

U. PORTO



**FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

Paulo Sérgio da Silva Santos

Desenvolvimento e caracterização de microemulsões e microemulgeles contendo ibuprofeno

Dissertação de Mestrado de Tecnologia Farmacêutica

Trabalho realizado sob orientação do
Professor Doutor Paulo Alexandre Lourenço Lobão

E sob co-orientação da
Professora Doutora Maria Helena dos Anjos Rodrigues Amaral

Outubro 2015

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Paulo Lobão, agradeço a simpatia, o bom acolhimento, a valiosa orientação e a disponibilidade para resolver os problemas e as dúvidas que foram surgindo no decurso da presente dissertação.

À Professora Doutora Maria Helena Amaral, manifesto a minha sincera gratidão pela infindável disponibilidade e infinito apoio que sempre demonstrou e também pela preciosa orientação na elaboração deste trabalho.

A todos os elementos e funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, agradeço a simpatia e a ajuda prestada.

À Sra. Fernanda Santos, assistente comercial da Tecnocontab, representante da Gattefossé em Portugal, pela cedência do Transcutol®.

E por fim, à Joana, pela ajuda e paciência que demonstrou durante os meus desabafos e desânimos, assim como pelo reconhecimento nos momentos bons. Apesar de não ser evidente, sem ti este trabalho não seria possível!

“Quando alguém está determinado em conseguir alguma coisa, todo o mundo conspira para que esse seu desejo se realize.”

- Paulo Coelho

Resumo

Os anti-inflamatórios não esteróides estão entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo. No entanto, a administração oral destes fármacos é responsável pela ocorrência de um elevado número de reações adversas. Em algumas situações, a administração cutânea pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos adversos deste tipo de fármacos, permitindo a aplicação de doses mais elevadas no local de ação, havendo menor probabilidade de interações medicamentosas, além de ser uma forma de administração cómoda para o paciente.

O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteróide que, quando aplicado topicamente, é usado no tratamento de dores musculares ligeiras a moderadas, assim como no tratamento de entorses, lombalgias ou nevralgias. Não existem, contudo, muitas preparações de aplicação cutânea contendo ibuprofeno disponíveis no mercado.

As microemulsões são sistemas que apresentam boa estabilidade no que diz respeito à separação ou agregação das gotículas, são fáceis de preparar, com custo geralmente baixo e podem ser usadas como transportadores de substâncias termolábeis, tanto hidrófilas como lipófilas, sendo descritas como “super-solventes” devido à sua elevada capacidade de carga e também por melhorarem a biodisponibilidade de certas substâncias ativas.

As microemulsões são, por isso, uma alternativa interessante para veicular anti-inflamatórios não esteróides. Este trabalho consistiu, numa primeira etapa, no desenvolvimento de microemulsões contendo ibuprofeno, tendo sido testados dois métodos de preparação (homogeneização a alta pressão e sonicação) e também variações em alguns excipientes (componentes da fase lipídica e co-tensioativos). Estas preparações foram analisadas em termos de aspecto, tamanho de gotícula, pH e estabilidade.

A partir das microemulsões foram então preparados microemulgeles os quais foram também caracterizados relativamente ao aspecto, pH, viscosidade, textura, teor de substância ativa e estabilidade após armazenamento à temperatura ambiente.

Os resultados deste trabalho permitiram concluir que é possível obter microemulsões estáveis constituídas por Miglyol® 812, Tween® 80, Transcutol® e água, contendo 1% de ibuprofeno e que a gelificação destas microemulsões utilizando Aristoflex® AVC como agente gelificante permite obter preparações semissólidas estáveis, com pH, comportamento reológico e textura adequados para aplicação cutânea.

Palavras chave: Microemulsões, Microemulgeles, Geles, Ibuprofeno, Reologia, Estabilidade

Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs are among the most prescribed drugs worldwide. However, oral administration of those drugs is responsible for a large number of adverse reactions. In some cases, topical administration may be an alternative in order to minimize the adverse effects of such drugs, enabling higher doses at the site of action and less likelihood of drug interactions, in addition of being a convenient route of administration for the patient.

Ibuprofen is a non-steroidal anti-inflammatory drug which, when applied topically, is used for the treatment of mild to moderate muscle pain, as well as in the treatment of sprains, back or nerve pain. There aren't, however, many ibuprofen presentations for topical use available on the market.

Microemulsions are systems that have good stability with respect to separation or aggregation of droplets, that are easy to prepare, generally with low cost and that can be used for carriers of thermolabile substances, both hydrophilic and lipophilic. They are described as "super-solvents" due to its high load capacity and increased bioavailability for certain active substances.

Microemulsions are therefore an attractive alternative to convey anti-inflammatory drugs. This work focused, in a first step, on the development of microemulsions containing ibuprofen, where two methods for microemulsions preparation (high pressure homogenization and ultra-sounds) and variations of some excipients (lipid component and co-surfactant) were studied. The preparations were analyzed in terms of aspect, droplet size, pH and stability.

From those microemulsions, microemulgels where then prepared, which were also characterized for aspect, pH, dosage, viscosity, texture, drug dosage and stability when stored at room temperature.

The results of this work led to the conclusion that is possible to obtain stable microemulsion consisting of Miglyol® 812, Tween® 80, Transcutol® and water containing 1% of ibuprofen and that is possible to obtaining stable semi-solid preparations, with pH, rheological behavior and texture characteristics suitable for cutaneous application when gelling of those microemulsions using Aristoflex® AVC as gelling agent.

Key words: Microemulsions, Microemulgels, Gels, Ibuprofen, Rheology, Stability

Índice

1. Introdução	16
1.1. Aplicação cutânea de fármacos	16
1.1.1. A pele	16
1.1.2. Vias de penetração cutânea	18
1.1.3. Absorção cutânea	19
1.2. Anti-inflamatórios não esteróides	21
1.2.1. Anti-inflamatórios não esteróides de uso tópico	23
1.2.2. O ibuprofeno	24
1.2.2.1. Generalidades	24
1.2.2.2. Farmococinética	25
1.2.2.3. Indicações terapêuticas e reações adversas mais comuns	26
1.3. Microemulsões	27
1.3.1. O que são microemulsões	27
1.3.2. Formação das microemulsões	27
1.3.3. Emulsões vs microemulsões	29
1.3.4. Nanoemulsões vs microemulsões	29
1.3.5. Vantagens das microemulsões	32
1.3.6. Desvantagens das microemulsões	34
1.3.7. Constituintes das microemulsões	35
1.3.7.1. Fase lipídica	35
1.3.7.2. Fase aquosa	36
1.3.7.3. Tensioativos	37
1.3.7.4. Co-tensioativos	38
1.4. Objetivos do trabalho	41
2. Parte Experimental	42
2.1. Materiais e equipamentos	42
2.1.1. Matérias-primas e reagentes	42

2.1.2. Equipamentos	43
2.2. Métodos	44
2.2.1. Preparação das microemulsões	44
2.2.1.1. Composição das microemulsões	46
2.2.1.2. Preparação das microemulsões por homogeneização a alta pressão	46
2.2.1.3. Preparação das microemulsões por sonicação	48
2.2.2. Caracterização das microemulsões	49
2.2.2.1. Análise organolética	49
2.2.2.2. Avaliação do pH	49
2.2.2.3. Medição do tamanho das gotículas	50
2.2.3. Preparação de microemulgeles a partir de microemulsões	52
2.2.3.1. Composição das microemulsões gelificadas	52
2.2.3.2. Preparação dos microemulgeles de Carbopol® 974P	53
2.2.3.3. Preparação dos microemulgeles de Aristoflex® AVC	53
2.2.4. Caracterização dos microemulgeles	53
2.2.4.1. Análise organolética	53
2.2.4.2. Avaliação do pH	54
2.2.4.3. Avaliação da viscosidade	55
2.2.4.4. Avaliação da textura	59
2.2.5. Doseamento do ibuprofeno	61
2.2.5.1. Exatidão	62
2.2.5.2. Precisão	62
2.2.5.3. Especificidade	63
2.2.5.4. Linearidade	63
2.2.5.5. Amplitude	64
2.2.5.6. Doseamento do ibuprofeno	65
2.2.6. Ensaio de estabilidade	66
2.2.6.1. Estabilidade acelerada por centrifugação	67

2.2.6.2. Estudo de estabilidade das microemulsões	68
2.2.6.3. Estudo de estabilidade dos microemulgeles	69
2.3. Resultados e discussão	70
2.3.1. Preparação das microemulsões	70
2.3.1.1. Análise das microemulsões preparadas por homogeneização a alta pressão	70
2.3.1.2. Análise das microemulsões preparadas por sonicação	72
2.3.2. Estudo do efeito do tipo de excipientes	75
2.3.2.1. Efeito do lípido líquido	75
2.3.2.2. Efeito do co-tensioativo	77
2.3.3. Microemulsão com substância ativa	80
2.3.3.1. Estudo do efeito da substância ativa	80
2.3.4. Microemulgeles de Carbopol	83
2.3.4.1. Caracterização dos microemulgeles de Carbopol	84
2.3.5. Geles de Aristoflex® AVC	94
2.3.5.1. Caracterização dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC	94
2.3.6. Doseamento do ibuprofeno	103
2.3.6.1. Validação do método	103
2.3.6.2. Doseamento do Ibuprofeno	108
2.4. Estudos de estabilidade	110
2.4.1.1. Estabilidade acelerada por centrifugação	110
2.4.1.2. Estabilidade das microemulsões	114
2.4.1.3. Estabilidade dos microemulgeles	118
3. Conclusões	125
4. Bibliografia	129

Índice de figuras

Figura 1: Esquema da pele, com realce para a zona da epiderme	17
Figura 2: Diagrama representando as possíveis vias de penetração de um fármaco	18
Figura 3: Estrutura química do ibuprofeno	25
Figura 4: Diagrama de fases de uma microemulsão	28
Figura 5: Diagrama esquemático representando a energia livre de sistemas de microemulsões e nanoemulsões,	30
Figura 6: Esquema representando microemulsões e nanoemulsões	31
Figura 7: Diferente penetração do lípido na monocamada do tensioativo em função da curvatura da mesma	36
Figura 8: Esquema da preparação de microemulsões pelo método de homogeneização a alta pressão.	47
Figura 9: Dispersão da luz em função do tamanho da partícula	50
Figura 10: Layout de um instrumento de difração da luz	51
Figura 11: Representação gráfica de tensão de corte vs velocidade de corte de diferentes tipos de comportamentos reológicos.	56
Figura 12: Exemplo de reograma de um material com tixotropia	57
Figura 13: Viscosímetro Thermo Haake VT500	58
Figura 14: Texturómetro Stable Micro Systems TA-XT2i	60
Figura 15: Espectrofotómetro UV-Vis JASCO V-650.[66]	61
Figura 16: pH das microemulsões obtidas utilizando diferentes tempos de sonicação	74
Figura 17: pH das microemulsões constituídas por diferentes lípidos	76
Figura 18: pH das microemulsões contendo diferentes co-tensioativos	79
Figura 19: pH das microemulsões com e sem substância ativa	82
Figura 20: Aspeto dos microemulgeles de Carbopol® 974P preparados a partir das microemulsões	85

Figura 21: Aspeto dos geles de Carbopol® 974P preparados sem ser a partir de microemulsões	86
Figura 22: pH dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P	87
Figura 23: Reogramas dos geles de Carbopol® 974P	88
Figura 24: Textura dos microemulgeles de Carbopol® 974P obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno.	90
Figura 25: Textura dos geles de Carbopol® 974P sem microemulsão (com 1% e 5% de ibuprofeno).	90
Figura 26: Firmeza dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P	91
Figura 27: Adesividade dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P	91
Figura 28: Aspeto dos microemulgeles de Aristoflex® AVC obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno	95
Figura 29: Aspeto dos geles de Aristoflex® AVC preparados sem ser a partir de microemulsões	96
Figura 30: pH dos geles e microemulgeles de Aristoflex	97
Figura 31: Reogramas dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC	98
Figura 33: Textura dos microemulgeles de Aristoflex® AVC obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno	99
Figura 34: Textura dos geles de Aristoflex® AVC sem microemulsão (com 1% e 5% de ibuprofeno)	100
Figura 35: Firmeza dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC	101
Figura 36: Adesividade dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC	101
Figura 37: Gráfico de linearidade do método de doseamento	104
Figura 38: Resultado da centrifugação das microemulsões	111
Figura 39: Detalhe da microemulsão com miristato de isopropilo	111
Figura 40: Resultados da centrifugação dos geles com microemulsão	113
Figura 41: Resultado da centrifugação dos geles sem microemulsão.	113
Figura 42: Variação de pH ao longo do tempo para as microemulsões	114
Figura 43: Evolução dos valores de D50 obtidos ao longo do tempo para diferentes microemulsões	116
Figura 44: Estudo de evolução do pH ao longo do tempo para os microemulgeles	118

Figura 45: Reogramas dos microemulgeles de Carbopol 974® ao longo do tempo	119
Figura 46: Reogramas dos microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo	120
Figura 47: Resultados da firmeza dos microemulgeles de Carbopol® 974P ao longo do tempo	122
Figura 48: Resultados da adesividade dos microemulgeles de Carbopol® 974P ao longo do tempo	122
Figura 49: Resultados da firmeza para os microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo	123
Figura 50: Resultados da adesividade para os microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo	123

Índice de tabelas

Tabela 1: Lista de anti-inflamatórios não esteróides divididos por famílias	22
Tabela 2: Especialidades farmacêuticas contendo ibuprofeno para administração tópica	24
Tabela 3: Características químicas do ibuprofeno	25
Tabela 4: Lista de matérias-primas	42
Tabela 5: Lista de equipamentos	43
Tabela 6: Fórmula geral das microemulsões	46
Tabela 7: Parâmetros do Mastersizer	51
Tabela 8: Fórmula geral dos geles	52
Tabela 9: Lista de padrões de ibuprofeno	62
Tabela 10: Fórmula para estudo do método de preparação das microemulsões.	70
Tabela 11: Tamanho das gotículas das microemulsões obtidas pelo método de homogeneização a alta pressão	71
Tabela 12: Diferentes tempos de sonicação	72
Tabela 13: Tamanhos das gotículas das preparações com diferentes tempos de sonicação	72
Tabela 14: Composição das Fórmulas preparadas com diferentes lípidos	75
Tabela 15: Tamanhos das gotículas das preparações constituídas por diferentes lípidos	76
Tabela 16: Composição das microemulsões constituídas por diferentes co-tensioativos	77
Tabela 17: Tamanhos das gotículas das microemulsões contendo diferentes co-tensioativos	78
Tabela 18: Composição das microemulsões com ibuprofeno	80
Tabela 19: Tamanhos das gotículas das microemulsões com e sem substância ativa	81
Tabela 20: Microemulgeles preparados recorrendo ao Carbopol® 974P	84
Tabela 21: Composição dos geles e microemulgeles preparados recorrendo ao Aristoflex® AVC	94

Tabela 22: Soluções padrão preparadas para o estudo da linearidade do método de doseamento	103
Tabela 23: Cálculos para determinação da linearidade do método de doseamento	104
Tabela 24: Resultados da avaliação da repetibilidade	105
Tabela 25: Resultados da avaliação da precisão intermédia	106
Tabela 26: Cálculos para o estudo de exatidão	107
Tabela 27: Resultados do doseamento do ibuprofeno nos microemulgeles de Carbopol® 974P	108
Tabela 28: Resultados do doseamento do ibuprofeno nos microemulgeles de Aristoflex® AVC	108
Tabela 29: Resultados da centrifugação das microemulsões	110
Tabela 30: Resultados dos ensaios de centrifugação sobre os geles e microemulgeles	112

1. Introdução

1.1. Aplicação cutânea de fármacos

1.1.1. A pele

A pele é um órgão dinâmico, muito complexo e com diversas funções biológicas. A função mais óbvia é a sua função de barreira, sendo responsável pela defesa primária do organismo ao minimizar a entrada de substâncias estranhas, da radiação UV e da perda de água. Desempenha também outras funções muito importantes na regulação da temperatura corporal, no suporte mecânico, na função sensorial, na secreção glandular e na atividade metabólica.(1,2)

A pele é utilizada como uma via para administração de substâncias ativas que atuam quer no próprio tecido onde são aplicadas (aplicação cutânea) quer para atravessar o tecido e serem absorvidas na circulação sistémica, podendo assim atingir uma penetração mais profunda (aplicação transdérmica).

As vantagens da administração cutânea são óbvias. Sendo um órgão extenso e de acesso fácil e imediato, permite uma administração fácil e cómoda para o paciente, ao mesmo tempo que permite uma remoção também fácil em caso de toxicidade.(3) Outras vantagens relacionam-se com o facto de se concentrar o fármaco diretamente no local de ação, o que permite a utilização de doses mais baixas, reduzindo assim a probabilidade de efeitos adversos e de interações com outros medicamentos.

Sendo uma alternativa à via gastrointestinal, apresenta ainda outras vantagens. A absorção não é afetada pelo pH, pela atividade enzimática ou pela interação com alimentos. Não se observa o efeito de primeira passagem (metabolismo no fígado), nem os picos plasmáticos na circulação. Além de reduzir a probabilidade de efeitos adversos, permite uma administração mais sustentada de fármacos com tempos de semi-vida curtos ou com índice terapêutico apertado.(3)

Contudo, ao prevenir a entrada de elementos estranhos, a pele também dificulta a entrada de substâncias intencionalmente aplicadas, tais como substâncias com interesse farmacêutico.(1)

A pele é composta essencialmente por duas camadas principais, a epiderme e a derme, separadas por uma membrana basal. A epiderme é um epitélio escamoso

estratificado que é composto por várias camadas de células. Sobre a membrana basal temos a camada basal, que consiste em células em constante proliferação, que depois estratificam para dar origem a células diferenciadas da camada espinhosa e da camada granular. Estas três camadas formam a chamada epiderme viável por ser constituída por células vivas. Mais externamente, encontramos o estrato córneo (Figura 1).(4)

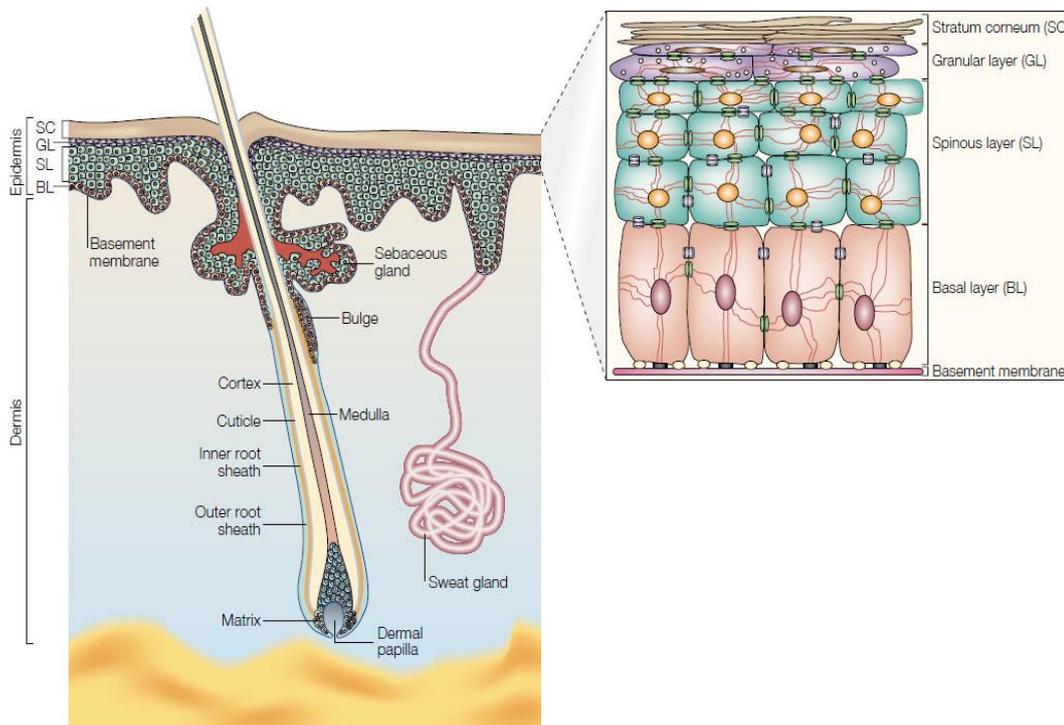


Figura 1: Esquema da pele, com realce para a zona da epiderme.(4)

O estrato córneo é revestido pelo *sebum*, um fluido lipófilo complexo que é segregado pelas glândulas sebáceas, e pelos corneócitos que são células mortas, queratinosas e desidratadas, dispostas ordenadamente em camadas, bastante resistentes ao ataque químico e enzimático e rodeados por lípidos.(5)

A derme, mais interna, é onde já se podem encontrar vasos sanguíneos, nervos, fibras e as bases dos folículos pilosos, integrados no tegumento conjuntivo suportado por adipócitos.(5)

Tendo em conta as várias vantagens das vias tópica e transdérmica, têm sido desenvolvidas várias estratégias e estudos no sentido de superar a barreira que a pele constitui, de forma a garantir uma administração eficaz de fármacos por estas vias. As microemulsões têm sido precisamente uma dessas estratégias.(1)

1.1.2. Vias de penetração cutânea

Embora vários estudos reconheçam que as camadas mais internas da pele também desempenham papéis importantes na permeabilidade e biodisponibilidade dos fármacos aplicados na pele, a função de barreira desta tem sido atribuída, principalmente, à organização e composição da sua camada mais externa, ou seja, ao estrato córneo.(1)

A permeabilidade de um fármaco através da pele pode assumir várias vias: intracelular (ou transcelular), intercelular ou anexial (através dos folículos pilosos e das glândulas sebáceas e sudoríparas). Uma vez que os folículos pilosos e as glândulas ocupam uma área muito baixa, esta via é a menos significativa sob condições normais. No entanto, esta via é importante para compostos ionizados, de peso molecular mais elevado ou com um coeficiente de partilha O/A mais baixo.(6)

Fármacos com adequadas características hidrofílicas/lipofílicas podem entrar através da bicamada lipídica diretamente por difusão passiva. Outros, cuja solubilidade nos lípidos é limitada, podem ser transportados mediante transportadores através da bicamada lipídica (Figura 2).(7)

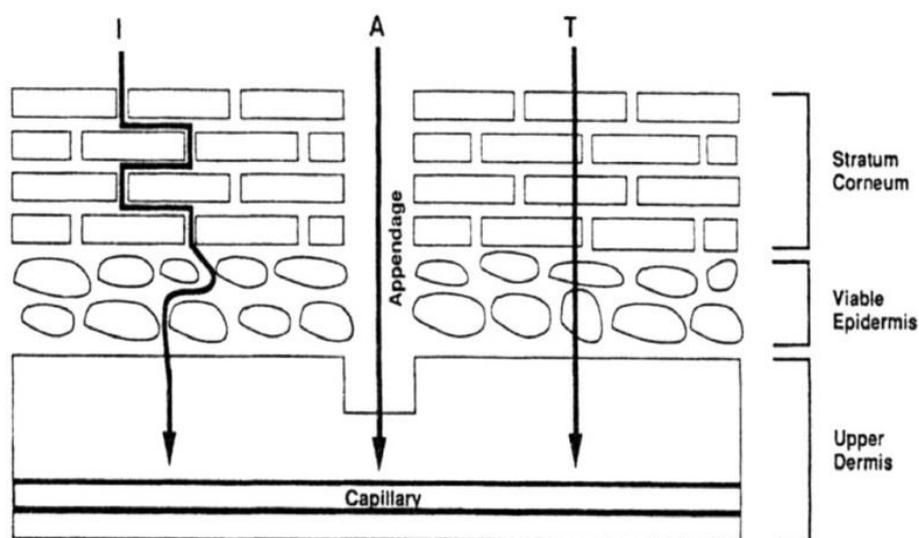


Figura 2: Diagrama representando as possíveis vias de penetração de um fármaco: I = Intracelular, T = transcelular ou intercelular, A = Anexial.(7)

1.1.3. Absorção cutânea

A permeabilidade da pele a fármacos é influenciada por fatores que podem ser divididos em fatores fisiológicos e fatores físico-químicos.(3)

Os fatores fisiológicos são fatores relacionados com as características da própria pele e dentro destes temos:

- Idade, sexo e raça. Por exemplo, a pele de um adulto é menos permeável do que a das crianças. Conforme a pele envelhece, os níveis de queratinização, de hidratação ou de actividade enzimática vão-se alterando, logo também a permeabilidade da pele vai sendo diferente.(8)
- Zona da pele. A absorção cutânea varia em função dos diferentes locais porque a pele tem espessura diferente ao longo de todo o corpo.(3)
- Temperatura e fluxo sanguíneo. A permeabilidade da pele é maior com o aumento de temperatura.(3)
- Hidratação. A permeabilidade da pele aumenta com a hidratação do estrato córneo. Inclusive a água é considerada um promotor de absorção cutânea.(3,9)
- Condições patológicas da pele. Quando a função de barreira da pele se encontra comprometida a permeabilidade da mesma é altamente afetada. As condições patológicas afetam a camada lipídica da pele, assim como o seu nível de hidratação e de atividade enzimática.(3,10)

Os fatores físico-químicos que podem influenciar a absorção cutânea são fatores relacionados com o fármaco ou com o veículo. Dentro destes fatores podemos considerar:

- Estado físico. Líquidos ou soluções penetram mais facilmente na pele que partículas sólidas ou secas.(3)
- Tamanho/peso molecular. Por exemplo, a absorção através da pele decresce muito quando o peso molecular dos fármacos ultrapassa os 500 Dalton.(11)
- Solubilidade em água. Para uma substância permear a pele tem de apresentar alguma solubilidade em água. A absorção será baixa se o fármaco tiver muito pouca solubilidade em água. Contudo, substâncias demasiado hidrofílicas também terão baixa permeabilidade devido a não conseguirem passar pela camada lipídica do estrato córneo.(3)
- Lipofilia. A absorção também é afetada pela lipofilia da substância. Para um fármaco permear a pele deve ter adequada lipofilia para atravessar a camada lipídica da epiderme.(3)

- Ionização. Substâncias na forma ionizada têm mais dificuldade em ser absorvidas. Isto deve-se essencialmente à fraca difusão através do estrato córneo que as substâncias nesta forma apresentam.(12,13)
- Concentração/dosagem. Regra geral, o fluxo de fármacos através da pele aumenta conforme aumenta a concentração ou dosagem.(3)
- Efeito do veículo. O veículo afeta não só a mobilidade do fármaco, como também é capaz de alterar as características da pele.(3) Por exemplo, os veículos podem alterar o nível de hidratação da pele (9) ou alterar a camada lipídica do estrato córneo (14) alterando, dessa forma, a absorção do fármaco que veiculam.

Os estudos de formulação de preparações cutâneas e transdérmicas visam pois melhorar a penetração dos fármacos através da pele sem alterarem irreversivelmente a função de barreira da mesma.(5)

Isso pode incluir afetar diretamente a pele, afetando temporariamente, por exemplo, o seu nível de hidratação ou o arranjo estrutural das camadas lipídicas do estrato córneo, ou passar pela modificação da formulação de modo a alterar o coeficiente de partilha O/A, a difusão, ou a solubilidade do fármaco.(6)

Veremos à frente que as microemulsões tendem a aumentar a permeabilidade dos fármacos pela interação com o estrato córneo, mudando o rearranjo estrutural das suas camadas lipídicas, e pela alteração do coeficiente de partilha do fármaco em relação à pele.(7)

1.2. Anti-inflamatórios não esteróides

Um medicamento anti-inflamatório é caracterizado pela sua capacidade de eliminar, ou pelo menos atenuar, o estado inflamatório. A inflamação consiste numa sequência de reações que vão desde a dilatação e aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos às proteínas, à migração dos leucócitos dos capilares e ao consequente desenvolvimento do exsudado celular. A ação anti-inflamatória consiste pois no desaparecimento do eritema, devido a vasoconstrição, e na desidratação dos tecidos com edema.(5)

Os fármacos anti-inflamatórios não esteróides são amplamente utilizados para o tratamento da dor e da inflamação e a sua ação advém essencialmente da inibição das ciclooxigenases, evitando assim a consequente formação de mediadores pró-inflamatórios, em particular a síntese das prostaglandinas responsáveis pela inflamação.(7)

As ciclooxigenases apresentam-se sob duas formas ligeiramente diferentes, designadas de ciclooxigenase-1 e ciclooxigenase-2. Estas enzimas transformam o ácido araquidónico, uma substância formada a partir de lípidos presentes na membrana celular pela ação da fosfolípase A2, em dois tipos de compostos, as prostaglandinas e os tromboxanos.(15)

O mecanismo de ação na redução da febre ou efeito antipirético dos anti-inflamatórios não esteróides deve-se, em particular, à inibição da formação de prostaglandina E2. Esta prostaglandina é um mediador importante para a ativação do centro nervoso (no hipotálamo) regulador da temperatura corporal. Altos níveis de prostaglandina E2 em estados inflamatórios (como infeções) elevam a temperatura.(16)

O efeito analgésico tem um mecanismo semelhante, também devido à inibição da produção local de prostaglandinas aquando da inflamação. Estas prostaglandinas, quando presentes, sensibilizam as terminações nervosas locais da dor, que serão iniciadas por outros mediadores inflamatórios como a bradicinina.(16)

Os efeitos anti-inflamatórios também estão relacionados com a inibição da produção de prostanóides, já que estes mediadores são importantes em quase todos os fenómenos associados à inflamação, como a vasodilatação, a dor e a atração de mais leucócitos ao local.(16)

Os fármacos anti-inflamatórios não esteróides subdividem-se em vários grupos os quais se encontram representados na Tabela 1:

Tabela 1: Lista de anti-inflamatórios não esteróides divididos por famílias.(17)

Derivados salicilados	Ácido acetilsalicílico Ácido salicílico	Salicilato de metilo Diflunisal
Derivados do ácido acético	Fentiazac Diclofenac Cetolorac	Etodolac Nabumetona
Derivados do ácido propiónico	Ibuprofeno Naproxeno Cetoprofeno Loxoprofen	Dexcetoprofeno Fenoprofeno Flurbiprofeno Oxaporozin
Derivados do ácido antranílico	Ácido niflúmico	
Derivados do indol	Indometacina	
Oxicams	Piroxicam Tenoxicam	Lornoxicam Meloxicam
Derivados do ácido fenâmico	Ácido mefenâmico Ácido meclofenâmico	Ácido tolfenâmico
Coxibs (Inibidores seletivos da COX2)	Celecoxib Etoricoxib Firocoxib Lumiracoxib	Parecoxib Rofecoxib Valdecoxib
Outros	Nimesulide	Licofelone

Os anti-inflamatórios não esteróides derivados do ácido propiónico apresentam vantagens em relação, por exemplo, ao ácido acetilsalicílico, à indometacina ou aos derivados pirazólicos, pois são, em geral, mais bem tolerados. O ibuprofeno foi o primeiro a ser utilizado na terapêutica e, por isso, a experiência com este fármaco é superior.(5)

1.2.1. Anti-inflamatórios não esteróides de uso tópico

Os anti-inflamatórios não esteróides estão entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo e são responsáveis por aproximadamente um quarto de todas as notificações de reações adversas. A maioria são administrados por via oral.(18)

A administração tópica destes medicamentos permite evitar os efeitos adversos habitualmente relacionados com a sua presença em alta concentração no canal alimentar, tais como irritação gástrica e duodenal, náuseas, vômitos e diarreia.

Além disso, previnem também efeitos adversos relacionados com a presença dos mesmos na circulação sanguínea, tais como insuficiência renal aguda e a inibição da prostaglandina, assim como mitigam os riscos de interações medicamentosas.(18)

Outras vantagens da administração tópica de anti-inflamatórios não esteróides incluem uma maior concentração de fármaco no local desejado e ausência de degradação gástrica e hepática pelo efeito de primeira passagem, possibilitando que sejam administradas doses mais baixas, reduzindo-se assim os riscos dos efeitos adversos já referidos.

