



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA

LARISSA COELHO COSTA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
LIPÍDICAS SÓLIDAS À BASE DE CERA DE CARNAÚBA E ÁCIDO KÓJICO**

FORTALEZA

2016

LARISSA COELHO COSTA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
LIPÍDICAS SÓLIDAS À BASE DE CERA DE CARNAÚBA E ÁCIDO KÓJICO**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Farmacêutica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Tamara Gonçalves Araújo.

Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Teresa Maria de Jesus Ponte Carvalho.

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- C87d Costa, Larissa Coelho.
Desenvolvimento e caracterização de micropartículas lipídicas sólidas à base de cera de carnaúba e ácido kójico / Larissa Coelho Costa. – 2016.
57 f. : il. color.
- Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Departamento de Farmácia, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2016.
Orientação: Profa. Dra. Tamara Gonçalves Araújo.
Coorientação: Profa. Dra. Teresa Maria de Jesus Ponte Carvalho.
1. Arecaceae. 2. Pigmentação da Pele. 3. Hiperpigmentação. I. Título.

CDD 665.12

LARISSA COELHO COSTA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS
LIPÍDICAS SÓLIDAS À BASE DE CERA DE CARNAÚBA E ÁCIDO KÓJICO**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Farmacêutica.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Tamara Gonçalves Araújo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Juvenia Bezerra Fontenele
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Bianca Oliveira Louchard
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao Criador Celestial.

Aos meus pais, José Viana e Maria Antoniêta.

AGRADECIMENTOS

Ao Criador Celestial e aos Seres de Luz que me iluminam e me protegem na perigosa aventura de viver e no constante exercício de evoluir, pois Ele me concedeu esta oportunidade com graça, saúde e força.

Aos meus pais, José Viana e Maria Antoniêta, que são tudo na minha vida, pelo amor, dedicação exaustiva, pelo carinho, por todo investimento na minha formação e o apoio incansável na realização do meu sonho.

À Universidade Federal do Ceará pela oportunidade proporcionada e a todos os funcionários e professores do Curso de Farmácia pelo acolhimento, gentileza e apoio prestados.

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Tamara Gonçalves Araújo pela orientação, atenção, paciência, confiança, apoio e dedicação para a realização do trabalho. Sobretudo pelo conhecimento transmitido com delicadeza e graciosidade. Gratidão pela sua amizade e pelo seu apoio profissional e pessoal.

Um agradecimento muito especial para minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Tereza Maria de Jesus Ponte Carvalho pelo acolhimento, pela orientação, dedicação, confiança, atenção, amizade, gentileza, convivência, pelas conversas no laboratório, pela amabilidade em cada gesto e delicadeza no olhar. Seu apoio foi fundamental para a realização do trabalho. Toda minha Gratidão por tudo!

À Prof^ª. Dr^ª. Juvenia Bezerra Fontenele, por aceitar fazer parte da minha banca examinadora, pelos ensinamentos repassados durante todos os anos de graduação. Agradeço pela amizade, atenção, consideração, gentileza e por todas nossas conversas.

À Bianca Oliveira Louchard por me introduzir na pesquisa acadêmica e na cosmetologia, pela gentileza, amizade, paciência, orientação e pelo apoio. Agradeço por fazer parte da minha banca examinadora e por contribuir para minha formação intelectual.

À Prof^ª. Dr^ª. Janete Eliza Soares Lima pelo acolhimento no laboratório, pelas conversas na varanda e pela sua alegria que capta boas risadas.

À Prof^ª. Dr^ª. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal pela minha iniciação no universo da pesquisa acadêmica e pelo uso do equipamento sem o qual não seria possível a realização do trabalho.

À bibliotecária Nicácia Lina do Carmo pelo apoio, dedicação e ensinamento na formatação do trabalho.

Aos farmacêuticos Emídio Alves dos Santos Filho e Francisca Janete Ribeiro de Lima, e aos funcionários da Farmácia Escola da Universidade Federal do Ceará Adalberto de Souza Domingues, Jurandir Bezerra Rocha e Eltonjon Fonseca de Sousa pela disponibilidade e gentileza dedicada em ajudar no que fosse necessário para o desenvolvimento do trabalho.

Ao Glautemberg de Almeida Viana pela ajuda na captação das imagens microscópicas.

À Michelle Andrade Salles pela dedicação, paciência e amor de uma amizade desde a infância. Gratidão por ser minha irmã de coração.

Aos amigos Antonio Miranda, Natasha Facó e Lucíola Falcon pela amizade, dedicação amorosa e orientação na vida.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização do trabalho.

Gratidão!

“Se você pensa que pode ou sonha que pode,
comece. Ousadia tem genialidade, poder e
mágica. Ouse e o poder lhe será dado.”
(Johann Goethe)

RESUMO

A hiperpigmentação é um problema cutâneo muito comum e confere a pele um aspecto envelhecido e não uniforme. A exposição excessiva à radiação solar sem proteção é uma das causas da hiperpigmentação. No Brasil, o ácido kójico é amplamente aplicado em formulações dermocosméticas como agente despigmentante, e este trabalho tem por objetivo, o desenvolvimento e a caracterização de micropartículas lipídicas sólidas (MLS) para a veiculação diferenciada do ácido kójico, utilizando como matriz lipídica a cera de carnaúba e Tween 80 como tensoativo. As MLS foram produzidas pelo método de homogeneização a quente empregando alta agitação de cisalhamento (Ultra Turrax[®]). Com o propósito de aperfeiçoar a eficiência de encapsulação do ativo hidrofílico através deste método, avaliou-se a alteração da proporção ativo/matriz lipídica, velocidade e tempo de agitação durante o processo de produção. A caracterização das MLS foi realizada através das análises da morfologia por microscopia óptica, do rendimento do processo, da eficiência de encapsulação e pelo perfil de liberação do ativo. As MLS apresentaram formato esférico e heterogeneidade em seus tamanhos. Na análise do rendimento do processo os resultados variaram entre 64 e 87%, onde se observou que existe uma relação inversa entre o rendimento do processo e concentração do ativo. Os resultados da eficiência de encapsulação efetiva encontram-se entre 5 e 15%. Estes resultados podem ser relacionados ao método, ao tipo e concentração do tensoativo utilizado na formulação, ao fato da matriz lipídica ser composta por um único lipídio e à natureza hidrofílica do ativo. O perfil de liberação do ácido kójico expressa uma liberação lenta e progressiva de 41% em 6 horas, resultado que comprova o caráter de liberação modificada.

Palavras-chave: Micropartículas Lipídicas Sólidas. Cera de Carnaúba. Ácido Kójico.

ABSTRACT

Hyperpigmentation is a common skin problem and gives the skin an aged and uneven appearance. Excessive exposure to sunlight without protection is one of the causes of hyperpigmentation. In Brazil, kojic acid is widely applied in dermocosmetic formulations as depigmentation agent, and this work aims at the development and characterization of solid lipid microparticles (SLM) for differentiated serving of kojic acid, using as lipid matrix wax carnauba and Tween 80 as surfactant. The SLM were produced by hot homogenization method using high agitation (Ultra Turrax[®]). For improve the encapsulation efficiency of the hydrophilic active through this method, was evaluated the change in the proportion active/lipid matrix, speed and time of agitation during the production process. The characterization of the SLM was made through the analysis of morphology by microscopy, the yield of the process, the encapsulation efficiency and the release of the active profile. The SLM showed spherical shape and heterogeneity in their sizes. In the process yield analysis results varied between 64 and 87%, where it was observed that there is an inverse relationship between the yield of the process. The results of effective encapsulation efficiency are between 5 and 15%. These results may be related to the method, the type and concentration of surfactant used in the formulation, where the stirring speed is directly proportional to the encapsulation efficiency of the active, the fact that the lipid matrix is composed of a single lipid and the hydrophilic nature of the active. The release profile of kojic acid expresses a slow and gradual release of 41% in 6 hours, a result that the modified release character.

Keywords: Solid Lipid Microparticles. Carnauba wax. Kojic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Camadas da pele e as principais células da epiderme.....	20
Figura 2 – Representação esquemática das vias de transporte de fármacos no estrato córneo.....	21
Figura 3 – Estrutura molecular do ácido kójico.....	26
Figura 4 – Fotomicrografia (A) e representação esquemática da penetração de micropartículas no folículo piloso (B).....	28
Figura 5 – Representação esquemática da estrutura de microesfera (A) e microcápsulas (B).....	30
Figura 6 – Representação esquemática dos sistemas matricial e reservatórios.....	31
Figura 7 – Esquema da produção de micropartículas pelo método de homogeneização a quente.....	33
Figura 8 – Estrutura química básica da cera de carnaúba.....	35
Figura 9 – Tipos de cera de carnaúba comercializados.....	36
Figura 10 – Método de preparação das micropartículas lipídicas sólidas.....	39
Figura 11 – Imagem microscópica de F1.....	45
Figura 12 – Imagem microscópica de F2.....	45
Figura 13 – Imagem microscópica de F3.....	46
Figura 14 – Imagem microscópica de F3A.....	46
Figura 15 – Imagem microscópica de F3B.....	46
Figura 16 – Imagem microscópica de F3C.....	47
Figura 17 – Imagem microscópica de F1A.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva padrão do ácido kójico.....	44
Gráfico 2 – Perfil de liberação do ácido kójico.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Variação da concentração de ativo nas formulações da primeira etapa.....	40
Tabela 2 – Variação da velocidade e tempo nas formulações da segunda etapa.....	41
Tabela 3 – Variação da velocidade de agitação na formulação da terceira etapa.....	41
Tabela 4 – Resultados dos rendimentos das formulações.....	48
Tabela 5 – Resultados do teste de eficiência de encapsulação das formulações.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

AK	Ácido Kójico
CC	Cera de Carnaúba
F	Formulações
HLB	Balanço Hidrofílico Lipofílico
MLS	Micropartículas Lipídicas Sólidas
MP	Micropartículas
NLS	Nanopartículas Lipídicas Sólidas
SLS	Sistemas Lipídicos Sólidos
UV	Ultravioleta
Vis	Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
µm	Micrômetros
g/mol	Gramas por mol
°C	Graus centígrados
µg/mL	Microgramas por mililitros
u	Unidade de massa atômica
cm	Centímetros
nm	Nanômetros
rpm	Rotações por minuto
g	Gramas
mL	Mililitros
min	Minutos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1	A PELE	19
3.1.1	Estrutura e função.....	19
3.1.2	Vias de penetração cutânea de fármacos.....	21
3.1.3	Absorção cutânea.....	22
3.2	PIGMENTAÇÃO DA PELE.....	22
3.2.1	Melanina.....	23
3.2.2	Discromias.....	24
3.3	AGENTES DESPIGMENTANTES.....	25
3.3.1	Ácido kójico.....	25
3.3.2	Métodos de quantificação do ácido kójico.....	27
3.4	SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MICROPARTICULADOS.....	27
3.5	SISTEMAS LIPÍDICOS SÓLIDOS.....	29
3.5.1	Micropartículas lipídicas sólidas.....	29
3.5.2	Métodos de produção de micropartículas.....	32
3.6	CERA DE CARNAÚBA.....	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	MATERIAIS.....	37
4.2	EQUIPAMENTOS.....	37
4.3	MÉTODOS.....	38
4.3.1	Método de quantificação do ácido kójico por Espectrofotometria UV-Vis.....	38
4.3.2	Produção das micropartículas lipídicas sólidas.....	38
4.3.2.1	<i>Produção de micropartículas pelo método de homogeneização a quente.....</i>	38
4.3.2.2	<i>Determinação das variáveis no processo de produção das formulações.....</i>	39
4.3.3	Caracterização das micropartículas lipídicas sólidas.....	41

4.3.3.1	<i>Determinação da morfologia das micropartículas</i>	41
4.3.3.2	<i>Análise do rendimento do processo</i>	42
4.3.3.3	<i>Avaliação da eficiência de encapsulação</i>	42
4.3.3.4	<i>Ensaio de liberação</i>	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	OBTENÇÃO DA CURVA PADRÃO DO ÁCIDO KÓJICO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS.....	44
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	45
5.2.1	Análise morfológica das micropartículas lipídicas sólidas.....	45
5.2.2	Análise do rendimento do processo.....	48
5.2.3	Eficiência de encapsulação do ácido kójico.....	49
5.2.4	Eficiência de liberação do ácido kójico.....	51
6	CONCLUSÕES	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

Com o processo de globalização e o desenvolvimento tecnológico, foram observadas mudanças no comportamento social e no acesso a novos medicamentos em diversas áreas da saúde (GOMARA, 2003).

A indústria e os centros de pesquisa farmacêuticos têm um papel crucial no desenvolvimento de novas tecnologias e trabalham para trazer à sociedade novas possibilidades de tratamentos antes inexistentes. Logo, o desenvolvimento de novas técnicas de veiculação de princípios ativos é de extrema importância, pois demonstra vantagens funcionais no mecanismo de liberação e absorção. A possibilidade de liberação do princípio ativo no local específico e o aprimoramento da eficácia terapêutica de substâncias é alvo de interesse e de investimento da indústria farmacêutica (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

As estratégias tecnológicas buscando uma habilidade efetiva de diversos grupos de princípios ativos, a modificação de suas propriedades e desempenho em meio biológico, têm demonstrado relevância científica. Logo, o desenvolvimento de novos veículos que possibilitem o controle de liberação, o aumento da seletividade e da eficácia, reduzindo a dose total necessária e minimizando os efeitos colaterais são estratégias importantes (OLIVEIRA, 2012).

