



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

MARIA DA GLÓRIA BATISTA DE AZEVEDO

**ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DO CETOCONAZOL POR MICROEMULSÃO
PARA INCORPORAÇÃO EM XAMPU**

CUITÉ / PB

2012

MARIA DA GLÓRIA BATISTA DE AZEVEDO

**ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DO CETOCONAZOL POR MICROEMULSÃO
PARA INCORPORAÇÃO EM XAMPU**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG/CES como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Juliana de Souza Alencar Falcão

CUITÉ / PB

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

A994e Azevedo, Maria da Glória Batista de.

Estudo da solubilização do cetoconazol por microemulsão para incorporação em xampu. / Maria da Glória Batista de Azevedo – Cuité: CES, 2012.

71 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2012.

Orientadora: Juliana de Souza Alencar Falcão.

1. Farmácia. 2. Cetoconazol. 3. Microemulsões. 4. Diagrama pseudoternário. 5. Xampu microemulsionado. I. Título.

CDU 615.1

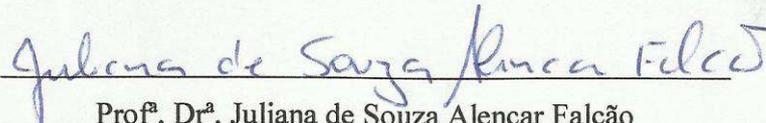
MARIA DA GLÓRIA BATISTA DE AZEVEDO

**ESTUDO DA SOLUBILIZAÇÃO DO CETOCONAZOL POR MICROEMULSÃO
PARA INCORPORAÇÃO EM XAMPU**

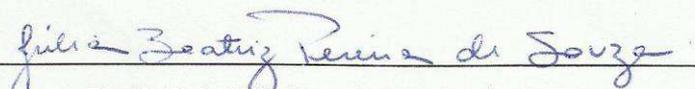
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 04 de Maio de 2012

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a. Dr.^a. Juliana de Souza Alencar Falcão

(Orientadora/UAS/CES/UFCG)


Prof.^a. Dr.^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza

(Examinadora interna/UAS/CES/UFCG)

Prof. Dr. Marciano Henrique de Lucena Neto

(Examinador interno/UAS/CES/UFCG)

Dedico este trabalho a Deus que esteve comigo em todas as horas, sendo o meu maior refúgio. À minha família que durante toda a minha vida, esteve ao meu lado em todos os momentos, acreditando sempre no meu potencial. À minha FILHA, que mesmo diante de minhas ausências foi minha grande incentivadora. Dedico a ti esta conquista!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos. Minha mãe Paulina e minhas irmãs Vitória e Elionete que sempre estiveram ao meu lado, acreditando que o meu sonho era possível. Ao meu pai Plácido (*in memoriam*) que com sua simplicidade me ensinou que a dignidade deve estar sempre presente em nossa vida. A vocês, meu eterno amor e gratidão.

À minha querida filha Gabriella, meu maior estímulo, que precisou conviver com minhas ausências, mas sempre me premiou com seu sorriso e carinho. Ao meu companheiro, Marcus, que igualmente me apoiou em todos os instantes. Grata pela compreensão e paciência.

À tia Socorro, Damião, Renata, Marcela, Ângela e Múcio, pelo apoio em todas as horas e pelo suporte que me proporcionaram.

À Prof^ª. Dr^ª. Juliana de Souza Alencar Falcão pela paciência, orientação dedicada e confiança, sobretudo, pelos ensinamentos transmitidos.

À Prof^ª. Dr^ª. Júlia Beatriz Pereira de Souza pelo carinho, incentivo e importante colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marciano Henrique de Lucena Neto pela bondade e pelos preciosos esclarecimentos prestados.

Aos professores do curso de Farmácia, com os quais eu tive o privilégio de conviver, obrigada pela atenção a mim dispensada.

Aos meus amigos Daisy Daiane, Hellyson Fidel, Magna Tavares, Paula Nascimento e Rosalina Jácome pela amizade, aconselhamentos e ajuda valiosa durante minha graduação. Toda a minha gratidão.

As minhas companheiras de laboratório, pela amizade, paciência e auxílios prestados, em especial, Cida Almeida e Juciara Alves.

E a todos que contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

“O farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe unguentos úteis à saúde, e seu trabalho não terminará...”

RESUMO

As infecções micóticas que afetam os humanos apresentam-se fundamentalmente como micoses superficiais e micoses sistêmicas. As micoses superficiais, por sua vez, podem manifestar-se em várias regiões do corpo, inclusive no couro cabeludo, onde a caspa e dermatite seborréica, relacionadas ao fungo *Malassezia furfur*, estão entre as mais prevalentes. Dentre os fármacos utilizados para o tratamento, destaca-se o cetoconazol, derivado imidazólico que atua inibindo a biossíntese do ergosterol, exercendo ação fungicida. Os xampus de cetoconazol estão entre as formas farmacêuticas mais utilizadas para tratar tais infecções. Os avanços da tecnologia farmacêutica têm produzido inovadores sistemas carreadores de fármacos visando incrementos na liberação, distribuição e/ou dissolução de princípios ativos, dentre eles, destacam-se as microemulsões, que são sistemas líquidos transparentes e termodinamicamente estáveis de dois líquidos imiscíveis estabilizados por agentes tensoativos e cotensoativos. Este trabalho foi focado no estudo da solubilização do cetoconazol por microemulsão para incorporação em xampu. A metodologia empregada para preparo dos sistemas microemulsionados e construção do diagrama de fases pseudoternário consistiu em utilizar 90% da mistura tensoativo/cotenoativo PEG 400/Etanol, 4% de óleo de soja como fase oleosa e 6% de água destilada como fase aquosa. Formulações de xampu base, xampu base com cetoconazol e xampu microemulsionado com cetoconazol foram manipuladas e avaliadas quanto as características organolépticas, pH e viscosidade, apresentando resultados satisfatórios quanto a estes parâmetros. A determinação da taxa de recuperação do ativo no xampu base e a taxa de incorporação do cetoconazol nas microemulsões e xampu microemulsionado foi realizada em espectrofotometria UV-Vis, sendo a metodologia devidamente validada. Verificou-se uma taxa de incorporação de cetoconazol nas microemulsões de 82% e no xampu microemulsionado de 95%, enquanto o xampu base com cetoconazol apresentou um percentual do ativo de 63%. Os sistemas microemulsionados mostraram-se, portanto, eficazes na solubilização do princípio ativo cetoconazol.

Palavras-chave: Cetoconazol. Microemulsões. Diagrama pseudoternário. Xampu microemulsionado.

ABSTRACT

Mycotic infections affecting humans present themselves primarily as superficial mycoses and systemic mycoses. Superficial mycoses in turn, can manifest itself in various parts of the body, including the scalp, dandruff and seborrheic dermatitis, related to the fungus *Malassezia furfur*, are among the most prevalent. Among the drugs used to treat, there is ketoconazole, a imidazole derivative that acts by inhibiting ergosterol biosynthesis, exerting a fungicide. The ketoconazole shampoos are among the most dosage forms used to treat such infections. Advances in technology have produced innovative pharmaceutical drug carrier systems in order to increment release, distribution and/or dissolution of active principles, among which stands out the Microemulsions, systems that are transparent and thermodynamically stable liquid of two immiscible liquids stabilized by agents surfactants and co-surfactants. This work was focused on study of the solubility of ketoconazole microemulsions for incorporation into shampoo. The methodology used for the microemulsion systems and construction of the pseudo-ternary phase diagram consisted of using 90% of the surfactant mixture PEG 400/Ethanol cosurfactant, 4% soybean oil as the oil phase and 6% distilled water as the aqueous phase. Shampoo base formulations, shampoo base with ketoconazole and ketoconazole microemulsion shampoo were manipulated and evaluated for sensory characteristics, pH and viscosity, satisfactory results for these parameters. The active shampoo base determination and the incorporation rate of ketoconazole shampoo in the microemulsions and microemulsion was performed in UV-Vis spectrophotometry methodology being properly validated. It is an incorporation rate of ketoconazole in the microemulsions of 82% and 95% microemulsion shampoo, the shampoo base as ketoconazole had a percentage of 63% active. The microemulsion systems shown, therefore, effective in solubilizing the active ingredient ketoconazole.

Keywords: Ketoconazole. Microemulsions. Diagram pseudo-ternary. Shampoo microemulsion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Núcleo imidazol do cetoconazol.....	19
Figura 2 – Representação de heterociclos aromáticos azóicos: imidazol (A) e triazol (B)	19
Figura 3 – Estrutura química do cetoconazol (CAS 65277-42-1).....	20
Figura 4 – Esquema ilustrativo de uma molécula de tensoativo.....	23
Figura 5 – Estrutura de microemulsão direta (O/A), inversa (A/O) e bicontínua.....	28
Figura 6 – Estruturas de microemulsão em um diagrama pseudoternário.....	28
Figura 7 – Diagramas de fases. (a) Titulação com fase aquosa; (b) representação dos pontos de titulação e regiões do diagrama de fases	29
Figura 8 – Diagrama ternário e pseudoternário. (a) representação de diagrama ternário, (b) representação de diagrama pseudoternário em 3 dimensões e (c) representação de diagrama pseudoternário em 2 dimensões.....	31
Figura 9 – Classificação de Winsor para sistemas microemulsionados	32
Figura 10 – Esquema representativo do teste de solubilidade do cetoconazol do presente estudo	43
Figura 11 – Espectro de varredura do cetoconazol ($\lambda = 266$ nm) a $150 \mu\text{g/mL}$ em MeOH	49
Figura 12 – Curva padrão de soluções de cetoconazol obtida por espectrofotometria UV-Vis a 266 nm ($n=3$).	50
Figura 13 – Diagrama de fase pseudoternário para o sistema Etanol/PEG 400 (C/T = 0,30 0,235:0,765), óleo de soja e água destilada.....	54
Figura 14 – Representação da classificação de Winsor, concebidos respectivamente por Winsor I (A), Winsor II (B), Winsor III (C) e Winsor IV (D)	55
Figura 15 – Formulações de xampu desenvolvidas: 1 – Xampu base; 2 – Xampu base com cetoconazol 2% p/v; 3 – Xampu microemulsionado com cetoconazol 2% p/v	56

LISTA DE TABELAS

Tabela I – Proporção dos constituintes para construção do diagrama de fases	44
Tabela II – Composição do xampu base e xampu base com cetoconazol 2% p/v	45
Tabela III – Resultados da exatidão para diferentes concentrações de cetoconazol em espectrofotometria UV-Vis.	51
Tabela IV – Valores experimentais obtidos para o ensaio de repetibilidade para a quantificação do cetoconazol por espectrofotometria UV-Vis.....	51
Tabela V – Análise da robustez do método de dosagem do cetoconazol em espectrofotometria UV-Vis.	52
Tabela VI – Componentes e proporções utilizadas para preparo das MEs do presente estudo.....	55
Tabela VII – Valores de pH das amostras de xampu pesquisadas.	57
Tabela VIII – Resultados da viscosidade das amostras analisadas.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2D	Duas dimensões
A/O	Água em óleo
Ac.	Ácido
A _{MEC}	Absorbância da Microemulsão com cetoconazol
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
A _{SAC}	Absorbância da solução aquosa acidificada com cetoconazol
A _{SMC}	Absorbância da solução metanólica de cetoconazol
A _{XBC}	Absorbância do xampu base com cetoconazol
A _{XMC}	Absorbância do xampu microemulsionado com cetoconazol
BHL	Balanco hidrófilo-lipófilo
C/T	Cotensoativo/tensoativo
CAS	Chemical Abstracts Service
C	Cotensoativo
cP	Centipoise
CV	Coefficiente de variância
DCB	Denominação comum brasileira
DL ₅₀	Dose letal 50%
DP	Desvio Padrão
DP _a	Desvio padrão do intercepto com o eixo do Y da curva de calibração
EDTA	Etileno Diamino Tetra Acético
FA	Fase Aquosa
FO	Fase Oleosa
h	Hora
Hi	Número de grupo hidrofílico
hw	Peso de grupo hidrofílico
IC	Inclinação da curva de calibração
kg	Quilograma
LD	Limite de detecção
LESS	Lauril Éter Sulfato de Sódio
Li	Número de grupo lipofílico
LQ	Limite de quantificação
lw	Peso de grupo lipofílico

ME	Microemulsão
MEs	Microemulsões
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
MT	Mistura tensoativa
n	Número de repetições
nm	Nanômetros
O/A	Óleo em água
p	Significância estatística
p/v	Peso/volume
PEG 400	Polietilenoglicol 400
pH	Potencial de hidrogeniônico
P _{ow}	Coefficiente de partição octanol-água
PVC	Cloreto de polivinila
q.s.p	Quantidade suficiente para
r	Coefficiente de correlação
rpm	Rotações por minuto
T	Tensoativo
UV-Vis	Ultravioleta visível
WI	Winsor I
WII	Winsor II
WIII	Winsor III
WIV	Winsor IV
X	Concentração em µg/mL
y	Absorbância do espectro
µg	Microgramas
µm	Micrômetros

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
γ_i	Tensão interfacial
π	Pressão bidimensional
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
<	Menor que
®	Marca registrada
λ	Comprimento de onda
\geq	Maior ou igual
\pm	Mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 PATOLOGIAS FÚNGICAS	18
2.2 CETOCONAZOL	19
2.2.1 Atividade terapêutica e toxicidade	20
2.2.2 Formas cosmética	22
2.2.3 Estabilidade	22
2.3 TENSOATIVOS	23
2.3.1 Classificação dos tensoativos	23
2.3.1.1 Tensoativos aniônicos	24
2.3.1.2 Tensoativos catiônicos.....	24
2.3.1.3 Tensoativos não-iônicos	24
2.3.1.4 Tensoativos anfóteros.....	24
2.4 MICROEMULSÕES	25
2.4.1 Teoria de formação das microemulsões	26
2.4.1.1 Teoria da solubilização	26
2.4.1.2 Teoria da tensão interfacial.....	26
2.4.1.3 Teoria da termodinâmica	27
2.4.2 Estrutura das microemulsões	27
2.4.3 Diagrama de fases	29
2.4.3.1 Sistemas ternários.....	30
2.4.3.2 Sistemas Pseudoternários.....	31
2.4.4 Sistemas de Winsor	32
2.4.5 Parâmetros que influenciam as microemulsões	33
2.4.5.1 Influência do tensoativo.....	33
2.4.5.2 Influência da temperatura	34
2.4.5.3 Natureza do composto apolar.....	34
2.4.5.4 Natureza da salinidade.....	34
2.4.5.5 Influência da razão tensoativo/cotensoativo	35
2.4.5.6 Natureza e concentração do cotensoativo	35
2.4.6 Balanço hidrófilo-lipófilo (BHL)	35
2.4.7 Caracterização das microemulsões	37

2.4.7.1 Viscosidade	37
3 OBJETIVOS	39
3.1 OBJETIVO GERAL	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1 MATERIAL	40
4.1.1 Matérias-primas	40
4.1.2 Equipamentos e Acessórios	40
4.2 MÉTODOS	41
4.2.1 Varredura	41
4.2.2 Validação da metodologia de dosagem	41
4.2.3 Estudo de solubilidade do cetoconazol	42
4.2.4 Preparo dos sistemas microemulsionados (Construção do diagrama pseudoternário)	43
4.2.5 Preparo do xampu base e xampu base com cetoconazol 2% p/v	45
4.2.6 Preparo do xampu microemulsionado contendo cetoconazol 2% p/v	46
4.2.7 Caracterização físico-química do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e xampu microemulsionado contendo cetoconazol 2% p/v	46
4.2.7.1 Avaliação macroscópica e das características organolépticas	46
4.2.7.2 Determinação do pH.....	46
4.2.7.3 Determinação da viscosidade.....	46
4.2.8 Doseamento do fármaco	47
4.2.8.1 Extração do cetoconazol das formulações e preparo das soluções	47
4.2.8.2 Doseamento das amostras utilizando o método de espectrofotometria UV-Vis.....	47
4.2.8.3 Determinação da taxa de incorporação do cetoconazol nos sistemas microemulsionados e da taxa de recuperação do ativo no xampu base com cetoconazol	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1 Validação da metodologia de dosagem	49
5.2 Estudo de solubilidade do cetoconazol	53
5.3 Preparo dos sistemas microemulsionados (Construção do diagrama pseudoternário)	53
5.4 Preparo do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e xampu microemulsionado com cetoconazol 2% p/v	56

5.5 Caracterização físico-química do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e microemulsionado com cetoconazol 2% p/v	56
5.5.1 Avaliação macroscópica e das características organolépticas	57
5.5.2 Determinação do pH	57
5.5.3 Determinação das viscosidades.....	58
5.6 Determinação da taxa de incorporação do cetoconazol nos sistemas microemulsionados e taxa de recuperação do ativo no xampu base com cetoconazol ...	59
6 CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

As infecções micóticas que ocorrem nos humanos incidem de formas diversas, apresentando-se como micoses superficiais e de fácil tratamento até micoses sistêmicas, disseminadas no organismo, as quais podem tornar-se potencialmente fatais (PONS JUNIOR, 2011). Superficialmente, os fungos atacam as mais diversas regiões do corpo humano incluindo cabelos, pele e unhas. No couro cabeludo, a dermatite seborréica e a caspa são as principais manifestações atribuídas aos fungos, de maneira especial aos do gênero *Malassezia*, tendo maior prevalência a espécie *Malassezia furfur*. O uso de antifúngicos se faz necessário para controle das infecções superficiais e sistêmicas.

