



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
*CAMPUS MACAÉ*  
CURSO DE FARMÁCIA



Uso de diagramas de fases pseudoternário no desenvolvimento de emulsões  
farmacêuticas contendo nistatina e óxido de zinco

RAPHAEL FERREIRA DA SILVA

Macaé  
Outubro de 2015

F586u      Ferreira da Silva, Raphael  
            Uso de diagramas de fases pseudoternário no  
desenvolvimento de emulsões farmacêuticas  
contendo nistatina e óxido de zinco / Raphael  
Ferreira da Silva. -- Rio de Janeiro, 2015.  
65 f.

Orientador: Arídio Mattos Silva.

Coorientadora: Kattya Gyselle de Holanda e  
Silva.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade  
de Farmácia, Bacharel em Farmácia, 2015.

1. Emulsão. 2. Diagramas de fases  
pseudoternário. 3. Óleo de girassol. 4. Dermatite  
de fraldas. I. Mattos Silva, Arídio , orient. II.  
Gyselle de Holanda e Silva, Kattya , coorient.  
III. Título.

RAPHAEL FERREIRA DA SILVA

Título: Uso de diagramas de fases pseudoternário no desenvolvimento de emulsões farmacêuticas contendo nistatina e óxido de zinco.

Monografia Apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – *Campus Macaé* como um dos requisitos para obtenção do título de farmacêutico.

Orientador: Prof. MSc. Arídio Mattos Junior

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katty Gyselle de Holanda e Silva

Macaé

Outubro de 2015

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pela vida, pela família e amigos. Pelo privilégio e oportunidade de poder vivenciar tamanha experiência e ter pessoas tão especiais a minha volta.

A minha mãe, Belizaria, minha irmã, Roberta e minha sobrinha, Fiorella, pelas pessoas que são, pelo carinho, apoio incondicional, estímulo, pela grande amizade, paciência com que sempre me ajudaram e ouviram, por investirem em mim e pela compreensão em todos os momentos.

Muito obrigado por tudo! Espero poder retribuir, pelo menos um pouco de tudo que fizeram por mim.

Aos amigos que a UFRJ me deu, principalmente, João, Katharine, Mayara, Thaíssa e Victor. Essa jornada não seria a mesma sem a amizade, presença, companheirismo, convivência e todos os momentos compartilhados junto a vocês.

Aos meus orientadores, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gyselle Holanda e Prof. MSc. Arídio Mattos, pela dedicação para a conclusão desse trabalho, conhecimentos e ensinamentos transmitidos, por me guiarem e acreditarem na minha capacidade e me auxiliarem a me interessar cada vez mais pela docência. E também, a todo grupo de pesquisa e colaboradores do Laboratório de Sistemas Híbridos (LaSHI/UFRJ).

Aos membros da banca, Profs. Drs. Carolina Pupe, Edison Carvalho, Daniel Resende e Thiago Barth, por aceitarem o convite.

Ao LabCQ/UFRJ que também disponibilizou o espaço para realização desse trabalho.

A todos de colaboraram para a execução desse trabalho.

**Obrigado a todos que acreditam em mim!**

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estruturas moleculares da NYS A1, NYS A2 e NYS A3.....	7
<b>Figura 2</b> - Estrutura química da Anfotericina B (1) e Nistatina (2).....	9
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática dos mecanismos de desestabilização de emulsões.....	14
<b>Figura 4</b> - Representação esquemática de um triângulo equilátero em que cada lado é representado por um dos componentes da mistura.....	20
<b>Figura 5</b> - Mapeamento da amostras para elaboração dos DFPT.....	21
<b>Figura 6</b> - Desenho esquemático e ilustrativo do método de produção do DFPT com Tween 20 <sup>®</sup> e Span 80 <sup>®</sup> .....	24
<b>Figura 7</b> - Desenho esquemático e ilustrativo do método de produção do DFPT com Tween 80 <sup>®</sup> e Span 80 <sup>®</sup> .....	25
<b>Figura 8</b> - Representação da classificação das amostras através de análise visual.....	30
<b>Figura 9</b> - Diagramas de Fases Pseudoternário (Água/Óleo/Surfactantes): A) Diagrama I; Span 80 <sup>®</sup> :Tween 20 <sup>®</sup> e B) Diagrama II; Span 80 <sup>®</sup> :Tween80 <sup>®</sup> .....	32
<b>Figura 10</b> - Diagramas de Fases Pseudoternário na presença dos fármacos. A: Nistatina; B: Óxido de Zinco; C: Nistatina e Óxido de Zinco.....	33
<b>Figura 11</b> - Representação das regiões selecionadas para amostragem. Cada ponto preto, representa uma das 7 amostras. Diagrama Base) Span 80 <sup>®</sup> , Tween 80 <sup>®</sup> e Óleo; A) Span 80 <sup>®</sup> , Tween80 <sup>®</sup> , Óleo e Nistatina.....	35
<b>Figura 12</b> - Demonstração da ausência de cremagem nas 7 formulações escolhidas. Da esquerda pra direita, F1 a F7.....	38