Os sistemas de liberação microparticulados são sistemas transportadores capazes de compartimentar ou encapsular o ativo, direcionando-o para alvos específicos, onde exercerá seu efeito terapêutico, regulando sua velocidade de liberação sem a alteração química da molécula transportada (SILVA *et al.*, 2010).

A encapsulação simboliza a intenção e o desafio permanente de aperfeiçoar a liberação de uma substância, além de protegê-la de degradação e interações com o meio, sendo alvo de extensos estudos em vários centros de pesquisa nas áreas farmacêutica, química, cosmética e alimentícia. Na área cosmética a encapsulação é aplicada como reservatório de ativos para efeito local e liberação prolongada (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

O desenvolvimento de formulações dermatológicas, utilizando os sistemas de liberação eficientes é de grande interesse para o surgimento de produtos inovadores. As vantagens destes sistemas de liberação com carreadores de princípios ativos são maior estabilidade, decorrente do impedimento de interações entre os componentes da formulação e as substâncias carreadas; além de proporcionar liberação local e prolongada, impedindo possíveis irritações na pele e melhorando a permeação cutânea (LIRA, 2007; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Alterações na coloração da pele, principalmente da face, são decorrentes de diferenças quantitativas no pigmento melanina e são denominadas discromias, que podem surgir devido ao envelhecimento cutâneo e radiação solar, comum nos países equatoriais. A radiação solar leva ao envelhecimento cutâneo em decorrência de processos oxidativos geradores de radicais livres. Como no mundo globalizado a aparência física tem imensa relevância social, os danos da pele por envelhecimento cutâneo e radiação solar podem causar transtornos psicológicos (MIERS, 2015).

O tratamento da discromia e a suavização do envelhecimento cutâneo podem ser realizados por meio de dermocosméticos contendo agentes despigmentantes como o ácido kójico, que é efetivo em inibir a síntese de melanina, além de agir como antioxidante devido sua atividade anti-radicaís livres (CORRER, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007; MIERS, 2015).

Na última década, o interesse por matrizes lipídicas para o desenvolvimento de carreadores de ativos para aplicação tópica aumentou consideravelmente e a cera de carnaúba destaca-se por suas propriedades, conferindo larga aceitação e aplicabilidade nas indústrias farmacêutica e cosmética (ALMEIDA, 2009; CARVALHO, 2005; M. JÚNIOR; MARQUES, 2009).

A cera de carnaúba é um produto natural obtido a partir do pó de cerífero produzido pela *Copernicia prunifera*, uma espécie vegetal frutífera nativa do nordeste brasileiro e o seu extrativismo é uma importante atividade econômica para o Estado do Ceará, sendo um dos seus principais produtos de exportação (CEARÁ, 2015; FERREIRA *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de um estudo de microencapsulação do ácido kójico em sistemas lipídicos sólidos, utilizando a cera de carnaúba como matriz lipídica encapsuladora, é justificado pela viabilidade econômica, pois a referida cera exibe valor para a indústria farmacêutica, além de exercer a apropriação do conhecimento a cerca desta cera no desenvolvimento de uma tecnologia que agrega valor a este recurso natural específico da região nordeste. Isto somado a grande importância do progresso na área cosmética e a necessidade de corresponder à elevada demanda no desenvolvimento de produtos tópicos para tratamento do rejuvenescimento da pele. Diante do exposto, o presente trabalho propõe desenvolver e caracterizar sistemas lipídicos sólidos à base de cera de carnaúba para veiculação do ácido kójico em produtos dermocosméticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar sistemas microestruturados lipídicos sólidos à base de cera de carnaúba para veiculação do ácido kójico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver micropartículas lipídicas sólidas à base de cera de carnaúba e ácido kójico;
- Determinar as variáveis no processo de produção;
- Caracterizar a morfologia das micropartículas lipídicas sólidas;
- Avaliar o rendimento do processo;
- Avaliar a eficiência de encapsulação do ácido kójico;
- Avaliar o perfil de liberação do ácido kójico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A PELE

3.1.1 Estrutura e função

A pele é o maior órgão do corpo humano, corresponde aproximadamente a 15% do peso total corpóreo e delimita o organismo do meio externo envolvente. É constituída por duas camadas: a epiderme e a derme. A epiderme é a camada mais externa da pele, constituída por três tipos básicos de células: os queratinócitos, os melanócitos e as células de Langerhans. A derme está logo abaixo da epiderme, é constituída principalmente por colágeno e células adiposas, sendo permeada por numerosos vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, assim como, pelos acessórios epidérmicos como folículos pilosos e as glândulas sebáceas e sudoríparas (CORRER, 2004; LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2010). A Figura 1 demonstra as camadas da pele e as principais células da epiderme.

A camada córnea é a camada mais externa da epiderme, apresenta espessura variável aproximadamente de 10 a 20 μm , sendo constituída por células achatadas, mortas e sem núcleo, cujo citoplasma é repleto de queratina (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). O estrato córneo é formado por uma estrutura bifásica de lipídio-proteína e essa matriz é constituída principalmente por ceramidas (18%), ácidos graxos livres (19%), esteroides (14%) e triacilgliceróis (25%) (GRATIERI; GELFUSO; LOPEZ, 2008), sendo uma região crucial para a absorção de substâncias. “A permeabilidade seletiva desta estrutura é o fator principal de muitos aspectos biofarmacêuticos de medicamentos tópicos. É nesta camada que algumas substâncias podem ficar depositadas e não atingirem a derme” (ROUGIER *et al.*, 1983 *apud* GOMARA, 2003).

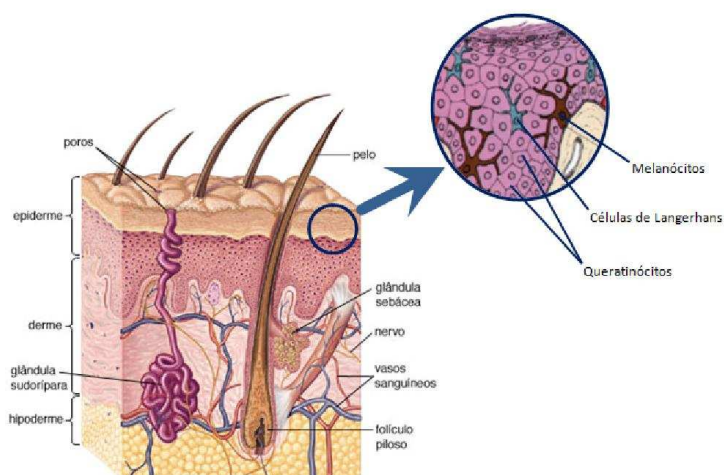
A função principal da pele é a proteção do organismo das adversidades do ambiente e de agentes patógenos, mantendo o equilíbrio com o ambiente externo envolvente (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2010). Segundo Azulay e Azulay (1999 *apud* CORRER, 2004), destacam-se como funções específicas da pele:

- Proteção: imunológica (células de Langerhans), química e contra agressões externas. A pele demonstra relativa resistência a choques mecânicos, absorve parcialmente os raios UV e colabora com o equilíbrio eletrolítico.

- Percepção: terminações nervosas na derme permitem sensações de tato, calor, frio e dor essenciais para a sobrevivência.
- Hemorregulação e termorregulação: devido à intrincada teia vascular a pele contribui para a manutenção do débito sanguíneo periférico. A pele, através de comandos do centro termorregulador do sistema nervoso autônomo, colabora no controle da temperatura corpórea pelos processos de vasoconstrição e vasodilatação.
- Secreção: elementos como a queratina, melanina, suor e sebo.
- Excreção: as glândulas écrinas (ex. glândulas sudoríparas) excretam água e eletrólitos.
- Metabolização: síntese de hormônios como a testosterona. A pele apresenta capacidade de metabolizar testosterona, progesterona, estrógenos e glicocorticoides. Também auxilia na produção e ativação da vitamina D.

Os queratinócitos são as células mais abundantes neste epitélio, cuja função específica é a produção de queratina. Os melanócitos são células produtoras de melanina, esta é responsável pela pigmentação da epiderme. As células de Langerhans apresentam importante função imunológica (CORRER, 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Os folículos pilosos distribuem-se por toda superfície da pele com exceção da sola dos pés, palmas das mãos, parte vermelha dos lábios e certas porções dos órgãos sexuais. Cada unidade de folículo está associada a uma ou mais glândulas sebáceas (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2010).

Figura 1 – Camadas da pele e as principais células da epiderme.



Fonte: Adaptado de Britannica Escola Online (2010).

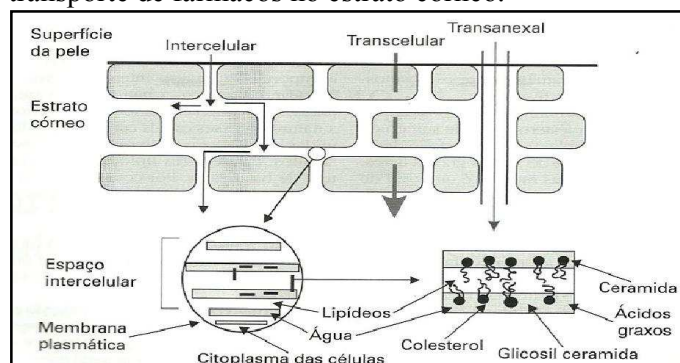
3.1.2 Vias de penetração cutânea de fármacos

A importância de cada via de penetração cutânea depende das propriedades físico-químicas do fármaco e das características da membrana. A pele pode ser penetrada por fármacos através de três vias descritas a seguir (GOMARA, 2003; GRATIERI; GELFUSO; LOPEZ, 2008; STORPIRTIS *et al.*, 2011):

- Via transepidérmica transcelular: o fármaco passa diretamente através das células epidérmicas e da matriz lipídica intercelular intermediária.
- Via transepidérmica intercelular: ocorre a difusão do fármaco ao redor das células epidérmicas, permanecendo constantemente dentro na matriz lipídica.
- Via transanexal: rota paralela na qual os fármacos podem ser absorvidos pelo folículo piloso, glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e poros.

A administração transdérmica de fármacos possibilita vantagens como evitar o metabolismo de primeira passagem hepática, inerente ao processo de administração por via oral de fármacos, o que pode diminuir a biodisponibilidade (SILVA *et al.*, 2010). Segundo Leal *et al.* (2008 *apud* SILVA *et al.*, 2010), a isotretinoína, um retinóide usado no tratamento da acne nodulocística, acarreta acentuadas reações adversas decorrentes da administração oral como teratogenicidade, irritação cutânea, depressão nervosa e complicações pulmonares. Estas reações adversas são minimizadas pela administração cutânea do fármaco. A Figura 2 representa esquematicamente as vias de transporte de fármacos no estrato córneo.

Figura 2 – Representação esquemática das vias de transporte de fármacos no estrato córneo.



Fonte: Storpirtis *et al.* (2011).

3.1.3 Absorção cutânea

A absorção cutânea depende de diversos fatores como: fatores específicos da epiderme, características intrínsecas do fármaco, aspectos da formulação e liberação de princípio ativo pelo veículo. Os fatores específicos da epiderme são espessura, temperatura, grau de hidratação, limpeza da pele, fluxo sanguíneo, concentração de lipídios, número de folículos pilosos, função das glândulas sudoríparas, raça, pH na superfície da pele e integridade do estrato córneo (WOKOVICH *et al.*, 2006 *apud* SILVA *et al.*, 2010). As características intrínsecas ao fármaco também são importantes e interferem diretamente na penetração cutânea, onde moléculas de tamanho pequeno demonstram maior poder de penetração quando a massa molar é menor que 400 g/mol (SILVA *et al.*, 2010). Os aspectos da formulação também devem ser considerados, como o tipo de forma farmacêutica, pois esta influencia a quantidade da substância que penetra na pele (SILVA *et al.*, 2010). A absorção do princípio ativo através da pele depende da liberação da substância pelo veículo visto que as interações estabelecidas pelos mesmos podem modificar o coeficiente de partição da substância entre o veículo e a pele, alterando a integridade do estrato córneo, facilitando a permeação da substância através do tecido e influenciando na atividade final do dermocosméticos (GOMARA, 2003).

A absorção cutânea do fármaco liberado pelo veículo depende do coeficiente de afinidade do fármaco entre o veículo e o estrato córneo. A promoção da penetração cutânea depende da eficiência do veículo em alterar a atividade da água no estrato córneo, alterando seu coeficiente de hidratação. (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2010). O coeficiente de partição e a solubilidade em água do princípio ativo influenciam diretamente na permeação cutânea, pois é necessária uma solubilidade apropriada no meio hidrofílico e lipofílico (SILVA *et al.*, 2010). Moléculas ligeiramente lipofílicas exibem melhor penetração transdérmica, pois se partilham através das camadas da epiderme (GRATIERI; GELFUSO; LOPEZ, 2008).

No desenvolvimento de produtos dermatológicos com ação despigmentante é necessária a compreensão do processo de pigmentação da pele.