O cetoconazol é um antifúngico da classe dos imidazólicos. Possui como mecanismo de ação a inibição da biossíntese do ergosterol, um importante componente para formação da membrana celular fúngica, apresentando, portanto, atividade fungicida (PONS JUNIOR, 2011). O cetoconazol tem demonstrado efetividade contra pneumonia fúngica, infecções de pele e mucosas, septicemias, profilaxia de micoses em pacientes imunodeprimidos, dermatite seborréica e outras infecções abdominais (GOODMAN & GILMAN, 2006). Tem ação elevada contra leveduras (FONSECA E PRISTA, 2000), em infecções tópicas ou sistêmicas, mas também pode ter ação contra dermatófitos (CABRAL E VOEUX, 2001). O cetoconazol é utilizado no tratamento de infecções fúngicas superficiais e na foliculite por *Malassezia* resistentes ao fluconazol, terbinafina ou itraconazol ou em pacientes intolerantes a estes antifúngicos; no tratamento da pitíriase, dermatite seborréica e caspa (FORMULÁRIO TERAPÊUTICO NACIONAL, 2010).

As formas de uso tópico do cetoconazol como xampus, loções capilares ou cremes são largamente empregados (FORMARIZ et al., 2005). É comumente veiculado em xampus ou loções capilares nas concentrações de 1 e 2% (BULMER E BULMER, 1999), sendo, a concentração de 2% a mais efetiva para o tratamento da caspa e dermatite seborréica (PADILHA, 1995). O tratamento tópico com cetoconazol exige aplicação regular deste produto sobre a pele, para evitar as recidivas da doença.

As formas farmacêuticas tidas como convencionais, nem sempre satisfazem os requisitos de biodisponibilidade podendo não exercer o efeito farmacológico desejado, além de possibilitar o aparecimento de efeitos tóxicos (DAMASCENO, 2010). Neste contexto, os avanços da tecnologia farmacêutica têm produzido inovadores sistemas carreadores de fármacos visando incrementos na liberação, distribuição e/ou dissolução de princípios ativos, bem como, elevar a seletividade e efetividade do fármaco e proporcionar um perfil de

liberação mais uniforme e controlado do ativo (DURÁN, MATOSSO E MORAIS, 2006). Esses sistemas carreadores vêm ganhando cada vez mais destaque.

As Microemulsões são sistemas carreadores de alta estabilidade, baixa viscosidade, de formação espontânea, límpidas, com grande poder de solubilização. Tais atributos tornam as microemulsões sistemas extremamente mutáveis e de interesse, sobretudo, na área farmacêutica e cosmética. O interesse na aplicação das microemulsões como veículos de preparações farmacêuticas se deve à capacidade desses sistemas de solubilizar substâncias hidrofílicas e lipofílicas ao mesmo tempo, e, também, de melhorar a solubilidade e estabilidade de fármacos, como o cetoconazol.

As Microemulsões (MEs) são definidas como dispersões de água e óleo estabilizadas por um emulsionante e por um co-emulsionante. São sistemas transparentes, termodinamicamente estáveis e isotropicamente translúcidos de dois líquidos imiscíveis apresentando tamanho de partículas menor que 1,0 μ m (CUNHA JUNIOR et al., 2003; DAMASCENO et al., 2011).

O desenvolvimento desses sistemas exige a construção de diagramas de fases pseudoternários para identificar as várias regiões geradas, assim como aquela que representa a melhor combinação dos componentes da fórmula em suas respectivas quantidades e que produz o sistema microemulsionado de maior estabilidade (MACEDO, 2005), bem como a caracterização dos mesmos que envolvem parâmetros físico-químicos como determinação do pH, viscosidade, taxa de associação, potencial zeta, índice de polidispersão, tamanho médio de partícula, avaliação morfológica, cinética de liberação e a determinação do teor do ativo, visando também avaliar a estabilidade do sistema.

Alguns princípios ativos apresentam problemas de solubilidade e/ou estabilidade, especialmente em meio aquoso, dificultando sua incorporação em formas farmacêuticas que utilizam água como veículo. O cetoconazol é uma substância ativa largamente utilizada para preparo de xampus anticaspa, apresentando solubilidade dependente de pH. No entanto, a solubilização em meio ácido promove uma perda significativa do ativo. De tal modo, o estudo da solubilização deste fármaco em sistemas microemulsionados mostra-se como uma promissora alternativa para resolver os problemas farmacotécnicos do princípio ativo, podendo, adicionalmente, melhorar a estabilidade e a eficácia terapêutica do mesmo.

O presente trabalho objetivou estudar a solubilização do cetoconazol por microemulsão para incorporação em uma formulação de xampu.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PATOLOGIAS FÚNGICAS

As infecções micóticas que ocorrem nos humanos incidem de formas diversas, apresentando-se como micoses superficiais e de fácil tratamento até micoses sistêmicas, disseminadas no organismo, as quais podem tornar-se potencialmente fatais (PONS JUNIOR, 2011).

Situações que envolvem casos de infecções fúngicas invasivas aparecem como uma importante causa de morbimortalidade em pacientes enfermos e imunossuprimidos, os quais estão sujeitos a infecções oportunistas causadas por leveduras e fungos filamentosos, especialmente leveduras do gênero *Candida spp.* e fungos filamentosos do gênero *Aspergillus spp.* (MORETTI, 2007).

As infecções superficiais também denominadas dermatofitoses ocorrem nos tecidos queratinizados, e por se originarem de fungos ou leveduras recebem a denominação de dermatófitos. Possuem distribuição universal, porém a incidência das regiões anatômicas das infecções pode originar-se de fatores geográficos, socioeconômicos ou ambientais. Sendo assim, os dermatófitos podem invadir e causar lesões em qualquer região do corpo humano, incluindo unhas, pele, cabelos e couro cabeludo (DIAS et al., 2003).

Em se tratando do couro cabeludo, a dermatite seborréica e a caspa são as principais manifestações atribuídas aos fungos, sobretudo aos do gênero *Malassezia*, tendo maior prevalência a espécie *Malassezia furfur*. Apresentando características lipofílicas, esses microrganismos acumulam-se principalmente em áreas ricas em glândulas sebáceas, ocasionando eritema, prurido e descamação (HARDING, 2002). Embora a dermatite seborréica e a caspa não representem risco vital, como todas as micoses superficiais, sua ocorrência pode levar a uma baixa auto-estima, influenciando de forma negativa a qualidade de vida do indivíduo (SHIH et al., 2004). Os xampus, destinados ao controle dessas afecções cutâneas, são produtos de tratamento capilar prescritos com grande frequência (FERREIRA, 2008).

O tratamento das infecções fúngicas, sejam elas, superficiais ou sistêmicas se faz com agentes antifúngicos, destacando-se os imidazólicos e os triazólicos, os quais incrementaram importantes progressos na terapêutica destas infecções.

2.2 CETOCONAZOL

Pertencendo a uma das diferentes categorias de antifúngicos atualmente utilizados, o cetoconazol é um fármaco da classe dos imidazólicos, caracterizado por apresentar três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio, formando um núcleo imidazol (Figura 1) (GOODMAN & GILMAN, 2006).

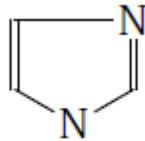


Figura 1 – Núcleo imidazol do cetoconazol. Fonte: GOODMAN & GILMAN, 2006.

Os azóis são compostos antifúngicos totalmente sintéticos, divididos em dois grupos, caracterizados por um anel pentagonal na estrutura molecular, contendo três átomos de carbono e dois de nitrogênio (imidazólicos) (Figura 2A), ou dois de carbono e três de nitrogênio (triazólicos) (Figura 2B) (MARTINEZ, 2006).

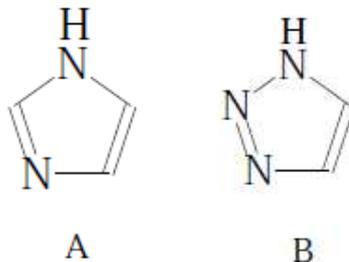


Figura 2 – Representação de heterociclos aromáticos azólicos: imidazol (A) e triazol (B). Fonte: PONS JUNIOR, 2011.

A descoberta do cetoconazol (Figura 3) representou um avanço na terapêutica das micoses sistêmicas, por apresentar atividade antimicótica ampla e mantendo-se em níveis sanguíneos de forma mais elevada. Sintetizado em 1979, foi o primeiro azol a ser administrado oralmente para tratamento de infecções sistêmicas por fungos (PANDEESWARAN E ELANGO, 2009).

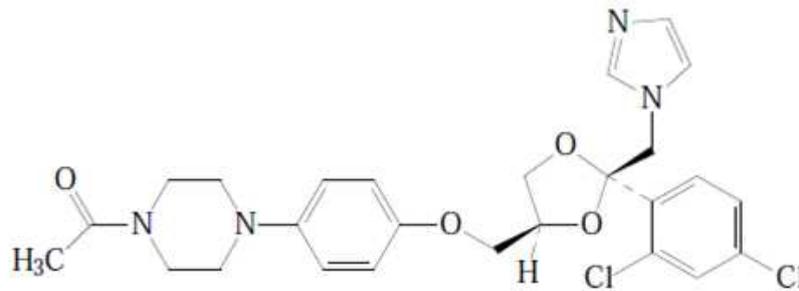


Figura 3 – Estrutura química do cetoconazol (CAS 65277-42-1). Fonte: PONS JUNIOR, 2011.

Nome químico: cis-1-acetil-4-[4-[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxalan-4-il]metoxifenil]-piperazina.

Fórmula: $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

DCB: Cetoconazol.

Temperatura de fusão: faixa entre 148 a 152°C.

Peso molecular: 531,44.

Aparência: apresenta-se como um pó cristalino branco.

Solubilidade: é praticamente insolúvel em água, solúvel em clorofórmio (1:2), metanol (1:9); levemente solúvel em etanol (1:54) e muito pouco solúvel em éter (THE INDEX MERCK, 2001), no entanto, apresenta uma solubilidade intrínseca em água acidificada.

O fármaco puro deve conter no mínimo 98% e no máximo 102% de $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ (ANTONIO, 2007).

Seu coeficiente de partição octanol-água (P_{ow}) é de 3,547 à temperatura de 25°C. Para sua solubilização e absorção é necessário um pH gástrico inferior a 3. Pode ser administrado por via oral ou tópica (SPÓSITO, 2008).

2.2.1 Atividade terapêutica e toxicidade

O cetoconazol, como os demais derivados imidazólicos antifúngicos, exerce ação fungicida por alterar a permeabilidade da membrana citoplasmática dos fungos sensíveis, ocasionando a perda de cátions, proteínas e outros elementos vitais, em decorrência da alteração na síntese dos triglicerídeos e fosfolídeos que, em alta concentração, provocam a morte celular por causarem acúmulo de água oxigenada ao bloquearem as enzimas peroxidativas. Sobrevindo, por fim, o rompimento da membrana (PONS JÚNIOR, 2011). Esta ação decorre de sua interferência na síntese de esteróis da membrana, inibindo a formação do

ergosterol a partir do seu precursor, o lanosterol. Esta atividade resulta da ação inibitória do cetoconazol sobre a enzima citocromo P-450, a qual é responsável pela síntese e degradação dos ácidos graxos e esteróides endógenos nas células animais, vegetais e seres unicelulares. Esta ação sobre a membrana é variável de acordo com o fungo e a dose do medicamento, agindo não só sobre as células fúngicas, mas, também, inibindo a síntese de estrogênios e testosterona no homem (KATZUNG, 2003; FUCHS, WANNMACHER E FERREIRA, 2006; GOODMAN & GILMAN, 2006).

Seu pico de concentração plasmática é atingido em 2h (cerca de 3,5µg/mL) após administração oral de 200mg. A ligação às proteínas plasmáticas é superior a 90%, principalmente a albumina. Apresenta pouca penetração no sistema nervoso central e sua meia-vida de eliminação inicia-se em 2h e termina em cerca de 8h, sendo metabolizado principalmente no fígado. A dose de 200 a 400mg ao dia é variável de acordo com o tipo de infecção a ser tratada, sendo muitas vezes necessário tratamento por vários meses, o que pode aumentar o risco de toxicidade hepática (MARTINDALE, 2009).

O cetoconazol tem ação elevada contra leveduras (FONSECA E PRISTA, 2000), em infecções tópicas ou sistêmicas, mas também pode ter ação contra dermatófitos (CABRAL E VOEUX, 2001). O cetoconazol é utilizado no tratamento de infecções fúngicas superficiais e na foliculite por *Malassezia* resistentes ao fluconazol, terbinafina ou itraconazol ou em pacientes intolerantes a estes antifúngicos; na candidíase mucocutânea crônica, cutânea e orofaríngea, resistente ao fluconazol e itraconazol ou em pacientes intolerantes a estes antifúngicos e no tratamento da pitiríase, dermatite seborréica e caspa (FORMULÁRIO TERAPÊUTICO NACIONAL, 2010).

Foi relatada hepatotoxicidade com o tratamento oral com cetoconazol, e provou ser fatal em alguns casos. A lesão hepática pode ocorrer sem evidência clínica manifesta e pode evoluir após a interrupção da droga. Portanto, recomenda-se que qualquer benefício potencial desta droga seja avaliado contra o risco de lesão hepática. Outros efeitos colaterais são distúrbios gastrintestinais e prurido (RANG E DALE, 2004; SPÓSITO, 2008). O cetoconazol possui, também, a propriedade de bloquear transitoriamente a produção de testosterona e de hormônios andrenocorticais; o bloqueio da testosterona com o consequente desequilíbrio entre esta e os estrógenos, no homem, leva à ginecomastia em alguns pacientes deste sexo (GOODMAN & GILMAN, 2006). Pode haver interações adversas com outras drogas, em particular rifampicina e ciclosporina (RANG E DALE, 2004).

Com relação ainda à sua toxidez, o cetoconazol apresenta DL₅₀ em camundongos, ratos, porcos-da-índia, cachorros (mg/Kg), respectivamente: 44, 86, 28, 49 (intravenoso); 702, 227, 202, 780 (oralmente) (THE INDEX MERCK, 2001).

2.2.2 Formas cosméticas

O uso tópico do cetoconazol na forma de xampus, loções capilares ou cremes são largamente empregados (FORMARIZ et al., 2005). É comumente veiculado em xampus ou loções capilares nas concentrações de 1 e 2% (BULMER E BULMER, 1999), sendo, a concentração de 2% a mais efetiva para o tratamento da caspa e dermatite seborréica (PADILHA, 1995).

Um estudo de comparação entre cetoconazol oral e tópico no tratamento da Pitiríase Versicolor mostrou que o uso tópico apresenta melhor resposta antimicótica e com menos efeitos adversos do que a terapia oral. Um estudo aberto foi realizado para avaliar a eficácia do cetoconazol creme 2% para o tratamento de dermatomicoses superficiais; pacientes afetados por *Tinea cruris* e *Tinea corporis* foram admitidos para o estudo, desde que as lesões envolvessem menos de 5% da superfície corporal; foram tratados com cetoconazol creme a 2% uma vez ao dia durante 30 dias; concluiu-se que o creme de cetoconazol a 2% é agente seguro e eficaz para o tratamento de dermatomicoses superficiais (FORMULÁRIO TERAPÊUTICO NACIONAL, 2010). O tratamento tópico com cetoconazol exige aplicação regular deste produto sobre a pele, para evitar as recidivas da doença.

2.2.3 Estabilidade

Em situações nas quais a formulação de cetoconazol não esteja adequada, o mesmo sofre processos de desestabilidade pela degradação, incluindo oxidação e hidrólise, especialmente em meio aquoso, onde o controle de pH e a quantidade de antioxidante são parâmetros importantes (SKIBA et al., 2000), da mesma maneira que o controle da temperatura e sua exposição a luz (ALLEN E ERICKSON, 1996).