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Resumo das características dos diferentes tipos de sistemas emulsionados.....	12
<b>Tabela 2</b> - Composição (%) das formulações selecionadas a partir de pontos específicos dos DFPT.....	36

## LISTA DE ABREVIações

**ANFB** - Anfotericina B

**DFPT** - Diagrama de Fases Pseudoternário

**DF** – Dermatite de Fraldas

**EHL** - Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

**EL** - Emulsão Líquida

**EM** - Emulsão

**EMBRAPA** - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**EV** - Emulsão Viscosa

**FDA** - Food and Drug Administration

**IF** - Infecções Fúngicas

**INCI** - International Nomenclatures of Cosmetics Ingredients

**ME** - Microemulsão

**MIF** - Método de Inversão de Fases

**NYS** - Nistatina

**OG** - Óleo de Girassol

**SF** - Separação de Fases

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	3
2.1. Dermatite de fraldas.....	3
2.2. Tratamento e profilaxia .....	5
2.3. Nistatina .....	6
2.4. Zinco em formulações para uso tópico .....	9
2.5. Emulsões .....	10
2.6. Óleos vegetais .....	16
2.7. Produção e desenvolvimento de emulsões.....	18
2.8. Diagramas de fases pseudoternário .....	19
3. JUSTIFICATIVA.....	21
4. OBJETIVOS.....	22
4.1. Objetivos gerais .....	22
4.2. Objetivos específicos .....	22
5. MATERIAIS E MÉTODOS .....	23
5.1. Matérias-primas .....	23
5.2. Equipamentos .....	23
6. MÉTODOS.....	23
6.1. Diagramas de fases pseudoternário .....	23
6.2. Seleção do sistema tensoativo.....	26
6.3. Seleção das formulações .....	26
6.4. Análise macroscópica .....	26
6.5. Índice de cremagem.....	27
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
8. CONCLUSÃO .....	39
9. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	40
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40

## RESUMO

SILVA, Raphael Ferreira. **Uso de diagramas de fases pseudoternário no desenvolvimento de emulsões farmacêuticas contendo nistatina e óxido de zinco.** Macaé, 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Macaé, 2015.

Geralmente, emulsões (EM), microemulsões (ME) ou nanoemulsões (NE), são sistemas dispersos com diferentes proporções de óleo, surfactante(s) e da fase aquosa. Formulações emulsionadas são desenvolvidas usando diagrama de fases para identificar regiões como ME ou NE, emulsões grosseiras e fases cristalinas; para isso é necessário estudo do comportamento das fases obtidas a partir de várias combinações entre componentes da formulação. Os tipos de sistemas, o seu comportamento e alterações na fração de volume podem ser verificados usando a representação do diagrama ternário. À partir desta, um sistema que consiste em água, óleo, surfactantes (ou mistura de surfactantes) com várias fases pode ser descrito em um diagrama cujos vértices, respectivamente, apresentam os componentes puros. Numerosos óleos vegetais e surfactantes são considerados materiais de qualidade para alimentos e medicamentos, a seleção da melhor combinação entre eles é de extrema importância para a produção da emulsão com as características desejáveis e estabilidade aceitável. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento de diferentes fases formadas com o óleo de girassol na presença de diferentes misturas de surfactantes não iônicos e dos fármacos: nistatina e óxido de zinco, com o intuito principal de desenvolver uma formulação emulsionada com características aceitáveis para uso tópico, especialmente para dermatite atópica. Para isso, 5 diagramas pseudoternários (DFPT) foram construídos usando o equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) do óleo como requisito para escolha da proporção entre os surfactantes. A partir da análise das fases, comparando-se os diagramas construídos com Tween 20: Span 80 (I) versus Tween 80: Span 80 (II), ambos na ausência dos fármacos, pode-se observar que a maior região de emulsão é formada quando a mistura II de surfactantes é utilizada. Em seguida, após escolha do melhor sistema surfactante, foram construídos diagramas na presença de nistatina (III), óxido de zinco (IV) e de ambos, nistatina e óxido de zinco (V). No diagrama construído na presença de nistatina (III) houve desaparecimento da região de ME possivelmente devido à característica anfifílica desse fármaco interferir de alguma maneira na atividade dos surfactantes em organizar sistemas estáveis. No diagrama IV houve diminuição da área de ME e o aparecimento da região de separação de fases (SF), nesse caso é provável que as partículas do óxido de zinco promovam a desestabilização completa de emulsões com altas frações oleosas. A análise do diagrama V demonstrou que, na presença de ambos os fármacos, há predominância da formação de emulsões macroscópicas, sem região de SF o que sugere uma possível atividade sinérgica de superfície desses fármacos, resultando em sistemas mais estáveis. A partir dos resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que a presença de fármacos pode interferir na estabilidade de emulsões e portanto sua atividade no comportamento das fases de um DFPT deve ser considerada durante a etapa de desenvolvimento de uma emulsão farmacêutica.

