween® 80	1,2-octanediol	ácido oleico	água
D -9	1:1	Brij® 93	etanol	ácido oleico	água
D -10	1:1	Brij® 93	2-propanol	ácido oleico	água
D -11	1:1	Brij® 93	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -12	1:1	Brij® 93	1,2-octanediol	ácido oleico	água
D -13	1:1	Span® 80	etanol	ácido oleico	água
D -14	1:1	Span® 80	2-propanol	ácido oleico	água
D -15	1:1	Span® 80	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -16	1:1	Span® 80	1,2-octanediol	ácido oleico	água
D -17	1:1	Span® 20	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -18	1:1	Span® 83	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -19	1:1	Span® 85	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -20	1:2	Tween® 20	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -21	2:1	Tween® 20	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -22	1:2	Span® 83	1,2-hexanediol	ácido oleico	água
D -23	2:1	Span® 83	1,2-hexanediol	ácido oleico	água

Visando estudar o aumento da região de microemulsão, novos diagramas com os tensoativos Tween® 20 e Span® 83 foram construídos nas razões C/T 1:2 e 2:1 (Figura 27). Por questões técnicas, não foi possível dar continuidade aos estudos relacionados com o tensoativo Tween® 80.

Além das regiões de microemulsão, os diagramas apresentaram domínios constituídos por três fases: O+M+A (óleo + microemulsão + água), O+M+G (óleo + microemulsão + gel),

O+M+E (óleo + microemulsão + emulsão), e quatro fases O+M+E+A (óleo + microemulsão + emulsão + água).

Como pode ser visto pela Figura 27, os diagramas construídos com o tensoativo Span[®] 83, em ambas as razões, apresentaram áreas de ME menores que a obtida pelo diagrama D-3 (Figura 22). Os diagramas construídos com o tensoativo Tween[®] 20 (D-20 e D-22 – Figura 27) continuaram apresentando uma boa região de microemulsão. O diagrama D-20 foi descartado, pois, ao contrário do diagrama D-3, requer maior quantidade da mistura tensoativo/cotensoativo para possibilitar o desenvolvimento de formulações com teor de fase oleosa próximas a 30%. O diagrama D-22, que apresenta o dobro de cotensoativo em relação ao tensoativo, também foi descartado, por não oferecer mudanças significativas em relação ao diagrama D-3. O uso de uma maior quantidade de cotensoativo neste caso, é desvantajosa uma vez que o preço do cotensoativo é bem superior ao do tensoativo. Sendo assim, ao final, o diagrama D-3 foi selecionado.

5.2 Preparo das formulações

Após a análise do diagrama D-3 e tendo em vista a concentração de MX que se tinha interesse em incorporar em ME do tipo O/A, a proporção de cada componente de cada formulação foi definida.

Buscando otimizar as microemulsões desenvolvidas por Jaipakdee *et al.* (2016) e Sakr *et al.* (2013), que continham etanol e propilenoglicol em suas formulações, concentrações de 2 e 5% foram preparadas. Para solubilizar o MX a 2 e 5% foi necessário 10 e 15% de fase oleosa, respectivamente. Estas formulações apresentaram 35 a 50% de água na sua composição (Tabela 6).

Considerando que o objetivo deste trabalho também foi a incorporação de uma concentração de MX superior à disponível comercialmente, as formulações contendo 8, 9 e 10% de MX foram preparadas. Levando em conta a solubilidade do MX na fase oleosa, para estas formulações foi necessária maior quantidade de óleo (25 e 30 (p/p)). Nestes sistemas, a porcentagem de água foi de 20 a 25% (Tabela 6).

A quantidade de tensoativo e cotensoativo para ficar dentro da área monofásica de ME e longe da fronteira com regiões de transição de fases (Figura 28), foi fixada em 40% para as formulações de 2 e 5% e 50% para as formulações de 8, 9 e 10%. Os pontos de transição referentes as formulações de 2 a 5% e de 8 a 10% apresentaram 33% e 44,91% de T+C, respectivamente.

Tabela 3 - Composição das microemulsões (p/p) de acordo com a quantidade de MX.

Formulação	% MX	Razão C/T	% Óleo	% (T+C)	% Água
F-1	2	1:1	10	40	50
F-2	5	1:1	15	40	45
F-3	5	1:1	15	50	35
F-4	8	1:1	25	50	25
F-5	9	1:1	25	50	25
F-6	10	1:1	30	50	20

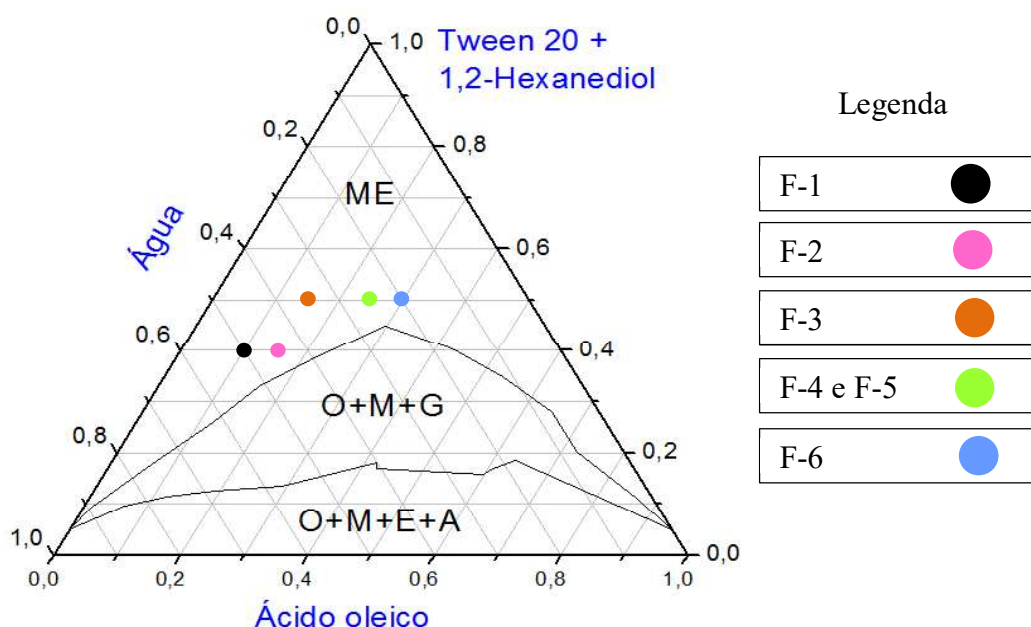
Legenda:

T: Tensoativo - Tween® 20

C: cotensoativo - 1,2-hexanediol

Uma vez definida a composição de cada formulação, as microemulsões foram preparadas e, após a adição do MX, apresentaram-se sob análise macroscópica, homogêneas, pouco viscosas e de coloração amarelada, com intensidade proporcional à concentração do fármaco. O odor da formulação foi característico ao do ácido oleico.

No total, seis formulações foram propostas e todas passaram por caracterização físico-química.

Figura 28 - Pontos escolhidos para o preparo das formulações F-1, F-2, F-3, F-4, F-5 e F-6.

5.3 Caracterização físico-química das microemulsões

5.3.1 Índice de refração

O IR decresceu gradualmente com o aumento da concentração da fase oleosa e diminuição da fase aquosa (Tabela 7). O IR mais elevado foi de 1,4551, compatível ao que foi encontrado por Moghimipour, Salimi e Eftekhari (2013), e Okur e colaboradores (2016) o que confirma a transparência das formulações.

Tabela 4 - Tamanho de gotícula, índice de polidispersão (PDI), transmitância (T) e índice de refração (IR) nas microemulsões preparadas (média $\pm$ DP, n=3).

Formulação	Tamanho (nm)	PDI	T (%)	IR
F-1	25,33 $\pm$ 9,53	0,398 $\pm$ 0,155	99,6	1,403 $\pm$ 0
F-2	57,16 $\pm$ 0,895	0,267 $\pm$ 0,002	99,2	1,416 $\pm$ 0,0002
F-3	52,51 $\pm$ 10,93	0,256 $\pm$ 0,035	99,3	1,428 $\pm$ 0,0002
F-4	101,19 $\pm$ 2,54	0,358 $\pm$ 0,039	98,2	1,443 $\pm$ 0,0002
F-5	119,03 $\pm$ 3,11	0,265 $\pm$ 0,008	97	1,447 $\pm$ 0,0002
F-6	151,63 $\pm$ 2,00	0,318 $\pm$ 0,029	96,8	1,4551 $\pm$ 0,0005

5.3.2 Determinação do tamanho de gotícula e índice polidispersão (PDI)

O tamanho médio de gotícula determinado nas formulações foi pequeno (25,33-151,63 nm), compatível com o tamanho de microemulsão e nanoemulsão. O tamanho de gotícula cresceu com o aumento da concentração da fase oleosa e do fármaco.

O tamanho desejável para uma microemulsão é de 100 nm, o que é compatível com as formulações com até 8% de MX (F-4) (Tabela 7). As formulações de 9 e 10% (F-5 e F-6) podem se enquadrar pelo tamanho de gotícula em nanoemulsões, apesar de possuir formação espontânea e manter a transparência. Entretanto, alguns pesquisadores, (SHAH *et al.*, 2010, BASHEER; NOORDIN; GHAREEB, 2013, NEMICHAND; LAXMAN, 2016 e OKUR *et al.*, 2016) classificam ainda como microemulsão sistemas em que as gotículas apresentaram tamanho de até 200 nm.

As formulações F-2 e F-3 não apresentaram diferenças significantes em relação ao tamanho de gotícula obtido. Sendo assim, a formulação F-2 com 45% de água e 40% de C/T pode ser considerada a melhor opção para comercialização de MX a 5%.

O PDI é um indicador de estabilidade e distribuição de tamanho das gotículas. Seu valor varia de 0,0 a 1,0. Quanto maior o PDI, menor a uniformidade entre o tamanho de gotículas (PATEL *et al.*, 2013), e, inversamente, quanto mais próximo de zero, maior a homogeneidade de tamanho entre as gotículas (MOGHIMIPOUR; SALIMI; EFTEKHARI, 2013).

O PDI neste estudo foi inferior a 0,5 em todas as formulações, indicando que a distribuição de gotículas é monodispersa (NEMICHAND; LAXMAN, 2016), o que pode ser melhor avaliado pela Figura 29. A formulação F-2 apresentou distribuição em pico único abaixo de 100 nm, demonstrando boa uniformidade no diâmetro das gotículas geradas.

Figura 29 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas da formulação F-1.

F-1

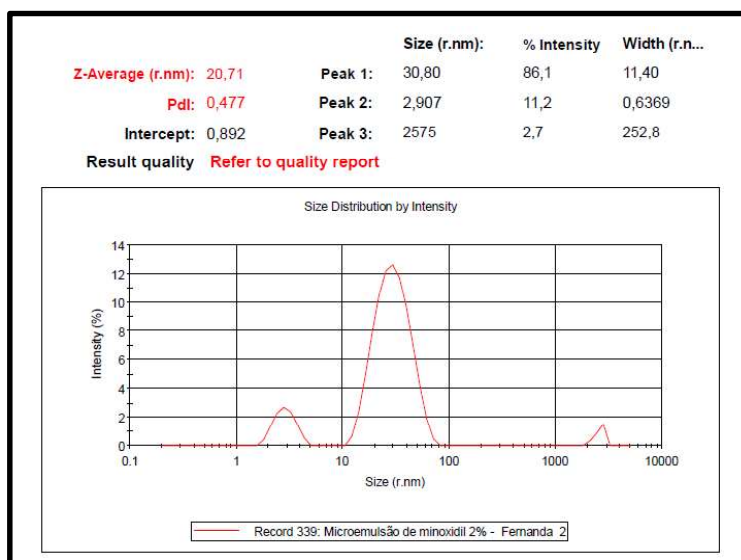
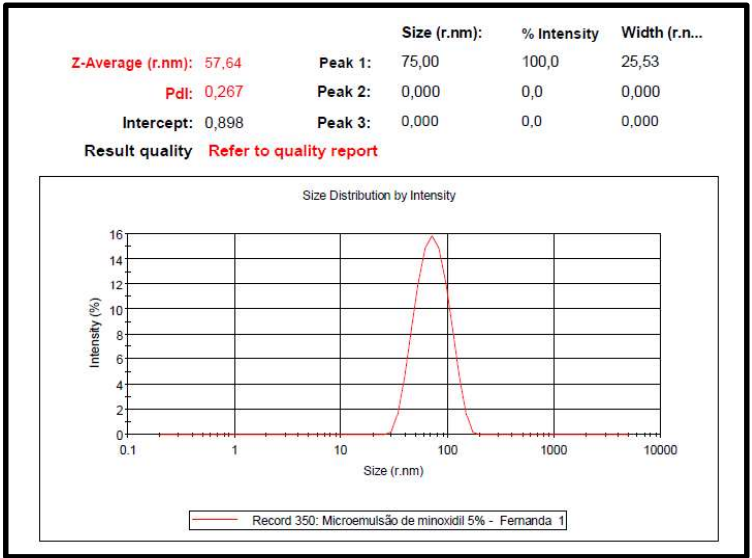


Figura 30 - Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas das formulações F-2 e F-3.