Em geral, formulações de cetoconazol sofrem alteração muito rapidamente sugerindo a formação de produtos de degradação (STAUB et al., 2002; SKIBA et al., 2000). Conforme Tonessen (2001), fármacos sensíveis à luz podem ser afetados pela luz solar (especialmente radiação ultravioleta) e por fonte de luz artificial (lâmpada fluorescente). A exposição inadequada à luz pode levar à fotodegradação da substância ativa, podendo formar um

produto inativo, bem como, alterar propriedades físico-químicas resultando em alteração na coloração do produto.

2.3 TENSOATIVOS

Os tensoativos são moléculas anfifílicas que possuem duas regiões com características diferentes. Sua propriedade anfifílica decorre dos dois grupos funcionais presentes, sendo, um grupo hidrofílico (com afinidade por componentes polares) ligado a um grupo hidrofóbico (com afinidade por componentes apolares) como ilustrado na Figura 4 (LUCENA NETO, 2005).

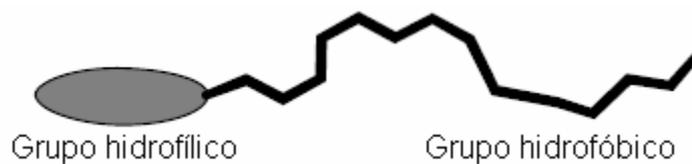


Figura 4 – Esquema ilustrativo de uma molécula de tensoativo. Fonte: GOMES, 2009.

A dupla natureza química que a molécula tensoativa apresenta responde por suas propriedades, dentre as quais, a adsorção nas interfaces líquido-líquido, líquido-gás e líquido-sólido, diminuindo a tensão interfacial. Estes grupos comportam-se de maneira distinta e são usados para modificar o meio reacional, permitindo solubilizar espécies de baixa solubilidade (LUCENA NETO, 2005; GOMES, 2009).

2.3.1 Classificação dos tensoativos

A carga dos tensoativos constitui importantes forças eletrostáticas, dando origem a interações iônicas. Quando em solução, os tensoativos agregam-se como micelas ou se adsorvem nas interfaces dos sistemas. São classificados de acordo com a carga do grupo polar da molécula e são divididos em quatro classes: aniônicos, catiônicos, anfóteros e não-iônicos (GOMES, 2009).

2.3.1.1 Tensoativos aniônicos

São aqueles que possuem grupamentos funcionais que, ao se ionizarem em solução aquosa, fornecem íons carregados negativamente. Destacam-se neste grupo, os sabões, compostos sulfonados e os sulfatados.

2.3.1.2 Tensoativos catiônicos

São classificados como catiônicos, os tensoativos que possuem grupamentos funcionais que fornecem íons carregados positivamente na parte polar, ao se ionizarem em solução aquosa. Os tensoativos catiônicos mais importantes são formados por nitrogênio quaternário.

2.3.1.3 Tensoativos não-iônicos

Os tensoativos não-iônicos têm estrutura semelhante aos aniônicos e catiônicos. Entretanto, não formam íons, quando em soluções aquosas. Na falta de carga eletrostática, as interações entre as cabeças dos tensoativos não-iônicos são proporcionadas por impedimento estérico. Estes tensoativos possuem poder hidrofílico em decorrência da presença de grupos polares do tipo éter, álcool, carbonila e amina. Em virtude da não formação de íons em solução, os tensoativos não-iônicos comumente não apresentam repulsões fortes entre as cabeças polares, e assim a presença do cotensoativo, é facultativa (GOMES, 2009).

2.3.1.4 Tensoativos anfóteros

São tensoativos que apresentam em sua estrutura o radical ácido e o básico. Eles ostentam características aniônicas ou catiônicas dependendo das condições de pH da solução aquosa. A combinação de grupos aniônicos e catiônicos coligados em uma mesma molécula anfifílica confere-lhes caráter anfótero, admitindo sua classificação como moléculas zwitteriônicas (LANGE, 1999).

Na maioria das vezes, para valores de pH inferiores a 4, os tensoativos atuam como catiônicos. Para valores de pH entre 4 e 9, eles atuam como não-iônicos, e para valores de pH entre 9 e 10, eles apresentam-se como tensoativos aniônicos. As betaínas representam uma importante classe de tensoativos anfóteros.

2.4 MICROEMULSÕES

Os avanços da tecnologia farmacêutica têm produzido inovadores sistemas carreadores de fármacos visando incrementos na liberação, distribuição e/ou dissolução de princípios ativos. As formas farmacêuticas tidas como convencionais, nem sempre satisfazem os requisitos de biodisponibilidade podendo não exercer o efeito farmacológico desejado, além de possibilitar o aparecimento de efeitos tóxicos (DAMASCENO, 2010).

O termo microemulsão foi introduzido por Hoar e Schulman em 1943. Eles descreveram o processo de transição de uma mistura estável rica em óleo para uma mistura estável rica em água. Ao se misturar um líquido orgânico imiscível, água e um tensoativo, forma-se uma emulsão leitosa-turva, que, após algum tempo separa-se em duas fases distintas, porém, esta emulsão turva e instável pode ser convertida em uma mistura opticamente transparente e termodinamicamente estável por adição de um álcool (SCHULMAN, STOECKENIUS E PRINCE, 1959). Desde então, o número de publicações abordando este tema tem crescido continuamente e as microemulsões têm apresentado um incremento significativo de aplicações, inclusive como sistema de liberação de fármacos em diversas vias de administração (KARASULU, 2008).

As Microemulsões (MEs) são definidas como dispersões de água e óleo estabilizadas por um emulsionante e por um co-emulsionante. São sistemas transparentes, termodinamicamente estáveis e isotropicamente translúcidos de dois líquidos imiscíveis apresentando tamanho de partículas menor que $1,0\mu\text{m}$ (CUNHA JUNIOR et al., 2003; DAMASCENO et al., 2011). Elas demandam o acréscimo de grandes quantidades de emulsionantes para estabilizar a grande área interfacial criada pelos nanoglóbulos e a adição de co-emulsionantes para garantir uma viscosidade adequada (DAMASCENO et al., 2011). Elas são constituídas de água, um solvente hidrofóbico que é chamado de fase oleosa, um tensoativo e, freqüentemente, também de um cotensoativo, normalmente um álcool de cadeia curta. Estes sistemas comportam-se de forma similar aos solventes orgânicos polares e, apesar de aparentemente homogêneos sob observação visual, as microemulsões são na verdade micro-heterogêneas (melhor dizendo nano-heterogêneas). São sistemas formados de partículas com diâmetro da ordem de 1 a 100nm (aproximadamente 100 vezes menores que o tamanho médio das gotículas de emulsões) dispersas em uma fase contínua (MENDONÇA, 2005). A transparência mostrada por estes sistemas deve-se ao fato do tamanho das partículas dispersas ser muito menor (inferior a $\frac{1}{4}$) que os comprimentos de onda da radiação eletromagnética na

região do visível, de modo que, não espalham luz e o sistema mantêm-se translúcido (FORMARIZ, 2004; KAWAKAMI et al., 2002).

As MEs são sistemas de alta estabilidade, baixa viscosidade, de formação espontânea, límpidas, com grande poder de solubilização. Tais atributos tornam as microemulsões sistemas de interesse, especialmente, na área farmacêutica e cosmética. Este interesse é oriundo, sobretudo, da capacidade de solubilização de substâncias hidrofílicas e lipofílicas ao mesmo tempo, e, ainda por melhorar a solubilidade e a estabilidade dos princípios ativos (CUNHA JUNIOR et al., 2003). A presença de emulsionantes aumenta a permeabilidade da membrana celular, facilitando a absorção do fármaco e melhorando a biodisponibilidade (BAGWE et al., 2001).

2.4.1 Teorias de formação das Microemulsões

Existem várias teorias propostas para a formação de uma ME, destacando-se dentre elas a teoria da solubilização, a teoria da tensão interfacial e a teoria da termodinâmica (TENJARLA, 1999).

2.4.1.1 Teoria da solubilização

A teoria da solubilização profere que a formação de uma ME é oriunda do simples intumescimento de micelas no qual a água é solubilizada nas micelas inversas ou o óleo é solubilizado em micelas normais.

2.4.1.2 Teoria da Tensão Interfacial

A teoria da tensão interfacial (γ_i) diz que para a formação de uma ME é necessária uma γ_i muito baixa, com isso, a absorção do tensoativo na área interfacial causa uma pressão bidimensional (π) que diminui a pressão interfacial. Por conseguinte, com o aumento da área interfacial, por um aumento de π , a γ_i se aproxima de zero, favorecendo a dispersão de uma fase na outra para a formação da ME (Equação 1).

$$\gamma_i = (\gamma_{o/a})_a - \pi \quad (1)$$

2.4.1.3 Teoria da Termodinâmica

A teoria da termodinâmica diz que a energia livre de Gibbs (G) deve se tornar negativa para a formação espontânea de uma ME termodinamicamente estável. Como a γ_i tem uma tendência para se aproximar de zero, a variação de energia livre também tende a zero e, com isso, o sistema fica termodinamicamente estável ($\Delta G \rightarrow 0$). Quando a γ_i for negativa, a ΔG será < 0 e a microemulsificação será espontânea (Equação 2) (DAMASCENO, 2010).

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

2.4.2 Estrutura das microemulsões

As microemulsões podem formar-se com várias configurações, dependendo de sua composição. Em relação à polaridade da fase dispersa é possível distinguir três tipos de microemulsões: óleo em água (O/A), água em óleo (A/O) ou microemulsão reversa e microemulsões bicontínuas, que apresentam uma estrutura intermediária em que as fases permutam uma através da outra (MENDONÇA, 2005; GOMES, 2009). Estes tipos de microemulsões apresentam as seguintes características:

a) Microemulsões óleo em água – Apresentam uma fase aquosa contínua com gotículas de óleo dispersas, as quais estão recobertas pelo tensoativo. O diâmetro destas gotículas mede em geral entre 10 e 100nm; ocorrem gotículas do tipo diretas, onde a cabeça polar do tensoativo é voltada para a fase contínua aquosa e a cauda apolar se dirige para o interior hidrófobo da micela.

b) Microemulsões de água em óleo – Apresentam gotículas de água recobertas com tensoativo dispersas em uma fase oleosa contínua e são em geral pouco condutoras. O diâmetro das mesmas mede em torno de 1 e 100nm e neste domínio ocorrem às gotículas inversas, em que as moléculas anfifílicas nas membranas são orientadas com a parte lipofílica voltada para o óleo e a parte hidrofílica voltada para a água.

c) Microemulsões bicontínuas – Tanto o óleo como a água apresentam-se como fases contínuas, formando uma rede dinâmica de canais de água e de óleo com monocamadas do

tensoativo nas interfaces. A função do tensoativo é separar as partes contínuas em óleo e água em um caminho termodinamicamente estável. As MEs O/A ou A/O podem ser invertidas variando as condições de emulsificação. As estruturas bicontínuas se formam provavelmente nesse processo de inversão de fases (LAWRENCE E REES, 2000). Em microemulsões com altas concentrações de tensoativos pode-se observar uma estrutura do tipo bicontínua ou lamelar. A Figura 5 representa estes tipos de estrutura:

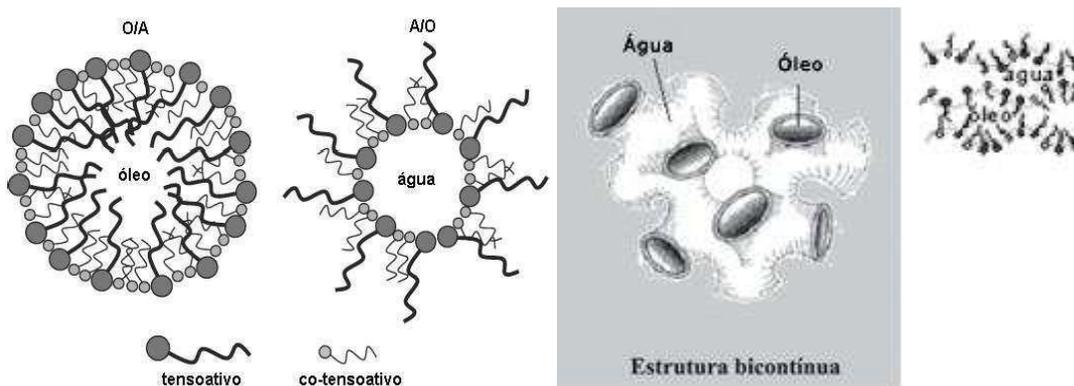


Figura 5 – Estrutura de microemulsão direta (O/A), inversa (A/O) e bicontínua. Fonte: Adaptado de GOMES, 2009; CUNHA JUNIOR et al., 2003.

As regiões de microemulsão dentro de um diagrama de fases apresentam estruturas distintas em de acordo com sua posição no diagrama. Na Figura 6 verificam-se estas estruturas.

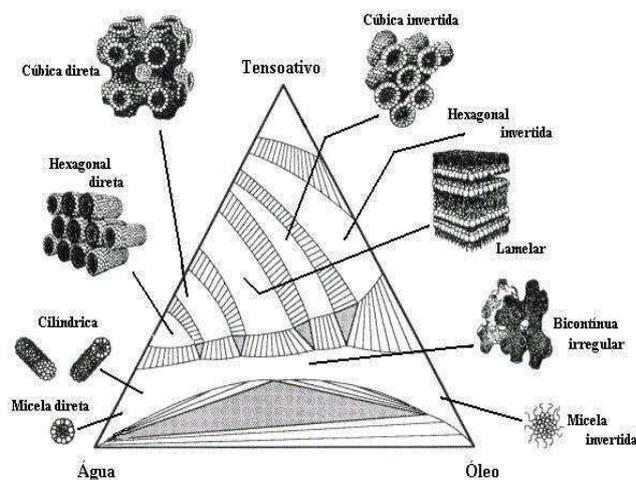


Figura 6 – Estruturas de microemulsão em um diagrama pseudoternário. Fonte: GOMES, 2009.

2.4.3 Diagrama de fases

O diagrama de fases delinea em que condição experimental é possível se obter microemulsões e as regiões limites de transição entre emulsões, fases separadas e microemulsões O/A e A/O. O diagrama de fases é definido para cada relação tensoativo/cotensoativo. Para isso, é possível preparar misturas binárias dos componentes, correspondentes a cada lado do triângulo, como segue: Mistura tensoativa (MT) / fase oleosa (FO) em várias proporções, titulando-se com a fase aquosa (FA). Essas titulações são representadas, no diagrama, pelas linhas traçadas direcionadas ao vértice do triângulo que representa 100% de fase aquosa (Figura 7a). O mesmo procedimento pode ser utilizado para a mistura tensoativa (MT) / fase aquosa (FA), a qual é titulada com a fase oleosa (FO). Na maioria das vezes esses dois procedimentos são satisfatórios para se definir o diagrama de fases (Figura 7b). Os pontos da titulação referem-se às modificações verificadas no sistema, tais como, separação de fases, sistema transparente líquido, sistema transparente gel, sistema opaco, etc. Esses pontos são calculados a partir das novas proporções entre os componentes da ME depois da titulação (Figura 7b) (OLIVEIRA et al., 2004).

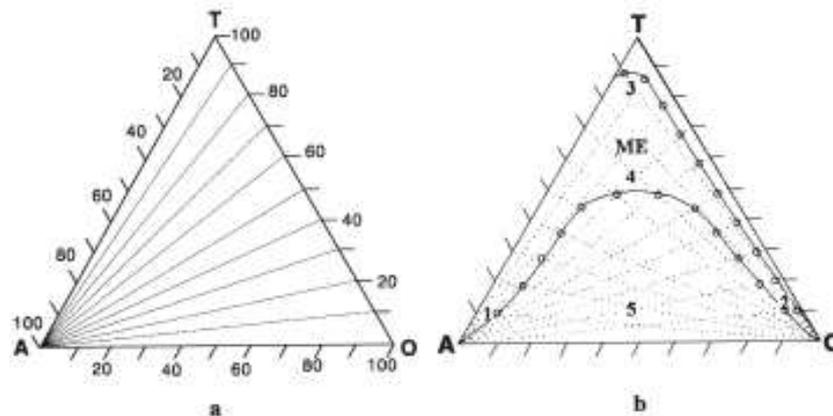


Figura 7 – Diagramas de fases. (a) Titulação com fase aquosa; (b) representação dos pontos de titulação e regiões do diagrama de fases. Fonte: OLIVEIRA et al., 2004.

A região denominada de ME, na Figura 7b, representa o domínio da existência do sistema opticamente transparente. As regiões 1-5 da Figura 7b descrevem as condições experimentais da existência dos diferentes tipos de sistemas (OLIVEIRA et al., 2004).