Por fim, a administração tópica deste tipo de fármacos não requer qualquer supervisão de profissionais e nem tem o estigma associado a agulhas, se comparada com a administração parentérica.(7)

1.2.2. O ibuprofeno

1.2.2.1. Generalidades

O ibuprofeno é descrito como um dos medicamentos anti-inflamatórios não esteróides melhor tolerados e é utilizado para o alívio sintomático de cefaleias, mialgias, artrite reumatóide, osteoartrite, dismenorreia primária, traumatismos com entorses, luxações e fraturas, febres e alívio da dor aguda ou crónica associada à reação inflamatória.(19–22)

O ibuprofeno é um inibidor não seletivo da ciclooxigenase-2, ou seja, inibe simultaneamente a ciclooxigenase-1 e a ciclooxigenase-2.(19)

A sua apresentação farmacêutica é variada, podendo apresentar-se sob a forma de comprimidos, cápsulas, suspensão oral, granulado, supositórios, creme ou gel de aplicação local.(19)

No entanto, a sua absorção gastrointestinal é fraca devido à baixa solubilidade ou dissolução na água. Recentemente, a atenção centrou-se na sua administração transdérmica.(22)

Atualmente só existem duas especialidades farmacêuticas contendo ibuprofeno para administração cutânea comercializadas em Portugal e que podem ser encontradas na Tabela 2:(23)

Tabela 2: Especialidades farmacêuticas contendo ibuprofeno para administração tópica atualmente comercializadas em Portugal

Nome	Dosagem	Forma	Titular AIM
<i>Frenidor</i>	50 mg/g	Gel	Confar
<i>Ozonol</i>	50 mg/g	Gel	Omega

O ibuprofeno apresenta-se como um pó branco ou como cristais incolores, com leve odor característico, sendo praticamente insolúvel em água, mas solúvel em soluções aquosas diluídas de hidróxidos alcalinos e de carbonatos, e em alguns solventes orgânicos como a acetona, o metanol, o cloreto de metileno, o álcool etílico, o éter, o diclorometano e o clorofórmio (Figura 3 e Tabela 3).(24)

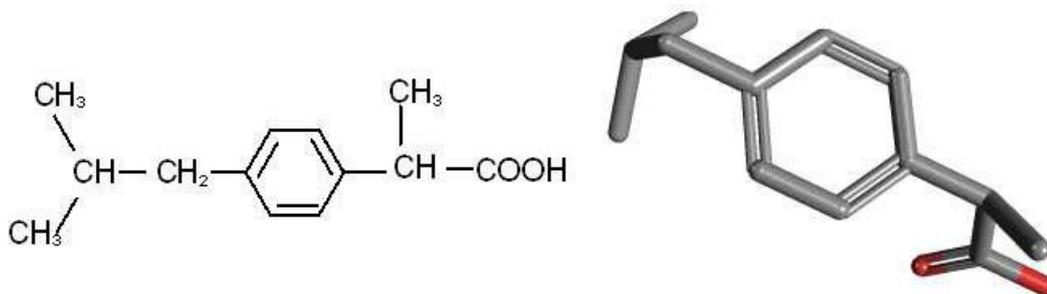


Figura 3: Estrutura química do ibuprofeno.(21)

Tabela 3: Características químicas do ibuprofeno.(25)

Peso molecular	206,28 g/mol
Fórmula molecular	C ₁₃ H ₁₈ O ₂
Ponto de fusão	75–78 °C
Nome IUPAC	Ácido (2RS)-2-[4-(2-metilpropil)fenil]propanóico
Teor	98,5% - 101,0% (substância seca)

1.2.2.2. Farmococinética

Quando formulado particularmente para uso tópico, o ibuprofeno penetra rápida e extensamente através da pele (aproximadamente 22% da dose aplicada em 48 horas), atingindo concentrações locais elevadas, terapeuticamente relevantes nos tecidos moles subjacentes, nas articulações e no fluido sinovial, resultando contudo em níveis plasmáticos que tornam improvável a ocorrência de quaisquer efeitos indesejáveis sistêmicos, exceto no caso, raro, de indivíduos hipersensíveis ao ibuprofeno. Não existem diferenças apreciáveis no metabolismo ou na excreção do ibuprofeno entre a administração oral e a administração tópica.(26)

O tempo de semi-vida do ibuprofeno é de aproximadamente de 2 horas e a depuração plasmática é de aproximadamente 0,05 L/h/kg.(27)

O ibuprofeno liga-se extensamente às proteínas plasmáticas (90-99%), embora ocupe apenas uma fração dos locais possíveis de ligação nas concentrações terapêuticas. O ibuprofeno passa lentamente para os espaços sinoviais e permanece aí em concentrações mais altas que as plasmáticas, quando estas últimas vão diminuindo.(27)

Verifica-se que o ibuprofeno sofre metabolização oxidativa hepática, sendo esta devida principalmente à isoenzima CYP2C9. Foram identificados 4 metabolitos de fase I na urina: o 1-hidroxi-ibuprofeno, o 2-hidroxi-ibuprofeno, o 3-hidroxi-ibuprofeno e o carboxi-ibuprofeno. Uma outra via metabólica, mas de menor escala é a conjugação com o ácido glucorónico. Todos os metabolitos identificados são farmacologicamente inativos.(27)

A excreção do ibuprofeno é rápida e completa. Mais de 90% da dose é excretada na urina como metabolitos e seus conjugados. O ibuprofeno propriamente dito não é detetado na urina.(26)

1.2.2.3. Indicações terapêuticas e reações adversas mais comuns

Quando em apresentação de administração cutânea, o ibuprofeno está indicado para o tratamento sintomático das dores musculares ligeiras a moderadas, bem como em entorses, lombalgias ou nevralgias.(26)

Têm sido muito raramente notificadas reações cutâneas graves, algumas das quais fatais, incluindo dermatite exfoliativa, síndrome de Stevens-Johnson e necrólise epidérmica tóxica, associadas à administração cutânea de anti-inflamatórios não esteróides. Aparentemente, o risco de ocorrência destas reações é maior no início do tratamento, sendo que na maioria dos casos estas reações manifestam-se durante o primeiro mês.(26)

Na medida em que existe a possibilidade de absorção cutânea, não é possível excluir a ocorrência de efeitos sistêmicos. O risco de ocorrência destes efeitos depende, entre outros fatores, da superfície exposta, quantidade aplicada e tempo de exposição.

Pode, por isso, desencadear disfunção renal, agravamento de úlceras pépticas ativas, e pode induzir reações alérgicas brônquicas em doentes asmáticos suscetíveis.(26)

1.3. Microemulsões

1.3.1. O que são microemulsões

O conceito de microemulsão foi introduzido nos anos 40 do século XX para descrever sistemas de fase única, transparentes, gerados pela titulação de uma emulsão leitosa com hexanol. Desde então, além de sistemas de administração de substâncias ativas, têm sido estudados para vários fins devido às múltiplas vantagens que apresentam.(1)

As microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis, transparentes e opticamente isotrópicos, geralmente compostos por uma mistura de lípido(s), água e tensoativos(s). É, contudo, frequente encontrarem-se microemulsões compostas por um conjunto de tensoativos e co-tensoativos.(1)

As microemulsões caracterizam-se por possuírem uma tensão superficial muito baixa e pequenos tamanhos de gotícula (5-200 nm). Veremos que esta característica confere uma alta capacidade de absorção e de permeabilidade cutânea aos fármacos veiculados em microemulsões.(28)

1.3.2. Formação das microemulsões

A nível farmacêutico, as microemulsões são definidas como nanodispersões coloidais do tipo O/A ou A/O, estabilizadas por tensoativo(s).(7)

As microemulsões formam-se por mistura de uma fase oleosa com uma fase aquosa contendo um tensoativo primário e um co-tensoativo (usualmente um álcool de cadeia média). Não necessitam de aporte significativo de energia, podendo até formar-se espontaneamente, devido ao baixo valor da tensão interfacial do sistema final. A redução da energia livre interfacial para um valor muito mais baixo após a formação do sistema final é de importância primordial para explicar a formação de uma microemulsão.(29)

A formação das microemulsões ocorre em primeiro lugar com o tensoativo principal a ser adsorvido na interface óleo/água e é este que determina a curvatura inicial da fase dispersa. Contudo, a curvatura necessária para que a película de tensoativo atinja a tensão interfacial mínima do sistema final é conferida pela presença do co-tensoativo.(28)

O tamanho e a forma das gotículas nas microemulsões podem ser de forma esférica ou não esférica, dependendo da curvatura final da monocamada do agente tensoativo e da quantidade de lípido incorporada no sistema (Figura 4). (7)

Assim, as microemulsões podem ser constituídas por gotículas que são esferóides ou vermiformes, uma vez que a forma das gotículas depende da forma ideal e mais estável que as moléculas de agente tensoativo tendem a adotar.(30)

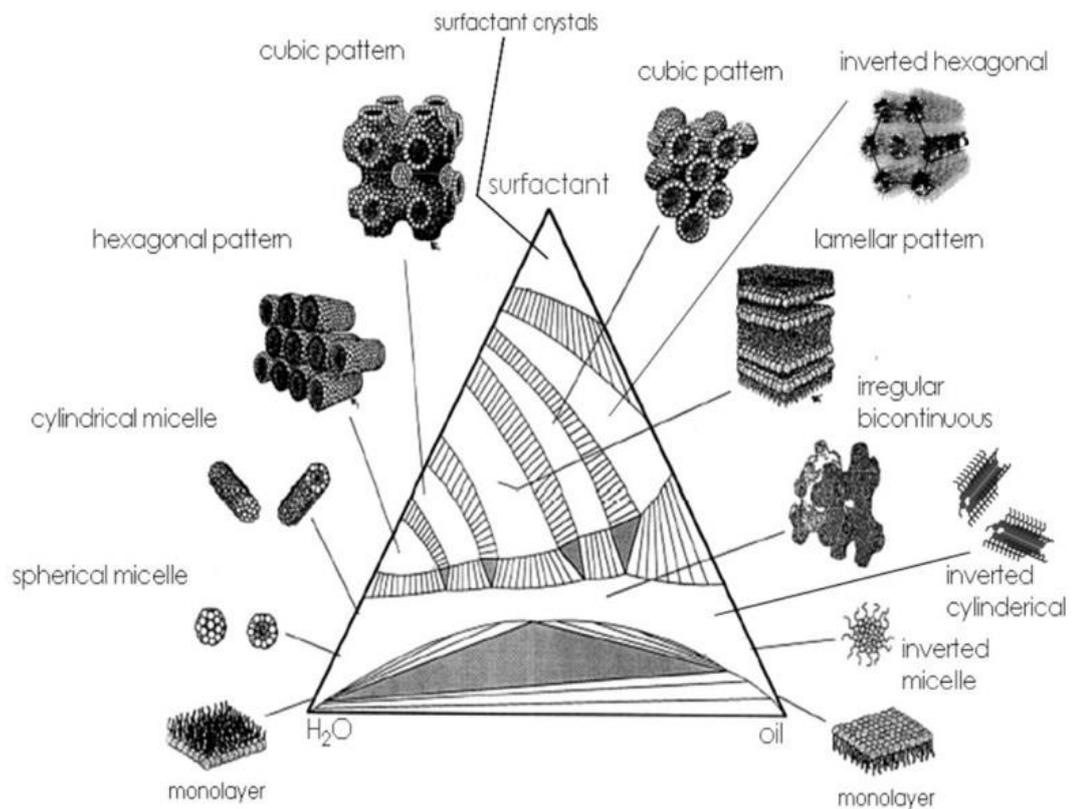


Figura 4: Diagrama de fases de uma microemulsão: formação das estruturas de uma microemulsão em função da proporção de água (fase aquosa), lípido e surfatante.(7)

1.3.3. Emulsões vs microemulsões

Uma emulsão é formada quando uma mistura de óleo, água e uma pequena quantidade de agente tensioativo se misturam recorrendo a agitação mecânica. Isto resulta numa dispersão de duas fases onde uma fase existe na forma de gotículas revestidas pelo tensioativo que por sua vez se encontram dispersas na fase contínua. O aspeto leitoso ou turvo das emulsões deve-se precisamente ao facto do tamanho das gotículas ser na ordem dos 0,1 a 1 micrómetro de diâmetro.(31)

Porém, se o agente tensioativo utilizado possuir propriedades hidrofílicas e lipofílicas adequadas e se for utilizado numa concentração adequada, o sistema óleo/água (ou água/óleo) que se formará será diferente. Este novo sistema é considerado ainda uma emulsão, mas apresenta algumas características diferentes das emulsões “tradicionais”.(31)

As microemulsões são geralmente transparentes ou translúcidas e apresentam tamanhos de gotículas mais pequenos (geralmente até 150-200 nm) que as emulsões tradicionais. Não só o tamanho das gotículas nas emulsões é maior, como apresentam maior dispersão de dimensões.

Outra diferença importante relaciona-se com a estabilidade. Embora as emulsões exibam estabilidade cinética, elas não são termodinamicamente estáveis. Numa emulsão haverá sempre, eventualmente, uma separação de fases. As emulsões têm por isso um tempo de vida finito. As microemulsões, por outro lado, são muito mais estáveis por serem, ao contrário das emulsões tradicionais, termodinamicamente estáveis.(1,32)

1.3.4. Nanoemulsões vs microemulsões

Nanoemulsões e microemulsões são descritos de forma semelhante. Ambos os sistemas são dispersões de baixa viscosidade, com baixo tamanho de gotícula, com os mesmos constituintes (lípidos, água, tensioativo(s) e co-tensioativo) e com estruturas sensivelmente semelhantes.(33)

É possível preparar os dois tipos de dispersão coloidal (nanoemulsões e microemulsões) recorrendo exatamente aos mesmos excipientes, mas em diferentes proporções. Tipicamente, para preparar uma microemulsão é necessária uma maior proporção do agente tensioativo em relação ao óleo do que no caso de uma nanoemulsão.(30)

As nanoemulsões apresentam assim como vantagem em relação às microemulsões, o facto de serem formadas com quantidades menores de tensoativo(s), os quais são geralmente fonte de efeitos indesejáveis (p.ex. irritação).(1)

Contudo, a grande diferença entre estes dois sistemas é que as nanoemulsões são, tal como as emulsões tradicionais, cineticamente estáveis, mas não termodinamicamente estáveis. As microemulsões apresentam um estado de energia livre mais baixo após a mistura dos respetivos constituintes que o estado de energia livre das fases separadas, sendo por isso sistemas mais estáveis quando misturados. Por outro lado, as nanoemulsões são mais estáveis, isto é, apresentam um estado de energia livre mais baixo, quando as fases constituintes estão separadas. (Figura 5)

Portanto, tal como as emulsões, uma nanoemulsão é um sistema instável que eventualmente se vai separar nas suas fases.(30)

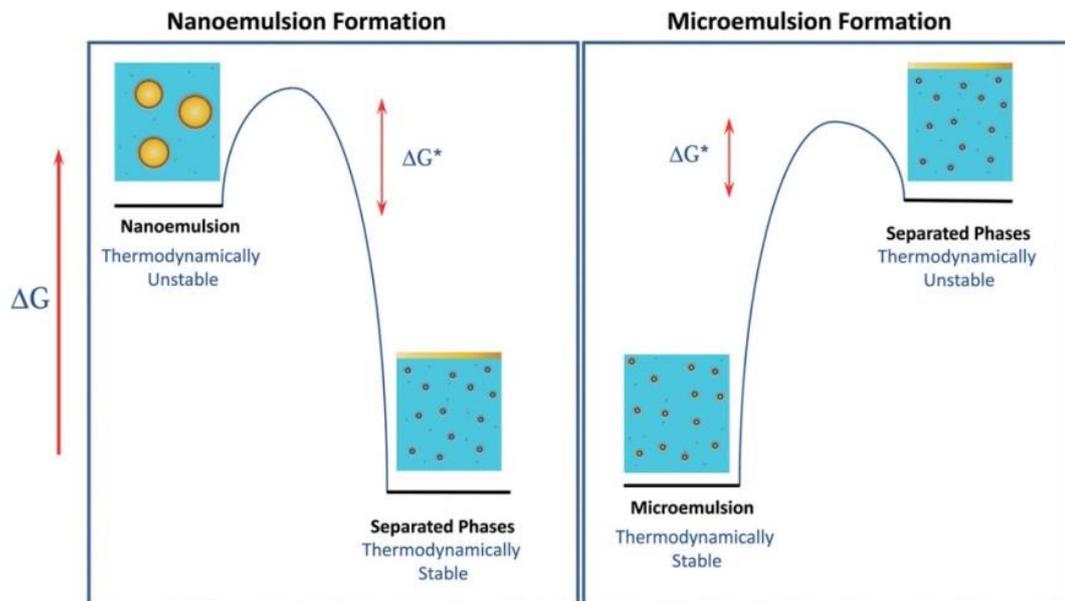


Figura 5: Diagrama esquemático representando a energia livre de sistemas de microemulsões e nanoemulsões, comparando a energia livre dos sistemas quando separados vs quando misturados.(30)

Por serem sistemas termodinamicamente instáveis significa que a redução de tensão superficial que se observa na formação de microemulsões não ocorre na formação das nanoemulsões. Daí, ao contrário das microemulsões, a preparação de nanoemulsões requer sempre um *input* elevado de energia externa para converter os componentes (antes separados) numa dispersão coloidal.(33)

As gotículas nas nanoemulsões tendem a ser sempre esféricas devido à tensão interfacial ser relativamente elevada para um raio da partícula relativamente baixo.

Existe por isso uma grande pressão de Laplace a favor de uma redução da área interfacial. A forma de esfera é a que tem a menor área interfacial para um dado volume de material. Daí as gotículas nas nanoemulsões adotarem formas esféricas. Já o mesmo não se verifica nas microemulsões, onde a forma das gotículas depende mais da curvatura ótima da monocamada de agente tensoativo em relação à quantidade de óleo incorporada, sendo que podemos encontrar, como aliás já vimos, gotículas não esféricas em microemulsões.(30)

Uma confusão entre os dois sistemas está relacionada com o tamanho das gotículas. Uma vez que o termo "micro" significa uma ordem de grandeza de 10^{-6} , enquanto o termo "nano" se refere a 10^{-9} , isto levaria a crer que a fase dispersa das nanoemulsões é mais pequena do que a de microemulsões. Na realidade há autores que consideram que o oposto é que é mais frequente e que as gotículas numa microemulsão são menores do que numa nanoemulsão. A razão para esta terminologia é devido ao desenvolvimento histórico no campo da ciência de colóides.(Figura 6)(30)

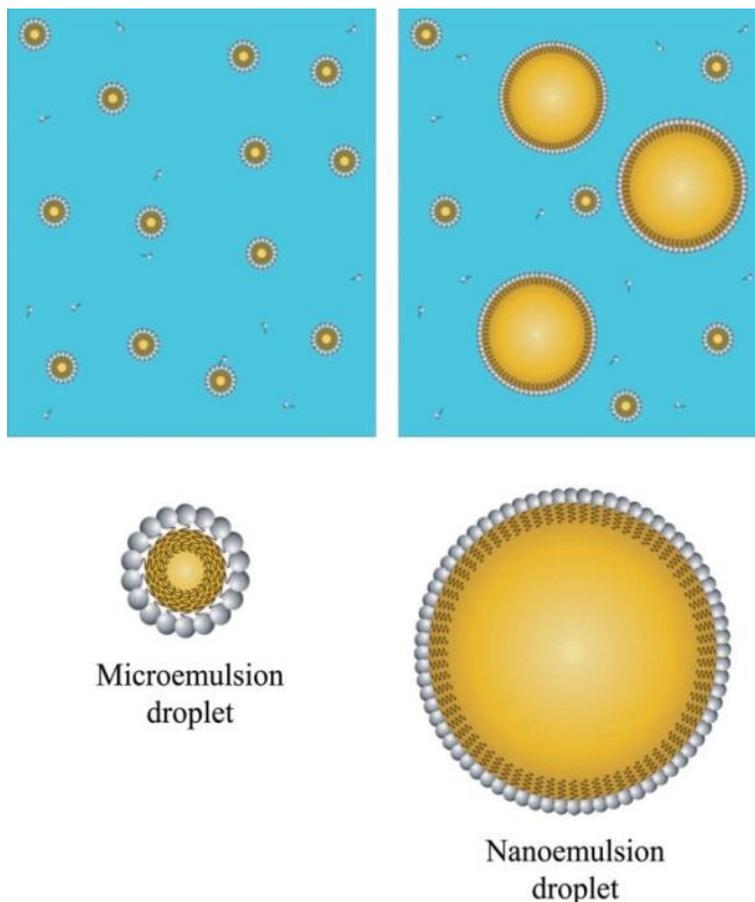


Figura 6: Esquema representando microemulsões e nanoemulsões preparadas a partir dos mesmos componentes.(30)

1.3.5. Vantagens das microemulsões

O interesse nas microemulsões como sistemas de administração de fármacos resulta das várias vantagens (algumas inclusive já mencionadas) que estes sistemas apresentam: (1,30)

- dado apresentarem estabilidade termodinâmica, apresentam boa estabilidade no que toca à separação ou agregação das gotículas;(32)
- são geralmente opticamente transparentes por serem constituídas por componentes que dispersam fracamente as ondas de luz e pelo tamanho reduzido das suas gotículas. São, por isso, adequadas para produtos que precisam ser transparentes (por exemplo, preparações oculares.(34));
- as microemulsões podem ser concebidas para terem propriedades reológicas específicas, por exemplo, aumentando a viscosidade com gelificantes;(35)
- são fáceis de preparar, uma vez que não necessitam de *input* de (muita) energia, permitindo a incorporação de substâncias ativas termolábeis;
- o custo da sua preparação é geralmente baixo, uma vez que não requerem equipamentos específicos ou complexos;
- são capazes de servir de veículo tanto para substâncias ativas hidrofílicas como lipofílicas e de aumentar a biodisponibilidade de certas substâncias ativas.(36–40)

Esta última característica das microemulsões merece maior detalhe. Devido à sua elevada superfície interfacial, isto é, devido ao elevado rácio de superfície em relação ao volume, as microemulsões apresentam uma elevada capacidade de solubilização e maior capacidade de permeação dos fármacos que veiculam quando comparadas com sistemas convencionais.(31)

No que toca à capacidade de solubilização, as microemulsões atuam como "super solventes" para algumas substâncias ativas. Podem, por isso, ser usadas para solubilizar tanto fármacos hidrofílicos como lipofílicos, incluindo fármacos que sejam relativamente insolúveis, quer em solventes aquosos como solventes hidrofóbicos.(7)

Esta capacidade de solubilização, também designada como capacidade de carga, deve-se à organização estrutural das fases oleosa e aquosa e à presença da interface contendo tensoativo, criando regiões adicionais de solubilidade, que aumentam a capacidade de carga das microemulsões em comparação com veículos não-estruturados. Esta maior capacidade de solubilização é dependente não só da

proporção de cada componente da microemulsão, mas também da microestrutura da mesma.(41)

No que toca à maior capacidade de permeação, ainda que a capacidade de dissolver grandes quantidades de fármacos, quer lipofílicos, quer hidrofílicos, pudesse aumentar a penetração na pele de uma molécula, devido a se criarem assim gradientes de concentração maiores, a realidade é que vários estudos têm desafiado este conceito. Tem sido estudado que o tamanho reduzido das gotículas e consequente elevada superfície interfacial, por si só não explicam a maior capacidade de penetração de algumas substâncias ativas.(1)

O aumento da penetração de fármacos veiculados em microemulsões parece dever-se mais à combinação dos fatores mencionados aliados ao efeito individual de certos constituintes que encontramos habitualmente nas microemulsões.

Certos tensioativos ou componentes da fase lipídica são capazes de aumentar a penetração de fármacos na pele quer por perturbarem a estrutura lipídica do estrato córneo (facilitando a difusão através da barreira da pele) quer por aumentarem a solubilidade do fármaco na pele (isto é, aumentando o coeficiente de partilha do mesmo entre a pele e a microemulsão).(42)

As microemulsões também são descritas como sendo capazes de aumentar a capacidade de hidratação dos tecidos cutâneos, o que por si só tem um efeito de aumento da penetração das substâncias ativas através da pele.(1)

1.3.6. Desvantagens das microemulsões

A principal desvantagem das microemulsões está relacionada com a alta concentração do tensoativo e o limitado leque deste tipo de componentes que podem ser usados e aceites fisiologicamente. Devido às propriedades indesejáveis e irritantes destes componentes das microemulsões, o seu uso pode ser limitado em certas aplicações, por exemplo, no caso de aplicações oftálmicas.(7)

Contudo, é possível formular microemulsões com compostos farmacêuticamente aceitáveis, isto é, compostos GRAS (Generally Recognized as Safe). Várias formulações de microemulsões podem inclusivamente ser administradas por via parentérica.(31,43)

A baixa viscosidade das microemulsões também pode constituir um inconveniente à sua aplicação clínica. Contudo, como inclusivamente veremos ao longo do trabalho desenvolvido neste estudo, é possível adicionar gelificantes que aumentam a consistência destas preparações.(7)

Outro inconveniente relacionado com as microemulsões é o facto da estabilidade destas ser influenciada por parâmetros ambientais, como a temperatura e o pH, tornando necessário a adição de conservantes, antioxidantes e/ou sais tampão em alguns casos.(7)

1.3.7. Constituintes das microemulsões

1.3.7.1. Fase lipídica

Os componentes da fase oleosa influenciam as microemulsões essencialmente nos seguintes fatores: forma e tamanho das gotículas; solubilização da substância ativa na microemulsão (isto é, capacidade de carga); perfil de libertação da substância ativa e, no caso particular das microemulsões de uso tópico, na permeabilidade através da pele.(1,7,42)

A função da fase lipídica de solubilizar a fração hidrofóbica faz com que se consiga melhorar tanto a capacidade de carga do fármaco como a biodisponibilidade do mesmo, essencialmente tanto quanto mais hidrófobo este for.(44)

A seleção do(s) lípido(s) é, por isso, uma etapa importante no processo de formulação das microemulsões, uma vez que determina a quantidade de fármaco que pode ser solubilizada. É preferível uma molécula de lípido com uma grande porção hidrófoba comparada à sua porção hidrófila se o objetivo for melhorar a capacidade de carga.(44)

A componente oleosa das microemulsões influencia a curvatura da interface das gotículas (e dessa forma, a forma e estabilidade das mesmas) pela sua capacidade de “penetrar” mais ou menos na cauda das moléculas da monocamada do tensoativo. Dependendo do lípido, em particular, do seu tamanho relativo à cadeia hidrofóbica do tensoativo, a penetração de moléculas de óleo entre as cadeias hidrofóbicas da monocamada de agente tensoativo na interface ocorre em diferentes graus.(45) Esta penetração vai por sua vez ditar a curvatura da interface. Na Figura 7 é possível notar como uma maior penetração do lípido origina curvaturas diferentes.(42)

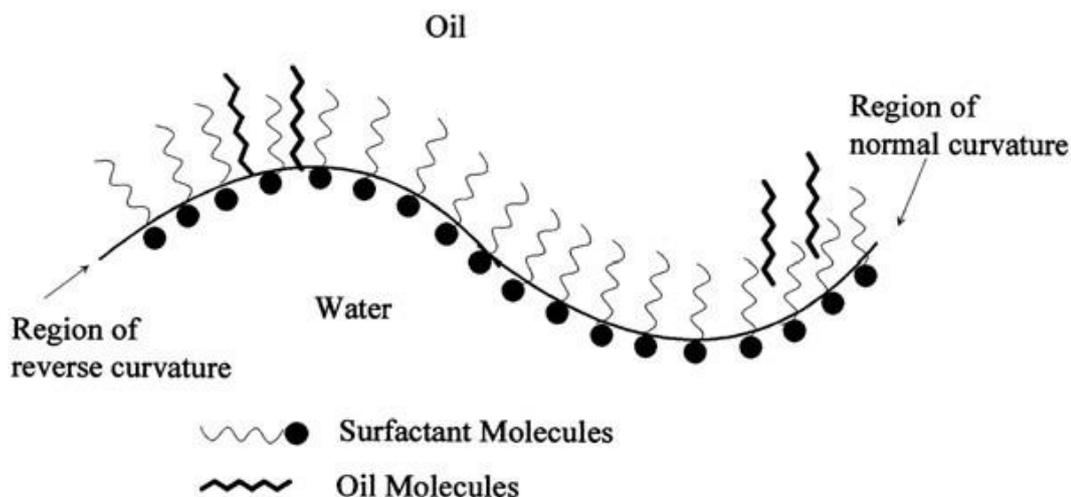


Figura 7: Diferente penetração do lípido na monocamada do tensoativo em função da curvatura da mesma. Neste caso, onde o lípido penetra mais as curvas da película interfacial é no sentido da água (isto é, na região de curvatura inversa).(42)

Ainda que o lípido (ou mistura de lípidos) escolhido influencie a capacidade de solubilização das substâncias ativas e que muitas vezes este seja o principal foco na escolha dos constituintes da componente lipídica, já vimos que vários estudos têm evidenciado que o aumento da solubilização (isto é, da capacidade de carga) nem sempre se traduz em melhor absorção a nível cutâneo. Como já foi referido, o lípido tem mais influência na maior ou menor absorção das substâncias ativas a nível cutâneo não por conferir maior ou menor capacidade de carga, mas por alterar a permeabilidade ou a solubilidade da pele a essas substâncias.(1,9,14)

São amplamente utilizados como componentes da parte lipídica das microemulsões de aplicação tópica os ácidos gordos saturados e insaturados e os álcoois de cadeia longa. Por exemplo, triglicerídeos, tolueno, ciclohexano, óleos minerais ou vegetais, silicones, ésteres de ácidos gordos, etc.(7)

1.3.7.2. Fase aquosa

Na fase aquosa de uma microemulsão encontramos não só as substâncias ativas hidrófilas, como também conservantes e, por vezes, soluções tampão.(7)

A quantidade de água é importante pois influencia a estrutura interna da microemulsão (ver Figura 4), o que, por sua vez, afeta a libertação das substâncias ativas para a pele.(1)

Além disso, a quantidade de água numa microemulsão obviamente influencia também a solubilidade dos fármacos, ou seja, a capacidade de carga da microemulsão em

questão. O facto da água nas microemulsões de uso cutâneo afetar a permeabilidade e o nível de hidratação da pele, faz com que a componente aquosa tenha grande impacto na biodisponibilidade dos fármacos veiculados.(1)

1.3.7.3. Tensioativos

Na formulação de microemulsões, devem ser tidos em conta três fatores importantes relacionados com o tensioativo.

Em primeiro lugar, devem ser escolhidos tensioativos que produzam uma tensão interfacial muito baixa. A baixa tensão interfacial é a principal razão para a emulsificação espontânea que ocorre nas microemulsões.(1,7)

Em segundo lugar, a concentração do agente tensioativo deve ser elevada para proporcionar um número de moléculas suficiente para estabilizar as gotículas da fase interna. Por isso, encontramos concentrações elevadas (10-40%) de tensioativo nas microemulsões. O uso de co-tensioativo pode, contudo, reduzir a quantidade de tensioativo.(46)

Por fim, a interface deve possuir características de flexibilidade ou de fluidez tais que promovam a formação da microemulsão. Veremos à frente que são muitas vezes utilizados álcoois de cadeia curta como co-tensioativo precisamente para conferir essas características que alguns tensioativos por si só não têm.(7)

As moléculas dos tensioativos têm duas regiões: um grupo polar e uma região de cauda apolar. Esta última corresponde sempre a um volume molecular maior, em particular no caso de tensioativos iónicos.

Os tensioativos são capazes de dissolver tanto mais água quanto mais pequena for a região apolar. Exceção no caso do Tween® 80 por este possuir uma estrutura de cadeia insaturada, fazendo com que a mesma se dobre e assim não permite que as cadeias da fase lipídica penetrem tanto.(47)

Ao serem dispersos em água, os tensioativos auto-associam-se numa variedade de fases de equilíbrio que vão depender da interação de várias forças inter e intramoleculares. Os tensioativos também se auto-associam em solventes não aquosos. Contudo, neste caso, a orientação das moléculas é diferente, pois estarão invertidas em relação às posições adotadas em solução aquosa.

Quando os tensioativos são incorporados em misturas imiscíveis de óleo e água, as moléculas do agente tensioativo vão ser encontradas na interface óleo / água, pois é onde encontram o equilíbrio termodinâmico mais favorável.(42)

Recorre-se ao equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) na seleção de tensioativos adequados para microemulsões. Usando este sistema, utilizam-se emulsionantes no intervalo 3-6 do EHL para se obter microemulsões óleo/água e no intervalo de 8-18 para microemulsões água/óleo.(7)

A lipofilia e a estrutura do tensioativo desempenham um papel importante no perfil de libertação da substância ativa por afetarem o empacotamento e a forma da camada interfacial. Além disso, conforme já referido para os componentes da fase lipídica, o aumento do teor de tensioativo (e/ou de co-tensioativo) nas microemulsões pode auxiliar o transporte dos fármacos através da pele pelo facto de estes eventualmente perturbarem o estrato córneo.(1) Além disso, a quantidade de tensioativo nas microemulsões parece também afetar a quantidade de fármaco que atravessa as membranas por afetar a quantidade de “transportadores” disponíveis específicos para algumas substâncias ativas.(48) Ou seja, o efeito que o tensioativo tem na biodisponibilidade de um fármaco administrado na pele não é só devido ao seu efeito na solubilização e libertação do fármaco a partir da microemulsão (veículo), mas também deve-se ao efeito individual do tensioativo na própria pele.(1)

Todos os agentes tensioativos a serem utilizados em microemulsões de uso cutâneo, devido ao facto de representarem uma grande quantidade na formação das microemulsões, devem ser de baixa toxicidade, baixo potencial de irritação e boa tolerância cutânea. Os tensioativos não-iónicos são os mais versáteis devido às suas boas características de solubilização, por não serem irritantes e pela sua capacidade de aumentarem a permeabilidade e a retenção cutânea.(28) Por estes motivos, os agentes tensioativos mais usados em microemulsões de uso cutâneo são geralmente do grupo dos não-iónicos.(7)

Inclusive, tem sido reportado que microemulsões formadas com uma mistura de tensioativos não-iónicos são mais eficazes que as microemulsões formadas por tensioativos iónicos. Isto porque a distribuição de tamanho de gotícula que se consegue é mais pequena (10-100nm), são substâncias menos tóxicas e por vezes é evitado o uso de co-tensioativos.(47)

1.3.7.4. Co-tensioativos

Na maior parte dos casos, recorrer apenas a tensioativos de cadeia simples não é suficiente para reduzir a tensão interfacial e assim permitir que uma microemulsão se forme espontaneamente. A presença de co-tensioativos permite que a película

interfacial ganhe flexibilidade suficiente para assumir a curvatura necessária para que se forme uma microemulsão.(7)

Uma microemulsão é um sistema dinâmico e o seu equilíbrio é mantido pelo contínuo intercâmbio de substâncias / moléculas entre as fases dispersas. Este processo dinâmico envolve a troca de água entre os seus estados livre e ligado, troca de co-tensioativo entre o filme interfacial, a fase contínua e a fase dispersa e troca de tensioativo entre a fase aquosa e a película interfacial. Este comportamento dinâmico das microemulsões é devido à flexibilidade da película interfacial. Flexibilidade esta que é conferida essencialmente pela presença do co-tensioativo.(44)

O co-tensioativo tem afinidade para ambas as fases, tanto para a oleosa como para a aquosa, mas encontra-se particularmente presente na monocamada interfacial do tensioativo principal.(42)

Várias substâncias podem funcionar como co-tensioativos. Por exemplo, agentes tensioativos não iónicos, álcoois, ácidos alcanóicos, alcanodióis e alquilaminas.(42)

São mais frequentes, contudo, os álcoois de baixo peso molecular e os glicóis com comprimento de cadeia entre C2 e C10. O comprimento da cadeia dos álcoois é inversamente proporcional ao potencial de irritação. Álcoois alifáticos com um comprimento da cadeia de carbono de C3 a C8 são classificadas como irritantes oculares fortes, enquanto o etanol é classificado como irritante moderado.(28)

Portanto, o etanol, propilenoglicol, o polietilenoglicol (PEG) e o Transcutol® são alguns do co-tensioativos mais usados.(44)

O tamanho da cadeia de carbonos do co-tensioativo é importante não só a nível da irritação/toxicidade, mas também ao nível da eficácia do mesmo. A distribuição do co-tensioativo entre a interface e a fase contínua aquosa depende do seu carácter hidrofílico. Por exemplo, o etanol tem um coeficiente de distribuição interface/fase aquosa inferior ao do butanol. Portanto, uma maior solubilidade em água por parte do etanol significa ser necessária mais quantidade deste co-tensioativo numa microemulsão de forma a obter-se uma interface com propriedades mecânicas semelhantes às que se obtêm usando butanol, uma vez que a distribuição do etanol penderá mais para a fase aquosa do que para a interface de tensioativo principal.(28)

No que diz respeito a afetar a biodisponibilidade de fármacos a nível cutâneo, uma vez que a maioria dos co-tensioativos usados são álcoois de cadeia curta, o seu efeito na permeabilidade da pele não pode ser menosprezado. Além disso, tem sido observado que o aumento do tamanho da cadeia do co-tensioativo (de etanol para isopropanol)

faz baixar a biodisponibilidade de alguns fármacos, ao passo que o aumento do número de grupos hidroxilo (de isopropanol para propilenoglicol) faz aumentar a biodisponibilidade dos mesmos.(1)

1.4. Objetivos do trabalho

Este trabalho consistiu essencialmente em duas partes. A primeira diz respeito ao desenvolvimento de microemulsões e a sua caracterização. A segunda parte está relacionada com o desenvolvimento de microemulgeles.

