

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Nadine Lysyk Funk

**HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE DIPROPIONATO DE  
BETAMETASONA E ÓLEO DE BORRAGEM: ESTUDO DE  
ESTABILIDADE EM EMBALAGEM PRIMÁRIA E  
PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA *in vitro***

Santa Maria, RS  
2019

**Nadine Lysyk Funk**

**HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE DIPROPIONATO DE  
BETAMETASONA E ÓLEO DE BORRAGEM: ESTUDO DE ESTABILIDADE EM  
EMBALAGEM PRIMÁRIA E PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA *in vitro***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Ciências Farmacêuticas**.

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane de Bona da Silva

Santa Maria, RS  
2019

LYSYK FUNK, NADINE

HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE DIPROPIONATO DE  
BETAMETASONA E ÓLEO DE BORRAGEM: ESTUDO DE ESTABILIDADE  
EM EMBALAGEM PRIMÁRIA E PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA in  
vitro / NADINE LYSYK FUNK.- 2019.

67 p.; 30 cm

Orientadora: CRISTIANE DE BONA DA SILVA  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós  
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2019

1. Nanotecnologia 2. Hidrogéis 3. Estabilidade 4.  
Material de Embalagem 5. Permeação cutânea in vitro I. DE  
BONA DA SILVA, CRISTIANE II. Título.

**Nadine Lysyk Funk**

**HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE DIPROPIONATO DE  
BETAMETASONA E ÓLEO DE BORRAGEM: ESTUDO DE ESTABILIDADE EM  
EMBALAGEM PRIMÁRIA E PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA *in vitro***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Aprovado em 30 de agosto de 2019:**



---

**Cristiane de Bona da Silva, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)



---

**Tatiele Katzer, Dr<sup>a</sup>. (UNISC) – Parecer**



---

**Andrea Ines Horn Adams, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

Santa Maria, RS  
2019

## DEDICATÓRIA

*À minha mãe Alice, meu exemplo de força e coragem, que sempre transformou meus sonhos em seus e nunca mediu esforços pra que todos se tornassem realidade, assim como esse.*

## AGRADECIMENTOS

Sobre saber reconhecer e se orgulhar por tudo que nos trouxe até aqui. Por esse motivo começo agradecendo aos meus pais, Alice e Miguel, que mesmo com pouca formação sempre entenderam a importância de me proporcionar a melhor educação possível. Por sonhar meus sonhos e vibrar por minhas vitórias. Tudo sempre será por vocês.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Maria que desde a graduação me proporcionou uma educação pública, gratuita e de qualidade, tendo papel fundamental no meu desenvolvimento pessoal e profissional durante os sete anos que aqui vivi. A partir dela, agradeço ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas pelas possibilidades e descobertas.

Agradeço as indústrias Herbarium e Cristália pela doação de matérias-primas.

À Prof. Cristiane de Bona da Silva, um exemplo de profissional, que me acolheu em 2013 e guiou a construção do meu perfil profissional desde então. Por todo conhecimento e valores compartilhados.

A todos os amigos e colegas que compartilharam experiências e o dia-a-dia comigo no Laboratório de Desenvolvimento Farmacotécnico durante os mais de seis anos que passei aqui. Em especial as amigas do coração das quais me presenteou: Mari, Aline, Juh e Thami. Vanessa, Vivi, Kadu, Laura e Bárbara, por todos os esforços em prol desse trabalho; Rose, pelo carinho e mimos infinitos; Camila, pela generosidade e o coração gigante que tens.

As vizinhas do LABCQ e LABTEC pela ajuda e parceria ao longo dos anos. Laís, por confiar a mim tua casa durante os últimos meses, minha enorme gratidão.

Ao Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL), em especial a Prof. Tatiana Emanuelli, pela contribuição e parceria neste trabalho.

Aos melhores ICs que poderiam ter cruzado o meu caminho: Ana Lara e Igor. Ana, obrigada por despertar em mim o amor em ensinar e por confiar a mim uma parte da tua jornada enquanto estudante. Por enfrentar os desafios do meu lado e não desistir quando tudo parecia não ter solução. Esse trabalho tem muito de ti. Igor, quando já havia aceitado finalizar o mestrado sozinha aparece tu em forma de presente. Tenho certeza que a vida reserva tudo pro momento certo. Obrigada por me motivar todos os dias durante os últimos meses, me dando força e incentivo pra seguir firme e finalizar com êxito e leveza esse trabalho. Hoje com muito orgulho meu amigo e filho científico. Segue firme, teu futuro vai ser brilhante.

À Julia W., que me recebeu de sorriso largo desde o primeiro dia e não mediu esforços para incentivar meu crescimento dentro das paredes do laboratório e fora dele. A mãe científica

que virou amiga do coração. Devo muito do que me tornei a ti e por isso serei eternamente grata. Obrigada também pela Dida, um ser humano lindo e de uma energia sem igual.

Ju, a irmã que a faculdade me deu. Quaisquer palavras seriam rasas pra mensurar o tamanho da gratidão que sinto por ter dividido a vida contigo durante os últimos anos. Obrigada por crescer junto comigo e não sair do meu lado nunca, nem mesmo com a distância. Por me ajudar com os problemas científicos incansavelmente e quase sempre instantaneamente.

Su, a saudade que vive no meu peito hoje não chega perto do amor e admiração que carrego por ti. Gratidão imensa pela irmandade linda que construímos. Tu é luz (daquelas tão fortes que esquentam o peito). Obrigada também pelo Johny, meu parceiro de loucuras e sobriedade (as vezes nem tanto).

Aline, do início ao fim minha fiel escudeira e companheira nessa jornada louca que foi o mestrado. Nada teria sido o mesmo sem ti. Pela amizade e companhia diária, e por todos os preciosos *brainstormings*. Foi muito difícil finalizar essa etapa sem você aqui.

Luís Gustavo, meu orgulho e exemplo. Por ser aquele amigo que vai estar sempre a um grito de distância. Obrigada por quebrar a cabeça comigo pra resolver os desvios de percurso que surgiram durante essa caminhada.

Vinícia, 2019 foi muito mais leve de carregar contigo do meu lado. Muito obrigada pela parceria, amizade e irmandade que fortalecemos nesses últimos meses de convivência.

Ju e Tana, minhas irmãs de vida. Conforta o coração saber que não importa o que acontecer eu sempre tenho pra onde voltar. Amo muito vocês.

Léo, por mesmo longe ter estado do meu lado no momento mais difícil que já vivi.

Amanda, por ser esse serzinho de alma linda que emana luz e fé.

Aos melhores amigos que a vida poderia me presentear: Alan, Verônica, Vinícius, Bruna, Felipe, Daniel, Fernanda, Fran, Susana, Iorhann, Leísa, Matheus V., Marcel, Matheus P. Pelos muitos anos de histórias construídas. É pra poucos o que temos!

Tenho muita sorte em ter todos vocês comigo.

Por fim, por todos que lutam e defendem o ensino público e universal como a verdadeira arma da revolução...

...meu muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Sempre em frente, não importa a direção”

(Doyoulike?)

## RESUMO

### HIDROGÉIS CONTENDO NANOCÁPSULAS DE DIPROPIONATO DE BETAMETASONA E ÓLEO DE BORRAGEM: ESTUDO DE ESTABILIDADE EM EMBALAGEM PRIMÁRIA E PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA *in vitro*

AUTORA: Nadine Lysyk Funk  
ORIENTADORA: Cristiane de Bona da Silva

A associação de corticosteroides e substâncias emolientes, ricas em ácidos graxos como o gama-linoleico, vem ganhando destaque na literatura para o tratamento de distúrbios dermatológicos inflamatórios como a dermatite atópica. A alta incidência de efeitos adversos sistêmicos dessa classe farmacológica ressalta a via tópica como via de escolha. A terapêutica ainda pode ser favorecida pela associação das duas substâncias a partir da nanotecnologia, podendo proporcionar uma entrega gradual e direcionada da substância ativa ao local de ação. Assim, esse estudo objetivou desenvolver hidrogéis de Aristoflex® AVC contendo nanocápsulas de dipropionato de betametasona (DB) e óleo de borragem (OB) e avaliar a estabilidade dessas formulações quando acondicionadas em bisnagas de plástico e alumínio, durante 120 dias a temperatura ambiente. Ainda, foi avaliada a capacidade oclusiva das formulações e também conduzido um estudo de permeação/penetração cutânea *in vitro* buscando observar a entrega da betametasona e do óleo de borragem nas diferentes camadas da pele. As suspensões de nanocápsulas foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado e posteriormente incorporadas ao polímero formador de gel para formação da formulação semissólida (A-DBOB<sub>NC</sub>). Hidrogéis contendo as nanocápsulas brancas (A-OB<sub>NC</sub>) e com o fármaco em solução (A-DB) foram, também, preparados e avaliados. Os hidrogéis contendo as nanoestruturas demonstraram distribuição granulométrica bimodal, tamanho nanométrico (193 a 203 nm), índice de polidispersão inferior a 0,15; pH compatível com a aplicação tópica (6,32 a 6,45) e teor de betametasona próximo ao teórico (0,25 mg/g). O fator de espalhabilidade (FE) foi maior para A-OB<sub>NC</sub> (5,09 ± 0,23 mm<sup>2</sup>/g) do que para A-DBOB<sub>NC</sub> (2,93 ± 0,31 mm<sup>2</sup>/g) e A-DB (2,99 ± 0,11 mm<sup>2</sup>/g). Todos os hidrogéis demonstraram comportamento de fluxo não-Newtoniano pseudoplástico (R>0,999; n<1). O creme comercial de dipropionato de betametasona foi, também, avaliado e apresentou tamanho micrométrico (2512 ± 291 nm), pH levemente ácido (6,12 ± 0,28) e FE de 4,46 ± 0,81 mm<sup>2</sup>/g. Foi verificada a manutenção do perfil de distribuição granulométrica, diâmetro médio de partículas e homogeneidade no decorrer dos 120 dias de estudo para os hidrogéis contendo as nanocápsulas. O pH dessas formulações reduziu a partir dos 90 dias para as amostras acondicionadas em bisnagas de alumínio e a partir dos 30 dias para as amostras em bisnagas de plástico. O FE apresentou mudanças para as formulações nanoassociadas ao passo que para A-DB esse parâmetro se manteve estável. A capacidade oclusiva dos hidrogéis se mostrou mais pronunciada após 12 horas de contato com o local de aplicação, na qual os hidrogéis A-OB<sub>NC</sub> e A-DB demonstraram ser tão oclusivos quanto o controle positivo utilizado (vaselina sólida). O estudo de permeação/penetração cutânea *in vitro* demonstrou uma maior retenção do DB no estrato córneo (A-DB: 12 µg/cm<sup>2</sup> e A-DBOB<sub>NC</sub> 7,7 µg/cm<sup>2</sup>), demonstrando a capacidade das nanoestruturas em promover uma liberação gradual da substância ativa. Não foi observada diferença entre as formulações nas demais camadas. Ainda, foi possível detectar o ácido gama-linoleico na derme da pele tratada com A-OB<sub>NC</sub>, resultado promissor visando a reconstrução da estrutura cutânea. Assim, os hidrogéis desenvolvidos se mostram tecnologicamente promissores para aplicação tópica, visando o tratamento de doenças inflamatórias da pele, como a dermatite atópica.

**Palavras-chave:** Ácido gama-linoleico; Semissólidos; Estabilidade; Material de Embalagem; Oclusão; Permeação.

## ABSTRACT

### HYDROGELS CONTAINING BETAMETHASONE DIPROPIONATE AND BORAGE OIL NANOCAPSULES: PRIMARY PACKAGING STABILITY AND PERMEATION/PENETRATION *in vitro* SKIN STUDIES

AUTHOR: Nadine Lysyk Funk  
ADVISOR: Cristiane de Bona da Silva

Corticosteroids and emollient substances (with high amounts of fatty acids as gamma-linoleic acid) association is usually reported aiming the treatment of inflammatory skin diseases, such as atopic dermatitis. Topic formulations become interesting as an alternative route to deliver those drugs and minimize systemic adverse effects. Moreover, through nanotechnology it is possible to associate synergic substances and promote a controlled targeted drug delivery to the injured tissue. Therefore, our goal is to develop an Aristoflex® AVC hydrogel containing betamethasone dipropionate (BD) and borage oil (BO) nanocapsules and evaluate its stability in plastic and metal tubes during 120 days, at room temperature. Occlusive properties and permeation/penetration *in vitro* studies through skin were also performed. Nanocapsules were prepared by interfacial deposition of preformed polymer and incorporated into hydrogels (A-DBOB<sub>NC</sub>). Hydrogels without BD (A-OB<sub>NC</sub>) and with BD in solution (A-DB) were also prepared. Hydrogels containing nanocapsules showed bimodal granulometric distribution, nanometric size (193 to 203 nm), polydispersion index below 0.15, pH suitable for topical application (6.32 to 6.45) and drug concentration close to theoretical (0,25 mg/g). Spreadability factor (SF) was higher to A-OB<sub>NC</sub> ( $5.09 \pm 0.23$  mm<sup>2</sup>/g) than A-DBOB<sub>NC</sub> ( $2.93 \pm 0.31$  mm<sup>2</sup>/g) and A-DB ( $2.55 \pm 0.11$  mm<sup>2</sup>/g). All three formulations showed non-Newtonian behavior, which were better fitted to Power Law model ( $r > 0,999$ ;  $n < 1$ ), presenting pseudoplastic characteristics. Commercial cream (CC) presented micrometric size ( $2512 \pm 291$  nm), pH slightly acid ( $6.12 \pm 0.28$ ), SF of  $4.46 \pm 0.81$  mm<sup>2</sup>/g and drug concentration around 90%. During 120 days hydrogel's granulometric distribution, particle size and homogeneity were stable. At 90 days pH started to decrease for formulations packaged in aluminum tubes and at 30 days for plastic tubes. The SF changed for A-DBOB<sub>NC</sub> and A-OB<sub>NC</sub> and was stable for A-DB. The semisolids demonstrated higher occlusive factor at 12 hours of study, where A-OB<sub>NC</sub> and A-DB were as occlusive as positive control (vaselin). Permeation/penetration *in vitro* skin studies evidenced high retention amount of BD at stratum cornea (A-DB: 12 g/cm<sup>2</sup>; A-DBOB<sub>NC</sub>: 7.7 g/cm<sup>2</sup>) confirming nanocapsules ability to control drug release. No distribution differences were observed in other skin layers between formulations. Additionally, gamma-linoleic acid was found in skin dermis treated with A-OB<sub>NC</sub>, favorable result aiming skin barrier reconstruction. Therefore, the developed hydrogels can be considered technologically promising for topical application, aiming at the treatment of inflammatory skin diseases, such as atopic dermatitis.

**Keywords:** Gamma-linoleic acid; Semisolid; Stability; Packaging Material; Occlusion; Permeation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	Perfil de distribuição granulométrica das suspensões de nanocápsulas. (A) DBOB <sub>NC</sub> ; (B) OB <sub>NC</sub> .....	35
FIGURA 2 -	Aspecto macroscópico dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC. (A) A-DBOB <sub>NC</sub> ; (B) A-OB <sub>NC</sub> ; (C) A-DB.....	37
FIGURA 3 -	Distribuição granulométrica dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC. (A) A-DBOB <sub>NC</sub> ; (B) A-OB <sub>NC</sub> ; (C) A-DB.....	38
FIGURA 4 -	Representação gráfica do perfil de espalhabilidade (mm <sup>2</sup> /g) dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC .....	40
FIGURA 5 -	Reogramas dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC .....	41
FIGURA 6 -	Representação gráfica do perfil de espalhabilidade (mm <sup>2</sup> /g) do creme comercial de DB .....	43
FIGURA 7 -	Representação gráfica dos reogramas do creme comercial de DB.....	44
FIGURA 8 -	Perda de peso (%) total das bisnagas de plástico em relação ao tempo 0. *: diferença estatisticamente significativa (p>0,05) em relação ao peso (%) inicial. Estatística realizada por ANOVA, seguida de teste de comparações múltiplas de Dunnett .....	45
FIGURA 9 -	Perda de peso (%) total das bisnagas de alumínio em relação ao tempo 0. *: diferença estatisticamente significativa (p>0,05) em relação ao peso (%) inicial. Estatística realizada por ANOVA, seguida de teste de comparações múltiplas de Dunnett .....	46
FIGURA 10 -	Valores de pH em função do tempo (dias). (A) A-DBOB <sub>NC</sub> ; (B) A-OB <sub>NC</sub> ; (C) A-DB. *: diferença estatisticamente significativa (p > 0,05) em relação ao pH do tempo 0 dias .....	47
FIGURA 11 -	Diâmetro médio de partículas (nm) e índice de polidispersão dos hidrogéis nos seus respectivos materiais de embalagem em função do tempo (dias). (A) A-DBOB <sub>NC</sub> ; (B) A-OB <sub>NC</sub> ; (C) A-DB .....	49
FIGURA 12 -	Capacidade oclusiva (%) dos hidrogéis desenvolvidos neste trabalho e do creme comercial de DB em 8, 12 e 24 horas após aplicação. C+: vaselina sólida. ....	53
FIGURA 13 -	Concentração (µg cm <sup>2</sup> ) de betametasona encontrada no EC (estrato córneo), epiderme e derme a partir dos hidrogéis A-DBOB <sub>NC</sub> e A-DB, e do creme comercial (CC) após 8 horas de ensaio .....	55

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	Composição quali e quantitativa das suspensões de nanocápsulas. DBOB <sub>NC</sub> : nanocápsulas de DB e OB; OB <sub>NC</sub> : nanocápsulas brancas (sem o fármaco) .....	28
TABELA 2 -	Composição qualitativa e quantitativa dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC (n=3) .....	29
TABELA 3 –	Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) quantificados no óleo de borragem por cromatografia gasosa. (OB) Óleo de borragem; (FAME) ésteres metílicos de ácidos graxos padrão	34
TABELA 4 -	Valores de D[4;3], Span, diâmetro médio de partículas (DM) e índice de polidispersão (IPD) encontrados pelas técnicas de difração a laser e espectroscopia de correlação de fótons na caracterização dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC .....	39
TABELA 5 –	Valores de pH, teor e fator de espalhabilidade (FE) encontrados na caracterização dos hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC .....	39
TABELA 6 –	Valores de D[4;3] (µm) em função do tempo de armazenamento. P: bisnagas de plástico; A: bisnagas de alumínio .....	50
TABELA 7 –	Teor de betametasona (%) nos hidrogéis versus o tempo de armazenamento .....	51
TABELA 8 –	Fator de espalhabilidade (mm <sup>2</sup> /g) dos hidrogéis em função do tempo. A: bisnagas de alumínio; P: bisnagas de plástico .....	51
TABELA 9 -	Quantidade de ácidos graxos (%) presentes no hidrogel A-OB <sub>NC</sub> .....	57
TABELA 10 -	Quantidade (%) de ácidos graxos encontrada nas camadas da pele após 8 horas de experimento. 1: pele sem tratamento; 2: pele com tratamento	57

## LISTA DE ABREVIATURAS

A-DBOB <sub>NC</sub>	Hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC com nanocápsulas de dipropionato de betametasona e óleo de borragem
A-OB <sub>NC</sub>	Hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC com nanocápsulas ausentes de fármaco
A-DB	Hidrogéis de Aristoflex <sup>®</sup> AVC com dipropionato de betametasona não associado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DB	Dipropionato de betametasona
DM	Diâmetro médio de partículas
EC	Estrato córneo
FE	Fator de espalhabilidade
GLA	Ácido gama-linolênico
IPD	Índice de polidispersão
OB	Óleo de borragem
pH	Potencial hidrogeniônico

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	OBJETIVO GERAL .....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1	PELE .....	17
3.2	DERMATITE ATÓPICA .....	18
3.3	DIPROPIONATO DE BETAMETASONA .....	19
3.4	ÓLEO DE BORRAGEM .....	21
3.5	NANOPARTÍCULAS .....	22
3.6	FORMAS FARMACÊUTICAS SEMISSÓLIDAS .....	24
3.7	MATERIAL DE EMBALAGEM .....	25
<b>4.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	27
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	58
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	59

## 1. INTRODUÇÃO

A via cutânea vem sendo estudada para administração local de fármacos, por intermédio de formas farmacêuticas semissólidas, por apresentar vantagens frente a outras vias, como sua grande área de superfície, por proporcionar maior comodidade ao paciente, menor frequência de administração, conferir proteção a fármacos suscetíveis à degradação enzimática, além de possibilitar contornar efeitos indesejáveis proporcionados por outras vias. Contudo, por ser um órgão de estrutura complexa, formada por epiderme, derme e hipoderme, a pele ainda mostra-se desafiadora em termos de penetração e permeação de substâncias por suas diferentes camadas (BOLZINGER, 2012).