3.2 PIGMENTAÇÃO DA PELE

A pigmentação da pele é responsável pela cor específica de cada pele, sendo resultante de um conjunto complexo de fatores, como à origem racial, região climática, sexo e

idade (NICOLETTI *et al.*, 2002). “É regulada por fatores genéticos, ambientais e endócrinos que modulam a quantidade, o tipo e a distribuição de melaninas na pele, pêlos e olhos” (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). A percepção da cor da pele é influenciada pela espessura da pele, quantidade e dilatação dos vasos sanguíneos superficiais e pigmentos carotenóides. Entretanto, a quantidade de melanina produzida pelos melanócitos determina a cor da pele (NICOLETTI *et al.*, 2002).

3.2.1 Melanina

“A melanina é um pigmento de cor marrom-escura produzida pelos melanócitos” (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Pode-se considerá-la um termo genérico para descrever um grupo de biopolímeros heterogêneos, pigmentados, polifenólicos de alto peso molecular (GOMARA, 2003). As melaninas são encontradas na pele, no bulbo folicular e nos olhos, onde são responsáveis pela pigmentação da pele, do cabelo e dos olhos (NICOLETTI *et al.*, 2002). Os melanócitos localizam-se na junção da derme com a epiderme, e através de prolongamentos do seu citoplasma transfere os grânulos de melanina para os queratinócitos, que funcionam como depósitos de melanina (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Nas células humanas ocorrem dois tipos de melaninas, a eumelanina e a feomelanina com propriedades físicas e biológicas distintas (NICOLETTI *et al.*, 2002; YOON *et al.*, 2003 *apud* CORRER, 2004). A eumelanina é um pigmento insolúvel de coloração variável entre marrom e preto, apresenta uma pequena quantidade de enxofre. A feomelanina apresenta coloração variando entre amarelo e marrom avermelhado, e é facilmente degradada pela radiação UV e menos fotoestável que a eumelanina (GOMARA, 2003).

O papel fisiológico da melanina basicamente consiste em promover a cor da pele e a fotoproteção, esta última devido à capacidade de difratar ou refletir a radiação UV, visto que sua síntese é estimulada principalmente pela radiação UV (NICOLETTI *et al.*, 2002). Demonstra capacidade de absorver a luz visível e ultravioleta fotoprotendo a pele (PAWELEK *et al.*, 1992 *apud* GOMARA, 2003). Nas células epiteliais, os grânulos de melanina encontram-se localizados em posição supranuclear, oferecendo proteção máxima ao DNA contra os efeitos prejudiciais da radiação ultravioleta solar (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O processo de biosíntese da melanina é denominado melanogênese, ocorre nos melanócitos em organelas denominadas melanossomos a partir do precursor comum tirosina e é regulado pela enzima tirosinase e por uma família de enzimas (TRP-1 e TRP-2)

relacionadas à tirosinase. Além das enzimas, fatores não enzimáticos interferem na síntese deste pigmento, tais como pH, concentrações de íons e íons metálicos ou oligoelementos como o cálcio, por exemplo. O aminoácido tirosina, sob ação da enzima tirosinase que é ativada no complexo de Golgi pela presença do cobre (co-fator enzimático), é transformado em dopa (3,4-diidroxifenilalanina) por hidroxilação, que é oxidada à dopa-quinona e após várias etapas de transformações converte-se em melanina (CORRER, 2004; GOMARA, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; NICOLETTI *et al.*, 2002).

Diversos fatores influenciam o processo de melanogênese como fatores endógenos (citocinas, fatores de crescimento e mediadores inflamatórios), fator genético, fator hormonal e ação dos raios UV. Disfunções patológicas envolvendo alterações nos fatores responsáveis pela pigmentação ou falha na cascata melanogênica podem prejudicar a uniformidade da cor da pele. Estas disfunções são denominadas discromias (CORRER, 2004; NICOLETTI *et al.*, 2002).

3.2.2 Discromias

Discromias são alterações patológicas na coloração da pele caracterizadas por máculas mais escuras (hipercromias) ou mais claras (hipocromias). Tais alterações resultam de processos no aumento (melanodermias) ou diminuição (leucodermias) da quantidade de melanina. Podem ser decorrentes de alterações na densidade ou distribuição de melanócitos e na biosíntese da melanina (CORRER, 2004). Segundo Azulay e Azulay (1999 *apud* CORRER, 2004), as discromias podem ser classificadas em:

- Hipocromias ou acromias: diminuição ou ausência de melanina.
- Hipercromias: produzidas por excesso de melanina.
- Leucomelanodermias: produzida pela mistura da hipocromia e hipercromia.
- Discromias por outros pigmentos: produzida pelo acúmulo de pigmentos que não sejam a melanina.

A hipercromia corresponde a hiperpigmentação da pele, desenvolve-se por origens hereditárias ou adquiridas. As hipercromias hereditárias são síndromes autossômicas dominantes e as hipercromias adquiridas podem ser decorrentes de fatores como

envelhecimento, gravidez, distúrbios endócrinos, tratamento com hormônios sexuais e exposição ao sol em diferentes graus (CORRER, 2004; NICOLETTI *et al.*, 2002).

A uniformidade da cor da pele demonstra uma relevância estética. A busca por uma pele com aparência saudável e sem manchas é aspiração de muitas pessoas. O tratamento da hiperpigmentação é realizado com substâncias capazes de alterar a pigmentação da pele. Estas substâncias são chamadas agentes despigmentantes ou hipopigmentantes (CORRER, 2004).

3.3 AGENTES DESPIGMENTANTES

Despigmentantes são produtos destinados a clarear pontos ou regiões específicas do corpo, com a finalidade de prevenção ou tratamento de hiperpigmentações. Formulações despigmentantes podem conter um fármaco ou associação e encontram-se disponíveis para comercialização em várias formas de apresentação como cremes, loções, pomadas, entre outras (CORRER, 2003; GOMARA, 2003; NICOLETTI *et al.*, 2002).

A ação de um agente despigmentante depende de seu mecanismo de ação. Os possíveis mecanismos de ação dos despigmentantes são: destruição ou descaracterização dos melanócitos, interferência da biosíntese da melanina e seus precursores, inativação ou impedimento da síntese da enzima tirosinase, interferência no transporte dos grânulos de melanina, e alteração da melanina marrom presente nos melanossomas (forma oxidada) para uma coloração mais clara (forma reduzida) (NICOLETTI *et al.*, 2002).

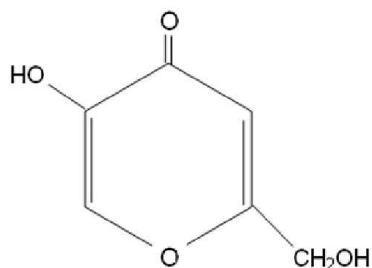
Existem vários agentes disponíveis com ação despigmentante como hidroquinona, tretinoína (ácido retinoico), ácido azelaico, ácido glicólico, ácido ascórbico e o ácido kójico (CORRER, 2004; NICOLETTI *et al.*, 2002). Considerando o objeto de estudo do presente trabalho, o ácido kójico será o agente despigmentante descrito em maior profundidade.

3.3.1 Ácido kójico

O ácido kójico (2-hydroxymethyl-5-hydroxy-g-pyrone) é uma substância natural, proveniente de processos fermentativos, como produto do metabolismo secundário de microorganismos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Acetobacter* (CALAÇA; STETS; NAGATA, 2011; MIERS, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2007). Apresenta ponto de fusão entre 151°C e 154°C, fórmula molecular $C_6H_6O_4$ e peso molecular 142,11 u. É encontrado na forma de cristais quase brancos a amarelo pálido, solúvel em água, etanol, acetona e acetato de etila

e parcialmente solúvel em éter, álcool etílico, clorofórmio e piridina (CORRER, 2004; MIERS, 2015). A Figura 3 exibe a estrutura molecular do ácido kójico.

Figura 3 – Estrutura molecular do ácido kójico.



Fonte: Oliveira *et al.* (2007).

O ácido kójico (AK) foi descrito pela primeira vez no Japão, em 1907, quando Saito isolou um novo ácido orgânico proveniente de uma cultura de *Aspergillus oryzae*. Em 1912, Yabuta nomeou o composto de “koji” e observou sua leve característica antisséptica em fungos e leveduras, além de poder bacteriostático em concentração de 0,5% (CORRER, 2004; MIERS, 2015). Exibe aplicação em diversas funções nas áreas da medicina (antibacteriano, antifúngico e analgésico), alimentos (intensificação de sabor e antioxidante), dermocosméticos (agente clareador, inibidor de tirosinase, anti-radicaís livres e filtro ultravioleta) e química (reagente para determinação do ferro) (MOHAMED, *et al.*, 2010 *apud* MIERS, 2015).

O AK é amplamente utilizado em formulações dermocosméticas como agente despigmentante pela inibição da melanogênese, através da quelação de íons cobre (Cu^{2+}) necessários à atividade da tirosinase, e ação protetora contra raios UV (CORRER, 2004; MIERS, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2007). A presença deste agente despigmentante nestas formulações acrescenta vantagens como possibilitar associação com outros agentes despigmentantes, não causar irritação e fotosensibilização (possibilitando seu uso durante o dia), além de proporcionar o aumento da vida útil destes produtos por não sofrer oxidação e retardar sua degradação química e microbiana (CORRER, 2004; MIERS, 2015). No Brasil, seu uso predomina em formulações magistrais como cremes e emulsões fluidas não-iônicas, géis, géis-cremes e loções aquosas nas concentrações de 1 a 3% (CORRER, 2004; MIERS, 2015).

Diante da relevante aplicação dermocosmética do ácido AK, é fundamental sua quantificação através de um método confiável.

3.3.2 Métodos de quantificação do ácido kójico

O AK é uma substância utilizada em formulações magistrais e observa-se a ausência de monografias oficiais, como as Farmacopéias Britânica, Japonesa, Internacional e Brasileira, assim como um método validado de quantificação do AK (CORRER, 2004).

Na literatura são descritos alguns métodos para a análise quantitativa de AK como os eletroquímicos, cromatográficos, enzimáticos, imuno-enzimáticos e espectrofotométricos (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Os métodos de quantificação de AK por Espectrofotometria Ultravioleta Visível (UV-Vis) foram descritos por diversos autores (CALAÇA; STETS; NAGATA, 2011; CORRER, 2004; GOMARA, 2003; GONÇALEZ, 2012; MIERS, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2007; PIAVAVINI, 2010). A Espectrofotometria UV-Vis é uma ferramenta analítica de baixo custo, alta sensibilidade e simplicidade operacional. Tais características direcionaram a escolha desta técnica para o método analítico da quantificação do ácido kójico no presente trabalho.

3.4 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO MICROPARTICULADOS

A tecnologia de liberação de fármacos, atualmente, representa uma das fronteiras da ciência e envolve um vasto campo de estudos multidisciplinares. As estratégias no desenvolvimento de sistemas de liberação contribuem para o aperfeiçoamento de formulações tópicas, podendo melhorar o índice terapêutico de fármacos, aumentando sua eficiência e reduzindo sua toxicidade. Estas estratégias abrangem algumas aplicações de colóides sob formas variadas: emulsões múltiplas e inversas, micro e nanogéis, micelas, lipossomas, micro e nanopartículas biodegradáveis e micro e nanocápsulas (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

Determinados ativos para aplicação tópica, veiculados em cosméticos, podem causar irritação local. Sistemas de liberação sustentados proporcionam melhor segurança e eficácia na aplicação de fármacos, diminuindo efeitos colaterais e permitindo efeito terapêutico em doses menores. Pode-se citar a encapsulação do ácido retinóico em micropartículas de alginato/quitosana para veiculação cutânea, onde se observou um aumento na estabilidade da molécula, e através da liberação sustentada, o resultado foi o aprimoramento da sua ação antioxidante e redução da irritação cutânea causada por ele (LIRA, 2007).

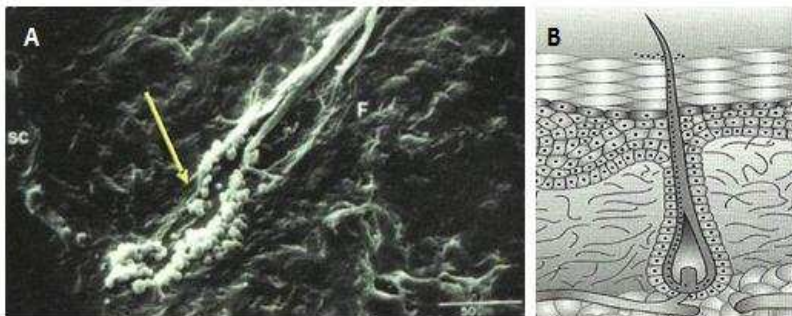
A escolha de um sistema adequado para incorporação de princípios ativos é fundamental para a estabilidade da forma farmacêutica, disponibilidade da substância para

absorção cutânea e obtenção dos efeitos desejados, além de proporcionar a velocidade de liberação controlada sem alterar as características da molécula transportada (SILVA *et al.*, 2010).

As micropartículas (MP) poliméricas, cujo revestimento é um polímero, são sistemas modernos e relevantes na veiculação de fármacos para uma liberação sustentada e seletiva, exibindo uma capacidade de modular a liberação de princípios ativos (STORPIRTIS *et al.*, 2011). Logo, os sistemas viabilizadores de liberação sustentada promovem um adequado perfil de permeação cutânea, resultando em um sistema promissor para liberação tópica, com maior estabilidade físico-química e menor limitação tecnológica, além de minimizar a irritação produzida por princípios ativos e propiciar a associação entre substâncias incompatíveis na formulação (LIRA, 2007).