**Palavras-chave:** emulsão, dermatite de fraldas, digramas de fases pseudoternário, óleo de girassol.

## 1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de infecções fúngicas (IF) superficiais na pele, unhas e cabelos tem sido agravada em todo mundo. Estima-se que nas últimas décadas aproximadamente 20-25% da população mundial foi acometida por IF de pele. A velocidade dessas infecções pode ser rápida, resultando em um quadro grave, em virtude do comprometimento com a função imunológica (SEVGI *et al.*, 2013).

Os antifúngicos são uma classe terapêutica relativamente antiga. O primeiro fármaco com propriedades antifúngicas ativo ao tratamento das micoses sistêmicas humanas (Anfotericina B), foi descoberto em 1953. Nesses últimos 20 anos, vem ocorrendo um incentivo à produção e ao desenvolvimento de novas moléculas, para serem mais ativas, menos tóxicas, de espectro mais largo e com novas formas galênicas que permitem melhorar a eficácia terapêutica (LACROIX & FEUILHADE DE CHAUVIN, 2009). O tempo necessário para o tratamento e o elevado custo são os principais fatores limitantes para o sucesso terapêutico no tratamento das micoses (SIZENANDO NETO, 2002), e nesses casos, as formas farmacêuticas para uso tópico se apresentam como fortes candidatas a auxiliarem a melhoria contínua da eficácia terapêutica na IF.

Uma das etapas mais importante de qualquer produto para uso tópico, seja medicamento ou cosmético, é a escolha do veículo que transporta o princípio ativo, tendo em vista que este pode aumentar a eficácia da molécula ou torná-la completamente inativa, aumentar a barreira cutânea ou induzir dermatite alérgica de contato (DRAELOS, 2009; 2011).

Apesar de existirem muitos veículos de escolha, as emulsões (EM) são indiscutivelmente a forma mais popular para veiculação tópica de fármacos (DRAELOS, 2009; SANTIAGO *et al.*, 2009; DRAELOS, 2012). A vantagem das EM em relação às pomadas, por exemplo, é justificado devido às últimas serem, geralmente, veículos anidros, ou seja, contêm baixa quantidade de água e altas concentrações de ceras e outros espessantes gordurosos, o que leva a formação de um filme bastante espesso sobre a pele (SANTIAGO *et al.*, 2009). Além disso, tais produtos são bastante oleosos, sendo mais úteis para formulações nas quais os fármacos são destinados a uma pequena área-alvo. Os veículos emulsionados, por

sua vez, além de melhor sensação ao tato, promovem hidratação no local da aplicação devido à grande quantidade de água presente na formulação, podendo favorecer o processo de umectação (AULTON, 2005).

Em geral, EM são de grande importância para as indústrias farmacêutica e cosmética, uma vez que permitem a utilização de fármacos imiscíveis dentro da mesma preparação e também permitem um controle perfeito das suas propriedades reológicas de acordo com a mudança nas proporções relativas e nos níveis de dispersão das fases lipofílica e hidrofílica contidos na formulação (MACEDO *et al.*, 2006). Além disso, essas formas farmacêuticas oferecem grande potencial ao desenvolvimento de sistemas capazes de proporcionar liberação controlada de substâncias e proteção a fármacos sensíveis à oxidação e à hidrólise (HAYES, 2014).