O estrato córneo, camada mais externa da epiderme, é composto de células mortas, os queratinócitos, e uma matriz lipídica extracelular constituída de ceramidas (50%), colesterol (25%) e ácidos graxos livres (25%). A estrutura lipídica formada por esses componentes é responsável por manter a integridade da camada epidérmica frente a alterações externas (temperatura, pressão) e por sua baixa permeabilidade, caracterizando-o como passo limitante para entrada de fármacos no organismo (IINAUSKAS, 2017).

Os ácidos graxos livres do estrato córneo são provenientes do metabolismo de ácidos graxos essenciais (AGE), como o ácido linolênico (ômega 3) e linoleico (ômega 6). Porém, a ausência da enzima  $\Delta 6$ -dessaturase no corpo humano impede a síntese endógena dos AGEs, necessitando sua reposição externa a partir da dieta (MANHEZI, 2008). Além de contribuir na reconstrução da barreira epidérmica, por atuarem como precursores dos ácidos graxos livres, os AGEs ainda podem apresentar atividades emoliente e anti-inflamatória. Essas características tornam os óleos vegetais ricos em ácidos graxos alvos de estudo para o tratamento das mais diversas desordens dermatológicas.

A dermatite atópica, por exemplo, é uma doença crônica inflamatória da pele, comumente diagnosticada pelo aparecimento de coceira, prurido e também associada com frequência a algumas condições imunológicas, como asma, alergias alimentares e rinite. (SIMPSON et al, 2014). A literatura aponta que essa doença resulta da soma de uma predisposição genética a respostas imunes irregulares, com exacerbação de produção de células T, somada à desestruturação da barreira epidérmica, promovendo distúrbios na homeostase corporal e ressecamento do local lesionado pela alta perda de água transepidérmica (THOMPSEN, 2015).

O tratamento dessa condição engloba uma série de opções terapêuticas, dentre as quais se encontram os fármacos anti-inflamatórios, considerados primeira escolha no tratamento da

dermatite atópica, e as substâncias emolientes (EINCHEFIELD et al, 2014). Os anti-inflamatórios corticosteroides, como o dipropionato de betametasona (DB), agem inibindo a vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular, resultando na redução da migração leucocitária local (COUTINHO, CHAPMAN, 2011). Apesar da resposta terapêutica positiva, essa classe de fármacos está comumente associada a uma série de efeitos adversos sistêmicos crônicos, como atrofia cutânea irreversível, síndrome de Cushing, estrias, pele escamosa e recidivas inflamatórias graves resultantes do abandono precoce do tratamento (POETKER, REH, 2010).

Como terapia complementar à terapia convencional, óleos vegetais, como o óleo de borragem (OB), vêm sendo estudados por suas mais diversas ações, tais como emoliente, anti-inflamatória e antioxidante (HU et al, 2015). O óleo de borragem, extraído da planta *Borago officinalis* L., traz em sua composição uma alta porcentagem de ácidos graxos essenciais, principalmente das séries ômega 6 e ômega 9, componentes importantes para manutenção da integridade da pele. Desta forma, é capaz de auxiliar na restauração e hidratação da barreira epidérmica (FOSTER, HARDY, ALANY, 2010).

Nesse contexto, a nanotecnologia surge como uma alternativa tecnológica para associar os efeitos aditivos dos fármacos anti-inflamatórios e óleos vegetais no tratamento das desordens dermatológicas. As vantagens aliadas a esses sistemas ainda incluem proteção do fármaco, seu direcionamento ao local de ação e o controle de sua liberação, propiciando redução na frequência de administração e evitando o alcance da via sistêmica, principal responsável pelos efeitos adversos de fármacos como o DB (ZAMARIOLI et al, 2015; SILVA et al, 2015).

Assim, o desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas de base nanotecnológica para entrega tópica de substâncias ativas se mostra um caminho promissor para contornar os efeitos indesejáveis provenientes da administração sistêmica de corticoesteroides. As preparações semissólidas fornecem características desejáveis como hidratação, oclusão, retenção do fármaco no local de ação por sua adesividade, e aumento da estabilidade das suspensões de nanopartículas (ANTONIO et al, 2012).

Por fim, buscando avaliar a estabilidade dessas formulações, se torna importante buscar a melhor forma de acondicionamento das preparações semissólidas. O material de embalagem facilita o manuseio e a utilização da forma farmacêutica, devendo interagir o mínimo possível com o produto farmacêutico e garantindo sua qualidade e eficácia durante todo seu tempo de prateleira. Comercialmente, as preparações semissólidas são comumente encontrados em embalagens metálicas ou plásticas, na forma de bisnagas ou potes.

Desta forma, o presente trabalho buscou desenvolver uma forma farmacêutica semissólida do tipo hidrogel a partir da associação do DB e OB em suspensões de nanocápsulas, como uma opção terapêutica para o tratamento da dermatite atópica. Posteriormente, buscando sugerir a melhor forma de acondicionamento, foi conduzido um estudo de estabilidade utilizando distintos materiais de embalagem primária: bisnagas de plástico e alumínio.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho objetivou desenvolver uma formulação semissólida do tipo hidrogel a partir de nanocápsulas de dipropionato de betametasona e óleo de borragem, avaliando a sua estabilidade em embalagem final e a permeação/penetração *in vitro* do fármaco e do óleo.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar e caracterizar suspensões de nanocápsulas contendo dipropionato de betametasona e óleo de borragem;
- Preparar uma formulação semissólida do tipo hidrogel contendo nanocápsulas poliméricas de dipropionato de betametasona e óleo de borragem;
- Caracterizar o hidrogel quanto aos parâmetros físico-químicos: análise macroscópica, perfil granulométrico, pH, teor de fármaco, determinação de peso, viscosidade e espalhabilidade.
- Avaliar a estabilidade físico-química das formulações acondicionadas em bisnagas de alumínio e bisnagas de plástico, mantidas em temperatura ambiente por um período de 120 dias;
- Avaliar a capacidade oclusiva *in vitro* das formulações;
- Realizar o estudo de penetração/permeação cutânea *in vitro* do fármaco e do óleo a partir das formulações;
- Realizar um estudo comparativo dos hidrogéis com uma formulação comercial de dipropionato de betametasona do tipo creme quanto às suas características físico-químicas, capacidade oclusiva e penetração/permeação *in vitro*.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 PELE

A pele é o órgão mais extenso do corpo humano e tem como principal função agir como barreira física à entrada de agentes externos. Além disso, participa de processos imunológicos, regula a temperatura corporal, garante a homeostase do organismo humano, entre outros (TAGAMI, 2008).

Sua estrutura se divide em 3 diferentes camadas: a hipoderme, derme e epiderme. A hipoderme, camada mais interna, é formada por fibroblastos, macrófagos e adipócitos, além de nervos e vasos sanguíneos. Por apresentar tecido adiposo, é responsável pelo fornecimento de energia e isolamento térmico da pele. A derme, por sua vez, localizada acima da hipoderme, confere à pele características como resistência e elasticidade decorrentes, respectivamente, da presença de colágeno e elastina em sua estrutura. Ainda, estão alocados na derme os apêndices cutâneos como folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas (KOLARSICK, P.; KOLARSICK, M.; GOODWIN, 2011).

A epiderme é a camada mais externa da pele, a qual compreende 5 subcamadas: camada córnea, lúcida, granulosa, espinhosa e basal (BENÍTES, MONTÁNS, 2017). A camada córnea ou estrato córneo, considerado passo limitante à penetração de substâncias na pele, é a camada mais externa da epiderme. O estrato córneo é composto por células mortas com grande quantidade de queratina em sua estrutura, os queratinócitos, os quais estão acomodados em uma matriz intercelular lipídica constituída de ceramidas (50%), colesterol (25%) e ácidos graxos livres (25%) (IINAUSKAS, 2017).

Os ácidos graxos livres encontrados no estrato córneo são ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa sintetizados a partir do metabolismo dos AGEs ômega 3 e ômega 6. Por ausência da enzima  $\Delta 9$ -dessaturase no organismo de mamíferos, os AGEs obrigatoriamente devem ser repostos externamente, como por exemplo pela dieta. Sua importância está relacionada com a produção de seus metabólitos e, os ácidos graxos livres como o ácido araquidônico, eicosapentaenoico e docosahexaenóico, atuam na integridade e fluidez das membranas, na atividade enzimática e na síntese de eicosanoides como prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos (MANHEZI, 2008).

Além do exposto, a presença de ceramidas e ácidos graxos livres reflete diretamente no pH da superfície cutânea, o qual pode variar de 4 a 6. O gradiente de pH formado entre a superfície, levemente ácida, e a parte mais interna da pele, próxima a neutralidade, garante o

controle da microflora local e a formação de uma estrutura lipídica ideal para a manutenção da barreira epidérmica (ALL, YOSIPOVICTH, 2013; LAMBERS, 2006).

Ainda na epiderme, mais especificamente nas células da camada granulosa, encontram-se proteínas específicas como a filagrina, cujos monômeros desempenham importante papel na agregação de moléculas de queratina que constituirão a camada córnea, organizando-as de maneira densa e compacta (CARDILI, 2013; IRVINE; MCLEAN; LEUNG, 2011). Além disso, a quebra da filagrina resulta na produção de Fatores de Hidratação Natural (NMF), os quais garantem a manutenção da homeostase da epiderme exercendo funções como hidratação e proteção UV (THYSSEN, KEZIC, 2014).

Essa organização confere a pele uma baixa permeabilidade, bem como auxilia na resistência do organismo frente a mudanças como pressão e temperatura (IINAUSKAS, 2017). De modo a garantir a ausência de distúrbios dermatológicos, a presença de uma barreira física íntegra e a preservação da capacidade proliferativa das células cutâneas devem ser mantidas. Logo, fatores como hidratação, perda de água transepidérmica, produção de sebo e regulação do pH entre o meio interno e externo, devem ser observados (BOER, 2016).

### 3.2 DERMATITE ATÓPICA

A dermatite atópica é uma doença inflamatória multifatorial a qual engloba uma série de alterações genéticas, defeitos na barreira cutânea, além de fatores ambientais e imunológicos. Considerada uma epidemia em ascensão nos últimos 30 anos, acometendo cerca de 30% das crianças e 10% dos adultos, a dermatite atópica é caracterizada por sintomas como eritema e coceira intensa (OSZUKOWSKA et al, 2015; ORFALI et al, 2013). A palavra atopia remete a uma tendência hereditária a formação exacerbada de anticorpos IgE em resposta à pequenas quantidades de alérgenos ambientais como pólen e poeira (REED, 2006). Desta forma, o desenvolvimento da doença é comumente associado a pacientes com histórico pessoal ou familiar de outras doenças alérgicas, a exemplo, rinite e asma (EINCHFIELD, 2014).

A alteração primária relacionada à doença consiste em defeitos na barreira cutânea, que facilitam a sensibilização da pele e a entrada de agentes exógenos como alérgenos e microorganismos, os quais são responsáveis por desencadear uma resposta imune Th2 (BOER, 2016). Ainda, pesquisas apontam uma relação direta da dermatite atópica com defeitos no gene da filagrina, detectado em cerca de 50% dos pacientes com a doença (IRVINE, MCLEAN, LEUNG, 2011).

A filagrina é uma pró-proteína que, quando ativada, libera monômeros responsáveis pela organização e ligação da estrutura epidérmica, formando uma matriz lipoproteica densa e firme. Após, esses monômeros são degradados a NMF, os quais auxiliam na retenção de água e manutenção do pH fisiológico da pele. Assim sendo, mutações que envolvam a perda de função ou defeitos de síntese da pró-proteína são elencadas como fatores importantes no desenvolvimento da doença (CARDILI et al, 2013; OORD, SHEIKH, 2012; STEMMLER, HOFFJAN, 2016). Ainda, autores supõem que a produção exacerbada de certas interleucinas a partir da propagação sistêmica de células T possa impactar na produção/desativação da filagrina, propondo a relação direta dos dois fatores no aparecimento da doença (McALEER, IRVINE, 2013; WANG et al, 2015).

A desestruturação da barreira epidérmica também é impactada pela perda ou deficiência dos AGEs tais como os ácidos linolênico e linoleico. Essa deficiência também afeta a permeabilidade da pele, propiciando um ambiente suscetível ao início de processos inflamatórios locais (MAN et al, 2015). Estudos mostram resultados positivos decorrentes da reposição de ácidos graxos essenciais, seja pela via tópica ou oral, para o tratamento da dermatite atópica, os quais incluem redução nos níveis de IgE e redução de sintomas como prurido e ressecamento (BLASKOVIC et al, 2014; SIMON et al, 2014).

Frente ao exposto, o tratamento da dermatite atópica tem foco na restauração da barreira epidérmica e no controle de sintomas decorrentes do processo inflamatório local. Para tal, os anti-inflamatórios corticosteroides são fármacos de escolha no tratamento da doença (EINCHEFIELD et al, 2014). Além destes, também se relata o uso de inibidores de calcineurina, anti-histamínicos, imunoterapia e fototerapia, aliado ao uso de probióticos, suplementação vitamínica e óleos vegetais como terapia adjuvante (LEE et al, 2016).

### 3.3 DIPROPIONATO DE BETAMETASONA

O uso tópico de fármacos da classe dos corticoesteroides, em crianças e adultos, constituem a primeira escolha no tratamento de doenças dermatológicas como a dermatite atópica, seja ela de caráter brando ou severo. Essa classe apresenta propriedades anti-inflamatória, imunossupressora, vasoconstritora e antiproliferativa (RING et al, 2011; WANG et al, 2015). De acordo com a potência vasoconstritora, a literatura divide os corticosteroides em classes que variam desde fármacos de potência baixa, nos quais se encaixam a dexametasona e desonida, até fármacos com potência alta, como o propionato de clobetasol e o dipropionato de betametasona (SALA et al, 2016).

Apesar de considerados efetivos, múltiplas reações adversas são associadas ao uso sistêmico de corticosteroides, tais como atrofia cutânea irreversível, síndrome de Cushing, redução da espessura epidérmica, estrias, sensibilização local e recidivas inflamatórias graves ocasionadas pelo abandono precoce do tratamento (POETKER, REH, 2010). Desta forma, o uso tópico desses fármacos por meio de formas farmacêuticas semissólidas, por exemplo, surge como uma alternativa para contornar os efeitos adversos sistêmicos já conhecidos. Além disso, o tratamento tópico ainda oferece vantagens como hidratação local, ação emoliente e maior comodidade ao paciente, fator importante para o não abandono do tratamento (YACOBI et al, 2014). A vantagem da aplicação tópica de corticosteroides no tratamento da dermatite atópica foi demonstrada por Haeck e colaboradores (2010), os quais relataram aparecimento de efeitos adversos como a catarata, decorrentes do tratamento sistêmico, enquanto que o tratamento tópico se mostrou ausente de reações adversas.

O dipropionato de betametasona (DB), éster derivado da betametasona, é um anti-inflamatório corticoesteroide de alta potência. Possui alta lipofilicidade ( $\log P = 3,96$ ), sendo solúvel em acetona, clorofórmio e diclorometano, parcialmente solúvel em álcool e insolúvel em água. Apresenta peso molecular de 504,24 e pKa de 12,87. Comercialmente o DB é encontrado na forma isolada em creme, pomada e loção na concentração de 0,64 mg/g (equivalente a 0,5 mg/g de betametasona). Ainda, pode ser encontrado na forma de solução tópica, associado ao ácido salicílico; suspensão injetável, em associação ao sulfato de gentamicina ou, ainda, na forma de pomada e creme, junto ao fosfato dissódico de betametasona (ANVISA, 2017). O DB, entretanto, apresenta baixa permeabilidade pela pele e é suscetível à formação de produtos de degradação frente à luz e condições ácidas e alcalinas. Tais características resultam em respostas terapêuticas insatisfatórias (SHOU, 2009).

Apesar das limitações, a eficácia *in vivo* do DB frente à dermatite atópica já é descrita na literatura. Após desenvolvimento espontâneo da dermatite em ratos, Kuramoto e colaboradores (2015) trataram os animais doentes com pomada de DB três vezes por semana, durante 4 semanas, utilizando creme de heparina como grupo controle. Ao final do experimento, os animais tratados com DB mostraram redução expressiva na gravidade da lesão e na coceira. Além disso, no mesmo grupo, a histologia evidenciou ausência de inflamação e ulceração, alterações visivelmente presentes no grupo controle.

### 3.4 ÓLEO DE BORRAGEM

Os ácidos graxos essenciais (AGE) desempenham papel importante na estrutura e função da pele, influenciando na sua fluidez e permeabilidade. Além disso, possuem relação direta na maturação e sensibilização do sistema imunológico pois são metabolizados a prostaglandinas e leucotrienos, produtos correlacionados às respostas inflamatórias, imunológicas e proliferativas das células da pele. Portanto, a falta ou deficiência de substâncias como ácido gama-linolenico (ômega 6) e ácido linoleico (ômega 3) podem facilitar o desenvolvimento de doenças dermatológicas de caráter inflamatório como a dermatite atópica e psoríase, além de infecções secundárias por agentes como *Staphylococcus aureus* (FOSTER, ALANY, HARDY, 2010).

Desta forma, cresce cada vez mais o estudo de substâncias emolientes como recurso adjuvante e complementar para o tratamento, quando implementado junto aos anti-inflamatórios corticosteroides, ou ainda usados isolados na prevenção das desordens dermatológicas (WOLLENBERG, EHMANN, 2012). Muitos são os óleos vegetais encontrados na literatura para o tratamento da dermatite atópica, como óleo de primula, óleo de oliva, óleo de coco, óleo de lavanda, entre outros (SIMON et al, 2014; VERALLO-ROWELL, DILLAGUE, SYAH-TJUNDAWAN, 2008; HUSSAIN et al, 2017).

Recentemente, o óleo de borragem vem ganhando espaço como terapia para o tratamento da dermatite atópica. O óleo de borragem é um óleo vegetal obtido da semente da planta *Borago officinalis* L., nativa de regiões do Mediterrâneo. Traz em sua composição cerca de 50-68% de ácidos graxos poli-insaturados da série ômega 6, dos quais 40% são ácido linoleico e 20% ácido gama-linolenico (GLA). Além disso, ainda é composto por cerca de 20% de AGE monoinsaturados da série ômega 9, como o ácido oleico (FOSTER, HARDY, ALANY, 2010). Sua porcentagem de GLA é significativamente superior as encontradas em óleos vegetais como o óleo de primula, amplamente empregada no tratamento da dermatite atópica (BARRE, 2001).