A microencapsulação pode ser aplicada na administração tópica de fármacos como uma estratégia interessante para melhorar a penetração transdérmica. Conforme representado na Figura 4, as MP podem penetrar via transanexal pelo folículo piloso, possibilitando altas concentrações do fármaco dentro deste. MP de tamanho maior que 10 μm não penetram nem no orifício folicular nem na camada córnea, mas podem se concentrar ao redor da abertura dos folículos liberando o conteúdo do seu interior (STORPIRTIS *et al.*, 2011). O crescente interesse na microencapsulação de ativos salienta sua importância, sendo justificada no seu potencial como um carreador capaz de modular a liberação, proteger o ativo de degradação, além de promover estabilidade física e excelente tolerabilidade (GOMES, 2011).

Figura 4 – Fotomicrografia (A) e representação esquemática da penetração de micropartículas no folículo piloso (B).



Fonte: Adaptado de Storpirtis *et al.* (2011).

SC – Estrato córneo na figura A. F – Folículo piloso na figura A.

3.5 SISTEMAS LIPÍDICOS SÓLIDOS

Os Sistemas Lipídicos Sólidos (SLS) são sistemas de liberação de princípios ativos, onde estes são veiculados em estruturas lipídicas compartimentadas que podem variar de tamanho na escala de nanômetros (Nanopartículas Lipídicas Sólidas – NLS) a micrômetros (Micropartículas Lipídicas Sólidas – MLS) (SILVA *et al.*, 2010). SLS são sistemas carreadores desenvolvidos para encapsular, proteger e liberar componentes funcionais como bioativos e drogas (GOMES, 2011).

Nos SLS a substância transportada é separada do meio de dissolução através de um revestimento, membrana ou interface que transpõe barreiras para posterior liberação (SILVA *et al.*, 2010), onde o material encapsulado é intitulado recheio ou núcleo e o material que forma a cápsula é intitulado matriz, cobertura ou parede (ROSSAN, 2011).

A escolha do revestimento deve ser cuidadosamente considerada, pois irá conferir as propriedades físicas e químicas dos SLS. O revestimento deve ser quimicamente compatível e não reativo com a substância carregada e, principalmente, fornecer as características necessárias para acarretar um revestimento com resistência, flexibilidade, impermeabilidade e estabilidade (LIRA, 2007).

3.5.1 Micropartículas lipídicas sólidas

Micropartículas Lipídicas Sólidas (MLS) representam o conceito mais moderno de carreadores lipídicos com tamanhos entre 1 e 1.000 μm (LACERDA, 2009). São derivadas de emulsões óleo em água alterando-se o lipídio líquido por um lipídio ou mistura de lipídios sólidos a temperatura ambiente e corporal, estabilizadas por tensoativos (MARCATO, 2009; ROSSAN, 2011), que podem ser liofilizadas, esterilizadas por radiação e, posteriormente redispersas sem alterações de tamanho e conteúdo de ativo (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

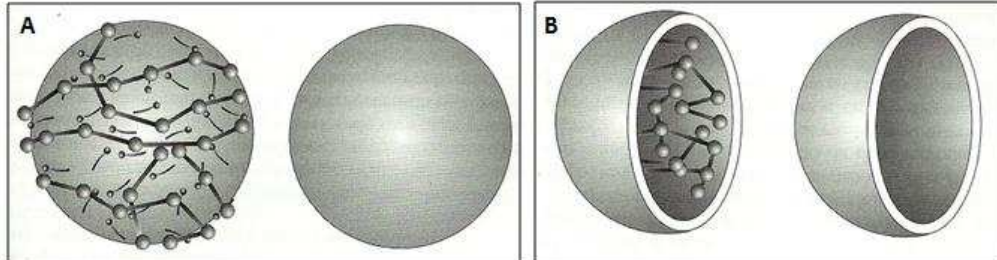
As MLS apresentam as seguintes vantagens: otimização da vida útil de um composto volátil, pois a membrana encapsuladora impede sua evaporação; proteção do ativo encapsulado dos efeitos da radiação UV, umidade ou contato com o oxigênio; evita a reação química entre espécies ativas pela separação física; aumento ou diminuição da densidade de um produto por inclusão de ar na cápsula, ou seja, um sólido denso pode ser convertido em um produto capaz de flutuar na água, pois pós muito finos microencapsulados apresentam redução da tendência de aglomeração; além da modificação de cor, forma ou volume do ativo

encapsulado (STORPIRTIS *et al.*, 2011). A desvantagem desta estrutura é a sua baixa capacidade de encapsulamento que varia de 25-50% dependendo do método utilizado e do estado polimórfico da matriz lipídica (MARCATO, 2009).

As MLS possibilitam carrear ativos para administração oral, nasal, pulmonar, tópica, intramuscular e subcutânea. Entretanto, devido ao seu tamanho não devem ser administradas por via intravenosa, pois podem obstruir pequenos capilares (STORPIRTIS *et al.*, 2011). O ativo carregado pode encontrar-se no estado sólido, líquido ou gasoso, além de poder ser uma substância química ou um material biológico como bactérias (ALMEIDA, 2009).

Segundo uma denominação genérica de sua estrutura externa, as MP podem ser denominadas microcápsulas ou microesferas. As microcápsulas são sistemas reservatórios com o ativo localizado no núcleo envolvido por uma parede externa formando a cápsula. As microesferas são sistemas matriciais onde o fármaco encontra-se homogeneamente disperso na matriz (STORPIRTIS *et al.*, 2011). A Figura 5 demonstra esquematicamente as estruturas das microcápsula e microesfera.

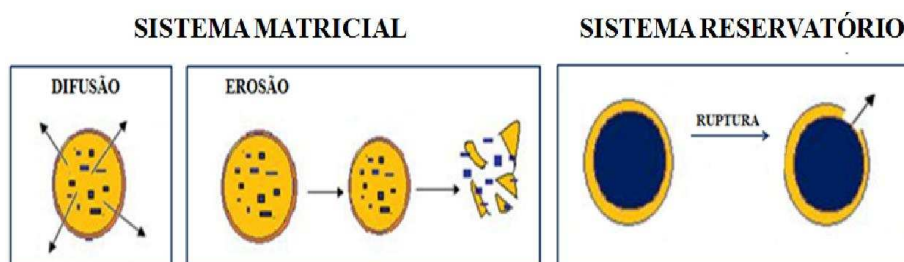
Figura 5 – Representação esquemática da estrutura de microesfera (A) e microcápsula (B).



Fonte: Adaptado de STORPIRTIS *et al.* (2011).

De acordo com a estrutura interna, estes sistemas podem ser do tipo matricial (liberação contínua) e reservatório (liberação imediata) (LACERDA, 2009). No sistema matricial a substância carregada encontra-se dispersa em uma matriz homogênea de geometria irregular e às vezes porosa, podendo também localizar-se na superfície externa da matriz. No sistema reservatório a substância carregada encontra-se no núcleo envolvido por uma capa ou filme permeável ou semipermeável (ALMEIDA, 2009). A Figura 6 exibe uma representação esquemática destes sistemas.

Figura 6 – Representação esquemática dos sistemas matricial e reservatório.



Fonte: Adaptado de Lacerda (2009).

Os sistemas matriciais são descritos de acordo com seu caráter químico e mecanismo de liberação. As matrizes de revestimentos podem ser de natureza hidrofílica ou lipofílica. As matrizes lipofílicas englobam as matrizes inertes e lipídicas. As matrizes inertes são constituídas por polímeros insolúveis (ex. polietileno). As matrizes lipídicas são constituídas por um lipídio sólido onde o fármaco encontra-se uniformemente disperso (ALMEIDA, 2009).

Os lipídios utilizados podem ser triglicerídeos, glicerídeos e ceras (MARCATO, 2009). As ceras e outros materiais lipídicos relacionados formam matrizes onde o ativo é disperso e encapsulado na forma de partículas que controlam sua liberação por difusão através de poros ou erosão. As ceras são materiais interessantes para a produção de MLS, pois exibem as vantagens de serem matérias-primas bem conhecidas e por dispensar o uso de solventes orgânicos. Entretanto, exprimem a desvantagem da necessidade do uso de elevadas temperaturas, impedindo a utilização de substâncias termolábeis (ALMEIDA, 2009). Podendo ser de origem natural obtida a partir de insetos, animais, vegetais e minerais, com diferentes graus de purificação ou ultra-refinação. Entre as ceras naturais encontramos a cera de abelha, cera de carnaúba e cera de cupuaçu, dentre outras. As sintéticas podem ser o polietilenoglicol e a polivinilpirrolidona. (NOSARI, 2012; ROSSAN, 2011).

Balogh *et al.* (2011) desenvolveu um estudo de encapsulamento de fotoprotetores inorgânicos com cera de carnaúba. Os cinamatos presentes na cera de carnaúba em conjunto com dióxido de titânio geram uma dispersão estável com viscosidade satisfatória e com significativo aumento tanto do valor de fator de proteção solar UVB e UVA.

A natureza lipídica da matriz mostra dificuldades de estabilidade devido a etapas de cristalização e complicações decorrentes do polimorfismo. O polimorfismo cristalino compromete a estabilidade coloidal destes sistemas, sua capacidade de encapsulação e pode conduzir a redução do ponto de fusão da matriz lipídica (LACERDA, 2009; ROSSAN, 2011). As principais formas polimórficas dos materiais lipídicos são as formas α , β' e β . Um lipídio

fundido, após um resfriamento rápido, se recristaliza na forma instável α . Esta estrutura pouco organizada evolui com o tempo (durante um determinado período de estocagem) para uma forma cristalina de melhor organização, a forma β' , que posteriormente evolui para uma forma cristalina estável, a forma β . As formas polimórficas instáveis desenvolvem uma transição gradual para modificações estáveis (LACERDA, 2009; ROSSAN, 2011). Na transição polimórfica da forma α para a forma β o retículo cristalino torna-se mais perfeito, promovendo a expulsão do ativo das partículas. Quando as partículas são aplicadas na pele, a temperatura e a perda de água da dispersão iniciam a transformação da forma α para a forma β liberando o ativo das partículas (MARCATO, 2009). A cristalização conduz a formação de um cristal perfeitamente ordenado apresentando mínimos defeitos quando a matriz lipídica é composta por um único tipo de lipídio. Desta maneira a matriz lipídica dificilmente poderá incorporar eficientemente quantidades significativas de ativo (LACERDA, 2009).

A escolha da cera de carnaúba como matriz lipídica na produção das MLS desenvolvidas no presente trabalho deve-se às vantagens que as ceras oferecem nos processos de microencapsulação de ativos.

3.5.2 Métodos de produção de micropartículas

Existem diversos métodos para a produção de MLS. A escolha do método depende da solubilidade do fármaco e do material de revestimento, do tamanho da partícula almejado, da espessura e da permeabilidade ideal do revestimento, assim como, da velocidade de liberação do recheio (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

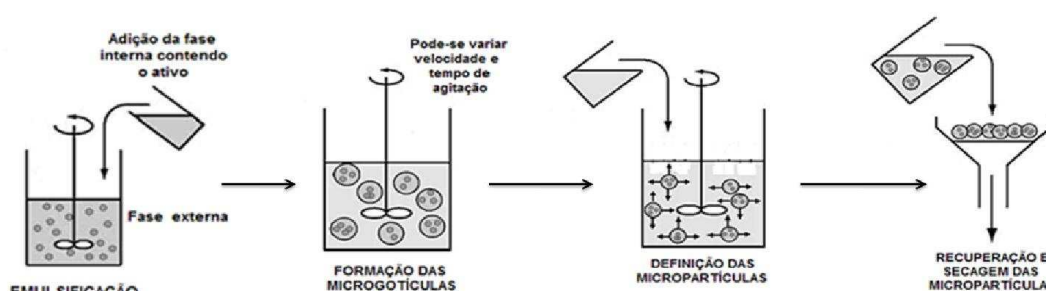
Nas metodologias existentes para a produção de MLS devem-se considerar as propriedades físico-químicas do ativo, com o objetivo de conservar sua finalidade terapêutica (ALMEIDA, 2009). Logo, o método, as condições do preparo, a natureza química do ativo e do lipídio, além da afinidade e solubilidade do ativo no lipídio, definirá a forma que o ativo será incorporado e a forma que será liberado (MARCATO, 2009).

Os métodos de produção de MLS podem ser classificados em químicos e físicos. Os métodos químicos compreendem as técnicas de coacervação, incompatibilidade polímero-polímero, polimerização interfacial em interfaces líquido-líquido, polimerização *in situ*, evaporação do solvente e extrusão. Os métodos físicos abrangem as técnicas de leito fluidizado, polimerização interfacial em interfaces sólido-gás ou líquido-gás, extrusão com centrifugação, extrusão ou gotejamento em um banho de dessolvatação e separação por suspensão rotacional (STORPIRTIS *et al.*, 2011). Incluem-se também as técnicas de

homogeneização a alta pressão, *spray drying*, *spray cooling* e fluidos supercríticos (LIRA, 2007).