O sistema de equilíbrio das fases em preparações contendo três ou mais componentes, como é o caso as EM, são representados classicamente por um diagrama de fases, no qual cada vértice do triângulo representa 100% de um componente particular. Este diagrama permite identificar várias regiões geradas, assim como aquela que representa a melhor combinação dos componentes da fórmula em suas respectivas quantidades e que produz o sistema de maior estabilidade (MACEDO *et al.*, 2006). A construção de um DFPT é uma ferramenta fundamental para caracterizar o domínio das regiões de EM, cuja interpretação descreve as estruturas presentes contidas neles, podendo-se por exemplo, escolher a região cuja viscosidade é mais apropriada para o fármaco ser incorporado (FORMARIZ *et al.*, 2005).

Considerando as vantagens apresentadas pelas EM e dos DFPT, a utilização de óxido de zinco em sistemas emulsionados com propriedades antifúngicas, nos quais a fase lipofílica seja um óleo vegetal com características terapêuticas cientificamente comprovadas, pode ser o início de uma nova fase no campo de desenvolvimento de produtos tópicos.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Dermatite de fraldas

A dermatite de fraldas (DF), trivialmente chamada de assadura (ZANINI *et al.*, 2003), é uma dermatite de contato gerada por irritante primário na região da fralda, que afeta mais de 50% dos infantes (CONCANNON *et al.*, 2001; ZANINI *et al.*, 2003) e geralmente causa na pele dessa região uma aparência descamativa, apresentando lesões pápulo-vesiculosas ou bolhosas, fissuras e erosões. As pápulas crônicas, hipertróficas achatadas e nódulos infiltrados podem ser confundidos com lesões sifilíticas (JANSSEN *et al.*, 1993; ZANINI *et al.*, 2003). Esta doença se caracteriza por uma erupção majoritariamente eritematosa, frequentemente transitória (PRASAD *et al.*, 2003; ERASALA *et al.*, 2007) que pode ser reticulada ou confluenta (JANSSEN *et al.*, 1993). Infecções secundárias causadas por bactérias e fungos pertencentes à flora cutânea, intestinal ou mesmo do ambiente, são comumente relacionadas a induzir a complicações bastante desagradáveis e o desconforto que antecede à inflamação (GUPTA & SKINNER, 2004). Essa doença apresenta-se como uma cascata de reações inflamatórias em resposta a fatores externos ou internos da agressão, como exposição prolongada da pele à urina e às fezes, sabões não retirados, preparações tópicas, fricção, maceração, umidade, pH, além de outros fatores predisponentes como obesidade, sudorese excessiva e falta de higiene (ARAD *et al.*, 1999; BEGUIN, 2006; ADALAT *et al.*, 2007).

Na terapia de DF, formulações hidrofóbicas contendo talco, óxido de zinco ou dimeticona têm sido utilizadas com muita frequência por muitos anos, apesar de nunca terem suas atividades cientificamente comprovadas. Para as formas moderadas e graves que são muitas vezes agravadas por *Candida spp*, o uso de antimicrobianos antifúngicos no tratamento é recomendado. Apesar de não existirem estudos controlados para DF com caráter apenas irritante, aqueles que se referem a essa doença na sua forma mais severa preconizam que a cura micológica foi atingida com todos os antifúngicos avaliados (pomada de nitrato de miconazol, creme de tioconazol, suspensão de ciclopirox olamina e creme de nistatina) (GUPTA

& SKINNER, 2004; ALBERTA *et al.*, 2005; ADALAT *et al.*, 2007; ERASALA *et al.*, 2007; NIELD & KAMAT, 2007; MILLER & VROOME, 2008).

É notório que a DF é uma enfermidade bastante frequente, principalmente nos ambulatórios de dermatologia e pediatria, e esse evento é causa de grande parte das reclamações das mães (WOLF *et al.*, 2000; CONCANNON *et al.*, 2001; AL-WAILI, 2005; SHIN, 2005). Essa afecção ocorre particularmente nos dois primeiros anos de vida (FERRAZZINI *et al.*, 2003; ZANINI *et al.*, 2003; ERASALA *et al.*, 2007), sem predileção por sexo, padrão social ou raça (WOLF *et al.*, 2000).