A literatura já contempla estudos que demonstram suas propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, antilipidêmica (BASAR et al, 2013), antiproliferativa (WEBER et al, 2015) e antioxidante, relacionada à alta concentração de compostos fenólicos em sua composição (ZEMMOURI et al, 2014).

Além das propriedades farmacológicas já elucidadas, estudos têm mostrado outros benefícios relacionados ao uso do óleo de borragem. Brosche e Platt (2000) demonstraram a capacidade deste óleo em auxiliar na recuperação da integridade epidérmica, bem como reduzir

a perda de água transepidermica em até 10%. De Spirt e colaboradores (2009), por indução de irritação em pele de mulheres, evidenciaram um aumento dos AGE no plasma das pacientes estudadas. Ainda, houve decréscimo na vermelhidão local, na perda de água transepidermica, além de notável aumento na hidratação da região afetada.

### 3.5 NANOTECNOLOGIA

Tendo em vista as limitações encontradas na administração dos anti-inflamatórios corticosteroides, as quais incluem efeitos indesejáveis pela via sistêmica e instabilidades físico-químicas, e também buscando melhorar a resposta terapêutica da dermatite atópica com o uso concomitante de óleos vegetais ricos em AGE, a nanotecnologia surge como uma alternativa tecnológica para a administração combinada de ambas as opções terapêuticas.

Atualmente, a nanotecnologia se mostra uma estratégia promissora com avanços importantes nas mais diversas áreas, incluindo a dermatologia (HUA et al, 2015; YASIR et al, 2014; SINGH et al, 2015). Esses sistemas incluem partículas de tamanho inferiores a 1 µm, extremamente flexíveis, encaixando-se em diferentes vias de administração de fármacos. Auxiliam na entrega de substâncias ativas em sítio específico, na transposição de barreiras biológicas e proporcionam liberação modificada do princípio ativo, potencializando sua ação e reduzindo sua toxicidade (DESAI, 2012).

O mecanismo de interação das nanopartículas com a pele ainda não é bem elucidado, mas acredita-se que ela possa penetrar/permeiar por dois mecanismos principais: pelos apêndices (glândulas sudoríparas e folículos pilosos), que apesar de representarem uma porção pequena na superfície epidérmica são capazes de proporcionar uma entrega direta do fármaco até as camadas mais profundas da pele, e pelo estrato córneo, podendo assumir dois caminhos principais: através dos corneócitos (passagem transcelular) ou entre os espaços intercelulares, pela matriz lipídica (SCHNEIDER et al, 2009).

Entre os sistemas mais relevantes na área farmacêutica tem-se os lipossomas, as nanopartículas poliméricas, as nanoemulsões e as nanopartículas lipídicas (GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007). As nanopartículas poliméricas são subdivididas em nanocápsulas e nanoesferas, que diferem entre si por sua estrutura. As nanocápsulas representam sistemas coloidais nos quais há um núcleo, geralmente oleoso, envolto de uma parede polimérica, no qual o fármaco pode estar adsorvido no invólucro polimérico e/ou disperso ou dissolvido no núcleo. As nanoesferas, por outro lado, caracterizam-se como

sistemas matriciais, com ausência de um núcleo oleoso em sua estrutura (RAO, GECKELER, 2011).

Frente às vantagens já citadas, fármacos anti-inflamatórios corticoesteroides, como o DB, vêm sendo associados a nanocarreadores e a literatura aponta resultados promissores dessa associação. Alam e colaboradores (2011) relataram o aumento da estabilidade do DB quando associado à nanoemulsão, apresentando baixa degradação após 3 meses de estudo à temperatura ambiente. Ainda, Gillet e colaboradores (2011) demonstraram a capacidade de lipossomas carregados negativamente em melhorar a penetração do DB na pele. Weber e colaboradores (2015) desenvolveram nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) contendo DB e conduziram um estudo de fotodegradação frente à luz UVC, o qual evidenciou a capacidade das nanocápsulas em proteger o fármaco frente à degradação.

Em nosso grupo de pesquisa, Weber e colaboradores (2015) desenvolveram nanocápsulas de DB (0,64 mg/mL) utilizando PCL como parede polimérica. Apesar da baixa estabilidade das suspensões (15 dias,  $25 \pm 1$  °C), resultados positivos foram encontrados obtendo-se o controle da liberação do fármaco a partir das nanocápsulas e a capacidade protetora das mesmas frente à degradação do DB em luz UVC. Bazana (2015) buscando aumentar a estabilidade das suspensões reduziu à metade a concentração de DB nas nanocápsulas (0,32 mg/mL). O estudo de estabilidade das suspensões demonstrou manutenção das características físico-químicas iniciais por um período de 30 dias.

Procurando por uma terapêutica ainda mais eficaz, uma nova abordagem vem sendo associada aos corticoesteroides: o uso de óleos vegetais. Assim, se busca por meio dos sistemas nanoestruturados somar as atividades biofarmacêuticas já elucidadas dos óleos vegetais, como sua capacidade de hidratação e reposição de componentes importantes da barreira epidérmica, com os mais diversos princípios ativos, os quais em sua maioria também possuem características lipofílicas (BONIFÁCIO et al., 2014; BILIA et al., 2014; NATRAJAN et al., 2015).

A obtenção de bases semissólidas a partir de nanopartículas preparadas com a associação de DB e óleos vegetais também já é relatado na literatura. Kong e colaboradores (2016) desenvolveram uma pomada a partir de um nanocarreador lipídico de palmitoestearato de glicerila, óleo oleico e DB. Os testes *in vitro* demonstraram a alta retenção do fármaco na pele e no estudo *in vivo* a formulação não causou irritação local, indicando que a associação foi capaz de minimizar os efeitos adversos causados pelo alcance do DB na via sistêmica. Ahmad e Kumar (2014) desenvolveram géis de Carbopol<sup>®</sup> 971 a partir de nanoemulsões de DB e óleo de peixe e evidenciaram a capacidade do óleo em melhorar a penetração do fármaco na pele.

Alam e colaboradores (2013) preparam géis a partir de nanoemulsões de óleo de eucalipto contendo DB. O gel foi capaz de reduzir 84,15% o edema de pata em ratos em 12 horas, enquanto uma formulação comercial, no mesmo período, reduziu 40,97%.

### 3.5 FORMAS FARMACÊUTICAS SEMISSÓLIDAS

Diversas são as vias disponíveis para a administração de fármacos, entre elas estão a via oral, tópica, intravenosa, ocular e retal, por exemplo. A via tópica consiste na administração de fármacos diretamente na pele ou mucosas, podendo a área estar lesionada ou não. A aplicação tópica de fármacos pode objetivar um efeito local, no qual a pele é o órgão-alvo, ou sistêmico, havendo uma absorção percutânea e conseqüente alcance da circulação sanguínea. As formas farmacêuticas semissólidas, destinadas à aplicação na pele ou mucosas, compreendem géis, géis-creme, cremes, pomadas, pastas, entre outras, as quais diferem entre si por sua composição (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Os géis consistem em bases aquosas cuja viscosidade é adquirida por adição de um agente gelificante, o qual pode ser sintético ou natural, responsável pela formação de uma rede tridimensional. Os géis apresentam boa espalhabilidade, sensorial agradável, são de fácil remoção e auxiliam na hidratação local pela alta quantidade de água em sua composição. Os géis-creme, por outro lado, são emulsões com alta porcentagem de fase aquosa e baixa concentração de óleo, as quais são estabilizadas por polímeros hidrofílicos. Essa preparação possibilita a incorporação de substâncias ativas lipofílicas, resultando em uma base com sensorial menos gorduroso quando comparado ao creme (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

A associação de formas farmacêuticas semissólidas à nanopartículas tem apresentado resultados positivos quando comparados às mesmas formulações com o fármaco livre (não associado). Tais preparações propiciam adesividade e, assim, maior período de contato da substância ativa com o local lesionado, maior estabilidade às suspensões, além de fornecer diferentes graus de hidratação e oclusão à pele (ANTONIO et al., 2012). Vários são os polímeros utilizados para obtenção das formulações semissólidas, tais como: Aristoflex<sup>®</sup> AVC (HARTER, 2013; SAVIAN, 2012), Carbopol<sup>®</sup> Ultrez 10NF (FLORES et al., 2015; VITORINO et al., 2013; TRONINO et al., 2016), Carbopol<sup>®</sup> 934 (SURASSMO et al., 2015), Hidroxietilcelulose (RAHMAT et al., 2013; WEBER, 2014), Poloxamer<sup>®</sup> 407 (AL-KASSAS et al., 2016), FocusGel<sup>®</sup> 305 (BAZANA, 2015; SCHWARZ et al., 2012).

O Aristoflex<sup>®</sup> AVC (co-polímero do ácido sulfônico acriloidimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado) é um polímero sintético formador de gel, pré-neutralizado e de característica aniônica. É utilizado como estabilizante e agente de consistência, formando géis transparentes com sensorial fresco e não-pegajoso. A sua concentração usual em formulações dermo-cosméticas varia de 0,5 a 5%, apresentando estabilidade em ampla faixa de pH (4-9) (PHARMA SPECIAL).

A obtenção de géis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC associado a nanopartículas já é relatada na literatura. Kùlkamp-Guerreiro e colaboradores (2012) desenvolveram géis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC a partir de nanocápsulas de ácido lipóico. As formulações foram submetidas a ciclos de aquecimento/congelamento, demonstrando boa estabilidade físico-química quando avaliados o teor de fármaco e resistência à centrifugação. Lee e colaboradores (2016) desenvolveram géis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC a partir de nanoemulsões contendo fenitoína, ao quais demonstraram comportamento não-Newtoniano e cinética de liberação do fármaco de primeira ordem. Harter (2013) desenvolveu hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC contendo nanocápsulas e nanoemulsões de tioconazol. As formulações apresentaram pH compatível com a aplicação tópica e tamanho nanométrico. Ainda, demonstraram característica de fluxo não-Newtoniana e tixotropia, melhor se adequando ao modelo de Casson.

### 3.6 MATERIAL DE EMBALAGEM

O material de embalagem é um dos elementos chave quando se fala sobre a entrega do medicamento ao consumidor final, compreendendo em embalagem primária, secundária e terciária (LUCIO, 2013). Além de facilitar o transporte, uso e identificação da forma farmacêutica, a embalagem confere proteção ao fármaco e excipientes frente ao meio externo (luz, temperatura, micro-organismos, entre outros), de forma a garantir sua qualidade, estabilidade e integridade desde a fabricação até o momento do uso (BAUER, 2009).

A embalagem primária está em contato direto com a formulação e pode variar seu material conforme a forma farmacêutica de escolha (KLIMCHUK; KRASOVEC, 2013). Independente disso, se espera que ela evite a perda de produto, não interaja com a formulação (difusão ou permeação de componentes) e impeça a sua interação com o meio externo, impactando diretamente na vida de prateleira do medicamento e, por consequência, na sua eficácia (ZADBUKE et al, 2013).

Para as formas farmacêuticas semissólidas especificamente as embalagens primárias mais comuns são potes e bisnagas, feitos de plástico e metais como o alumínio. As embalagens

plásticas, ainda em crescimento no mercado farmacêutico, trazem vantagens como leveza em peso, baixa possibilidade de rompimento e variedade de forma e tamanho, mantendo sua forma original mesmo após o manuseio da embalagem pelo consumidor (CENTEA, GRUNENFELDER, NUTT, 2015; KAZMER, 2017). Entretanto, são menos resistentes à temperatura, luz e oxigênio, e assim podem apresentar interações com o produto como a migração de seus componentes para a forma farmacêutica, bem como absorver excipientes ou o princípio ativo do material acondicionado (LUIJSTERBURG, GOOSSENS, 2014). Entre os materiais plásticos mais utilizados na indústria farmacêutica estão os polímeros de polietileno e polipropileno (LUCIO, 2013).

Em contrapartida, embalagens metálicas tais como as feitas de alumínio podem ser preferidas frente às demais devido a características como rigidez, o que a torna mais resistente, leveza quando comparada a embalagens de vidro e baixa permeabilidade a umidade, componentes gasosos, luz e micro-organismos (TANEJA et al, 2018). Além disso, é um material facilmente reciclável a um baixo custo e com violação irreversível, facilitando a inspeção de adulteração do produto. Apesar das vantagens, essas embalagens podem trazer um potencial de toxicidade aumentado frente as demais, especialmente pela possibilidade de migração dos metais da embalagem primária para a forma farmacêutica (BAUER, 2009). No intuito de reduzir essa interação é necessário um revestimento interno na embalagem, o qual geralmente é composto de resinas ou formulações a base de cera (KUMAR, 2013).

Ainda não há estudos na literatura acerca do acondicionamento de formulações semissólidas contendo nanopartículas de DB e OB em material de embalagem final. Comercialmente, o DB é encontrado em duas formas farmacêuticas semissólidas distintas: creme e pomada. Ambas são acondicionadas em material de embalagem primária do tipo bisnaga de alumínio com quantidades finais que variam de 10 a 30 gramas.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1 MATERIAIS

O dipropionato de betametasona – DB (Lote: 14662/2017) foi doado pela Cristália (São Paulo, Brasil); o óleo de borragem – OB (Código: 100001431) foi doado pela Herbarium Laboratório Botânico S.A. (Paraná, Brasil); poli( $\epsilon$ -caprolactona) e Span<sup>®</sup> 60 foram obtidos da Sigma Aldrich; polissorbato 80 foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil); acetona PA da Química Moderna (São Paulo, Brasil); acetonitrila UV/HPLC da Merck; Aristoflex<sup>®</sup> AVC da PharmaSpecial (São Paulo, Brasil); imidazolidinil ureia foi adquirido da Delaware (Rio Grande do Sul, Brasil);

### 4.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE BORRAGEM

A análise do perfil de ácidos graxos presentes no OB seguiu a metodologia descrita por Hartmann e Lago (1973). Segundo tal, o OB foi saponificado (solução metanólica de KOH), esterificado (solução metanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e, após metilados, os ácidos graxos foram analisados em um cromatógrafo a gás (Agilent Technologies, HP 6890N), com coluna capilar DB-23, 60 mm x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m e detecção por ionização de chama. Os ésteres metílicos de ácidos graxos padrão (mistura FAME de 37 componentes, Sigma, Saint Louis, MO, EUA) foram submetidos às mesmas condições de análise e comparados à amostra de interesse.

Esta análise foi realizada em colaboração com a Prof. Dra. Tatiana Emanuelli, responsável pelo Núcleo Integrado de Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL), localizado junto ao Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria, RS).

### 4.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SUSPENSÕES DE NANOCÁPSULAS

As suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado (FESSI et al, 1988; JAGER et al, 2009). Seguindo o proposto, uma fase orgânica composta pelo fármaco (DB), o óleo vegetal (OB), Span<sup>®</sup> 60 (tensoativo de baixo EHL), poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) e acetona foi mantida sob agitação em aquecimento ( $40 \pm 2$  °C) para solubilização dos componentes. Após, a fase orgânica

foi injetada em uma fase aquosa composta de Tween<sup>®</sup> 80 (tensoativo de alto EHL). Por fim, a formulação foi levada ao evaporador rotatório para evaporação do solvente orgânico e ajuste da concentração final de fármaco de 0,32 mg/mL, correspondentes a 0,25 mg/mL de betametasona. Suspensões de nanocápsulas sem o fármaco foram, também, preparadas e avaliadas. A composição das suspensões de nanocápsulas está descrita na tabela 1.

Tabela 1 – Composição quali e quantitativa das suspensões de nanocápsulas. DBOB<sub>NC</sub>: nanocápsulas de DB e OB; OB<sub>NC</sub>: nanocápsulas brancas (sem o fármaco)

Composição	Quantidade (g)*	
	DBOB <sub>NC</sub>	OB <sub>NC</sub>
DB	0,008	-
OB	0,458	0,458
Span <sup>®</sup> 60	0,005	0,005
PCL	0,25	0,25
Acetona	132,5	132,5
Tween <sup>®</sup> 80	0,1915	0,1915
Água ultrapura	132,5	132,5

\*: quantidade correspondente a 25 mL de suspensão e 0,25 mg/mL de betametasona.

As nanocápsulas foram avaliadas em relação à distribuição granulométrica por difração de laser (Mastersizer<sup>®</sup> 3000, Malvern Instruments, Inglaterra) a partir da dispersão das amostras em água. O tamanho médio das partículas e o índice de polidispersão foram determinados pela metodologia de espectroscopia de correlação de fótons (Zetasizer<sup>®</sup> Nanoseries ZEN 3600, Malvern Instruments, Inglaterra), após dispersão das amostras em água ultrapura na proporção 1:500 (v/v). O potencial zeta foi determinado por mobilidade eletroforética no mesmo equipamento, utilizando NaCl 10 mM como meio de dispersão (1:500, v/v). O pH foi avaliado em potenciômetro (Modelo PHS-3E, Ionlab) a partir da imersão direta das amostras no eletrodo, o qual foi previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

Para a quantificação do fármaco foi utilizado um cromatógrafo a líquido de alta eficiência da Agilent Technologies (1260 Infinity, Alemanha) seguindo as condições cromatográficas validadas por Weber e colaboradores (2016). A fase móvel foi composta por uma mistura de acetonitrila:água (65:35, v/v), vazão de 1 mL/min e detecção a 254 nm. Como fase estacionária foi utilizada uma coluna Gemini<sup>®</sup> C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm, Phenomenex<sup>®</sup>) e pré-coluna do mesmo fabricante (4,0 x 2,0 mm, 5 µm); volume de injeção de 20 µL.

Para extração do fármaco, 400 µL das suspensões foram diluídas em metanol (10 µg/mL de betametasona), sonicadas por 10 minutos, submetidas a agitação de 1100 rpm por 20 minutos e 2 minutos de vórtex. As amostras foram filtradas em membrana de celulose (0,45 µm) e injetadas no cromatógrafo para quantificação.

Por fim, a eficiência de encapsulamento foi mensurada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando a técnica de ultrafiltração-centrifugação (Amicon™ 10,000 MW Ultra, Millipore). Para tal, 400 µL da suspensão foi submetida a 2200 xG por 10 minutos. O ultrafiltrado foi coletado e a eficiência de encapsulamento foi determinada pela diferença entre a concentração total de fármaco e a concentração encontrada no ultrafiltrado.

#### 4.4 PREPARAÇÃO DAS FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS

Foram preparadas, com auxílio de gral e pistilo, formulações semissólidas do tipo hidrogel de característica aniônica a partir do polímero Aristoflex® AVC (A). Primeiramente foi realizada a solubilização do conservante (0,6%) no veículo aquoso e posteriormente sua incorporação ao polímero formador de gel até formação e completa homogeneização do semissólido. As formulações consistiram em hidrogéis contendo suspensões de nanocápsulas de DB e OB (A-DBOB<sub>NC</sub>), suspensões de nanocápsulas sem o fármaco (A-OB<sub>NC</sub>) e o fármaco não associado, previamente solubilizado em etanol (A-DB).

A composição quali-quantitativa dos hidrogéis está descrita na tabela 2.