F-2



F-3

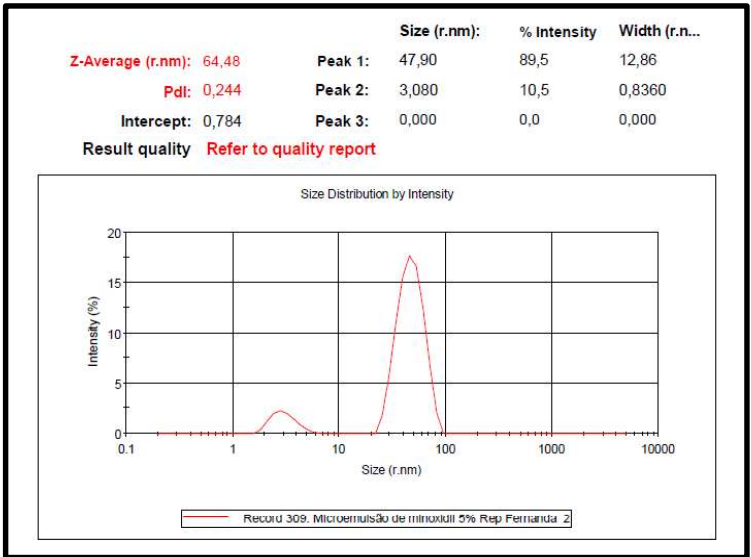
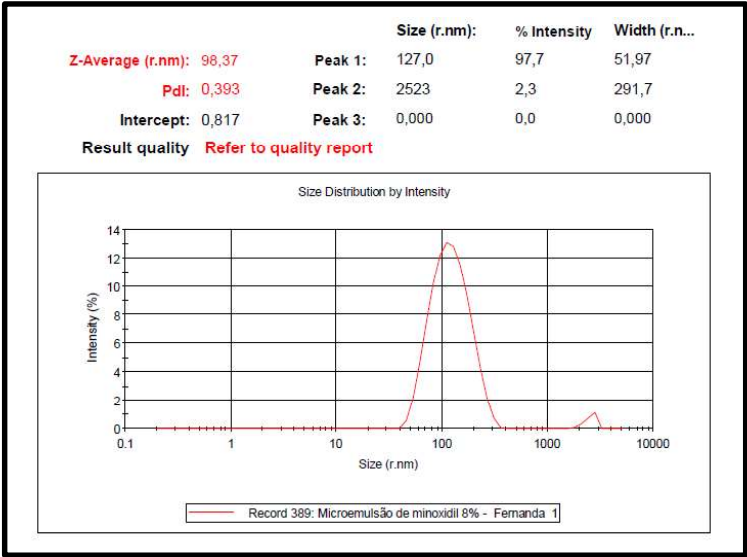


Figura 31- Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas das formulações F-4 e F-5.

F-4



F-5

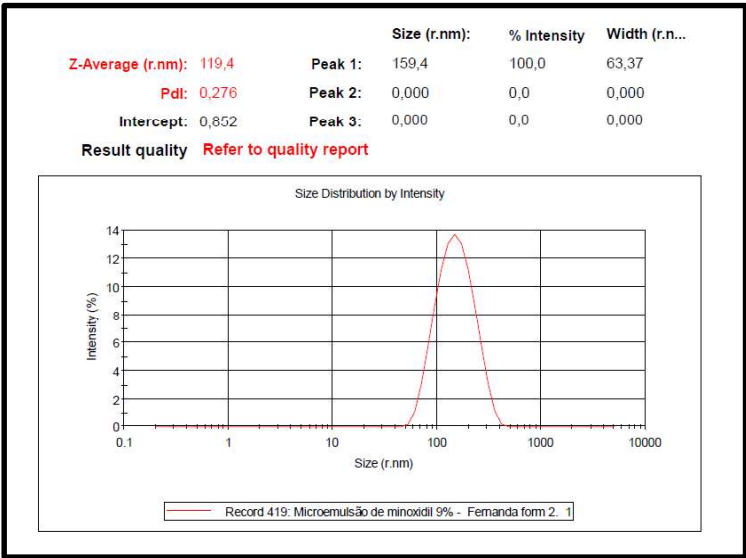
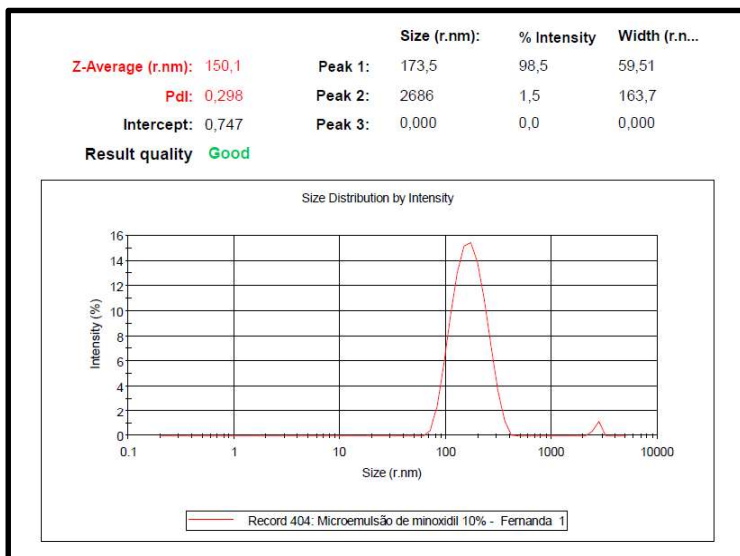


Figura 32- Tamanho de gotícula e PDI de uma das triplicadas da formulação F-6.

F-6



5.3.3 Transmitância

A porcentagem de transmitância encontrada neste estudo variou de 96,8 a 99,6%, indicando a natureza transparente das formulações. Estes valores estão em concordância com os obtidos por Thakkar e colaboradores (2011), Shahu, Wadetwar e Dixit (2013) e Patel e colaboradores (2013).

5.3.4 Determinação do pH das microemulsões

O pH das formulações está estritamente ligado aos excipientes utilizados (NEMICHAND; LAXMAN, 2016). Neste estudo, o pH das microemulsões variou de 5,3 a 5,89 (Tabela 8), próximo ao pH de maior estabilidade do MX, que é 5, e ao pH do couro cabeludo que é de 5,5, evitando assim o risco de irritação (FLOREY, 1996; GAVAZZONI DIAS *et al.*, 2014).

Tabela 5 - Viscosidade, pH, potencial zeta e condutividade (média $\pm$ DP, n=3).

Formulação	Viscosidade (cP)	pH	Potencial zeta (mV)	Condutividade (μ S/cm)
F-1	23,27 $\pm$ 0,11	5,3 $\pm$ 0,01	- 1,08 $\pm$ 1,58	91,8 $\pm$ 0,1
F-2	35,87 $\pm$ 0,14	5,66 $\pm$ 0,005	- 0,03 $\pm$ 0,17	89,5 $\pm$ 0,95
F-3	41,67 $\pm$ 0,07	5,75 $\pm$ 0,01	0,023 $\pm$ 0,22	73,5 $\pm$ 0,05
F-4	76,81 $\pm$ 0,47	5,76 $\pm$ 0,005	- 0,065 $\pm$ 0,027	50,8 $\pm$ 0,32
F-5	82,56 $\pm$ 0,16	5,89 $\pm$ 0,01	- 0,088 $\pm$ 0,137	36,5 $\pm$ 0,14
F-6	95,16 $\pm$ 0,42	5,89 $\pm$ 0,005	- 0,198 $\pm$ 0,283	29,8 $\pm$ 0,1

5.3.5 Determinação da viscosidade e comportamento reológico das microemulsões

De acordo com os reogramas obtidos, as microemulsões exibiram fluxo newtoniano (Figura 30), que é seu comportamento usual.

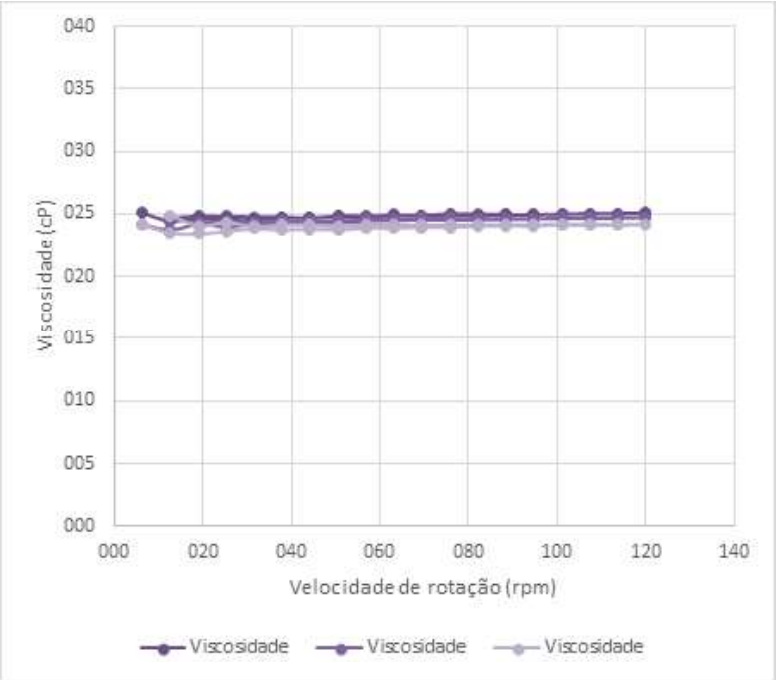
A média de viscosidade para todas as formulações foi baixa, o que já era esperado por ser característico desses sistemas. No caso específico da veiculação de MX para aplicação no couro cabeludo, essa característica é desejável para facilitar a espalhabilidade da formulação sem engordurar ou enrijecer os fios. Entretanto, se desejável, a baixa viscosidade das microemulsões pode ser facilmente contornada pela adição de agentes gelificantes como o natrosol (SUNITHA *et al.*, 2013), hidroxipropilmetilcelulose (SABALE; VORA, 2012), goma xantana (CHEN *et al.*, 2006) e carbopol (SAHOO; PANI; SAHOO, 2014).

Nos diagramas obtidos com os tensoativos Tween[®] 20 e Tween[®] 80 em conjunto com o cotensoativo 1,2-hexanediol, é possível observar que há uma área fora da região de microemulsão que permite o desenvolvimento de formulações com viscosidade semelhante à de um gel. Esta área pode ser aproveitada no futuro para o desenvolvimento de outros tipos de sistemas de liberação para o MX.

Os valores obtidos neste estudo foram próximos aos valores encontrados por Ghosh *et al.* (2005), Hyma; Chandra e Laharika (2013); Shahu *et al.* (2013); Jaipakdee *et al.* (2014), Divya *et al.* (2014); Okur *et al.* (2016).

Figura 33 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-1 e F-2.