Os objetivos da primeira parte do trabalho foram os seguintes:

- Estudo do método de preparação das microemulsões;
- Estudo da variação do componente lipídico e do co-tensioativo;
- Estudo do efeito da incorporação do ibuprofeno na microemulsão;
- Estudo da estabilidade das microemulsões.

Os objetivos da segunda parte do trabalho foram os seguintes:

- Preparação e caracterização de microemulgeles, com e sem ibuprofeno;
- Comparação entre microemulgeles e geles simples;
- Estudo da estabilidade dos micromulgeles.

2. Parte Experimental

2.1. Materiais e equipamentos

2.1.1. Matérias-primas e reagentes

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas as seguintes matérias-primas e reagentes (Tabela 4):

Tabela 4: Lista de matérias-primas utilizadas neste trabalho.

Matéria-prima	Função	Lote	Fornecedor
Ibuprofeno	Substância ativa	L12090056-OF-113525	Fagron
Miglyol® 812	Lípido líquido	132249-P-2	Acofarma
Oleato de Decilo (Cetiol® V)	Lípido líquido	072069	Acofarma
Miristato de Isopropilo	Lípido líquido	12627-B40-277450	Fagron
Tween® 80	Tensioativo	130287-P-2	Acofarma
Transcutol®	Co-tensioativo	142448	Gattefossé SAS
Glicerina	Co-tensioativo	131219-P-1	Acofarma
Etanol	Co-tensioativo	15000506	AGA Álcool e Géneros
Cetrimida®	Conservante	DB/001/078/2001	José M.Vaz Pereira SA
Carbopol® 974P	Gelificante	CC6NMAB274	Noveon
Aristoflex® AVC	Gelificante	GBG0003931	Clariant

2.1.2. Equipamentos

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizados as seguintes equipamentos (Tabela 5):

Tabela 5: Lista de equipamentos utilizados neste trabalho.

Equipamento	Fabricante	Modelo	Origem
Difratômetro laser	Malvern Instruments	Mastersizer 3000E	UK
Homogeneizador de alta pressão	Stansted	SPCH-10	UK
Agitador mecânico	Jankel & Kunkel	T25 Ultra-turrax	Germany
Ultrassons	Sonics & Material Inc.	VCX 130	USA
Osmómetro	Loser Messtechnik	Type 15	Germany
Centrífuga	Eppendorf AG	5804	Germany
Potenciómetro	Crison Instruments SA	Basic 20	Spain
Agitador em hélice	Heidolph	RZR 2041	Germany
Viscosímetro	Themo Haake	Viscotester 550	Germany
Texturómetro	Stable Micro Systems	TA-XT2i	UK
Espectrofotómetro	Jasco	V-650	Japan

2.2. Métodos

2.2.1. Preparação das microemulsões

Neste trabalho foram preparadas microemulsões por dois métodos diferentes: pelo método da homogeneização a alta pressão e pelo método de sonicação.

O método de homogeneização a alta pressão consiste em passar a preparação por um homogeneizador de alta pressão, o qual consiste num gerador de alta pressão e num dispositivo de interação. De acordo com a geometria do referido dispositivo de interação, os homogeneizadores de alta pressão podem ser divididos, essencialmente, em duas categorias: equipamentos com uma válvula em forma de anel e equipamentos baseados numa câmara de interação entre dois líquidos.(49)

O tipo de homogeneizador utilizado neste trabalho foi com válvula em forma de anel e consiste numa válvula hidráulica ou eletrónica que assegura uma pressão constante e reproduzível durante a homogeneização. O homogeneizador utilizado neste estudo permite uma homogeneização com uma pressão até 3.500Bar.(49)

Neste tipo de homogeneizador, a emulsão é submetida a turbulência e a cisalhamento intensos. A turbulência parece ser, contudo, o mecanismo predominante, ainda que o cisalhamento laminar e a cavitação também desempenhem papéis importantes. A turbulência leva à rutura da fase dispersa em pequenas gotículas. A colisão que resulta do movimento das gotículas leva também à sua coalescência, mas geralmente há um equilíbrio dinâmico entre a quebra e a coalescência. O tamanho das gotículas depende, portanto, deste equilíbrio pender mais para a quebra ou para a coalescência. Este equilíbrio é função da pressão regulada no equipamento, sendo que quanto maior a pressão, menor o tamanho das gotículas.(50)

A cavitação ocorre se a pressão atingir valores próximos da pressão de vapor. Neste caso, surgirão bolhas de vapor ou gás (cavitação), que aumentarão até que haja a implosão das mesmas. Dessas implosões, resulta uma alta tensão local que provoca a quebra e o rompimento das gotículas, gerando a formação de novas gotículas com tamanhos menores.(49)

Num homogeneizador de câmara de interação entre dois líquidos ou também chamado processo de microfluidização, a emulsão é passada através de uma câmara de interação que é composta por dois canais de fluxo, que são concebidos para que a duas correntes de emulsão grosseira colidam uma com a outra a alta velocidade e a

alta pressão, criando, assim, uma elevada força de cisalhamento, resultando numa emulsão de gotículas muito pequenas.(51)

O método de sonicação, também utilizado neste trabalho na preparação de microemulsões, ocorre através de dois mecanismos. Em primeiro lugar, a aplicação de um campo acústico produz ondas interfaciais que tornam as gotículas da fase dispersa instáveis, eventualmente resultando na sua erupção. Em segundo lugar, a aplicação de ultrassons de baixa frequência provoca a cavitação acústica. Isto é, a formação e subsequente colapso de microbolhas resultantes das flutuações da pressão da onda sonora. Cada colapso da bolha (uma implosão à escala microscópica) causa níveis de turbulência elevada e altamente localizada. O resultado dessas micro-implosões são pois a quebra das gotículas primárias da fase dispersa em gotículas de tamanho nanométrico.(52)

Os estudos que comparam a emulsificação por ultrassons com os sistemas de dispersão estator-rotor mostram que o ultrassom é um processo competitivo ou mesmo superior em termos de tamanho de gotícula e eficiência energética. A microfluidização parece ser mais eficiente que o ultrassom, mas menos rentável ou eficaz no que diz respeito ao custo de produção, à contaminação ou ao processamento asséptico. Além disso, comparando o processo de ultrassons com o processo de agitação mecânica, o processo de sonicação, para um dado tamanho de gotícula desejado, permite reduzir a quantidade de tensioativo requerida, o consumo de energia (por meio de perda de calor) é menor e as microemulsões obtidas são menos polidispersas e mais estáveis.(52)

2.2.1.1. Composição das microemulsões

No decorrer deste trabalho foram preparadas várias microemulsões (Tabela 6). Apesar de terem sido preparadas fórmulas diferentes, a proporção entre as matérias-primas em relação à sua função na fórmula foi sempre mantida.

Tabela 6: Fórmula geral das microemulsões preparadas neste trabalho.

Matéria-prima	Quantidade (%)
Lípido líquido	
• Miglyol® 812	10,0%
• Cetiol® V	
• Miristato de Isopropilo	
Tensioativo	
• Tween® 80	10,0%
Co-tensioativo	
• Transcutol®	4,0%
• Glicerina	
• Etanol	
Conservante	
• Cetrimida®	0,5%
Água purificada	qbp 100%

2.2.1.2. Preparação das microemulsões por homogeneização a alta pressão

A preparação das microemulsões pelo método da homogeneização a alta pressão consistiu nos seguintes passos:

- Dissolver o tensioativo em água, com ligeiro aquecimento.
- Depois de dissolvido o tensioativo e de arrefecida a solução, juntar o conservante e o co-tensioativo.
- Emulsificar a preparação juntando o lípido líquido à fase aquosa com auxílio do Ultra-Turrax, programado para 13500 rpm, durante 5 minutos.
- Fazer passar a emulsão pelo homogeneizador de alta pressão, lavando previamente o equipamento, primeiro com água e depois com a própria emulsão, antes de recolher o produto final.
- Fazer passar de novo o produto obtido pelo homogeneizador, contudo rejeitando a primeira porção de forma a “lavar” o homogeneizador, conforme Figura 8.

Após passar a emulsão pelo ultra-turrax as amostras foram denominadas de “MEH_0”. Depois da primeira homogeneização, as amostras denominaram-se de “MEH_1”. Após duas homogeneizações, as amostras denominaram -se de “MEH_2” e da mesma forma se denominaram de “MEH_3” após a terceira homogeneização. Ver Figura 8 para melhor compreensão.

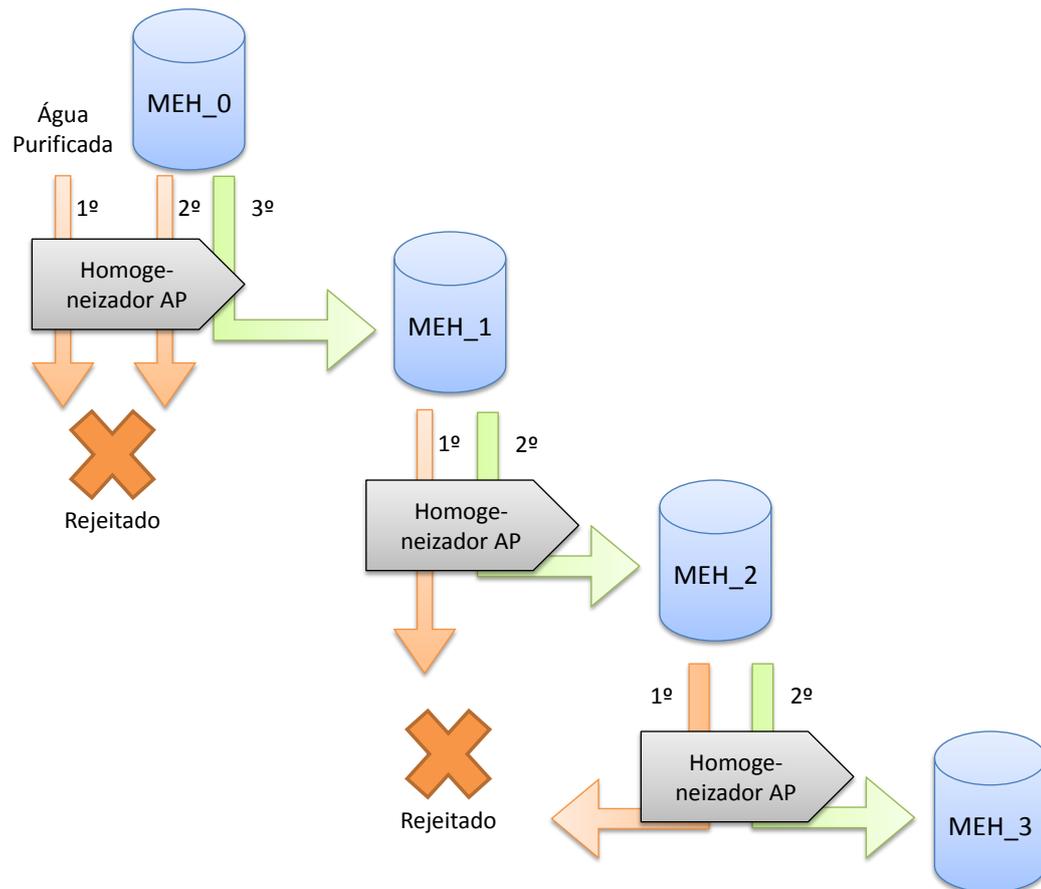


Figura 8: Esquema da preparação de microemulsões pelo método de homogeneização a alta pressão.

2.2.1.3. Preparação das microemulsões por sonicação

A preparação das microemulsões pelo método da sonicação consistiu nos seguintes passos:

- Dissolver o tensoativo em água, com ligeiro aquecimento.
- Depois de dissolvido o tensoativo e de arrefecida a solução, juntar o conservante e o co-tensoativo.
- Pesar o lípido líquido. No caso em que foram preparadas microemulsões com ibuprofeno, este foi adicionado ao lípido líquido.
- Emulsificar a preparação juntando o lípido líquido (com ou sem ibuprofeno) à fase aquosa com auxílio do Ultra-Turrax, programado para 13500 rpm, durante 5 minutos.
- Proceder à sonicação da emulsão com auxílio do ultrassons, programado para uma amplitude de 70% durante 10 minutos.

Notar que algumas preparações se fizeram com 5 e 15 minutos de sonicação em vez dos 10 minutos referidos neste procedimento. O objetivo foi estudar o efeito do tempo de sonicação no tamanho das gotículas.

2.2.2. Caracterização das microemulsões

Após a preparação das microemulsões, regra geral em lotes de 100g, as mesmas foram acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas à temperatura ambiente. Sensivelmente 15 minutos após a sonicação ou a homogeneização a alta pressão, foi medido o tamanho das gotículas, recorrendo ao *Mastersizer*, ao mesmo tempo que se avaliaram as características organoléticas e o pH das preparações.

Para algumas microemulsões foram efetuados, como veremos adiante, estudos de estabilidade.

2.2.2.1. Análise organolética

Ainda que as microemulsões não representem o aspeto final da preparação, uma vez que serão posteriormente gelificadas, a caracterização organolética das mesmas foi ainda assim levada a cabo no sentido de procurar detetar alterações ou problemas que possam afetar a preparação final.

Esta análise consistiu numa simples avaliação visual da cor e da homogeneidade.

Apesar da simplicidade desta avaliação, problemas no aspeto visual e/ou na homogeneidade constituem indicadores seguros de problemas nas matérias-primas ou na preparação.(53)

2.2.2.2. Avaliação do pH

Tal como referido para a análise organolética, em que as microemulsões não representam o aspeto da preparação final, o pH das microemulsões tão pouco é representativo do pH da preparação final correspondente. Contudo, esta avaliação foi ainda assim levada a cabo por três motivos.

Em primeiro lugar, porque o pH é um parâmetro muito importante para caracterizar qualquer preparação de uso cutâneo, uma vez que estas devem apresentar um pH compatível com a região do corpo onde são aplicadas, ainda que seja num produto intermédio.

Por outro lado, a comparação de resultados da avaliação de pH de diferentes microemulsões permitiu estudar diferenças entre diferentes microemulsões. Como veremos adiante, foram preparadas diferentes microemulsões em que se fizeram variar as matérias-primas ou procedimentos da preparação, resultando em pequenas diferenças de pH.

Por fim, e como veremos adiante, a avaliação do pH é um parâmetro estudado na avaliação da estabilidade das preparações. É, por isso, importante medir o pH logo após a preparação assim

como ao longo de um período de tempo mais alargado, de forma a detetar possíveis alterações na estabilidade das preparações.

2.2.2.3. Medição do tamanho das gotículas

A avaliação do tamanho das gotículas das microemulsões preparadas neste trabalho foi feita recorrendo ao método de difração laser.

A difração da luz é uma das técnicas mais utilizadas para medir o tamanho de partículas. Trata-se de um método rápido, fácil de usar, flexível e que pode ser adaptado para medir amostras em diferentes formas físicas. Esta técnica baseia-se no fenómeno das partículas em suspensão dispersarem a luz em todas as direções com um padrão de intensidade que é dependente do tamanho das partículas. (Figura 9)

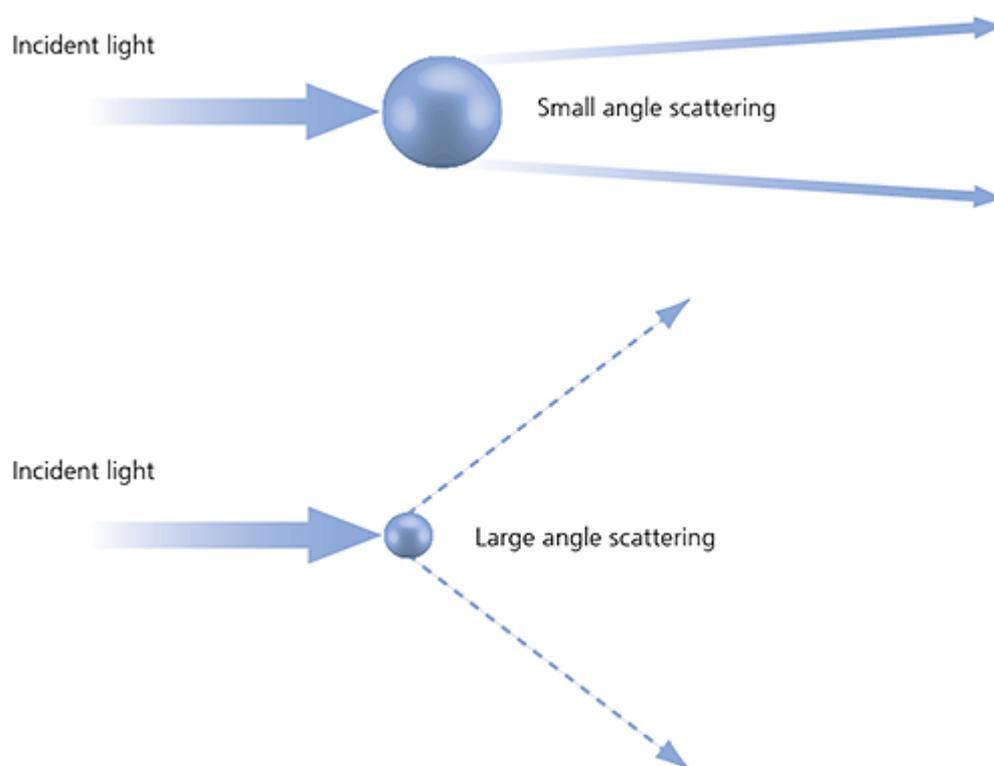


Figura 9: Dispersão da luz em função do tamanho da partícula.(55)

A amostra dispersa é atravessada por um feixe de laser que ilumina as partículas. Em seguida, uma série de detetores mede com exatidão a intensidade da luz dispersa pelas partículas na amostra numa vasta gama de ângulos (Figura 10). Os padrões dos feixes de luz colimada que se geram são, portanto, diferentes em função do tamanho das partículas. Submetendo esses padrões a uma análise matemática consegue-se

obter uma distribuição precisa e reprodutível do tamanho das partículas presentes nessa amostra.(54)

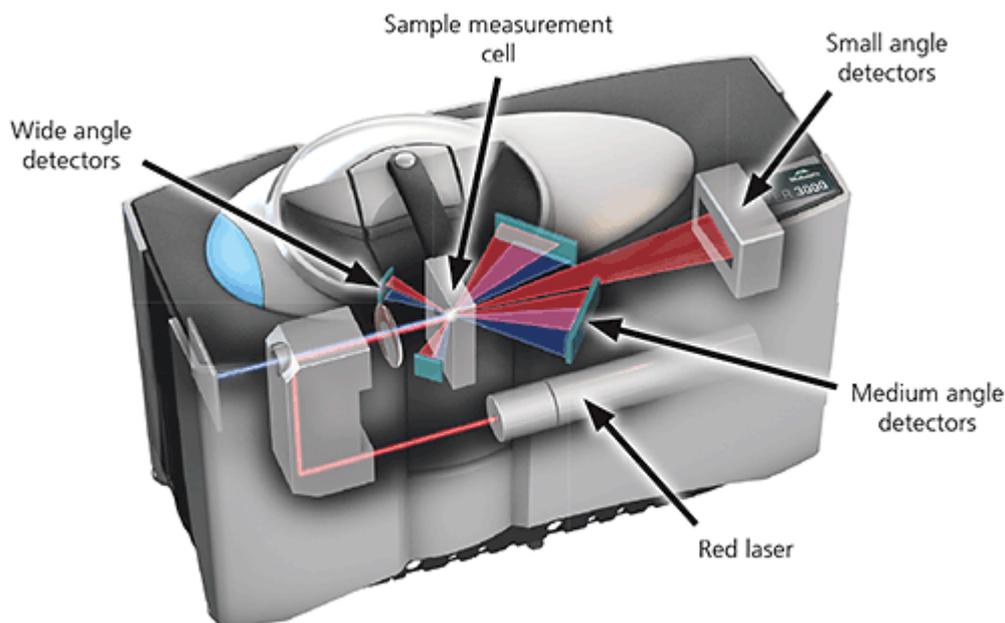


Figura 10: Layout de um instrumento de difração da luz.(55)

Os resultados de uma avaliação do tamanho das partículas são geralmente apresentados na forma de uma distribuição estatística. Os tamanhos das partículas são apresentados em percentis. Isto é, o tamanho obtido para D_m representa o tamanho onde $m\%$ das partículas é inferior a esse valor. Por exemplo, um D_{50} de $200\mu\text{m}$ indica que 50% das partículas analisadas têm um tamanho inferior a $200\mu\text{m}$.(54)

Os parâmetros do equipamento que foram utilizados foram os seguintes (Tabela 7):

Tabela 7: Parâmetros do Mastersizer

Nome do material	Lípido
Índice de refração	1,6
Índice de absorção	0,01
Densidade (g/cm^3)	1

2.2.3. Preparação de microemulgeles a partir de microemulsões

Após preparação das microemulsões e de efetuados os respetivos ensaios de caracterização, as mesmas foram gelificadas recorrendo a dois gelificantes distintos: Carbopol® 974P e Aristoflex® AVC.

O Carbopol® 974P é nome comercial para uma mistura de carbómeros. O Carbopol® 974P é composto por polímeros do ácido acrílico reticulados com éteres polialcenílicos de açúcares ou de poliálcoois cujo solvente é o acetato de etilo e é do tipo homopolímero, o que significa que são polímeros de ácido acrílico reticulado com alilos de sacarose ou alilos de pentaeritritol. Quando em solução a 0,5% em água e pH 7,5, produzem um gel com 29400 a 39400 mPas. É um pó higroscópico, branco ou quase branco e leve. Não é tóxico nem irritante e não há evidência de causar hipersensibilidade quando utilizado topicamente. É um gelificante que pode ser utilizado para conferir consistência às microemulsões.(35,56,57)

O Aristoflex® AVC é um polímero versátil, que pode ser usado para vários tipos de formulações de uso tópico. Permite modificar a viscosidade das preparações e ao contrário dos carbómeros, o Aristoflex® AVC já vem pré-neutralizado. É um copolímero sintético de ácido sulfónico acriloidimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado com amónia. Quando em sistemas aquosos, forma um gel transparente. Quando em emulsões óleo/água serve de agente espessante. Quanto aos seus dados físico-químicos, é um pó branco com um teor de água de 7% (máximo), de pH 4 a 6 quando em solução a 1% em água e de viscosidade de 48000 a 80000 mPas quando usado na mesma concentração.(58,59)

2.2.3.1. Composição das microemulsões gelificadas

Tabela 8: Fórmula geral dos geles preparados neste trabalho.

Matéria-prima	Quantidade (%)
Gelificante	
• Carbopol® 974P	1,5%
• Aristoflex® AVC	
Microemulsão	qbp 100%

2.2.3.2. Preparação dos microemulgeles de Carbopol® 974P

- Transferir a quantidade adequada de Carbopol para um almofariz de porcelana.
- Juntar aos poucos a microemulsão a gelificar ao Carbopol, prevenindo a formação de grumos com agitação moderada.
- Após toda a microemulsão ter sido adicionada, neutralizar a preparação com trietanolamina.

2.2.3.3. Preparação dos microemulgeles de Aristoflex® AVC

- Dispersar lentamente o Aristoflex na microemulsão a gelificar.
- Agitar a preparação recorrendo ao agitador em hélice, programado para 500 rpm, durante 1 hora.

2.2.4. Caracterização dos microemulgeles

Foram preparados microemulgeles a partir das microemulsões, sendo esta a apresentação final das preparações. Todos os microemulgeles foram preparados com uma quantidade de gelificante de 1,5% e armazenados à temperatura ambiente em recipientes de plástico.

A caracterização dos microemulgeles preparados foi feita 1 ou 2 dias após a preparação e consistiu na avaliação da viscosidade, textura, pH e doseamento da substância ativa.

Como veremos adiante, em alguns microemulgeles foi possível efetuar estudos de estabilidade em que se analisaram possíveis alterações de viscosidade, textura e pH ao longo do tempo, além do estudo de estabilidade acelerada por centrifugação.

2.2.4.1. Análise organolética

A análise das características organoléticas permite obter uma primeira noção acerca da qualidade da preparação. É a primeira análise que qualquer indivíduo faz, mesmo que involuntariamente, quando aplica na pele uma preparação de uso cutâneo. É também, por isso, o parâmetro mais acessível para se avaliar a qualidade de uma preparação semissólida.

Os microemulgeles preparados neste trabalho foram avaliados quanto ao aspecto, em particular quanto à cor e homogeneidade.

Problemas no aspeto visual das preparações semissólidas são indicativos imediatos, acessíveis e quase sempre seguros de problemas nas matérias-primas ou na preparação das formulações.(53)

Além disso, alterações nos parâmetros organoléticos dão indicações imediatas de alterações no estado de conservação das preparações. Por isso, para os estudos de estabilidade que falaremos à frente, foi feita uma análise organolética frequente dos microemulgeles preparados.

2.2.4.2. Avaliação do pH

Tal como já referido para as microemulsões, o pH de uma preparação de aplicação cutânea constitui um parâmetro muito importante uma vez que deve apresentar um pH compatível com a região do corpo onde se aplica.(53)

O pH do estrato córneo é um componente essencial da barreira epidérmica na sua função de proteger o organismo contra elementos nocivos. Tanto o valor de pH na superfície da pele como o gradiente de pH no estrato córneo são de grande importância pois controlam a atividade de enzimas dependentes do pH, regulam a queratinização, descamação, coesão e homeostasia da pele.

A pele tem um valor de pH que varia em torno dos 5,5, mas este valor pode variar ligeiramente consoante a exposição a condições ambientais, idade, sexo e local anatómico, mas também devido à utilização de produtos tópicos ou cosméticos. Isto é de extrema importância pois alterações no pH do estrato córneo podem promover (ou atenuar) doenças da pele.(60)

Contudo, ainda que o pH seja, como referido, um parâmetro importante, a sua avaliação neste trabalho foi feita mais num sentido de caracterização das preparações obtidas e na avaliação de possíveis alterações ao longo do tempo (nos ensaios de estabilidade). Por outras palavras, mais que o carácter fisiológico do pH acima referido, foi dada mais atenção ao seu carácter tecnológico.

Não houve, portanto, um cuidado especial no desenvolvimento das preparações apresentadas neste trabalho em estabelecer uma especificação para que o valor de pH se encontrasse dentro de um determinado intervalo. Não houve, por isso, também qualquer “ajuste” do pH (com a adição, por exemplo, de sais ou soluções tampão).

Por outro lado, as alterações de pH são um bom indicador de alterações do estado de conservação das preparações.(53) Por isso, e como já referido, neste trabalho foram

efetuadas avaliações periódicas do pH de algumas preparações. Esta avaliação foi levada a cabo precisamente para avaliar a estabilidade das preparações.

2.2.4.3. Avaliação da viscosidade

A avaliação das características reológicas de formulações semissólidas é de fundamental importância, pois serve como auxílio no prognóstico dos efeitos da formulação e do processamento nas características do produto e na avaliação da sua qualidade e estabilidade.

As características reológicas estão, também, estreitamente relacionadas com a facilidade de enchimento das embalagens no processo produtivo industrial e da remoção do produto do material de acondicionamento.

Noutro aspeto menos industrial, características como a espalhabilidade e aderência do produto à pele, são parâmetros reológicos importantes na aceitabilidade do medicamento pelo paciente, assim como na estabilidade física do produto e na libertação do fármaco.(61)

A viscosidade de uma preparação traduz a sua resistência ao fluxo ou ao escoamento, sendo que, quanto maior a viscosidade menor a velocidade com que a preparação escoar.(5)

Em termos reológicos, os materiais podem ser definidos como sendo do tipo Newtoniano ou não-Newtoniano. Um material com comportamento Newtoniano apresenta uma viscosidade constante, para uma dada temperatura, independentemente da força aplicada. Um comportamento não-Newtoniano caracteriza-se pela alteração da viscosidade quando se altera a força de corte aplicada.

Dentro dos materiais com comportamento não-Newtoniano existem materiais plásticos, pseudo-plásticos (ou reofluidificantes) e dilatantes (ou reoespessantes) conforme o seu comportamento reológico quando aplicada uma determinada força externa, sem considerar o fator tempo (Figura 11).

Um comportamento pseudoplástico (ou reofluidificante) caracteriza-se, para valores de temperatura constante, pela diminuição da viscosidade quando se aumenta a tensão de corte. Este é o comportamento geralmente encontrado em emulsões, dispersões e suspensões.

Um material plástico caracteriza-se por não fluir quando se lhe aplica uma tensão de corte muito baixa, sendo que apenas acima de um valor mínimo de tensão de corte

(designado por valor de cedência) é que estes começam a escoar. Este comportamento é apresentado por determinados cremes.

Ainda dentro dos materiais com comportamento não-Newtoniano, sem considerar o fator tempo, temos os materiais dilatantes (ou reoespessantes), que se caracterizam por um aumento da viscosidade conforme aumenta a tensão de corte aplicada. Estes fluem a baixas tensões de corte, mas tornam-se menos fluidos quando submetidos a tensões de corte elevadas. Este comportamento é encontrado em pastas ou composições com elevada concentração de pigmentos.

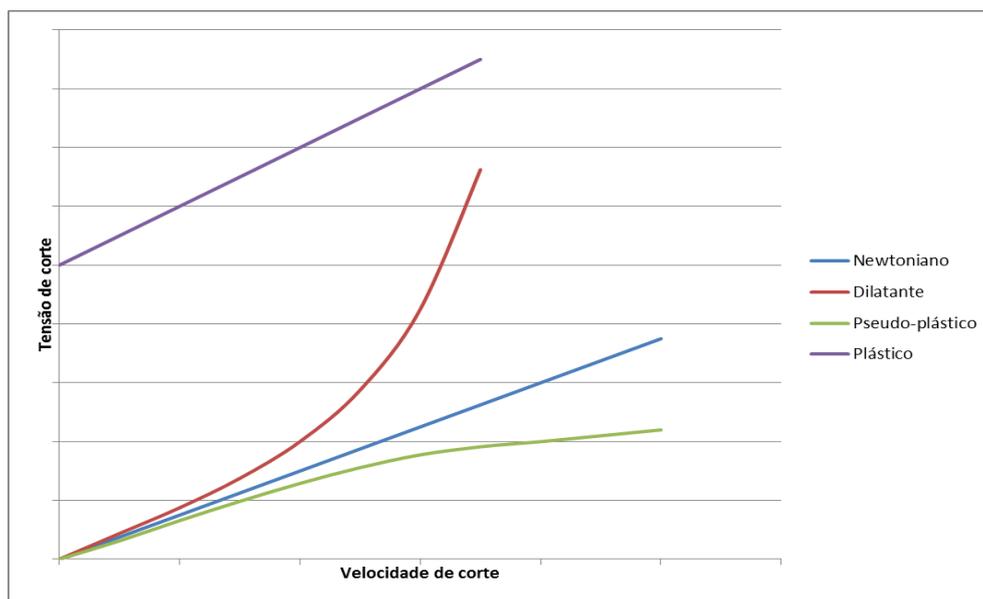


Figura 11: Representação gráfica de tensão de corte vs velocidade de corte de diferentes tipos de comportamentos reológicos.

Por outro lado, os materiais podem ser classificados pelas suas alterações reológicas ao longo do tempo quando aplicada uma tensão de corte constante. Assim, temos fluidos com tixotropia ou fluidos com anti-tixotropia ou reopexia.

Se ao longo do tempo a viscosidade de um material diminuir, para uma tensão de corte constante, diz-se que apresenta um comportamento tixotrópico. Já um comportamento reopético (mais raro) caracteriza-se pelo aumento de viscosidade ao longo do tempo, para a mesma tensão de corte aplicada.

Num reograma, a tixotropia pode ser avaliada pela área de histerese, isto é, a área existente entre as curvas ascendente e descendente do reograma (Figura 12).