Tabela 2 – Composição qualitativa e quantitativa dos hidrogéis de Aristoflex® AVC (n=3)

Componentes	Quantidades (g)*		
	A-DBOB <sub>NC</sub>	A-OB <sub>NC</sub>	A-DB
DBOB <sub>NC</sub>	24,66	-	-
OB <sub>NC</sub>	-	24,66	-
DB	-	-	0,008
Etanol	-	-	0,5
Aristoflex® AVC	0,1785	0,1785	0,1785
Imidazolidinilureia	0,15	0,15	0,15
Água ultrapura	-	-	24,17

\*Quantidade referente a 25 g de hidrogel.

#### **4.4.1 Caracterização físico-química dos hidrogéis**

##### *4.4.1.1 Análise Macroscópica*

As formulações foram avaliadas visualmente em relação a cor e aparência, e sensorialmente quanto ao odor.

##### *4.4.1.2 Determinação do pH*

A determinação do pH foi realizada com auxílio de potenciômetro previamente calibrado (Modelo PHS-3E, Ionlab) com soluções tampão pH 4,0 e 7,0. As amostras (n=3) foram pesadas e dispersadas em água ultrapura (10%, m/v).

##### *4.4.1.3 Perfil granulométrico das partículas*

O perfil granulométrico foi determinado por difração a laser (Mastersizer<sup>®</sup> 3000E, Malvern Instruments) após dispersão das formulações semissólidas em água ultrapura, sob agitação a 500 rpm, por 30 minutos. Foram avaliados os parâmetros D[4;3] e valor de Span.

##### *4.4.1.5 Avaliação da espalhabilidade*

A determinação da espalhabilidade seguiu a metodologia proposta por Borguetti e Knorst (2006) e adaptada por Rigo e colaboradores (2012). Para tal, as amostras foram introduzidas no orifício central (1 cm) de uma placa molde, a qual foi cuidadosamente retirada para o início do experimento. Após, placas de vidro de pesos conhecidos (total de 10 placas) foram posicionadas sobre a amostra, em intervalos de tempo de 1 minuto, seguida da digitalização da imagem obtida amostra com auxílio do scanner. A partir das imagens capturadas, as áreas foram calculadas com auxílio do software ImageJ (Versão 1.47, National Institutes of Health, EUA).

O fator de espalhabilidade (Fe) foi calculado utilizando a equação a seguir, a qual expressa a capacidade da formulação em expandir em uma superfície quando um grama de peso é adicionado sobre a mesma.

$$Fe = A / P$$

Fe = fator de espalhabilidade ( $\text{mm}^2/\text{g}$ )

A = área máxima de espalhabilidade ( $\text{mm}^2$ )

P = peso total adicionado (g)

#### 4.4.1.6 Avaliação da viscosidade e das propriedades reológicas

A viscosidade e as propriedades reológicas foram avaliadas usando o viscosímetro rotacional Brookfield modelo DV-I+Prime. As análises foram realizadas a  $25 \pm 2$  °C, com auxílio de um banho termostático. O comportamento de fluxo das formulações foi estabelecido de acordo com os modelos de Bingham ( $\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma}$ ), Casson ( $\tau = \tau_0^{0,5} + \eta^{0,5}\dot{\gamma}^{0,5}$ ), Ostwald ( $\tau = \kappa\dot{\gamma}^n$ ) e Herschel-Bulkley ( $\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma}^n$ ), nos quais  $\tau$  equivale à tensão de cisalhamento,  $\tau_0$  o cisalhamento limite,  $\eta$  a viscosidade,  $\kappa$  o índice de consistência,  $n$  o índice de fluxo e  $\dot{\gamma}$  a velocidade de cisalhamento.

#### 4.4.1.7 Determinação do teor de fármaco

Para extração do fármaco foram pesados 0,4 g dos hidrogéis e diluídos em metanol, afim de se obter uma concentração final de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de betametasona. Posteriormente, os hidrogéis foram submetidos a 45 minutos de agitação (1100 rpm), 2 minutos de vórtex e 4 minutos de centrifugação (2500 rpm). As amostras foram filtradas, inicialmente, em filtro quantitativo de 8  $\mu\text{m}$  e, posteriormente, em membrana de celulose (0,45  $\mu\text{m}$ ) para as análises por CLAE, seguindo as condições cromatográficas descritas no item 4.3.

### 4.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

Para condução do estudo de estabilidade, as formulações semissólidas foram envasadas em bisnagas de alumínio e de plástico ( $n=2$ ; embalagem contendo 25 gramas de formulação). As amostras foram mantidas em estufa a temperatura ambiente ( $25 \pm 5$  °C) e umidade em torno de  $50 \pm 10$  %. Em período de 15, 30, 60, 90 e 120 dias as formulações foram avaliadas quanto às características físico-químicas citadas na sessão 4.4.1.

As bisnagas fechadas foram pesadas em balança analítica, imediatamente após o envase e antes da realização dos testes físico-químicos referentes ao estudo de estabilidade, nos diferentes tempos de armazenamento. Assim, pela diferença entre o tempo final e inicial foi

mensurada a perda de peso (g) das formulações em função do tempo, assumindo qualquer perda em massa como perda de componentes do hidrogel.

#### 4.6 AVALIAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE OCLUSIVA DAS FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS

O teste seguiu a metodologia descrita por De Vringer (1995) e adaptada por Patel e colaboradores (2014). Para tal, 25 mL de água ultrapura foram adicionados em um béquer de capacidade de 50 mL, o qual foi coberto por um filtro de porosidade conhecida (12 µm), fechado e mantido em banho termostático sob temperatura controlada (32 ± 1 °C). À superfície de um dos filtros foram adicionados 500 mg da formulação e o outro permanecerá sem formulação (béquer controle). Antes do experimento e após 8, 12 e 24 h, o peso dos béqueres foi determinado e a diferença em peso calculada. A análise foi realizada em triplicata. O fator de oclusão (F) foi determinado usando fórmula abaixo:

$$F = \left( \frac{A - B}{A} \right) \times 100$$

F = fator de oclusão

A = perda de água do béquer controle (mg)

B = perda de água do béquer com formulação (mg)

#### 4.7 ESTUDO *in vitro* DE PENETRAÇÃO/PERMEAÇÃO CUTÂNEA

##### 4.7.1 Dipropionato de betametasona

O experimento foi conduzido utilizando células de difusão do tipo Franz como aparato principal (2,43 cm<sup>2</sup> de diâmetro e 7 mL de meio receptor), as quais foram dispostas em banho termostático (32 ± 1 °C) e mantidas sob agitação (200 rpm) durante 8 horas. O meio receptor de escolha foi o tampão PBS pH 7,4 com 1% de Tween<sup>®</sup> 80, respeitando a condição *sink*. Como membrana biológica foi utilizada a pele de abdômen suíno adquirida de um abatedouro local (Cerro Largo, RS). A pele foi preparada de modo que os pelos ficassem curtos e a gordura subcutânea escassa, com espessura máxima de 2 mm e diâmetro aproximado de 2,5 cm<sup>2</sup> (OECD, 2004).

Os hidrogéis (n=4) contendo o fármaco nanoencapsulado e com o fármaco não associado foram aplicadas sob a pele (0,5 g) e ao fim do experimento as suas camadas foram separadas de modo a avaliar a distribuição do DB através da pele. O estrato córneo foi separado pela técnica de *tape stripping*, realizando 18 tapes consecutivos (Scotch 3M, USA) enquanto a epiderme e a derme foram separadas com auxílio de bisturi após a pele ser submetida a um banho termostático de 60 °C durante um minuto. A extração do fármaco foi realizada utilizando acetonitrila com auxílio de vórtex (2 minutos) e sonicador (15 minutos) e posteriormente quantificado por CLAE.

O método analítico foi validado e se mostrou linear na faixa de concentração de 0,1 a 30 µg/mL. A recuperação (%) do fármaco foi avaliada após contaminação das amostras de pele íntegra com concentrações conhecidas de DB (0,5; 10 e 30 µg/mL) demonstrando a precisão do método ( $99,44 \pm 1,3$  %). Ainda, foi avaliada a especificidade frente a pele e a fita adesiva, concluindo que não houve interferência das matrizes utilizadas na quantificação do fármaco.

#### 4.7.2 Óleo de borragem

A penetração/permeação cutânea *in vitro* dos ácidos graxos presentes do óleo de borragem foi avaliada em um experimento paralelo. O estudo foi conduzido utilizando células de difusão do tipo Franz e a pele de abdômen suíno íntegra como barreira biológica. A pele foi mantida em contato com um meio receptor (tampão PBS 7,4 com 1% de polissorbato 80) por um período de 8 horas. Após, foi removida do aparato e separada em estrato córneo, epiderme e derme como já citado anteriormente.

O experimento foi realizado comparando a pele sem tratamento, de modo a quantificar os ácidos graxos presentes naturalmente em sua estrutura, e uma pele sobre a qual foi aplicada o hidrogel desenvolvido contendo as nanocápsulas de óleo de borragem. Para quantificação dos ácidos graxos a pele foi preparada conforme a metodologia descrita no item 4.2 e levada ao cromatógrafo gasoso.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As amostras foram analisadas e os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A análise estatística foi realizada por Análise de Variância (ANOVA), seguida por testes de comparação múltipla de Tukey e Dunnett, a um nível de significância de 5%, com auxílio do software GraphPad Prism 6.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DE BORRAGEM

A composição dos ácidos graxos do OB está descrita na tabela 3. Os componentes majoritários representam o grupo de ácidos graxos poli-insaturados (57,22%), dentre os quais se destacam o ácido  $\gamma$ -linoleico (GLA- C18:3n6) e o ácido linoleico (C18:2n6c), presentes nas quantidades de 19,60% e 37,05%, respectivamente. Ainda, se pode identificar a presença de ácidos graxos insaturados (25,98%), como ácido oleico (C18:1n9c) e gadoleico (C20:1n9), e também ácidos graxos saturados (16,80%) como os ácidos esteárico (C18:0) e palmítico (C16:0). Quantidades semelhantes as encontradas neste trabalho já foram relatadas anteriormente na quantificação dos ácidos graxos do OB por Li e Shi (2017).

Tabela 3 – Composição de ácidos graxos (% do total de ácidos graxos) quantificados no óleo de borragem por cromatografia gasosa. (OB) Óleo de borragem; (FAME) ésteres metílicos de ácidos graxos padrão.

	<b>OB</b>	<b>FAME</b>
<b>C18:2n6c</b>	37,05	37,01
<b>C18:1n9c</b>	20,55	20,63
<b>C18:3n6</b>	19,60	19,48
<b>C16:0</b>	11,23	11,26
<b>C18:0</b>	5,04	5,06
<b>C20:1n9</b>	4,66	4,71

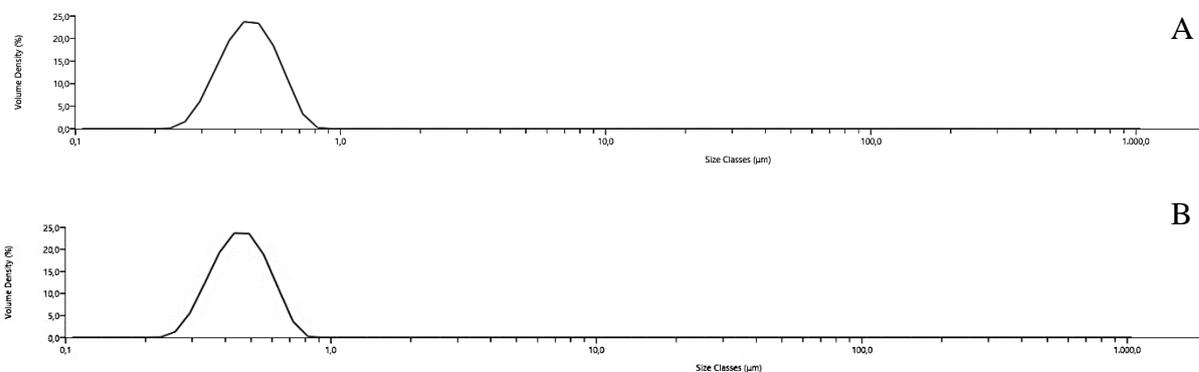
O gênero *Borago* como um todo, no qual está inserida a espécie *Borago officinalis*, se destaca na literatura por apresentar uma quantidade expressiva de GLA em sua composição total de ácidos graxos (BARRE, 2001; GUIL-GUERRERO et al, 2017). A importância da reposição externa desse ácido graxo está relacionada principalmente a insuficiência cutânea da enzima  $\Delta$ -desaturase, a qual é responsável pela sua metabolização a partir do ácido linoleico (LIN; KHNYKIN, 2014). Essa cascata metabólica é essencial para a manutenção da barreira cutânea, evitando a perda de água transepidermica, bem como pela produção de eicosanoides, precursores de substâncias como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, importantes na resposta inflamatória (GUIL-GUERRERO et al, 2017). A redução da atividade ou concentração dessa enzima está relacionada a fatores como o envelhecimento, estresse, diabetes e eczema (ASADI-SAMANI; BAHMANI; RAFIEIAN-KOPAEI, 2014).

Em 2000, Brosche e Platt demonstraram que a reposição externa de OB foi capaz de reduzir em 10% a perda de água transepidermica e reduzir a coceira em pacientes idosos. De Sprit e colaboradores (2008) relataram a diminuição da perda de água transepidermica, aumento da hidratação local e diminuição da descamação da pele de mulheres recebendo dieta oral de OB durante 12 semanas. Kim e colaboradores (2018) evidenciaram a capacidade de restauração do pH da pele a partir da ingestão do OB (60 g/kg) em porquinhos-da-índia, possivelmente por auxiliar no aumento de lactato cutâneo e dos ácidos graxos livres.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOCÁPSULAS DE NÚCLEO LIPÍDICO

Tendo em vista as vantagens terapêuticas da associação do OB e DB, nanocápsulas foram preparadas objetivando sua posterior incorporação em hidrogéis. A partir dos resultados pode-se observar que as suspensões, independente da presença do fármaco, apresentaram característica de distribuição granulométrica na faixa nanométrica (D[4;3] de 0,461  $\mu\text{m}$  para DBOB<sub>NC</sub> e 0,464  $\mu\text{m}$  para OB<sub>NC</sub>) com adequada homogeneidade de partículas (valores de Span inferiores a 1), como ilustrado na figura 1. A técnica de espectroscopia de correlação de fótons indicou tamanho médio de partículas de  $192 \pm 6$  nm para suspensões com o fármaco e  $191 \pm 6$  nm para as suspensões ausentes de fármaco. O índice de polidispersão foi de  $0,1 \pm 0,01$  para ambas formulações, corroborando com os dados obtidos por difração a laser.

Figura 1 - Perfil de distribuição granulométrica das suspensões de nanocápsulas. (A) DBOB<sub>NC</sub>; (B) OB<sub>NC</sub>.



Fonte: autor.

O potencial zeta se mostrou negativo para ambas suspensões (DBOB<sub>NC</sub>:  $-7,31 \pm 0,9$  mV; OB<sub>NC</sub>:  $-11,2 \pm 1,9$  mV), fato que está relacionado à característica do polímero utilizado, o qual apresenta grupamentos –COOH terminais, e à presença de micelas de Tween<sup>®</sup> 80 na interface das partículas (DASH, KONKIMALLA, 2012; DE BRUM et al., 2015).

O pH das formulações se manteve dentro da faixa de compatibilidade com a pele sendo favorável para administração por via cutânea. A presença do fármaco nas suspensões reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o pH ( $5,48 \pm 0,04$ ) quando comparado às formulações ausentes de fármaco ( $6,27 \pm 0,32$ ), possivelmente pela característica levemente ácida do DB. As suspensões apresentaram eficiência de encapsulamento de 99,88% e teor de fármaco próximo ao valor teórico ( $105,4 \pm 0,32\%$ ), o qual se manteve estável por um período de 30 dias.

Weber e colaboradores (2015) desenvolveram nanocápsulas de PCL contendo DB na concentração de 0,5 mg/mL, as quais foram estáveis por um período de 15 dias. No presente estudo se pode perceber que a redução da concentração de substância ativa (0,25 mg/mL) foi capaz de aumentar a estabilidade das suspensões em duas vezes.

Ainda, os valores de caracterização encontrados para as suspensões de nanocápsulas de PCL estão de acordo com outros trabalhos da literatura que empregam a mesma metodologia de preparação. Harter (2013) desenvolveu nanocápsulas (PCL) de tioconazol com tamanho nanométrico (150 a 200 nm), homogeneidade de partículas (IPD  $< 0,1$ ), potencial zeta negativo (-8 a -11 mV) e pH compatível com a aplicação cutânea (5,5 a 6,3). Ainda, Rigo e colaboradores (2017) desenvolveram nanocápsulas (PCL) de deflazacort, as quais apresentaram tamanho médio em torno de 200 nm, potencial zeta negativo (-8 mV) e distribuição granulométrica unimodal, com valor de Span inferior a 1,7. Zuglianello e colaboradores (2017) observaram a distribuição unimodal (valor de Span em torno de 1,5) de suspensões de nanocápsulas de PCL contendo tretinoína.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS

A incorporação de suspensões de nanocápsulas em formas farmacêuticas semissólidas se torna importante e objetiva contornar instabilidades físico-químicas das formas líquidas, pela adequação e comodidade da via de administração ou, ainda, por auxiliar na terapêutica, tendo em vista as propriedades de oclusão e hidratação que tais formulações podem apresentar (ANTONIO et al, 2012). Os hidrogéis, por definição, consistem em redes poliméricas tridimensionais capazes de incorporar grandes quantidades de água, fato que está relacionado a

numerosa presença de grupamentos hidrofílicos em sua estrutura (HAMIDI, AZADI, RAFIEI, 2008).

Buscando uma terapia localizada ao local da lesão e minimizar os efeitos adversos advindos da administração sistêmica, foram desenvolvidos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC a partir das suspensões de nanocápsulas (A-DBOB<sub>NC</sub> e A-OB<sub>NC</sub>) e um hidrogel com fármaco não associado (A-DB) para fins de comparação.

Assim, no que se refere à caracterização, todos os hidrogéis se mostraram homogêneos e com odor característico de seus constituintes, majoritariamente do polímero formador de gel de escolha. Os hidrogéis contendo as suspensões de nanocápsulas, com a presença de fármaco ou não, apresentaram coloração branca, ao passo que o hidrogel contendo o fármaco não associado se mostrou translúcido, como ilustrado na figura 2.