Região 1: Existe grande predomínio de fase aquosa. A concentração de tensoativo é pequena <20%. Representativa de ME O/A. Numa diluição infinita com fase aquosa o sistema tende à formação de micelas mistas da mistura emulsiva, contendo a fase oleosa dissolvida em seu interior hidrofóbico. O volume de fase interna é pequeno (Figura 7b).

Região 2: Onde predomina a fase oleosa, é pobre em fase aquosa e em mistura tensoativa. Representa MEs A/O. Numa diluição infinita tende a formar micelas inversas, compostas por grande parte de fase externa oleosa, com fase aquosa dissolvida nas micelas inversas. O volume de fase interna da ME é pequeno (Figura 7b).

Região 3: Rica em mistura tensoativa, contém muito pouca fase aquosa e fase oleosa (Figura 7b). A estrutura que melhor representa essa região consiste de uma fase contínua onde a mistura de tensoativo/cotensoativo, óleo e água encontram-se em fase lamelar, na qual o tensoativo e o cotensoativo organizam-se na interface contínua óleo/água, separando ambas as fases.

Região 4: É intermediária entre as duas regiões (1 e 2) que possuem estruturas bem definidas (Figura 7b). A microestrutura do sistema corresponde a fases bicontínuas, as quais podem explicar a passagem gradual de um sistema O/A para A/O. Esse fenômeno pode ser acompanhado facilmente medindo-se a variação da condutividade, utilizando-se como parâmetro a adição de óleo numa microemulsão A/O ou de água numa microemulsão O/A.

Região 5: Corresponde à região onde o sistema é muito instável e ocorre separação entre as fases aquosa e oleosa.

A construção de diagrama de fases é uma ferramenta essencial para distinguir o domínio das regiões de ME, cuja interpretação descreve as estruturas presentes contidas neles, podendo-se escolher a região cuja viscosidade é mais apropriada para o fármaco ser incorporado (SILVA et al., 2009a).

2.4.3.1 Sistemas ternários

Os diagramas de fases são utilizados para representar sistemas formados por três constituintes, de modo que as regiões de miscibilidade possam ser delimitadas e visualizadas (DUARTE, 2001).

Sua representação é feita em um diagrama triangular onde cada constituinte puro ocupa um vértice do triângulo, como mostrado na Figura 6a, que representa um diagrama com região de microemulsão formada por tensoativo, água e óleo. O diagrama triangular é uma maneira de representar graficamente os sistemas ternários microemulsionados, formados sob

temperatura e pressão definidas com a variação da composição. Cada lado representa uma mistura binária e um ponto no interior do triângulo é formado por uma mistura ternária em proporções específicas de cada um dos componentes (GOMES, 2009).

2.4.3.2 Sistemas pseudoternários

O sistema de equilíbrio das fases em preparações contendo mais de três componentes, como é o caso das MEs, são representados classicamente por um Diagrama de Fases Pseudoternário (SILVA et al., 2009a). Este diagrama permite identificar várias regiões geradas, assim como aquela que representa a melhor combinação dos componentes da fórmula em suas respectivas quantidades e que produz o sistema de maior estabilidade (MACEDO, 2005). Possui aspecto de diagrama ternário apesar de ser formado por quatro constituintes, onde agrupam-se dois constituintes de modo que a relação água/tensoativo ou a relação cotensoativo/tensoativo sejam constantes (ROSSI, 2007). Sistemas com quatro constituintes necessitam de uma representação tridimensional do tipo tetraédrica, assim como a representação da Figura 8b. Contudo esta representação oferece uma difícil construção, visualização e interpretação ao estudo de sistemas de quatro constituintes. Para facilitar a representação destes sistemas microemulsionados (água, óleo, tensoativo e cotensoativo), agrupam-se dois constituintes que são representados como um só e diz-se que estes formam um pseudoconstituente puro, sendo caracteristicamente 2D, já que há ocorrência de agrupamentos (água/tensoativo ou cotensoativo/tensoativo) conforme exemplificado na Figura 8c (GOMES, 2009).

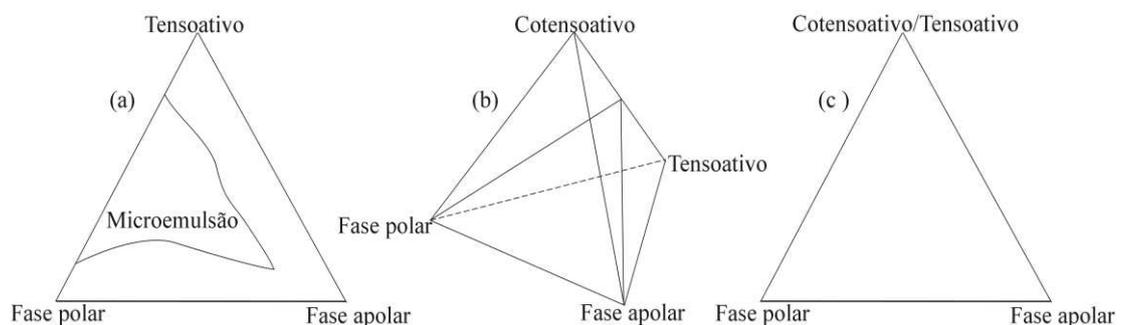


Figura 8 – Diagrama ternário e pseudoternário. (a) representação de diagrama ternário, (b) representação de diagrama pseudoternário em 3 dimensões e (c) representação de diagrama pseudoternário em 2 dimensões. Fonte: GOMES, 2009.

Os diagramas pseudoternários podem ser obtidos a partir de dados de titulação ou pela preparação de amplo número de amostras com diferentes proporções dos componentes (FORMARIZ et al., 2005).

2.4.4 Sistemas de Winsor

Um método semiquantitativo de mensurar o equilíbrio entre as características hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo em um sistema particular foi criado por Winsor (1948). As microemulsões podem permanecer em equilíbrio com uma fase aquosa e/ou oleosa em excesso, formando compostos multifásicos. Estes sistemas podem sofrer modificações pela mudança na estrutura do tensoativo, por ajustes na temperatura do sistema ou pela adição de cotensoativos. Desse modo, os sistemas podem ser classificados em quatro tipos: Winsor I, II, III e IV, de acordo com a quantidade de fases formadas em virtude da quantidade de óleo e/ou água em excesso.

Os sistemas bifásicos, chamados Winsor I e Winsor II correspondem, respectivamente, a uma emulsão O/A coexistindo com uma fase óleo em excesso e a uma emulsão A/O em equilíbrio com uma fase aquosa em excesso. O sistema Winsor III é formado quando o tensoativo concentra-se em uma fase intermediária, a qual coexiste com uma fase aquosa e uma oleosa. Na Figura 9 estão descritos os sistemas classificados por Winsor.

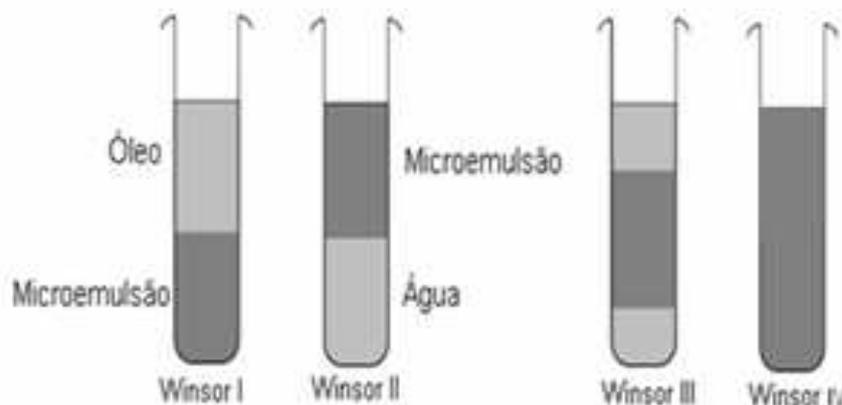


Figura 9 – Classificação de Winsor para sistemas microemulsionados. Fonte: Adaptado de GOMES, 2009; OLIVEIRA et al., 2004.

Sendo:

Winsor I (WI): Um sistema tipo Winsor I ocorre quando apenas uma pequena porção da fase oleosa está em equilíbrio com o sistema emulsionado, apresentando um excesso de óleo na porção superior do sistema, formando um sistema bifásico.

Winsor II (WII): No tipo Winsor II, também bifásico, uma pequena porção da fase aquosa está em equilíbrio com o sistema emulsionado, apresentando um excesso de água na porção inferior do sistema.

Winsor III (WIII): No tipo Winsor III, o sistema homogêneo está em equilíbrio com excesso tanto de óleo quanto de água, formando um sistema trifásico, com uma fase emulsão intermediária em equilíbrio com uma fase superior oleosa e uma fase inferior aquosa.

Winsor IV (WIV): O tipo Winsor IV ocorre quando não há excesso de fase aquosa ou oleosa, formando um sistema homogêneo e monofásico em escala macroscópica, constituído por uma fase única.

O sistema tipo Winsor IV é o foco principal durante a preparação de um sistema microemulsionado, pois a adição de cotensoativos não apenas diminui o valor do BHL dos tensoativos empregados, mas também ajusta a conformação geométrica do tensoativo na interface para facilitar a formação da ME (DAMASCENO et al., 2011).

2.4.5 Parâmetros que influenciam as microemulsões

Para se formar uma microemulsão pelo menos três constituintes são necessários: um solvente polar estruturado (água), um solvente apolar (óleo) e um tensoativo. Como as microemulsões somente ocorrem sob certas condições, é necessário entender a influência que alguns fatores exercem sobre suas propriedades (ROSSI, 2007). As microemulsões sofrem interferência de fatores como: influência do tensoativo, temperatura, salinidade, razão cotensoativo/tensoativo (C/T), natureza do composto apolar, natureza e concentração do cotensoativo.

2.4.5.1 Influência do tensoativo

A escolha do tensoativo adequado a um sistema microemulsionado pode ser feita pelo caráter hidrofílico deste tensoativo. Quando se deseja uma microemulsão do tipo A/O por exemplo, deve-se utilizar um tensoativo mais hidrofóbico; conseqüentemente, um tensoativo

de caráter hidrofílico deve ser utilizado para obtenção de microemulsões do tipo O/A (DUARTE, 2001; CAPEK, 2004).

2.4.5.2 Influência da temperatura

O aumento da temperatura favorece o aparecimento da fase oleosa no sistema ao mesmo tempo em que diminui a fase aquosa, pois o tensoativo contido no meio, com o aumento da temperatura, tem sua capacidade hidrofóbica reduzida e a hidrofílica aumentada. Isto faz com que o tensoativo solubilize mais facilmente à água, dissolvendo-a cada vez mais na microemulsão (GOMES, 2009).

2.4.5.3 Natureza do composto apolar

De acordo com Barros Neto (1996), o aumento da cadeia hidrofóbica promove a diminuição da região de microemulsão, devido às interações entre a molécula do óleo e a cadeia do tensoativo afetando a curvatura da interface óleo-água. A estrutura da fase óleo em função do tamanho da cadeia hidrocarbônica pode influenciar nas propriedades da interface. As moléculas de óleo com pequeno volume molecular (hidrocarboneto de cadeia curta) ou alta polaridade (aumento da aromaticidade, por exemplo), conduz a fortes efeitos de solvatação tensoativo-óleo sobre a interface. Por outro lado, o aumento no comprimento da cadeia do óleo conduz a uma redução das interações entre as microgotículas diminuindo a solubilização da microemulsão.

2.4.5.4 Influência da salinidade

O aumento da salinidade ocasiona inversão de fases em um sistema microemulsionado. Um exemplo representativo pode ser dado por um sistema constituído de água salina, um constituinte apolar (óleo), um tensoativo iônico e um cotensoativo alcoólico. Neste caso, em um diagrama pseudoternário, se a quantidade de sal aumenta da esquerda para a direita, a baixos teores de salinidade, a camada microemulsão é uma solução contínua em água que se encontra em equilíbrio com a fase oleosa (Winsor II) o aumento do teor salino promove a formação de Winsor III, ou seja, a fase microemulsionada é contínua em óleo e está em equilíbrio com a fase aquosa. Esta transição ocorre em função da adição do sal, que diminui a hidrofília do tensoativo, ao mesmo tempo em que aumenta sua afinidade pelo óleo.

A valores intermediários de meio salino, a microemulsão torna-se bicontínua, ou seja, possui quantidades iguais de óleo e água, formando um sistema trifásico (Winsor III) (WATARAI, 1997). No entanto, microemulsões contendo tensoativos não-iônicos são pouco sensíveis a variações de salinidade (BARROS NETO, 1996).

2.4.5.5 Influência da razão cotensoativo/tensoativo

A razão cotensoativo/tensoativo é um fator fundamental para o aumento da solubilização do sistema. O domínio da existência das microemulsões em diagramas pseudoternários aumenta com a razão cotensoativo/tensoativo (LEUNG E SHAH, 1986).

2.4.5.6 Natureza e concentração do cotensoativo

Com relação ao sistema pseudoternário, a estrutura molecular do cotensoativo influencia significativamente a forma e a extensão da região de microemulsão. A adição de um cotensoativo diminui o tamanho das gotículas e amplia as regiões de microemulsões (KUNEIDA, UMIZU, YAMAGUCHI, 1999). Desta forma, o tamanho da gotícula é fortemente afetado pela mistura de tensoativo no sistema, havendo tendência à diminuição do tamanho das gotículas com o aumento da concentração de cotensoativo, gerando sistemas opticamente transparentes ou translúcidos (LUNBERG, MORTIMER, REDGRAVE, 1996).

2.4.6 Balanço hidrófilo-lipófilo (BHL)

O conceito de balanço hidrofílico-lipofílico foi introduzido por Griffin em 1949, e foi derivado de forma empírica para fornecer uma descrição semiquantitativa da eficácia do tensoativo com respeito à emulsificação de sistemas com água e óleo. Esta escala foi introduzida para caracterizar tensoativos não-iônicos utilizando oligômeros de óxido de etileno como grupo hidrofílico. O BHL de uma mistura de tensoativo é calculado por uma regra linear baseada na porcentagem em peso de cada tensoativo. Esta escala empírica do BHL, que é baseada no desempenho do tensoativo não-iônico, tem sido estendida a tensoativos iônicos. De acordo com os resultados obtidos a predominância do caráter hidrofílico ou lipofílico do tensoativo, determina suas características específicas, bem como direciona o tipo de sua aplicabilidade.

Um tensoativo não-iônico com BHL igual a 1 tem a mesma fração de óxido de etileno e cadeia lipofílica, por isso considera-se que tem afinidade aproximadamente igual por óleo e água (GOMES, 2009). Especificamente, para que se tenha ação antiespumante, o valor teórico de BHL deve estar entre 1,5-3,0; ação emulsionante para emulsões do tipo A/O apresentam BHL na faixa entre 3,0 – 6,0; ação espumante apresenta BHL entre 7,0 – 9,0; emulsionante do tipo O/A, BHL 8,0 – 18,0; detergentes, BHL 13,0 – 15,0; solubilizante, BHL 15,0 – 20,0 (ROSSI, 2007). Davies e Rideal (1963) propuseram a seguinte aproximação para o cálculo do BHL dos tensoativos:

$$BHL = \sum_i H_i - \sum_i L_i + 7 \quad (3)$$

Sendo H_i e L_i os números de grupos hidrofílico e lipofílico, respectivamente. Enquanto que o modelo de Griffin restringe os números de BHL a uma escala de 0 a 20, os números calculados por Davies e Rideal podem ser menores que zero e são relacionados à energia livre de transferência do tensoativo da água ao óleo.

Um outro modelo para determinação do número de BHL foi proposto por Mashall e Cruickshank (1973), com uma escala logarítmica baseada nas frações em peso de grupos hidrofílico (hw) e lipofílico (lw) do tensoativo, como mostrado pela equação 4:

$$BHL = 11,7 \cdot \log \frac{w_h}{w_l} + 7 \quad (4)$$

Becher (1984) sugeriu que o número de BHL fosse relacionado linearmente com a energia livre de micelização. Uma aproximação é relacionada com a equação de Davies e Rideal, onde as contribuições excedentes do grupo hidrofílico são obtidas como um meio geométrico. A contribuição do grupo lipofílico é computada de forma semelhante à equação de Davies e Rideal.

$$BHL = \left(\sum_i H_i^2 \right)^{1/2} - \sum_i L_i + 7 \quad (5)$$

O BHL é característico de cada tensoativo e determina a região de aplicação. Neste contexto, quanto mais hidrofílico for um tensoativo maior será o valor de BHL (geralmente acima de 10) e tensoativos lipofílicos apresentam valores de BHL na faixa entre 1 – 10 (BOUCHEMAL et al., 2004).