Outro método utilizado para obtenção de MLS é a homogeneização a quente, representado na Figura 7, onde o ativo é dissolvido no lipídio fundido, sendo adicionada a uma solução aquosa com o tensoativo na mesma temperatura, sob alta agitação, formando uma pré-emulsão (óleo em água). A mistura é resfriada até a temperatura ambiente resultando em estruturas microparticuladas através da recuperação por filtração e secagem (ALMEIDA, 2009; GOMES, 2011; LACERDA, 2009; MARCATO, 2009).

Figura 7 – Esquema da produção de micropartículas pelo método de homogeneização a quente.



Fonte: Adaptado de Almeida (2009).

3.6 CERA DE CARNAÚBA

O nome carnaúba é um termo derivado do Tupi e significa árvore que arranha devido à camada espinhosa que recobre a parte mais baixa do tronco. A carnaúba é conhecida como “árvore da vida” em virtude dos benefícios proporcionados (BRASIL, 2006):

- Fonte de alimento, através do fruto comestível (do qual se pode extrair o óleo), do palmito e de suas raízes (que apresenta uso medicinal).
- Fonte de madeira, através de seus troncos, para construção de casas, pontes, postes de iluminação, cata-ventos, dentre outras.
- Fonte de fibras para fabricação de cobertas, cordas, redes, chapéus, cestos e artesanatos.

A cultura da carnaúba pode ser um exemplo de recurso natural com exploração sustentável, o manejo correto não agride o meio ambiente em nenhuma das etapas do seu processo. O corte das palhas é uma poda que não prejudica a planta e retarda seu

envelhecimento. A secagem das palhas é realizada pela radiação solar. Na extração do pó cerífero o rejeito das palhas é empregado como adubo orgânico. A produção da cera bruta aplica a água como solvente. Nas indústrias, os rejeitos da filtração são reciclados produzindo cera e adubo orgânico (bagana). No clareamento, a reação do peróxido de hidrogênio libera no ambiente água sob forma de vapor e oxigênio (BRASIL, 2006).

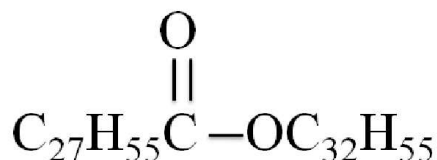
A carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore) é uma espécie de palmeira frutífera nativa da região semi-árida do Nordeste brasileiro, encontrada nas matas ciliares nordestinas (FERREIRA; NUNES; GOMES, 2013). Existem 13 espécies do gênero *Copernicia*, todas na América Latina. Entretanto, somente a variedade encontrada no Brasil produz o pó cerífero (BRASIL, 2008). Este é resultante da síntese da clorofila e disposto na superfície das folhas como uma camada protetora para evitar a perda excessiva de água por evapotranspiração no período seco e de elevadas temperaturas. O processamento do pó cerífero produz a cera, o principal produto de valor econômico da carnaúba (FERREIRA; NUNES; GOMES, 2013). A cera extraída das palhas do olho e das palhas verdes da árvore exibe características físico-químicas diferentes. Isto porque a clorofila e a xantofila se encontram dissolvidas na cera. Nas palhas do olho a quantidade de clorofila é menor, por isso a cor do pó cerífero é branca e produz uma cera amarelo-clara. Nas palhas verdes a quantidade maior de clorofila atribui uma coloração verde acinzentada ao pó cerífero e produz uma cera mais escura (BRASIL, 2008). O agronegócio da carnaúba é fonte de geração de emprego, renda e divisa com elevado fator social em razão do grande volume de mão de obra empregada na estação seca, com fixação do homem no campo (BRASIL, 2006).

A Cera da Carnaúba (CC) é uma das principais atividades extrativistas do Estado do Ceará, está entre os dez produtos mais exportados. Aproximadamente 90% da produção destina-se para o mercado internacional principalmente para Europa, Estados Unidos e Japão (CEARÁ, 2015). Diante da sua importância comercial a Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Carnaúba foi constituída no dia 13 de agosto de 2008, vinculada a Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará – ADECE, cuja finalidade é apoiar e acompanhar projetos e ações do setor, visando ao desenvolvimento sustentável do agronegócio da carnaúba no Estado do Ceará (CEARÁ, 2015). Embora seja de domínio público as inúmeras aplicações da CC, a indústria brasileira não detém domínio da tecnologia de transformação. Estima-se que quase 95% da CC seja exportada em forma bruta como *commodity*. Verifica-se domínio tecnológico brasileiro apenas sobre os produtos de limpeza e polimento de assoalhos e automóveis (M. JÚNIOR; MARQUES, 2009).

A aplicação industrial da CC deve-se às suas características: brilho (ótimo desempenho para polimento), dureza e alto ponto de fusão (larga aplicação em revestimentos isolantes e componentes eletrônicos), além de baixa toxicidade (tolerância para consumo humano) (BRASIL, 2008). A referida cera não é perecível mantendo sua qualidade ao longo do tempo. Fato que confere um acentuado benefício na sua comercialização, armazenamento e utilização como matéria-prima na produção industrial (BRASIL, 2006).

Quimicamente, uma cera é constituída por uma mistura complexa de ésteres, hidrocarbonetos de cadeia linear e ramificados, alcoóis saturados e insaturados, esteróis, ácidos graxos saturados e insaturados, ácidos dibásicos, mono e di-hidroxi-ácidos, lactonas poliésteres e hidroxi-ésteres de cadeia longa. Diferem das gorduras pela ausência de triglicérides. Os ésteres e hidroxi-ésteres são os principais componentes das ceras naturais. Os ésteres são ácidos graxos de cadeia longa ligados com alcoóis graxos de cadeia longa (ROSSAN, 2011). A CC é um produto natural de uma complexa mistura de alto peso molecular, o seu teor de ésteres pode chegar a 85%. Os principais ésteres são: miricil cerotato (75%), ceril cerotato, ceril octacosanato e ceril ω -hidroxiuncosatano (ROSSAN, 2011). M. Júnior e Marques (2009) destacam ainda a presença do éster triacontanol. A Figura 8 representa a estrutura química básica da CC.

Figura 8 - Estrutura química básica da cera de carnaúba.



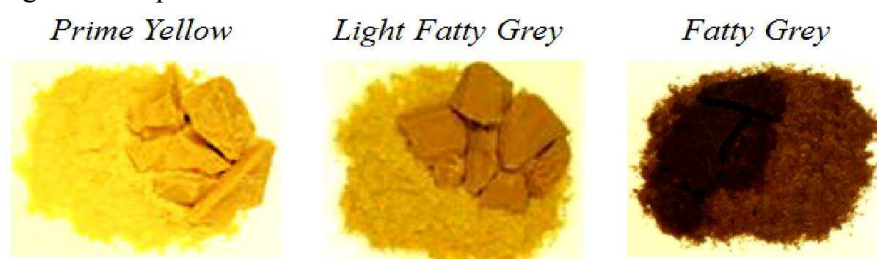
Fonte: Adaptado de Fernandez (2014).

A CC apresenta ponto de fusão entre 78°C a 86°C, sendo o mais alto entre as ceras naturais, além de ser extremamente dura. A referida cera é insolúvel em água e álcool, e solúvel em clorofórmio a quente, acetato de etila, xileno e tolueno (ALIAGA; GARCÍA; RUBIO, 1998; FERNADEZ, 2014; LACERDA, 2009).

A classificação da CC foi validada internacionalmente em 1988 e relaciona os tipos 1, 3 e 4. A CC tipo 1 ou *Prime Yellow* – conhecida como “flor” devido a coloração amarelo-claro e produzida a partir do pó extraído do “olho” da palmeira. A aplicabilidade do produto é encontrada na produção de cosméticos e no recobrimento de produtos alimentícios, devido ao baixo índice de acidez e o reduzido percentual de impurezas. A CC tipo 3 ou *Light Fatty Grey* – exibe cor castanha ou amarelada, é produzida a partir da clarificação da cera

obtida do pó da “palha”, também denominada “cauípe”. É o produto mais produzido e requerido pela indústria química e de informática. A CC tipo 4 ou *Fatty Grey* – é obtida do pó extraído da “palha” e não passa pelo processo de clarificação, mantendo assim sua cor natural: marrom-escuro ou marrom-esverdeado, tendendo para o negro. A coloração natural impede sua utilização em processos produtivos onde a interferência da coloração de insumos deve ser mínima, portanto é utilizada para fins menos nobres como polidores de piso (OLIVEIRA, 2006 *apud* LACERDA, 2009). Os tipos de cera de carnaúba comercializados são mostrados na Figura 9.

Figura 9 – Tipos de cera de carnaúba comercializados



Fonte: Adaptado de GM Ceras (2010).

A CC é um produto bem aceito no mercado e largamente utilizado nas indústrias química, farmacêutica, cosmética, informática e automobilística (CARVALHO, 2005). Funciona como matéria-prima para a fabricação de uma grande variedade de produtos: revestimentos (laqueadores, isolantes, impermeabilizantes, esmalte e verniz), lubrificantes (graxas e óleos finos), polidores (pisos, sapatos, automóveis e móveis de madeira), na indústria de embalagens, na produção de tintas, de filmes contínuos, produtos de limpeza, filmes plásticos, adesivos, isolantes (chips de computadores) e alimentos (polir e proteger frutas). Na papelaria é componente na fabricação de papel-carbono, lápis de cera, cola e grafite. Na indústria farmacêutica é utilizada na fabricação de cera dental e em revestimento de cápsulas para medicamentos. Na indústria de cosméticos é utilizada na fabricação de cremes, batons, rímel, creme de barbear, produtos para cabelo e pele (CARVALHO, 2005; M. JÚNIOR; MARQUES, 2009). Tradicionalmente, a CC é usada em formulações cosméticas como parte da composição de produtos sólidos da formulação, aumentando a consistência de emulsões, batons, ceras depilatórias e desodorantes roll-on (NOSSARI, 2012; ROSSAN, 2011). A CC tipo 1 apresenta grau cosmético, pois passa por processos de purificação tornando-se mais clara e apropriada para o uso em formulações cosméticas (LACERDA, 2009; NOSARI, 2012).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

- Ácido Kójico grau farmacêutico (ALL CHEMISTRY[®], Brasil);
- Água purificada e deionizada;
- Cera de Carnáúba FCM 1 grau farmacêutico (ALL CHEMISTRY[®], Brasil);
- Filtro para seringa CHROMAFIL[®] P-45/25, Ø25 mm, tamanho dos poros: 0,45µm (MACHEREY-NAGEL[®], Düren, Germany);
- Papel Filtro Quantitativo C42 Faixa Azul, Ø 125 mm (UNIFIL[®]);
- Papel Filtro Quantitativo Quanta[®] JP41 Faixa Preta, Ø 12,5 cm, maioria dos poros 28µm, 80g/m² (J PROLAB[®], São José dos Pinhais, Paraná);
- Papel Filtro Quantitativo Quanta[®] JP42 Faixa Azul, Ø 9 cm, maioria dos poros 8µm, 80g/m² (J PROLAB[®], São José dos Pinhais, Paraná);
- Tween 80 grau farmacêutico VIA FARMA (OXITENO[®], Brasil).

4.2 EQUIPAMENTOS

- Agitador magnético mini com aquecimento modelo Q-261A (QUIMIS[®], Diadema, São Paulo);
- Agitador magnético TMA20C com aquecimento (THELGA[®]);
- Balança analítica HR 200;
- Banho ultrasson modelo Q3350 (QUIMIS[®], São Paulo, Brasil);
- Bomba a vácuo modelo P730-BN (PALL LIFE SCIENCES[®]);
- Câmera fotográfica digital modelo DSC-W180 (SONY[®]);
- Deionizador modelo Option Q-7 (PURELAB Option ELGA[®], São Paulo, Brasil);
- Espectrofotômetro modelo GENESYS 10S UV-Vis (THERMO SCIENTIFIC[®]);
- Estufa EB – 100 (LAB TRADE[®]);
- Mesa agitadora microprocessada modelo Q225M (QUIMIS[®]);
- Microscópio óptico modelo CX31 RTSF (OLYMPUS[®], Tokyo, Japan);
- Termômetro Incoterm[®] L-007/06 (THERMO SCIENTIFIC[®]);
- Ultra Turrax[®] T25 D S32 (IKA[®]).

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Método de quantificação do ácido kójico por Espectrofotometria UV-Vis

O método utilizado para quantificação do AK foi adaptado do método desenvolvido e validado por Gomara (2003). Os valores de absorção do AK foram obtidos em Espectrofotômetro UV-Vis (GENESYS 10S, THERMO SCIENTIFIC®) no comprimento de onda 269 nm (GOMARA, 2003; CORRER, 2004), utilizando cubetas de quartzo com 1,0 cm de espessura. Para o ajuste do zero no equipamento antes da leitura, utilizou-se água deionizada como branco. O procedimento foi realizado em temperatura ambiente de 21°C. A curva padrão do AK foi construída com seis pontos. Preparou-se uma solução padrão concentrada de AK a 40 µg/mL, desta obteve-se soluções diluídas de concentrações 4, 8, 12, 16, 20 e 24 µg/mL.

4.3.2 Produção das micropartículas lipídicas sólidas

O método utilizado para a produção das MLS no presente trabalho empregou a cera de carnaúba como matriz lipídica na concentração de 10% de material lipídico em massa do peso total da formulação e uma fase aquosa contendo 1% em massa do tensoativo Tween 80 em relação à massa do material lipídico para gerar partículas de tamanho micrométrico.