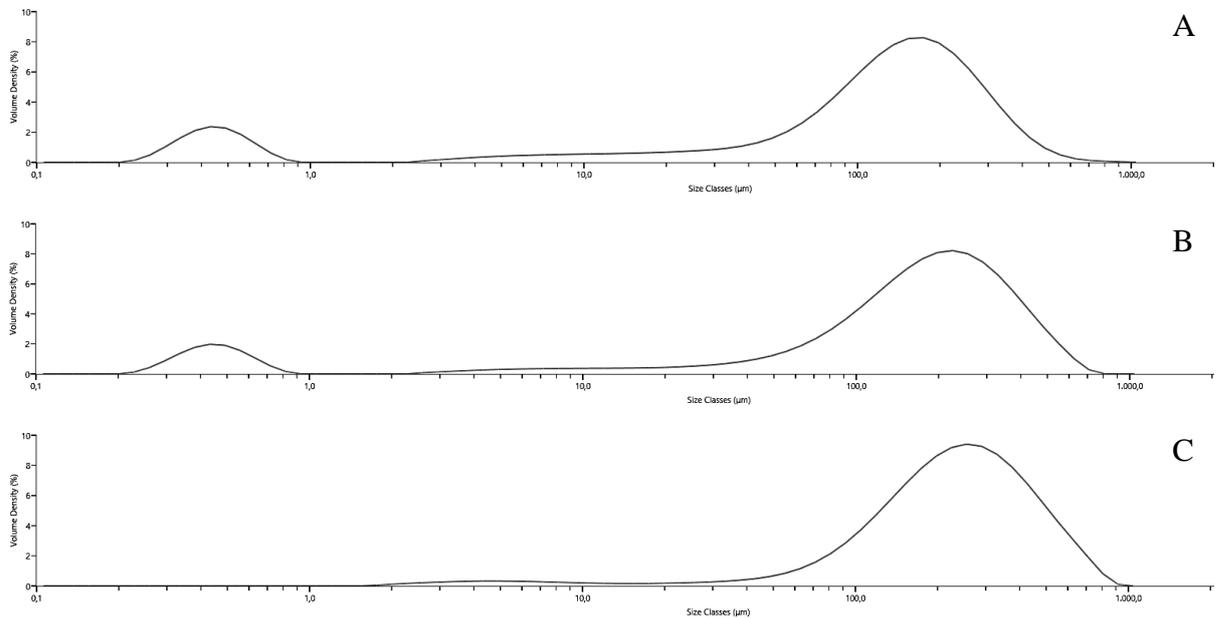
Figura 2 – Aspecto macroscópico dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC. (A) A-DBOB<sub>NC</sub>; (B) A-OB<sub>NC</sub>; (C) A-DB.



Fonte: autor.

Após a incorporação das suspensões de nanocápsulas nos hidrogéis pode se observar uma distribuição granulométrica bimodal (Figura 3), com uma concentração de partículas na faixa nanométrica ( $<1 \mu\text{m}$ ) e uma acima de  $100 \mu\text{m}$ , fato que está relacionado a presença do polímero formador de gel e do conservante utilizados na preparação das formulações. Assim, se obteve valores de Span superiores para as formulações contendo as nanocápsulas em comparação ao hidrogel contendo o fármaco não associado, o qual demonstrou distribuição unimodal, com população na faixa micrométrica. Um perfil de distribuição semelhante foi observado por Cardoso e colaboradores (2018) após a incorporação de nanocápsulas de fenitoína em hidrogéis de quitosana.

Figura 3 – Distribuição granulométrica dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC. (A) A-DBOB<sub>NC</sub>; (B) A-OB<sub>NC</sub>; (C) A-DB



Fonte: autor.

A partir da análise por espectroscopia de correlação de fótons se evidenciou a manutenção do diâmetro médio das nanopartículas após sua incorporação nas formulações semissólidas (tabela 4), independente da presença de fármaco. Apesar disso, a dispersão da amostra aumentou em decorrência da presença dos componentes do hidrogel, fato observado pelo índice de polidispersão superior a 0,14 para ambas formulações. Esses resultados estão de acordo com o evidenciado por Harter (2013) que após a incorporação de nanocápsulas de tioconazol em hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC observou a manutenção do diâmetro médio das partículas (170 – 200 nm) e um aumento do índice de polidispersão das amostras (0,17 – 0,24).

Tabela 4 - Valores de D[4;3], Span, diâmetro médio das partículas (DM) e índice de polidispersão (IPD) encontrados pelas técnicas de difração de laser e espectroscopia de correlação de fótons na caracterização dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC.

	<b>DM (nm)</b>	<b>D [4;3] (µm)</b>	<b>IPD</b>	<b>Span</b>
<b>A-DBOB<sub>NC</sub></b>	203 ± 2 <sup>a</sup>	127 ± 20 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,43 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>A-OB<sub>NC</sub></b>	193 ± 6 <sup>a</sup>	206 ± 16 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,30 ± 0,2 <sup>a</sup>
<b>A-DB</b>	553 ± 258 <sup>a</sup>	257 ± 33 <sup>b</sup>	0,55 ± 0,18 <sup>b</sup>	1,84 ± 0,1 <sup>b</sup>

\*letras diferentes na mesma coluna indicam que há diferença estatisticamente significativa (p<0,01).

No que se refere ao pH, todas as formulações se adequaram à faixa de pH da pele (6,22 – 6,32), assim como outras preparações com o mesmo polímero formador de gel desenvolvidos por Harter (2013) e Frizzo (2019). A preparação do hidrogel a partir das nanocápsulas com o fármaco promoveu um aumento do pH da amostra (p<0,05), enquanto que as suspensões sem o fármaco mantiveram seu pH de origem após a preparação. Por fim, o hidrogel contendo o fármaco não associado não apresentou diferença estatisticamente significativa à formulação com o fármaco nanoencapsulado (p>0,05).

A concentração de betametasona foi próxima ao valor teórico (0,25 mg/g) para ambas as formulações, evidenciando que não houve perda de fármaco durante o processo de preparação dos hidrogéis, como indicado na tabela 5.

Tabela 5 – Valores de pH, teor e fator de espalhabilidade (FE) encontrados na caracterização dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC.

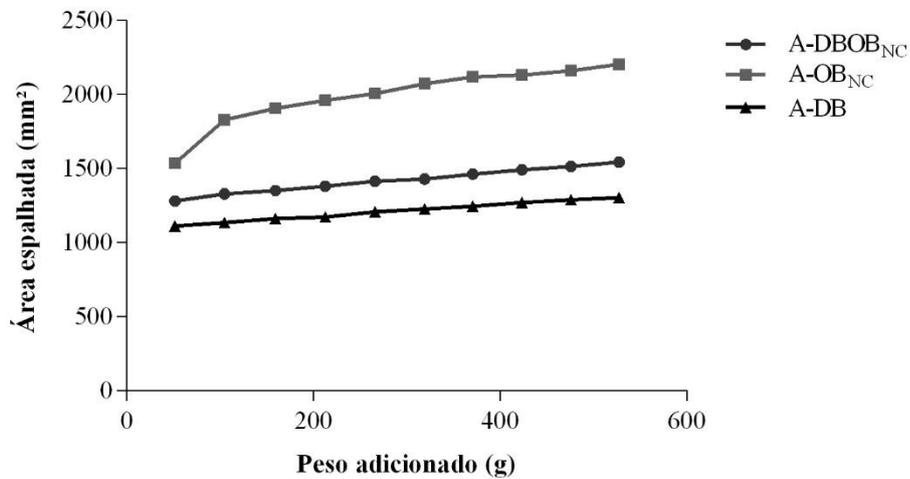
	<b>pH</b>	<b>Teor (mg/g)</b>	<b>FE (mm<sup>2</sup>/g)</b>
<b>A-DBOB<sub>NC</sub></b>	6,32 ± 0,01	0,25 ± 0,01	2,93 ± 0,31 <sup>a</sup>
<b>A-OB<sub>NC</sub></b>	6,45 ± 0,06	-	5,09 ± 0,23 <sup>b</sup>
<b>A-DB</b>	6,22 ± 0,01	0,25 ± 0,01	2,48 ± 0,11 <sup>a</sup>

\*letras diferentes em colunas iguais indicam que há diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

A espalhabilidade é um parâmetro que nos indica o quanto de força será necessária para que uma formulação expanda sobre a área de aplicação desejada. Além disso, é um parâmetro indicativo de mudanças físicas na amostra através do tempo, por exemplo (KNORST, 1991; RIGO et al, 2012). Para ser mensurada é calculado o fator de espalhabilidade (FE), o qual leva em consideração a área espalhada (mm<sup>2</sup>) sob determinada força aplicada (gramas).

A partir dos resultados encontrados se pode observar a influência da presença do fármaco, seja encapsulado ou não, no FE das formulações. Como descrito na tabela 5, o hidrogel ausente de fármaco mostrou um FE significativamente superior ( $p < 0,05$ ) às demais amostras ( $5,09 \pm 0,23 \text{ mm}^2/\text{g}$ ), fato que pode ser observado também no perfil de espalhabilidade apresentado na figura 4.

Figura 4 – Representação gráfica do perfil de espalhabilidade ( $\text{mm}^2/\text{g}$ ) dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC.



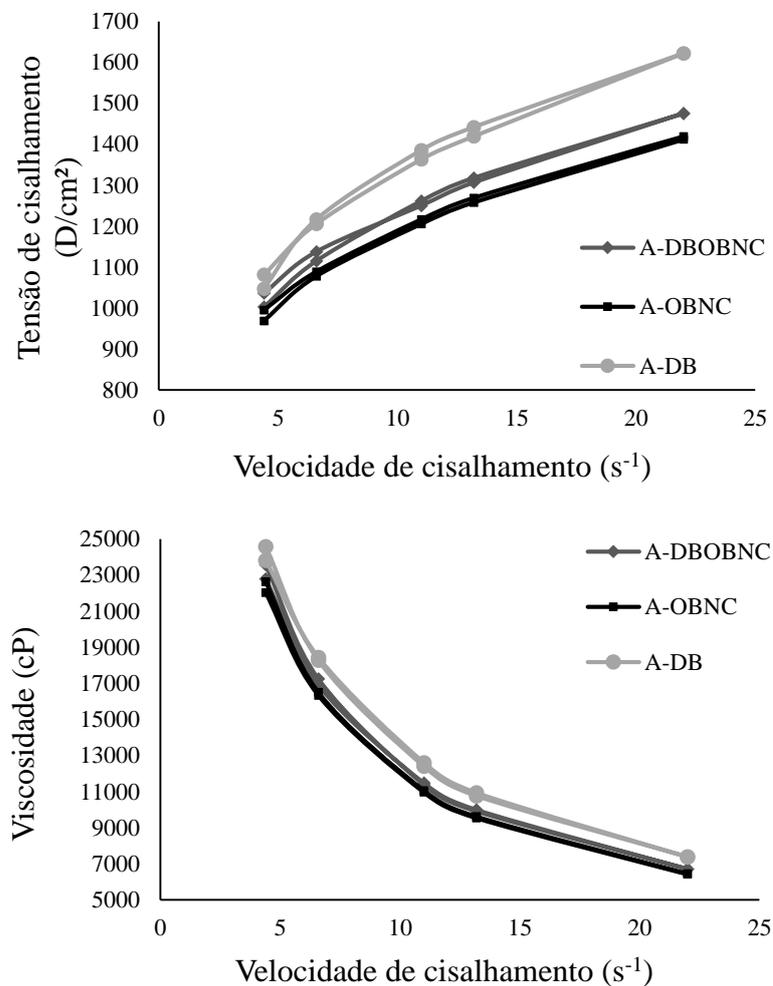
Fonte: autor.

Por fim, a viscosidade é um parâmetro reológico importante quando tratamos de formulações semissólidas. Ela é capaz de prever a força com que uma formulação será retirada de seu material de envase ou espalhada na área desejada, por exemplo, bem como seu comportamento frente a fatores como tempo e temperatura. Como podemos observar na figura 5, todas as formulações desenvolvidas apresentaram comportamento de fluxo não-Newtoniano, visto que não há uma relação linear entre os parâmetros velocidade de cisalhamento e tensão de cisalhamento. Essa característica se mostra comum na literatura de preparações semissólidas preparadas a partir de suspensões de nanocápsulas (SAVIAN, 2012; HARTER, 2013; RIGON et al, 2019).

Ao analisar os resultados pelo modelo de *Power Law* (lei das potências), verificou-se o comportamento pseudoplástico dos hidrogéis ( $r > 0,999$ ,  $n < 1$ ). Desta forma, ao analisar um ponto

de cisalhamento específico, seja ele qual for, se percebe uma menor resistência ao fluxo da formulação contendo as nanocápsulas sem o fármaco associado em relação as demais, corroborando com os dados encontrados no estudo de espalhabilidade. Resultados semelhantes foram encontrados por Kulkamp-Guerreiro e colaboradores (2012), em que os hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC contendo nanocápsulas de ácido lipoico demonstraram pseudoplastia. Ainda, foi possível observar que não houve interferência da presença das nanopartículas na característica reológica das formulações.

Figura 5 – Reogramas dos hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC.



Fonte: autor.

Adicionalmente, a avaliação das propriedades físico-químicas de uma formulação comercial de dipropionato de betametasona foi, também, realizada.

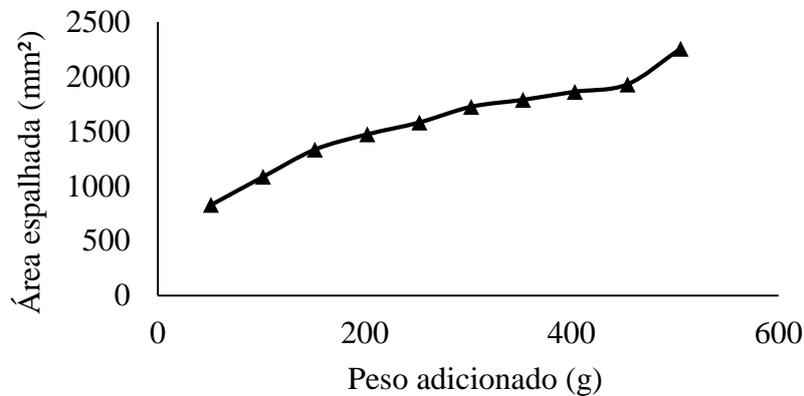
O DB pode ser encontrado comercialmente nas formas farmacêuticas creme, pomada ou loção, na concentração de 0,5 mg/g ou mg/mL de betametasona. Ainda, pode ser manipulado em combinação a outros ativos, como por exemplo o ácido salicílico, sulfato de gentamicina e o fosfato dissódico de betametasona, o qual possui também a forma de solução injetável. As formas farmacêuticas semissólidas destinadas a aplicação tópica do DB isolado são acondicionadas em bisnagas de alumínio, podendo variar em 10 ou 30 gramas de formulação (ANVISA, 2017).

Os cremes são emulsões, estabilizadas por tensoativos e destinadas a aplicação externa, aos quais podem ser incorporados fármacos de caráter lipofílico ou hidrofílico. As emulsões O/A são cremes considerados aquosos, os quais podem promover uma hidratação suave do local de aplicação a partir da doação de água da fase externa (BERMAR, 2014). O creme de DB, forma farmacêutica de escolha neste trabalho, é composto por uma cera emulsionante não-iônica, petrolato líquido, oleato de decila, simeticona, propilenoglicol e uma mistura de conservantes do grupo dos parabenos (etil, metil, butil e propilparabeno) mais o fenoxietanol (EMS, 2018).

Desta forma, foi realizada a caracterização do creme comercial. A análise da distribuição granulométrica evidenciou populações na faixa micrométrica ( $D[4;3] = 64 \pm 3 \mu\text{m}$ ), resultado também encontrado para o DM por espectroscopia de correlação de fótons ( $2512,69 \pm 291 \text{ nm}$ ). Ambas as técnicas mostraram um alto índice de heterogeneidade de partículas resultando em um IPD superior a 0,8 ( $0,83 \pm 0,18$ ) e um valor de Span próximo a 4 ( $3,98 \pm 0,21$ ). Ainda, o pH da formulação se mostrou compatível com a aplicação tópica ( $6,12 \pm 0,28$ ) e semelhante ao dos hidrogéis desenvolvidos neste trabalho, figurando dentro da faixa de pH cutânea.

No que se refere à espalhabilidade, a formulação comercial apresentou um FE de  $4,46 \pm 0,81 \text{ mm}^2/\text{g}$ , indicando que para cada grama de força aplicada sobre a formulação esta irá espalhar uma área correspondente a  $4,46 \text{ mm}^2$ . Quando comparado aos hidrogéis contendo as nancâpsulas, apresentou FE estatisticamente semelhante ( $p > 0,05$ ) ao A-OB<sub>NC</sub> e superior as demais formulações, ou seja, necessita de uma menor força pra que seja espalhado por uma mesma área. O perfil de espalhabilidade do creme comercial está representado na figura 6.

Figura 6 – Representação gráfica do perfil de espalhabilidade ( $\text{mm}^2/\text{g}$ ) do creme comercial de DB.

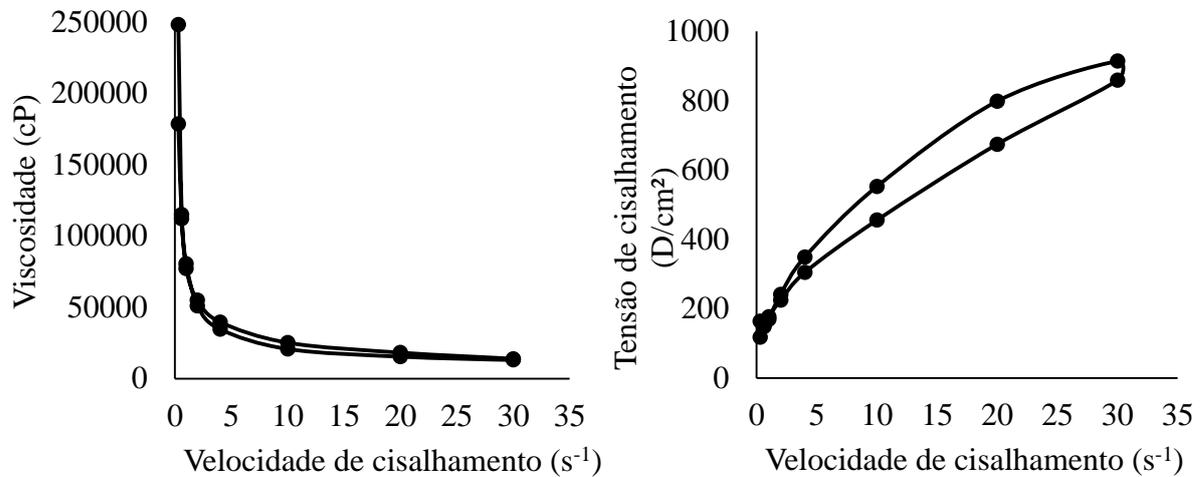


Fonte: autor.

Por fim, a formulação comercial apresentou comportamento de fluxo não-Newtoniano, no qual não há uma relação linear entre a velocidade de cisalhamento e a tensão de cisalhamento. Ainda, a análise reológica demonstrou que o creme comercial melhor se adequou ao modelo de Casson, exibindo um coeficiente de regressão superior a 0,999. A modelagem de Casson caracteriza formulações plásticas, as quais necessitam de uma força inicial mínima para iniciar o escoamento. Os reogramas do creme comercial estão ilustrados na figura 7.

Mazzarino e Knorst (2007) desenvolveram cremes O/A de característica não-iônica para incorporação da nimesulida. Esses semissólidos também apresentaram comportamento não-Newtoniano e características plásticas, se adequando a modelagem de Casson.

Figura 7 – Representação gráfica dos reogramas do creme comercial de DB.



Fonte: autor.

#### 5.4 ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS HIDROGÉIS

Buscando avaliar o comportamento das formulações em decorrência do tempo, foram escolhidas duas embalagens primárias distintas para o acondicionamento dos hidrogéis e condução do estudo de estabilidade. As bisnagas são embalagens comumente utilizadas pela indústria farmacêutica para o envase de formulações semissólidas, tais como géis, cremes e pomadas. Majoritariamente são utilizadas as bisnagas de alumínio e, ainda em crescimento no mercado, as bisnagas de plástico. Assim, essas foram as escolhidas para o seguimento deste trabalho.