Após o acometimento da dermatite, diversos produtos, como talco, banho de ervas, sabonete, pomadas e outros, podem potencializar o processo de irritação (SPRAKER *et al.*, 2006; ADALAT *et al.*, 2007). A intensidade das modificações cutâneas varia de leve a grave e a apresentação habitual se estabelece num eritema confluyente ou reticulado que afeta as regiões convexas sobre as fraldas, sendo as áreas gênito-crurais geralmente poupadas (PRASAD *et al.*, 2003; ZANINI *et al.*, 2003).

Qualquer pele que tem suas barreiras de defesa lesadas por algum mecanismo está sujeita à infecção secundária e a DF não é exceção: a associação da dermatite com infecção por *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*, microorganismos da flora cutânea e intestinal, é achado costumeiro, e devem ser tratadas adequadamente com regimes terapêuticos específicos em associação ao tratamento de dermatite propriamente dita (GUPTA e SKINNER, 2004; AL-WAILI, 2005; SHIN, 2005).

São seguramente colaboradores do agravamento desse quadro o constante uso de antibióticos orais nas crianças durante a primeira infância e os surtos diarreicos, uma vez que aumenta o contato da pele com as fezes e a urina, e acentuando a colonização intestinal e cutâneas por *C. albicans* e pelos estafilococos. As alterações cutâneas que beneficiam o aumento de *C. albicans* gerando um quadro de candidíase simultânea que ocasiona em erupção escamativa e brilhosa com lesões papulopustulosas, ou seja, lesão principal central e outras satélites (WOLF *et al.*, 2000; CONCANNON *et al.*, 2001; ZANINI *et al.*, 2003).

## 2.2. Tratamento e profilaxia

DF por definição, não pode existir sem fraldas, de modo que, a retirada da fonte de oclusão é um dos procedimentos mais conhecidos e melhores para sua prevenção (ALBERTA *et al.*, 2005). A principal orientação médica nesse caso é a preventiva, que consiste na escolha adequada da fralda, limpeza e frequência de trocas, uso de produtos de barreira (óxido de zinco, lanolina e vaselina) a fim de diminuir o contato da pele com as fezes e a urina. A higienização deve ser regular, mas não agressiva e nem excessiva (que não ocorra fricção), e pode ser feita com sabonetes neutros ou sabão de coco (ARAD *et al.*, 1999; BAER 2006; BEGUIN, 2006).

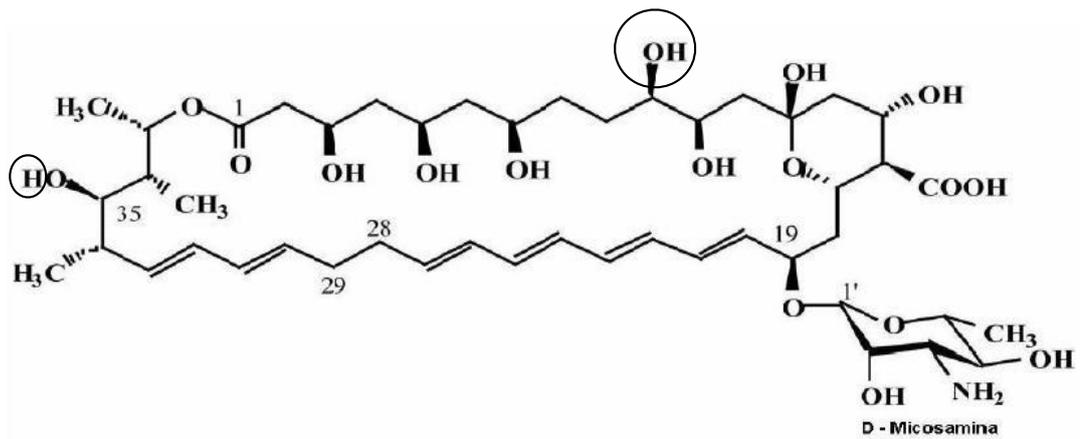
Tradicionalmente, a DF vem sendo tratada com preparações tópicas de óxido de zinco, o qual tem apresentado eficácia na redução dos parâmetros inflamatórios dessa dermatite (CONCANNON *et al.*, 2001; BAE *et al.*, 2010). O uso de antibióticos orais é considerado como uma possível alternativa mas, deve se avaliada com cautela já que, pode intensificar o quadro por afetar a flora intestinal e conseqüentemente, ter a possibilidade de desencadear em outras doenças (ODIO & FRIEDLANDER, 2000). Nos casos em que a terapia convencional não surte efeito, o uso temporário (até 10 dias) de corticosteroide tópico de baixa potência e não fluorado pode ser útil. Atenção especial deve ser dispensada às reações adversas sistêmicas e locais dessa substância, tendo sido relatados Síndrome de Cushing e hipertensão intracraniana mesmo com aqueles considerados de baixa potência, pois a superfície corporal nessa área é significativa, e a fralda determinará também um efeito oclusivo favorecendo a absorção tópica. Além disso, também é utilizado como uma alternativa compressas frias com solução aquosa de acetato de alumínio 1:30, até três vezes ao dia, proporciona um efeito antisséptico, secante e calmante. Devido à constante associação com *C. albicans* é recomendado o uso de antifúngicos tópicos como a Nistatina (NYS) e na evidência de infecção secundária, deve ser usada antibioticoterapia tópica (WARD *et al.*, 2000; SHIN, 2005; MILLER e VROOME, 2008).