No intuito de aperfeiçoar a eficiência de incorporação do ativo hidrofílico (AK) através desta técnica, recorreu-se a alteração da proporção ativo/matriz lipídica, velocidade e tempo de agitação.

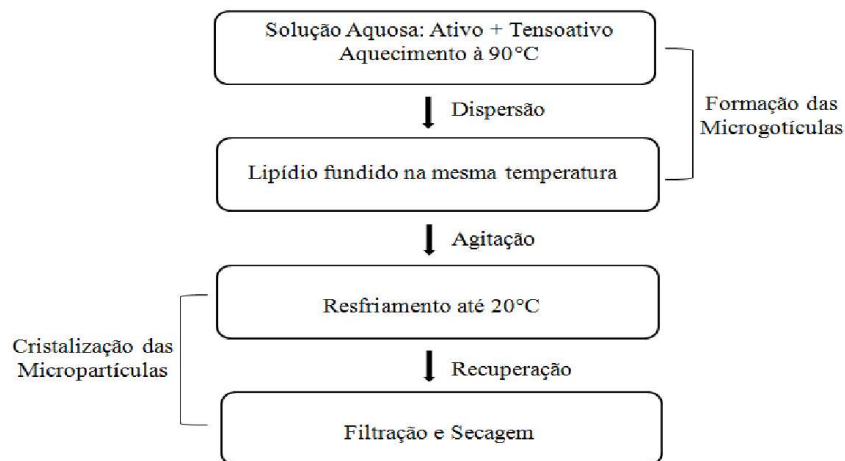
4.3.2.1 Produção de micropartículas pelo método de homogeneização a quente

O método de homogeneização a quente para o processo de encapsulação aplica alta intensidade de agitação para a dispersão de uma solução lipofílica fundida contendo o ativo em uma fase aquosa contendo o tensoativo, aquecidas sob a mesma temperatura. Esta técnica pode ser considerada como a homogeneização de uma emulsão. A emulsão permanece em intensa agitação, então é resfriada até atingir temperatura de 20°C. O resfriamento resulta na cristalização da matriz lipídica e formação de partículas lipídicas na forma sólida. Estas estruturas encontram-se na faixa de micrômetros ou nanômetros (GOMES, 2011; LACERDA, 2009).

O método descrito acima é relatado na literatura por diversos autores na encapsulação de ativos lipofílicos (ALMEIDA, 2009; CABRERA *et al.*, 2014; GOMES, 2011; KHERADMANDNIA *et al.*, 2010; LACERDA, 2009; MARCATO, 2009; MOLINA, 2014). Entretanto, o presente trabalho utiliza um ativo hidrofílico (AK). Logo, torna-se necessário fazer uma adaptação do método referido.

O método de homogeneização a quente adaptado para o presente trabalho é descrito como uma solução aquosa composta pelo tensoativo e o ativo (AK), aquecida a 90°C. Esta é dispersa no material lipídico fundido, sob mesma temperatura, com alto cisalhamento (Ultra Turrax® T25 D S32 IKA®), durante um determinado tempo em minutos. O material é inserido no banho de gelo imediatamente após sua retirada da agitação, onde permanece em repouso até atingir temperatura de 20°C. Em seguida, o material obtido é filtrado a vácuo utilizando um papel de filtro quantitativo (Quanty® JP42 Faixa Azul, Ø 9 cm, maioria dos poros 8µm, 80g/m², J PROLAB®, São José dos Pinhais, Paraná). As MLS dispostas na superfície do papel de filtro são recuperadas por secagem em estufa (EB – 100, LAB TRADE®) em temperatura de 40°C durante 24 horas. A metodologia descrita é representada esquematicamente na Figura 10.

Figura 10 – Método de preparação das micropartículas lipídicas sólidas.



Fonte: A autora.

4.3.2.2 Determinação das variáveis no processo de produção das formulações

O presente trabalho realiza um estudo de determinação das condições de preparo das formulações (F) através de alterações das variáveis: proporção ativo/matriz lipídica, velocidade e tempo de agitação. A variação da proporção ativo/matriz lipídica correlaciona a

concentração do ativo (em percentagem) em relação à massa do lipídio utilizada no processo de produção das formulações. O estudo foi dividido em três etapas, na qual cada etapa ocorre alterações das variáveis no processo de produção das formulações, com a finalidade da identificação dos pontos críticos do processo e a comparação entre seus resultados.

Na primeira etapa foram produzidas três formulações (F1, F2 e F3), onde a única variável no processo é a concentração do ativo em relação à massa lipídica, sob a mesma velocidade (15.000 rpm) e tempo (5 min) de agitação. A formulação F1 apresenta 10% de AK em relação à massa total da matriz lipídica. Semelhantemente, F2 apresenta 20% de AK e F3 apresenta 50% de AK em relação à massa total da matriz lipídica.

Na segunda etapa foram produzidas três formulações (F3A, F3B e F3C) com 50% de AK em relação à massa total da matriz lipídica, na qual as variáveis foram velocidade e tempo de agitação. Realizou-se um estudo comparativo entre estas formulações, onde um paralelo comparativo foi executado por dupla, sendo a velocidade e o tempo de agitação as variáveis do processo trabalhadas concomitantemente.

Na terceira etapa do estudo foi produzida a formulação F1A com o propósito de realizar uma comparação com a formulação F1 (primeira etapa) em relação à variação da velocidade de agitação durante o processo. As formulações F1 e F1A apresentam a mesma concentração do ativo (10% de AK em relação à massa total da matriz lipídica) e o mesmo tempo de agitação (5 min) aplicado durante o processo de produção das formulações, sendo a velocidade de agitação a única variável nesta etapa.

Etapa 1. Variação da proporção de ativo/matriz lipídica sob as mesmas condições de velocidade e tempo de agitação. Aplicou-se a velocidade de 15.000 rpm (Ultra Turrax[®] T25 D S32 IKA[®]) durante 5 minutos.

Tabela 1 – Variação da concentração de ativo nas formulações da primeira etapa.

	F1	F2	F3
Concentração AK	10%	20%	50%

Fonte: A autora.

Etapa 2. Variação da velocidade (Ultra Turrax[®] T25 D S32 IKA[®]) e tempo de agitação, sob a mesma concentração do ativo (50% de AK) em relação à matriz lipídica.

Tabela 2 – Variação da velocidade e tempo nas formulações da segunda etapa.

	F3 A	F3 B	F3 C
Velocidade	5.000 rpm	3.400 rpm	5.000 rpm
Tempo	5 min.	5 min.	2 min.

Fonte: A autora.

Etapa 3. Comparação com a formulação F1 variando a velocidade (Ultra Turrax[®] T25 D S32 IKA[®]) de agitação, sob a mesma concentração do ativo (10% de AK) em relação à matriz lipídica e mesmo tempo de agitação (5 minutos).

Tabela 3 – Variação da velocidade de agitação na formulação da terceira etapa.

	F1	F1 A
Velocidade	15.000 rpm	5.000 rpm

Fonte: A autora.

4.3.3 Caracterização das micropartículas lipídicas sólidas

A caracterização das MLS foi realizada através das análises da morfologia, do rendimento do processo, da eficiência de encapsulação e liberação do ativo.

4.3.3.1 Determinação da morfologia das micropartículas

A caracterização morfológica das MLS no presente trabalho foi realizada através da análise microscópica (Microscópio modelo CX31 RTSF, OLYMPUS[®], Tokyo, Japan). Na captação das imagens utilizou-se uma câmara fotográfica digital (modelo DSC-W180, SONY[®]) posicionada na lente ocular do microscópio. O material foi finamente dividido na superfície de uma lâmina de vidro, e observado na lente objetiva de 10, na ausência de lamínula e de água deionizada. A imagem captada apresenta aumento de 1.000 vezes o tamanho da partícula, que é calculado multiplicando-se o aumento da lente ocular (100) e da lente objetiva (10).

A análise microscópica é o método direto mais simples para a determinação morfológica de partículas. A forma e o tamanho das MLS podem ser irregulares e variáveis, não existindo um método para definição em termos geométricos. Além disto, este método expressa limitações como o valor da resolução das lentes objetiva e ocular constituintes do

equipamento e o fato dos contornos das partículas não serem perfeitamente definidos (ALMEIDA, 2009).

4.3.3.2 Análise do rendimento do processo

A análise do rendimento no processo de produção de MLS compreende o rendimento teórico, quantidade da formulação que se espera obter considerando 100% do material usado no processo, e o rendimento experimental ou real, quantidade da formulação realmente obtida no processo. O cálculo do rendimento das MLS no presente trabalho foi realizado considerando a massa total utilizada no processo de produção e a massa final obtida das MLS expresso em porcentagem.

4.3.3.3 Avaliação da eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação das MLS foi realizada em triplicata, e determinada ajustando a massa da amostra da formulação para que a leitura da absorbância estivesse dentro da curva padrão do AK. A maior temperatura de fusão da cera de carnaúba é 86°C. Logo, para fundir a matriz lipídica encapsuladora da amostra e liberar o ativo, foram pesados 0,1 g da amostra que foi adicionada a 25 mL de água deionizada aquecida a 90°C, sob aquecimento e agitação magnética (Agitador magnético mini com aquecimento, modelo Q-261A QUIMIS[®], Diadema, São Paulo) durante 10 minutos. Retirou-se a amostra do aquecimento e deixou-a em repouso a temperatura ambiente de 21°C durante 5 minutos. Após o repouso, a amostra foi para o banho de gelo até a cera solidificar. Posteriormente, foi efetuada uma filtração a vácuo (Bomba a vácuo modelo P730-BN, PALL LIFE SCIENCES[®]) utilizando-se papel de filtro (Quanty[®] JP41 Faixa Preta, Ø 12,5 cm, maioria dos poros 28µm, 80g/m², J PROLAB[®], São José dos Pinhais, Paraná). O filtrado foi diluído para o volume de 100 mL com água deionizada e levado ao Espectrofotômetro UV-Vis (GENESYS 10S, THERMO SCIENTIFIC[®]), onde foi realizada a leitura no comprimento de onda 269nm.

4.3.3.4 Ensaio de liberação

O ensaio de liberação do ativo (AK) das MLS foi realizado, em triplicata, pesando-se 0,1 g da amostra que foi adicionada a um erlenmeyer (250 mL) contendo 25 mL

de solução aquosa 0,1% de Tween 80, fixado em uma mesa agitadora (modelo Q225M, QUIMIS[®]) na velocidade de 100 rpm.

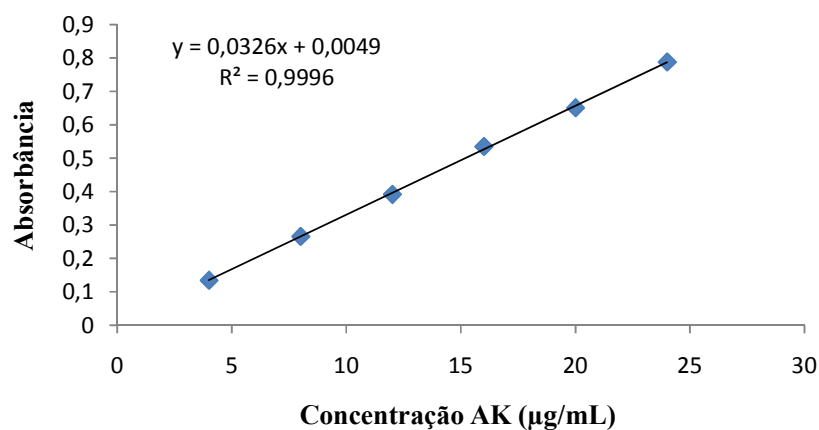
O tempo total do ensaio foi de 360 minutos. Na primeira hora retiraram-se alíquotas a cada 15 minutos, a partir da primeira hora foram retiradas alíquotas a cada meia hora, totalizando 14 alíquotas. A cada medida de tempo retira-se com uma seringa uma alíquota de 5 mL da solução que é filtrada com um filtro para seringa (CHROMAFIL[®] P-45/25, Ø25 mm, tamanho dos poros: 0,45µm, MACHEREY-NAGEL[®], Düren, Germany). A solução filtrada foi levada ao Espectrofotômetro UV-Vis (GENESYS 10S, THERMO SCIENTIFIC[®]), onde se realizou a leitura no comprimento de onda 269nm. A cada alíquota retirada, o volume retirado é reconstituído com solução 0,1% de Tween 80 para que o volume de 25 mL permaneça constante durante todo o procedimento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DA CURVA PADRÃO DO ÁCIDO KÓJICO POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

As leituras de absorbância das soluções foram realizadas no comprimento de onda 269 nm, usando a água deionizada como branco. A curva padrão foi construída graficamente relacionando os valores de absorbância obtidos em função da concentração das soluções. A reta de calibração obedece à equação: $y = 0,0326x + 0,0049$. Nesta, y = absorbância, x = concentração de ácido kójico em $\mu\text{g/mL}$. O coeficiente de correlação próximo de 1 ($r = 0,9996$), demonstra correlação linear entre as concentrações do ácido kójico e os respectivos valores de absorbância na faixa entre 4 a 24 $\mu\text{g/mL}$.

Gráfico 1 – Curva padrão do ácido kójico.