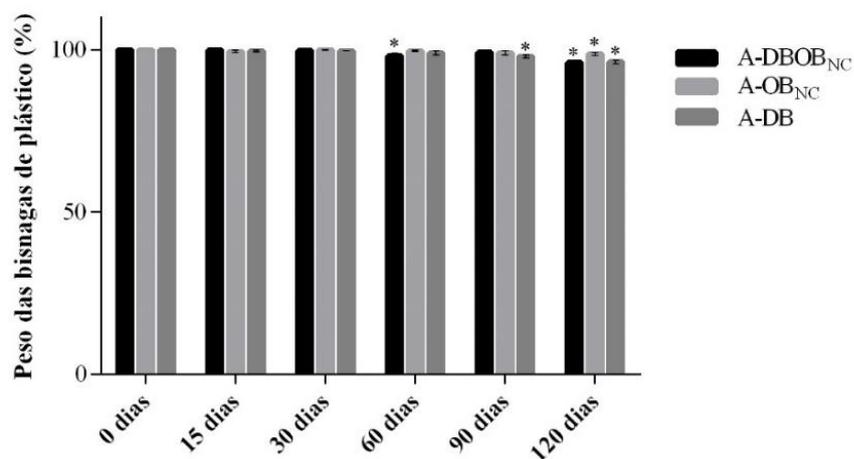
Os hidrogéis foram preparados conforme composição quali-quantitativa descrita no item 4.4. Após a preparação, as formulações foram acondicionadas em bisnagas de plástico e alumínio (n=2/embalagem), pesadas, armazenadas em estufa com temperatura controlada de  $25 \pm 5$  °C e em períodos de tempo pré-determinados (15, 30, 60, 90 e 120 dias). Os seguintes parâmetros foram analisados: análise macroscópica, peso das bisnagas, distribuição granulométrica, tamanho médio de partículas, índice de polidispersão, pH, teor e espalhabilidade.

Todas as formulações mantiveram o odor característico de seus constituintes durante todo o estudo, estando mais pronunciado o odor do polímero formador de gel. Quando analisada a coloração foi percebida uma mudança nas formulações contendo as nanoestruturas armazenadas nas bisnagas de plástico, as quais a partir dos três meses de estudo passaram a

apresentar coloração levemente amarelada. Visualmente, em relação à homogeneidade, não houve mudança perceptível em nenhuma das formulações, independente da embalagem de acondicionamento. Ainda, a partir de dois meses de armazenamento, pode-se notar a formação de pequenas gotículas de água na parte interna inferior das bisnagas de alumínio em todas as formulações.

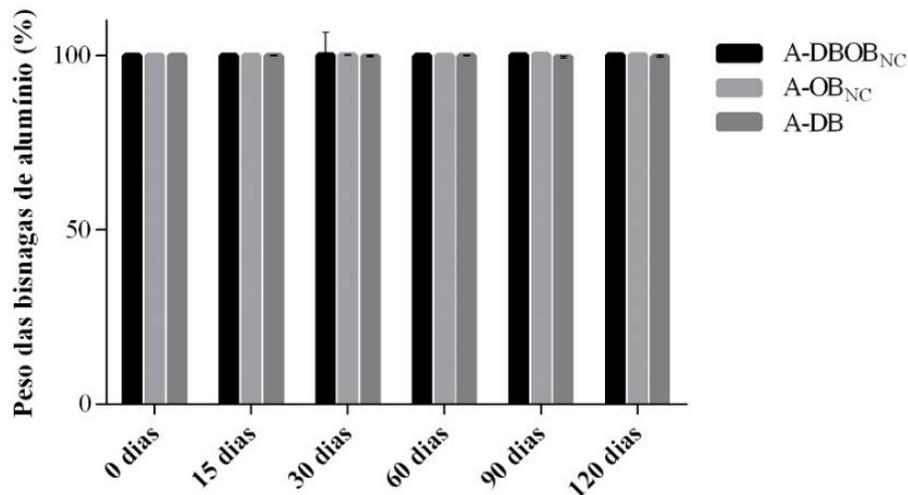
Por conseguinte, anterior a retirada dos hidrogéis de suas embalagens, as mesmas foram pesadas de forma a se mensurar a perda de peso total em relação ao tempo zero (após preparação), considerando qualquer perda como perda de amostra. Como indicado na figura 9, as bisnagas de alumínio foram capazes de manter o peso inicial das amostras durante os 120 dias de estudo, não havendo nenhuma perda significativa ( $p > 0,05$ ) durante esse período. Em contrapartida, houve uma perda estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), porém isolada, nas bisnagas de plástico (figura 8) contendo os hidrogéis com fármaco nanoencapsulado a partir dos 60 dias de armazenamento. Ainda, nas bisnagas de plástico, aos 90 dias, essa perda foi verificada nas formulações que possuíam o fármaco não associado às nanoestruturas e, ao fim dos 120 dias, foi possível observar uma perda significativa em todas as formulações.

Figura 8 – Peso (%) total das bisnagas de plástico em relação ao tempo zero. \*: diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao peso (%) inicial. Estatística realizada por ANOVA, seguida de teste de comparações múltiplas de Dunnett.



Fonte: autor

Figura 9 – Peso (%) total das bisnagas de alumínio em relação ao tempo zero. \*: diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao peso (%) inicial. Estatística realizada por ANOVA, seguida de teste de comparações múltiplas de Dunnett.



Fonte: autor.

Os resultados a longo prazo reafirmam vantagens importantes das bisnagas de alumínio frente às bisnagas plásticas. Embalagens metálicas fabricadas a partir do alumínio demandam um revestimento interno com a finalidade de isolar o produto do contato com o metal. Esse revestimento normalmente é feito a partir de materiais orgânicos, formando uma fina camada interna, de forma a não produzir impacto direto na fabricação e maleabilidade dessas embalagens. Além disso, esse revestimento é responsável por impermeabilizar a embalagem frente a gases, oxigênio e luz, desta forma, impedindo a saída de água do produto para o exterior da embalagem (BAUER, 2009).

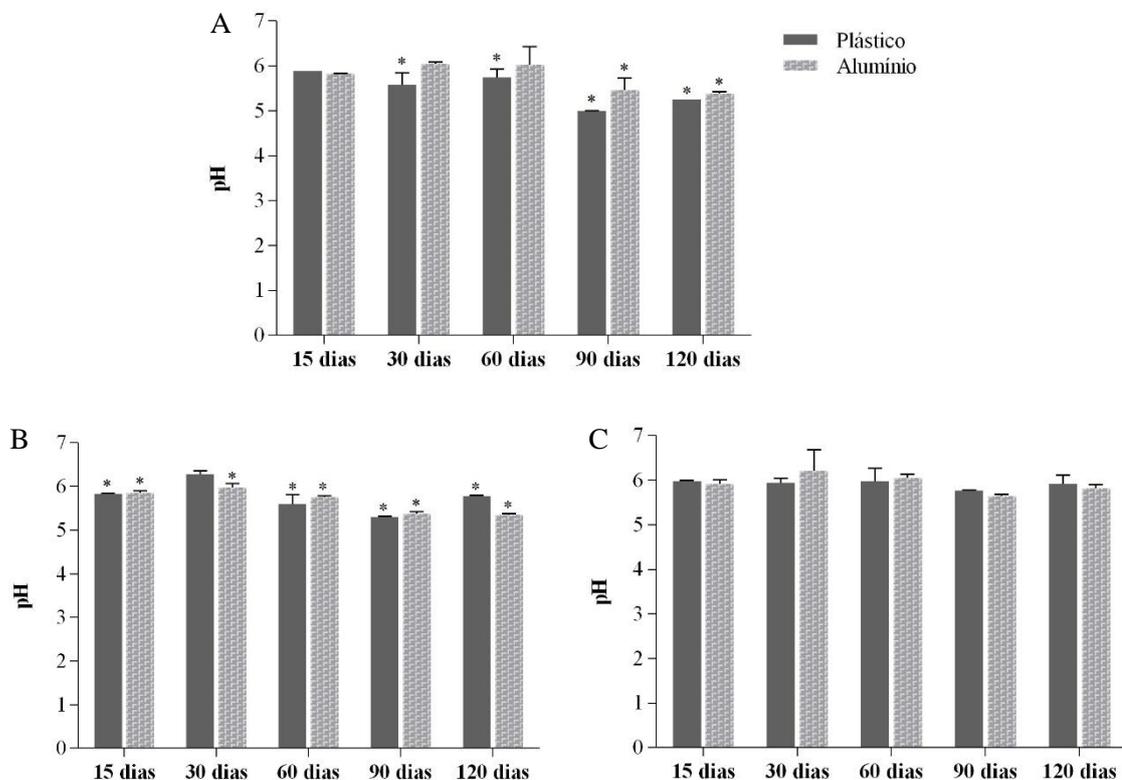
Em contrapartida, as embalagens plásticas, apesar de serem preferíveis quanto à facilidade de envase ou *design*, apresentam inúmeras desvantagens que acabam as desfavorecendo no mercado farmacêutico. Entre elas está sua baixa resistência à temperatura, luz, solventes e oxigênio. Apesar da possibilidade de revestimento desses materiais para promover certa impermeabilidade, por exemplo, o risco de migração desses aditivos para o produto acaba sendo um grande risco (BAUER, 2009).

No que se refere ao pH, nenhuma das formulações apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado o tipo de material de embalagem em um tempo específico. Para os hidrogéis contendo o fármaco não associado, houve a manutenção do pH do tempo inicial ( $6,22 \pm 0,01$ ) até os 120 dias (Alumínio:  $5,92 \pm 0,3$  Plástico:  $5,81 \pm 0,1$ ), independente do

material de embalagem. Em contrapartida, as formulações contendo as nanocápsulas com o fármaco, quando acondicionadas nas bisnagas de alumínio, demonstraram uma redução no pH a partir dos 90 dias, enquanto que nas bisnagas de plástico essa redução iniciou aos 30 dias. Ainda, quando observadas as nanocápsulas ausentes de DB, a redução no pH se mostrou significativa em relação ao tempo zero e a partir dos 15 dias em ambos os tipos de bisnaga. Os valores de pH estão representados na figura 10.

A redução de pH das formulações contendo as nanoestruturas pode se dar ao fato da possível hidrólise ou ionização das cadeias carboxílicas terminais do polímero PCL quando em contato com o meio aquoso (BARTNIKOWSKY, 2019). Ainda, a interação pode ter sido mais pronunciada nas bisnagas de plástico pela maior permeabilidade da embalagem com o meio externo, facilitando possíveis interações de oxigênio e água com a formulação semissólida (BAUER, 2009).

Figura 10 – Valores de pH em função do tempo (dias) para os hidrogéis. (A) A-DBOB<sub>NC</sub>; (B) A-OB<sub>NC</sub>; (C) A-DB. \*: diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao pH do tempo 0 dias.



Fonte: autor.

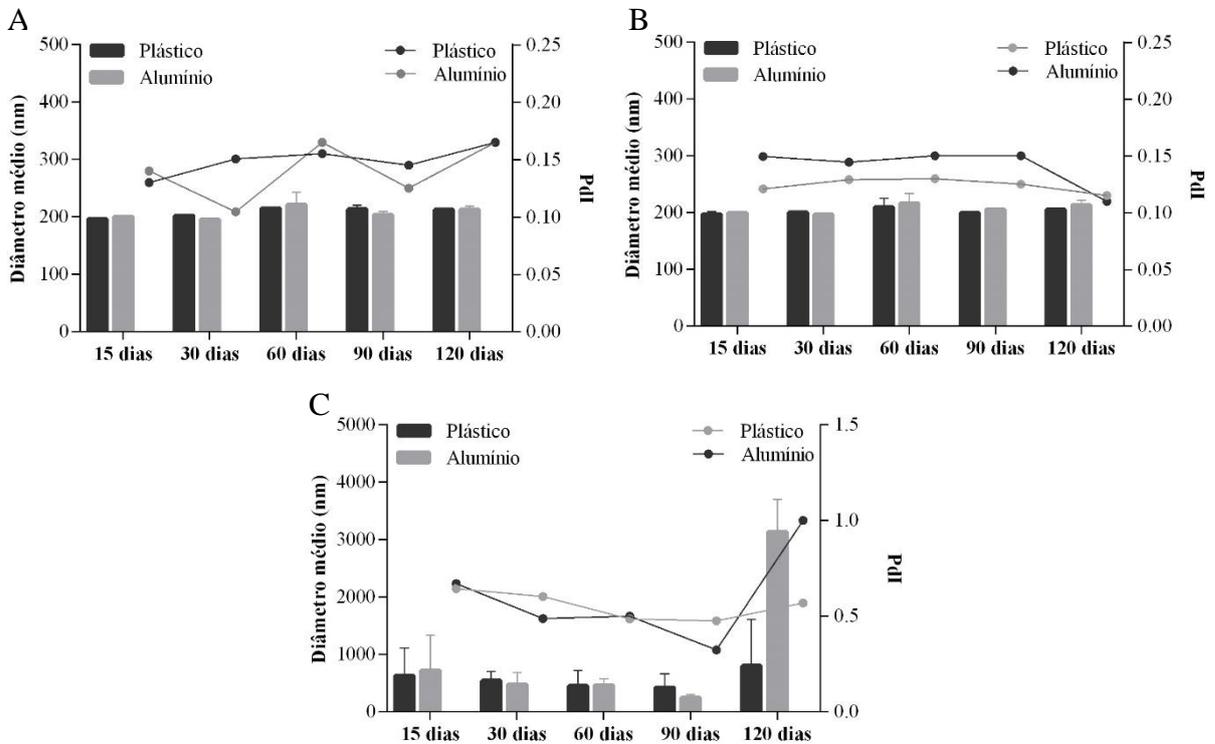
Com o objetivo de observar a manutenção ou não do tamanho médio das nanocápsulas, se optou por realizar o acompanhamento desse parâmetro pela técnica de espectroscopia de correlação de fótons. Essa técnica apresenta maior sensibilidade na faixa nanométrica, indicando o diâmetro médio dessas partículas e sua homogeneidade em suspensão.

Assim, no que se refere ao diâmetro médio de partículas, as formulações contendo as nanocápsulas, com fármaco associado ou não, apresentaram tamanho médio em torno de 200 nm, mantendo seus parâmetros originais durante os 120 dias de armazenamento e não demonstrando nenhuma influência do material de embalagem quando analisados os tempos de estudo isolados. Ainda, se pode confirmar a homogeneidade dessas partículas a partir dos valores de IPD, os quais se mantiveram abaixo de 0,17 para A-DBOB<sub>NC</sub> e 0,15 para A-OB<sub>NC</sub>.

A manutenção do diâmetro médio e homogeneidade de partículas é uma característica muito relevante para os sistemas nanoestruturados. Modificações nesses parâmetros no decorrer do tempo podem influenciar fatores como liberação e proteção do fármaco, interação com o estrato córneo e consequente permeação da substância ativa (POHLMANN et al, 2016). Logo, os resultados obtidos se mostram favoráveis. Kelmann e colaboradores (2018) observaram um aumento do diâmetro médio e heterogeneidade de nanoemulsões quando incorporadas em hidrogéis de Aristoflex<sup>®</sup> AVC após 90 dias de armazenamento, a 8 °C.

Em contrapartida, para os hidrogéis preparados com o fármaco não associado foram observados valores de IPD superiores a 0,33 durante os quatro meses de armazenamento, demonstrando a baixa homogeneidade das partículas na formulação. O diâmetro médio desses hidrogéis variaram entre 248 a 3136 nm, acarretando na ausência de diferença estatisticamente significativa entre as formulações ( $p > 0,05$ ), com exceção dos 120 dias do hidrogel armazenado na bisnaga de alumínio (IPD: 1,0; DM:  $3136 \pm 570$  nm). Os dados de diâmetro médio de partículas e índice de polidispersão das formulações estão ilustrados na figura 11.

Figura 11 – Diâmetro médio de partículas (nm) e índice de polidispersão dos hidrogéis nos seus respectivos materiais de embalagem em função do tempo (dias). (A) A-DBOB<sub>NC</sub>; (B) A-OB<sub>NC</sub>; (C) A-DB.



Fonte: autor.

Após confirmar a manutenção do diâmetro médio das nanopartículas, se buscou observar a distribuição granulométrica da totalidade de partículas presentes na formulação, estejam elas na faixa nanométrica ou micrométrica. Desta forma, a partir da técnica de difração a laser, foram avaliadas a distribuição média das partículas a partir do parâmetro D[4;3] e a homogeneidade desses sistemas pelo valor de Span.

Analisando cada tempo individualmente se observou a ação do material de embalagem na distribuição granulométrica, representado pelos valores de D[4;3], apenas aos 120 dias de armazenamento do hidrogel A-OB<sub>NC</sub>. Nos demais tempos e hidrogéis, a influência do material de embalagem não foi significativa ( $p > 0,05$ ). Quando avaliado o comportamento das formulações semissólidas em suas respectivas bisnagas no decorrer do tempo, se pode notar a manutenção do perfil granulométrico, como descrito na tabela 6.

Tabela 6 – Valores de D[4;3] ( $\mu\text{m}$ ) em função do tempo de armazenamento. P: bisnagas de plástico; A: bisnagas de alumínio.

	A-DBOB <sub>NC</sub>		A-OB <sub>NC</sub>		A-DB	
	P	A	P	A	P	A
<b>15 dias</b>	223 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	152 $\pm$ 40 <sup>a</sup>	149 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	158 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	288 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	258 $\pm$ 41 <sup>a</sup>
<b>30 dias</b>	171 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	174 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	189 $\pm$ 20 <sup>a</sup>	193 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	292 $\pm$ 69 <sup>a</sup>	302 $\pm$ 16 <sup>a</sup>
<b>60 dias</b>	221 $\pm$ 25 <sup>a</sup>	179 $\pm$ 36 <sup>a</sup>	172 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	183 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	247 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	212 $\pm$ 20 <sup>a</sup>
<b>90 dias</b>	165 $\pm$ 5 <sup>b</sup>	163 $\pm$ 28 <sup>a</sup>	180 $\pm$ 25 <sup>a</sup>	201 $\pm$ 34 <sup>a</sup>	235 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	226 $\pm$ 28 <sup>a</sup>
<b>120 dias</b>	177 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	164 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	138 $\pm$ 18 <sup>a</sup>	189 $\pm$ 38 <sup>a</sup>	197 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	258 $\pm$ 47 <sup>a</sup>

\*letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

De maneira geral, durante os 120 dias de estudo, os hidrogéis contendo as nanocápsulas apresentaram valores de Span médio maior (A-DBOB<sub>NC</sub>:  $2,59 \pm 0,3$ ; A-OB<sub>NC</sub>:  $2,46 \pm 0,3$ ) quando comparados ao hidrogel contendo o fármaco não associado (A-DB:  $2,01 \pm 0,2$ ). Esse valor superior de Span pode estar relacionado a presença de duas distintas populações, uma na faixa submicrométrica e outra acima de 100  $\mu\text{m}$ , as quais aumentam a heterogeneidade das partículas da formulação. Ainda, não se observou nenhuma diferença significativa neste parâmetro quando analisados os tipo de embalagem em cada tempo isolado, independente da formulação preparada. Esses dados demonstram que as formulações foram capazes de manter o perfil de distribuição granulométrica no decorrer dos 4 meses de estudo.

Ainda, foi avaliada a concentração de betametasona nos hidrogéis no decorrer do tempo. Ao analisar os dados, não foi possível estabelecer uma relação de variação entre o tipo de hidrogel e material de embalagem em função do tempo, tendo em vista algumas variáveis que ocorreram durante as análises. Em alguns casos, os cromatogramas indicaram picos impuros, dificultando a quantificação do fármaco de maneira isolada. Desta forma, os resultados obtidos flutuam de 84 a 134% de teor de substância ativa, como indicado na tabela 7.