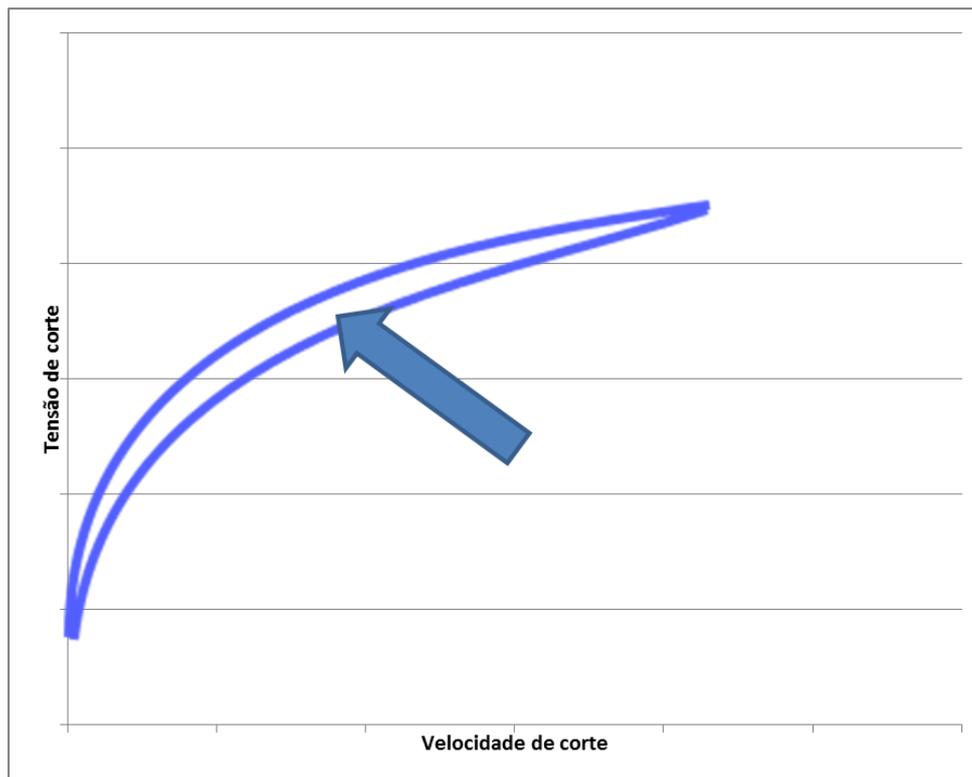


Figura 12: Exemplo de reograma de um material com tixotropia. A seta assinala a área de histerese.

Em formulações semissólidas, o comportamento tixotrópico é importante ser avaliado pois é um parâmetro interessante, tanto a nível da estabilidade das formulações como da facilidade da aplicação tópica.

Uma preparação com comportamento tixotrópico tende a ser mais estável fisicamente porque é mais consistente quando não se lhe aplica qualquer tensão. Logo, os constituintes da preparação mais dificilmente se separam. Quando na aplicação, dado ser aplicada uma tensão sobre a preparação e devido precisamente ao comportamento tixotrópico, a preparação torna-se mais fluída, facilitando o espalhamento, facilitando a aplicação cutânea. Assim que termina a aplicação, a preparação recupera a sua viscosidade inicial, evitando que o produto aplicado escorra para outras zonas da pele.(53)

Para a avaliação da viscosidade, a temperatura da amostra deve ser controlada, pois pequenas variações neste parâmetro podem originar alterações consideráveis nos valores obtidos.(5)

A determinação da viscosidade neste trabalho foi realizada recorrendo a um viscosímetro rotativo (Figura 13). O método consiste em determinar a força que se exerce sobre um corpo imerso numa preparação, posto em rotação a uma velocidade

angular (velocidade de rotação). Os viscosímetros rotativos (ou de corpo móvel) permitem determinar a viscosidade de materiais Newtonianos ou não Newtonianos.(62)

De forma a estudar o comportamento reológico das preparações deste trabalho, a velocidade angular do ensaio foi sendo aumentada desde rotações de 1 s^{-1} até 500 s^{-1} e depois descendo novamente até 1 s^{-1} , compreendendo 20 etapas ascendentes e outras 20 etapas descendentes, com intervalo de 60 segundos entre cada etapa. Obteve-se assim uma curva ascendente e outra descendente de viscosidade. Como já referido, a área entre a curva ascendente e a curva descendente do reograma permitirá aferir o comportamento tixotrópico.



Figura 13: Viscosímetro Thermo Haake VT500 com a respetiva sonda utilizada neste trabalho.(63)

2.2.4.4. Avaliação da textura

A textura corresponde às características mecânicas de uma preparação que são percebidas pelo sentido do tato.

Durante o desenvolvimento de formulações de aplicação cutânea, a avaliação da textura permite avaliar os efeitos das matérias-primas, da formulação ou do processo de preparação, na aceitabilidade do produto final uma vez que os atributos de textura são atributos sensoriais importantes para a aceitabilidade do produto final.

A determinação da textura pode ser feita por avaliação sensorial, recorrendo a um painel de pessoas, ou por avaliação instrumental. O principal objetivo da avaliação da textura recorrendo a um texturómetro é, de certa forma, substituir a avaliação sensorial humana como ferramenta para avaliar a textura.(64)

A avaliação da textura, conforme foi levada a cabo neste trabalho, consiste em ensaios mecânicos que permitem determinar as características de adesividade e de espalmabilidade de uma preparação e que estão relacionadas com a deformação observada nas preparações quando lhes é exercida uma força.(65)

O ensaio consiste na medição de parâmetros de força de penetração/adesão em função da distância percorrida por uma sonda durante a deformação de uma preparação. A referida sonda penetra na preparação a uma determinada velocidade e numa distância pré-definida. Ao fim dessa distância de penetração, a sonda ascende à posição inicial, acima da superfície da preparação.

Ao medir a força máxima necessária para a sonda penetrar na amostra na distância pré-definida avalia-se a firmeza (ou espalmabilidade) da preparação. Esse pico de força máxima está diretamente relacionado com a “dureza” da preparação, sendo que preparações mais consistentes necessitam de forças mais elevadas para que a sonda consiga penetrar na preparação.

A área negativa do gráfico força vs distância percorrida pela sonda corresponde ao trabalho necessário para a sonda ascender, ou seja, traduz a energia que é necessário despender para fazer regressar a sonda à posição inicial. Este valor permite avaliar a adesividade da preparação pois está diretamente relacionado com as forças de atração entre a preparação e a sonda e que são necessárias ultrapassar para que a sonda se desloque no sentido ascendente, de regresso à posição original. Assim, as preparações mais adesivas necessitam de mais trabalho para que sonda consiga regressar à posição original, traduzindo-se em valores (inteiros) de área negativa mais elevados.(53)

De notar ainda que a escolha da sonda ou acessório que se usa dependerá da preparação ou amostra, ou da propriedade que se deseja medir. O texturómetro usado neste trabalho vem equipado com vários tipos de sonda, sendo que foi usada para todos ensaios uma sonda de acrílico cilíndrica de 25 mm de diâmetro (Figura 14).(64)



Figura 14: Texturómetro Stable Micro Systems TA-XT2i com a sonda utilizada nos ensaios deste trabalho.(64)

2.2.5. Doseamento do ibuprofeno

O doseamento do ibuprofeno nas preparações deste trabalho foi feito recorrendo a espectrofotometria do UV-Vis. Foi utilizado um espectrofotómetro UV-Vis Jasco V-650 (Figura 15) e as leituras de absorvência foram realizadas a um comprimento de onda de 272 nm, já que o ibuprofeno apresenta um máximo de absorção neste comprimento de onda.(24)



Figura 15: Espectrofotómetro UV-Vis JASCO V-650.(66)

Este método analítico teve de ser validado para poder gerar resultados fiáveis e seguros.

O objetivo da validação de um método analítico é demonstrar que o mesmo é adequado ao propósito que serve. Baseia-se na comprovação formal e sistemática, através de evidências documentadas, de que esse método, levado a cabo dentro de especificações fixadas, origina resultados exatos, específicos, precisos, reproduzíveis e robustos na gama de medição em que decorre.(67)

Seguindo os parâmetros exigidos pela ICH Q2: “*Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*”, para validar o método analítico de doseamento do ibuprofeno utilizado neste trabalho procedeu-se ao estudo da exatidão, precisão, precisão intermédia, especificidade, linearidade e amplitude.

2.2.5.1. Exatidão

A exatidão é um parâmetro da validação que avalia a proximidade do ou dos resultados obtidos relativamente a um valor de referência ou valor dito "verdadeiro". Desta forma, foram preparadas 5 soluções padrão de ibuprofeno segundo a Tabela 9:

Tabela 9: Lista de padrões de ibuprofeno preparados para a validação do método de doseamento

Padrões	Concentração alvo (mg/mL)
120%	0,24
100%	0,20
80%	0,16
60%	0,12
40%	0,08

Os valores de concentração foram determinados tendo em conta a preparação com 1% de ibuprofeno. Se 0,5g de microemulgele forem dissolvidos em 25mL de clorofórmio, em teoria corresponde a ter 5mg de ibuprofeno em 25mL, logo a concentração 100% corresponde a uma concentração de 0,20mg/mL.

Depois de preparadas as soluções padrão, procedeu-se à leitura dos respetivos valores de absorvência. Desta forma, a exatidão é avaliada pela percentagem de recuperação do analito na amostra. A recuperação média deve ser de $100 \pm 2\%$.

2.2.5.2. Precisão

A precisão de um determinado método analítico é medida pela proximidade dos resultados obtidos a partir de uma série de medições feitas a diversas amostras recolhidas de uma mesma amostra homogénea de produto. Este parâmetro é normalmente indicado pelo desvio-padrão ou pelo intervalo de confiança dessa série de resultados.

A precisão de um método analítico pode ser avaliada a 3 níveis: repetibilidade, precisão intermédia e reprodutibilidade.

A repetibilidade consiste na precisão obtida nas mesmas condições e num curto espaço de tempo. Ou seja, quando a análise é efetuada no mesmo laboratório, por um mesmo analista, usando o mesmo equipamento, num curto espaço de tempo entre as medições. Para este estudo devem-se efetuar no mínimo 9 determinações, 3 concentrações e 3 réplicas ou então 6 determinações a 100% da concentração teste.

A precisão intermédia expressa as variações obtidas na sequência de determinações efetuadas por diferentes analistas, em diferentes dias e com diferentes equipamentos. Este parâmetro reflete a precisão dos resultados obtidos no mesmo laboratório ao longo do tempo (semanas), refletindo a imprecisão que resulta de diferentes analistas, diferentes aparelhos, padrões e reagentes.

Por último, a reprodutibilidade é a precisão calculada em diferentes laboratórios, demonstrando a concordância dos valores inter-laboratoriais com diferentes analistas, equipamentos, etc.(67)

Para avaliar a precisão do método de doseamento do ibuprofeno utilizado neste trabalho procedeu-se ao estudo da repetibilidade e ao estudo de precisão intermédia. Para a avaliação da repetibilidade foram efetuadas 6 determinações da absorvência da solução padrão de ibuprofeno com uma concentração de 100%. Para o estudo de precisão intermédia, foram igualmente efetuadas 6 determinações da absorvência da solução padrão de ibuprofeno com uma concentração de 100% no mesmo laboratório e com o mesmo equipamento, porém por um analista diferente, com 15 dias de diferença entre as medições efetuadas pelo primeiro e pelo segundo analista.

2.2.5.3. Especificidade

A especificidade de um método analítico é a capacidade de avaliar o analito na presença de outros componentes cuja existência é esperada, como sejam, impurezas, produtos de degradação, excipientes da preparação, etc. Ou seja, a especificidade avalia se o método responde a um só analito quando este se encontra na presença de outros componentes.

No caso de um doseamento, a especificidade do método é o que permite dizer que os resultados obtidos garantem uma avaliação exata sobre o conteúdo ou a potência da substância a analisar numa amostra.(67)

Para avaliar a especificidade do método de doseamento utilizado neste trabalho foram medidas absorvências de preparações com e sem ibuprofeno. Ou seja, foram preparados geles com os mesmos excipientes, nas mesmas proporções de cada excipiente e com o mesmo método de preparação, mas sem a substância ativa. A medição da absorvência destas preparações permitiu quantificar a interferência dos excipientes no método de doseamento.

2.2.5.4. Linearidade

A linearidade de um método analítico é a sua capacidade de (dentro de limites bem determinados) originar resultados diretamente proporcionais à concentração (ou

quantidade) de analito na amostra. Isto é, deve existir uma correlação linear entre os resultados da absorvência e a concentração de analito nas diferentes amostras.

Para este parâmetro devem ser analisadas soluções de padrão com concentrações de analito situadas no mínimo entre 80 e 120%. Neste trabalho foram preparadas soluções padrão entre 40% e 120%. Os resultados devem ser avaliados por métodos estatísticos apropriados, por exemplo, pelo cálculo de uma linha de regressão pelo método dos mínimos quadrados.(67)

Para a avaliação da linearidade deste método, foram medidas as absorvências dos padrões descritos na Tabela 9 e a partir das quais foi elaborada uma representação gráfica dos resultados. Desta forma, foi traçada uma curva de calibração, calculada a equação da reta de regressão linear, calculado o respectivo coeficiente de determinação e a soma do quadrado dos desvios.

2.2.5.5. Amplitude

A amplitude de um método analítico é o intervalo entre a maior e a menor concentração (ou quantidade) de analito na amostra para o qual se demonstrou que a técnica analítica apresenta níveis adequados de precisão, exatidão e linearidade.(67)

Neste caso, a amplitude do método utilizado no decorrer deste trabalho corresponde precisamente ao intervalo de concentração da solução padrão de 40% de ibuprofeno até à concentração de solução padrão de 120% de ibuprofeno.

2.2.5.6. Doseamento do ibuprofeno

Com o objetivo de quantificar o ibuprofeno presente nos geles preparados, procedeu-se à pesagem de 0,05g de microemulgele e posterior dissolução em 25 ml de clorofórmio.

Em seguida, procedeu-se à leitura dessa solução (previamente filtrada) no espectrofotómetro a 272nm. Aplicando a equação da reta de calibração obtida na avaliação da linearidade do método, foi possível calcular a concentração da solução e dessa forma avaliar o teor de ibuprofeno no microemulgele.

O método para avaliar a interferência dos excipientes foi o mesmo que o descrito para os geles com ibuprofeno.

O valor final do doseamento de ibuprofeno no microemulgele com substância ativa foi posteriormente corrigido, acautelando portanto a interferência dos excipientes do respetivo microemulgele sem substância ativa.

2.2.6. Ensaio de estabilidade

A estabilidade de produtos farmacêuticos pode ser definida como sendo a capacidade de uma dada formulação, acondicionada numa determinada embalagem (primária e secundária), para manter intactas as suas propriedades físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas, toxicológicas, etc.

A demonstração da estabilidade de uma preparação farmacêutica é um dos muitos requisitos que uma forma farmacêutica deve obedecer como garantia da qualidade, segurança e eficácia.(68)

A qualidade de uma preparação farmacêutica deve permanecer constante até à expiração do prazo de validade. São, por isso, levados a cabo ensaios durante o desenvolvimento das preparações farmacêuticas de forma a prever o seu comportamento físico e químico ao longo do tempo. Ao fim ao cabo, de forma a avaliar previamente a estabilidade das mesmas.(53)

A finalidade dos testes de estabilidade é proporcionar provas sobre como a qualidade de um produto farmacêutico ou substância ativa varia com o tempo sob a influência de vários fatores ambientais, tais como temperatura, humidade e luz. Quando aplicados a novas entidades farmacêuticas, estes testes permitem estabelecer um prazo de validade para o produto farmacêutico e as respetivas condições de armazenagem recomendadas. Os estudos de estabilidade permitem também determinar uma frequência de re-testes a serem realizados ao longo de todo o ciclo do medicamento.(69)

Os estudos de estabilidade devem incluir ensaios dos atributos da substância ativa ou do produto farmacêutico que são suscetíveis a alterações durante o armazenamento e que são suscetíveis de influenciar a qualidade, segurança ou eficácia do mesmo. Os testes devem abranger, conforme o caso, atributos físicos, químicos, biológicos e propriedades microbiológicas. Devem ser aplicados procedimentos analíticos validados nos estudos de estabilidade.

Em geral, uma nova entidade farmacêutica deve ser avaliada sob condições de armazenamento (com as tolerâncias apropriadas) que permitem testar a sua estabilidade térmica e, se for o caso, a sua sensibilidade à humidade. As condições de armazenamento e a duração dos estudos escolhidos devem ser suficientes para cobrir o armazenamento, transporte e a utilização subsequente.(69)

A duração e as condições dos estudos de estabilidade encontram-se harmonizados pela ICH Q1A “*Stability Testing of New Drug Substances and Products*” e podem, em

geral, ser divididos em testes de longa duração, testes em condições intermédias e em estudos acelerados. Em cada teste, são pesquisadas "alterações significativas" que ao fim ao cabo não são mais que falhas no cumprimento das especificações definidas para a substância ativa ou preparação farmacêutica em causa. São exemplo de "alterações significativas" qualquer produto de degradação superior ao seu critério de aceitação, deixar de cumprir os critérios de aceitação para a aparência, ou para atributos físicos ou de funcionalidade, como por exemplo a cor, o pH, a separação de fases, a dureza, o doseamento, a dissolução, etc. [13]

2.2.6.1. Estabilidade acelerada por centrifugação

Os produtos de aplicação tópica manifestam problemas específicos de estabilidade. Recorrem-se, por isso, a técnicas de envelhecimento adaptadas para produtos de aplicação cutânea, como por exemplo a avaliação da estabilidade acelerada por centrifugação.(53)

Este ensaio permite aumentar a velocidade das alterações físicas e/ou químicas da preparação ao ser aplicada uma condição extrema de força gravítica. Esta força atua sobre as partículas da preparação, gerando stresse sobre as mesmas, permitindo observar possíveis alterações de estabilidade. Estas alterações podem ser observadas sob a forma de precipitados ou de sedimentos compactos (*caking*), ocorrência de separação de fases, coalescência, entre outros.(65)

As preparações neste trabalho foram centrifugadas à temperatura ambiente, a 3000 rpm e durante 30 minutos. Se ao fim desse tempo permanecessem estáveis, as preparações seriam centrifugadas nas mesmas condições durante mais 30 minutos.

No fim do ensaio, as preparações foram inspecionadas visualmente. Separação de fases, formação de precipitado ou de sedimento seriam indicativos de problemas na estabilidade. A fase separada, o precipitado ou o sedimento seria, nesse caso, medido em volume em relação ao volume total de preparação centrifugada. Neste trabalho, a quantidade de amostra centrifugada foi sempre de 5mL.

Ainda que as microemulsões preparadas neste trabalho não representem a apresentação final da preparação farmacêutica, foram levados a cabo ensaios de estabilidade acelerada sobre as microemulsões de forma a antecipar problemas antes de proceder à respetiva gelificação. Caso uma microemulsão apresente problemas no ensaio de estabilidade acelerada por centrifugação dificilmente será uma preparação estável após gelificação se comparada com outra que não apresente os mesmos problemas.

De notar ainda que, ao contrário dos restantes estudos de estabilidade, os ensaios de centrifugação não foram levados a cabo ao longo do tempo. Isto é, foram sempre realizados poucas horas ou dias após efetuadas as respetivas preparações e foram feitos apenas uma vez para cada preparação. Por outras palavras, apesar de caracterizarem as preparações quanto à sua estabilidade, os ensaios de centrifugação dão resultados muito mais cedo que qualquer outro ensaio de estabilidade.

Contudo, este ensaio, ainda que útil durante o desenvolvimento de novas formulações, não anula os ensaios prescritos na ICH Q1A.

2.2.6.2. Estudo de estabilidade das microemulsões

Os estudos de estabilidade das microemulsões consistiram em avaliar características organolépticas, pH e tamanho das gotículas. A duração dos ensaios de estabilidade foi de 3 meses.

Como referido na caracterização das microemulsões, alterações no aspeto visual das preparações semissólidas são sinais imediatos, acessíveis e quase sempre seguros de alterações no estado de conservação das preparações.⁽⁵³⁾ Daí, que a avaliação da estabilidade de qualquer preparação comece sempre pela avaliação organoléptica. Para estudar a estabilidade das microemulsões foram analisadas alterações de cor e homogeneidade ao longo do tempo.

O pH é, como também já vimos, um parâmetro importante nas preparações semissólidas. É, por isso, um parâmetro que não se deve alterar ao longo do tempo, havendo o risco de se alterar para valores não compatíveis com a aplicação cutânea. Além disso, alterações de pH são, regra geral, indicações de problemas na estabilidade, pois podem ser resultado da formação de impurezas por envelhecimento das preparações.

Como já vimos nos capítulos da introdução, as microemulsões são consideradas preparações muito estáveis. Contudo, foi analisada a possibilidade de alterações no tamanho de gotículas das microemulsões preparadas, pelo que este ensaio foi levado a cabo também durante o período de 90 dias que durou o estudo de estabilidade.

2.2.6.3. Estudo de estabilidade dos microemulgeles

Os estudos de estabilidade dos microemulgeles consistiram em avaliar características organoléticas, pH, viscosidade e textura. A duração dos ensaios de estabilidade foi de 1 mês.

Tal como para as microemulsões, alterações no aspeto visual dos microemulgeles são um sinal imediato de problemas na estabilidade das preparações.

O mesmo para alterações de pH. Caso se detetem alterações significativas neste parâmetro, teremos a indicação de estarmos em presença de problemas de estabilidade. Sendo que, neste caso, ao contrário das microemulsões, a questão é mais importante, pois falamos da apresentação final da preparação.

Não devem igualmente ser observadas alterações significativas de viscosidade ou de textura ao longo do tempo. Já vimos nos capítulos acerca da caracterização dos geles que alguma tixotropia é desejável, isto é, uma viscosidade ligeiramente mais elevada quando não é exercida qualquer força sobre a preparação quando comparada com a viscosidade da preparação durante a aplicação de forças de tensão. Isto significa que a preparação é mais “dura” durante o armazenamento, prevenindo assim a separação de fases.

Contudo, não é desejável que os parâmetros reológicos se deterioreem ao longo do tempo, pois isso pode significar que a preparação deixou de ser homogénea ou que se tornou tão fluida, pouco firme e pouco adesiva, que a sua aplicação se torna impraticável.

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Preparação das microemulsões

De forma a perceber as diferenças entre os dois métodos de preparação das microemulsões, foram preparadas formulações recorrendo ao método de homogeneização por alta pressão e ao método de sonicação. Depois foram analisados o aspeto, o pH e os tamanhos de gotícula obtidos para cada microemulsão.

O objetivo deste trabalho foi, portanto, obter microemulsões de aspeto homogéneo e com tamanhos de gotícula na ordem dos 5 a 200nm.

Para este ensaio, a fórmula foi a mesma para ambos os métodos de preparação e consistiu na fórmula que se descreve Tabela 10:

Tabela 10: Fórmula para estudo do método de preparação das microemulsões.

Matéria-prima	Quantidade (%)
Miglyol® 812	10,0%
Tween® 80	10,0%
Transcutol®	4,0%
Cetrimida	0,5%
Água purificada	qbp 100%

2.3.1.1. Análise das microemulsões preparadas por homogeneização a alta pressão

Análise organolética

Todas as preparações finais eram líquidas, de aspeto branco leitoso e homogéneo. Em todas as preparações houve a formação de alguma espuma durante a emulsificação no ultra-turrax. Contudo, a espuma depois desapareceu quando se procedeu à homogeneização.

Tamanho das gotículas

Foram preparadas duas emulsões com base na fórmula da Tabela 10 (designadas respetivamente de A e B). Em cada emulsão, mediu-se o tamanho de gotícula antes da homogeneização (após passar a emulsão apenas pelo ultra-turrax) cujas amostras se denominaram de “MEH_O”, depois da primeira homogeneização, cujas amostras se denominaram de “MEH_1” e após duas homogeneizações, cujas amostras se

denominaram de “MEH_2”. Apenas a emulsão B se fez passar 3 vezes pelo homogeneizador. (ver Figura 8).

Os resultados obtidos foram os seguintes (Tabela 11):

Tabela 11: Tamanho das gotículas das microemulsões obtidas pelo método de homogeneização a alta pressão

Amostra	D90		D50		D10	
	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)
“MEH_0_A”	5,19	0,08	2,76	0,05	1,27	0,20
“MEH_0_B”	5,73	2,81	2,61	0,65	0,48	0,35
“MEH_1_A”	0,33	5,51	0,14	3,03	0,06	0,75
“MEH_1_B”	0,43	1,17	0,14	0,39	0,06	0,51
“MEH_2_A”	0,64	8,41	0,13	3,27	0,05	2,35
“MEH_2_B”	0,28	1,53	0,11	0,30	0,05	0,22
“MEH_3_B”	0,14	6,05	0,11	1,25	0,05	0,23

Quanto ao tamanho das gotículas, após análise dos resultados das preparações obtidas por homogeneização a alta pressão, não foram detetadas diferenças significativas por se efetuarem mais homogeneizações consecutivas sobre as emulsões preparadas. Verificou-se que logo após a primeira homogeneização o tamanho das gotículas obtidas era de cerca de 140nm, valor este já dentro do intervalo de tamanhos descrito para as microemulsões. Após a segunda homogeneização consecutiva, o tamanho reduziu para os 130nm - 110nm. Após 3 homogeneizações consecutivas o tamanho de gotícula não se alterou. Considerou-se assim que uma única passagem da emulsão pelo homogeneizador seria suficiente para se obterem microemulsões.

Análise de pH

Apenas se avaliou o pH da preparação MEH_0_A. Contudo não seria de esperar variações significativas no pH após homogeneização a alta pressão. O resultado obtido foi de $4,83 \pm 0,01$.

2.3.1.2. Análise das microemulsões preparadas por sonicação

Foram preparadas 3 microemulsões com base na fórmula da Tabela 10, utilizando o ultra-turrax e o sonicador. A diferença entre elas foi precisamente no tempo de sonicação. A Tabela 12 descreve a designação atribuída a cada preparação.

Tabela 12: Diferentes tempos de sonicação

Nome da amostra	Tempo de sonicação (min)
"MES_01"	15
"MES_02"	5
"MES_03"	10

Análise organoléptica

Todas as preparações finais tinham o aspeto de um líquido branco leitoso e homogéneo. Ocorreu a formação de alguma espuma durante a emulsificação no ultra-turrax, contudo, a espuma desapareceu quando se procedeu à sonicação.

Tamanho das gotículas

Os resultados obtidos foram os seguintes (Tabela 13):

Tabela 13: Tamanhos das gotículas das preparações com diferentes tempos de sonicação

Amostra	D90		D50		D10	
	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)
"MES_01"	0,33	1,36	0,13	0,16	0,05	1,65
"MES_02"	2,49	1,50	0,21	0,30	0,06	0,30
"MES_03"	1,90	6,15	0,13	0,28	0,03	0,18

A análise dos resultados das preparações obtidas por sonicação permitiu observar que o tempo de sonicação não deve ser inferior a 10 minutos, pois isso resulta em gotículas superiores a 200nm. Contudo, não foram detetadas diferenças significativas nos tamanhos das gotículas quando se utilizaram tempos de sonicação de 10 e de 15 minutos, sendo que ficou determinado que 10 minutos de sonicação seriam suficientes para as futuras preparações.

Comparando os resultados obtidos por homogeneização a alta pressão com os resultados obtidos por sonicação, verificou-se que não foram detetadas diferenças significativas entre os dois métodos.

Quando se comparam os métodos a nível operacional, o método de homogeneização a alta pressão gera pouco volume de preparação por cada vez que se faz passar a amostra pelo equipamento (produz cerca de 10mL de cada vez), ao passo que a sonicação pode ser feita num maior volume de amostra de cada vez. Além disso, o ultrassons é um equipamento muito mais simples de operar. O homogeneizador por outro lado, é um equipamento que requer a realização de várias etapas, sendo necessário repetir os mesmos passos várias vezes até se homogeneizar todo o volume de amostra. Obviamente, os processos de limpeza do equipamento são, também, incomparavelmente mais simples no processo de sonicação.

Aliás, os resultados obtidos nestes ensaios são concordantes com os resultados descritos por Kentish *et al* que demonstram que o ultrassons é um processo competitivo ou mesmo superior em termos de redução do tamanho das gotículas, eficiência energética e rentabilidade quando comparado com a homogeneização a alta pressão.(52)

Assim sendo, foi decidido que as futuras preparações fossem preparadas por sonicação por ser um método mais simples, mais rápido e mais rentável. Foi também decidido que o tempo de sonicação seria fixado nos 10 minutos para todas as futuras preparações, uma vez que não foram obtidos melhores resultados no caso dos tamanhos das gotículas obtidos com mais tempo no ultrassons.

Análise de pH

Os valores de pH obtidos para cada preparação estão representados na Figura 16.

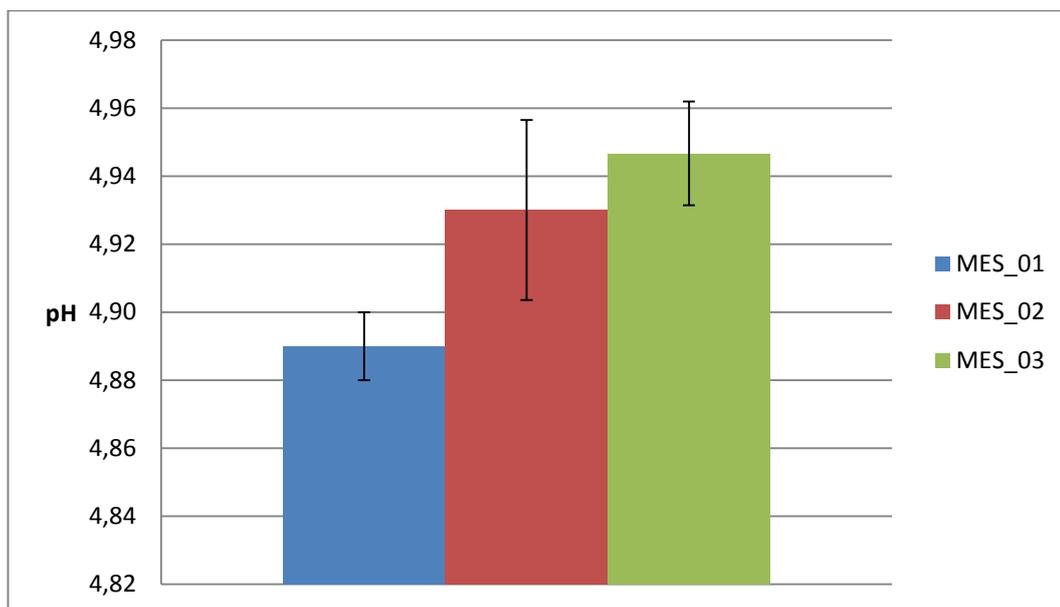


Figura 16: pH das microemulsões obtidas utilizando diferentes tempos de sonicação

O aumento do tempo de sonicação de 5 para 10 ou 15 minutos produziu um ligeiro aumento do pH. Neste caso, não seria de esperar obter diferenças uma vez que as fórmulas foram exatamente as mesmas e não seria de prever que o método de preparação pudesse influenciar significativamente o pH das preparações.

2.3.2. Estudo do efeito do tipo de excipientes

2.3.2.1. Efeito do lípido líquido

Foram preparadas 3 microemulsões com 3 lípidos líquidos diferentes para estudar o efeito do lípido no tamanho das gotículas. As preparações em causa foram preparadas todas recorrendo ao método de sonicação com 10 minutos de sonicação. As respetivas fórmulas encontram-se na Tabela 14:

Tabela 14: Composição das Fórmulas preparadas com diferentes lípidos

Matéria-prima	“ME_Miglyol”	“ME_Cetiol”	“ME_Miristato”
Miglyol® 812	10,0%		
Decilo Oleato de Cetiol		10,0%	
Miristato de Isopropilo			10,0%
Tween® 80	10,0%	10,0%	10,0%
Transcutol®	4,0%	4,0%	4,0%
Cetrimida	0,5%	0,5%	0,5%
Água purificada	qbp 100%	qbp 100%	qbp 100%

Análise organoléptica

As preparações obtidas eram todas semelhantes e todas tinham aspecto de um líquido branco leitoso e homogéneo, não sendo possível distinguir as preparações umas das outras quando se modifica o lípido líquido utilizado.

Tamanho das gotículas

Os resultados obtidos foram os seguintes (Tabela 15):

Tabela 15: Tamanhos das gotículas das preparações constituídas por diferentes lípidos

Amostra	D90		D50		D10	
	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)
“ME_Miglyol”	1,61	2,20	0,12	0,17	0,03	0,10
“ME_Cetiol”	1,86	0,92	0,14	0,24	0,04	0,37
“ME_Miristato”	0,36	0,48	0,10	0,17	0,03	0,12

Pela análise da Tabela 15 é possível observar que as diferenças entre os tamanhos das gotículas das microemulsões constituídas por diferentes lípidos não são significativas. Aparentemente obtêm-se melhores resultados quando se utiliza o miristato de isopropilo, no entanto, a diferença relativamente às microemulsões preparadas com o Miglyol® 812 não é considerada relevante.

Análise de pH

Os resultados do pH obtidos para as microemulsões constituídas por diferentes lípidos estão representados na Figura 17.