F-1



F-2

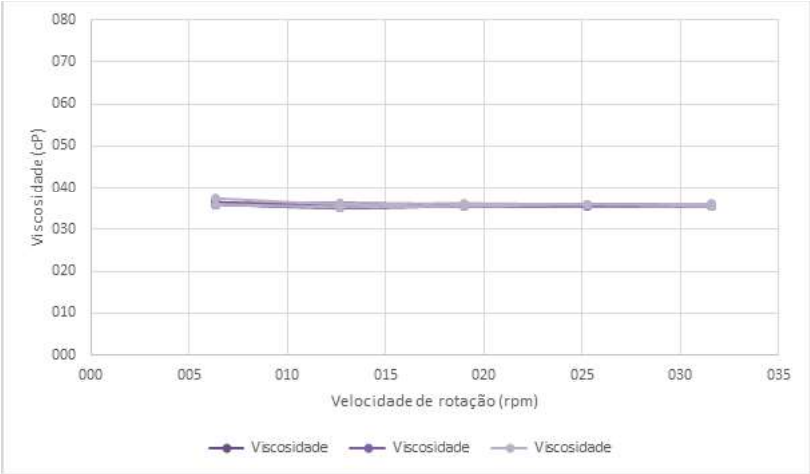
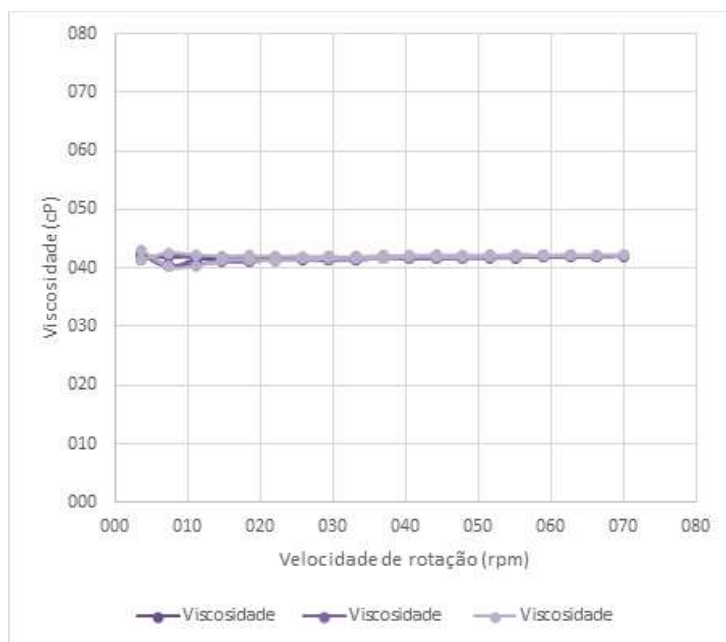


Figura 34 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-3 e F-4.

F-3



F-4

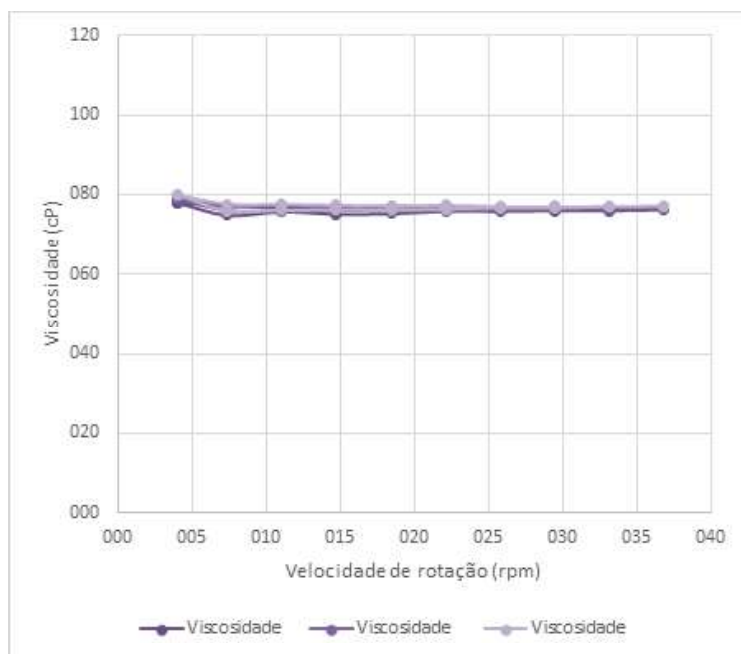
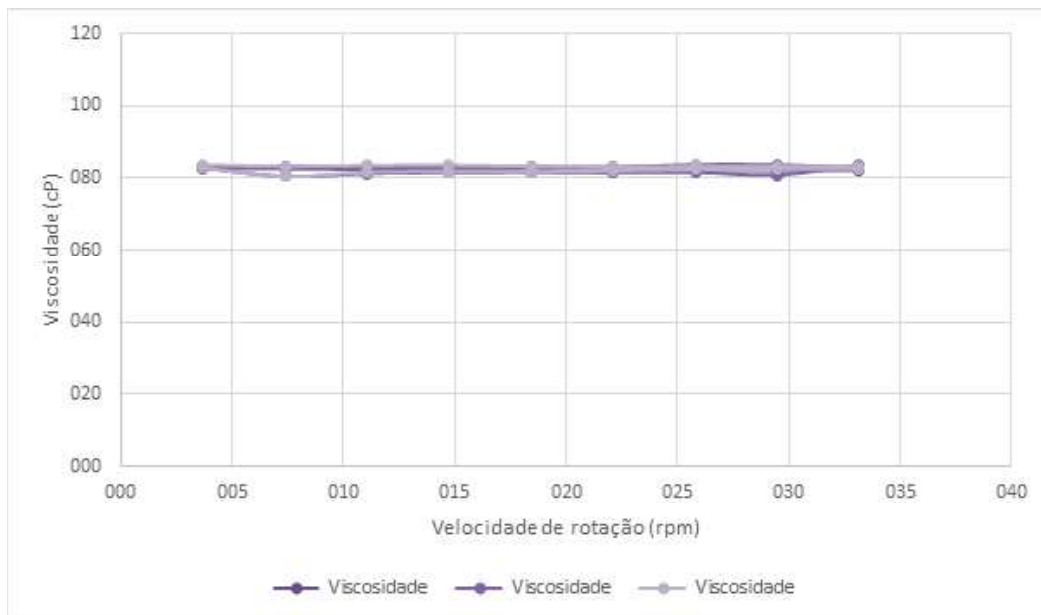
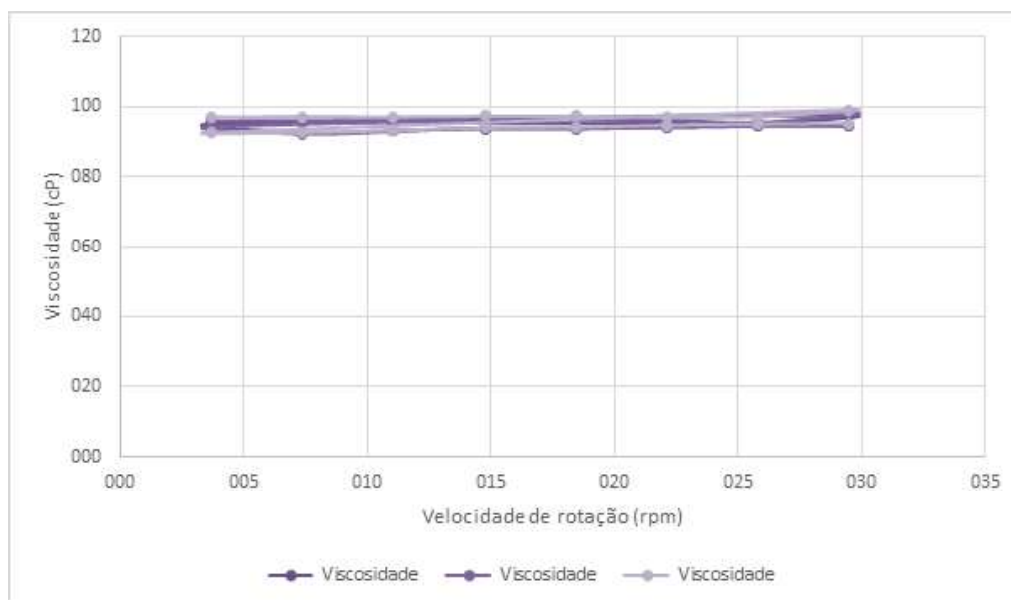


Figura 35 - Comportamento da variação de viscosidade versus velocidade de rotação das microemulsões F-5 e F-6.

F-5



F-6



5.3.6 Condutividade elétrica

A medida da condutividade elétrica em sistemas emulsionados é importante para detectar qual é a fase dispersante no sistema. Se a fase dispersante for o óleo, espera-se baixos valores de condutividade, uma vez que óleo não é um bom condutor de elétrons. E, de forma contrária, se a fase dispersante for a água, espera-se maiores valores de condutividade.

A condutividade medida para as 6 formulações de microemulsão variaram na faixa de 29,8 a 91,8 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, com valores progredindo de acordo com a quantidade de água presente na formulação. Estes valores são compatíveis com estudos que desenvolveram microemulsões do tipo água em óleo (A/O) (Quadro 8) (KANTARCI *et al.*, 2007; MOGHIMIPOUR; SALIMI; EFTEKHARI, 2013), já que a condutividade de ME do tipo O/A apresentam valores mais altos. Entretanto, apesar da condutividade medida para as formulações F-1 a F-6 não serem tão elevadas quanto nos estudos de Acharya *et al.* (2003) e Nemichand e Laxman (2016), acredita-se que foram obtidas microemulsões do tipo O/A.

Em uma análise mais aprofundada, pode-se notar que nas microemulsões do tipo A/O obtidas por Kantarci e colaboradores (2007) o teor de óleo adicionado às formulações (27,2 a 34,6%) foi relativamente superior ao teor de água (4,5 a 10%) (Quadro 9). O mesmo ocorreu em Moghimipour, Salimi e Eftekhari (2013), com 5 a 10% de água em formulações com 20 a 40 % de óleo. Além disso, ambos os autores fizeram uso do tensoativo Span[®] 80, com EHL baixo ideal para formulações do tipo A/O (EHL 4,3).

Quadro 8 - Condutividade elétrica das microemulsões do tipo O/A e A/O.

Autor	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Classificação
KANTARCI <i>et al.</i> , 2007	18,8 a 20,2	A/O
MOGHIMIPOUR; SALIMI; EFTEKHARI, 2013	46 a 136	A/O
ARCHARYA <i>et al.</i> , 2013	220 a 250	O/A
NEMICHAND; LAXMAN, 2016	178 a 201	O/A

Quadro 9 - Tipos de microemulsão de acordo com o EHL e teor de óleo e água.

Autor	Tensoativo (EHL)	Classificação	% óleo	% água
KANTARCI <i>et al.</i> , 2007	Span 80 (4,3)	A/O	27,2 a 34,6	4,5 a 10
MOGHIMIPOUR; SALIMI; EFTEKHARI, 2013	Span 80	A/O	20 a 40	5 a 10
ARCHARYA <i>et al.</i> , 2013	Tween 80 (15.0)	O/A	10 a 15	10 a 25
NEMICHAND; LAXMAN, 2016	Tween 80	O/A	14 a 20	10 a 12

Já nos estudos feitos por Nemichand e Laxman (2016) e Acharya e colaboradores (2013), as microemulsões com os maiores valores de condutividade elétrica eram compostas por maior quantidade de água e empregaram tensoativo predominantemente hidrofílico, Tween® 20 (EHL 16.7), assim como as microemulsões F-1 a F-5.

Considerando ainda que segundo Bumajdad e Eastoe (2004) a condutividade de microemulsões do tipo A/O varia em torno de 1 a 10 $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$, as microemulsões obtidas neste estudo podem ser considerados do tipo óleo em água.

Vale a pena ressaltar que a condutividade será tanto maior quanto maior for a presença de eletrólitos no meio, que pode ser oriunda da qualidade da água purificada empregada nos ensaios ou até mesmo da presença de componentes ionizáveis, como o fármaco ou outros componentes iônicos. Isso pode justificar a diferença de dados obtidos entre este estudo e os de outros autores.

5.3.7 Potencial zeta

Valores de potencial zeta em ± 30 mV são preferíveis no quesito de indicação de estabilidade física (NEMICHAND e LAXMAN, 2016). Valores de potencial zeta extremamente positivos ou negativos indicam o predomínio de forças repulsivas entre as partículas, diminuindo a probabilidade de coalescência e garantindo, com isso, a homogeneidade de tamanho das gotículas dispersas (ZHU *et al.*, 2015).

O potencial zeta da maioria das formulações foi próximo de zero, indicando ausência de carga entre as gotículas, o que é condizente, uma vez que as gotículas estavam revestidas por um tensoativo não-iônico. Outro fator que pode ter influenciado nos valores obtidos é o pH da formulação (GUSTAFSSON *et al.*, 2000; CHANG *et al.*, 2015; NEMICHAND E LAXMAN, 2016).