Tabela 7 – Teor de betametasona (%) nos hidrogéis *versus* o tempo de armazenamento.

	15 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
<b>A-DBOB<sub>NC</sub></b>					
Plástico	98 ± 4	84 ± 0,3	91 ± 13	134 ± 10	99 ± 5
Alumínio	101 ± 2	96 ± 8	97 ± 7	99 ± 2	103 ± 2
<b>A-DB</b>					
Plástico	99 ± 2	101 ± 4	98 ± 1	97 ± 2	101 ± 1
Alumínio	102 ± 3	103 ± 1	94 ± 9	99 ± 5	95 ± 4

Por fim, foi realizado o estudo do fator de espalhabilidade dos hidrogéis desenvolvidos no decorrer dos 120 dias de armazenamento (Tabela 8). Quando analisado o tipo de material de embalagem em cada tempo e para cada formulação, não foi evidenciada nenhuma diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Tabela 8 – Fator de espalhabilidade ( $\text{mm}^2/\text{g}$ ) dos hidrogéis em função do tempo. A: bisnagas de alumínio; P: bisnagas de plástico.

	A-DBOB <sub>NC</sub>		A-OB <sub>NC</sub>		A-DB	
	P	A	P	A	P	A
<b>0 dias</b>	2,93 ± 0,3 <sup>a</sup>	2,93 ± 0,3 <sup>a</sup>	5,09 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,09 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,48 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,48 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>60 dias</b>	3,67 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,73 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,02 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,82 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,92 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,1 <sup>a</sup>
<b>120 dias</b>	3,71 ± 0,8 <sup>b</sup>	2,97 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,70 ± 0,5 <sup>b</sup>	2,94 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,44 ± 0,9 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,2 <sup>a</sup>

\*: letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

As modificações no FE ficaram restritas as formulações contendo as nanoestruturas. Para a formulação A-OB<sub>NC</sub>, independentemente do material de embalagem, se observou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) no fator de espalhabilidade em relação ao tempo inicial. O hidrogel A-DBOB<sub>NC</sub> permaneceu com o FE estável quando acondicionado na bisnaga de alumínio, enquanto que na bisnaga de plástico se observou um aumento significativo desse parâmetro ( $p < 0,05$ ). As modificações apresentadas no FE podem estar relacionadas a interação do polímero formador de gel e do polímero presente nas suspensões nanoestruturadas ao longo do tempo.

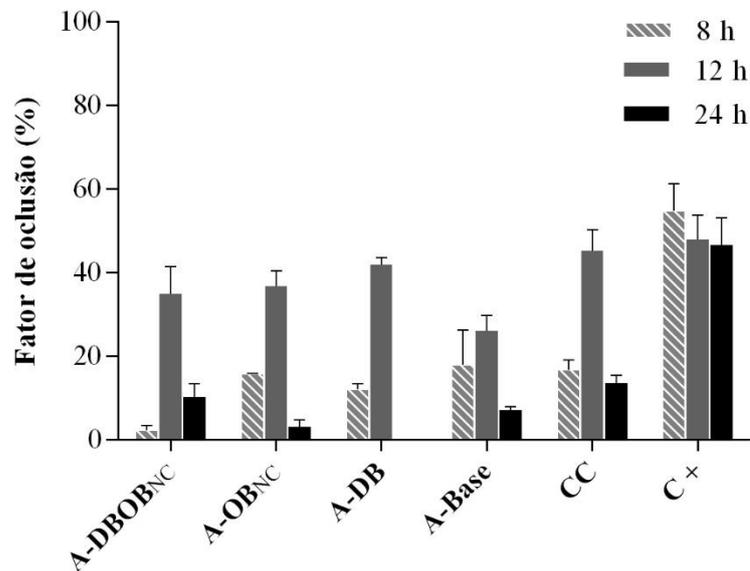
## 5.5 CAPACIDADE OCLUSIVA *in vitro* DAS FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS

Estima-se que a água esteja presente em, aproximadamente, 70% na epiderme e 15-30% no estrato córneo. Essas quantidades se fazem importantes na manutenção da plasticidade da pele, auxiliando na degradação da filagrina pelos queratinócitos, na organização da estrutura lipídica cutânea, aumentando a presença de água na região intercelular e no aumento da temperatura superficial e do fluxo sanguíneo, facilitando, assim, a absorção percutânea de substâncias (ZHAI, MAIBACH, 2001; BONTÉ, 2011; NAFISI, MAIBACH, 2018). O estudo da capacidade oclusiva é uma técnica simples que busca mimetizar a possível perda de água transepidérmica após a aplicação de formulações semissólidas sobre a pele (PATEL et al, 2014).

Desta forma, foi realizado o estudo da capacidade oclusiva das formulações desenvolvidas, bem como do creme comercial em estudo. As formulações foram aplicadas sobre um filtro de porosidade conhecida e a perda de água foi avaliada após 8, 12 e 24 horas de experimento. A partir dos resultados (figura 12) se pode observar uma tendência à maior capacidade oclusiva nas 12 horas de contato das formulações com a superfície de aplicação, independente da forma farmacêutica (creme ou hidrogel) ou ainda dos subtipos de hidrogéis preparados. O hidrogel base desenvolvido neste estudo (A-Base) demonstrou uma capacidade de oclusão, o qual foi maior quando comparado ao controle negativo (ausente de formulação) nas 12 horas de estudo. A incorporação do fármaco e das nanoestruturas na base foi capaz de promover um aumento na propriedade oclusiva. Por fim, ainda nas 12 horas, o creme comercial e os hidrogéis A-OB<sub>NC</sub> e A-DB demonstraram ser tão oclusivos quanto o controle positivo utilizado (vaselina sólida).

Após 8 e 24 horas de aplicação, o controle positivo demonstrou maior capacidade oclusiva quando comparado às demais formulações testadas. Nas 8 horas percebeu-se um menor grau de oclusão proporcionado pela formulação contendo o fármaco nanoencapsulado, as demais demonstrando diferença não significativa entre si ( $p > 0,05$ ). Um perfil semelhante foi observado nas 24 horas, na qual as formulações desenvolvidas não demonstraram entre si diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) no fator de oclusão.

Figura 12 – Capacidade oclusiva (%) dos hidrogéis desenvolvidos neste trabalho e do creme comercial (CC) de DB em 8, 12 e 24 horas após aplicação. C+: vaselina sólida.



Fonte: autor.

Kamel e Mostafa (2015) conseguiram evidenciar a influência da viscosidade na capacidade oclusiva durante 48 h de estudo. Formulações menos viscosas são capazes de promover oclusão por facilitar o espalhamento no local de aplicação, formando um filme delicado que facilita a evaporação da água presente na formulação e deposição das partículas sobre a pele. Outro fator que se faz importante é o tamanho de partícula. Uma redução no diâmetro médio aumenta o número de partículas por área de aplicação, formando um filme mais denso sobre a pele e, assim, auxiliando na oclusão local (PARDEIKE, 2009).

Para os hidrogéis desenvolvidos os resultados de oclusão se mostram satisfatórios. Além da oclusão promovida, a base por si só traz uma alta quantidade de água que também é capaz de auxiliar na hidratação do local de aplicação. Ainda, analisando o creme comercial, a presença significativa de componentes oleosos na base pode explicar o fator oclusivo da formulação. Assim, pode haver uma interação com o estrato córneo, auxiliando na reposição da membrana lipídica, e também promovendo a formação de um filme denso sobre a pele, impedindo a saída de água para o meio externo (BERMAR, 2014). Por fim, independente do mecanismo de oclusão, as formulações em estudo tendem a promover um aumento da hidratação local, havendo uma influência direta na reconstrução epidérmica e na capacidade de absorção percutânea de substâncias ativas (PARDEIKE, 2009).

## 5.6 ESTUDO DE PERMEAÇÃO/PENETRAÇÃO CUTÂNEA *in vitro*

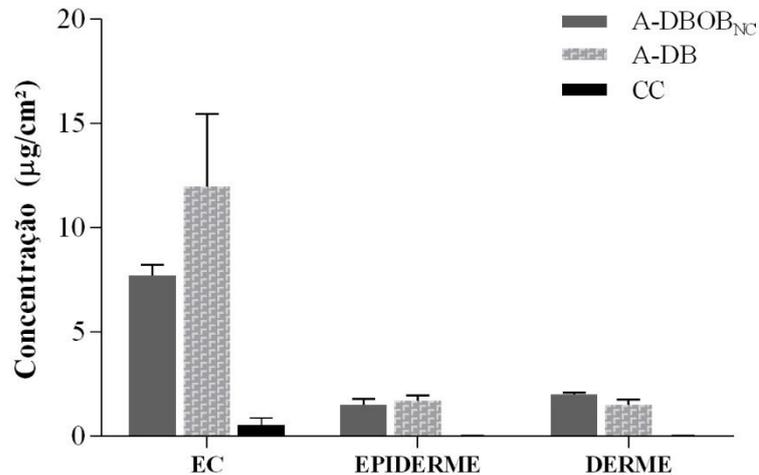
### 5.6.1 Dipropionato de Betametasona

A permeação/penetração das substâncias pela pele pode ocorrer de diversas maneiras, tendo relação direta com a característica do componente, da formulação em qual está inserido e da área de aplicação. A via intercelular, com passagem através da matriz lipídica, se mostra como a mais adequada para entrada de substâncias lipofílicas e que possuam tamanho de partícula reduzido (NAFISI, MAIBACH, 2018). Acredita-se também haver uma relação direta da permeação com alguns fatores relacionados ao fármaco, tais como sua massa molecular, a quantidade de hidrogênios passíveis de interação com os corneócitos do estrato córneo e o coeficiente de partição (log P), mimetizando a partição entre o estrato córneo e a água presente na estrutura cutânea (BOLZINGER, 2012).

O dipropionato de betametasona apresenta massa molecular de 504,24 Da e log P de 3,96. (CHEMICALIZE, 2019). Segundo a literatura, moléculas menores de 600 Da de massa apresentam uma maior facilidade em permear através da pele. Essa condição também é facilitada por coeficientes de partição moderados (NAIFISI, MAIBACH, 2018).

Para a condução do estudo de permeação/penetração cutânea *in vitro* da betametasona foram utilizadas células de difusão do tipo Franz como aparato principal e pele suína como membrana biológica. As formulações estudadas foram os hidrogéis contendo o fármaco nanoassociado e não associado (A-DBOB<sub>NC</sub> e A-DB, respectivamente), e o creme comercial. As primeiras duas formulações com 0,25 mg/g de betametasona e o creme comercial com 0,5 mg/g. Após 8 horas de contato das formulações (n=4) com a membrana biológica, as camadas da pele foram separadas e a betametasona quantificada separadamente no estrato córneo, epiderme, derme e meio receptor. Os resultados encontrados estão ilustrados na figura 13.

Figura 13 – Concentração ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) de betametasona encontrada no EC (estrato córneo), epiderme e derme a partir dos hidrogéis A-DBOB<sub>NC</sub> e A-DB, e do creme comercial (CC) após 8 horas de ensaio.



Fonte: autor.

O creme comercial se distribuiu de maneira homogênea entre as camadas da pele e o meio receptor, não demonstrando diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre elas. Quando comparado aos hidrogéis, mostrou concentrações menores de fármaco em todas as camadas (EC:  $0,54 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; epiderme:  $0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ; derme:  $0,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), mesmo possuindo o dobro de concentração de betametasona em sua formulação. No meio receptor não foi observada nenhuma diferença entre as formulações estudadas.

A característica da formulação em que o fármaco está incorporado influencia na sua permeação/penetração através da pele. Substâncias ativas lipofílicas, assim como o DB, tendem a deixar com mais facilidade bases com altas quantidades de água, enquanto ficam mais retidas em bases mais oleosas, pois essas aumentam a solubilidade do fármaco, reduzindo o grau de saturação e, assim a força de difusão do fármaco para a pele (WENKERS, LIPPOLD, 1999; MOSER et al, 2001; PUSCHMANN, HERBIG, MULLER-GOYMANN, 2019). Esse fato foi evidenciado na diferença de concentração retida no estrato córneo e permeada de DB a partir do hidrogel desenvolvido, seja com nanocápsulas ou não, frente ao creme comercial testado.

Quando analisados os hidrogéis A-DBOB<sub>NC</sub> e A-DB não foi possível observar efeito da nanoencapsulação na entrega do fármaco na epiderme, derme ou meio receptor. Em contrapartida, se pode observar uma maior concentração de betametasona no estrato córneo

para ambas as formulações, sendo maior a partir do hidrogel A-DB ( $12 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) do que para A-DBOB<sub>NC</sub> ( $7,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Resultados semelhantes foram encontrados por Bazana (2015), os quais demonstraram a maior capacidade de retenção de fármaco no estrato córneo e uma entrega gradual a partir da nanoestruturas. Kong e colaboradores (2015) ao avaliar a permeação do DB associado a um carreador lipídico nanoestruturado a partir de um emulgel de Carbopol<sup>®</sup> foram capazes de evidenciar uma maior retenção do fármaco no estrato córneo ( $19,2 \pm 3,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e uma menor quantidade permeada de substância ativa ( $2,1 \pm 0,25 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Malero e colaboradores (2014) observaram a capacidade de hidrogéis de Carbopol<sup>®</sup> Ultrez contendo nanocápsulas de PCL em controlar a entrega do fuorato de mometasona na epiderme apesar da sua acumulação no estrato córneo.

A diferença de concentração de DB no EC pode estar relacionada a influência da presença da base do hidrogel na difusão do fármaco a partir das nanocápsulas (CONTRI, 2010; OURIQUE, 2011). Como já relatado, a nanoencapsulação possui a capacidade de promover o controle da liberação de fármacos quando incorporadas em preparações semissólidas (HARTER, 2013; DE LIMA, 2017). Apesar disso, se percebe que mesmo entregando uma menor concentração de betametasona no EC, não há diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) na quantidade de fármaco entregue na derme e epiderme. Assim, a liberação gradual da substância ativa a partir da base pode ajudar a não saturação do estrato córneo e, desta forma, reduzir a possibilidade de chegada do fármaco na derme.

### 5.6.2 *Ácido gama-linoleico a partir do óleo de borragem*

Conhecendo a importância da reposição externa de ácidos graxos para a reconstrução da barreira cutânea, conduziu-se um estudo de permeação/penetração cutânea *in vitro* com o objetivo de investigar o alcance dos ácidos graxos presentes no óleo de borragem nas diferentes camadas da pele. O experimento seguiu as mesmas condições citadas anteriormente, entretanto, a quantificação dos ácidos graxos foi realizada seguindo metodologia descrita no item 4.2.

Tendo em vista o exposto, foi realizado um estudo piloto a partir da aplicação de um hidrogel contendo as nanocápsulas branca sob a pele suína. Assim, foram comparadas uma pele que recebeu tratamento e outra ausente de tratamento. Após as 8 horas de experimento, as camadas foram separadas e os ácidos graxos quantificados.

De posse dos resultados, foi confirmada a presença do ácido graxo de interesse (C18:3n6) no hidrogel desenvolvido (Tabela 9). Na pele que recebeu o hidrogel foi possível quantificar o ácido gama-linoleico na derme (0,28%), ao passo em que na pele não tratada não

foi possível observar a presença desse ácido graxo em nenhuma das camadas analisadas. Ainda, houve um aumento da concentração dos ácidos graxos saturados C16:0 (palmítico) e C18:0 (esteárico) na epiderme e derme da pele tratada. Os resultados encontrados estão descritos na tabela 10.

Tabela 9 – Quantidade de ácidos graxos (%) presentes no hidrogel A-OB<sub>NC</sub>.

	<b>C18:2n6c</b>	<b>C18:1n9c</b>	<b>C18:3n6</b>	<b>C16:0</b>	<b>C18:0</b>	<b>C20:1n9</b>
A-OB <sub>NC</sub>	28,79	23,32	14,37	12,34	7,79	3,87

Tabela 10 – Quantidade (%) de ácidos graxos encontrada nas camadas da pele após 8 horas de experimento. 1: pele sem tratamento; 2: pele com tratamento.

	ESTRATO CÓRNEO		EPIDERME		DERME	
	1	2	1	2	1	2
<b>C18:2n6c</b>	8,94	9,18	12,52	7,49	8,12	6,84
<b>C18:1n9c</b>	27,83	31,69	36,52	22,02	47,35	30,98
<b>C18:3n6</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
<b>C16:0</b>	21,99	21,36	19,85	33,20	19,73	28,53
<b>C18:0</b>	9,52	9,45	8,26	16,08	5,87	12,28
<b>C20:1n9</b>	0,55	1,34	0,67	0,62	1,78	0,81

Os resultados satisfatórios encontrados a partir do estudo piloto da penetração/permeação *in vitro* dos ácidos graxos na pele, deixa como perspectivas futuras a condução de um experimento para confirmação dos resultados obtidos.

## 6. CONCLUSÃO

Os hidrogéis desenvolvidos a partir das nanocápsulas apresentaram distribuição granulométrica, diâmetro médio de partículas e homogeneidade adequadas, características essas que foram mantidas durante todo o período de armazenamento, independente da embalagem utilizada no acondicionamento. O fator de espalhabilidade e o pH sofreram modificações em função do tempo nas formulações contendo as nanoestruturas. As bisnagas de plástico demonstraram uma tendência a perda de massa ao final dos 120 dias de experimento, ao passo que as bisnagas de alumínio permaneceram inalteradas. Todos os hidrogéis apresentaram capacidade oclusiva moderada, uma característica satisfatória para evitar a perda de água transepidérmica e auxiliar na hidratação local. O estudo de permeação/penetração *in vitro* demonstrou a capacidade das nanoestruturas em modular a liberação do fármaco, reduzindo, assim, a possibilidade de alcance da via sistêmica.

Por fim, a metodologia analítica empregada na quantificação do fármaco nos hidrogéis não foi capaz de suprir as necessidades do estudo de estabilidade, necessitando modificações para melhor quantificação da betametasona.

## 7. REFERÊNCIAS

- AHMAD, S.; KUMAR, N. Omega 3 – fatty acid (epa and dha) rich salmon fish oil enhance antipsoriatic activity of glucocorticoid (betamethasone dipropionate) in nano form. **International Journal of Drug Development and Research**, v 6, p 61-76, 2014.
- ALAM, S. Accelerated stability testing of betamethasone dipropionate nanoemulsion. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v 4, p 1-4, 2012.
- ALAM, S. *et al.* In vivo study of clobetasol propionate loaded nanoemulsion for topical application in psoriasis and atopic dermatitis. **Drug Invention Today**, v 5, p 8-12, 2013.
- AL-KASSAS, R. *et al.* Transepidermal delivery of propranolol hydrochloride through chitosan nanoparticles dispersed in mucoadhesive gel. **Carbohydrate Polymers**, v 153, p 176-186, 2016.
- ALL, S. M.; YOISIPOVITCH, G. Skin pH: from basic science to basic skin care. **Acta Dermato-Venereologica**, v 93, p 261-267, 2013.
- ALLEN, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos, 9. ed. Porto Alegre, 2013.
- ANTONIO, J. R. *et al.* **Nanotechnology in dermatology**. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 89, p. 126-136, 2012.
- BARRE, D. E. Potential of evening primrose, borage, black currant, and fungal oils in human health. **Nutrition and Metabolism**, v 45, p 47-57, 2001.
- BARTNIKOWSKI, M. *et al.* **Degradation mechanisms of polycaprolactone in the context of chemistry, geometry and environment**. Progress in Polymer Science, v 96, p 1-20, 2019.
- BASAR, S. N. *et al.* Review on borage officinalis: a wonder herb. **International Journal of Biological & Pharmaceutical Research**, v. 4(8), p. 582-587, 2013.
- BAUER, E. J. **Pharmaceutical Packaging Handbook**. Informa Healthcare, Nova York, USA, 2009.
- BAZANA, M. **Desenvolvimento de géis-creme a partir do produto liofilizado contendo nanocápsulas de óleo de borragem e dipropionato de betametasona**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.
- BENÍTES, J. M.; MONTÁNS, F. J. The mechanical behavior of skin: Structures and models for the finite element analysis. **Computers and Structures**, v 190, p 75-107, 2017.
- BERMAR, K. C. O. **Farmacotécnica: técnica de manipulação de medicamentos**. Editora Érica, 1 ed, 2014.
- BILIA, A. L. *et al.* Development and stability of semisolid preparations based on a supercritical CO<sub>2</sub> Arnica extract. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v 41, p 449-454, 2006.