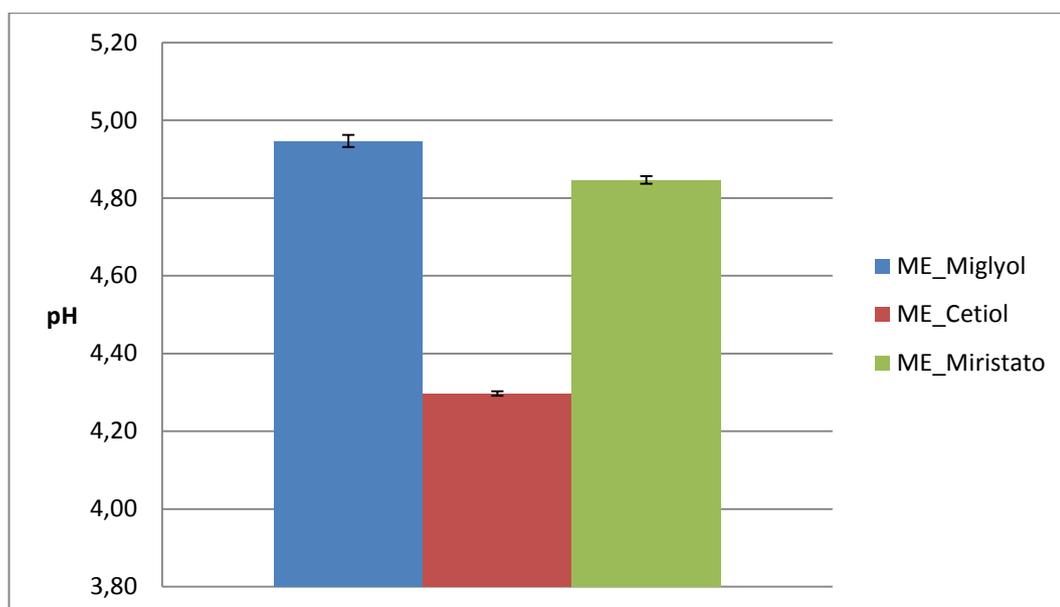


Figura 17: pH das microemulsões constituídas por diferentes lípidos

A avaliação do pH revelou diferenças significativas entre as preparações contendo diferentes lípidos, sendo que o valor mais baixo foi verificado no caso da microemulsão contendo Cetiol (4,3). Os valores obtidos no caso da microemulsão com Miristato de isopropilo e com Miglyol foram, respectivamente, 4,8 e 4,95. O valor mais baixo do pH no caso da microemulsão com Cetiol pode ser devido à maior percentagem de ácidos gordos livres existentes neste lípido.

2.3.2.2. Efeito do co-tensioativo

Foram preparadas 4 microemulsões diferentes que permitiram estudar o efeito do co-tensioativo. Tal como para o estudo do efeito do lípido líquido, as microemulsões foram todas preparadas por sonicação, durante 10 minutos. As respetivas fórmulas encontram-se na Tabela 16:

Tabela 16: Composição das microemulsões constituídas por diferentes co-tensioativos

Matéria-prima	“ME_Trans”	“ME_semTrans”	“ME_Glicerina”	“ME_Etanol”
Miglyol® 812	10,0%	10,0%	10,0%	10,0%
Tween® 80	10,0%	10,0%	10,0%	10,0%
Transcutol®	4,0%	-	-	-
Glicerina	-	-	4,0%	-
Etanol	-	-	-	4,0%
Cetrimida	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Água purificada	qbp 100%	qbp 100%	qbp 100%	qbp 100%

Análise organolética

As preparações obtidas eram todas semelhantes e todas tinham aspeto branco leitoso e homogéneo.

Pelo análise do aspeto não é possível distinguir as preparações umas das outras quando se utilizam diferentes co-tensioativos ou na ausência destes.

Tamanhos das gotículas

Os resultados dos tamanhos das gotículas obtidos estão representados na Tabela 17:

Tabela 17: Tamanhos das gotículas das microemulsões contendo diferentes co-tensioativos

Amostra	D90		D50		D10	
	Tam. med. (μm)	C.V. (%)	Tam. med. (μm)	C.V. (%)	Tam. med. (μm)	C.V. (%)
“MES_Trans”	0,81	16,00	0,12	0,23	0,03	0,12
“ME_semTrans”	1,09	11,60	0,16	0,91	0,05	0,89
“ME_Glicerina”	6,85	1,98	0,26	0,27	0,07	0,16
“ME_Etanol”	0,58	1,47	0,15	1,98	0,05	7,67

Relativamente ao tamanho das gotículas, os valores para o D50 das microemulsões preparadas utilizando glicerina são o dobro dos valores obtidos no caso das microemulsões preparadas com Transcutol®. Aliás, os melhores resultados são efetivamente obtidos quando se utiliza o Transcutol® como co-tensioativo.

Análise de pH

Na Figura 18 estão representados os resultados do pH obtidos no caso das microemulsões contendo diferentes co-tensioativos.

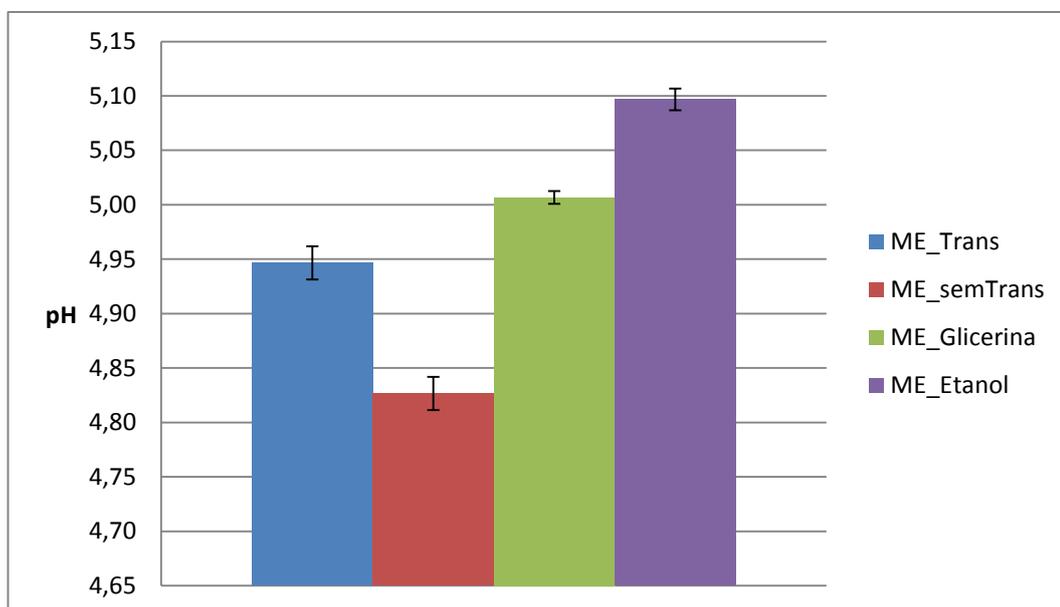


Figura 18: pH das microemulsões contendo diferentes co-tensioativos

Como se pode verificar, a microemulsão sem co-tensioativo apresentou valores de pH (4,83) inferiores aos obtidos no caso das formulações com Transcutol® (4,95), glicerina (5,0) e etanol (5,1).

Após este estudo foi decidido prosseguir os seguintes estudos recorrendo ao uso do Miglyol® 812 como lípido líquido e ao Transcutol® como co-tensioativo.

2.3.3. Microemulsão com substância ativa

Depois de levados a cabo os estudos em que se variou o método de preparação e em que se variaram alguns excipientes, permitindo, conseqüentemente, fixar o método de preparação e a fórmula final, procedeu-se à preparação de microemulsões contendo substância ativa e à caracterização das preparações assim obtidas. A substância ativa utilizada neste trabalho foi o ibuprofeno.

Foram preparadas microemulsões com 1% de ibuprofeno. Contudo, posteriormente foi considerada a necessidade de preparar também microemulsões e microemulgeles com 5% de ibuprofeno (50 mg/g) (Tabela 2).

2.3.3.1. Estudo do efeito da substância ativa

Na Tabela 18, a seguir apresentada, podemos ver a composição das microemulsões contendo substância ativa que foram preparadas.

Tabela 18: Composição das microemulsões com ibuprofeno. Microemulsão com 1% de ibuprofeno designada de “ME_1%Ibu” e microemulsão com 5% de ibuprofeno designada de “ME_5%Ibu”.

Matéria-prima	“ME_1%Ibu”	“ME_5%Ibu”
	Quantidade (%)	
ibuprofeno	1,0%	5,0%
Miglyol® 812	10,0%	10,0%
Tween® 80	10,0%	10,0%
Transcutol®	4,0%	4,0%
Cetrimida	0,5%	0,5%
Água purificada	qbp 100%	qbp 100%

De referir que o ibuprofeno, no processo de preparação, é adicionado à fase oleosa, ou seja, é adicionado ao Miglyol® 812, sendo depois esta mistura adicionada à fase aquosa, na emulsificação que é levada a cabo no ultra-turrax. De referir também que o tempo de sonicação foi sempre de 10 minutos, com o aparelho programado para 70% de amplitude.

Um dado importante é que durante a preparação da microemulsão com 5% de ibuprofeno foi mais difícil dissolver o ibuprofeno no lípido. Foi necessário recorrer a banho de água quente, o que não aconteceu na microemulsão contendo 1% de ibuprofeno.

Análise organolética

A preparação com 1% de ibuprofeno obtida é semelhante a todas as outras preparações descritas anteriormente, ou seja, de aspeto branco leitoso e homogêneo.

A microemulsão com 5% de substância ativa tem o mesmo aspeto, contudo, é de referir que, certamente devido à quantidade de ibuprofeno, esta microemulsão é mais “granulosa” ao tato. Ou seja, sentem-se as partículas de pó de ibuprofeno quando se espalha a microemulsão na pele.

Foi, portanto, possível observar que a substância ativa não alterou o aspeto das microemulsões. Contudo, a questão de se sentirem as partículas de pó quando se espalha a microemulsão com 5% de ibuprofeno na pele poderá ser resolvida com uma melhor pulverização do ibuprofeno até à categoria de pó fino. Ou ainda procurar formas de dissolver melhor o ibuprofeno na fase lipídica antes da emulsificação (utilizar calor, ultrassons, etc.).

Tamanho das gotículas

Ao mesmo tempo que se analisou o tamanho das gotículas das preparações com substância ativa, foi analisada também a preparação “MES_03”, de forma a mais facilmente comparar os resultados. Recordo que a preparação “MES_03” se trata de uma microemulsão exatamente com a mesma proporção de excipientes e preparada seguindo o mesmo procedimento, com a diferença de não incluir a substância ativa.

Os resultados obtidos foram os que são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Tamanhos das gotículas das microemulsões com e sem substância ativa

Amostra	D90		D50		D10	
	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)	Tam. med. (µm)	C.V. (%)
“ME_1%Ibu”	0,28	3,16	0,11	0,98	0,05	0,57
“ME_5%Ibu”	0,36	51,50	0,11	0,63	0,05	0,65
“MES_03”	1,63	4,56	0,12	0,80	0,03	1,03

Quanto ao tamanho das gotículas, é possível observar que a adição do ibuprofeno não afetou este parâmetro. O tamanho das gotículas é idêntico quer sem ibuprofeno, quer com 1% ou com 5% de ibuprofeno.

Análise de pH

Da mesma forma que para o tamanho das gotículas, ao mesmo tempo que se analisou o pH das microemulsões com substância ativa também se analisou o pH da microemulsão correspondente sem substância ativa.

Os resultados obtidos foram os apresentados na Figura 19.

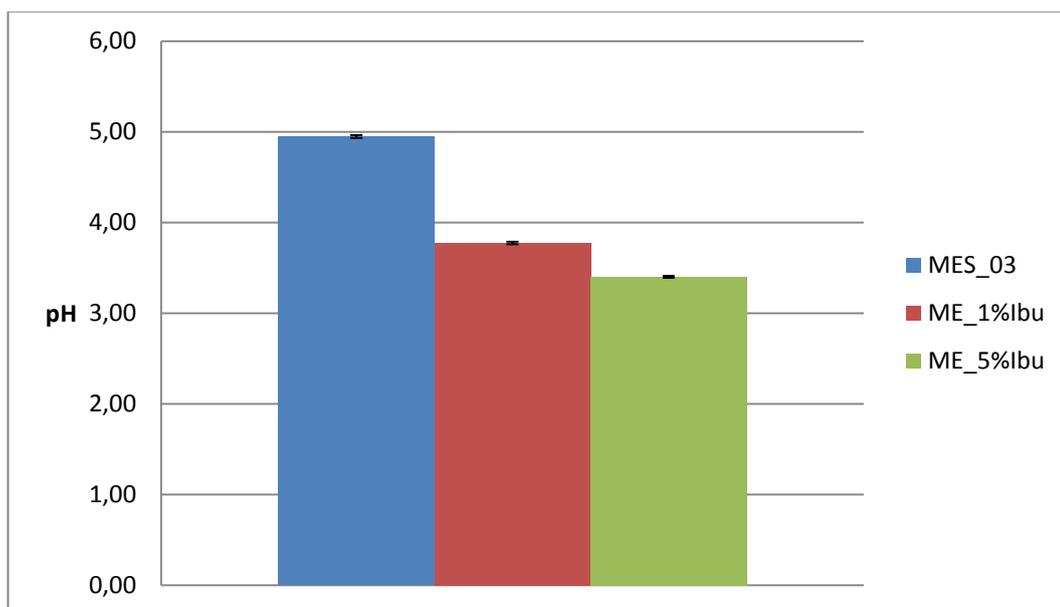


Figura 19: pH das microemulsões com e sem substância ativa

O ibuprofeno fez baixar o pH das preparações para valores inferiores a 4 e esse efeito é mais notório quando a percentagem deste fármaco é mais alta. No entanto, este resultado era previsível, uma vez que o ibuprofeno tem carácter ácido.

2.3.4. Microemulgeles de Carbopol

Foram gelificadas as microemulsões preparadas até então cuja fórmula base utiliza o Miglyol® 812 como lípido líquido e o Transcutol® como co-tensioativo, com 1% e 5% (m/m) de substância ativa (Tabela 20). Foi utilizado 1,5% (m/m) de Carbopol® 974P como agente gelificante.

Contudo, é necessário frisar que não foi possível obter um microemulgele a partir da microemulsão com 5% de ibuprofeno. A adição de trietanolamina até ao pH neutro não gelificou a preparação, mantendo esta o aspeto demasiado fluido.

Não foi, portanto, possível efetuar os ensaios de caracterização da preparação “Carbopol_ME_5%Ibu” porque não se conseguiu obter um microemulgele.

É importante também referir que a gelificação da microemulsão com 1% de ibuprofeno também decorreu com alguns problemas. A adição continuada de trietanolamina não resultava na gelificação do gel, mesmo quando foi atingido o pH neutro. Contudo, deixando a preparação, ainda fluida, repousar durante 24 horas, foi possível obter um microemulgele com consistência adequada. Veremos à frente que as preparações de Carbopol® 974P feitas a partir de microemulsões têm um pH ligeiramente alcalino pela tentativa de conseguir gelificar as preparações com adição de um pouco mais de trietanolamina, tornando assim a preparação alcalina.

No entanto, mesmo repousando 24 horas, a preparação da microemulsão com 5% de ibuprofeno não gelificou.

Problemas idênticos foram detetados por Chen *et al* ao tentarem gelificar uma microemulsão (constituída por 3% de ibuprofeno, oleato de etilo, Tween® 80, propilenoglicol e água) com Carbomero 940. Estes autores atribuíram o insucesso à perturbação da estrutura da microemulsão aquando da dispersão no Carbomero 940, tendo recorrido em alternativa à goma xantana de forma a obterem hidrogéis a partir de microemulsões com ibuprofeno.(40)

Dhawan *et al* contornaram um problema idêntico alterando a ordem de adição do gelificante na tentativa de gelificar nanoemulsões de piroxicam com Carbopol® 934. Estes autores verificaram que quando o Carbopol® 934 era adicionado diretamente à nanoemulsão a mesma demorava muito a gelificar e o resultado era um gel pouco homogéneo. Quando o Carbopol® 934 era adicionado à fase aquosa, o pH ajustado com trietanolamina e, em seguida, misturados com a fase oleosa contendo o tensioativo, o co-tensioativo e o fármaco, o resultado era um nanoemulgel homogéneo.(70)

De forma a servir de comparação, foram também preparados geles “simples” de Carbopol® 974P, com 1% e com 5% de ibuprofeno, isto é, geles obtidos sem ser a partir de microemulsões.

2.3.4.1. Caracterização dos microemulgeles de Carbopol

Foram preparadas as seguintes formulações cujo agente gelificante era o Carbopol® 974P (Tabela 20).

Tabela 20: Microemulgeles preparados recorrendo ao Carbopol® 974P

Preparação	Formula	
	Matéria-prima	Quantidade (%)
“Carbopol_ME_semlbu”	Carbopol® 974P	1,5%
	“MES_03” (Tabela 10)	qbp 100%
“Carbopol_ME_1%Ibu”	Carbopol® 974P	1,5%
	“ME_1%Ibu” (Tabela 18)	qbp 100%
“Carbopol_ME_5%Ibu”	Carbopol® 974P	1,5%
	“ME_5%Ibu” (Tabela 18)	qbp 100%
“Carbopol_semME_semlbu”	Carbopol® 974P	1,5%
	Água purificada	qbp 100%
“Carbopol_semME_1%Ibu”	Ibuprofeno	1,0%
	Carbopol® 974P	1,5%
	Água purificada	qbp 100%
“Carbopol_semME_5%Ibu”	Ibuprofeno	5,0%
	Carbopol® 974P	1,5%
	Água purificada	qbp 100%

Análise organolética

Comparando os microemulgeles obtidos a partir das microemulsões, isto é, o microemulgele “Carbopol_ME_semlbu” e o “Carbopol_ME_1%Ibu”, não se notam diferenças significativas entre si no que diz respeito ao aspeto. São ambos microemulgeles brancos, opacos e homogêneos (Figura 20).

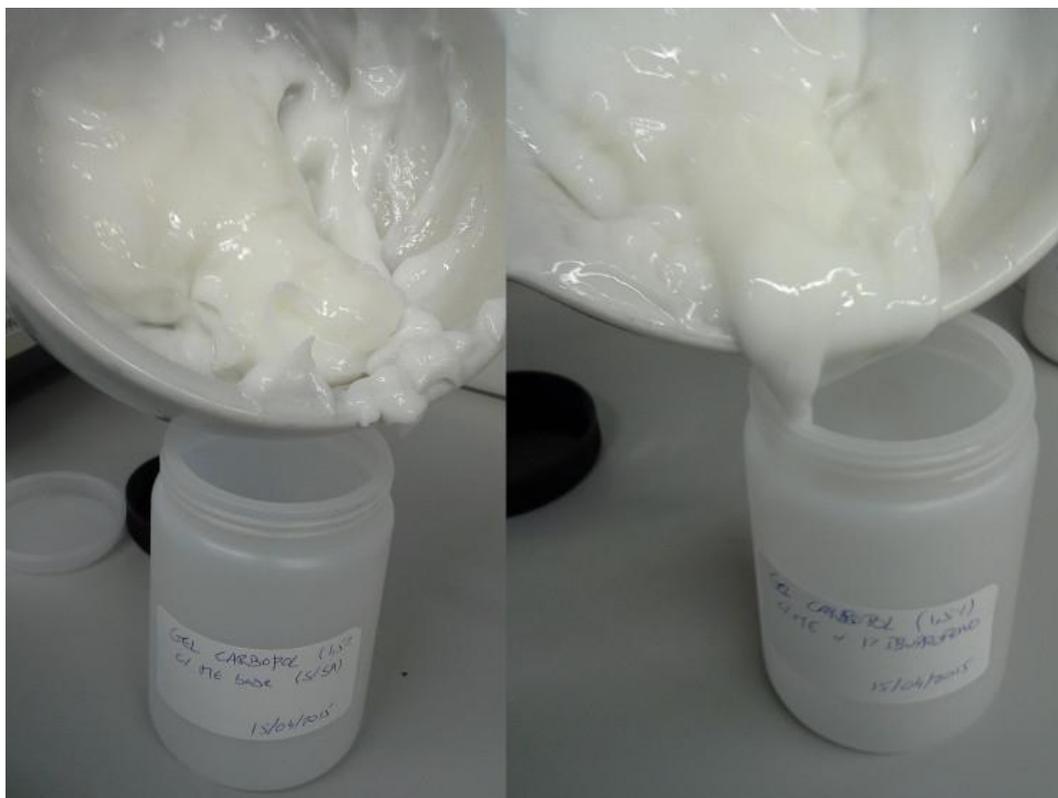


Figura 20: Aspeto dos microemulgeles de Carbopol® 974P preparados a partir das microemulsões. À esquerda, a partir da microemulsão sem ibuprofeno e à direita, a partir da microemulsão com 1% de ibuprofeno.

Tal como já referido, não foi possível gelificar a microemulsão com 5% de ibuprofeno. Assim, essa preparação não foi considerada para os estudos seguintes e ao contrário da preparação com 1% de ibuprofeno, mesmo ao fim de 24 horas de repouso, a preparação não gelificou.

Os geles de Carbopol que foram preparados sem ser a partir de microemulsões apresentaram um aspeto translúcido e homogêneo o qual foi ficando cada vez mais branco opaco conforme se aumenta a percentagem de ibuprofeno adicionado (Figura 21).

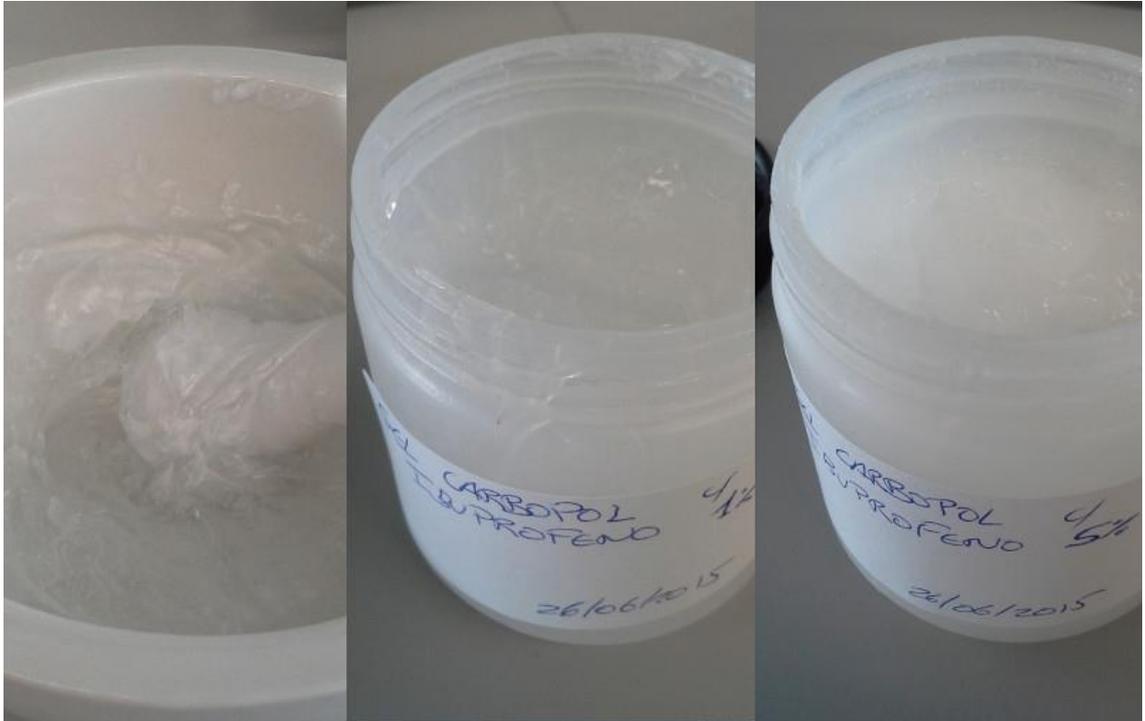


Figura 21: Aspeto dos geles de Carbopol® 974P preparados sem ser a partir de microemulsões. À esquerda: gel sem ibuprofeno; no centro: gel com 1% de ibuprofeno; à direita: gel com 5% de ibuprofeno.

Análise de pH

Os resultados obtidos para análise de pH foram os apresentados no gráfico apresentado a seguir (Figura 22).

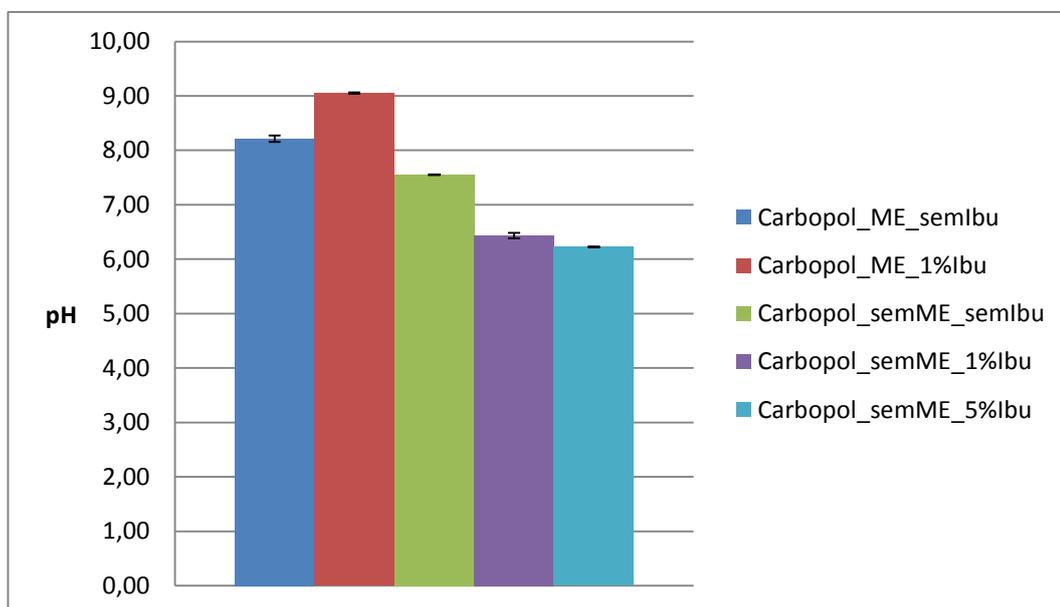


Figura 22: pH dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P

Os valores de pH mais altos que são observados nas preparações feitas a partir de microemulsões são devido à adição de trietanolamina um pouco acima do pH neutro na tentativa de conseguir gelificar. O mesmo já não é observado nas preparações que não tiveram origem em microemulsões.

Por outras palavras, nas preparações obtidas a partir de microemulsões foi utilizada mais trietanolamina que nas preparações sem microemulsão, originando consequentemente preparações com pH ligeiramente alcalino, o qual não será o mais adequado para a aplicação cutânea.

Reologia

Os reogramas dos geles e dos microemulgeles de Carbopol podem ser observados na Figura 23.

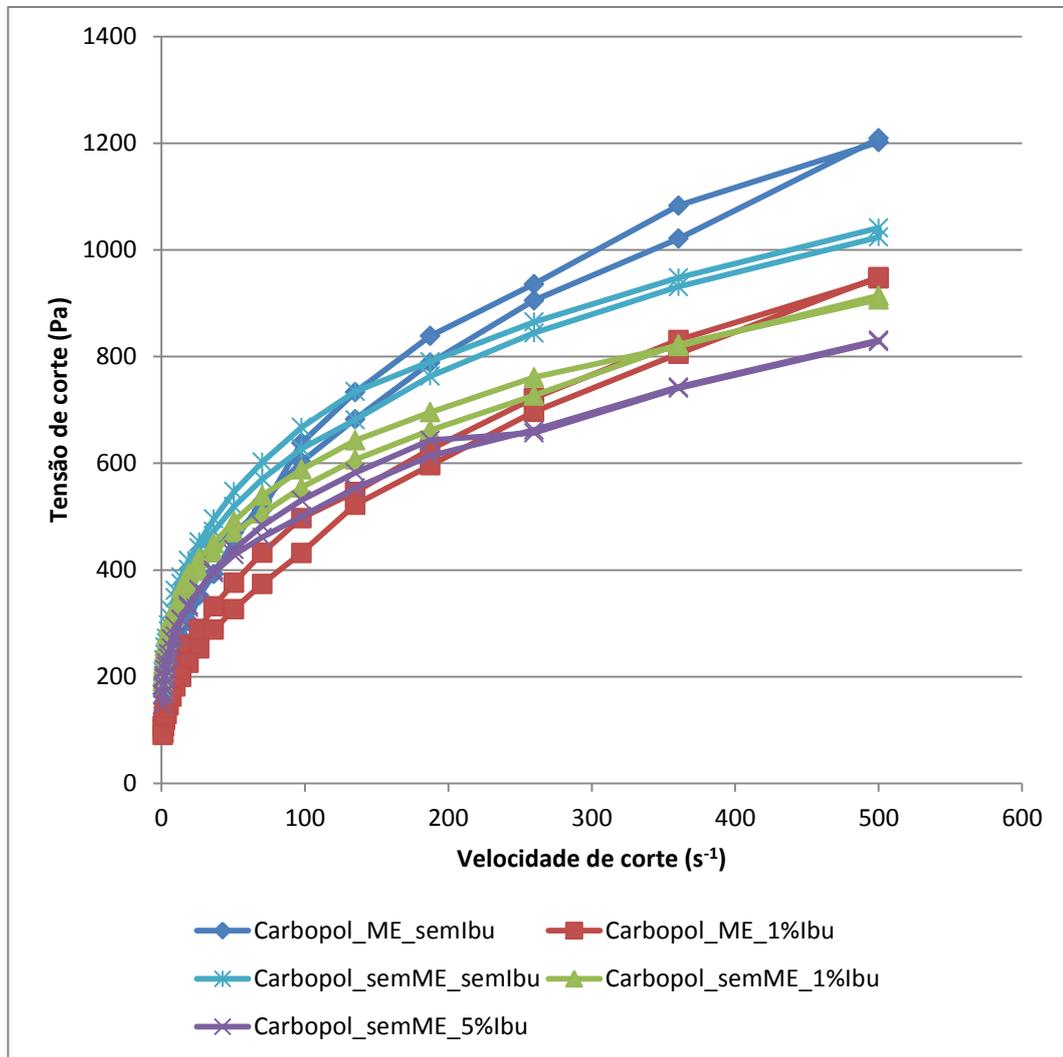


Figura 23: Reogramas dos geles de Carbopol® 974P

Pela análise dos reogramas, é possível observar que todos os geles apresentam comportamento pseudo-plástico (ou reofludificante). Isto é, com o aumento da velocidade de corte observa-se uma diminuição da viscosidade da preparação. É possível observar uma maior viscosidade no caso do microemulgele sem ibuprofeno, dado que os valores de tensão de corte observados para esta formulação, a partir de velocidades de corte de 100 s^{-1} , são ligeiramente mais elevados que os observados para as outras preparações. Contudo, não se pode concluir que o facto dos microemulgele ter maior viscosidade se deve à presença da microemulsão. Segundo Abdullah *et al*, num estudo cujo objetivo era melhorar as características reológicas de nanoemulsões contendo ibuprofeno e recorrendo ao uso de Carbopol® 934, Carbopol® 940 e Ultrez 10 como gelificantes, esta equipa concluiu que quanto maior o valor de pH da solução de trietanolamina utilizada para neutralizar o gelificante, maior o impacto observado na viscosidade da preparação final.(71) Como já foi referido neste trabalho, foram observadas dificuldades na gelificação das microemulsões com Carbopol® 974 e por isso, no intuito gelificar as preparações, foi usada excessiva quantidade de trietanolamina.

As preparações com ibuprofeno apresentam perfis reológicos quase sobreponíveis e viscosidades inferiores às do gele e do microemulgele sem fármaco.

É possível notar também que, à exceção do microemulgele sem ibuprofeno, nenhuma das preparações exibiu tixotropia uma vez que as respetivas curvas descendentes e ascendentes dos reogramas são praticamente sobreponíveis, apresentando uma área de histerese negligenciável.

Os resultados indicam que a presença de ibuprofeno tanto no gele como no microemulgele faz baixar a viscosidade destas preparações.

Textura

Nas figuras seguintes podem ser observados os resultados dos ensaios dos ensaios de textura realizados sobre os geles e microemulgeles de Carbopol® 974P.

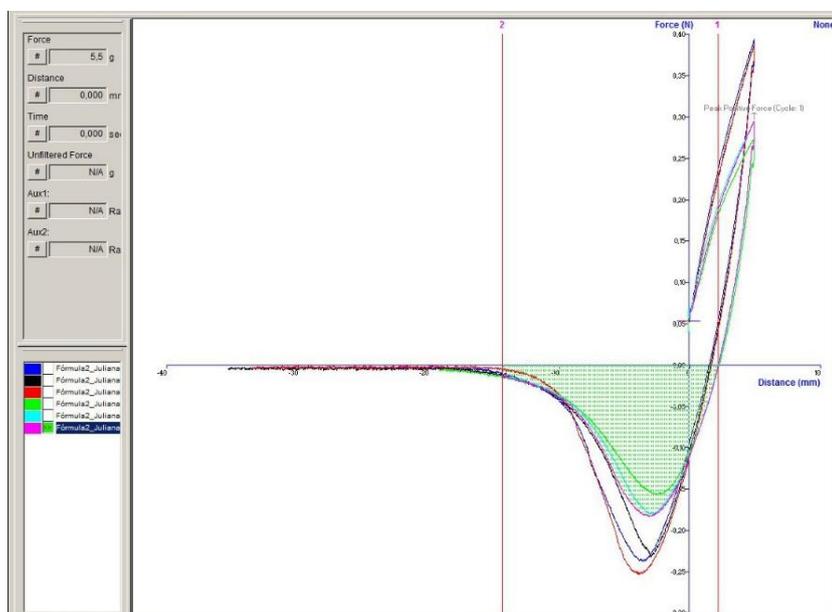


Figura 24: Textura dos microemulgeles de Carbopol® 974P obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno. Gráficos força vs distância obtidos a partir do texturômetro.