2.4.7 Caracterização das microemulsões

A determinação das características das microemulsões é de grande importância para qualquer trabalho que venha a utilizá-las, para tanto, várias técnicas podem ser empregadas para sua caracterização. Entre as técnicas mais difundidas, têm-se a microscopia de luz polarizada para verificar a isotropia do sistema; o espalhamento de luz para determinar o diâmetro da gotícula ou da fase dispersa; os métodos espectroscópicos, como ressonância magnética nuclear, para determinar a estrutura interna (ROSSETI, 2006); A caracterização envolve parâmetros físico-químicos que incluem entre outros a determinação do pH, taxa de associação, potencial zeta, índice de polidispersão, tamanho médio de partícula, avaliação morfológica, cinética de liberação e a determinação do teor do ativo, visando também avaliar a estabilidade do sistema. As informações obtidas através da caracterização desses sistemas podem conduzir à descrição ao nível molecular, levando-se em consideração também a composição quali-quantitativa das formulações e do método de preparação empregado (DURÁN, MATOSSO E MORAIS, 2006; SOUZA, 2007). Métodos mais clássicos, como aspectos macroscópicos, densidade, comportamento reológico e viscosidade, índice de refração, condutividade elétrica são significantes para determinar o tipo e caracterizar fisicamente as microemulsões (DAMASCENO et al., 2011).

2.4.7.1 Viscosidade

A viscosidade de um líquido mede a resistência interna oferecida ao movimento relativo de diferentes partes desse líquido, ou seja, mede sua resistência em fluir (escoar) e não está diretamente relacionada com a densidade deste líquido. A resistência ao movimento de cada camada do fluido é atribuída à viscosidade (MASSEY, 2002). Para que um corpo flua, deve-se realizar sobre ele uma tensão de cisalhamento, que gerará um gradiente de velocidade denominado velocidade de cisalhamento. Esta é dependente da resistência interna da substância, ou seja, de sua viscosidade. Através da viscosidade, os fluidos são divididos em

duas classes: fluidos newtonianos ou de viscosidade ideal; e fluidos não newtonianos ou de viscosidade estrutural (LAHOUD E CAMPOS, 2010).

Os fluídos newtonianos possuem a velocidade de cisalhamento diretamente proporcional à tensão de cisalhamento aplicada, são então, aqueles que cumprem a relação de proporcionalidade proposta por Isaac Newton. Consequentemente, o valor da viscosidade de tais substâncias apresentará sempre o mesmo valor, independente da velocidade de cisalhamento ou da tensão de cisalhamento (MASSEY, 2002).

Os fluídos não newtonianos, por sua vez, não obedecem à lei da equação de fluxo proposta por Newton. Nestes fluídos a viscosidade depende de fatores como estrutura da substância, forma de preparo e tempo de repouso, de modo que, o quociente entre a tensão e a velocidade de cisalhamento não é uma constante (FERREIRA, 2008; AULTON, 2005). A maioria dos fluídos farmacêuticos pertence a esta classe de substâncias, pois não são formas simples, como a água e xaropes, mas sim sistemas coloidais ou dispersos, incluindo emulsões, suspensões, géis e xampus (AULTON, 2005). Segundo as características de deformação, os sistemas não newtonianos apresentam três principais comportamentos: Pseudoplástico; plástico e dilatante (ALMEIDA E BAHIA; 2003).

Nos sistemas com comportamento pseudoplástico, a relação entre a tensão e a velocidade de cisalhamento não é linear (MASSEY, 2002). Por conseguinte, a viscosidade dos materiais pseudoplásticos é uma variável em relação a qualquer força de cisalhamento aplicada, ou seja, a viscosidade diminui com o aumento do cisalhamento (NETZ E ORTEGA, 2002; NEVES, 2006).

Os fluídos com comportamento plástico necessitam de uma tensão de cisalhamento mínima para iniciar o escoamento. O comportamento plástico é encontrado em suspensões concentradas, especialmente se a fase continua for de alta viscosidade, ou se as partículas estiverem floculadas (AULTON, 2005). Alguns géis unguentos e cremes concentrados também são exemplos de substâncias que apresentam comportamento plástico (FERREIRA, 2008).

O comportamento dilatante é o tipo de fluxo oposto à pseudoplasticidade, que se caracteriza pelo aumento da viscosidade decorrente do aumento da velocidade de cisalhamento. Esse comportamento é típico de pastas e suspensões contendo grandes quantidades de sólidos insolúveis suspensos. O efeito é progressivo com o aumento da velocidade de cisalhamento, até que, por fim, o material adquire aparência de pasta e o fluxo cessa. Este estado é reversível, e a natureza fluida da substância retorna com a remoção da tensão de cisalhamento (AULTON, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a solubilização do cetoconazol por microemulsão para incorporação em xampu.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Validar a metodologia de dosagem do cetoconazol por espectrofotometria UV-Visível;
- Avaliar a solubilidade do cetoconazol, utilizando diferentes agentes solubilizantes com variação do pH;
- Preparar sistemas microemulsionados com construção de diagrama de fases;
- Avaliar fisicoquimicamente xampu base, xampu base com cetoconazol e xampu microemulsionado contendo cetoconazol;
- Determinar a taxa de incorporação do cetoconazol nos sistemas microemulsionados e a taxa de recuperação do cetoconazol no xampu base com cetoconazol.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matérias-primas

- Ácido Cítrico (Codossal)
- Álcool Metílico (Dinâmica)
- Cetoconazol 99,9% de pureza (Piramal Healthcare) obtido pela PharmaFace, Campina Grande-PB, Brasil;
- Cocoamidopropil betaína (Codossal)
- Dietanolamina do Ac. Graxo de coco (Codossal)
- EDTA (Codossal)
- Etanol 96% (Impex);
- Lauril Eter Sulfato de Sódio (Codossal)
- Metabissulfito de sódio (Vetec)
- Metil parabeno (Proquímios)
- NaCl (Codossal)
- Óleo de Rícino (Codossal, Recife, PB, Brasil)
- Óleo de Soja (Soya)
- Óleo Mineral (Codossal)
- Polietilenoglicol 400 (PEG 400) (Vetec);
- Polissorbato 20 (Tween 20) (Isofar);
- Polissorbato 80 (Tween 80) (Isofar);
- Sepigel® (Pharmapele)
- Surfax Base perolada (Pharmaface)
- Trietanolamina (Codossal)

4.1.2 Equipamentos e Acessórios

- Agitador mecânico Fisatom 712;
- Agitador vórtex Phonix AP-59;
- Balança Analítica Bioprecisa FA 2104N
- Balança semi-analítica Bioprecisa JH 2102;

- Centrífuga Centrifuga EEQ-9004/B;
- Cubetas de quartzo;
- Espátulas;
- Espectrofotômetro UV-Vis Biospectro SP – 220;
- Estantes;
- Filme PVC G-útil;
- Papel alumínio Royalpacte;
- Papel filtro Qualy espessura 205 μ m, poros 14 μ m;
- pHmetro Phtek modelo PHS-3B;
- Pipetas automáticas Digipet;
- Viscosímetro Rotativo Analógico Quimis, modelo Q-860A21;
- Vidrarias diversas (balões volumétricos, béqueres, erlenmayer, bastões de vidro, funis, cálices, provetas, pipetas, tubos de ensaio, gral e pistilo, vidro de relógio).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Varredura do espectro

Para a identificação do comprimento de onda mais adequado para as condições experimentais, foram realizadas leituras de uma solução-padrão de cetoconazol na concentração de 150 μ g/mL em espectrofotômetro UV-Visível Biospectro SP – 220, na faixa de 260nm à 310nm, sendo o comprimento de onda onde ocorreu o pico máximo de absorção considerado o mais adequado para a análise do princípio ativo cetoconazol.

4.2.2 Validação da metodologia de dosagem

Para a validação do método foram seguidas as determinações da RE 899/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que dispõe sobre a validação de métodos analíticos e bioanalíticos, construindo-se a curva de calibração e obtendo parâmetros como exatidão, precisão, limites de detecção e de quantificação e robustez.

A curva de calibração foi construída utilizando-se soluções metanólicas em cinco diferentes concentrações de cetoconazol, 25 μ g/mL, 50 μ g/mL, 75 μ g/mL, 100 μ g/mL e 150 μ g/mL. A exatidão foi obtida pela relação entre a concentração média experimental

dividida pela concentração teórica média multiplicada por 100 de acordo com a equação 6. O ensaio foi realizado empregando-se 15 determinações dentro do intervalo linear obtido.

$$\text{Exatidão} = (\text{Valor médio obtido} \times 100) / \text{Valor teórico} \quad (6)$$

Para a determinação da precisão, foi calculado o Coeficiente de Variação (CV%) expresso pelo valor de desvio padrão dividido pela concentração média determinada multiplicando-se por 100, conforme a equação 7. Para tanto, utilizou-se uma solução metanólica com concentração de 100µg/mL de cetoconazol em 6 determinações.

$$\text{CV\%} = (\text{DP} \times 100) / \text{Concentração média} \quad (7)$$

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados matematicamente através da relação entre desvio padrão do intercepto com o eixo do Y da curva de calibração, utilizando-se multiplicador apropriado e dividindo-se por IC que é a inclinação da curva de calibração, como indicado nas equações 8 e 9 (Brasil, 2003).

$$\text{LD} = \text{DP}_a \times 3 / \text{IC} \quad (8)$$

$$\text{LQ} = \text{DP}_a \times 10 / \text{IC} \quad (9)$$

Para a verificação da robustez, foram considerados os parâmetros solubilidade em diferentes solventes, concentração do cetoconazol e variação de pH.

Os resultados estatísticos foram analisados utilizando-se o programa GraphPad Prism 5 como ferramenta de estudo.

4.2.3 Estudo de solubilidade do cetoconazol

A solubilidade do cetoconazol a 2 e 4% p/v foi avaliada utilizando diferentes agentes solubilizantes conforme esquema apresentado na figura 10.

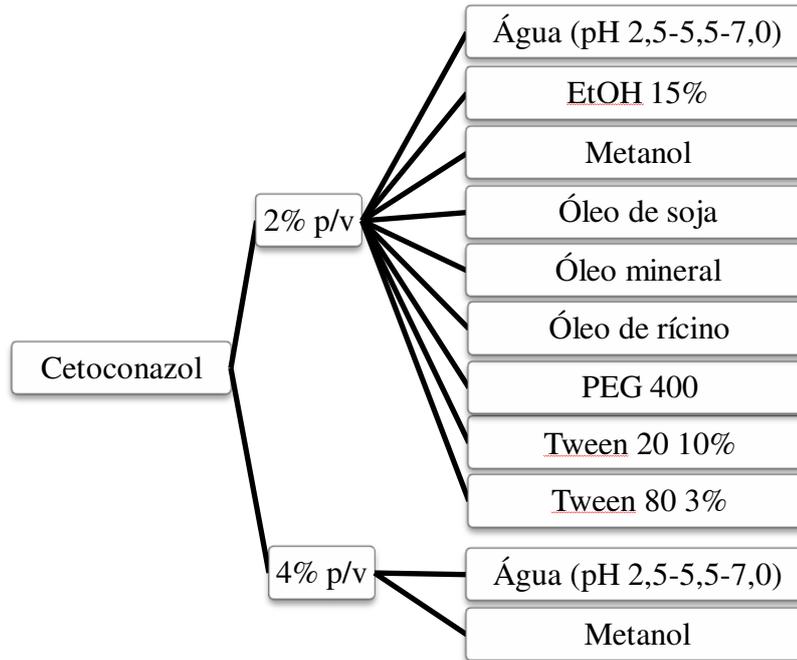


Figura 10 – Esquema representativo do teste de solubilidade do cetoconazol do presente estudo. Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

O pH das soluções aquosas foi ajustado com ácido cítrico (quando necessário). As preparações foram agitadas em agitador mecânico durante 30min à 700rpm e em seguida filtrados em papel de filtro. As soluções contendo cetoconazol foram seladas com filme PVC para evitar evaporação e embrulhadas com papel alumínio para evitar a possibilidade de fotodegradação. A concentração de cetoconazol solubilizada foi determinada por espectrofotometria. Todas as amostras foram feitas e analisadas em triplicata.

4.2.4 Preparo dos sistemas microemulsionados (Construção do diagrama pseudoternário)

O diagrama de fases foi construído partindo-se de misturas compostas por 20 a 80% de mistura tensoativa (MT) Etanol/PEG 400 ($C/T = 0,30; 0,235:0,765$). A essa mistura adicionou-se o óleo de soja como fase oleosa (FO) em concentrações decrescentes de 80 a 20%, preparando-se amostras de 3,0 gramas. Cada amostra obtida foi titulada com água destilada como fase aquosa (FA), registrando volumes de 2 a 70%. Após cada titulação a amostra foi homogeneizada em agitador vórtex e centrifugada a 3500rpm durante cinco

minutos, tempo suficiente para ocorrer separação de fases ou formação do sistema homogêneo.

Os pontos da titulação referiram-se às modificações verificadas no sistema, tais como, separação de fases, sistema transparente líquido, sistema transparente gel, sistema opaco, etc. Esses pontos foram calculados a partir das novas proporções entre os componentes da ME depois da titulação (tabela I).

Tabela I – Proporção dos constituintes para construção do diagrama de fases.

FO (%)	C/T (%)	FA (%)
3	27	70
3	77	20
4	36	60
5	45	50
5	80	15
9	51	40
12	58	30
10	80	10
20	75	5
25	55	20
25	45	30
40	48	12
50	30	20
50	40	10
60	32	8
70	25	5
80	18	2

Determinadas as regiões no diagrama de fases, foi escolhido um ponto para preparo de 50 mL de microemulsão, utilizando 90% de MT, 4% de fase oleosa e 6% de fase aquosa, sendo adicionado 4% de cetoconazol sob agitação.

4.2.5 Preparo do xampu base e xampu base com cetoconazol 2% p/v

Para preparo dos xampus utilizou-se os componentes descritos na tabela II.

Tabela II – Composição do xampu base e xampu base com cetoconazol 2% p/v.

Matérias-primas	Função	% (p/v)
Lauril Éter sulfato de Sódio (LESS)	Tensoativo aniônico	30
Dietanolamida de Ác. Graxo de Coco	Sobreengordurante	6
Cocoamidopropil betaína	Tensoativo anfótero	5
Base perolada	Perolizante	1
EDTA	Sequestrante	0,15
Metil parabeno	Conservante	0,1
Metabissulfito de sódio	Antioxidante	0,1
Ácido Cítrico	Corretor de pH	3
Cetoconazol	Ativo	2
Corante vermelho	Melhorar coloração	qs
Essência	Aromatizante	qs
Trietanolamina	Corretor de pH	5
Sepigel®	Espessante	qs
Água destilada	Veículo	qsp 100 mL

O modo de preparo seguiu o seguinte processo: pesagem do cetoconazol e solubilização em água acidificada com ácido cítrico até pH 2,5; pesagem do EDTA, metabissulfito e metil parabeno. Em um cálice foi adicionado o LESS, o anfótero betaínico, a dietanolamina, a base perolada e metade da água, homogeneizando lentamente com bastão de vidro a cada novo componente acrescentado. O metil parabeno anteriormente pesado foi solubilizado em água sob aquecimento e acrescentado ao cálice, seguido do metabissulfito e EDTA ambos também solubilizados em água. Adicionou-se a solução de cetoconazol e o restante da água. Verificou-se o pH, o qual foi corrigido para 5,5 com trietanolamina. O acerto da viscosidade deu-se com Sepigel®.

O xampu base foi formulado com a mesma composição, com exceção do cetoconazol e do ácido cítrico.

Como amostra de referência foi adquirido um xampu de cetoconazol 2% p/v de uma farmácia de manipulação da cidade de Campina Grande-PB, Brasil, contendo os seguintes componentes: Cetoconazol, EDTA, Óxido de zinco, xampu base, corante vermelho e essência, permitindo uma comparação mais legítima dos resultados encontrados na avaliação do pH e viscosidade.

4.2.6 Preparo do xampu microemulsionado contendo cetoconazol 2% p/v

25mL da microemulsão contendo cetoconazol à 4% p/v foi incorporado no xampu base q.s.p. 50mL sob agitação constante, utilizando algumas gotas de Sepigel® como agente espessante.

4.2.7 Caracterização físico-química do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e xampu microemulsionado contendo cetoconazol 2% p/v

4.2.7.1 Avaliação macroscópica e características organolépticas

As amostras foram observadas visualmente quanto à cor, odor e homogeneidade, 24 horas após a preparação das formulações.

4.2.7.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi efetuada em pHmetro Phtek modelo PHS-3B, calibrados com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, inserindo o eletrodo diretamente na formulação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

4.2.7.3 Determinação das Viscosidades

As viscosidades foram determinadas utilizando-se um viscosímetro Rotativo Analógico Quimis, modelo Q-860A21, no qual foram selecionados, experimentalmente, os spindles 2 e 4 nas velocidades de 12 e 30 rpm, respectivamente. A temperatura das amostras foi padronizada em $25 \pm 2^\circ \text{C}$, obedecendo-se o tempo de 1 minuto para o ajuste do fator de velocidade. Para validação do método todas as análises foram feitas em triplicata.