BILIA, A. R. *et al.* Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2014.

BLASKOVIC, M. *et al.* The effect of a spot-on formulation containing polyunsaturated fatty acids and essential oils on dogs with atopic dermatitis. **The Veterinary Journal**, v 199, p 39-43, 2014.

BOER, M. *et al.* Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. **Advances in Dermatology and Allergy**, v. 33 (1), p. 1-5, 2016.

BOLZINGER, M. A. *et al.* Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v 17, p 156-165, 2012.

BONIFÁCIO, B. V. *et al.* **Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review**. International Journal of Nanomedicine, v. 9, p 1-15, 2014.

BONTÉ, F. **Skin moisturization mechanisms: New data**. Annales Pharmaceutiques Françaises, v 69, p 135-141, 2011.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo fitos solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v 42, p. 531-537, 2006.

BROSCHÉ, T.; PLATT, D. Effect of borage oil consumption on fatty acid metabolism, transepidermal water loss and skin parameters in elderly people. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v 30, p 139-150, 2000.

CARDILI, R. N. *et al.* Dermatite atópica e filagrina: restaurando barreiras para o controle da doença. **Brazilian Journal of Allergy and Immunology**, v 1 (5), p 239-242, 2013.

CARDOSO, A. M. *et al.* **Chitosan hydrogels containing nanoencapsulated phenytoin for cutaneous use: Skin permeation/penetration and efficacy in wound healing**. Materials Science & Engineering, 2018.

CENTEA, T. GRUNENFELDER, L. K.; NUTT, S. R. **A review of out-of-autoclave prepregs-material properties, process phenomena and manufacturing considerations**. Composites part A: Applied Science and Manufacturing, v 70, p 132-154, 2015.

CHEMICALIZE, Instant Cheminformatics Solutions. Betamethasone dipropionate, Acesso em: 12 de abril de 2019.

CONTRI, R. V. *et al.* **Chitosan Hydrogel Containing Capsaicinoids-Loaded Nanocapsules: An Innovative Formulation for Topical Delivery**. Soft Materials, v 8, p 370-385, 2010.

COUTINHO, A. E.; CHAPMAN, K. E. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v 335, p 2-13, 2011.

DASH, T. K.; KONKIMALLA, B. **Poly- $\epsilon$ -caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review**. *Journal of Controlled Release*, v 158, p 15,33, 2012.

DE BRUM, T. L. et al. **Polymeric nanocapsules and lipid-core nanocapsules have diverse skin penetration**. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v 15, p 773-780, 2015.

DE LIMA, J. A. et al. **Novel Pemulen/Pullulan blended hydrogel containing clotrimazole-loaded cationic nanocapsules: evaluation of mucoadhesion and vaginal permeation**. *Materials Sciences & Engineering*, 2017.

DE SPRIT, S. *et al.* Intervention with flaxseed and borage oil supplements modulates skin condition in women. **British Journal of Nutrition**, v 101, p 440-445, 2009.

DESAI, N. **Challenges in development of nanoparticle-based therapeutics**. *Nanotechnology in Drug Development*, v. 14, p. 282-295, 2012.

DIPROPIONATO DE BETAMETASONA. Hortolândia: EMS, 2018. Bula de remédio.

EINCHEFIELD, L. F. *et al.* Guidelines of care for the management of atopic dermatitis. **Journal of American Academy of Dermatology**, v 71(1), P 116-132, 2014.

FESSI, H. *et al.* Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **Journal of Pharmaceutics**, v 55, p R1-R4, 1989.

FLORES, F. *et al.* Hydrogels containing nanocapsules and nanoemulsions of tea tree oil provide anti-inflammatory effect and improved skin wound healing. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v 15, p 800-809, 2015.

FOSTER, R.; ALANY, R. G.; HARDY, G. Borage oil in the treatment of atopic dermatitis. **Nutrition**, v. 15, p. 1-11, 2010.

FRIZZO, M. S. et al. **Simultaneous encapsulation of zinc oxide and octocrylene in poly (methyl methacrylate-co-styrene) nanoparticles obtained by miniemulsion polymerization for use in sunscreen formulations**. *Colloids and Surfaces A*, v 561, p 39-46, 2018.

GILLET, A. *et al.* Liposome surface charge influence on skin penetration behavior. **International Journal Of Pharmaceutics**, v 411, p 223-231, 2011.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. **Polymeric nanoparticles, nanospheres and nanocapsules for cutaneous applications**. *Drug Target Insights*, v. 2, p. 147-157, 2007.

HAECK, I. M. *et al.* Topical corticosteroids in atopic dermatitis and the risk of glaucoma and cataracts. **Journal of American Academy of Dermatology**, v 64, p 275-281, 2010.

HAMIDI, M.; AZADI, A.; RAFIEI, P. **Hydrogel nanoparticles in drug delivery**. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v 60, p 1638-1649, 2008.

HARTER, A. P. G. **Desenvolvimento de nanoemulsões e nanocápsulas poliméricas contendo tioconazol e incorporação em hidrogéis**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v 22, p 475–477, 1973.

HOEPERS, S. M. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of semisolid containing standardized *Aleurites moluccana* L. Willd (Euphorbiaceae) leaves extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v 173, p 251-255, 2015.

HU, L. *et al.* Herbal medicines that benefit epidermal permeability barrier function. **Dematologica Sinica**, v 33, p 90-95, 2015.

HUA, S. *et al.* Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: selective targeting to diseased versus healthy tissue. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, p. 1117-1132, 2015.

HUSSAIN, Z. *et al.* Phytotherapeutic potential of natural herbal medicines for the treatment of mild-to-severe atopic dermatitis: A review of human clinical studies. **Biomedicine e Pharmacotherapy**, v 93, p 596-608, 2017.

IINAUSKAS, V. *et al.* Fatty acids penetration into human skin ex vivo: A TOF-SIMS analysis approach. **Biointerphases**, v 12 (1), p 11003/10-11, 2017.

IRVINE, A. D.; MCLEAN, W. H.; LEUNG, D. Y. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. **The New England Journal of Medicine**, v 365, p 1315-1327, 2011.

JAGER, E. *et al.* **Sustained Release from Lipid-Core Nanocapsules by Varying the Core Viscosity and the Particle Surface Area**. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v 5, p 130-140, 2009.

KAMEL, R.; MOSTAFA, D. M. **Rutin nanostructured lipid cosmeceutical preparation with sun protective potential**. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, v 153, p 59-66, 2015.

KAZMER, D. **Design of plastic parts**. *Applied Plastics Engineering Handbook*, Elsevier, 2 ed, 2017.

KELMANN, R. G. *et al.* **Nanoemulsion-Loaded Hydrogels for Topical Administration of Pentyl Gallate**. *AAPS PharmSciTech*, 2018.

KLIMCHUK, M. R.; KRASOVEC, S. A. **Packaging Design: Successful Product Brangling from Concept to Shelf**. John Wiley & Sons, 2013.

KOLARSICK, P. A. J.; KOLARSICK, M. A.; GOODWIN, C. Anatomy and Physiology of the Skin. **Dermatology Nurses' Association**, v 3, p 203-213, 2011.

KONG, X. *et al.* Development of a topical ointment of betamethasone dipropionate loaded nanostructured lipid carrier. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v 11, p 248-254, 2016.

KONG, X. *et al.* **Development of a topical ointment of betamethasone dipropionate loaded nanostructured lipid carrier**. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C. *et al.* Development and stability of innovative semisolid formulations containing nanoencapsulated lipoic acid for topical use. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v 12, p 7723-7732, 2012.

KUMAR, S. **Pharmaceutical packaging technology – a review**. *Internacional Journal Res of Pharmaceutical Biomedical*, v 4, p 1400-1414, 2013.

KURAMOTO, T. *et al.* Atopic dermatitis-like skin lesions with IgE hyperproduction and pruritus in KFRS4/Kyo rats. **Journal of Dermatological Science**, v 80, p 116-123, 2015.

LAMBERS, H. *et al.* Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. **International Journal of Cosmetic Science**, v 28, p 359-370, 2006.

LEE, C. Immune regulation in pathophysiology and targeted therapy for itch in atopic dermatitis. **Dermatologica Sinica**, v 34, p 1-5, 2016.

LEE, S. Y. *et al.* Lipid-based delivery system for topical phenytoin. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v 6, p 14-20, 2016.

LUCIO, C. C. **Embalagens de medicamentos: diretrizes para o desenvolvimento**. 2013. Tese (Doutorado em Design), Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2013.

LUIJSTERBURG, B.; GOOSSENS, H. **Assessment of plastic packaging waste: material origin, methods, properties**. *Resources Conservation Recycling*, v 85, p 88-97, 2014.

MALERO, A. *et al.* **Nanoencapsulation in Lipid-Core Nanocapsules Controls Mometasone Furoate Skin Permeability Rate and Its Penetration to the Deeper Skin Layers**. *Skin Pharmacology Physiological*, v 27, p 217–1228, 2014.

MAN, G.; ELIAS, P. M.; MAN, M. Therapeutic benefits of enhancing permeability barrier for atopic eczema. **Dermatologica Sinica**, v 33, p 84-89, 2015.

MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M.; PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v 61 (5), p 620-629, 2008.

- MAZZARINO, L.; KNORST, M. T. **Desenvolvimento e caracterização farmacotécnica de formas farmacêuticas semi-sólidas contendo nimesulida**. *Latin American Journal of Pharmacy*, v 26, p 415-9, 2007.
- MCALEER, M. A.; IRVINE, A. D. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 131(2), p. 280-291, 2013.
- MERCURIO, D. G. *et al.* In vivo photoprotective effects of cosmetic formulations containing UV filters, vitamins, Ginkgo biloba and red algae extracts. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v 153, p 121-126, 2015.
- MOSER, K. *et al.* **Supersaturation: enhancement of skin penetration and permeation of a lipophilic drug**. *Pharmaceutical Research*, v 18, p 1006–1011, 2001.
- NAFISI, S.; MAIBACH, H. I. **Skin penetration of nanoparticles**. *Emerging Nanotechnologies in Immunology*, cap 3, 2018.
- NATRAJAN, D. *et al.* **Formulation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsules**. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 23, p. 560-568, 2015.
- OECD. **Guideline for the testing of chemicals – Skin absorption: in vitro method**. OECD, Paris, 2004.
- OORD, R.; SHEIKH, A. Filaggrin gene defects and risk of developing allergic sensitisation and allergic disorders: systematic review and meta-analysis. **BMJ Journals**, 2012.
- ORFALI, R. L. *et al.* Atopic dermatitis in adults: clinical and epidemiological considerations. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 59(3), p. 270-275, 2013.
- OURIQUE, A. F. *et al.* **Improved photostability and reduced skin permeation of tretinoin: development of a semisolid nanomedicine**. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v 79, p 95-101, 2011.
- OSZUKOWSKA, M. *et al.* Role of primary and secondary prevention in atopic dermatitis. **Advances in Dermatology and Allergy**, v. 32 (6), p. 409-420, 2015.
- PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MULLER, R. H. **Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products**. *International Journal of Pharmaceutics*, v 366, p 170-184, 2009.
- PATEL, H. K. *et al.* Topical delivery of clobetasol propionate loaded microemulsion based gel for effective treatment of vitiligo – Part II: Rheological characterization and in vivo assessment through dermatopharmacokinetic and pilot clinical studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v 119, p 145-153, 2014.
- POETKER, D. M.; REH, D. D. A comprehensive review of the adverse effects of systemic corticosteroids. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v 46, p 753-768, 2010.

POHLMANN, A. R. et al. **Polymeric nanocapsules for topical delivery – Percutaneous Penetration Enhancers** *Chemical Methods in Penetration Enhancement.: Nanocarriers*, p 2001–2021, 2016.

PUSCHMANN, J.; HERBIG, M. E.; MULLER-GOYMANN, C. C. **Influence of emulsifier concentration on partition behavior and chemical stability of betamethasone dipropionate in emulsion gels**. *International Journal of Pharmaceutics*, 2019.

RAHMAT, D. *et al.* Thiolated hydroxyethyl cellulose: design and in vitro evaluation of mucohesive and permeation enhancing nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v 83, p 149-155.

RAO, J. P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymeric Science**, v 36v p 887-913, 2011.

REED, C. E. The natural history of asthma. **Current reviews of allergy and clinical immunology**, v 118, p 543-548, 2006.

RIGO, L. A. et al. **Nanoencapsulation of a glucocorticoid improves barrier function and anti-inflammatory effect on monolayers of pulmonary epithelial cell lines**. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2017.

RIGO, L. A. *et al.* Sunscreen formulations containing rice bran or soybean oil: Rheological properties, spreadability and in vitro Sun Protection Factor. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, n.2, p. 246-252, 2011.

RIGON, C. et al. **Hydrogel containing silibinin nanocapsules presents effective anti-inflammatory action in a model of irritant contact dermatitis in mice**. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 137, 2019.

SALA, M.; ELAISSARI, S.; FESSI, H. Advances in psoriasis physiopathology and treatments: up to date of mechanistic insights and perspectives of novel therapies based on innovative skin drug delivery systems (ISDDS). **Journal of Controlled Release**, v 239, p 182-202, 2016.

SAVIAN, A. L. **Desenvolvimento de nanocápsulas contendo ditranol e sua incorporação em formulação semissólida de base aquosa**. 2012. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

SCHNEIDER, M. *et al.* Nanoparticles and their interactions with the dermal barrier. **Dermato-endocrinology**, v 1, p 197-206, 2009.

SCHWARZ, J. C. *et al.* Nanocarriers for dermal drug delivery: Influence of preparation method, carrier type and rheological properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v 437, p 83-88, 2012.

SHOU, M. *et al.* Development and validation of a stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of salicylic acid, betamethasone dipropionate and their related

compounds in Diprosalic Lotion. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v 50, p 356-361, 2009.

SILVA, C. O.; RIJO, P.; MOLPECERES, J. *et al.* Polymeric nanoparticles modified with fatty acids encapsulating betamethasone for anti-inflammatory treatment. **International Journal of Pharmaceutics**, v 493, p 271-284, 2015.

SIMON, D. *et al.* Gamma-Linolenic Acid Levels Correlate with Clinical Efficacy of Evening Primrose Oil in Patients with Atopic Dermatitis. **Advances in Therapy**, v 31 p 180-188, 2014.

SIMPSON, E. L. *et al.* Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. **Journal of allergy and clinical immunology**, v 134 (4), p 818-823, 2014.

SINGH, M. *et al.* Application of gold nanoparticles for gastrointestinal cancer theranostics: a systematic review. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v 11, p 2083-2098, 2015.

STEMMLER, S.; HOFJAN, S. Trying to understand the genetics of atopic dermatitis. **Molecular and Cellular Probes**, v 30 (6), p 374-385, 2016.

SURRASMO, S. *et al.* Surface modification of PLGA nanoparticles by carbopol to enhance mucohesion and cell internalization. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v 130, p 229-236, 2015.

TAGAMI, H. Location-related differences in structure and function of the stratum corneum with special emphasis on those of the facial skin. **International Journal of Cosmetic Science**, v 30, p 413-434, 2008.

TANEJA, N.; DEB, P. K.; MAHESHWARI, R.; TEKADE, R. K. **Package Types for Different Dosage Forms**. Dosage Forms Design Parameters, cap. 16, p 553-569, 2018.

THOMPSEN, S. F. Epidemiology and natural history of atopic diseases. **European Clinical Respiratory Journal**, v 2, 2015.

THYSSEN, J. P.; KEZIC, S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v 134, p 792-799, 2014.

TRONINO, D. *et al.* Nanoparticles prolong N- palmitoylethanolamide anti-inflammatory and analgesic effects in vivo. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v 141, p 311-317, 2016.

VERALLO-ROWELL, V. M.; DILLAGUE K. M.; SYAH-TJUNDAWAN, B. S. Novel Antibacterial and Emollient Effects of Coconut and Virgin Olive Oils in Adult Atopic Dermatitis. **Dermatitis**, v 19, p 308-315, 2008.

VITORINO, C. *et al.* Design of a dual nanostructured lipid carrier formulation based on physicochemical, rheological, and mechanical properties. **Journal of Nanoparticles Research**, v 15, p 1-14, 2013.

WANG, I.; WANG, J.; YEH, K. Childhood Atopic Dermatitis in Taiwan. **Pediatrics & Neonatology**, v. 57 (2), p. 89-96, 2015.

WEBER, J. *et al.* Association of borage oil and betamethasone dipropionate in lipid-core nanocapsules: characterization, photostability and in vitro irritation test. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v 15, p 1-9, 2015.

WENKERS, B.P.; LIPPOLD, B.C. **Skin penetration of nonsteroidal antiinflammatory drugs out of a lipophilic vehicle: influence of the viable epidermis.** Journal of Pharmaceutical Sciences, v 88, p 1326–1331, 1999.

WOLLENBERG, A.; EHMANN, L. M. Long term treatment concepts and proactive therapy for atopic eczema. **Anais de Dermatologia**, v. 24 (3), p. 253-260, 2012.

YACOBI, A. *et al.* Current challenges in bioequivalence, quality, and novel assessment technologies for topical products. **Pharmaceutical Research**, v 31, p 837-846, 2014.

YAMANOUCHI EUROPE B. V. Tom De Vringer. **Topical preparation containing a suspension of solid lipid particles.** US Patent 5,667,800. 6 jun 1995.

YASIR, M.; SARA, U. V. S. Solid lipid nanoparticles for nose to brain delivery of haloperidol: in vitro drug release and pharmacokinetics evaluation. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v 4 (6), p 454-463, 2014.

ZADBUKE, N. *et al.* **Recent trends and future of pharmaceutical packaging technology.** Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. V 5, p 98-110, 2013.

ZAMARIOLI, C. M. *et al.* Nanoparticles containing curcuminoids (*Curcuma longa*): development of topical delivery formulation. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v 25, p 53-60, 2015.

ZEMMOURI, H. *et al.* Chemical composition and antioxidant activity of *Borago officinalis* L. leaf extract growing in Algeria. **Arabian Journal of Chemistry**, 2014.

ZHAI, H.; MAIBACH, H. I. **Effects of Skin Occlusion on Percutaneous Absorption: An Overview.** Skin Pharmacology Applied Skin Physiology, v 14, p 1-10, 2001.

ZUGLIANELLO, C. *et al.* **Redispersible spray-dried nanocapsules for the development of skin delivery systems: proposing a novel blend of drying adjuvants.** Soft Materials, v 16, p 20–30, 2018.