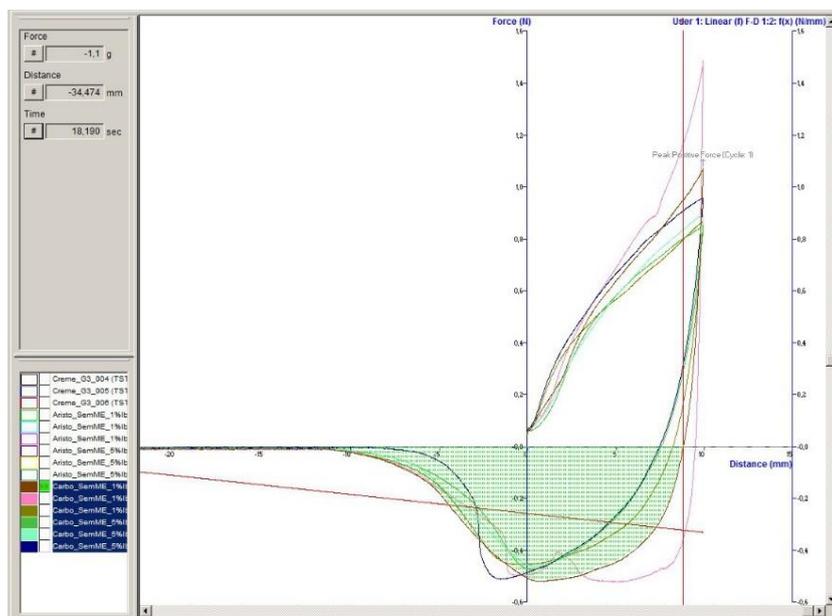


Figura 25: Textura dos geles de Carbopol® 974P sem microemulsão (com 1% e 5% de ibuprofeno). Gráficos força vs distância obtidos a partir do texturômetro.

A análise da firmeza (aferida pelos valores de força máxima) e a análise da adesividade (aferida pelos valores de área negativa), obtidas a partir do gráfico força vs distância, pode ser efetuada através das figuras seguintes (Figura 26 e Figura 27).

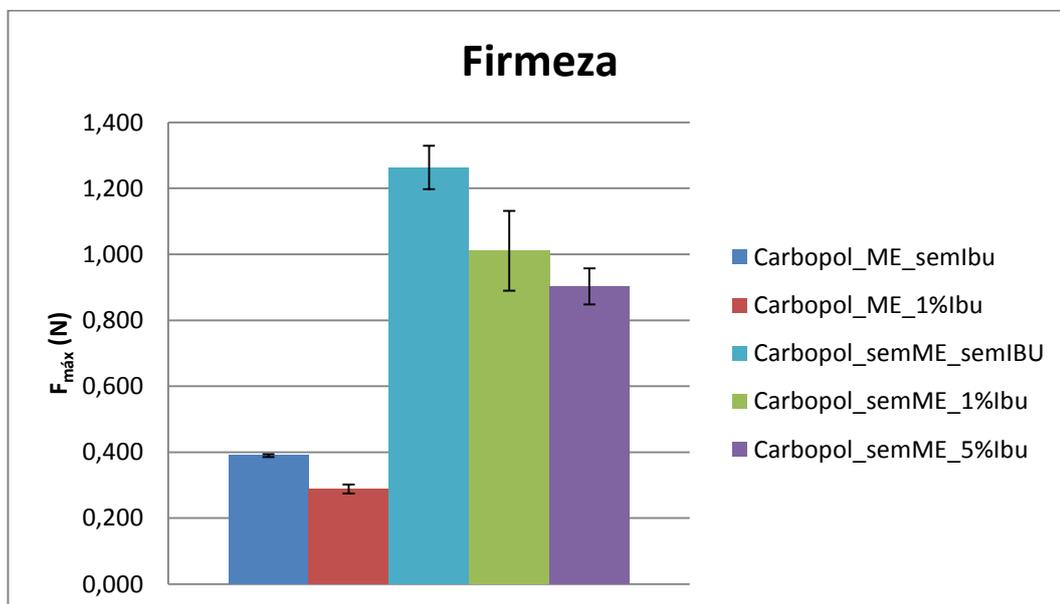


Figura 26: Firmeza dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P

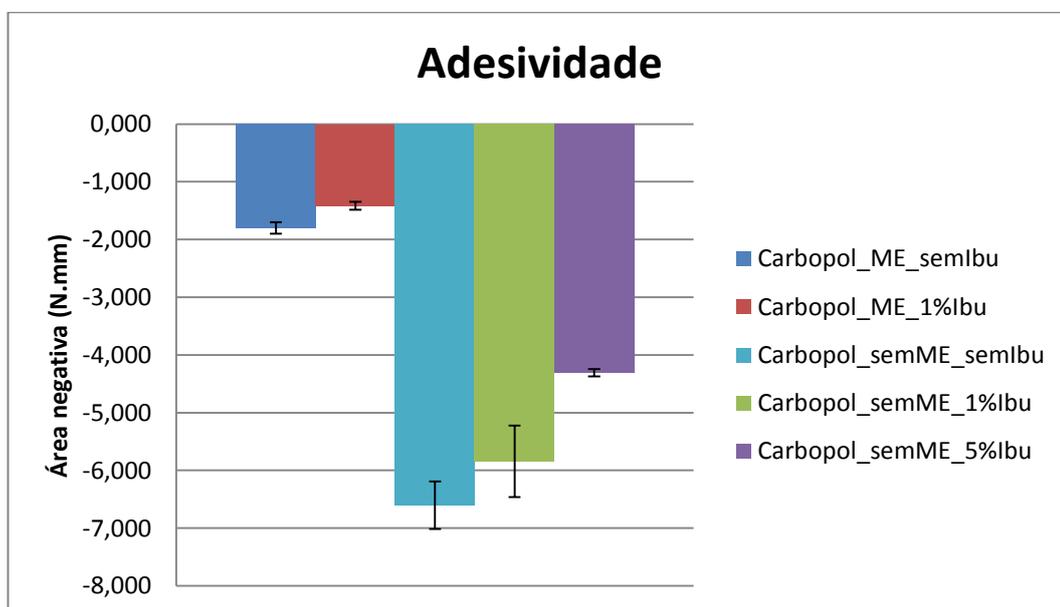


Figura 27: Adesividade dos geles e microemulgeles de Carbopol® 974P

Da análise dos resultados, é possível observar que o microemulgele de Carbopol 974® obtido a partir da microemulsão com 1% de ibuprofeno é o que apresenta menor firmeza e adesividade. Comparando com o microemulgele sem ibuprofeno, verifica-se uma diminuição dos parâmetros de textura, sugerindo que a presença da substância ativa diminui significativamente estes parâmetros.

A presença de ibuprofeno nas preparações sem microemulsão também contribui para baixar ambos os parâmetros de textura. Estes resultados, devem-se ao carácter ácido do ibuprofeno, o qual ao fazer baixar o pH dos sistemas gelificados provoca a diminuição da consistência dos mesmos.

Quando se comparam os microemulgeles com os geles sem microemulsão, verifica-se que os valores da força máxima e da área negativa são significativamente diferentes. Estes resultados permitem concluir que a presença da microemulsão faz baixar tanto a firmeza como a adesividade das preparações. No entanto, o pH ligeiramente alcalino dos microemulgeles também tem influência na mais baixa consistência destas formulações.

Em suma, da análise dos resultados obtidos para os geles e microemulgeles recorrendo ao Carbopol® 974P como agente gelificante conclui-se que é possível obter preparações semissólidas com aspeto, viscosidade, firmeza e adesividade adequadas à aplicação cutânea, exceção feita quando se tentou obter um microemulgele com 5% de ibuprofeno. Esta preparação não foi possível gelificar, sendo demasiado fluida para aplicação cutânea e, por isso, não foi realizada a respetiva caracterização.

Relativamente ao pH, nos microemulgeles, o valor ligeiramente alcalino não será o mais adequado para aplicação na pele, principalmente no caso de haver necessidade de tratamentos mais prolongados.

Quanto à presença do ibuprofeno, tanto nos microemulgeles como nos geles sem microemulsão, a presença desta substância ativa torna as preparações menos consistentes.

Como referido acima, os valores de firmeza e de adesividade dos microemulgeles são significativamente mais baixos que os dos geles sem microemulsão. Contudo, essa diferença não é perceptível quando se espalham as diferentes formulações na pele.

Acreditamos que a adição de trietanolamina foi um pouco exagerada e que menos adição desta base poderia, eventualmente, ter permitido a gelificação das preparações. Contudo, é possível observar que preparações com ibuprofeno apresentam sempre pH mais baixo quando comparadas com preparações idênticas, mas sem ibuprofeno e, assim, a ligeira alcalinização das preparações poderia, eventualmente, contribuir para aumentar a estabilidade.

2.3.5. Geles de Aristoflex® AVC

Tal como para os geles de Carbopol® 974P, foram gelificadas as microemulsões preparadas até então cuja fórmula base utiliza o Miglyol® 812 como lípido líquido e o Transcutol® como co-tensioativo, com 1% e 5% de substância ativa, agora com 1,5% (m/m) de Aristoflex® AVC como agente gelificante.

Foram também preparados geles “simples” de Aristoflex® AVC, isto é, sem microemulsão, com 1% e 5% de ibuprofeno, de forma a comparar o efeito da microemulsão nos parâmetros organoléticos, reologia, textura e pH das preparações.

2.3.5.1. Caracterização dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC

Foram preparadas as seguintes formulações cujo agente gelificante era o Aristoflex® AVC (Tabela 21).

Tabela 21: Composição dos geles e microemulgeles preparados recorrendo ao Aristoflex® AVC

Preparação	Fórmula	
	Matéria-prima	Quantidade (%)
“Aristoflex_ME_semlbu”	Aristoflex® AVC	1,5%
	“MES_03” (Tabela 10)	qbp 100%
“Aristoflex_ME_1%Ibu”	Aristoflex® AVC	1,5%
	“ME_1%Ibu” (Tabela 18)	qbp 100%
“Aristoflex_ME_5%Ibu”	Aristoflex® AVC	1,5%
	“ME_5%Ibu” (Tabela 18)	qbp 100%
“Aristoflex_semME_semlbu”	Aristoflex® AVC	1,5%
	Água purificada	qbp 100%
“Aristoflex_semME_1%Ibu”	Ibuprofeno	1,0%
	Aristoflex® AVC	1,5%
	Água purificada	qbp 100%
“Aristoflex_semME_5%Ibu”	Ibuprofeno	5,0%
	Aristoflex® AVC	1,5%
	Água purificada	qbp 100%

Análise organolética

Os microemulgeles obtidos a partir das microemulsões têm aspeto muito semelhante entre si. São todos brancos, opacos e homogêneos (Figura 28).

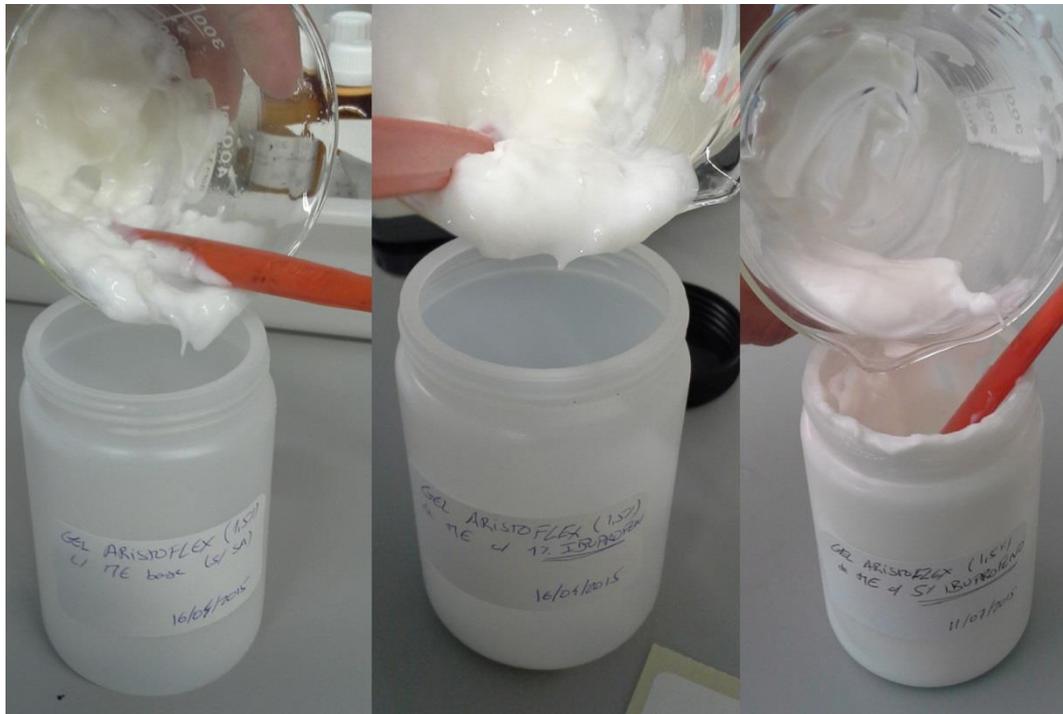


Figura 28: Aspeto dos microemulgeles de Aristoflex® AVC obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno. À esquerda: “Aristoflex_ME_semlbu”; no centro: “Aristoflex_ME_1%Ibu”; à direita: “Aristoflex_ME_5%Ibu”

Os geles de Aristoflex® AVC que foram preparados sem ser a partir de microemulsões apresentaram um aspeto translúcido e homogêneo e que foi ficando cada vez mais branco opaco com o aumento da percentagem de ibuprofeno adicionado (Figura 29)



Figura 29: Aspeto dos geles de Aristoflex® AVC preparados sem ser a partir de microemulsões. À esquerda: gele sem ibuprofeno; no centro: gele com 1% de ibuprofeno; à direita: gele com 5% de ibuprofeno

Análise de pH

Os resultados obtidos para análise de pH foram os apresentados a seguir (Figura 30).

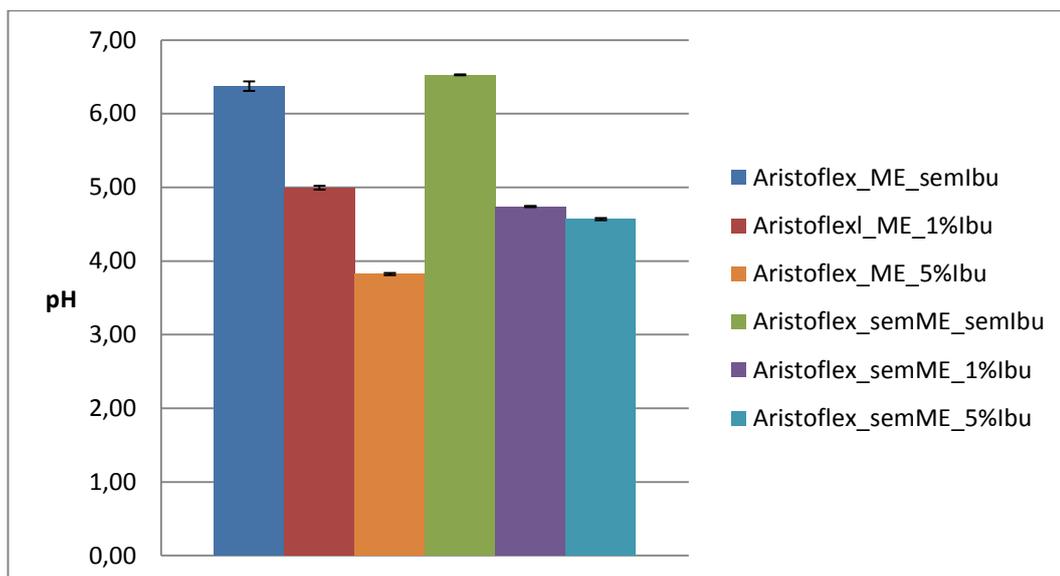


Figura 30: pH dos geles e microemulgeles de Aristoflex

Os valores de pH mais baixos são observados para as preparações com maior percentagem de ibuprofeno, revelando o carácter ácido que esta substância ativa confere às preparações. O microemulgele com 5% de ibuprofeno foi o que apresentou o valor de pH mais baixo (3,82), não sendo este um valor muito adequado para preparações destinadas a aplicação cutânea.

Reologia

Os reogramas dos geles e dos microemulgeles de Aristoflex® AVC podem ser observados na Figura 31.

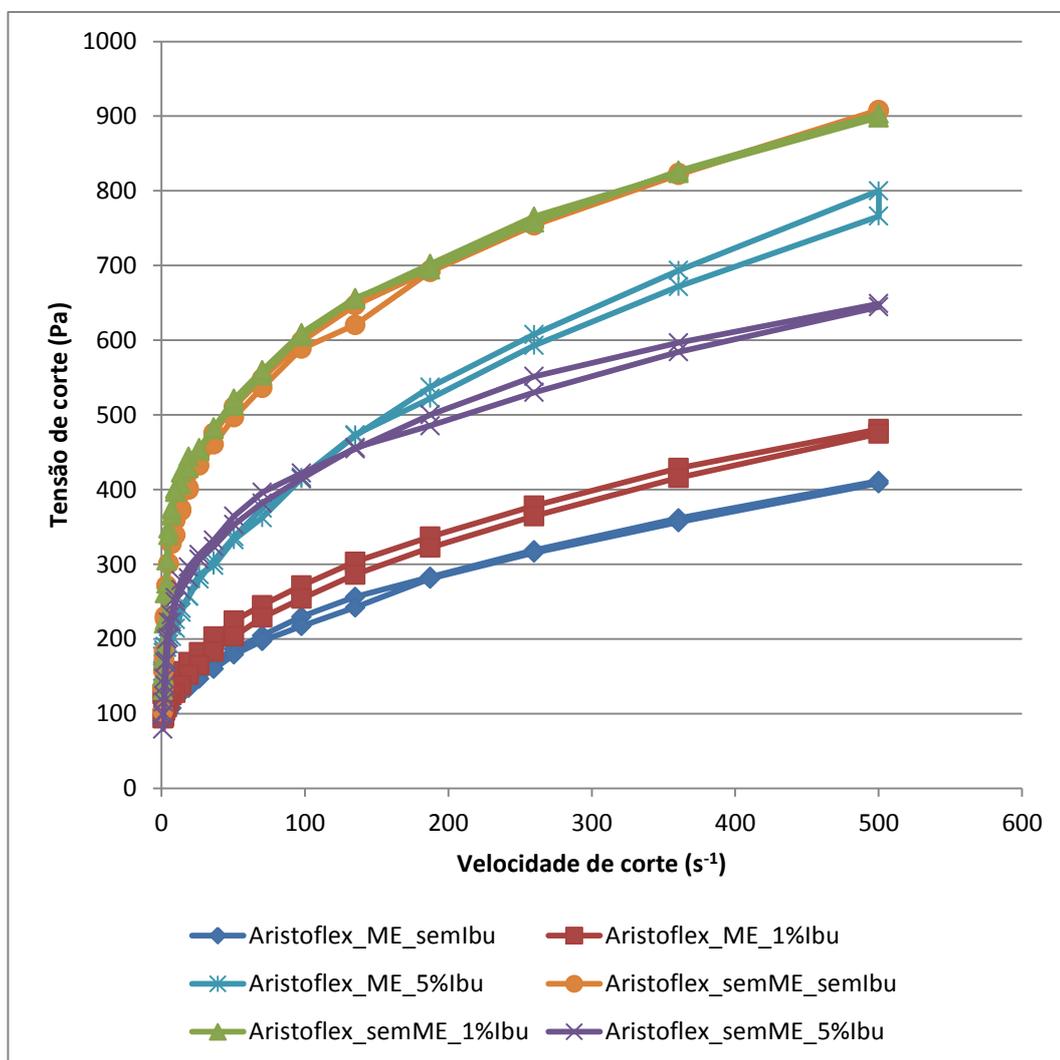


Figura 31: Reogramas dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC

Pela análise dos reogramas, é possível observar que todos os geles apresentam comportamento reofludificante. Isto é, com o aumento da velocidade de corte observa-se uma diminuição da viscosidade das preparações. No entanto, dado que todas as formulações parecem apresentar valor de cedência, poder-se-á concluir que apresentam comportamento plástico. Além disso, nenhuma das formulações apresenta tixotropia (diminuição da viscosidade com o tempo) uma vez que em todos os casos as curvas ascendentes e descendentes dos reogramas são praticamente sobreponíveis.

Ao contrário do observado no caso dos microemulgeles de Carbopol, neste caso, verifica-se que a presença de ibuprofeno faz aumentar a viscosidade destas preparações. Nos geles sem microemulsão, o efeito da presença do ibuprofeno não é notório no caso da preparação com 1% deste fármaco, mas o aumento da concentração de fármaco para 5% faz baixar a viscosidade da preparação.

Textura

A seguir podem ser observados os resultados dos ensaios de textura realizados para avaliar a firmeza e a adesividade dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC.

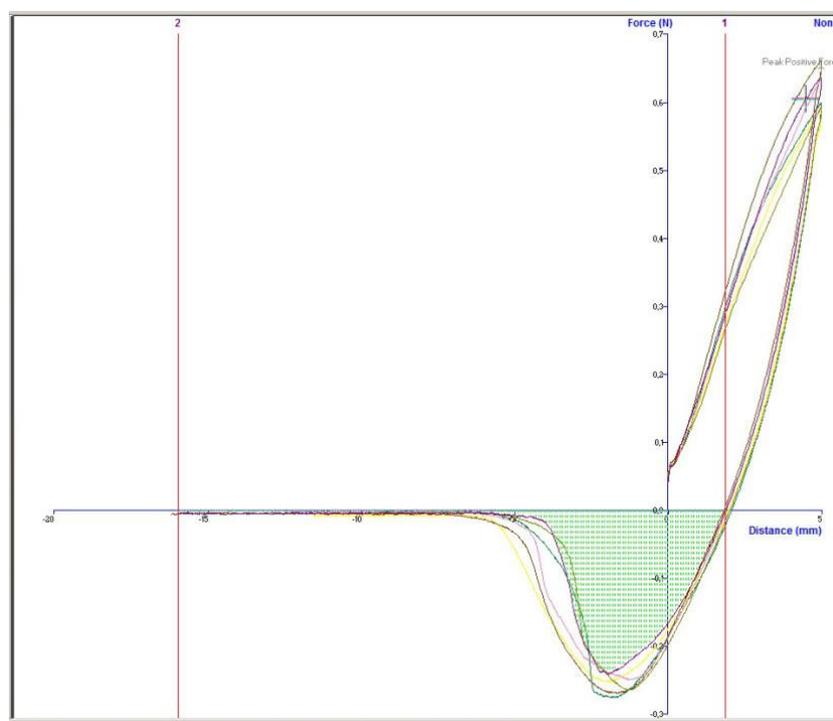


Figura 32: Textura dos microemulgeles de Aristoflex® AVC obtidos a partir de microemulsões com e sem ibuprofeno. Gráficos (força vs distância) obtidos do texturómetro .

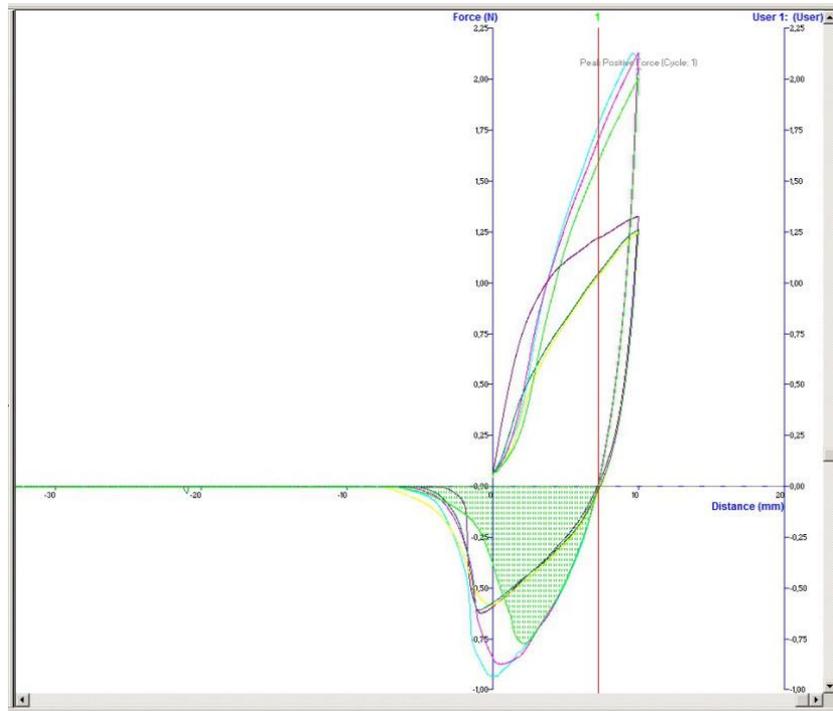


Figura 33: Textura dos geles de Aristoflex® AVC sem microemulsão (com 1% e 5% de ibuprofeno). (força vs distância) Gráficos obtidos do texturômetro.

A análise da firmeza (aferida pelos valores de força máxima) e da adesividade (aferida pelos valores de área negativa) dos geles e dos microemulgeles pode ser efetuada observando a Figura 34 e a Figura 35.

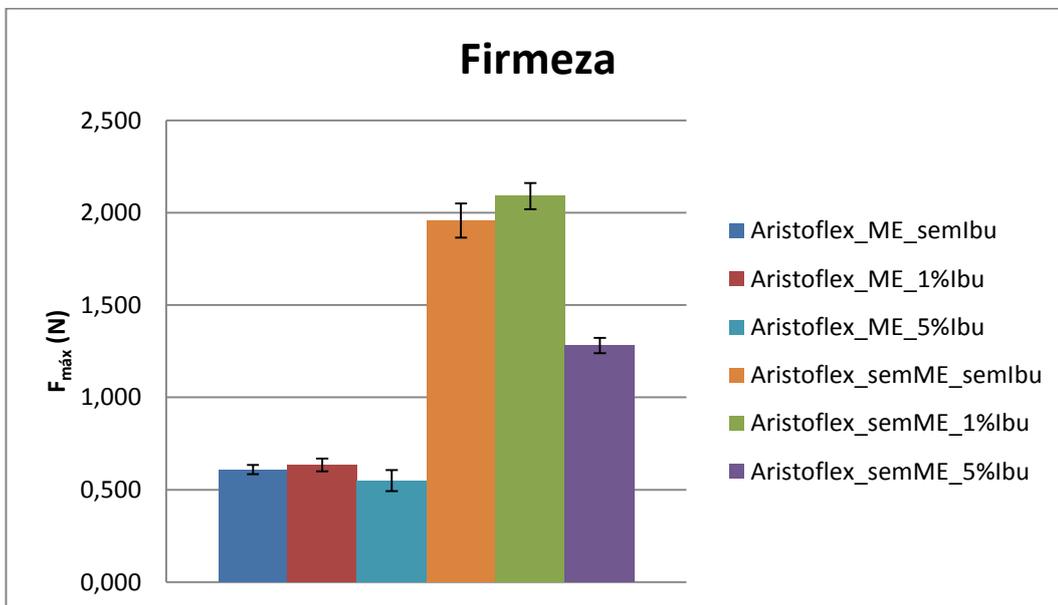


Figura 34: Firmeza dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC

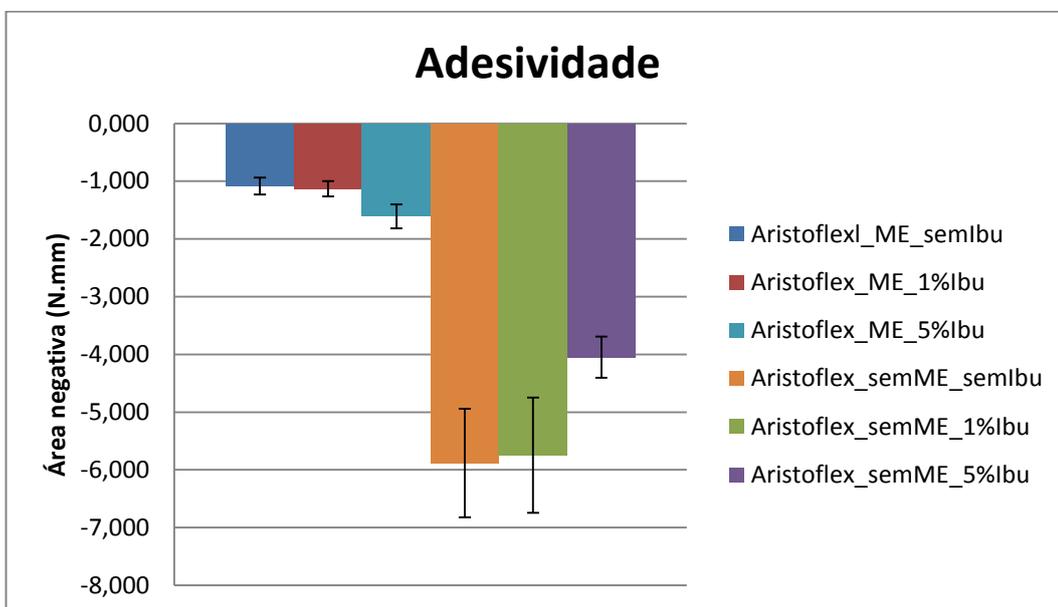


Figura 35: Adesividade dos geles e microemulgeles de Aristoflex® AVC

Pela análise dos resultados obtidos, verifica-se que a presença de ibuprofeno nos microemulgeles não parece alterar muito os parâmetros de firmeza e de adesividade. Notam-se apenas pequenas diferenças no caso do microemulgele com 5% de ibuprofeno relativamente aos outros dois.

O aumento da quantidade de ibuprofeno nos geles sem microemulsão parece alterar bastante os parâmetros de firmeza e de adesividade das preparações. O gele com 5% de ibuprofeno apresenta valores de firmeza e de adesividade significativamente menores que os geles com 1% de ibuprofeno e sem fármaco.

Tal como verificado no caso dos microemulgeles de Carbopol® 974, os microemulgeles de Aristoflex® AVC também apresentaram valores de firmeza e de adesividade significativamente inferiores aos dos geles sem microemulsão.

Em resumo, da análise dos resultados obtidos para os geles e microemulgeles obtidos recorrendo ao Aristoflex® AVC como agente gelificante conclui-se que é possível obter preparações semissólidas com aspeto, viscosidade, textura e pH adequados à aplicação cutânea.

No que diz respeito ao aspeto, a presença das microemulsões torna os geles mais brancos e opacos que os geles correspondentes sem microemulsão. Na realidade, os microemulgeles apresentam um aspeto semelhante ao dos cremes.

A análise de pH permite verificar que é a quantidade de substância ativa que mais contribui para alterar este parâmetro.

Em relação aos parâmetros reológicos, em geral os microemulgeles apresentam-se menos viscosos que os geles sem microemulsão. A presença da microemulsão, tal como acontece nos microemulgeles de Carbopol 974® parece tornar os microemulgeles menos consistentes.

Quanto à textura, a presença da microemulsão nos microemulgeles faz baixar significativamente tanto a firmeza como a adesividade destas preparações. Tal como verificado no caso dos microemulgeles de Carbopol, a presença das microemulsões parece causar alguma “interferência” na malha ou rede formada pelo agente gelificante, tornando a sua estrutura menos coesa e diminuindo a consistência destes sistemas semissólidos. Já o aumento da quantidade de ibuprofeno não parece afetar tanto a firmeza e a adesividade dos microemulgeles, ao passo que o aumento da quantidade de ibuprofeno nos geles sem microemulsão faz baixar significativamente os valores desses parâmetros.

2.3.6. Doseamento do ibuprofeno

2.3.6.1. Validação do método

Antes de se proceder ao doseamento da substância ativa nas preparações elaboradas foi necessário validar o respetivo método.

Estudo da linearidade

Foram preparadas 5 soluções padrão de ibuprofeno em clorofórmio para se proceder à avaliação da linearidade da resposta do detetor. Primeiro foi preparada uma solução-mãe a partir da qual, por diluição, foram preparadas soluções padrão de 40% a 120%. As concentrações que foram calculadas para as diferentes soluções-padrão, assim como as respetivas absorvências lidas a 272nm podem ser encontrados na Tabela 22.

Tabela 22: Soluções padrão preparadas para o estudo da linearidade do método de doseamento do ibuprofeno e respetivas médias das absorvências

Padrões	ibuprofeno (g)	Vol. Sol. mãe (mL)	Volume final (mL)	Concentração (mg/mL)	Absorvências médias (n=6)
Solução-mãe	0,0515		50	1,030	
120%		6	25	0,247	0,3326
100%		5	25	0,206	0,2807
80%		4	25	0,165	0,2459
60%		3	25	0,124	0,1869
40%		2	25	0,082	0,1431

Na Tabela 23 podemos observar os cálculos para se chegar aos coeficientes de determinação (R^2) e à soma do quadrado dos desvios, dados importantes para o estudo de linearidade.