Fonte: A autora.

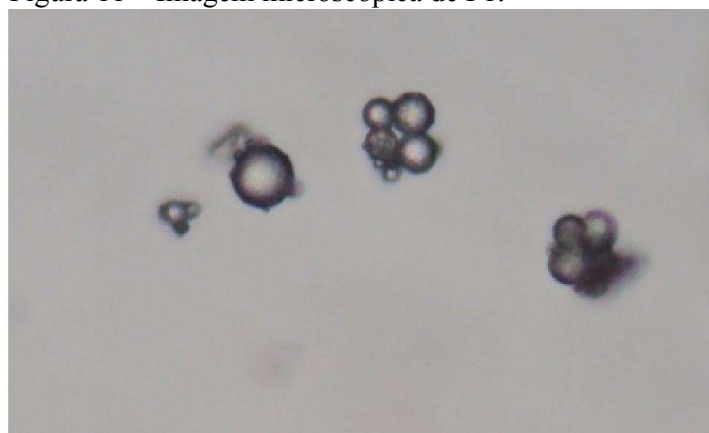
O estudo elaborado por Gomara (2003) desenvolveu e validou uma metodologia de quantificação do AK por espectrofotometria UV-Vis. O resultado encontrado para o método apresentou linearidade entre 5 e 25 $\mu\text{g/mL}$, boa sensibilidade, exatidão, precisão e robustez. Além disto, é demonstrada estabilidade nos valores de absorbância na presença de alterações de tempo de leitura e temperatura.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

5.2.1 Análise morfológica das micropartículas lipídicas sólidas

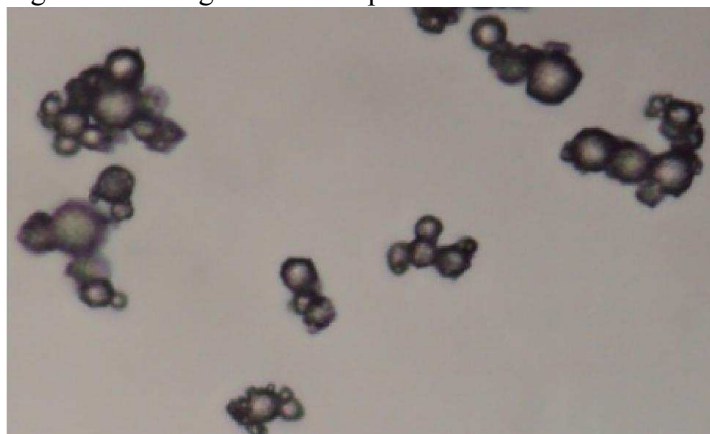
As Figuras 11 – 17 apresentam as imagens captadas das MLS obtidas por microscopia das diferentes formulações no aumento de 1.000 vezes o tamanho da partícula. As análises do tamanho e forma das MLS foram realizadas de forma subjetiva, por constatação visual pela observação ao microscópio.

Figura 11 – Imagem microscópica de F1.



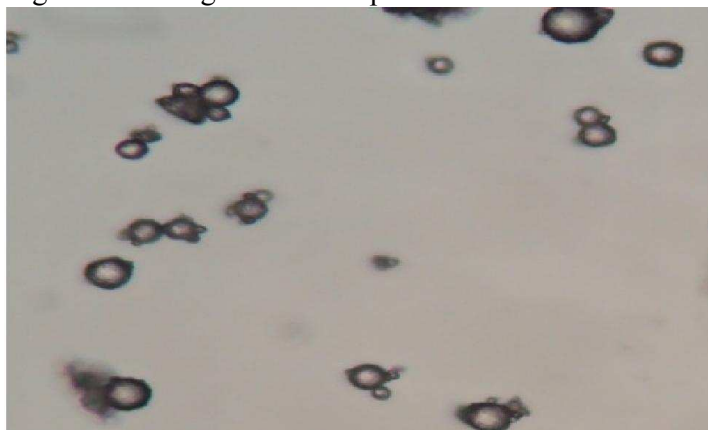
Fonte: A autora.

Figura 12 – Imagem microscópica de F2.



Fonte: A autora.

Figura 13 – Imagem microscópica de F3.



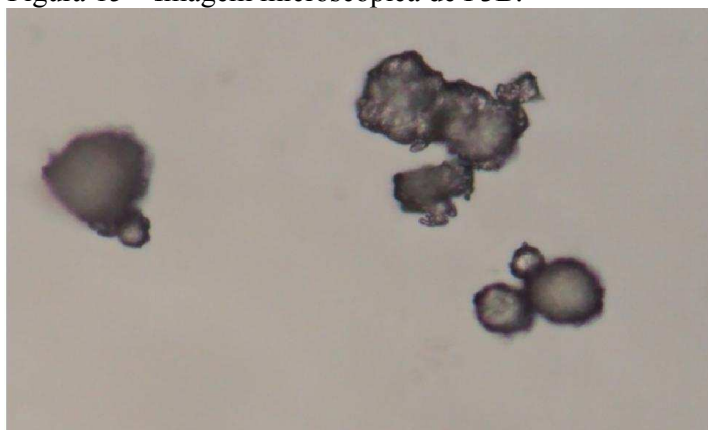
Fonte: A autora.

Figura 14 – Imagem microscópica de F3A.



Fonte: A autora.

Figura 15 – Imagem microscópica de F3B.



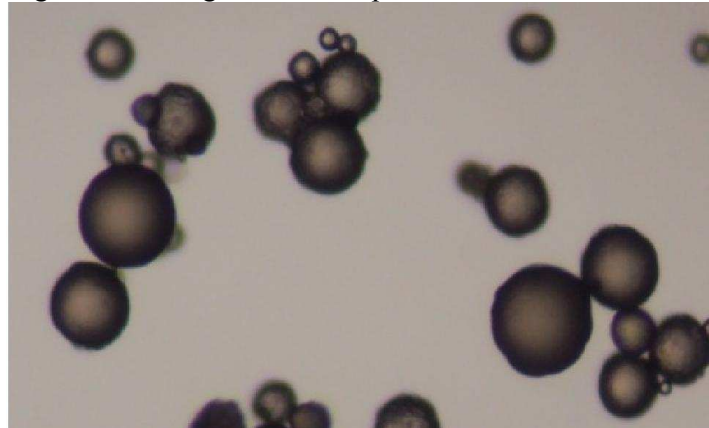
Fonte: A autora.

Figura 16 – Imagem microscópica de F3C.



Fonte: A autora.

Figura 17 – Imagem microscópica de F1A.



Fonte: A autora.

Os resultados demonstram que as MLS apresentam formato esférico e variação em seus tamanhos em todas as formulações. CHAMBI *et al.* (2008) desenvolveram MLS produzidas por *spray cooling* contendo compostos hidrossolúveis de diferentes massas moleculares e encontraram resultados semelhantes na obtenção de MLS esféricas de tamanhos variáveis.

As formulações F1, F2 e F3 demonstram que a variação das concentrações do ativo não interfere na morfologia das MLS. Isto pode ser atribuído a importância da técnica de produção na definição da morfologia esférica das partículas, pois a técnica demonstra ser um ponto mais crítico do que a variação da concentração do ativo.

No presente trabalho utilizaram-se as denominações “heterogeneidade ou homogeneidade” para relacionar a presença de cristais de cera não emulsionada durante o processo de produção das MLS nas formulações F3A, F3B e F3C. Estas denominações não

são relacionadas à variação de tamanhos das MLS encontrada em todas as formulações produzidas.

A comparação entre as formulações F3A, F3B e F3C demonstrou que a velocidade e o tempo são fatores críticos do processo. Dentre as três formulações referidas, F3A obteve uma maior homogeneidade em relação à presença de cristais de cera não emulsionadas no processo de produção das MLS. Este resultado pode estar associado a uma maior velocidade e tempo de agitação aplicada durante o processo de produção.

Relacionando as formulações F3A e F3B, cuja única variável é a velocidade de agitação, verifica-se que F3B se mostrou heterogênea devido à expressiva presença de cristais de cera não emulsionada no processo. Isto pode ser decorrente à baixa velocidade de agitação aplicada no processo de produção de F3B.

Equiparando F3A e F3C, onde a única variável é o tempo de agitação, constata-se que F3C também exprimiu resultados heterogêneos pelo motivo de apresentar discreta presença de cristais de cera não emulsionada no processo.

Contrapondo as formulações F3B e F3C em relação à presença de cristais de cera não emulsionada durante o processo, verifica-se que F3C revela melhores resultados. A presença destes cristais de cera significa que a velocidade de agitação não foi suficiente para emulsionar toda matriz lipídica durante o processo de produção de MLS. Este resultado de F3C comprova que a velocidade é mais crítica que o tempo no processo de produção e na morfologia das MLS.

Ainda em relação à variável velocidade, comparando-se as formulações F3 e F3A, assim como F1 e F1A, observou-se que o aumento da velocidade é inversamente proporcional ao tamanho das partículas.

5.2.2 Análise do rendimento do processo

Os resultados do cálculo de rendimento de todas as formulações produzidas no presente trabalho encontram-se descritas na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados dos rendimentos das formulações.

	F1	F2	F3	F3 A	F3 B	F3 C	F1 A
Rendimento (%)	87,7	81,4	71,2	64,54	64,2	64,8	83,7

Fonte: A autora.

Examinado a tabela acima, constata-se que dentre todas as formulações o melhor resultado de rendimento é apresentado por F1. Comparando o rendimento entre F1, F2 e F3, percebe-se que o melhor rendimento também se apresentou em F1. Diante disto, observa-se uma relação inversa entre o rendimento do processo e a concentração do ativo. Relacionando as formulações F3A, F3B e F3C entre si, os resultados de seus rendimentos são semelhantes.

Comparando as formulações F1 e F1A, cuja única variável é a velocidade de agitação, os resultados do rendimento do processo são próximos, porém F1, que tem a maior velocidade de agitação, continua apresentando o melhor resultado. Da mesma forma, comparando F3 e F3A, se confirma que o fator velocidade de agitação é um ponto crítico no rendimento, visto que a formulação de maior velocidade de agitação (F3) exprime o melhor resultado de rendimento.

Equiparando métodos de produção de MLS e seus resultados de rendimento, o método do presente trabalho revela resultados superiores relacionados a rendimento do processo. Lira (2007) encontrou resultado de rendimento de 45% pelo método de geleificação ionotrópica na produção MLS de ácido retinóico e quitosana. Nosari (2012) obteve resultados de rendimento variando entre 21 a 32% pelo método de *spray congealing* na produção de MLS de óleo de café verde e cera de abelha.

5.2.3 Eficiência de encapsulação do ácido kójico

Todas as formulações apresentaram eficiência de encapsulação efetiva baixa, variando aproximadamente de 5 a 15%. Estes resultados indicam a dificuldade de encapsular um ativo de natureza hidrofílica em uma matriz lipídica pelo método escolhido.

O resultado pode ter sido devido ao fato da matriz lipídica ser composta unicamente pela cera de carnaúba, pois isto pode interferir na baixa eficiência de encapsulação do ativo hidrofílico nas MLS. Quando a matriz lipídica é composta por um único tipo de lipídio a cristalização conduz a formação de um cristal perfeitamente ordenado apresentando mínimos defeitos, resultando em menor espaço para a acomodação do recheio. Desta maneira a matriz lipídica dificilmente poderá incorporar eficientemente quantidades significativas de ativo (LACERDA, 2009).

Os resultados do teste de eficiência de encapsulação de todas as formulações produzidas no presente trabalho encontram-se descritas na Tabela 5. A análise foi realizada em triplicata e os valores descritos são as médias dos resultados encontrados.

Tabela 5 – Resultados do teste de eficiência de encapsulação das formulações.

	F1	F2	F3	F3 A	F3 B	F3 C	F1 A
Eficiência de Encapsulação (%)	11,68	5,26	15	5,42	6,04	4,55	7,04

Fonte: A autora.

A comparação entre as formulações F1, F2 e F3 revela que F3 apresenta melhor resultado de eficiência de encapsulação. Entretanto, F1 apresentou um resultado muito próximo de F3, e, considerando que para F1 foi utilizado 10% de AK enquanto que para F3 foi utilizado 50% de AK, não se justifica usar cinco vezes mais de ativo na formulação para obter somente um ganho de 3,32% de encapsulação do mesmo. Por essa razão optou-se pela F1 como melhor formulação.

Resultados correspondentes foram encontrados por Fernandez (2014), onde os maiores teores de glicose não encapsulada foram encontrados nas formulações com os maiores teores de recheio. Semelhantemente, Lacerda (2009) afirma em seu estudo que a eficiência de encapsulação diminui com o aumento da concentração do ativo.

Relacionando as formulações F1 com F1A, assim como F3 e F3A, cuja única variável é a velocidade, se observa que as formulações com velocidade de agitação superior demonstram melhores resultados de eficiência de encapsulação. Este resultado sugere maiores discussões de que a alta velocidade de cisalhamento pode favorecer um maior contato entre o ativo hidrofílico, o tensoativo e a matriz lipídica, aumentando a eficiência de encapsulação do processo.