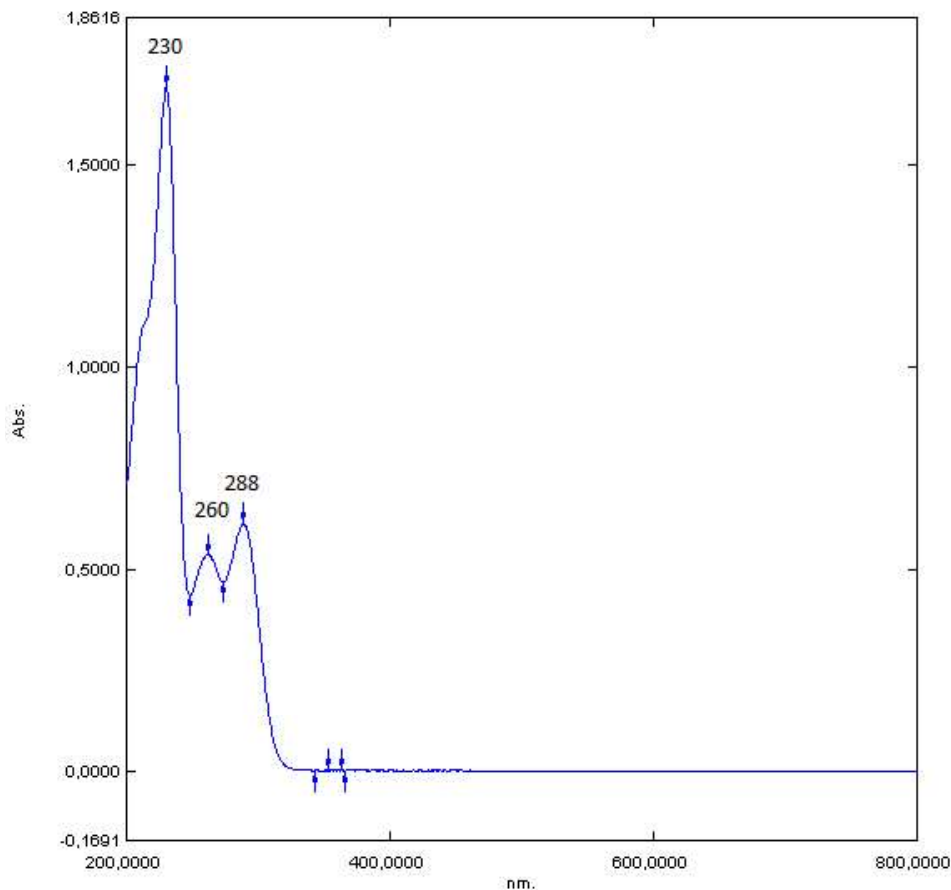
Os valores obtidos neste estudo (-1,08 a 0,023) que foram próximos aos resultados obtidos por Porecha *et al.*, (2009), Shah *et al.*, (2010), Patel *et al.*, (2012), Acharya *et al.*, (2013) e Okur *et al.*, (2016).

5.3.8 Quantificação de fármaco incorporado

Determinado por espectrofotometria UV-Vis, a relação entre a quantidade de fármaco acrescentada à formulação e a quantidade efetivamente doseada permite calcular o teor real de fármaco presente na formulação.

O comprimento de onda selecionado para o doseamento foi de 285 nm, apesar de o espectro de varredura do MX apresentar picos nos comprimentos de onda de 230, 260 e 288 nm (Figura 31). Isso ocorreu porque a opção de fazer varredura não estava funcionando na altura destas análises. Entretanto, acredita-se que não houve prejuízo à quantificação pela pequena diferença e por ter seguido comprimento de onda selecionado com base no artigo de Purohit *et al.* (2014), que validou o método espectrofotométrico de UV para a quantificação do MX.

Figura 36 - Espectro de absorção na região do UV/Vis da solução de MX em tampão fosfato a 10 µg/mL. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.



Com o intuito de verificar a especificidade do método, ou seja, se no comprimento de onda selecionado para a quantificação do MX não coincidia com a absorção de nenhum outro componente das microemulsões, uma varredura de todos os componentes foi realizada nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm. Os componentes da formulação foram avaliados isoladamente e em conjunto tanto em metanol como em tampão fosfato.

As Figuras 32 e 33 sobrepõem os espectros de absorção obtidos na região do UV/Vis da solução de MX, 1,2-hexanediol, Tween® 20 em metanol e tampão fosfato pH 7,4; e do ácido oleico somente em metanol. Pela análise destes resultados, somente o ácido oleico apresentou picos de absorbância na faixa de estudo, nos comprimentos de onda 206 e 230 nm. Em 285 nm, observa-se apenas a absorção do MX.

Figura 37 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX e dos outros componentes da formulação em metanol. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.

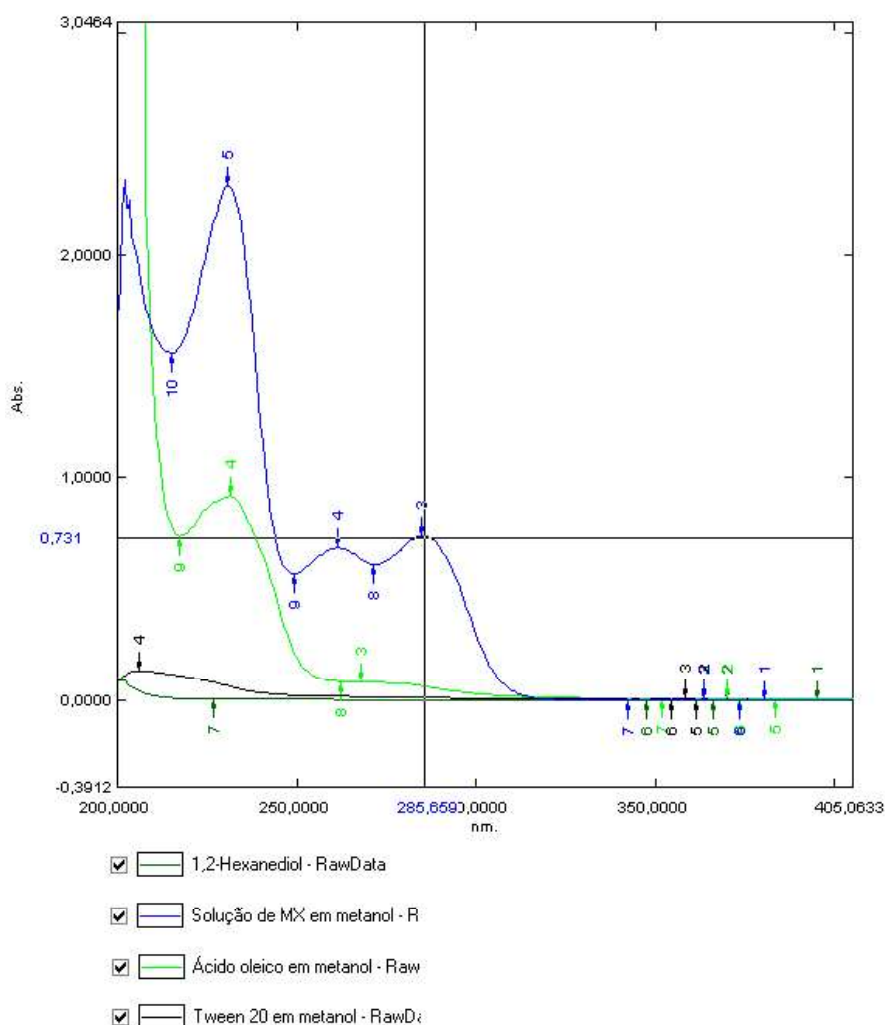
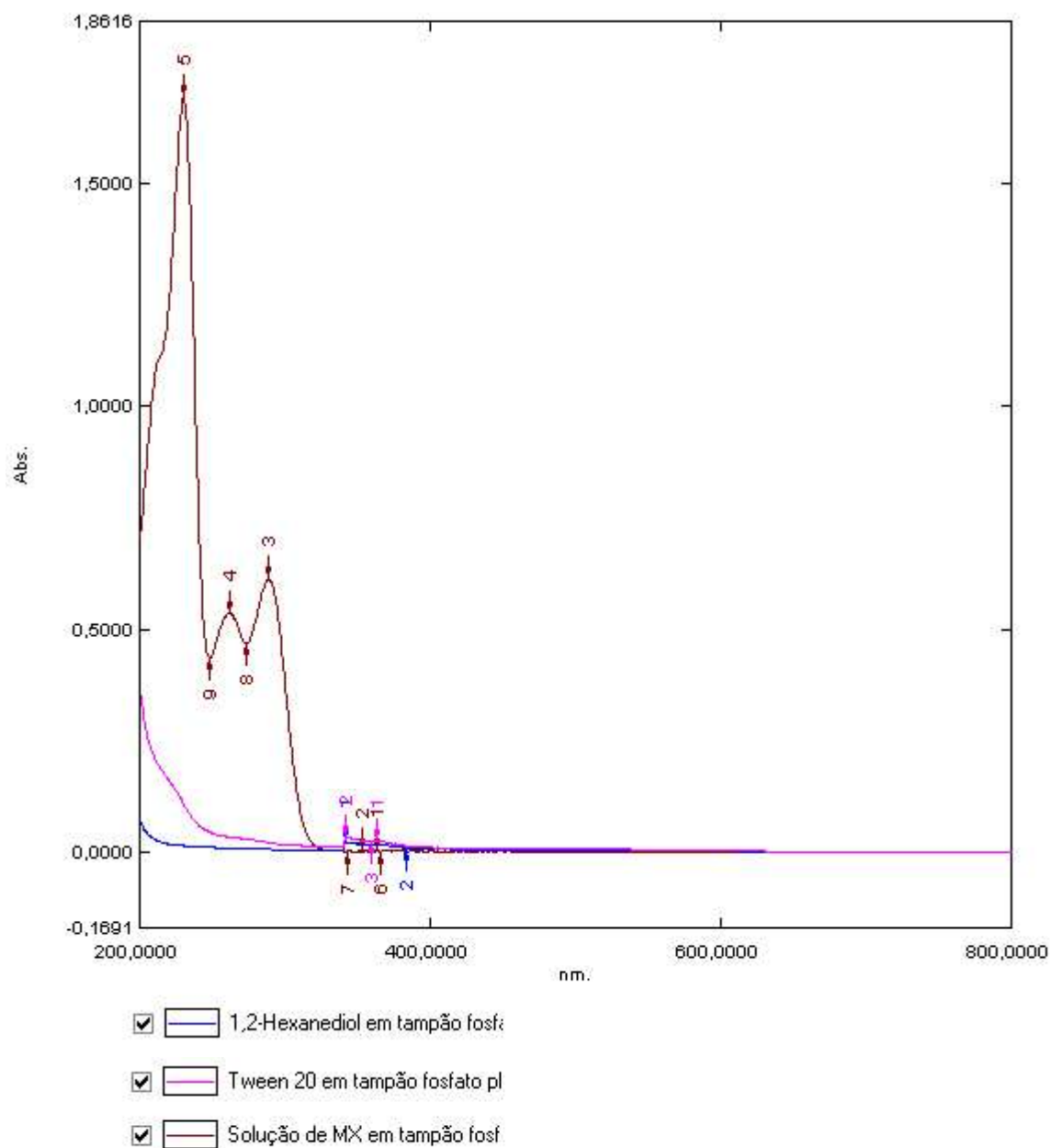


Figura 38 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX e dos outros componentes da formulação em tampão fosfato pH 7,4.

Faixa de varredura: 200 a 800 nm.



As Figuras 34 e 35 mostram a sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis, da microemulsão com e sem MX juntamente com a solução de MX, realizada em metanol e tampão fosfato pH 7,4. Como pode ser observado, a microemulsão não tem absorção no comprimento de onda de 285 nm, o que garante a especificidade do método para a quantificação de MX no comprimento de onda selecionado.

Figura 39 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX, microemulsão sem MX e com MX a 2% em metanol. Faixa de varredura: 200 a 800 nm.