Tabela 23: Cálculos para determinação da linearidade do método de doseamento do ibuprofeno

Concentração (mg/mL)	Leitura média (n=6)	Desvio padrão	Coefficiente de variação	Valores esperados	Quadrado dos Desvios
0,247	0,3326	4,04E-04	0,12%	0,3324	4,84E-08
0,206	0,2807	5,04E-04	0,18%	0,2851	1,97E-05
0,165	0,2459	3,61E-04	0,15%	0,2378	6,50E-05
0,124	0,1869	1,53E-04	0,08%	0,1905	1,36E-05
0,082	0,1431	1,73E-04	0,12%	0,1433	2,56E-08
Declive: 1,1478		Soma do quadrado dos desvio:			9,84E-05
Interceção: 0,0487					
R ² : 0,9956					

A representação gráfica dos valores de absorvência em função da concentração da solução padrão pode ser vista na Figura 36:

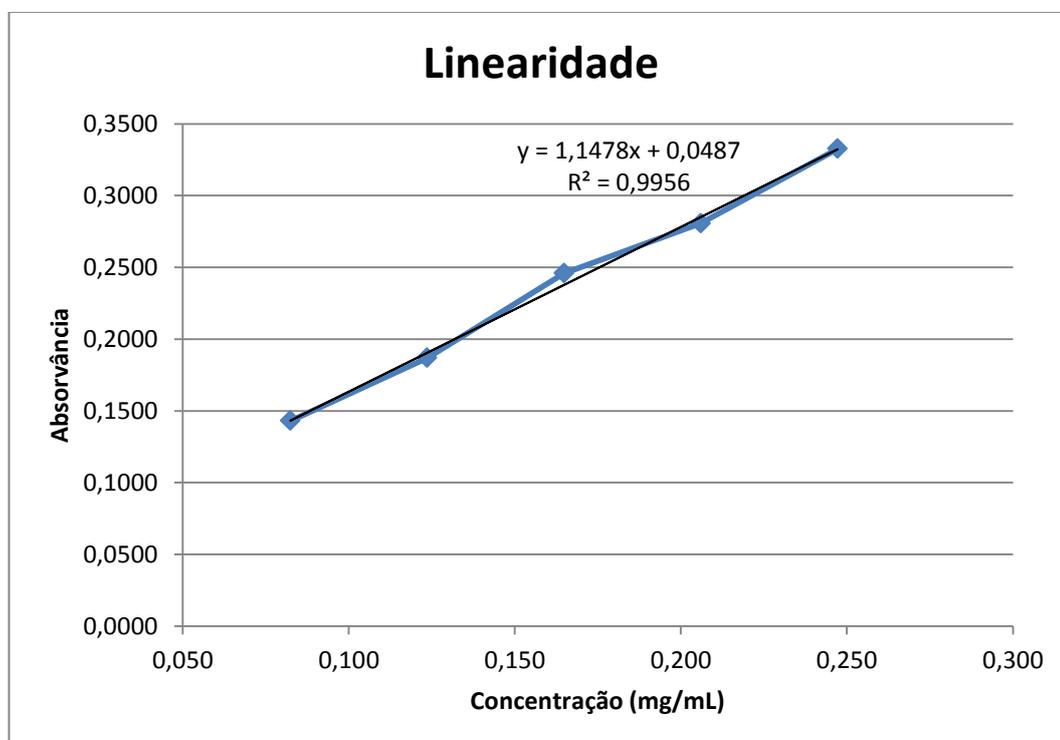


Figura 36: Gráfico de linearidade do método de doseamento do ibuprofeno

Pelos valores obtidos, conclui-se que existe uma correlação linear entre as concentrações padrão de ibuprofeno e as absorvâncias lidas para a gama de concentrações de ibuprofeno ensaiadas, embora os valores do coeficiente de determinação (R^2) devessem ser superiores a 0,999.

Estudo da repetibilidade

Os resultados da leitura da absorvência das 6 amostras de solução padrão de ibuprofeno com concentração 0,2mg/mL (100%), correspondentes ao estudo da precisão (repetibilidade) estão representados na Tabela 24:

Tabela 24: Resultados da avaliação da repetibilidade

Amostras	Leituras		
1	0,2809	Média:	0,2807
2	0,2812	Desv. Padrão:	5,04E-04
3	0,2812	Coef. variação:	0,18%
4	0,2806		
5	0,2801		
6	0,2801		

Perante os valores encontrados podemos verificar que se obteve um coeficiente de variação inferior a 2%, logo que o método é preciso (em termos de repetibilidade).

Estudo da precisão intermédia

Os resultados da leitura da absorvência das amostras da solução padrão de ibuprofeno com concentração 0,2mg/mL (100%), correspondentes ao estudo de precisão intermédia podem ser analisados na Tabela 25:

Tabela 25: Resultados da avaliação da precisão intermédia

Amostras	Analista 1, dia 1	Analista 2, dia 2
1	0,2809	0,2821
2	0,2812	0,2812
3	0,2812	0,2821
4	0,2806	0,2827
5	0,2801	0,2825
6	0,2801	0,2832
Média:	0,2807	0,2821
Desvio padrão:	5,04E-04	6,78E-04
Coef. variação:	0,18%	0,24%

Perante os valores encontrados podemos verificar que se obteve um coeficiente de variação inferior a 2% para as absorvências obtidas por um analista diferente, num dia diferente, logo que o método é preciso (em termos de precisão intermédia).

Estudo de exatidão

Os resultados obtidos para o estudo da exatidão estão representados na Tabela 26.

Tabela 26: Cálculos para o estudo de exatidão do método de doseamento do ibuprofeno

Concentrações teórica (mg/mL)	Leituras médias	Concentrações calculadas (mg/mL)	Recuperação (%)
0,247	0,3326	0,247	100,08%
0,206	0,2807	0,202	98,12%
0,165	0,2459	0,172	104,26%
0,124	0,1869	0,120	97,40%
0,082	0,1431	0,082	99,83%
		Média:	99,94%
		Desvio padrão:	0,027
		Coef. variação:	2,67%

Podemos concluir que o método é exato pois os valores da recuperação de ibuprofeno estão dentro do intervalo $100\pm 2\%$.

Especificidade

Relativamente a este parâmetro, verificou-se que os microemulgeles sem substância ativa apresentavam alguma absorvência a 272nm. Desta forma, conclui-se que este método não apresenta especificidade para o ibuprofeno.

Foram obtidos valores aceitáveis em termos de exatidão, repetibilidade, precisão intermédia e linearidade dentro da gama de concentrações estudadas, pelo que se considerou ser um método adequado para o doseamento do ibuprofeno em clorofórmio.

No entanto, para o correto doseamento do ibuprofeno nas preparações em estudo, dado que o método não apresenta especificidade para o ibuprofeno, terá que ser subtraída a cada absorvência lida, a absorvência da solução do microemulgele sem esta substância ativa.

Conclui-se então que a espectrofotometria UV-Vis é de um modo geral um método simples, de fácil execução, que poderá ser utilizado para o doseamento do ibuprofeno.

2.3.6.2. Doseamento do Ibuprofeno

Microemulgele de Carbopol® 974P

Na Tabela 27 estão representados os valores da absorvência e os valores calculados para o doseamento do ibuprofeno nas preparações de Carbopol® 974P.

Tabela 27: Resultados do doseamento do ibuprofeno nos microemulgeles de Carbopol® 974P

Amostra	Quant. de amostra (g)	Vol. final (mL)	Leituras médias (n=3)	Leitura corrigida	Concent. teórica (mg/g)	Ibuprofeno (%)
“Carbopol_ME_ semIbu”	0,5348	25	0,0393			
“Carbopol_ME_ 1%Ibu”	0,4988	25	0,2960	0,2593	9,20	93,34%

Notar que não foi feito o doseamento do microemulgele de Carbopol® 974P obtido a partir da microemulsão com 5% de ibuprofeno, pois não se conseguiu obter um gel com consistência adequada para prosseguir os estudos.

Microemulgele de Aristoflex® AVC

Na Tabela 28 estão representados os valores de absorvência e os valores calculados para o doseamento do ibuprofeno nos microemulgeles de Aristoflex® AVC.

Tabela 28: Resultados do doseamento do ibuprofeno nos microemulgeles de Aristoflex® AVC

Amostra	Quant. de amostra (g)	Vol. final (mL)	Leituras médias (n=3)	Leitura corrigida	Concent. teórica (mg/g)	Ibuprofeno (%)
“Aristoflex_ME_ semIbu”	0,4835	25	0,0341			
“Aristoflex_ME_ 1%Ibu”	0,5225	25	0,3164	0,2796	9,63	97,70%
“Aristoflex_ME_ semIbu”	0,4331	100	0,0371			
“Aristoflex_ME_ 5%Ibu”	0,4184	100	0,3209	0,2851	49,23	99,93%

Todos os valores das absorvâncias obtidos para as preparações com substância ativa foram corrigidos proporcionalmente em função da quantidade de amostra pesada e dos valores da absorvância obtidos para as soluções dos microemulgeles sem substância ativa. Desta forma, foi possível “descontar” a absorvência dos excipientes.

Com base nos resultados encontrados, os microemulgeles revelaram valores muito próximos de 100%. Estes resultados permitem, portanto, afirmar que a quantidade de ibuprofeno nas preparações está dentro das especificações para doseamento de substâncias ativas.

2.4. Estudos de estabilidade

Os estudos de estabilidade foram divididos em 3 partes: estudo da estabilidade acelerada por centrifugação, estudo sobre as microemulsões e estudo sobre os e microemulgeles.

2.4.1.1. Estabilidade acelerada por centrifugação

O estudo da estabilidade acelerada por centrifugação, muito particular das preparações semissólidas, foi levado a cabo regra geral 24 horas após a preparação das formulações. Foram realizados estudos de centrifugação nas microemulsões e nos microemulgeles.

Ensaio de centrifugação nas microemulsões

Na Tabela 29 podem ser observados os resultados dos ensaios de estabilidade acelerada por centrifugação das microemulsões preparadas neste trabalho.

Tabela 29: Resultados da centrifugação das microemulsões

Amostra	Aspetto da amostra após centrifugação / Altura do sobrenadante
"MEH_0"	Homogénea
"MES_01"	Homogénea
"MES_02"	Homogénea
"MES_03"	Homogénea
"ME_Miglyol"	Homogénea
"ME_Cetiol"	Homogénea
"ME_Miristato"	4,5mL
"ME_Transcutol"	Homogénea
"ME_Glicerina"	Homogénea
"ME_Etanol"	Homogénea
"ME_semTrans"	Homogénea
"ME_1%Ibu"	Homogénea
"ME_5%Ibu"	Homogénea

A seguir a imagem de algumas microemulsões após centrifugação (Figura 37 e Figura 38).

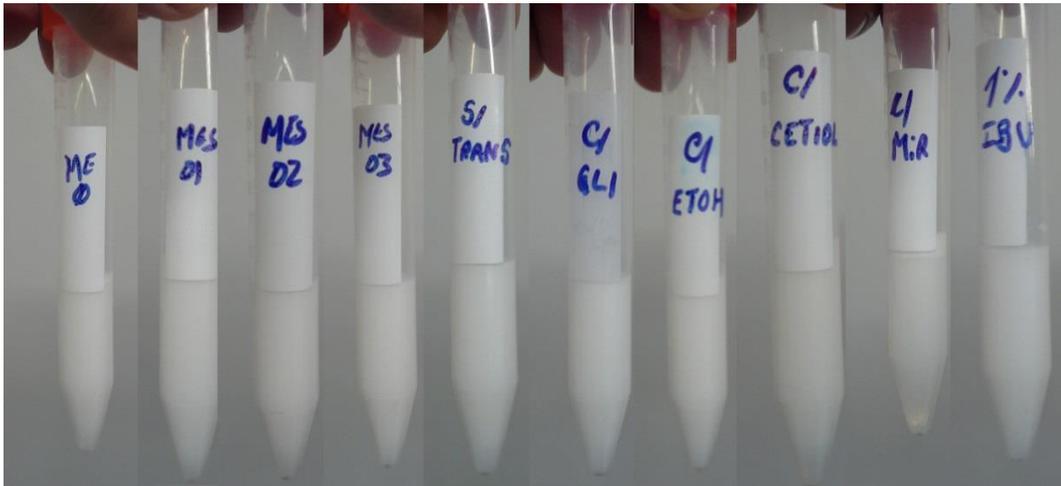


Figura 37: Resultado da centrifugação das microemulsões



Figura 38: Detalhe da microemulsão com miristato de isopropilo.

Pela observação dos resultados de centrifugação é possível concluir que, à exceção da microemulsão contendo miristato de isopropilo, todas as preparações permaneceram homogêneas após a centrifugação, revelando que são estáveis quando expostas a condições de força centrífuga excessiva.

Estes resultados permitiram eliminar a microemulsão com miristato de isopropilo para ensaios posteriores, ainda que os resultados de tamanho de gotícula para esta preparação tivessem sido mais satisfatórios (Tabela 15).

Ensaio de centrifugação dos geles e dos microemulgeles

Os resultados dos ensaios de estabilidade acelerada por centrifugação dos geles são apresentados na Tabela 30:

Tabela 30: Resultados dos ensaios de centrifugação sobre os geles e microemulgeles

Amostra	Aspetto da amostra após centrifugação / Altura do sobrenadante
"Carbopol_ME_semIbu"	Homogénea
"Carbopol_ME_1%Ibu"	Homogénea
"Aristoflex_ME_semIbu"	Homogénea
"Aristoflex_ME_1%Ibu"	Homogénea
"Aristoflex_ME_5%Ibu"	Homogénea
"Carbopol_semME_1%Ibu"	Homogénea
"Carbopol_semME_5%Ibu"	Homogénea
"Aristoflex_semME_1%Ibu"	Homogénea
"Aristoflex_semME_5%Ibu"	Homogénea

Nas figuras seguintes (Figura 39 e Figura 40) pode ser observado o aspeto das referidas preparações após centrifugação.

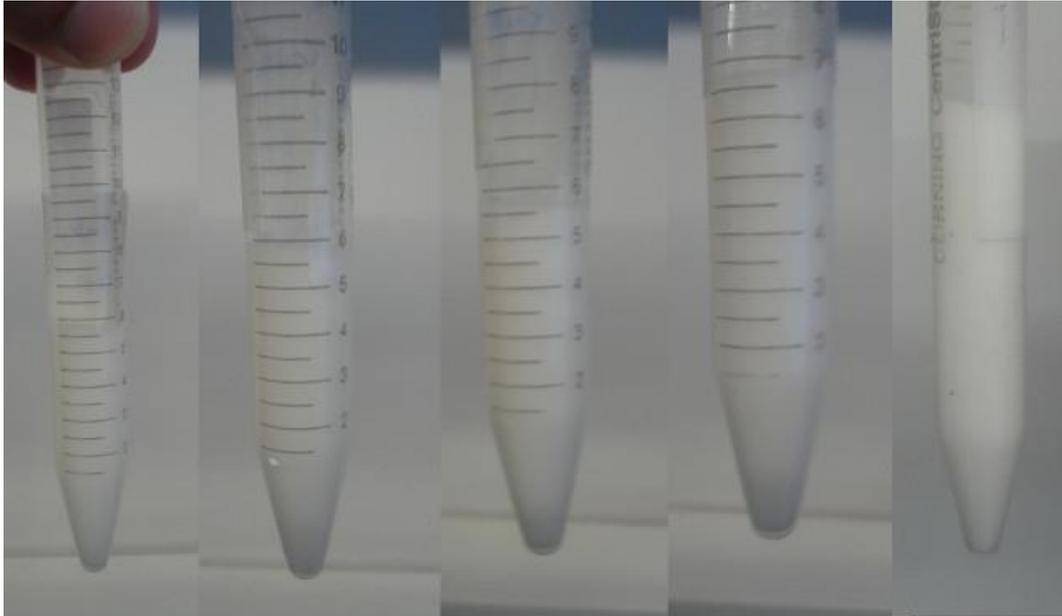


Figura 39: Resultados da centrifugação dos gels com microemulsão. Da esquerda para a direita: “Carbopol_ME_semlbu”, “Carbopol_ME_1%lbu”, “Aristoflex_ME_semlbu”, “Aristoflex_ME_1%lbu”, “Aristoflex_ME_5%lbu”.



Figura 40: Resultado da centrifugação dos gels sem microemulsão.

Pela observação dos resultados da centrifugação, todos os gels e microemulgeles preparados se apresentaram estáveis depois de expostos a condições extremas de força centrífuga.

2.4.1.2. Estabilidade das microemulsões

O estudo da estabilidade das microemulsões consistiu em deixar as microemulsões armazenadas à temperatura ambiente durante 3 meses. Para algumas preparações foi possível chegar a analisar alguns parâmetros ao fim de 120 dias. Foram avaliados aspetos organoléticos, pH e tamanho das gotículas ao fim desse tempo.

Avaliação organolética

Em todas as microemulsões não foram notadas alterações de aspeto ou de homogeneidade das preparações. Ao fim de 3 meses, todas as preparações tinham aspeto semelhante ao do primeiro dia após a preparação.

Avaliação de pH

O gráfico seguinte (Figura 41) permite avaliar as alterações de pH ao longo do tempo para as diferentes microemulsões.

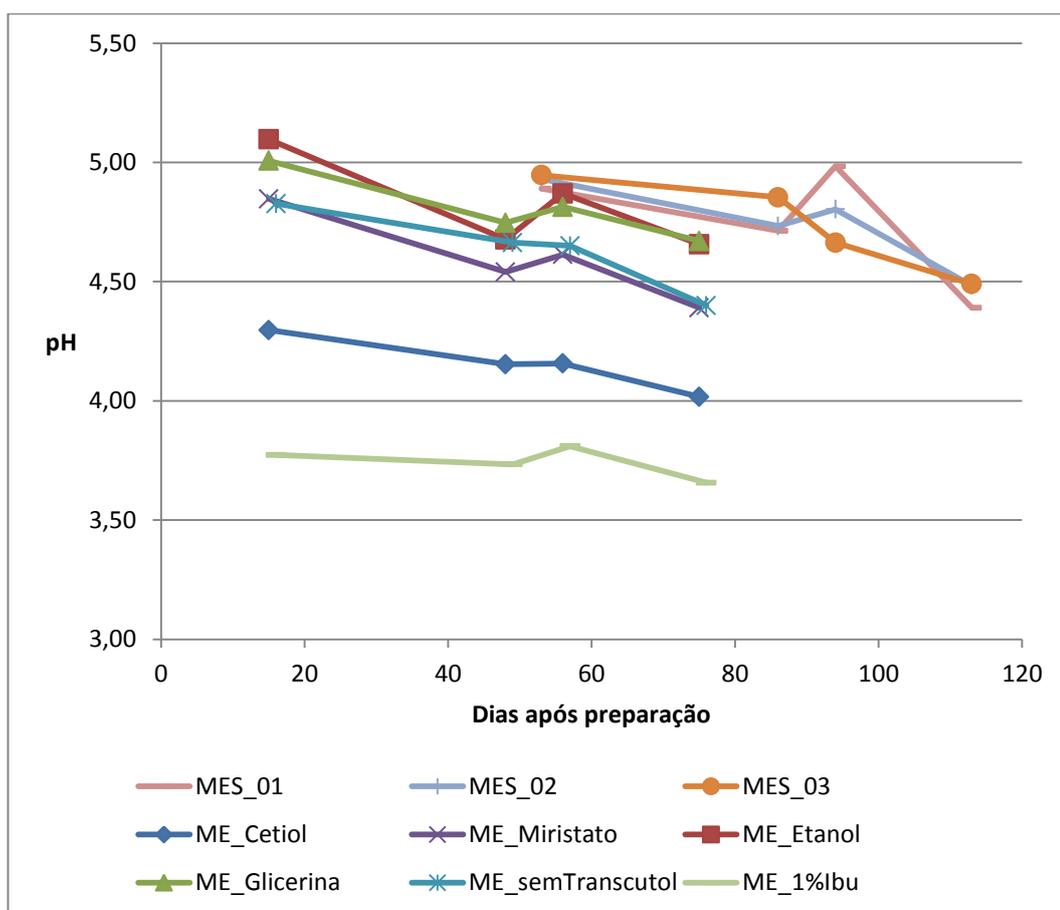


Figura 41: Variação de pH ao longo do tempo para as microemulsões

Pela análise dos resultados, é possível observar uma tendência de descida do pH ao longo do tempo para todas as preparações, tanto nas que têm fármaco, como nas sem fármaco.

De qualquer forma, uma vez que não foi especificado um valor de conformidade de pH para estas preparações, este ensaio apenas permite comparar as diferentes amostras, mas não rejeitar *per si* qualquer preparação.

Tamanho das gotículas

Para avaliação da estabilidade dos tamanhos das gotículas recorreu-se à avaliação gráfica dos valores de D₅₀ obtidos ao longo do tempo para as diferentes preparações. O resultado pode ser analisado no gráfico seguinte (Figura 42).

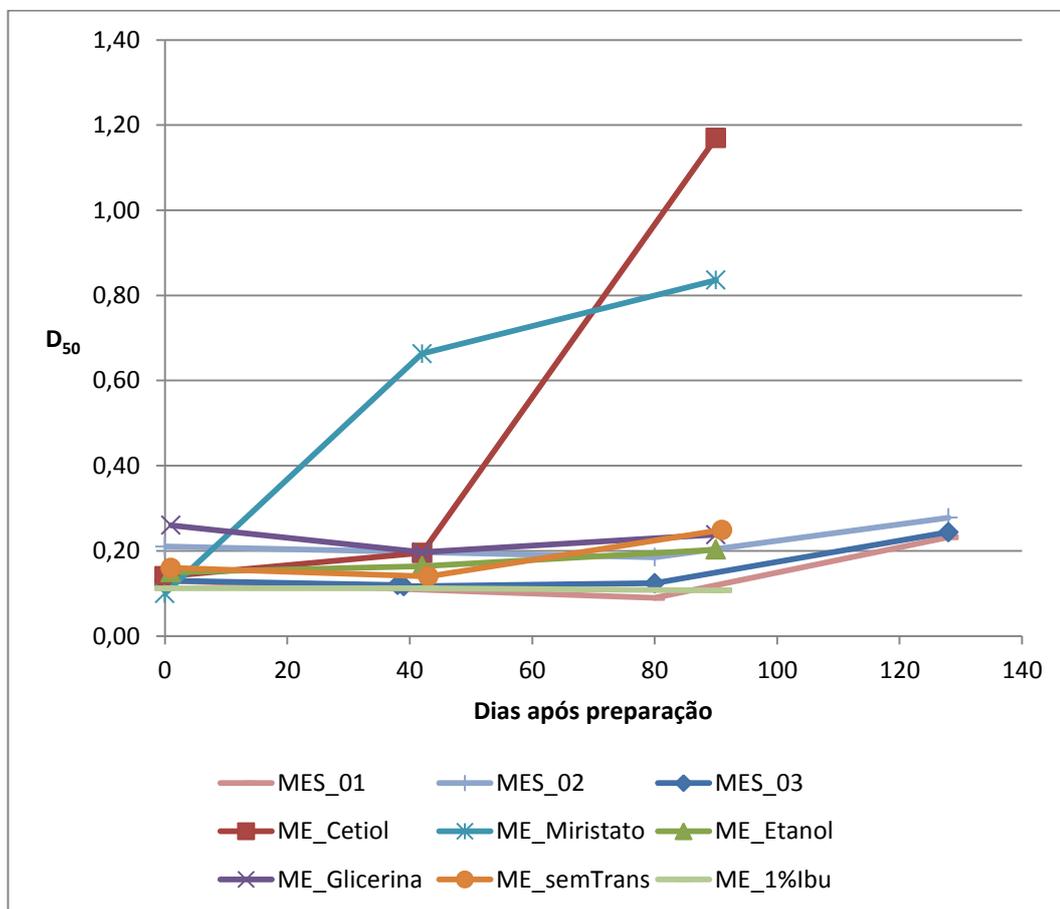


Figura 42: Evolução dos valores de D₅₀ obtidos ao longo do tempo para diferentes microemulsões

Pela análise dos resultados obtidos para o estudo da estabilidade do tamanho das gotículas para as diferentes microemulsões é possível observar que as microemulsões mais estáveis são precisamente as preparações onde se recorre ao Miglyol 812® como lípido e ao Transcutol® como co-tensioativo (MES_01, MES_02 e MES_03). As microemulsões com Cetiol® e com Miristato de isopropilo foram aquelas em que se observou menor estabilidade neste parâmetro.

A microemulsão com 1% de substância ativa, além de já na caracterização inicial ter revelado um tamanho de gotícula baixo, aparenta ser bastante estável, sendo que ao longo de 90 dias praticamente não apresentou alteração neste parâmetro. Pelo contrário, as outras microemulsões apresentaram aumento do D50 devido à coalescência das gotículas da fase interna.

Estes resultados são coerentes com o estudo realizado por Shakeel *et al* sobre nanoemulsões de Celecoxib, em que são usados Tween® 80 e Transcutol® como tensioativo e co-tensioativo, respectivamente, resultando também em preparações estáveis e onde não se detetaram alterações significativas de tamanho de gotícula ao fim de 3 meses quer em preparações armazenadas no frio, quer à temperatura ambiente.(72) Este estudo reforça a conclusão de que a escolha do tensioativo e do co-tensioativo feitas neste trabalho tem elevado potencial para originar preparações estáveis.

2.4.1.3. Estabilidade dos microemulgeles

Os estudos de estabilidade dos microemulgeles consistiram em deixar estas preparações armazenadas à temperatura ambiente durante cerca de 1 mês. Ao cabo desse tempo foram avaliados o aspeto organolético, o pH, a viscosidade e a textura.

Avaliação organolética

Não foram notadas alterações de aspeto ou homogeneidade nos microemulgeles estudados. As preparações mantiveram-se estáveis ao longo do tempo.

Avaliação de pH

O gráfico seguinte (Figura 43) permite avaliar as alterações de pH ao longo do tempo para os diferentes geles.

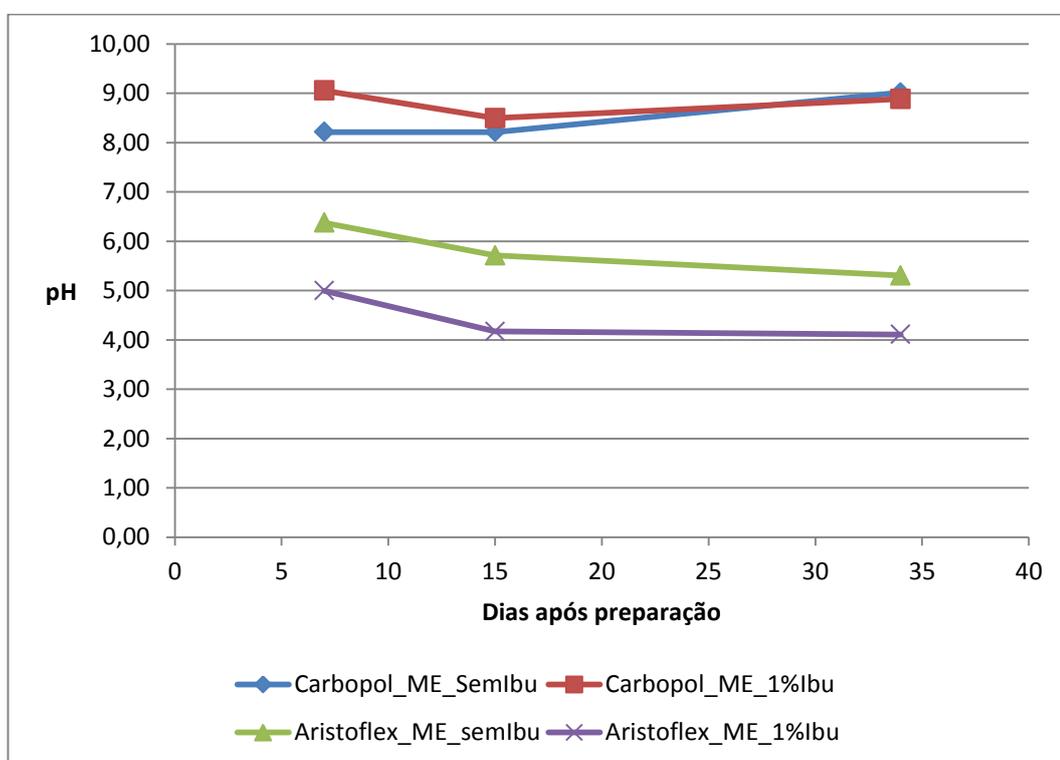


Figura 43: Estudo de evolução do pH ao longo do tempo para os microemulgeles

Tal como discutido na caracterização dos geles, os geles de Carbopol apresentam pH mais elevado devido ao uso da trietanolamina. Ao longo do tempo estes microemulgeles parecem manter-se estáveis relativamente a este parâmetro.

Já para os microemulgeles de Aristoflex, de pH mais baixo, verifica-se que nos primeiros 15 dias há um decaimento do pH, mas que depois se mantém estável ao longo do tempo.

Tal como para as microemulsões, não sendo definido um intervalo de pH de conformidade, os valores aqui avaliados servem apenas de informação e de comparação entre as preparações. No entanto, os microemulgeles de Aristoflex apresentam valores de pH mais adequados para a aplicação cutânea, uma vez que correspondem a valores mais próximos do pH da pele (4,5-5,5).

Reologia

A avaliação da viscosidade dos microemulgeles foi efetuada ao longo de 34 dias. Os gráficos obtidos podem ser analisados abaixo (Figura 44).

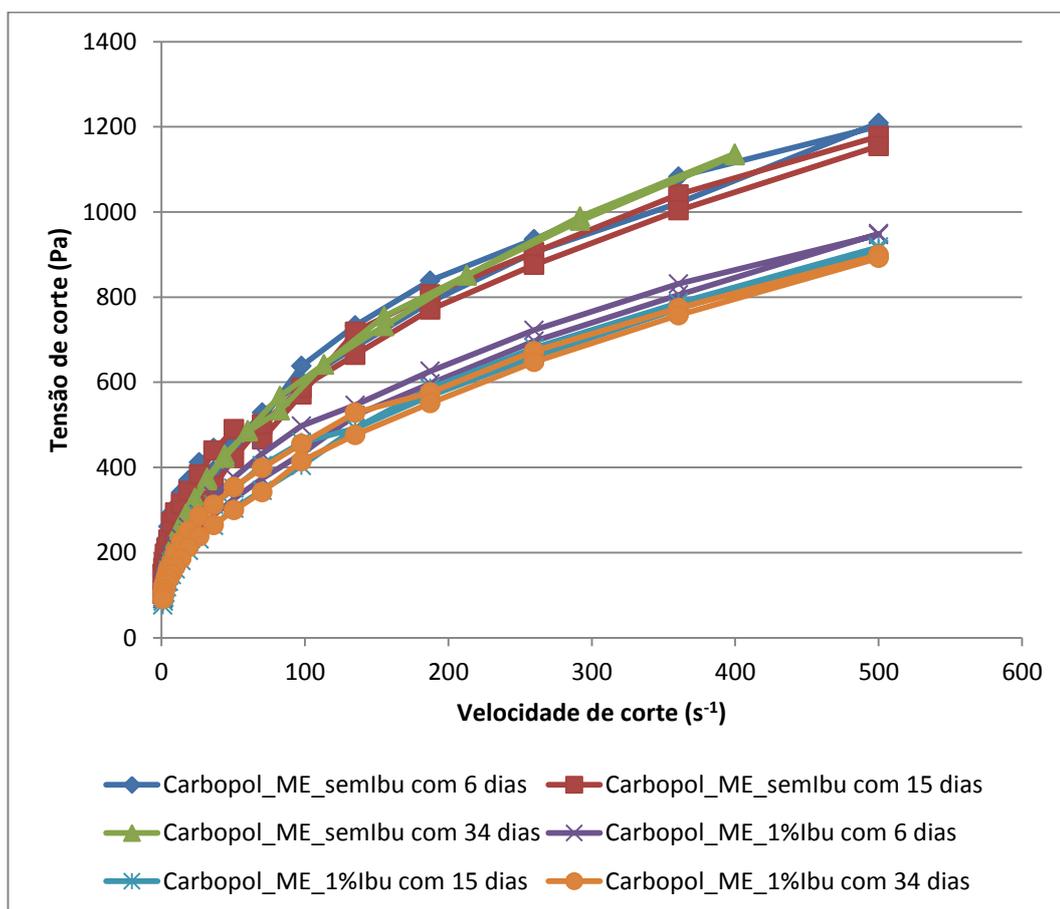


Figura 44: Reogramas dos microemulgeles de Carbopol 974® ao longo do tempo

Os reogramas acima permitem detetar uma diferença significativa de valores de tensão de corte entre o microemulgele com substância ativa e o microemulgele sem substância ativa. Notam-se claramente valores de viscosidade inferiores no caso dos microemulgeles com ibuprofeno. Esta diferença já havia sido detetada na caracterização destes microemulgeles (Figura 23). Contudo, ao longo do tempo, os mesmos microemulgeles (com e sem fármaco) não parecem sofrer alterações significativas em termos de comportamento reológico, uma vez que para ambas as formulações os reogramas com 6, 15 e 34 dias são praticamente sobreponíveis. Estes resultados significam que estas formulações se mantêm estáveis ao longo do tempo de estudo.