4.2.8 Doseamento do fármaco

Para realizar o doseamento do cetoconazol nas formulações de xampu foi necessária a extração do mesmo das formulações, utilizando o metanol para este fim. As soluções-padrão foram preparadas usando o metanol como solubilizante do cetoconazol na mesma concentração das formulações.

4.2.8.1 Extração do cetoconazol das formulações e preparo das soluções

Alíquotas de 10mL das amostras de formulações com cetoconazol 2% p/v (equivalente a 200mg de cetoconazol) foram colocadas em um béquer onde receberam 70mL de metanol e foram submetidas à agitação mecânica à temperatura ambiente durante 30min sendo em seguida transferidas para balão volumétrico de 100mL completando-se o volume com metanol e a solução filtrada em papel. As soluções-padrão foram obtidas substituindo-se as formulações por exatamente 200mg de cetoconazol. Para realização das leituras em espectrofotometria foi necessário o preparo de uma amostra branco, que é a amostra de uma matriz na qual nenhum analito foi adicionado e é utilizada para avaliar a especificidade do método analítico (BRASIL, 2003); O branco foi obtido pelo mesmo processo de extração empregando-se, no entanto, formulação isenta de cetoconazol.

4.2.8.2 Doseamento das amostras utilizando o método de espectrofotometria UV-Visível

As soluções metanólicas obtidas das formulações de cetoconazol 2% p/v ou do princípio ativo foram colocadas em cubetas de quartzo e os valores de absorbância detectados em espectrofotômetro após exposição à radiação ultravioleta no comprimento de onda de 266nm. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.8.3 Determinação da taxa de incorporação do cetoconazol nos sistemas microemulsionados e da taxa de recuperação do ativo no xampu base com cetoconazol

Os ensaios espectrofotométricos feitos para a determinação da taxa de incorporação do cetoconazol foram realizados utilizando solução metanólica de cetoconazol 2% p/v, microemulsão com cetoconazol 4% p/v, xampu base com cetoconazol 2% p/v, xampu

microemulsionado com cetoconazol 2% p/v, solução aquosa acidificada com cetoconazol 2% p/v, todos diluídos na concentração de princípio ativo de 100 µg/mL.

Os valores da taxa de incorporação do cetoconazol nas microemulsões e da taxa de recuperação no xampu base com cetoconazol foram obtidos através das equações 10 e 11.

$$\% \text{ Incorporação} = A_{SMC} - A_{MEC \text{ ou } XMC} \times 100/A_{SMC} \quad (10)$$

Onde:

A_{SMC} : Absorbância da solução metanólica de cetoconazol

A_{MEC} : Absorbância da Microemulsão com cetoconazol

A_{XMC} : Absorbância do xampu microemulsionado com cetoconazol

$$\% \text{ recuperação} = A_{SMC} - A_{XBC \text{ ou } SAC} \times 100/A_{SMC} \quad (11)$$

Onde:

A_{SMC} : Absorbância da solução metanólica de cetoconazol

A_{XBC} : Absorbância do xampu base com cetoconazol

A_{SAC} : Absorbância da solução aquosa acidificada com cetoconazol

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Validação da metodologia de dosagem

A validação tem como objetivo demonstrar que o método analítico é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos (BRASIL, 2003).

A seleção do comprimento de onda mais adequado para as condições experimentais foi realizada por meio da varredura do espectro da faixa de 260 a 310nm, utilizando uma solução metanólica de 150 μ g/mL de cetoconazol. De acordo com o espectro de varredura (figura 11) a maior absorção da solução ocorreu em 266nm, sendo, portanto, o comprimento de onda selecionado para as análises do cetoconazol. Vários trabalhos utilizaram comprimentos de onda na faixa especificada para análise deste princípio ativo. Proença et al. (2007) realizaram leituras de amostra de solução-padrão de cetoconazol em todo o espectro para a identificação do comprimento de onda mais conveniente, sendo o comprimento de 267nm considerado o mais apropriado para a análise. Spósito (2008) utilizou o comprimento de onda de 260nm para construção da curva de calibração do cetoconazol em espectrofotometria ultravioleta. Santos et al. (2009) realizaram leituras na faixa de comprimento de onda de 200 a 400nm, escolhendo o comprimento de 269nm como o ideal para análise deste princípio ativo.

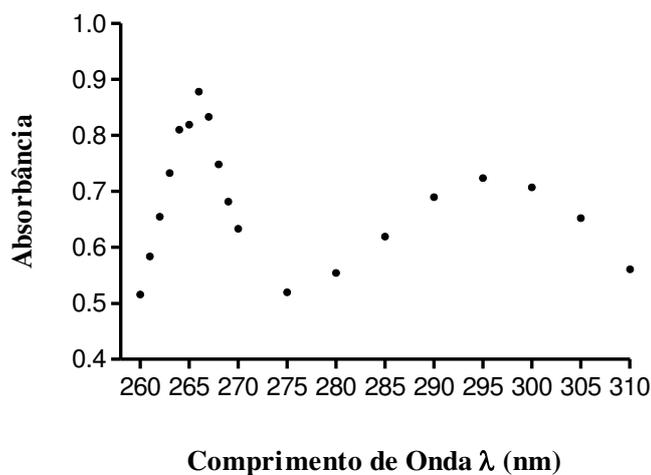


Figura 11 – Espectro de varredura do cetoconazol ($\lambda = 266$ nm) a 150 μ g/mL em MeOH. Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

A curva de calibração foi obtida empregando-se soluções metanólicas de cetoconazol nas concentrações de 25µg/mL, 50µg/mL, 75µg/mL, 100µg/mL e 150µg/mL. Obteve-se a equação da reta para a análise dos resultados através de estudos de regressão linear, analisando-se as concentrações de cetoconazol e suas respectivas leituras. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,999, indicando uma regressão linear significativa ($p < 0,0001$), demonstrando uma linearidade aceitável na faixa estudada, uma vez que, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser 0,99 (BRASIL, 2003). Os respectivos valores do coeficiente de variação obtidos na análise apresentaram-se todos inferiores ao limite máximo de 5% especificado pela RE 899 (BRASIL, 2003).

Sendo assim, é possível visualizar graficamente na figura 12, a curva padrão do cetoconazol. A equação da reta para a mesma apresentou-se como: $y = 0,00567x + 0,0306$ onde x é a concentração em µg/mL e y a absorbância do espectro.

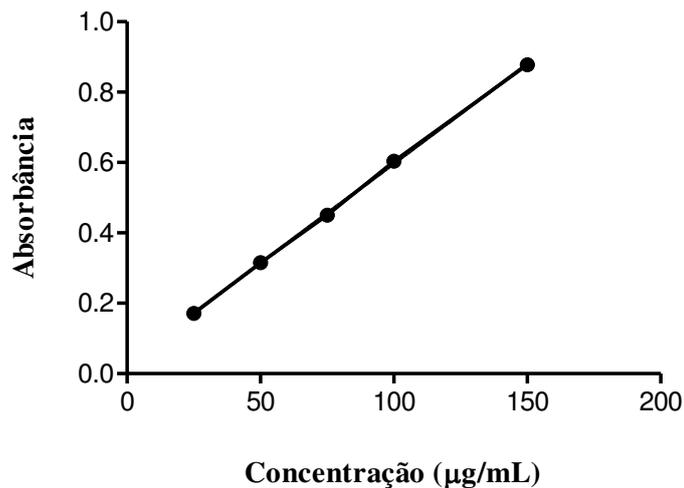


Figura 12 – Curva padrão de soluções de cetoconazol obtida por espectrofotometria UV-Vis a 266nm (n=3). Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

A exatidão, que é a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo de análise, constitui a chave para o propósito da validação (BRITO et al., 2003). O método apresentou exatidão entre 98,8 e 101,1% conforme os resultados da tabela III. Desta forma, o método pode ser considerado exato, pois segundo Brito (2001) quando a concentração do analito é $\geq 0,1$ e $< 1\%$ o intervalo de recuperação aceito é na faixa de 95 a 105%. As amostras em questão possuíam concentração do analito entre 0,125 e 0,75%, estando, portanto, os seus valores de recuperação dentro do limite preconizado.

Tabela III – Resultados da exatidão para diferentes concentrações de cetoconazol em espectrofotometria UV-Vis.

Concentração do cetoconazol ($\mu\text{g/mL}$)				Dados Estatísticos			
Teórica	Experimental			Média	D.P.*	C.V.** (%)	Exatidão (%)
25	25,46	24,93	23,88	24,76	0,804	3,2	99,0
50	48,57	51,92	50,33	50,27	1,676	3,3	100,5
75	71,85	73,61	76,79	74,08	2,504	3,4	98,8
100	99,54	101,48	102,18	101,07	1,368	1,4	101,1
150	149,1	148,21	151,04	149,45	1,447	1	99,6

* D.P. - Desvio padrão

** C.V. - Coeficiente de variação

A precisão do processo analítico é o parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Para a determinação da precisão utilizou-se a concentração de $100\mu\text{g/mL}$ em 6 repetições (tabela IV), obtendo-se um coeficiente de variação de 1,3%, o que qualifica o método como preciso, pois, em função da concentração do analito, o coeficiente de variação aceitável deve ser inferior a 5,6% (BRITO et al., 2003) e a 5% (BRASIL, 2003).

Tabela IV – Valores experimentais obtidos para o ensaio de repetibilidade para a quantificação do cetoconazol por espectrofotometria UV-Vis.

Absorbâncias (266nm)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
0,622	104,3
0,624	104,6
0,626	105,0
0,630	105,7
0,631	105,9
0,643	108,0
Média	105,6
D.P.	1,3
C.V (%)	1,3

Os valores do Limite de detecção e Limite de quantificação foram, respectivamente, 2,67µg/mL e 8,9µg/mL. Os valores reportados são considerados satisfatórios, para o propósito do método, demonstrando sua aplicabilidade para análise do cetoconazol nas concentrações avaliadas.

A avaliação da robustez que a medida da capacidade que o método apresenta em se manter inalterável através de pequenas, mas deliberadas modificações em seus parâmetros, se deu em relação à concentração, solubilidade em diferentes tipos de solvente e variação de pH de soluções contendo cetoconazol. Como disposto na tabela V, o método sofre interferência em relação a tais parâmetros, pois a quantidade de cetoconazol solubilizada é variável em relação ao solvente empregado e ao pH, sendo o método considerado robusto nas condições de solubilidade em metanol.

Tabela V – Análise da robustez do método de dosagem do cetoconazol em espectrofotometria UV-Vis.

Solvente	Cetoconazol 2% (mg/mL)				Dados Estatísticos		
	C. Teórica	C. Experimental			Média	D.P.	C.V (%)
Metanol	20	19,9	20,3	20,4	20,2	0,2646	1,3
Água pH 2,5	20	11,3	11,4	12,0	11,6	0,37	3,2
PEG 400	20	6,5	6,4	6,6	6,5	0,095	1,4
Água pH 5,5	20	1,0	1,01	1,01	1,0	0,020	2,0
Tween 20 10%	20	0,88	0,87	0,90	0,88	0,02	1,7
Tween 80 3%	20	0,057	0,058	0,055	0,057	0,002	3,5
Óleo de Soja	20	0,029	0,028	0,03	0,029	0,001	3,4
Óleo de Rícino	20	0,0069	0,0067	0,0068	0,0068	0,0001	1,4
Água pH 7,0	20	0,0067	0,0069	0,0071	0,0069	0,0002	2,9
Óleo Mineral	20	0,0036	0,0037	0,0035	0,0036	0,0001	2,8
Etanol 15%	20	0	0	0	0	0	0

Solvente	Cetoconazol 4% (mg/mL)				Dados Estatísticos		
	C. Teórica	C. Experimental			Média	D.P.	C.V (%)
Metanol	40	39,6	39,2	39,9	39,6	0,35	0,9
Água pH 2,5	40	17,72	17,65	18,03	17,8	0,2022	1,1
Água pH 5,5	40	0,6	0,58	0,6	0,59	0,0115	1,9
Água pH 7,0	40	0,007	0,007	0,007	0,0071	0,0002	2,8

5.2 Estudo de solubilidade do cetoconazol

Diante dos resultados da tabela V percebe-se a pouca solubilidade do cetoconazol na maioria dos solventes empregados, apresentando-se solúvel satisfatoriamente apenas em metanol, o que justifica o uso de microemulsões para melhorar os parâmetros de solubilidade deste princípio ativo, uma vez que a solubilização em metanol só é considerada para fins analíticos, não podendo, em nenhuma hipótese, ser utilizado como componente de uma formulação, pela toxicidade que apresenta.

Devido a sua elevada capacidade de solubilização, as microemulsões, são importantes alternativas para incorporação de grandes quantidades de fármacos (NAZAR, KHAN E SHAH, 2009). Nemen e Lemos-senna (2011) utilizaram MEs para incorporar o resveratrol, que apresenta solubilidade aquosa de unicamente 0,03 mg/mL sendo que a concentração final na ME foi cerca de 28 vezes maior que a solubilidade aquosa do mesmo. Nazar, Khan e Shah (2009) empregaram MEs para aumentar a solubilidade de uma droga altamente hidrofóbica, o piroxicam, conseguindo solubilizar altas concentrações do fármaco.

5.3 Preparo dos sistemas microemulsionados (Construção do diagrama pseudoternário)

O procedimento empregado na construção dos Diagramas de fases Pseudoternários, em sua maioria, constitui-se de preparação de uma mistura binária (tensoativos/óleo) com posterior titulação de um terceiro componente (água), avaliando-se a mistura a cada adição (MACEDO, 2005). As mudanças de composição traduzem importantes variações nas propriedades termodinâmicas dos compostos (OLIVEIRA et al., 2004). De tal modo, a construção do diagrama pseudoternário é uma ferramenta fundamental para determinar as regiões de microemulsão, bem como, em que proporção dos componentes outras estruturas podem estar presentes (FORMARIZ, 2004).

Foi elaborado um diagrama de fases (figura 13) a partir de uma série de combinações de mistura do Etanol (C)/PEG 400 (T) com óleo de soja (FO), cujos pontos experimentais obtidos através das titulações da FA, refletiram as regiões de separação de fases e estabeleceram as regiões de domínio das MEs.

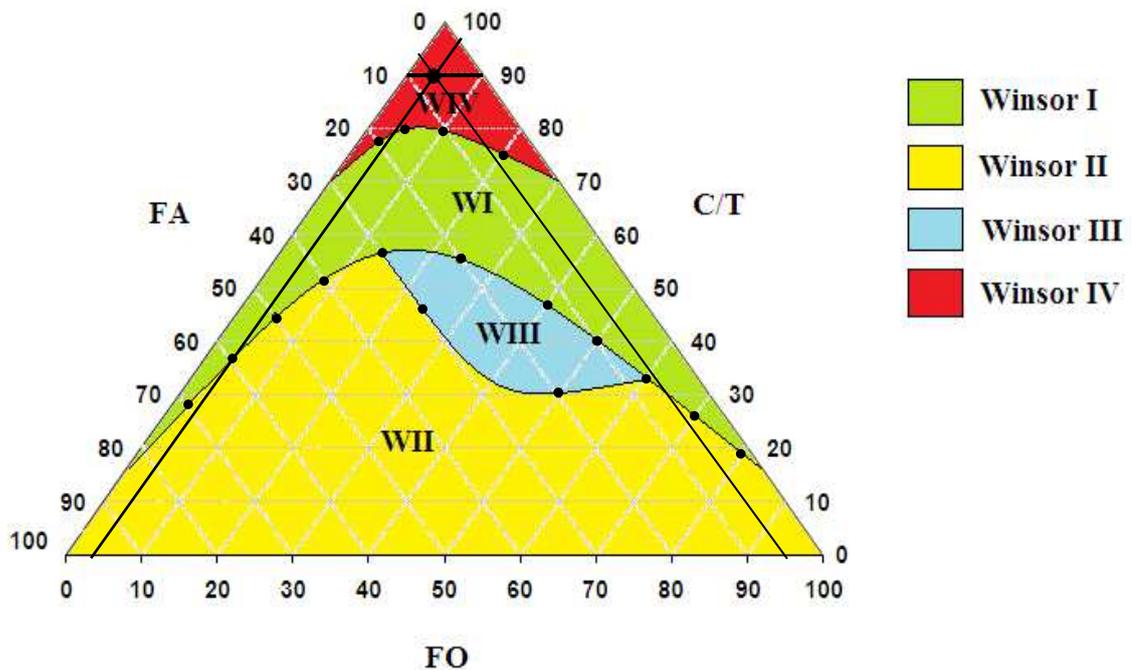


Figura 13 – Diagrama de fase pseudoternário para o sistema Etanol/PEG 400 ($C/T = 0,30; 0,235:0,765$), óleo de soja e água destilada. Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

Segundo Macedo (2005), as regiões do diagrama, particularmente com composição nas proximidades do eixo binário óleo/água, onde a quantidade de tensoativo é insuficiente para a formação de uma única fase, podem existir sob a forma de múltiplas fases, cuja complexidade aumenta com o número dos componentes da mistura. Estes sistemas multifásicos podem ser descritos pela classificação de Winsor.