### 2.3. Nistatina

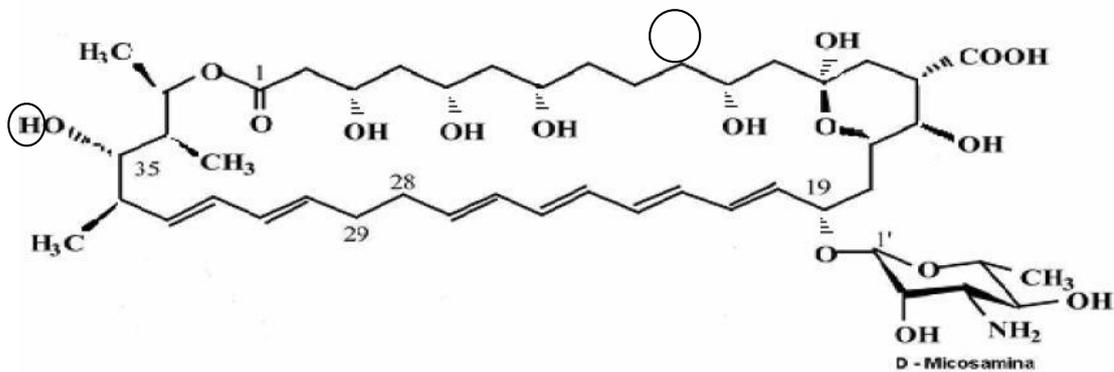
A NYS é um antimicrobiano extraído principalmente das culturas de *Streptomyces noursei*, no qual apresenta fórmula molecular  $C_{47}H_{75}NO_{17}$  e massa molar de 926,13 g/mol. Essa molécula foi isolada por Hazen e Brown, na divisão de laboratórios e pesquisa do departamento de saúde do estado de Nova York, nos Estados Unidos da América, em 1950. Apresenta em sua estrutura uma lactona macrocíclica, consistindo de dieno tetraeno hidroxilado ligado a um ou dois grupamentos amino açúcar. Em virtude da presença dos grupos carboxil e amino (Figura 1). A NYS é anfotérica e anfílica, uma vez que possui duas extremidades de polaridades diferente em sua molécula e além disso, apresenta baixa solubilidade em água (MICHEL & KLAUS, 1977).

A NYS é componente de um grupo relativamente grande de compostos estruturalmente relacionados, altamente insaturados, chamados antimicrobianos antifúngicos poliênicos. Essa classe de compostos modifica a permeabilidade da membrana de células sensíveis, como as fúngicas. A NYS exerce atividade frente a diversas espécies de fungos dos gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Blastomyces* e *Coccidioides*. Todavia, os poliênicos não tem ação em células de bactérias, protozoários, exceto para *Acholeplasma* crescido na presença de esterol, assim como contra algas azul-verdes (GALE, 1973).