Estes resultados são coerentes com os resultados obtidos por Abdullah *et al* cujo estudo da estabilidade de nanoemulgeles com 5% de ibuprofeno, Tween® 80 e Carbopol® 940, resultou em preparações estáveis ao fim de 90 dias.(73)

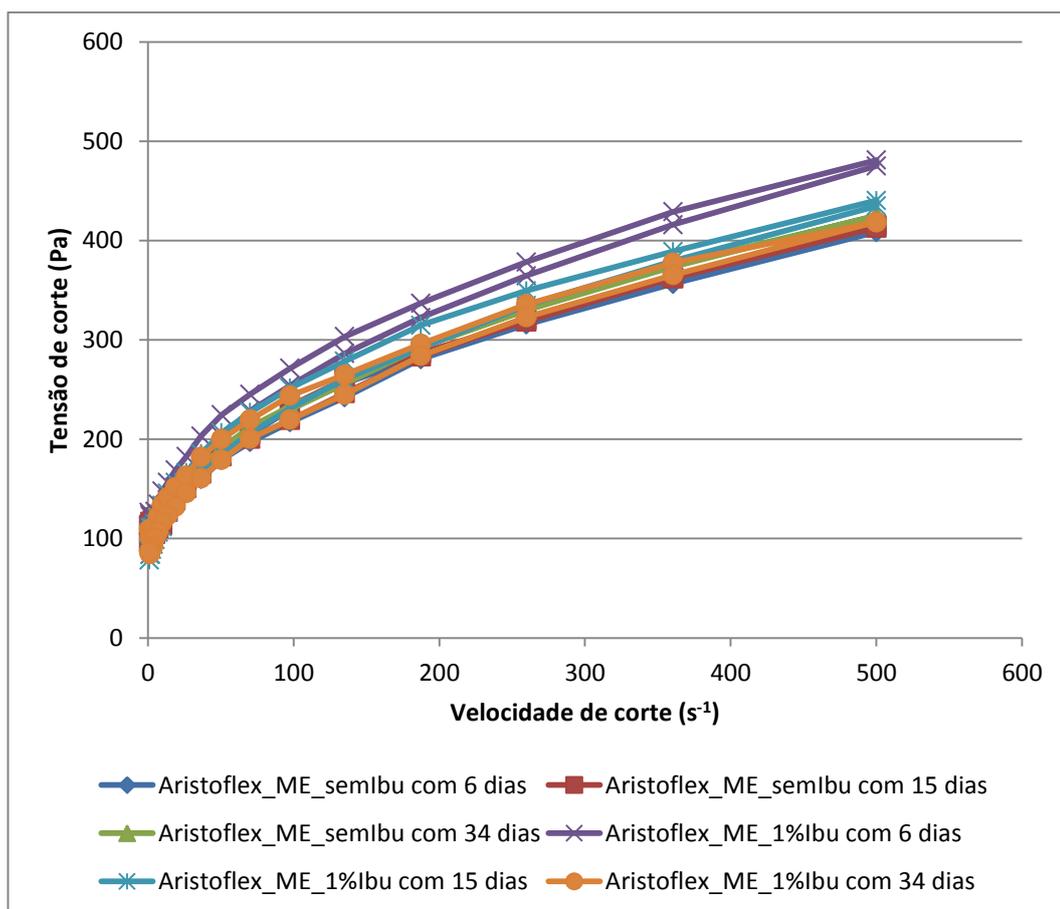


Figura 45: Reogramas dos microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo

A análise dos resultados obtidos para os microemulgeles de Aristoflex® AVC permite verificar que a viscosidade e o comportamento reológico dos mesmos não se altera significativamente ao longo do tempo. No entanto, o microemulgele com 1% de substância ativa parece apresentar uma ligeira diminuição dos valores de viscosidade após 15 e 34 dias de armazenamento.

Comparando estes microemulgeles com os de Carbopol, verifica-se que estes apresentam valores de tensão de corte mais baixos (entre 400 e 500 Pa para a velocidade de corte máxima de 500 s^{-1}).

Textura

Os gráficos da avaliação da textura podem ser analisados a seguir (Figura 46 a Figura 49).

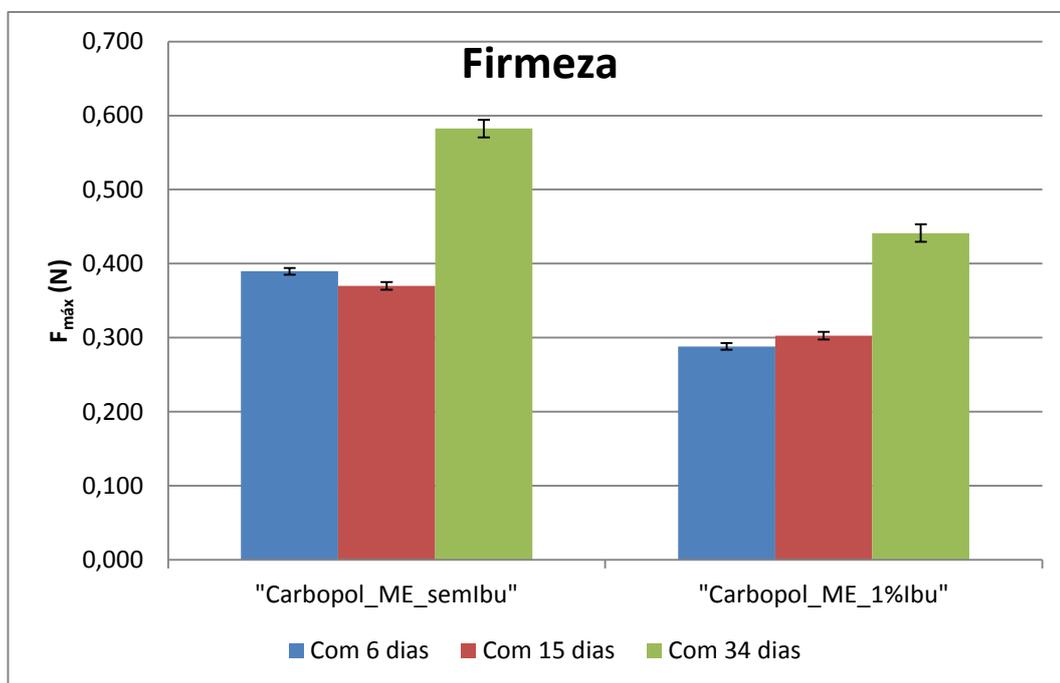


Figura 46: Resultados da firmeza dos microemulgeles de Carbopol® 974P ao longo do tempo

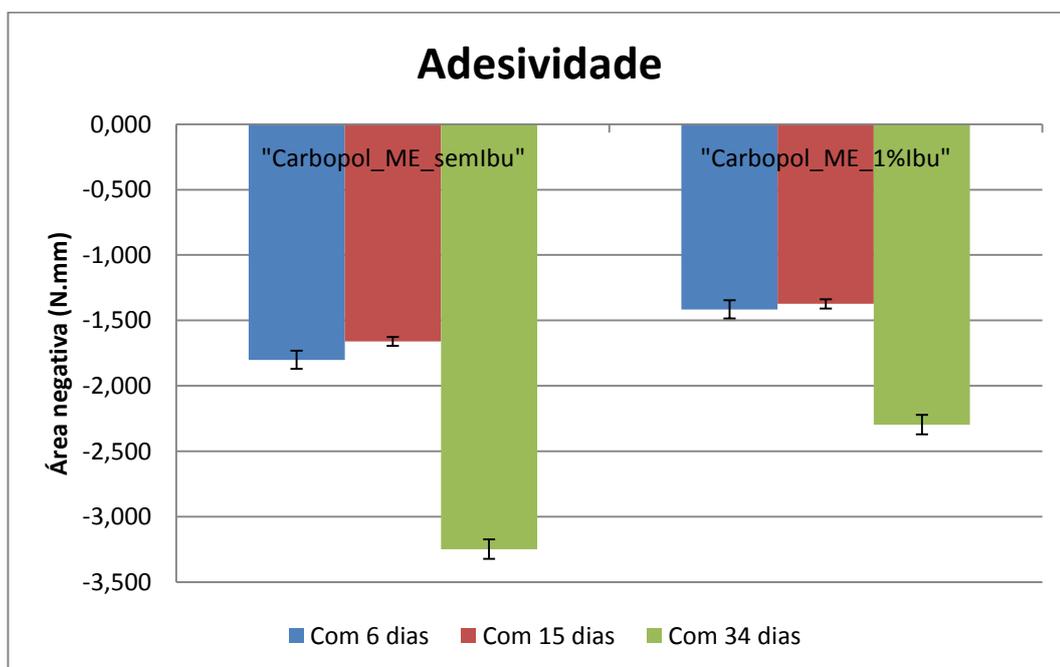


Figura 47: Resultados da adesividade dos microemulgeles de Carbopol® 974P ao longo do tempo

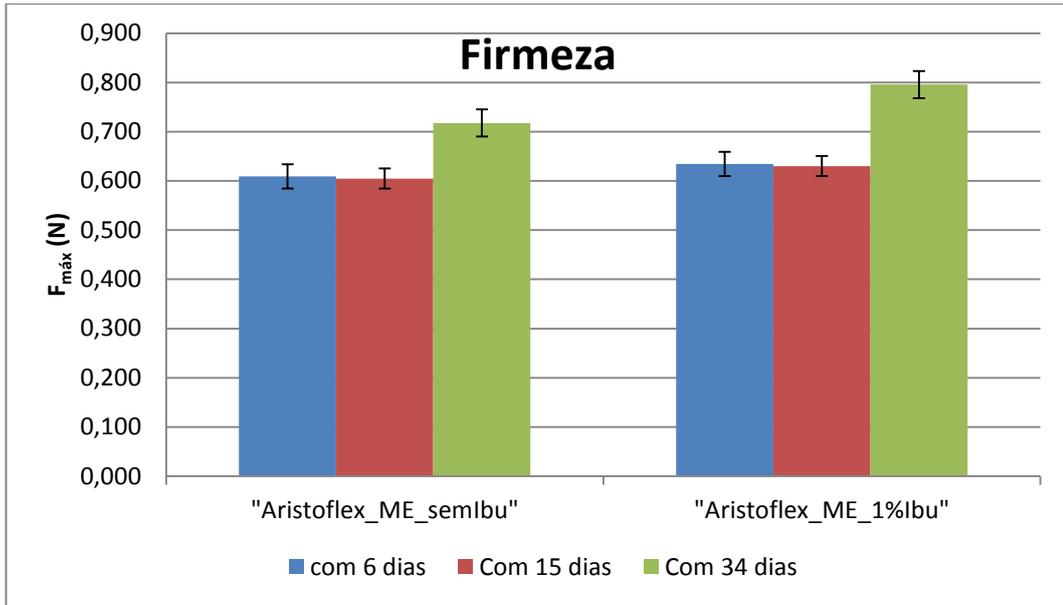


Figura 48: Resultados da firmeza para os microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo

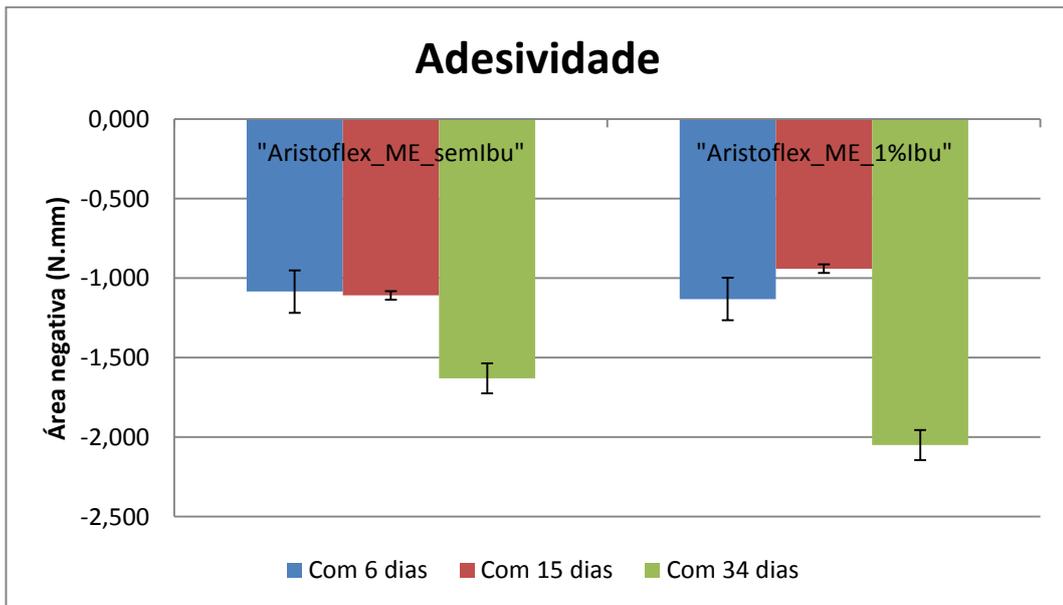


Figura 49: Resultados da adesividade para os microemulgeles de Aristoflex® AVC ao longo do tempo

Pela análise dos resultados obtidos para a textura, no caso dos microemulgeles de Carbopol® 974P, e à semelhança do que foi observado na avaliação da viscosidade, há diferenças logo à partida entre o microemulgele com e sem ibuprofeno. Ainda que o comportamento seja semelhante ao longo do tempo para ambas as preparações, isto é, para ambas se nota um aumento da firmeza e da adesividade ao fim de 34 dias, sendo este efeito mais notório na preparação sem substância ativa.

No caso dos microemulgeles de Aristoflex® AVC, mais uma vez se verifica um comportamento semelhante ao observado na avaliação da viscosidade destas formulações, e ao contrário dos microemulgeles de Carbopol® 974P, os de Aristoflex® AVC com e sem ibuprofeno apresentaram valores aproximados nas primeiras determinações. Ao longo do tempo houve também em ambos os casos um aumento da firmeza e da adesividade ao fim de 34 dias de armazenamento. Contudo, ao contrário dos microemulgeles de Carbopol® 974P, este efeito é mais notório na formulação com substância ativa.

Além disso, verifica-se que os microemulgeles de Aristoflex® AVC apresentaram menor viscosidade e menor adesividade que os microemulgeles de Carbopol® 974P, mas apresentaram maior firmeza que estes.

3. Conclusões

Os anti-inflamatórios não esteróides estão entre os fármacos mais prescritos em todo o mundo e são responsáveis por aproximadamente um quarto de todas as notificações de reações adversas. Uma vez que a maioria destes fármacos são administrados por via oral, a sua administração tópica apresenta-se como um desafio e uma alternativa interessante na medida em que se tentam minimizar os efeitos adversos. Além disso, a administração cutânea representa também uma via bastante cómoda para o paciente.

O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteróide utilizado essencialmente por via oral. Existem atualmente no mercado português apenas duas apresentações de ibuprofeno de aplicação tópica, ambas na forma de gel. Estas preparações são usadas no tratamento de dores musculares ligeiras a moderadas, assim como no tratamento de entorses, lombalgias ou nevralgias.

As microemulsões são sistemas interessantes por apresentarem boa estabilidade no que diz respeito à separação ou agregação das gotículas, por serem fáceis de preparar e com custo geralmente baixo. Além disso, podem ser usadas como veículo de substâncias ativas termolábeis, tanto hidrófilas como lipófilas. Está também descrito que as microemulsões podem aumentar a biodisponibilidade de certas substâncias ativas.

Este trabalho consistiu essencialmente em duas partes. A primeira diz respeito ao desenvolvimento de microemulsões e a sua caracterização. A segunda parte está relacionada com o desenvolvimento de microemulgeles preparados a partir da microemulsão que demonstrou melhores resultados e a respetiva caracterização. A par dos ensaios de caracterização das preparações, foi feito também um estudo de estabilidade tanto de algumas microemulsões como de alguns geles e microemulgeles.

O desenvolvimento das microemulsões consistiu inicialmente em estudar dois métodos de preparação: a homogeneização a alta pressão e a sonicação. Com este estudo foi possível concluir que ambos os métodos produzem resultados idênticos. Contudo, o método de sonicação foi o adotado nos ensaios subsequentes na medida em que constitui um método mais simples, rápido e económico.

Depois de determinado o método de preparação, o estudo incidiu sobre alguns excipientes da fórmula. Fez-se o estudo da influência do lípido líquido e do co-tensioativo nas características das microemulsões.

Os resultados obtidos indicaram que quando se usa o Cetiol®, o tamanho das gotículas é maior. Quando se usa o Miristato de Isopropilo o tamanho das gotículas é mais baixo, mas este lípido gerou uma microemulsão instável quando se efetuou o ensaio de estabilidade acelerada por centrifugação. O lípido escolhido para os trabalhos posteriores foi o Miglyol 812®, o qual aliás já havia sido usado na composição das formulações utilizadas no estudo para comparação dos métodos de preparação das microemulsões.

Quanto ao co-tensioativo, os resultados indicaram que quando se usa a glicerina o tamanho das gotículas é o maior. Os melhores resultados são obtidos quando se usa o Transcutol® como co-tensioativo. Daí este ter sido o eleito para as preparações posteriores. De referir, contudo, que todas as microemulsões onde se fez variar o co-tensioativo resultaram estáveis, tanto no ensaio de estabilidade acelerada por centrifugação, como nos ensaios de estabilidade realizados ao longo de 3 meses.

Com base nos resultados da caracterização das microemulsões, passou-se então à incorporação da substância ativa (ibuprofeno) na fórmula. Procedeu-se depois à comparação das microemulsões contendo substância ativa *versus* microemulsões sem substância ativa.

As microemulsões com ibuprofeno, em ambas as dosagens (1% e 5%) não apresentaram tamanhos de gotícula diferentes das microemulsões sem ibuprofeno. A principal diferença foi notada no caso do pH. Este parâmetro é tanto mais baixo quanto maior a dosagem de ibuprofeno. Este resultado era previsível, uma vez que o ibuprofeno tem carácter ácido.

Os estudos de estabilidade revelaram por um lado que, dentro das microemulsões, a microemulsão com miristato de isopropilo não é estável e apresenta separação de fases quando exposta à força gravítica do ensaio de centrifugação e que, tanto no caso desta microemulsão como na de Cetiol®, ocorre um aumento de pH ao longo do tempo.

Os trabalhos subsequentes basearam-se na gelificação das microemulsões com e sem substância ativa, recorrendo à fórmula base e ao método de preparação determinados pelos ensaios iniciais. Foram usados dois gelificantes diferentes (Carbopol® 974P e Aristoflex® AVC) e os microemulgeles obtidos foram posteriormente caracterizados. Ao mesmo tempo foram preparados geles simples com

e sem substância ativa. Ou seja, geles apenas com agente gelificante e água, sem terem como base as microemulsões. Desta forma, foi possível estudar as diferenças entre geles e microemulgeles.

Não foi possível gelificar a microemulsão com 5% de ibuprofeno quando se utilizou o Carbopol® 974P como gelificante. Mesmo as microemulsões sem substância ativa e a microemulsão com 1% de ibuprofeno mostraram alguns problemas na gelificação com o Carbopol® 974P, tendo-se verificado que estes microemulgeles necessitam de 24 horas de repouso até adquirirem consistência semissólida.

Os microemulgeles de Carbopol® 974P obtidos a partir das microemulsões são mais brancos, mais opacos e de pH mais alto que os respetivos geles sem microemulsão. O facto de terem pH mais alto está relacionado com a referida dificuldade na preparação.

Os microemulgeles de Aristoflex® AVC demonstraram ser mais fáceis de preparar, tendo sido possível obter preparações semissólidas contendo 5% de ibuprofeno. Além disso, apresentaram valores de pH mais adequados para a aplicação cutânea.

Relativamente aos parâmetros reológicos, ambos os microemulgeles obtidos utilizando diferentes agentes gelificantes revelaram comportamento reofluidificante e sem tixotropia. De um modo geral, a presença de ibuprofeno demonstrou baixar a viscosidade das preparações. Este comportamento foi observado tanto nos microemulgeles de Carbopol® 974P como nos de Aristoflex® AVC. Em relação à textura, os geles de Carbopol® 974P obtidos a partir de microemulsões apresentam menor firmeza e adesividade que os geles sem microemulsão. Foi também possível notar que os parâmetros de textura são mais afetados pela presença da substância ativa nos geles sem microemulsão que nos geles com microemulsão.

Os microemulgeles de Aristoflex® AVC obtidos são mais brancos e mais opacos que os respetivos geles sem microemulsão. Não há diferenças significativas no que toca a pH entre microemulgeles e geles sem microemulsão, quando se comparam formulações com a mesma dosagem de fármaco. Tal como nos microemulgeles de Carbopol® 974P, a incorporação de ibuprofeno faz baixar o pH das preparações tanto mais quanto maior a quantidade de fármaco incorporado.

Reologicamente encontramos comportamentos semelhantes nestes microemulgeles comparando com os de Carbopol® 974P. Todavia, verificou-se que os microemulgeles de Aristoflex® AVC apresentaram menor viscosidade que os microemulgeles de Carbopol® 974P, mas em termos de textura apresentaram maior firmeza que estes.

Os estudos de estabilidade acelerada por centrifugação indicaram que todos os microemulgeles apresentaram boa estabilidade. Reologicamente não se observaram alterações em qualquer um dos microemulgeles, mas em relação à textura notou-se um aumento da firmeza e da adesividade ao longo do tempo.

Em suma, este trabalho permitiu concluir que é possível obter microemulsões relativamente estáveis constituídas por Miglyol® 812, Tween® 80, Transcutol® e água, contendo 1% de ibuprofeno e que a gelificação destas microemulsões utilizando Aristoflex® AVC permite obter preparações semissólidas estáveis, com pH, comportamento reológico e textura adequados para aplicação cutânea.

Como perspectivas futuras, seria importante alargar o prazo do estudo de estabilidade das fórmulas desenvolvidas. Seria também importante realizar estudos “in vitro” para avaliar o perfil de libertação do fármaco ao longo do tempo.

4. Bibliografia

1. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 2014;6(1):52–77.
2. Harder J, Schröder J-M, Gläser R. The skin surface as antimicrobial barrier: present concepts and future outlooks. *Experimental Dermatology*. Janeiro de 2013;22(1):1–5.
3. Akhlaq M, Hussain A, Bakhsh S, Shakoor A, Khan MA, Iqbal S, et al. Skin Port: A Novel Route For Drug Delivery. *Gomal Journal of Medical Sciences*. Julho de 2014;12(3):176–84.
4. Fuchs E, Raghavan S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nature Reviews Genetics*. 2002;3(3):199–209.
5. Amaral MH dos AR. Estudo do naproxeno em formas de aplicação cutânea [Internet]. [Faculdade de Farmácia]: Universidade do Porto; 1997. Obtido de: <http://hdl.handle.net/10216/10167>
6. Kogan A, Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in colloid and interface science*. 2006;123:369–85.
7. Singh V, Sharma H, Veerma R, Javed A, Singh M. Topical non steroidal anti inflammatory drug (NSAIDs) microemulsions: Rationale, review and future prospective. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2013;7(1):1.
8. N'Da DD. Prodrug Strategies for Enhancing the Percutaneous Absorption of Drugs. *Molecules*. Dezembro de 2014;19(12):20780–807.
9. Singh I, Sri P. Percutaneous penetration enhancement in transdermal drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutics*. Abril de 2010;4(2):92–101.
10. Sugiura A, Nomura T, Mizuno A, Imokawa G. Reevaluation of the non-lesional dry skin in atopic dermatitis by acute barrier disruption: an abnormal permeability barrier homeostasis with defective processing to generate ceramide. *Archives Of Dermatological Research*. Julho de 2014;306(5):427–40.
11. Bos JD, Meinardi MM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*. Junho de 2000;9(3):165–9.
12. Zhang K, Chen M, Scriba GKE, Abraham MH, Fahr A, Liu X. Human skin permeation of neutral species and ionic species: extended linear free-energy relationship analyses. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*. Junho de 2012;101(6):2034–44.
13. Hadgraft J, Plessis J du, Goosen C. The selection of non-steroidal anti-inflammatory agents for dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 1 de Janeiro de 2000;207:31–7.
14. Levang AK, Zhao K, Singh J. Effect of ethanol/propylene glycol on the in vitro percutaneous absorption of aspirin, biophysical changes and macroscopic barrier

- properties of the skin. *International Journal of Pharmaceutics*. 1 de Janeiro de 1999;181:255–63.
15. Kam PC, See AU. Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. *Anaesthesia*. Maio de 2000;55(5):442–9.
 16. Guimarães S, Silva PS da, Moura D. Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas : manual de farmacologia e farmacoterapia [Internet]. Porto : Porto Editora. 2014.; 2014. Obtido de:
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat00048a&AN=port.UPB.01000176830&site=eds-live&scope=site&authtype=sso>
 17. NSAIDs-List.Com. NSAIDs Families [Internet]. [citado 20 de Agosto de 2015]. Obtido de: <http://www.nsaids-list.com/nsaids-list/nsaids-families/>
 18. Heyneman CA, Lawless-Liday C, Wall GC. Oral versus topical NSAIDs in rheumatic diseases: a comparison. *Drugs*. Setembro de 2000;60(3):555–74.
 19. Infarmed. Prontuário Terapêutico online - 9.1.3. Derivados do ácido propiónico [Internet]. [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:
<https://www.infarmed.pt/prontuario/navegavalores.php?id=211>
 20. Marques L. O Ibuprofeno: Um fármaco com sucesso [Internet]. [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:
http://www.videos.uevora.pt/quimica_para_todos/qpt_ibuprofeno.pdf
 21. Almeida HEPPJ. Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo ibuprofeno [Internet]. [Faculdade de Farmácia]: Universidade do Porto; 2011 [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:
<http://hdl.handle.net/10216/20817>
 22. Liandong Hu, Qiaofeng Hu, Jianxue Yang. Enhancement of transdermal delivery of ibuprofen using microemulsion vehicle. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. Outubro de 2014;17(10):760–6.
 23. Infarmed. Prontuário Terapêutico online - 9.1.10. Anti-inflamatórios não esteróides para uso tópico - Ibuprofeno [Internet]. [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:
<https://www.infarmed.pt/prontuario/navegavalores.php?id=1841&edcipt=1&flag=1>
 24. Infarmed. Farmacopeia Portuguesa 9.0; Monografias; Ibuprofeno. Lisboa; 2008. 33 p.
 25. PubChem - Open Chemistry Database. ibuprofen | C13H18O2 [Internet]. [citado 29 de Agosto de 2015]. Obtido de:
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3672>
 26. Infarmed. Resumo das características do Medicamento - Ozonol 50mg/g gel [Internet]. [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:
http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4393&tipo_doc=rcm
 27. Infarmed. Resumo das Características do Medicamento - Ibuprofeno Farmoz 400 mg comprimido revestido por película [Internet]. [citado 21 de Agosto de 2015]. Obtido de:

http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=573441&tipo_doc=rcm

28. Hegde RR, Verma A, Ghosh A. Microemulsion: New Insights into the Ocular Drug Delivery. *ISRN pharmaceuticals*. 2013;2013.
29. Paul BK, Moulik SP. Microemulsions: An Overview. *Journal of Dispersion Science & Technology*. Junho de 1997;18(4):301.
30. McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*. 2012;8(6):1719–29.
31. Nesamony J, Zachar CL, Jung R, Williams FE, Nauli S. Preparation, characterization, sterility validation, and in vitro cell toxicity studies of microemulsions possessing potential parenteral applications. *Drug development and industrial pharmacy*. 2013;39(2):240–51.
32. Ruckenstein E, Chi JC. Stability of microemulsions. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*. 1975;71:1690–707.
33. Anton N, Vandamme TF. Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. *Pharmaceutical research*. 2011;28(5):978–85.
34. Achouri D, Alhanout K, Piccerelle P, Andrieu V. Recent advances in ocular drug delivery. *Drug Development And Industrial Pharmacy*. Novembro de 2013;39(11):1599–617.
35. Sahoo S, Pani NR, Sahoo SK. Microemulsion based topical hydrogel of sertaconazole: Formulation, characterization and evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1 de Agosto de 2014;120:193–9.
36. Barakat N, Fouad E, Elmedany A. Enhancement of skin permeation and anti-inflammatory effect of indomethacin using microemulsion. *Asian Journal of Pharmaceutics*. Julho de 2011;5(3):141–9.
37. Žabka M, Hukel'ová M, Čuchorová M, Starýchová L. Effect of microemulsion on liberation of indomethacin from hydrophilic and lipophilic gel. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. Janeiro de 2012;59(1):81–8.
38. Liandong Hu, Jianxue Yang, Wei Liu, Li Li. Preparation and evaluation of ibuprofen-loaded microemulsion for improvement of oral bioavailability. *Drug Delivery*. Janeiro de 2011;18(1):90–5.
39. Gohel MC, Nagori SA. Fabrication and evaluation of hydrogel thickened microemulsion of ibuprofen for topical delivery. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2010;44(2):189–96.
40. Chen H, Chang X, Du D, Li J, Xu H, Yang X. Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 6 de Junho de 2006;315(1–2):52–8.
41. Dong X, Ke X, Liao Z. The microstructure characterization of meloxicam microemulsion and its influence on the solubilization capacity. *Drug Development & Industrial Pharmacy*. Agosto de 2011;37(8):894–900.

42. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*. 2000;45(1):89–121.
43. Von Corswant C, Thoren P, Engström S. Triglyceride-based microemulsion for intravenous administration of sparingly soluble substances. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1998;87(2):200–8.
44. GURRAM AK, DESHPANDE PB, KAR SS, NAYAK UY, UDUPA N, REDDY MS. Role of Components in the Formation of Self-microemulsifying Drug Delivery Systems. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 5 de Junho de 2015;77(3):249–57.
45. Ren Q, Deng C, Meng L, Chen Y, Chen L, Sha X, et al. In Vitro, Ex Vivo, and In Vivo Evaluation of the Effect of Saturated Fat Acid Chain Length on the Transdermal Behavior of Ibuprofen-Loaded Microemulsions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Junho de 2014;103(6):1680.
46. Shinoda K, Kunieda H. Conditions to produce so-called microemulsions: Factors to increase the mutual solubility of oil and water by solubilizer. *Journal of Colloid And Interface Science*. 1 de Janeiro de 1973;42:381–7.
47. Thatai P, Tiwary AK, Sapra B. The physicochemistry and percolation behavior of microemulsions as a function of chain length of cosurfactant and surfactant. *Journal of Excipients & Food Chemicals*. Junho de 2015;6(2):47–60.
48. Yuan JS, Yip A, Nguyen N, Chu J, Wen X-Y, Acosta EJ. Effect of surfactant concentration on transdermal lidocaine delivery with linker microemulsions. *International journal of pharmaceutics*. 2010;392(1):274–84.
49. Kourniatis LR, Spinelli LS, Mansur CR, González G. Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizador de alta pressão. *Quim Nova*. 2010;33(2):295–300.
50. Flourey J, Desrumaux A, Lardieres J. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2000;1(2):127–34.
51. Trujillo-Cayado LA, Natera A, García MC, Muñoz J, Alfaro MC. Rheological properties and physical stability of ecological emulsions stabilized by a surfactant derived from cocoa oil and high pressure homogenization. *Grasas y Aceites*. Junho de 2015;66(3):1–8.
52. Kentish S, Wooster TJ, Ashokkumar M, Balachandran S, Mawson R, Simons L. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1 de Janeiro de 2008;9:170–5.
53. Oliveira ÂZM. Desenvolvimento de Formulações Cosméticas com Ácido Hialurônico [Internet]. [Faculdade de Farmácia]: Universidade do Porto; 2009. Obtido de: <http://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/44681>
54. Zaidi K. 429 Light Diffraction Measurement of Particle Size. Em: USP29-NF24 [Internet]. [citado 5 de Agosto de 2015]. p. 2572. Obtido de: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c429.html

55. Malvern Instruments Limited. A basic guide to particle characterization [Internet]. [citado 6 de Agosto de 2015]. Obtido de: <http://www.malvern.com/en/support/resource-center/Whitepapers/WP120620BasicGuidePartChar.aspx>
56. The Lubrizol Corporation. Carbopol® Polymers -LifeSciences [Internet]. [citado 31 de Agosto de 2015]. Obtido de: <https://www.lubrizol.com/LifeScience/Products/Carbopol.html>
57. Infarmed. Farmacopeia Portuguesa 9.0; Monografias; Carbómeros. Lisboa; 2008. 1740 p.
58. Zanini M. Gel de ácido tricloroacético-Uma nova técnica para um antigo ácido. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2007;35(1):14–7.
59. Clariant Ltd. Aristoflex AVC - CLARIANT [Internet]. Clariant Ltd. [citado 31 de Agosto de 2015]. Obtido de: <http://www.clariant.com/en/Solutions/Products/2013/12/09/18/25/Aristoflex-AVC>
60. Abels C, Reich H, Knie U, Werdier D, Lemnitz G. Significant improvement in mild acne following a twice daily application for 6 weeks of an acidic cleansing product (pH 4). *Journal Of Cosmetic Dermatology*. Junho de 2014;13(2):103–8.
61. Mazzarino L, Knorst MT. Desenvolvimento e caracterização farmacotécnica de formas farmacêuticas semi-sólidas contendo Nimesulida. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007;26.
62. Infarmed. Farmacopeia Portuguesa 9.0; Capítulo 2 - Métodos Analíticos; 2.2.10 - Viscosidade - método viscosímetro rotativo. Lisboa; 2008. 33 p.
63. Thermo Scientific. Thermo Scientific [Internet]. [citado 7 de Agosto de 2015]. Obtido de: <http://www.thermoscientific.com/en/product/haake-viscotester-550-rotational-viscometer.html>
64. Stable Micro Systems Ltd. Texture Analysers for Texture Analysis [Internet]. [citado 7 de Agosto de 2015]. Obtido de: <http://www.stablemicrosystems.com/>
65. Krambeck K. Desenvolvimento de preparações cosméticas contendo vitamina C. 2011.
66. Jasco. V-650 Research UV-Visible Spectrophotometer [Internet]. [citado 10 de Agosto de 2015]. Obtido de: http://www.jasco.co.uk/v650_research_uv_visible_spectrophotometer.php
67. Guideline IHT. Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1). 2005;1.
68. Prista LN, Alves AC, Morgado R, Lobo JS. Tecnologia farmacêutica. 4ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 1996.
69. Guideline IHT. Stability testing of new drug substances and products. Q1A (R2), Current Step. 2003;4.
70. Dhawan B, Aggarwal G, Harikumar SL. Enhanced transdermal permeability of piroxicam through novel nanoemulgel formulation. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. Abril de 2014;4(2):65–76.

71. Abdullah GZ, Abdulkarim MF, Mallikarjun C, Mahdi ES, Basri M, Sattar MA, et al. Carbopol 934, 940 and Ultrez 10 as viscosity modifiers of palm olein esters based nano-scaled emulsion containing ibuprofen. *Pak J Pharm Sci.* 2013;26(1):75–83.
72. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Faisal MS, Shafiq S. Stability evaluation of celecoxib nanoemulsion containing Tween 80. *Thai J Pharm Sci.* 2008;32:4–9.
73. Abdullah GZ, Abdulkarim MF, Salman IM, Ameer OZ, Chitneni M, Mahdi ES, et al. Stability studies of nano-scaled emulsions containing ibuprofen for topical delivery. *International Journal of Drug Delivery.* 2011;3(1).