No diagrama apresentado observa-se um predomínio das regiões de Winsor I, II e III. Ocorreu a formação de ME em uma pequena região do diagrama com proporção de FO de no máximo 10% e de FA inferior a 20%. As ME só se formaram com elevadas proporções de MT acima de 80%, sendo a razão $C/T = 0,30$ a que favoreceu esta formação. Proporções maiores de FO e menores de MT predisuseram a formação de sistemas multifásicos. Segundo Barros Neto (1996), o aumento da cadeia hidrofóbica da fase oleosa promove a diminuição da região de microemulsão, devido às interações entre a molécula do óleo e a cadeia do tensoativo afetando a curvatura da interface óleo-água. O óleo de soja por apresentar uma cadeia longa de 18 átomos de carbono certamente contribuiu para a ocorrência deste fenômeno.

Para o preparo da microemulsão empregada neste trabalho utilizou-se as proporções dos componentes descritos na tabela VI, conforme ponto indicado na figura 11.

Tabela VI – Componentes e proporções utilizadas para preparo das MEs do presente estudo.

Fase	Componentes	%
Cotensoativo/Tensoativo	Etanol/PEG 400	90
Fase Aquosa	Água destilada	6
Fase Oleosa	Óleo de soja	4

Observa-se, na tabela correspondente, que a região utilizada é rica em mistura tensoativa e contém pouca fase aquosa e muito pouca fase oleosa. A estrutura que melhor representa essa região consiste de uma fase contínua onde a mistura de tensoativo/cotensoativo, óleo e água encontram-se em fase lamelar, na qual o tensoativo e o cotensoativo organizam-se na interface contínua óleo/água, separando ambas as fases (OLIVEIRA et al., 2004).

A figura 14 mostra os resultados da classificação Winsor desta pesquisa, a qual possibilitou a determinação experimental das regiões limites de transição, ou seja, equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase oleosa em excesso (Winsor I), equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase aquosa em excesso (Winsor II), sistema trifásico óleo/emulsão/água (Winsor III) e formação de um sistema monofásico (Winsor IV), característico das ME.

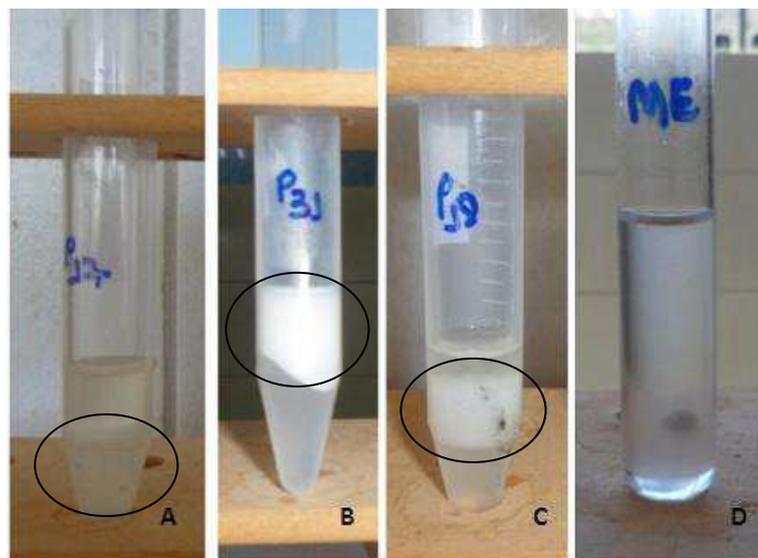


Figura 14 – Representação da classificação de Winsor, concebidos respectivamente por Winsor I (A), Winsor II (B), Winsor III (C) e Winsor IV (D). Fotos: Maria da Glória Batista de Azevedo, Abril de 2012 (Laboratório de Farmacotécnica, UFCG/CES).

A formação da microemulsão foi confirmada através de sua transparência visual, conforme evidenciado na figura 14-D.

Após o preparo da ME, 40mg/mL de cetoconazol foi adicionado ao sistema microemulsionado apresentando uma excelente solubilização, evidenciada pela alta taxa de incorporação do ativo na microemulsão, confirmada no subitem 5.6.

5.4 Preparo do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e xampu microemulsionado com cetoconazol 2% p/v

As formulações de xampu base, xampu base de cetoconazol 2% p/v e xampu microemulsionado com cetoconazol 2% p/v (figura 15) foram preparados conforme subitens 4.2.5 e 4.2.6.

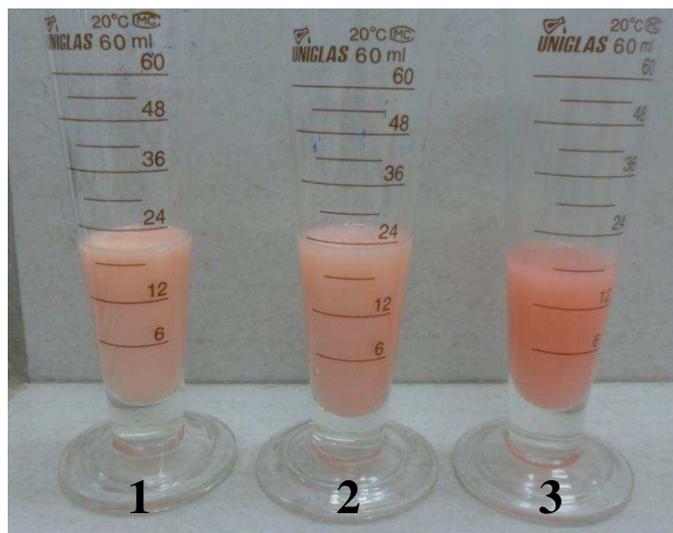


Figura 15 – Formulações de xampu desenvolvidas: 1 – Xampu base; 2 – Xampu base com cetoconazol 2% p/v; 3 – Xampu microemulsionado com cetoconazol 2% p/v. Foto: Maria da Glória Batista de Azevedo, Abril de 2012 (Laboratório de Farmacotécnica, UFCG/CES).

5.5 Caracterização físico-química do xampu base, xampu base com cetoconazol 2% p/v e microemulsionado com cetoconazol 2% p/v

Alguns parâmetros físicos e químicos precisam ser verificados nos xampus, pois refletem a qualidade do produto final. No presente estudo os parâmetros avaliados incluem a análise das características organolépticas, o pH e a viscosidade.

5.5.1 Avaliação macroscópica e das características organolépticas

A formulação de xampu base de cetoconazol mostrou-se homogênea 24 horas após o preparo, não apresentando separação de fases nem formação de precipitados. A cor e o odor mantiveram-se inalterados.

O xampu microemulsionado, no entanto, apresentou precipitação da base perolada mostrando incompatibilidade da mesma com a microemulsão incorporada. A cor e o odor permaneceram sem alteração.

A utilização de base perolada auxilia na conceituação dos produtos capilares, pois permite que se relacione a aparência do xampu à sua função. O brilho pérola também agrega valor ao produto e é utilizado para mascarar aspectos visuais não atrativos como cor, turbidez e presença de ativos insolúveis em suspensão (FERREIRA, 2008). No entanto, verificou-se que no xampu microemulsionado desenvolvido não houve a necessidade de mascarar aspectos visuais optando-se pela retirada da base pérola das futuras formulações.

5.5.2 Determinação do pH

Quando em boas condições, o pH do couro cabeludo está entre 4 e 5. A utilização de tipos específicos de xampu pode ocasionar alterações nestes valores, promovendo modificações na estrutura capilar. A tabela VII apresenta os valores de pH das amostras de xampu analisadas.

Tabela VII – Valores de pH das amostras de xampu pesquisadas.

Amostras de Xampu	Valores do pH \pm DP
Xampu base sem cetoconazol	5,56 \pm 0,06
Xampu base com cetoconazol	5,69 \pm 0,14
Xampu microemulsionado com cetoconazol	5,53 \pm 0,05
Xampu de referência	7,09 \pm 0,03

De acordo com os resultados expostos na tabela VII, os xampus elaboradas neste trabalho apresentaram um pH ligeiramente ácido enquanto o produto de referência apresentou um pH neutro.

É aconselhável que os xampus de uso diário tenham o pH na faixa de 5 a 7, pois com pH acima de 7, abrirá as cutículas dos cabelos mais profundamente (FEREIRA, 2008). Desta forma, um xampu que apresente pH neutro, obviamente é melhor para os cabelos que um de pH alcalino, porém o ideal é que ele possua um pH levemente ácido (BARBOSA E SILVA, 1995).

Formulações de xampu contendo suspensões de nanocápsulas e nanopartículas de cetoconazol e com o fármaco livre, preparadas por Pons Junior (2011) apresentaram faixa semelhante de pH entre 5,2 – 5,9. Fujiwara et al. (2009), prepararam xampus de cetoconazol com ajuste de pH para 5,5, o mesmo ocorrendo com xampu preparado por Staub et al. (2007).

Ainda com relação à importância do pH em formulações contendo cetoconazol, Skiba et al. (2000) estudaram a estabilidade do cetoconazol em formulações aquosas e os resultados assinalaram uma maior estabilidade química para as formulações armazenadas à temperatura ambiente em faixa de pH 5,0 a 9,0. Também é relevante ressaltar que um xampu levemente ácido melhora a ação antimicótica do cetoconazol, servindo ainda como proteção ao couro cabeludo (PONS JUNIOR, 2011).

5.5.3 Determinação das viscosidades

A viscosidade é outro parâmetro importante, que constantemente é relacionada com a qualidade do produto, muito embora tal relação nem sempre seja válida. Por essa razão, o comportamento reológico deve ser adequado a formulação, de modo a garantir uma fácil espalhabilidade no couro cabeludo, sem escorrer das mãos durante a aplicação (CASTELI et al., 2008; FERREIRA, 2008). As viscosidades dos xampus analisados apresentam-se na tabela VIII.

Tabela VIII – Resultados da viscosidade das amostras analisadas.

Amostra de xampu	Viscosidade (cP) ± DP
Xampu base sem cetoconazol	3100 ± 100
Xampu base com cetoconazol	1150 ± 25
Xampu microemulsionado com cetoconazol	887 ± 17
Xampu de referência	14100 ± 100

O pH ácido das formulações de xampu pode provocar instabilidade dos tensoativos, resultando em alteração da viscosidade do produto final (WILKINSON E MOORE, 1990), informação evidenciada quando se confronta os valores de pH e viscosidades presentes nas tabelas VII e VIII. No entanto, esta alteração pode ser corrigida com o uso de agentes de viscosidade sendo utilizado o sepigel® nas formulações desenvolvidas nesta pesquisa.

Outro fator importante na alteração da viscosidade pode ser a incorporação de ativos como o cetoconazol, pois no momento do preparo da fórmula contendo o fármaco livre notou-se que houve uma redução da consistência do produto imediatamente após sua adição, fato que pode ser observado quando se compara o xampu base com o xampu base acrescido de cetoconazol. No caso específico do xampu microemulsionado, a alta concentração de etanol presente na microemulsão proporciona uma diminuição considerável da viscosidade, o qual necessita de uma quantidade suficiente de espessante para ajustar a viscosidade em torno do ideal.

Corroborando estas observações, Pons Junior (2011) desenvolveu xampus contendo nanocápsulas, micropartículas e cetoconazol livre, os quais apresentaram baixas viscosidades estando em torno de 295 e 784 cP. Fujiwara et al. (2009) prepararam diferentes formulações de xampu de cetoconazol tendo, em sua maioria, viscosidades abaixo de 1400 cP.

Os xampus de tratamento, em especial os anticaspa, devem apresentar uma viscosidade que permita uma boa aderência ao couro cabeludo facilitando a ação antimicrobiana, todavia deve permitir um fácil escoamento da embalagem, o que não ocorre quando a viscosidade é exageradamente alta. Para melhorar o desempenho do xampu é necessário que o consumidor deixe o produto agir por alguns minutos antes de enxaguar. (CUNHA, SILVA E CHORILLI, 2009).

5.6 Determinação da taxa de incorporação do cetoconazol nos sistemas microemulsionados e taxa de recuperação do ativo no xampu base com cetoconazol

Substituindo os valores de absorção da solução metanólica de cetoconazol ($0,603 \pm 0,007$), da microemulsão contendo cetoconazol ($0,093 \pm 0,013$) e do xampu microemulsionado com cetoconazol ($0,030 \pm 0,004$) na equação 10, obteve-se uma taxa de incorporação do cetoconazol na microemulsão de 84,6% e no xampu microemulsionado de 95%. Este aumento na taxa de incorporação do cetoconazol no xampu em relação à microemulsão pode ser explicado pela presença de agentes tensoativos em sua composição,

havendo uma estabilização adicional do sistema microemulsionado convergindo em uma maior solubilização e conseqüente incorporação do cetoconazol.

Vários estudos encontrados na literatura revelam que as MEs conseguem incorporar grandes quantidades de diversos fármacos. Em estudo realizado por Franzini (2006) utilizando MEs e subemulsões para incorporação de Anfotericina B encontrou-se uma taxa de incorporação do fármaco de 90,8%. Sposito (2008) conseguiu incorporar em torno de 95% de cetoconazol em nanoemulsões. Silva et al. (2009b) obtiveram uma eficiência de encapsulação do diclofenaco de dietilamônio de 101%, mostrando uma completa incorporação do fármaco numa ME em forma de gel. Nemen e Lemos-senna (2011) obtiveram uma taxa de incorporação em torno de 80% de resveratrol em ME conseguindo uma eficiência de encapsulação de 94%.

No caso específico do xampu base com cetoconazol 2% p/v foi calculada a taxa de recuperação do princípio ativo uma vez que o mesmo encontra-se livre na formulação. Levando em consideração as absorvâncias do espectro ($0,382 \pm 0,014$) e substituição na equação 11, a taxa de recuperação do cetoconazol foi de 63%, mostrando que a solubilização do cetoconazol em água acidificada para posterior incorporação no xampu promove uma perda considerável do ativo. Tal comportamento foi evidenciado com o preparo de uma solução aquosa acidificada acrescida de cetoconazol ($0,358 \pm 0,010$) onde obteve-se o resultado de 59% de recuperação do ativo.

A utilização dos sistemas microemulsionados mostra-se como uma excelente alternativa para solubilização eficiente do cetoconazol, garantindo uma alta taxa de incorporação. O presente trabalho demonstra que o xampu base com solubilização do cetoconazol em meio ácido, proporciona uma perda do ativo que pode interferir na sua atividade terapêutica, uma vez que apresenta concentração final de cetoconazol de 1,2%. Desta forma, o xampu microemulsionado mostra-se como uma promissora forma cosmética para este princípio ativo, por proporcionar solubilização adequada do cetoconazol, necessitando, no entanto, comprovar o teor de cetoconazol presente e a eficácia microbiológica deste xampu.

As MEs podem ainda modificar intensamente a velocidade de liberação de fármacos, oferecendo melhorias como aumento da solubilidade e absorção e controle da biodisponibilidade. Podem alterar parâmetros farmacocinéticos diminuindo a toxicidade e aumentando a eficácia terapêutica de fármacos (FRANZINI, 2006).

Experimentos conduzidos por Oliveira et al (2004) mostraram que ME O/A, contendo miristato de isopropila como fase interna e mistura de brometo de hexadeciltrimetilamônio

(CTAB)/etanol (1:1) como tensoativo, aumentam significativamente a solubilidade do antiinflamatório não esteróide naproxeno e sua atividade antiinflamatória em ratos foi expressivamente mais intensa com ME como veículo, em relação ao naproxeno veiculado em sistema tampão.

Chen et al. (2004) estudaram o uso das microemulsões para a administração transdérmica da triptolida, fármaco com atividade antidepressiva, anti-fertilidade e anti-câncer. Várias formulações de microemulsão foram preparadas usando o ácido oléico como óleo, o tween 80 como tensoativo e o propilenoglicol como cotensoativo. A microemulsão com a triptolida mostrou uma permeação *in vitro* por peles de rato comparável a de uma solução aquosa de propilenoglicol a 20%, contendo 0,025% de triptolida, sem causar nenhum irritação local. Os resultados indicaram que os sistemas estudados em microemulsão, podem ser veículos promissores para a administração transdérmica da triptolida

Dalmora, Dalmora e Oliveira (2001) estudaram o perfil de liberação *in vitro* do piroxicam em tampão fosfato pH 5,5, em ME e em ME contendo polímero carboxivinílico (Carbopol 940®), demonstrando que a incorporação do piroxicam na ME catiônica interfere muito significativamente no processo de liberação *in vitro*, produzindo inibição significativa da velocidade de liberação.