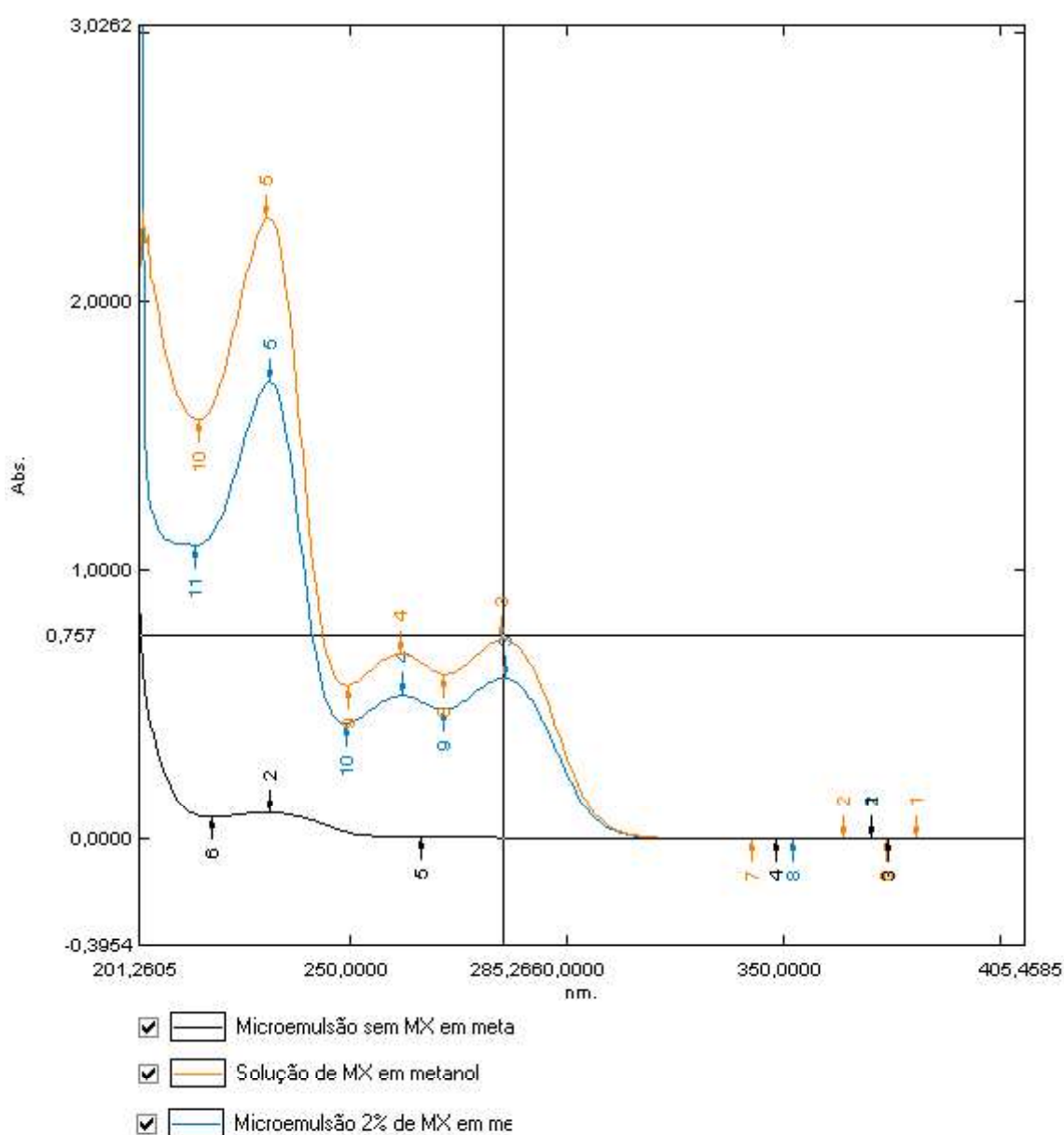
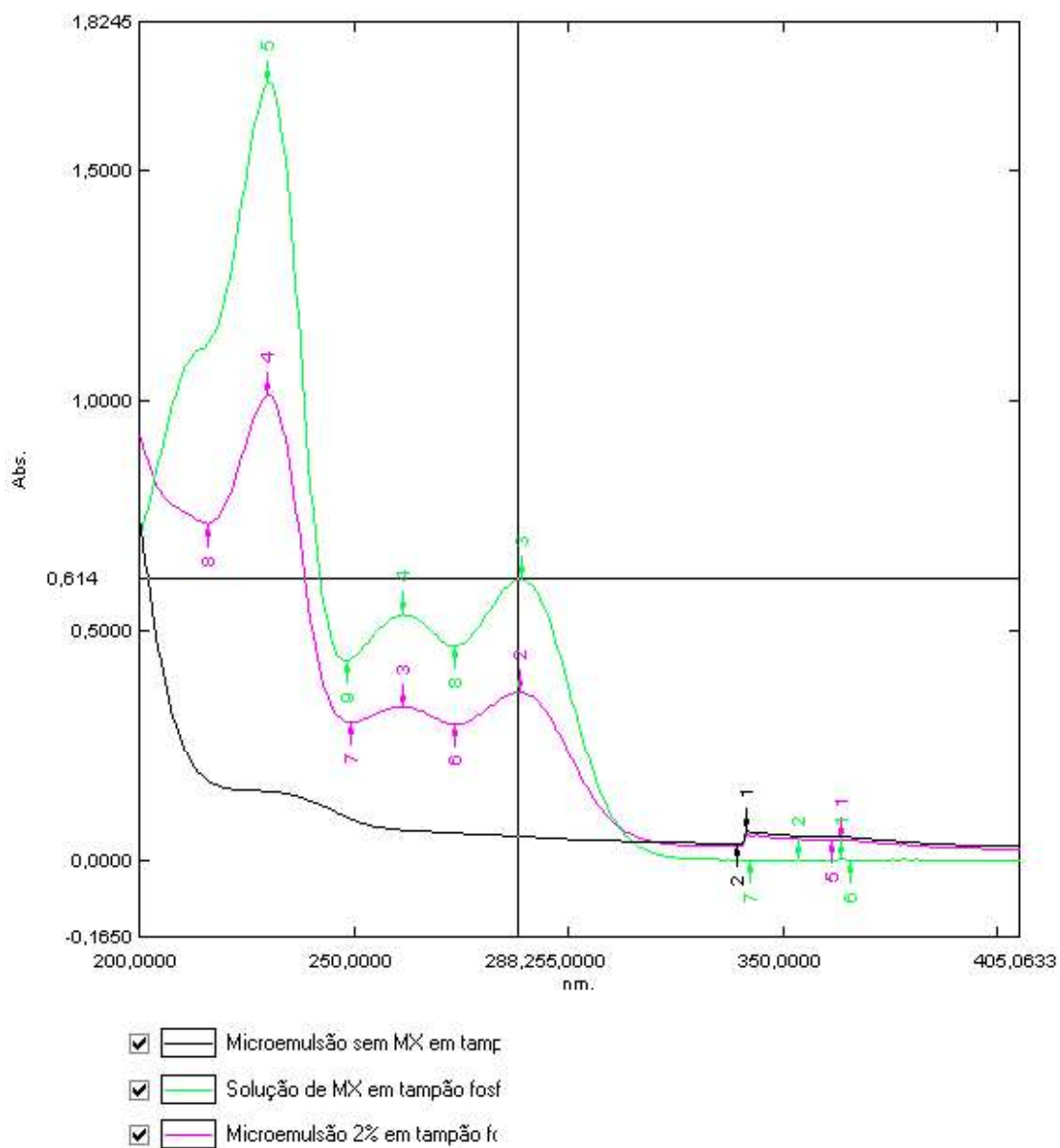


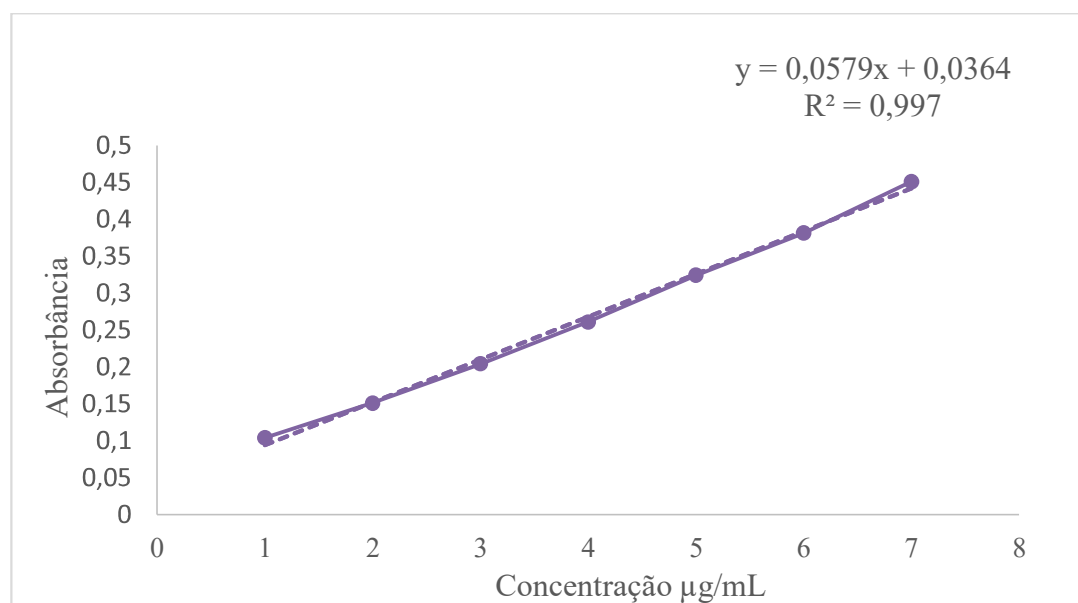
Figura 40 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do UV/Vis da solução de MX, microemulsão sem MX e com MX a 2% em tampão fosfato pH 7,4.

Faixa de varredura: 200 a 800 nm.



A curva de calibração do MX em tampão fosfato pH 7,4 (Figura 36) apresentou linearidade para a faixa estudada (1 a 7 µg/mL), $r^2 = 0,997$. A equação da reta $y = 0,0579x + 0,0364$ foi bem próxima a obtida por Purohit *et al.*, 2014 ($y=0,056x + 0,036$).

Figura 41 - Curva de calibração do MX em tampão fosfato pH 7,4.



A porcentagem e a quantidade máxima de MX até então solubilizadas nas formulações reportadas na literatura constam no Quadro 10.

Nos estudos de Jaipakdee *et al.* (2016) e de Sakr e colaboradores (2013), microemulsões contendo MX incorporaram somente 36 mg/mL e 5% do fármaco, em virtude da baixa solubilidade do MX nos solventes propilenoglicol e etanol.

Quadro 10 - Quantidade de minoxidil nos sistemas de liberação reportadas pela literatura.

Sistema	Autor	Valor nominal	Quantidade doseada (mg/mL)
Lipossomas	MURA et al., 2007	-	33,1 mg/mL
Niossomas	BALAKRISHNAN et al., 2009	-	48,76 mg/mL
Géis	LOPEDOTA, et al., 2015	5%	-
Nanopartículas	PADOIS et al., 2011	5%	-
Microemulsões*	JAIPAKDEE et al., 2016	-	36 mg/mL
Microemulsões *	SAKR et al., 2013	5%	-

* Contendo propilenoglicol e etanol

Neste estudo, graças a alta solubilidade do MX no ácido oleico, a quantidade de fármaco doseada nas formulações foi de 20,80 a 100,44 mg/mL (Tabela 9), o equivalente a concentração de MX de formulação comercial (2 e 5%) e superior (8 a 10%), todas livres de propilenoglicol e etanol.

O teor de fármaco nas formulações variou de 96,10 a 101,31%. A partir destes resultados, podemos concluir que o MX acrescido a cada formulação foi efetivamente solubilizado pelo sistema microemulsionado.

Tabela 6 – Quantificação do MX incorporado às formulações (mg/mL) e teor de fármaco (%) (média $\pm$ DP, n=3).