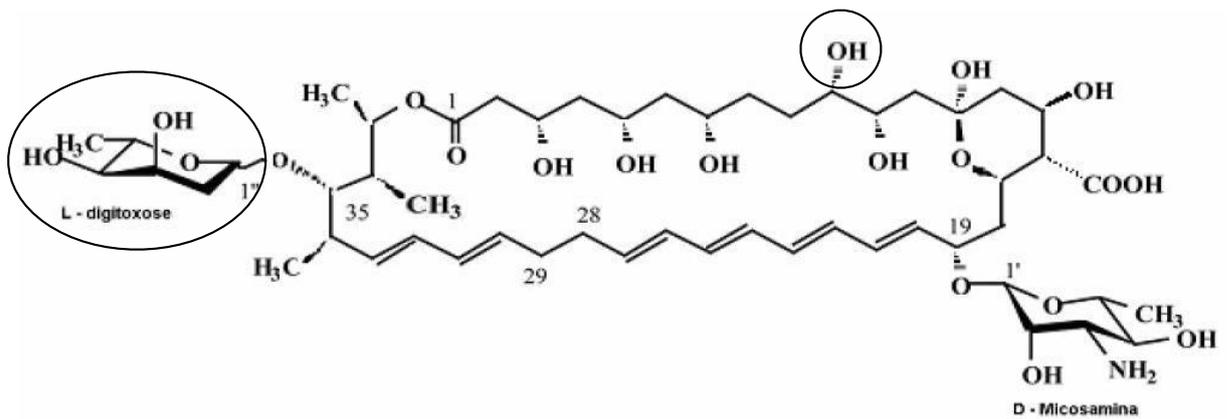
Vendida comercialmente, a NYS é estabelecida através de uma mistura de compostos intimamente relacionados. Segundo Porowska e col. (POROWSKA *et al.*, 1972) que caracterizaram amostras de NYS vendida comercialmente, o fármaco é um complexo composto por três unidades biologicamente ativas, nomeados como NYS A1, NYS A2 e NYS A3. O componente fundamental do complexo é o constituinte NYS A1, que apresenta em sua estrutura um amino açúcar, a D-micosamina ligada ao oxigênio do carbono 19 (MANWARING *et al.*, 1969; CHONG & RICKARDS, 1970; BOROWSKI, 1971; PAWLAK *et al.*, 2005). A NYS A2 mostra uma estrutura muito parecida com a A1. Mas existem diferenças tais como, a aglicona do antimicrobiano, nas variações na estereoquímica dos grupamentos hidroxilas que carecem de uma hidroxila no carbono 10 do macrociclo e na posição da carboxila é o carbono 15.



NYS A1



NYS A2



NYS A3

**FIGURA 1.** Estruturas moleculares da NYS A1, NYS A2 e NYS A3. (Adaptado de Borowski e col., 1971; Zielinsky e col., 1987; Pawlak e col., 2005). Aonde os círculos representam os diferentes substituintes.

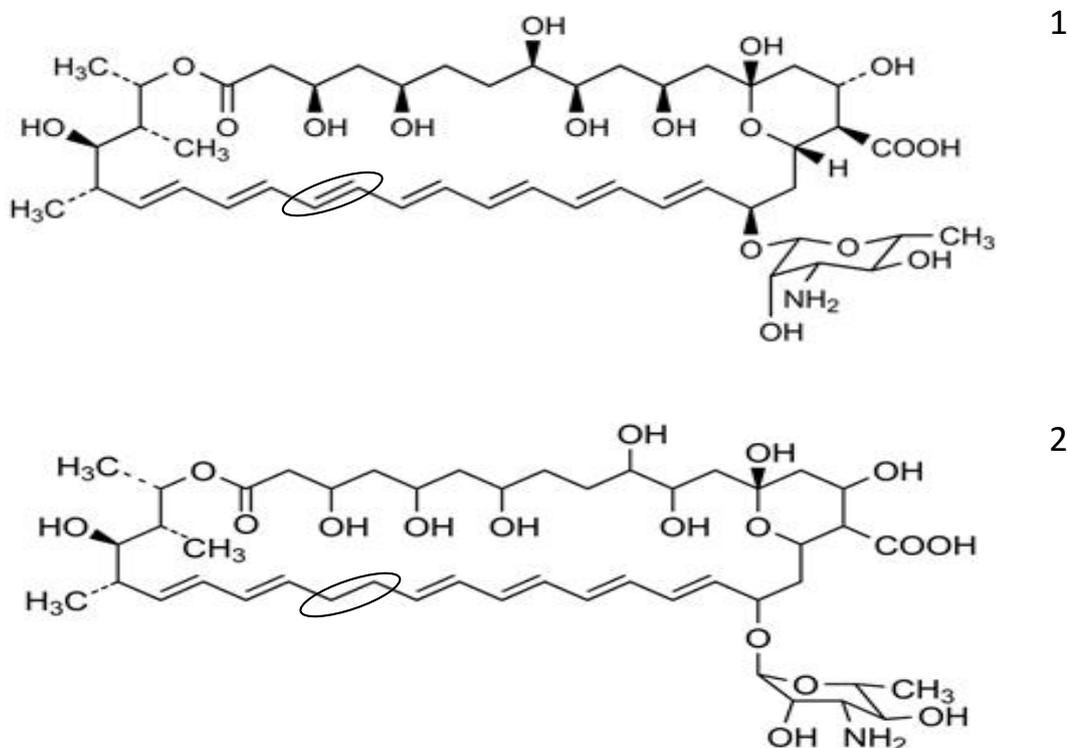
Já o componente A3 possui mudanças na estereoquímica dos grupos hidroxilas e tem um outro radical açúcar, a L-digitoxose, ligada ao carbono 35 (ZIELINSKI *et al.*, 1979; ZIELINSKI *et al.*, 1988) (Figura 1). No entanto A3 apresenta o mesmo amino açúcar presente nos outros dois componentes. Os compostos A1 e A2 foram identificados por SHENIN e col., (SHENIN *et al.*, 1993) que analisaram amostras de NYS em grau farmacêutico. Porém, a designação da estrutura do componente A2 do complexo NYS foi realizada por PAWLAK e col. (PAWLAK *et al.*, 2005). A complexidade da composição do composto NYS é devida a sua obtenção através de processo fermentativo, onde os três componentes são sintetizados.