Franzini (2006), desenvolveu MEs acrescidas de Anfotericina B, as quais modularam a velocidade de liberação do fármaco, tornando-a mais lenta e, portanto, prolongada.

6 CONCLUSÃO

Este estudo tem extrema importância no desenvolvimento tecnológico de formas cosméticas e/ou farmacêuticas, visto que, diversas substâncias ativas não apresentam solubilidade desejada para incorporação em formas clássicas. Os dados obtidos permitiram concluir que:

- A dosagem do cetoconazol por espectrofotometria propicia linearidade, exatidão e precisão suficientes, conforme os resultados da validação divulgados;
- O teste de solubilidade do cetoconazol revelou uma solubilização suficiente do ativo apenas em metanol;
- O diagrama de fases pseudoternário apresentou-se como importante ferramenta para delimitação das regiões de ME;
- O estudo de solubilização do cetoconazol por microemulsão mostrou-se válido, pois, a formulação selecionada apresentou uma excelente eficiência na solubilização do cetoconazol, obtendo-se uma solubilidade máxima de 40mg/mL de princípio ativo na microemulsão contendo MT 90%, FO 4% e FA 6%, resultando em uma concentração de 20mg/mL no xampu microemulsionado;
- Os parâmetros físico-químicos foram aceitáveis para as formulações de xampu manipuladas, precisando de ajustes apenas na viscosidade do xampu microemulsionado;
- A taxa de incorporação do cetoconazol na microemulsão e xampu microemulsionado fora satisfatória, com valores de incorporação superiores a 80%. Em contrapartida, a taxa de recuperação do cetoconazol no xampu base foi de apenas 63%, mostrando que a solubilização em meio ácido promove uma perda do ativo, o que pode interferir na eficácia anticaspa do xampu.

Como perspectivas futuras, pretende-se avaliar a estabilidade acelerada e eficácia microbiológica do xampu microemulsionado, uma vez que, a microemulsão pode influenciar

na evolução estrutural da formulação durante o armazenamento. Bem como, utilizar novos constituintes para preparo das microemulsões e desenvolver a metodologia para determinação do teor de cetoconazol na microemulsão e xampu microemulsionado.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA I.F.; BAHIA, M.F. Reologia: interesses e aplicações na área cosmético-farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries**, V. 15, n. 3, p 96-100, mai/jun 2003.

ALLEN, L.V.; ERICKSON, M.A. Stability of ketoconazole, metolazone, metronidazole, procainamide hydrochloride and spirinolactone in extemporaneously compounded oral liquids. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, v. 53, p. 2073-2078, 1996.

ANTONIO, M.E.C.O. **Permeação cutânea *in vitro* como ferramenta auxiliar para o estudo de formulações semi-sólidas de cetoconazol para aplicações tópicas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 677 p.

BAGWE, R.P.; KANICKY, J.R.; PALLA, B.J.; PATANJALI, P.K.; SHAH, D.O. Improved drug delivery using microemulsions: Rationale, recent progress, and new horizons. **Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.**; 18(1):77-140, 2001.

BARBOSA, A.B.; SILVA, R.R. Xampus. **Química Nova na Escola**, n. 2, p. 3-6, 1995.

BARROS NETO, E.L. **Extração de cobre utilizando microemulsões: otimização e modelagem**. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1996.

BECHER, P. Hydrophile-lipophile balance: history and recent developments. **Journal Dispersion Science and Technology**.V.5, p.81-96, 1984

BOUCHEMAL, K; BRIANÇON, S.; PERRIER, E.; FESSI, H. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, iol and surfactant optimization. **International Journal of Pharmaceutics**, v.280, n.1-2, 241-251, 2004.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RE nº 899 de 29 de maio de 2003 – **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?mode>>. Acesso em: 20 de fevereiro 2012.

BRITO, N.M. **Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica). Universidade Estadual Paulista. São Paulo, 2001.

BRITO, N.M.; AMARANTE JUNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticida: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

BULMER, A.C.; BULMER, G.S. The antifungal action of dandruff shampoos. **Mycopathologia**. 147 (2): 63-65, 1999.

CABRAL, I.E. (rev.); VOEUX, P.L. (trad.). **Farmacologia clínica.** Série incrivelmente fácil. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001.

CAPEK, I. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.110, n.1/2, p.49-74, 2004.

CASTELI, V.C.; MENDONÇA, C.C.; CAMPOS, M.A.L.; FERRARI, M.; MACHADO, S.R.P. Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%. **Acta Sci. Health Sci.** Maringá, v. 30, n. 2, p. 121-128, 2008.

CHEN, H.; CHANG, X.; WENG, T.; ZHAO, X.; GAO, Z.; YANG, Y.; XU, H.; YANG, X. A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. **Journal of Controlled Release**, v.98, p.427-436, 2004.

CUNHA, A.R.; SILVA, R.S.; CHORILLI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de formulações de xampu anticaspa acrescidas ou não de extratos aquosos de hipérico, funcho e gengibre. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 3, p.190-195, 2009.

CUNHA JÚNIOR, A.S.; FIALHO, S.L.; CARNEIRO, L.B.; ORÉFICE, F. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica. **Arq Bras Oftalmol.**; 66:385-91, 2003.

DALMORA, M.E.; DALMORA, S.L.; OLIVEIRA, A.G. Inclusion complex of piroxicam with α -cyclodextrin and incorporation in cationic microemulsion. In vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect. **International Journal of Pharmaceutics**, v.222, n.1, p.45-55, 2001.

DAMASCENO, B.P.G.L. **Sistema microemulsionado como carreador lipídico para fármacos insolúveis**. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2010.

DAMASCENO, B.P.G.L.; SILVA, J.A.; OLIVEIRA, E.E.; SILVEIRA, W.L.L.; ARAÚJO, I.B.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2(1):9-18, 2011.

DAVIES, J.T.; RIDEAL, E.K. **Interfacial phenomena**. 2.ed. New York: Academic Press, 1963.

DIAS, T.; FERNANDES, O.F.L.; SOARES, A.J.; PASSOS, X.S.; COSTA, M.; SOUZA, L.K.H.; SILVA, M.R.R. Tinha do couro cabeludo em crianças de Goiânia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 6, p. 653-655, 2003.

DUARTE, L.J.N. **Estudo de sistemas microemulsionados para evitar sais de cálcio em incrustações industriais**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2001.

DURÁN, N.; MATOSSO, L.H.C.; MORAIS, P.C. **Nanotecnologia, introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. 1.ed. São Paulo: Artliber, p. 161-164, 2006.

FERREIRA, A. **Guia Prático da Farmácia Magistral**. 3.ed. São Paulo: Pharmabooks, v.1, 2008.

FONSECA, A.; PRISTA, N.L. **Manual de terapêutica dermatológica e Cosmetologia**. São Paulo: Roca Ltda., 2000.

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

FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; SILVA JR., A.A.; GREMIÃO, M.P.D.; OLIVEIRA, A.G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.3, p.301-313, 2005.

FORMULÁRIO TERAPÊUTICO NACIONAL: Rename 2010. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 1135 p. 2010.

FRANZINI, C.M. **Estudo de microemulsões e subemulsões contendo anfotericina B para administração oral.** 146 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2006.

FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. **Farmacologia clínica, fundamentos da terapia racional,** 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, p. 431-444, 2006.

FUJIWARA, G.M.; COSTA, C.K.; ZANIN, S.M.W.; MIGUEL, M.D. Avaliação de diversas formulações de xampus de cetoconazol quanto ao emprego de diferentes antioxidantes e solubilizantes. **Visão Acadêmica,** Curitiba, v.10, n.2, 2009.

GOMES, D.A.A. **Aplicação de microemulsões na solubilização de frações pesadas de petróleo.** 124p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 10. ed. Rio de Janeiro: McGrw-Hill interamericana, S.A. DE C.V, p. 1103-1117, 2006.

GRIFFIN, W.C.J. Classification of surface-active agents by HLB. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists,** v.1, p.311, 1949.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent water-on-oil dispersions, the oleopathic hydro-micelle. **Nature,** 152:102-3, 1943.

HARDING, C.R. Dandruff: a condition characterized by the decreased levels of intercellular lipids in scalp stratum corneum and impaired barrier function. **Arch. Dermatol. Res,** 294: 221-230, 2002.

KARASULU, H.Y. Microemulsions as novel drug carriers: the formation, stability, applications and toxicity. **Expert Opinion on Drug Delivery.** Jan: 5(1): 119-35, 2008.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica.** 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 909-911, 2003.

KAWAKAMI, K.; YOSHIKAWA, T.; MOROTO, Y.; KANAOKA, E.; TAKAHASHI, K.; NISHIHARA, Y.; MASUDA, K. Microemulsion formulation for enhanced absorption of poorly soluble drugs. I. **Prescription design, Journal of Controlled Release**, v.81, n.1/2, p.65-74, 2002.

KUNEIDA, H.; UMIZU, G.; YAMAGUCHI, Y. Mixing effect of polyoxyethylene-type nonionic surfactants on the lipid crystalline structures. **J. Coll. Int. Sci.**, London, v.218, p.88-96, 1999.

LAHOUD, M.H.; CAMPOS, R. Aspectos teóricos relacionados à reologia farmacêutica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.1, Jan/Jun, 2010.

LANGE, K.R. **Surfactants – A practical handbook**. Munich: Hanser Publishers, 1999.

LAWRENCE, M.J.; REES, G.D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Adv Drug Delivery Rev.** Dec 6;45(1):89-121, 2000.

LEUNG, R.; SHAH, D.O. Solubilization and phase equilibria of water-in-oil microemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.120, n.2, p.330-344, 1986.

LUCENA NETO, M.H. **Estudo da influência de tensoativos em sistemas microemulsionados na extração de gálio e alumínio**. 160p. Tese (Doutorado em engenharia Química - Área de concentração: Tecnologia de tensoativos e processos de separação). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2005.

LUNDBERG, B.B.; MORTIMER, B.C.; REDGRAVE, T.G. Submicron lipid emulsions containing amphiphatic polyethylene glycol for use as drug-carriers with prolonged circulation time. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.134, p.119-127, 1996.

MACEDO, J.P.F. **Uso de diagramas ternários e HLB como ferramenta de previsão da estabilidade de sistemas emulsionados**. 72p. Dissertação (Mestrado Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2005.

MASSEY, B.S. **Mecânica dos fluidos**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002. 998 p.

MARSHALL, K.C.; CRUICKSHANK, R.H. Cell surface hydrophobicity and the orientation of certain bacteria at interfaces. **Archives of Microbiology**, v.91, p.29-40, 1973.

MARTINDALE: **The complete drug reference**. 36.ed. Pharmaceutical Press, 2009.

MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Bras. Pneumologia**, v.32, m.5, p. 449-60, 2006.

MENDONÇA, C.R.B. **Desenvolvimento de metodologias para análise direta de óleos vegetais empregando microemulsões de água em óleo e meios não aquosos**. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

MORETTI, M.L. A importância crescente das infecções fúngicas. **Revista Panamericana de Infectologia**.v.9, n. 2, p. 8-9, 2007.

NAZAR, M.F.; KHAN, A.M.; SHAH, S.S. Microemulsion System with Improved Loading of Piroxicam: A Study of Microstructure. **AAPS PharmSciTech**. V. 10, n. 4, 2009.

NEMEN, D.; LEMOS-SENNA, E. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. **Química Nova**, Vol. 34, No. 3, 408-413, 2011.

NETZ, P.A.; ORTEGA, G.G. **Fundamentos da físico-química: Uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 299p. 2002.

NEVES, U. M. Estudo do movimento de um corpo sob ação de força viscosa usando uma porção de xampu, régua e relógio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**. V. 28, n. 3, p. 1-4, 2006.

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

PADILHA, S.L. Tratamiento de pitiriasis capitis com shampoo de ketoconazol 1 por ciento y 2 por ciento vs disulfuro de selenio. **Rev. Mex. Dermatol**. 39(1): 22-5, 1995.

PANDEESWARAN, M.; ELANGO, K.P. Electronic, Raman and FT-IR spectral investigations of the charge transfer interactions between ketoconazole and povidone drugs with iodine. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.**; 72(4):789-95, 2009.

PONS JÚNIOR, F.R. **Suspensões e formulações tópicas contendo nanocápsulas e micropartículas de cetoconazol: avaliação da estabilidade e atividade antimicrobiana**. 100p. Dissertação (Mestrado em Nanociências). Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, 2011.

PROENÇA, K.S.; OLIVEIRA, R.V.M.; GONÇALVES, M.M.; VILA, M.M.D.C. Desenvolvimento de método espectrofotométrico para análise quantitativa de cetoconazol em xampus. **Rev. Bras. Farm.**, 88(4): 187-190, 2007.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia**. 5.ed. São Paulo: Elsevier, p. 761, 2004.

ROSSETI, F.C. **Microemulsões como sistema de liberação cutânea para zinco ftalocianina tetrassulfonada na terapia fotodinâmica do câncer de pele**. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

ROSSI, C.G.F.T.; DANTAS, T.N.C.; DANTAS NETO, A.A.; MACIEL, M.A.M. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial. **Rev. Univ. Rural. Sér. Ci. Exatas e da Terra**, Seropédica, RJ, EDUR, vol. 26, n. 1-2, jan-dez, p. 45-66, 2007.

SANTOS, J.L.; RIBEIRO, Y.A.; SALGADO, H.R.N.; CHUNG, M.C. Estudo de metodologia analítica para a determinação do cetoconazol em formulações farmacêuticas. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.30, n.2, 2009.

SCHULMAN, J.H.; STOECKENIUS, W.; PRINCE, L.M. Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. **The Journal of Physical Chemistry**, v.63, n.10, p.1677-1680, 1959.

SHIH, Y.; ZEN, J.; KUMAR, A. S.; CHEN, P. Flowinjection analysis of zinc pyrithione in hair care productson a cobalt phthalocyanine modified screen-printed carbon electrode. **Talanta**, v. 62, n. 5, p. 912-917, 2004.

SILVA, J.A.; DAMASCENO, B.V.F.C.; EGITO, E.S.T; SANTANA, D.P. Uso de diagramas de fase pseudoternários como ferramenta de obtenção de nanoemulsões transdérmicas. **Rev Bras Farm.**; 90(3): 245-9, 2009a.

SILVA, J.A.; SANTANA, D.P.; BEDOR, D.G.C.; BORBA, V.F.C.; LIRA, A.A.M.; EGITO, E.S.T. Estudo de liberação e permeação in vitro do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**, Vol. 32, No. 6, 1389-1393, 2009b.

SKIBA, M., LAHIANI, M.S., MARCHAIS, H., DUCLOS, R., ARNAUD, P. Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 198, p. 1-6, 2000.

SOUZA, E.C. **Avaliação da atividade *in vitro* de nanoemulsões e nanocápsulas de fluconazol contra *Candida* spp.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.

SPÓSITO, P.A. **Nanocápsulas e Nanoemulsões contendo antifúngicos: desenvolvimento farmacotécnico, caracterização e avaliação biológica em modelo de candidíase sistêmica.** 176p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, 2008.

STAUB, I.; ADAMS, A.I.H.; BERGOLD, A.M.; FRÖEHLICH, P. Avaliação da integridade da fórmula do xampu de cetoconazol. **Infarma**, v. 14, p.74-76, 2002.

STAUB, I.; CRUZ, Á.S.; PINTO, T.J.A.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BERGOLD, A.M. Determinação da segurança biológica do xampu de cetoconazol: teste de irritação ocular e avaliação do potencial de citotoxicidade *in vitro*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 43, n. 2, abr./jun., 2007.

TENJARLA, S. Microemulsions: An over view and pharmaceutical applications. **Crit Ver Ther Drug**. 16(5):461-521, 1999.

THE MERCK INDEX. 30.ed. **Whitehouse Station**: Merck Research Laboratories, Merck & CO., INC. p. 948, 2001.

TONNESSEN, H.H. Formulation and stability testing of photo labile drugs. **Int. J. Pharm.**, v. 225, p. 1-14, 2001.

WATARAI, H. Microemulsion in separation sciences. **Journal of Chromatography A**, v.780, n.1/2, p.93-102, 1997.

WILKINSON, J.B; MOORE, R.J. **Cosmetologia de Harry**. Madrid: Diaz de Santos, 1990.

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