Formulação	Valor nominal	Quantidade doseada (mg/mL)	Teor de fármaco (%)
F-1	2%	20,80 $\pm$ 0,175	98,88 $\pm$ 0,835
F-2	5%	50,80 $\pm$ 0,167	101,31 $\pm$ 0,334
F-3	5%	49,54 $\pm$ 0,290	99,15 $\pm$ 0,582
F-4	8%	79,70 $\pm$ 0,605	99,42 $\pm$ 0,755
F-5	9%	87,26 $\pm$ 0,731	96,10 $\pm$ 0,806
F-6	10%	100,44 $\pm$ 0,335	100,27 $\pm$ 0,335

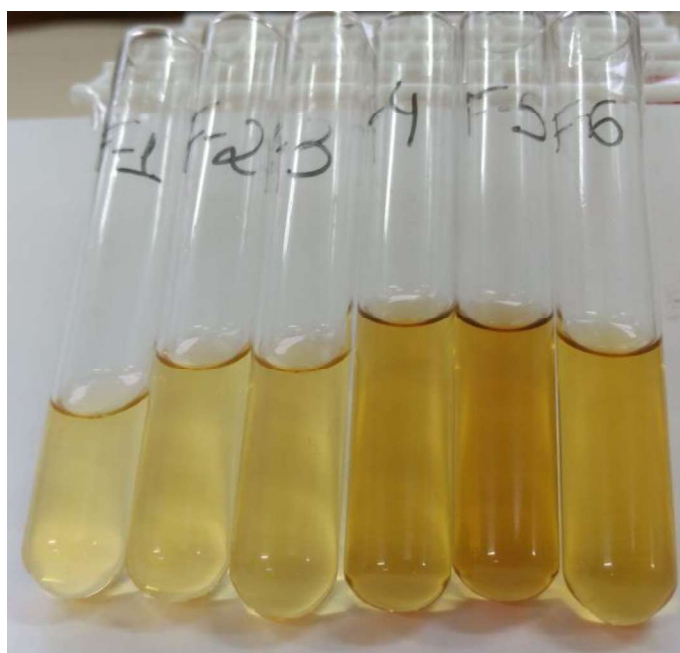
Ainda que o propilenoglicol e etanol apresentem custo inferior ao do Tween[®] 20 e 1,2-hexanediol, esse cotenosoativo, ao contrário do propilenoglicol, não desencadeia reações de sensibilidade cutânea (JOHNSON JR *et al.*, 2012).

O uso de uma formulação sem estes adjuvantes é determinante para a adesão de pacientes que abandonam o tratamento em decorrência do aparecimento de reações adversas a estes constituintes.

5.3.9 Teste de Centrifugação

Após o tempo de centrifugação, todas as formulações permaneceram homogêneas, sem evidência visual de instabilidade física, e sem decantação do fármaco solubilizado (Figura 37).

Figura 42- Microemulsões após o teste de centrifugação.



CONCLUSÃO

- A solubilidade do minoxidil em ácido oleico foi bem superior ao valor encontrado na literatura para o propilenoglicol e etanol, possibilitando a substituição destes adjuvantes pela fase oleosa;
- Os diagramas com maiores regiões de microemulsão foram obtidas utilizando o cotensoativo 1,2-hexanediol em comparação com etanol, 2-propanol e 1,2-octanediol;
- A maior região de microemulsão foi obtida com o tensoativo Tween 20, cotensoativo 1,2-hexanediol, ácido oleico e água;
- O minoxidil incorporado nas formulações variou de 2 a 10 (p/p) ou 20,80 a 100,44 mg/mL;
- A alta solubilidade do minoxidil no ácido oleico permitiu o desenvolvimento de formulações com 8 a 10% de fármaco;
- As formulações com teor de minoxidil semelhante as apresentações comerciais (2 e 5%), livres de propilenoglicol e etanol, foram preparadas contendo 50 e 45% de conteúdo aquoso, respectivamente;
- Todas as formulações apresentaram características de ME quanto aos quesitos: viscosidade, transmitância, índice de refração, teste de centrifugação;
- Somente as formulações com quantidade $\leq$ a 8% de minoxidil apresentaram gotícula com tamanho próximo a 100nm, dentro da escala de classificação das ME;
- A formulação F-4 foi considerada a melhor formulação, incorporando a concentração inédita de 8% de minoxidil, em formulação contendo 25% de água;
- Foram obtidas, ainda, formulações com 10% de minoxidil, porém, o diâmetro médio das gotículas estava acima de 100 nm, ou seja, fora da escala teórica para microemulsões

REFERÊNCIAS

- ABD-ALLAH, F.I.; DAWABA, H.M., AHMED, A.M.S. Development of a microemulsion-based formulation to improve the availability of poorly water-soluble drug. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 4, n. 4, p. 257-266, 2010.
- ABOOFAZELI, R. Nanometric-scaled emulsions (nanoemulsions). **Iran J Pharm Res**, v. 9, n. 4, p. 325-6, 2010. ISSN 1735-0328.
- ACHARYA, S.P et al. Preparation and evaluation of transnasal microemulsion of carbamazepine. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.8, p. 64-70, 2013.
- ACTON, A. **Dermatitis: New Insights for the Healthcare Professional: 2013 Edition**. Atlanta: ScholarlyEditions, 2013.
- ALONSO, I.B. et al. Alopecias. **Medicine**, v. 11, n. 48, p. 2840-51, Feb 2014.
- ANDERSON, R.J.; KUDLACEK, P.E.; CLEMENS, D.L. Sulfation of minoxidil by multiple human cytosolic sulfotransferases. **Chem Biol Interact**, v. 109, n. 1-3, p. 53-67, 1998.
- ARCHER S.L.; RUSCH N. **Potassium channels in cardiovascular biology**. New York: Springer, 2001.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- AZEEM, A. et al. Microemulsions as a surrogate carrier for dermal drug delivery. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 35, n. 5, p. 525-47, May 2009. ISSN 1520-5762.
- BAGWE, R. P. et al. Improved drug delivery using microemulsions: rationale, recent progress, and new horizons. **Crit Rev Ther Drug Carrier Syst**, v. 18, n. 1, p. 77-140, 2001. ISSN 0743-4863.
- BALAKRISHNAN P. et al. Formulation and in vitro assessment of minoxidil niosomes for enhanced skin delivery. **Int J Pharm**, v. 377, n. 1-2, p. 1-8, Jul 2009. ISSN 1873-3476.
- BAROLI, B. et al. Microemulsions for topical delivery of 8-methoxsalen. **J Control Release**, v. 69, n. 1, p. 209-18, Oct 3 2000. ISSN 0168-3659.
- BARROS, L.A. **Dicionário de dermatologia**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009.
- BARROW, G.M. **Físico-química**. 4.ed. Rio de Janeiro: Reverté, 1983.
- BARRY, B.W. Mode of action of penetration enhancers in human skin. **Journal of Controlled Release**. v. 6, n. 1, p. 85-97. Dec 1987.
- BASHEER, H.S.; NOORDIN, M.I.; GHAREEB, M.M. Characterization of microemulsions prepared using isopropyl palmitate with various surfactants and cosurfactants. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research June**. v.12, n. 3, p. 305-310, 2013.
- BIRDI K.S. **Handbook of surface and colloid chemistry**. 4 ed. Boca Raton: CRC Press, 2016.
- BLUME-PEYTAU, U. et al. Follicular and percutaneous penetration pathways of topically applied minoxidil foam. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 76, n. 3, p. 450-3, Nov 2010. ISSN 1873-3441.
- BOLOGNIA J.L. et al. **Dermatology essentials e-book**. China: Elsevier, 2014.
- BOLOGNIA, J.; JORIZZO, J.L.; SCHAFFER J.V. **Dermatologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- BOWCOTT J.E.; SCHULMAN J.H. Emulsions control of droplet size and phase continuity in transparent oil-water dispersions stabilized with soap and alcohol. **Zeitschrift für Elektrochemie**. v. 59, n. 4, p. 283-290, 1955.

- BRUNTON, et al. **Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica**. Porto Alegre: AMGH, 2010.
- BRUNTON, L.L.; CHABNER B.A.; KNOLLMANN B.C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman**. 12 ed. Rio de Janeiro: AMGH, 2012.
- BUMAJDAD, A.; EASTOE, J. Conductivity of water-in-oil microemulsions stabilized by mixed surfactants. **Journal of Colloid and Interface Science**. v. 274, p. 268–276, 2004.
- CHANG, S.H. et al., pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. **Carbohydrate Polymers**. v.134, p. 74-78, 2015.
- CHATTOPADHYAY, A.K.; MITTAL, K.L. **Surfactants in solution**. v. 64. New York: Marcel dekker, 1996.
- CHEN, H. et al. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. **Int J Pharm**. v.315, n.1-2, p.52-58, 2006.
- CONEAC, G. et al. Development and evaluation of new microemulsion-based hydrogel formulations for topical delivery of fluconazole. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 4, p. 889-904, Aug 2015. ISSN 1530-9932.
- CONSOLA, S. et al. Design of original bioactive formulations based on sugar–surfactant/non-steroidal anti-inflammatory cationic self-assemblies: a new way of dermal drug delivery. **Chemistry a European Journal**. v. 13, n. 11, p. 3039-47, Apr 2007.
- COSGROVE, T. **Colloid science: principles methods and applications**. 2.ed. United Kingdom: Wiley, 2010.
- DATE, A. A.; NAGARSENKER, M. S. Parenteral microemulsions: an overview. **Int J Pharm**, v. 355, n. 1-2, p. 19-30, May 1 2008. ISSN 0378-5173.
- DAVIES, G. C. et al. Novel and established potassium channel openers stimulate hair growth in vitro: implications for their modes of action in hair follicles. **J Invest Dermatol**, v. 124, n. 4, p. 686-94, Apr 2005. ISSN 0022-202X.
- DIVYA, A et al. Design, formulation and characterization of tenofovir microemulsion as oral drug delivery. **International Journal of Pharmacy Review & Research**, v. 4, n. 1, p. 1-5, 2014.
- DREHER F. et al. Interaction of a lecithin microemulsion gel with human stratum corneum and its effect on transdermal transport. **Journal of Controlled Release**. v.45, n.2, p. 131-140, Mar 1997.
- EFFENDY, I. MAIBACH, H.I. Surfactants and experimental irritant contact dermatitis. **Contact Dermatitis**, v. 33, n. 4, p.217-25, 1995.
- ESCOBAR-CHÁVEZ, J.J. **Current technologies to increase the transdermal delivery of drugs**. México :Bentham Science Publishers, 2010.
- FANUN, M. **Colloids in biotechnology**. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- FANUN, M. **Microemulsions: properties and applications**. v. 144. Boca Raton: CRC Press, 2008
- FANUN, M. **The role of colloidal systems in environmental protection**. Amsterdam : Elsevier, 2014.
- FIEDLER-WEISS, V. C. Topical minoxidil solution (1% and 5%) in the treatment of alopecia areata. **J Am Acad Dermatol**, v. 16, n. 3 Pt 2, p. 745-8, Mar 1987. ISSN 0190-9622.
- FILBRANDT, R. et al. Primary cicatricial alopecia: diagnosis and treatment. **CMAJ**. v. 185, n.18, p. 1579-85, Dec 2013.
- FLOREY, K. **Analytical Profiles of Drug Substances**. v.17. California: Academic Press, 1988.

FRIEDMAN E.S. et al. Allergic contact dermatitis to topical minoxidil solution: etiology and treatment. **J Am Acad Dermatol**, v. 46, n. 2, p. 309-12, Feb 2002. ISSN 0190-9622.

GARTNER, L.P.; HIATT, J. **Tratado de histologia em cores**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

GAVAZZONI DIAS, M.F.R., DE ALMEIDA, A.M., CECATO, P.M.R., ADRIANO, A.R., PICHLER, J. The Shampoo pH can Affect the Hair: Myth or Reality? **International Journal of Trichology**. v. 6, n. 3, p. 95-99, 2014.

GHOSH , P.K.; MURTHY, R.S.R. Microemulsions: A Potential Drug Delivery System. **Current Drug Delivery**. v. 3, n. 2, p. 167-180, 2006.

GHOSH, P.K.; MAJITHIYA, R.J.; UMRETHIA, M.L.; MURTHY, R.S.R. Design and development of microemulsion drug delivery system of acyclovir for improvement of oral bioavailability. **AAPS PharmSciTech**. v. 7 n.3, 2006.

GIBAUD, S.; ATTIVI, D. Microemulsions for oral administration and their therapeutic applications. **Expert Opin Drug Deliv**, v. 9, n. 8, p. 937-51, Aug 2012. ISSN 1744-7593.

GORDON, K. A.; TOSTI, A. Alopecia: evaluation and treatment. **Clin Cosmet Investig Dermatol**, v. 4, p. 101-6, 2011. ISSN 1178-7015.

GRICE, J. E. et al. Relative uptake of minoxidil into appendages and stratum corneum and permeation through human skin in vitro. **J Pharm Sci**, v. 99, n. 2, p. 712-8, Feb 2010. ISSN 1520-6017.

GROVER C.; KHURANA A. Telogen effluvium. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v. 79, n. 5, p. 591-603, Aug 2013.

GUPTA, S.; MOULIK, S. P. Biocompatible microemulsions and their prospective uses in drug delivery. **J Pharm Sci**, v. 97, n. 1, p. 22-45, Jan 2008. ISSN 0022-3549.