Outro fator crítico que pode influenciar na eficiência de encapsulação, é o tipo de método empregando no processo de produção de MLS. Os resultados de eficiência de encapsulação de MLS produzidas por *spray congealing* encontrados por Nosari (2012) variou entre 20 e 40%. Fernandes (2014) desenvolveu MLS por *spray cooling* com resultados de eficiência de encapsulação efetiva entre 51 e 65%. Lira (2007) encontrou valor de eficiência de encapsulação inferior a 5% em MLS produzidas pelo método de emulsão múltipla, concluindo a inadequação do método. Quando mudou para o método de geleificação ionotrópica encontrou valores de eficiência de encapsulação variando entre 54 e 63%.

A escolha do tensoativo e sua concentração, também são pontos críticos que muito interferem na eficiência de encapsulação. O tensoativo escolhido no presente estudo foi o Tween 80 (HLB 15). Apesar de este tensoativo caracterizar uma emulsão óleo/água,

considerou-se a possibilidade de ocorrer inversão de fases, pois durante o processo de produção das MLS o sistema permaneceu sob constante aquecimento a 90°C. A fase aquosa apresentava o ponto de névoa (turbidez) no momento de sua dispersão na matriz lipídica. O ponto de névoa é diretamente relacionado à temperatura média da inversão de fase. Nesta temperatura pode ocorrer uma transformação nas propriedades físico-químicas do sistema, assim a fase contínua passa a ser a CC, caracterizando emulsão água/óleo. Segundo Rossan (2011) sob temperaturas baixas o surfactante tem uma curvatura espontânea positiva formando microemulsão óleo/água. Em temperaturas altas a curvatura espontaneamente torna-se negativa formando uma microemulsão água/óleo. Similarmente a aplicação de Tween 80 no presente estudo, Lacerda (2009) desenvolveu um carreador lipídico nanoestruturado à base de CC e Benzofenona-3 pelo método de homogeneização a alta pressão utilizando Tween 80 na concentração de 1%.

5.2.4 Eficiência de liberação do ácido kójico

O ensaio da eficiência de liberação do AK foi realizado com a formulação F1, pois esta apresentou os melhores resultados na caracterização das MLS em comparação a todas as outras formulações.

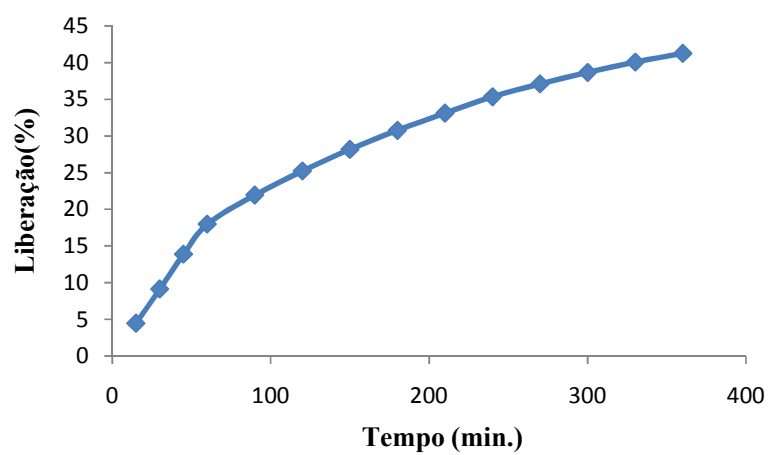
Na execução desta análise avaliou-se a liberação do ativo durante 360 minutos em solução 0,1% de Tween 80. O valor de liberação do AK ao final da análise foi de 41%. Os resultados revelam que a liberação do AK efetuou-se de forma lenta e progressiva comprovando o caráter de liberação modificada das MLS.

A matriz lipídica composta de CC torna a parede da partícula mais rígida e estável retardando a liberação do ativo. A liberação de substâncias hidrossolúveis encapsuladas com CC em meio aquoso pode ser decorrente da característica da polaridade do recheio que tende a migrar para a solução, associado ou não à erosão da matriz lipídica (FERNANDEZ, 2014).

O estudo desenvolvido por Fernandez (2014) encontrou resultados variando entre 22 a 72% no perfil de liberação da glicose em solução aquosa durante 120 minutos. Resultado análogo foi encontrado no presente trabalho, pois o perfil de liberação do AK em solução aquosa durante 120 minutos foi de 25%.

O perfil de liberação avalia a quantidade de ativo liberado por unidade de tempo. O Gráfico 2 demonstra o perfil de liberação do AK das MLS durante 360 minutos.

Gráfico 2 – Perfil de liberação do ácido kójico.



Fonte: A autora.

6 CONCLUSÕES

O método empregado na produção das micropartículas lipídicas sólidas desenvolvidas neste trabalho revelou-se como um fator crítico e demonstrou ser efetivo na formação e morfologia das partículas obtidas. Em todas as formulações foi possível a encapsulação do ativo hidrofílico com a cera de carnaúba como matriz lipídica.

Em relação à morfologia observou-se uma forma esférica com tamanhos variados, na qual a concentração do ativo não interfere. A velocidade e o tempo de agitação são fatores críticos no processo de formação e na morfologia das micropartículas lipídicas sólidas. A velocidade é mais crítica do que o tempo de agitação na morfologia, expressando relação inversa ao tamanho.

Em relação ao rendimento, o método apresenta resultados satisfatórios de rendimento. Observou-se que formulações com maiores velocidades apresentam melhor rendimento e que existe uma relação inversa entre o rendimento do processo e concentração do ativo.

Na eficiência de encapsulação os resultados apresentaram-se baixos em todas as formulações variando de 5 a 15%. Este resultado pode ser devido a vários aspectos, entre eles, ao método empregado no processo de produção, à escolha e concentração do tensoativo utilizado na formulação, ao fato da matriz lipídica ser composta por um único lipídio e à natureza hidrofílica do ativo.

O perfil de liberação do ácido kójico expressa uma liberação lenta e progressiva, comprovando o caráter de liberação modificada das micropartículas lipídicas sólidas.

REFERÊNCIAS

ALIAGA, J. L. V.; GARCÍA, M. T. C.; RUBIO, L. R. **Monografias Farmacêuticas**. Colégio Oficial de Farmacêuticos de La Provincia de Alicante, Graficas Olmedilla, 1998.

ALMEIDA, H. E. P. P. J. **Preparação e caracterização de dispersões sólidas e micropartículas lipídicas contendo Ibuprofeno**. 2009. 136 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2009.

BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **An. Bras. Dermatol.**, São Paulo, v. 86, n. 4, p. 732-742, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v86n4/v86n4a16.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Carnaúba**. 2006. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/10_10_25_08_12_23_conjunturacarnauba.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2015.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Cera de carnaúba**: período 01 a 31/08/2008. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/4b5699285a144145adb06fb0a9769ec1..pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2015.

BRITANNICA ESCOLA ONLINE. **Pele**. 2015. Disponível em: <<http://escola.britannica.com.br/assembly/135568/A-pele-humana-tem-tres-camadas-a-epiderme-a-derme>>. Acesso em: 26 dez. 2015.

CABRERA, C. G.; MADRID, J. F. P.; ARTEAGA, J. D. P.; ECHEVERRY, A. M. Characterization of encapsulation process of avobenzone in solid lipid microparticle using a factorial design and its effect on photostability. **J. App. Pharm. Sci.**, v. 4, n. 12, p. 35-43, dez., 2014. Disponível em: <http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/1388_pdf.pdf>. Acesso em: 9 jan. 2015.

CALAÇA, G. N.; STETS, S.; NAGATA, N. Determinação simultânea de ácido kójico e hidroquinona por espectrofotometria visível e calibração multivariada. **Quim. Nova**, Ponta Grossa, v. 34, n. 4, p. 630-635, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010040422011000400015&script=sci_abstract>. Acesso em: 31 ago. 2015.

CARVALHO, F. P. A. **Eco-eficiência na produção de pó e cera de carnaúba no município de Campo Maior – PI**. 2005. 157 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2005.

CEARÁ. Secretaria de Desenvolvimento Econômico. Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará (ADECE). **Carnaúba**. Disponível em: <<http://www.adece.ce.gov.br/index.php/carnauba>>. Acesso em: 4 maio 2015.

CHAMBI, H. N. M.; ALVIM, I. D.; BARRERA-ARELLANO, D.; GROSSO, C. R. F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: Production, characterization and release profiles. **Food Research International**, v. 41, p. 229–236, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996907002001>>. Acesso em: 10 out. 2015.

CORRER, C. J. **Uso de calibração multivariada na determinação de ácido fólico em forma farmacêutica de uso tópico**. 2004. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

FERNANDEZ, S. C. A. **Produção e caracterização de micropartículas lipídicas obtidas por spray cooling compostas por cera de carnaúba, ácido oléico e lecitina na encapsulação de solução de glicose e glicose sólida**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

FERREIRA, C. S.; NUNES, J. A. R.; GOMES, R. L. F. Manejo de corte das folhas de *Copernicia prunifera* (mill.) H. E. Moore no Piauí. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 26, n. 2, p. 25-30, abr./jun., 2013. Disponível em: <<http://200.137.6.4/revistas/index.php/sistema/article/view/2839>>. Acesso em: 4 maio 2015.

GM CERAS. Comércio de Ceras e Derivados Ltda. Disponível em: <<http://www.gmceras.com.br/ceras.html>>. Acesso em: 07 jan. 2016.

GOMARA, F. L. **Estudo de permeação cutânea *in vitro* do ácido fólico**. 2003. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

GOMES, G. V. L. **Produção e caracterização microestrutural de sistemas lipídicos sólidos micro e nanoparticulados utilizados na encapsulação de beta-caroteno**. 2011. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

GONÇALEZ, M. L. **Avaliação da permeação cutânea *in vitro* de sistemas nanoestruturados contendo ácido fólico**. 2012. 65 f. Monografia (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G. M.; LOPEZ, R. F. V. Princípios básicos e aplicação da iontoforese na penetração cutânea de fármaco. **Quim. Nova**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 6, p. 1490-1498, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 3 maio 2015.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KHERADMANDNIA, S.; VASHEGHANI-FARAHANI, E.; NOSRATI, M.; ATYABI, F. The effect of process variables on the properties of ketoprofen loaded solid lipid nanoparticles

of beeswax and carnauba wax. **Iran. J. Chem. Chem. Eng.**, v. 29, n. 4, 2010. Disponível em: <http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/84320110418.pdf>. Acesso em: 9 jan. 2015.

LACERDA, S. P. **Carreador Lipídico Nanoestruturado à base de cera de carnaúba: desenvolvimento, caracterização e uso na encapsulação de benzofenona-3**. 2009. 188 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências de Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. 2. ed. v. 2. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010. 1517 p.

LIRA, A. A. M. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação de sistemas microestruturados para veiculação de ácido retinóico na pele**. 2007. 142 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

M. JÚNIOR, J. A.; MARQUES, L. G. A. Cera de carnaúba. **Cadernos de Prospecção**, Teresina, v. 2, n. 1, p. 36-38, 2009. Disponível em: <http://www.portalseer.ufba.br/index.php/nit/article/view/11545/pdf_27>. Acesso em: 2 jan. 2015.

MARCATO, P. D. Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Campinas, v. 6, n. 2, p. 1-37, 2009. Disponível em: <[https://www.revistas.ufg.br/index.php?journal=REF&page=article&op=view&path\[\]=6545&path\[\]=4804](https://www.revistas.ufg.br/index.php?journal=REF&page=article&op=view&path[]=6545&path[]=4804)>. Acesso em: 28 dez. 2015.

MIERS, G. **Liberação de ácido kójico a partir de formas farmacêuticas semissólidas**. 2015. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MOLINA, C. V. **Beta-caroteno encapsulado em micropartículas lipídicas sólidas: avaliação tecnológica e sensorial da incorporação em iogurte**. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

NICOLETTI, M. A.; ORSINE, E. M. A.; DUARTE, A. C. N.; BUONO, G. A. Hiper Cromias: aspectos gerais e uso de despigmentantes cutâneos. **Cosmet. Toiletries**, São Paulo, v. 14, p. 46-51, mai./jun., 2002. Disponível em: <maquel.com.br/media/academico/artigo/01_05_02_hiper Cromias.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2015.

NOSARI, A. B. F. L. **Desenvolvimento de micropartículas lipídicas sólidas contendo óleo de café verde por *spray congealing***. 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

OLIVEIRA, M. B. **Desenvolvimento e caracterização de microemulsões contendo fluconazol para o tratamento da leishmaniose tegumentar**. 2012. 74 f. Monografia (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

OLIVEIRA, R. V. M.; OHARA, M. T.; GONÇALVES, M. M.; VILA, M. M. D. C. Quantificação de ácido kójico em estudos de permeação *in vitro*. **Lat. Am. J. Pharm.**, Sorocaba, v. 26, n. 4, p. 576-81, 2007. Disponível em: <http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/4/LAJOP_26_4_3_1_0X7581B81N.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2015.

PIANTAVINI, M. S. **Desenvolvimento e validação de um método espectrofotométrico para a quantificação de ácido kójico por complexação com alumínio e caracterização do complexo**. 2010. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

ROSSAN, M. R. **Preparação e caracterização de micro e nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos**. 2011. 215 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

SILVA, J. A.; APOLINÁRIO, A. C.; SOUZA, M. S. R.; DAMASCENO, B. P. G. L.; MEDEIROS, A. C. D. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, Campina Grande, v. 31, n. 3, p. 125-131, 2010. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm> Acesso em: 3 maio 2015.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.