GUSTAFSSON, J. et al. The influence of pH and NaCl on the zeta potential and rheology of anatase dispersions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. v.175, n. 3, p. 349-359, 2000.

GUY, R. H.; HADGRAFT, J.; BUCKS, D. A. Transdermal drug delivery and cutaneous metabolism. **Xenobiotica**, v. 17, n. 3, p. 325-43, Mar 1987. ISSN 0049-8254.

HARRIES, M.J. et al. Management of alopecia areata. **BMJ**. v. 341, c. 3671, 2010.

HIGGINS, E.M.; FULLER, L.C.; SMITH, C.H. Guidelines for the management of tinea capitis. **British Journal of Dermatology**, v. 143, p. 53-58, 2000.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-in-oil dispersions: The oleopathic hydro-micelle. **Nature**, v. 152, n. 3847, p. 102-103, 1943.

HOELLER, S.; KLANG, V.; VALENTA, C. Skin-compatible lecithin drug delivery systems for fluconazole: effect of phosphatidylethanolamine and oleic acid on skin permeation. **J Pharm Pharmacol**, v. 60, n. 5, p. 587-91, May 2008. ISSN 0022-3573.

HUA, L. et al. Preparation, evaluation, and NMR characterization of vinpocetine microemulsion for transdermal delivery. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 30, n. 6, p. 657-66, Jul 2004. ISSN 0363-9045.

HUANG, Y. B. et al. Transdermal delivery of capsaicin derivative-sodium nonivamide acetate using microemulsions as vehicles. **Int J Pharm**, v. 349, n. 1-2, p. 206-11, Feb 12 2008. ISSN 0378-5173.

HUNT, N.; MCHALE, S. The psychological impact of alopecia. **BMJ**, v. 331, n. 7522, p. 951-3, Oct 22 2005. ISSN 1756-1833.

HYMA, P.; CHANDRA, A.; LAHARIKA. Formulation and characterization of novel microemulsions of telmisartan. **IJPBS**. v. 3, n. 3, p. 162-171, 2013.

ISRAELACHVILI, J. **Intermolecular and surface forces**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1991.

JAIPAKDEE, N.; LIMPONGSA, E.; PONGJANYAKUL, T. Optimization of minoxidil microemulsions using fractional factorial design approach. **Pharm Dev Technol**, v. 21, n. 1, p. 86-97, 2016. ISSN 1097-9867.

JAISWAL, M.; DUDHE, R.; SHARMA P.K. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. **Biotech**, v. 5, n. 2, p. 123–127, Apr 2015.

JOHNSON, JR W. et al. Safety assessment of 1,2-glycols as used in cosmetics. **International journal of toxicology**, v. 21, supplement 2, p. 147S-168S, 2012.

JUNYAPRASERT, V. B. et al. Aerosol OT microemulsions as carriers for transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic local anesthetics. **Drug Deliv**, v. 15, n. 5, p. 323-30, Jun 2008. ISSN 1521-0464.

KADUNC et al. **Tratado de cirurgia dermatológica, cosmiatria e laser: da Sociedade Brasileira de Dermatologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

KAMINER, M.S. et al. **Atlas of Cosmetic Surgery**. 2.ed. China: Elsevier – Saunders, 2009.

KANTARCI, G. et al. Comparison of different water/oil microemulsions containing diclofenac sodium: preparation, characterization, release rate, and skin irritation studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 4, p. E91, 2007. ISSN 1530-9932.

KATIKANENI, R. et al. Therapy for alopecia areata in mice using parathyroid hormone agonists and antagonists, linked to a collagen-binding domain. **J Invest Dermatol Symp Proc**, v. 16, n. 1, p. S61-2, Dec 2013. ISSN 1529-1774.

KATSAMBAS A. et al. **European handbook of dermatological treatments**. 3.ed. Berlin - New York: Springer, 2015.

KOGAN, A.; GARTI, N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. **Advances in Colloid and Interface Science**. v.123–126, p. 369–385, Nov 2006.

KOO, J. Y. et al. Alopecia areata and increased prevalence of psychiatric disorders. **Int J Dermatol**, v. 33, n. 12, p. 849-50, Dec 1994. ISSN 0011-9059.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 54 Suppl 1, p. S77-98, Nov 1 2002. ISSN 0169-409X.

KREILGAARD, M.; PEDERSEN, E. J.; JAROSZEWSKI, J. W. NMR characterisation and transdermal drug delivery potential of microemulsion systems. **J Control Release**, v. 69, n. 3, p. 421-33, Dec 3 2000. ISSN 0168-3659.

KRSTIC, R.V. **Human Microscopic Anatomy: An Atlas for Students of Medicine and Biology**. Berlin: Springer Science & Business Media, 1991.

KULSHRESHTHA, A.K; SINGH O.N.; WALL G.M. **Pharmaceutical suspensions: from formulation development to manufacturing**. AAPS : New York, 2010.

KUMAR, P.; MITTAL K.L. **Handbook of Microemulsion Science and Technology**. New York: Marcel dekker, 1999.

LACHENMEIER, D.W. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. **J Occup Med Toxicol**. v.3, n.26, 2008.

LACHMAN, L. LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouse Gulben Kian, 2001.

LADEMANN, J. et al. Hair follicles--an efficient storage and penetration pathway for topically applied substances. Summary of recent results obtained at the Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, Charite -Universitätsmedizin Berlin, Germany. **Skin Pharmacol Physiol**, v. 21, n. 3, p. 150-5, 2008. ISSN 1660-5535.

LANE, M. E. Skin penetration enhancers. **Int J Pharm**, v. 447, n. 1-2, p. 12-21, Apr 15 2013. ISSN 1873-3476.

LAWRENCE, M. J. Surfactant systems: microemulsions and vesicles as vehicles for drug delivery. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet**, v. 19, n. 3, p. 257-69, Jul-Sep 1994. ISSN 0378-7966.

LAWRENCE, M.J.; REES, D.G. Microemulsions-based as novel drug delivery systems. **Adv. Drug Del. Rev.** v. 45, p. 89-121, 2000.

LEE, E. et al. The influence of alkane chain length on the skin irritation potential of 1,2-alkanediols. **International Journal of Cosmetic Science**. v. 33, p. 421-425, 2011.

LEHMANN, L.; KEIPERT, S.; GLOOR, M. Effects of microemulsions on the stratum corneum and hydrocortisone penetration. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 52, n. 2, p. 129-36, Sep 2001. ISSN 0939-6411.

LIU, R. **Water-insoluble drug formulation**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2008.

LIU, X. et al. Hair follicles contribute significantly to penetration through human skin only at times soon after application as a solvent deposited solid in man. **Br J Clin Pharmacol**, v. 72, n. 5, p. 768-74, Nov 2011. ISSN 1365-2125.

LOPEDOTA, A. et al. New ethanol and propylene glycol free gel formulations containing a minoxidil-methyl-beta-cyclodextrin complex as promising tools for alopecia treatment. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 41, n. 5, p. 728-36, May 2015. ISSN 1520-5762.

LOPES, L. B. et al. Topical delivery of lycopene using microemulsions: enhanced skin penetration and tissue antioxidant activity. **J Pharm Sci**, v. 99, n. 3, p. 1346-57, Mar 2010. ISSN 1520-6017.

LOPES, L.B. Overcoming the Cutaneous Barrier with Microemulsions. **Pharmaceutics**. v. 6, p. 52-77, Feb 2014. ISSN 1999-4923.

MACDONALD HULL, S. P. et al. Guidelines for the management of alopecia areata. **Br J Dermatol**, v. 149, n. 4, p. 692-9, Oct 2003. ISSN 0007-0963.

MADHURA, B. Formulation design and evaluation of self micro emulsifying drug delivery system of ciprofloxacin. **IJPRBS**, v. 2, n. 1, p. 29-53, 2013.

MALCOLMSON C.; LAWRENCE M.J. Three-component non-ionic oil-in-water microemulsions using polyoxyethylene ether surfactants. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 4, n. 2, p. 97-109, Mar 1995.

MALIK, M.A.; WANI, M.Y.; HASHIM, M.A. Microemulsion method: A novel route to synthesize organic and inorganic nanomaterials. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 397-417, Oct 2012.

MALKUD, S. Telogen Effluvium: A Review. **J Clin Diagn Res**, v. 9, n. 9, p. WE01-3, Sep 2015. ISSN 2249-782X.

MASON T.G. et al. **Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties**. J. Phys.: Condens. Matter, v. 18, n. 41, p. 635-666, 2006.

MCGARVEY, E. L. et al. Psychological sequelae and alopecia among women with cancer. **Cancer Pract**, v. 9, n. 6, p. 283-9, Nov-Dec 2001. ISSN 1065-4704.
MedChemComm. v. 11, 2014.

MEHTA R. Topical and transdermal drug delivery: What a pharmacist needs to know. Disponível em: <<http://www.inetce.com/articles/pdf/221-146-04-054-h01.pdf>>. Acesso em: 5 mai 2016.

MESSENGER, A. G.; RUNDEGREN, J. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. **Br J Dermatol**, v. 150, n. 2, p. 186-94, Feb 2004. ISSN 0007-0963.

MISHRA, M. **Handbook of encapsulation and controlled realese**. Boca Raton: CRC Press, 2016.

MOGHIMIPOUR, E; SALIMI, A; EFTEKHARI, S. Design and characterization of microemulsion systems for naproxen. **Adv Pharm Bull**, v. 3, n. 1 p. 63-71, 2013.

MURA, S. et al. Liposomes and niosomes as potential carriers for dermal delivery of minoxidil. **J Drug Target**, v. 15, n. 2, p. 101-8, Feb 2007. ISSN 1061-186X.

NELIGAN, P.C; GURTNER, G.C. Plastic surgery: Principles. 3 ed. v. 1. New York: Elsevier Saunders, 2013.

NEMICHAND, S.K.; LAXMAN, S.D. Solubility Enhancement of Nebivolol by Micro Emulsion Technique. **J Young Pharm**, v. 8, n. 4, p. 356-367, 2016.

NORWOOD, O. T. Incidence of female androgenetic alopecia (female pattern alopecia). **Dermatol Surg**, v. 27, n. 1, p. 53-4, Jan 2001. ISSN 1076-0512.

OKUR, N.U. et al. Preparation and evaluation of novel microemulsion-based hydrogels for dermal delivery of benzocaine. **Pharm Dev Technol**. p.1-11, 2016.

OLDFIELD, C. Enzymes in water-in-oil microemulsions ('reversed micelles'): principles and applications. **Biotechnology and Genetic Engineering reviews**. v. 12. Dec 1994.

OLSEN, E. A.; WEINER, M. S. Topical minoxidil in male pattern baldness: effects of discontinuation of treatment. **J Am Acad Dermatol**, v. 17, n. 1, p. 97-101, Jul 1987. ISSN 0190-9622.

OTBERG, N.; FINNER, A. M.; SHAPIRO, J. Androgenetic alopecia. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 36, n. 2, p. 379-98, Jun 2007. ISSN 0889-8529.

PABST G. et al. **Liposomes, Lipid Bilayers and Model Membranes: From Basic Research to application**. Boca Raton: CRC Press, 2014.

PADOIS, K. et al. Solid lipid nanoparticles suspension versus commercial solutions for dermal delivery of minoxidil. **Int J Pharm**, v. 416, n. 1, p. 300-4, Sep 15 2011. ISSN 1873-3476.

PARKER, G.A.; PICUT C.A. **Atlas of Histology of the Juvenile Rat**. Chennai: Elsevier Science, 2016.

PATEL, R.B., PATEL, M.R, BHATT, K.K. PATEL, B.G. Formulation consideration and characterization of microemulsion drug delivery system for transnasal administration of carbamazepine. **Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University**. v. 51, p. 243–253, 2013.

PATEL, Z. B. et al. Preparation and optimization of microemulsion of rosuvastatin calcium. **J Pharm Bioallied Sci**, v. 4, n. Suppl 1, p. S118-9, Mar 2012. ISSN 0975-7406.

PATEL, Z. B., PATEL, K.S.; SHAH, A.S.; SURTI, N.I. Preparation and optimization of microemulsion of rosuvastatin calcium. **J Pharm Bioallied Sci**. 4(Suppl 1): S118-119, 2012.

PATTERSON, J.W. **Weedon's skin pathology**. 4 ed. China: Elsevier, 2016.

PAUL, B.K.; MOULIK, S.P. Uses and applications of microemulsion. **Current Science**. v. 80, n. 8, Apr, 2001.

PEIRA, E.; SCOLARI, P.; GASCO, M.R. Transdermal permeation of apomorphine through hairless mouse skin from microemulsions. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 226, n. 1–2, p. 47–51, Sep 2001.

PELTOLA, S. et al. Microemulsions for topical delivery of estradiol. **Int J Pharm**, v. 254, n. 2, p. 99-107, Mar 26 2003. ISSN 0378-5173.

- PHILLIPS, J. H., 3RD; SMITH, S. L.; STORER, J. S. Hair loss. Common congenital and acquired causes. **Postgrad Med**, v. 79, n. 5, p. 207-15, Apr 1986. ISSN 0032-5481.
- PORECHA, S.; SHAH, T.; JOGANI, V.; NAIK, S.; MISRA, A. Microemulsion based intranasal delivery system for treatment of insomnia. **Drug Deliv.** v. 16, n. 3, p. 128-34, 2009.
- PRAUSNITZ, M.R., et al. Skin barrier and transdermal drug delivery. Em: BOLOGNIA, J.L.; JORIZZO, J.L.; SCHAFFER, J.V. **Dermatology**. 3 ed. London: Elsevier Saunders, 2012.
- PRICE, V. H. Treatment of hair loss. **N Engl J Med**, v. 341, n. 13, p. 964-73, Sep 1999. ISSN 0028-4793.
- PRINCE, L.M. **Microemulsions : theory and practice**. New York: Academic Press, 1977.
- PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 4 ed. v. 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992.
- PURNAK, T.; SENEL, E.; SAHIN, C. Liquid formulation of minoxidil versus its foam formulation. **Indian J Dermatol**, v. 56, n. 4, p. 462, Jul 2011. ISSN 1998-3611.
- PUROHIT, A.G., Formulation and evaluation of coated microneedles for the treatment of hairloss. **IJRRPAS**, v. 4, n. 2, p. 1083-1101, 2014.
- QI, J.; GARZA, L. A. An overview of alopecias. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 4, n. 3, Mar 2014. ISSN 2157-1422.
- RANADE, V.V.; CANNON, J.B. **Drug delivery systems**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- REDDY, M.S.; MUTALIK, S.; RAO, G.V. Preparation and evaluation of minoxidil gels for topical application in alopecia. **Indian jornal of pharmaceutical sciences**, v. 68, n. 4, p. 432-36, 2006.
- RHODES, T. et al. Prevalence of male pattern hair loss in 18-49 year old men. **Dermatol Surg**, v. 24, n. 12, p. 1330-2, Dec 1998. ISSN 1076-0512.
- ROGERS, N. E.; AVRAM, M. R. Medical treatments for male and female pattern hair loss. **J Am Acad Dermatol**, v. 59, n. 4, p. 547-66; quiz 567-8, Oct 2008. ISSN 1097-6787.
- ROMSTED L.S. **Surfactant science and technology: retrospects and prospects**. CRC Press, 2014.
- ROSA, A.A.A.; SOARES, J.L.M.F.; BARROS, E. **Sintomas e sinais na prática médica: consulta rápida**. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- ROSSI et al. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Rev. Univ. Rural. Ser. Ci. Exatas e da Terra**. vol. 26, n. 1-2, p. 45-66, 2007.
- SABALE, V.; VORA, S. Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**. v. 2, n. 3, p. 140-149, 2012.
- SAFAVI, K. Prevalence of alopecia areata in the First National Health and Nutrition Examination Survey. **Arch Dermatol**, v. 128, n. 5, p. 702, May 1992. ISSN 0003-987X.
- SAHOO, S.; PANI, N.R.; SAHOO, S.K. Microemulsion based topical hydrogel of sertaconazole: formulation, characterization and evaluation. **Colloids Surf B Biointerfaces**. v.120, p 193-9, 2014.
- SAKR, F. M. et al. Preparation and evaluation of a multimodal minoxidil microemulsion versus minoxidil alone in the treatment of androgenic alopecia of mixed etiology: a pilot study. **Drug Des Devel Ther**, v. 7, p. 413-23, 2013. ISSN 1177-8881.
- SALIM, M. et al. Amphiphilic designer nano-carriers for controlled release: from drug delivery to diagnostics.
- SANTOS, P. et al. Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. **Skin Pharmacol Physiol**, v. 21, n. 5, p. 246-59, 2008. ISSN 1660-5535.

SARCIAUX, J.M.; ACAR, L.; SADO, P.A. Using microemulsion formulations for oral drug delivery of therapeutic peptides. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 120, n. 2, p. 127–136. Jun 1995.

SCHACHNER, L.A.; HANSEN R.C. **Pediatric Dermatology**. 4.ed. China: Mosby, Elsevier, 2011.

SCHULMAN, J. H.; MONTAGNE, J. B. Formation of microemulsions by amino alkyl alcohols. **Ann N Y Acad Sci**, v. 92, p. 366-71, Jun 17 1961. ISSN 0077-8923.

SHAH, R. R. et al. Preparation and Evaluation of Aceclofenac Topical Microemulsion. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research** . v.9, n. 1, p. 5-11, 2010.

SHAH, V.P.; MAIBACH, H.I. **Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration**. New York: Plenum Press, 1993.

SHAHU, S.G.; WADEWAR, R.N.; DIXIT, G.R. Development of Microemulsion for Solubility Enhancement of Poorly Water Soluble Drug Valsartan. **Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.** v. 22, n. 45, p. 246-251, 2013.

SHAPIRO, J. Current treatment of alopecia areata. **J Investig Dermatol Symp Proc**, v. 16, n. 1, p. S42-4, Dec 2013. ISSN 1529-1774.

SHATALEBI, M. A.; RAFIEI, Y. Preparation and evaluation of minoxidil foamable emu oil emulsion. **Res Pharm Sci**, v. 9, n. 2, p. 123-33, Mar-Apr 2014. ISSN 1735-5362.

SHEARMAN, G. C. et al. Inverse lyotropic phases of lipids and membrane curvature. **J Phys Condens Matter**, v. 18, n. 28, p. S1105-24, Jul 19 2006. ISSN 0953-8984.

SHORTER, K. et al. Human hair follicles contain two forms of ATP-sensitive potassium channels, only one of which is sensitive to minoxidil. **FASEB J**, v. 22, n. 6, p. 1725-36, Jun 2008. ISSN 1530-6860.

SINGH, M. et al. A new perspective for the treatment of dandruff & associated alopecia with emulsion based gel containing ketoconazole and minoxidil. **IJPSR**, v. 7, n. 9, p. 3899-3906, 2016.

SMITH, W.F.; HASHEMI, J. **Fundamentos de engenharia e ciência dos materiais**. 5.ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

SOLANS, C.; KUNIEDA, H. **Industrial applications of microemulsions**. v.66, New York: Marcell dekker, 1997.

SPERLING, L.C.; LUPTON, G.P. Histopathology of non-scarring alopecia. **Journal of Cutaneous Pathology**, v. 22, n. 2, p. 97–114, Apr 1995. ISSN 0303-6987.

SPRINGER, K.; BROWN, M.; STULBERG, D. L. Common hair loss disorders. **Am Fam Physician**, v. 68, n. 1, p. 93-102, Jul 2003. ISSN 0002-838X.

STANDRING, S. **GRAY'S Anatomia: A base anatômica da prática clínica**. 40 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

STRICKLEY, R. G. Solubilizing excipients in oral and injectable formulations. **Pharm Res**, v. 21, n. 2, p. 201-30, Feb 2004. ISSN 0724-8741.

SUNITHA, S. et al. Design and evaluation of hydrogel-thickened microemulsion for topical delivery of minoxidil. **Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 4, p. 1-14, 2013.

SUPPASANSATORN, P. et al. Microemulsions as topical delivery vehicles for the anti-melanoma prodrug, temozolomide hexyl ester (TMZA-HE). **J Pharm Pharmacol**, v. 59, n. 6, p. 787-94, Jun 2007. ISSN 0022-3573.

SZYMANSKI, A. Determination of Sulfonamide Residues in Food by Micellar Liquid Chromatography. **Toxicol Mech Methods**, v. 18, n. 6, p. 473-481, Jul 2008. ISSN 1537-6524.

TADROS T. Applied surfactants: principles and applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

TADROS, T.F. **Emulsions: formation, stability, industrial applications**. Boca Raton: de Gruyter, 2016.

TALEGAONKAR, S. et al. Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery. **Recent Pat Drug Deliv Formul**, v. 2, n. 3, p. 238-57, 2008. ISSN 2212-4039.

TATA, S.; WEINER, N.; FLYNN, G. Relative influence of ethanol and propylene glycol cosolvents on deposition of minoxidil into the skin. **J Pharm Sci**, v. 83, n. 10, p. 1508-10, Oct 1994. ISSN 0022-3549.

THAKKAR, H; NANGESH, J; PARMAR, M; PATEL, D. Formulation and characterization of lipid-based drug delivery system of raloxifene-microemulsion and self-microemulsifying drug delivery system. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**. v. 3, n. 3, p. 442-448, 2011.

TORCHILIN, V.P. **Nanoparticulates as drug carriers**. London: Imperial College Press, 2006.

TOSTI, A.; CAMACHO-MARTINEZ, F.; DAWBER, R. Management of androgenetic alopecia. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 12, n. 3, p. 205-14, May 1999. ISSN 0926-9959.

TROMMER, H.; NEUBERT, R.H.H. Overcoming the Stratum Corneum: The Modulation of Skin Penetration A review. **Skin Pharmacol Physiol**. v. 19, n. 2, p. 106–121, 2006.

TROTТА M.; GASCO, M.R.; MOREL S. Release of drugs from oil-water microemulsions. **Journal of Controlled Release**. v. 10, n. 3, p. 237-43, Dec 1989.

TROTТА, M. et al. Influence of ion pairing on topical delivery of retinoic acid from microemulsions. **J Control Release**, v. 86, n. 2-3, p. 315-21, Jan 17 2003. ISSN 0168-3659.

TRUEB, R.M.; LEE, W.O. **Male alopecia: guide to successful management**. Switzerland: Springer, 2014.

UEDA, C.T. et al. Topical and Transdermal Drug Products. **Pharmaceutial Forum**. v. 35, n. 3, p. 750- 764, 2009.

UNDCP. **Guidelines for testing under international control in hair, sweat and saliva**. New York: United Nations, 2001.

VANDAMME, T. F. Microemulsions as ocular drug delivery systems: recent developments and future challenges. **Prog Retin Eye Res**, v. 21, n. 1, p. 15-34, Jan 2002. ISSN 1350-9462.

WARISNOICHAROEN, W.; LANSLEY, A. B.; LAWRENCE, M. J. Nonionic oil-in-water microemulsions: the effect of oil type on phase behaviour. **Int J Pharm**, v. 198, n. 1, p. 7-27, Mar 30 2000. ISSN 0378-5173.

WASAN, D.; GINN, M.E.; SHAH D.O. **Surfactants in chemical/ process engineering**. v.28. New York: Marcel dekker, 1988.

WASSERMAN, D. et al. Alopecia areata. **Int J Dermatol**, v. 46, n. 2, p. 121-31, Feb 2007. ISSN 0011-9059.

WESTER, R. C. et al. Minoxidil stimulates cutaneous blood flow in human balding scalps: pharmacodynamics measured by laser Doppler velocimetry and photopulse plethysmography. **J Invest Dermatol**, v. 82, n. 5, p. 515-7, May 1984. ISSN 0022-202X.

WINSOR, P.A. Hidrotody, solubilization, and related emulsification processes. **J. Chem. Trans. Faraday Soc.**, London, v. 44, n. 1, p. 376-398, 1948.

WOLFF, K.; JOHNSON, R.A.; SAAVEDRA, A.P. **Dermatologia de Fitzpatrick**. 7.ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.

ZENG, Z. et al. Preparation, characterization and relative bioavailability of oral elemene o/w microemulsion. **Int J Nanomedicine**, v. 5, p. 567-72, 2010. ISSN 1178-2013.

ZHU, W. et al. Microemulsion-based hydrogel formulation of penciclovir for topical delivery. **Int J Pharm**, v. 378, n. 1-2, p. 152-8, Aug 13 2009. ISSN 1873-3476.

ZHU, Y. et al. In vitro and in vivo evaluation of capsaicin-loaded microemulsion for enhanced oral bioavailability. **J Sci Food Agric**. v. 95, n. 13, p. 2678-85, 2015.