Adicionalmente, a NYS apresenta estrutura molecular semelhante à da Anfotericina B (ANFB) porém, em alguns casos, manifesta um espectro de ação antifúngica *in vitro* mais amplo do que esta última, por atuar em fungos ANFB resistentes (GROLL *et al.*, 1999). Contudo, a ANFB e NYS demonstram características como baixa solubilidade em água e alta toxicidade para os pacientes, uma vez que quando administradas intravenosamente, são nefrotóxicas, e podem causar calafrios, náuseas, tromboflebite e febre. Em circunstância disso, tem-se evitado a administração parenteral da NYS (MORIBE *et al.*, 2000; MORIBE & MARUYAMA, 2002).

Na farmacologia clínica, a NYS é utilizada no tratamento de candidíases superficiais de pele e mucosas (vaginal, esofágica e intestinal) (WASAN *et al.*, 1997). Uma vez que, a mesma exerce importante funcionalidade no auxílio ao tratamento terapêutico das dermatites de contato, devido as suas características fungistática e fungicida *in vitro* (SHENIN *et al.*, 1993).

Esse antimicrobiano praticamente não é absorvido por via oral, no entanto devido a sua ação superficial local, é administrado pela via oral em casos de candidíase bucal e intestinal (WASAN *et al.*, 1997). Para a terapia contra candidíase vaginal é empregada sob a forma de óvulos e, em casos de candidíase periungueal e cutânea, sob a forma de pomadas, loções e cremes (TAVARES, 1984). Quando é administrada por via intravenosa e intramuscular é muito tóxica, podendo causar necrose, hemólise e abscessos frios nos locais de injeção. Esse fato se estabelece a imediata ligação do fármaco aos esteróis das membranas das células tissulares e hemácias, causando sua desnaturação (HIEMENZ e WALSH, 1996). Com isso, as

EM com propriedades antifúngicas, se apresentam como importantes formas farmacêuticas viáveis e possíveis para o tratamento doenças fúngicas.



**FIGURA 2.** Estrutura química da Anfotericina B (1) e Nistatina (2) (Adaptado de J. Groeschkea, I. Solassola, F. Bressollea, F. Pingueta. *Stability of amphotericin B and nystatin in antifungal mouthrinses containing sodium hydrogen carbonate*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Volume 42, Issue 3, 26 September 2006, Pages 362–366). Aonde os círculos representam os diferentes alterações.

## 2.4. Zinco em formulações para uso tópico

Existem 55 formulações diferentes contendo zinco, listados no dicionário e livro International Nomenclatures of Cosmetics Ingredients (INCI). Destes, sete foram aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) para uso sem prescrição por serem seguros e efetivos, e promoverem uma grande quantidade de benefícios, incluindo proteção da pele (HOEGER, 2010), atividade antibacteriana (PADMAVATHY, 2008) e adstringência (SCHWARTZ, 2005). A grande quantidade de materiais contendo zinco aprovada pelo FDA dá uma forte indicação da utilidade

deste composto como tratamento para afecções cutâneas (BAE, 2010). Esse metal pode ser encontrado em diversas apresentações como sais e óxidos que modulam a solubilidade e biodisponibilidade das espécies de zinco. O sulfato de zinco é uma forma muito disponível inicialmente com rápida depleção, enquanto o óxido de zinco tende a ter um nível menor de atividade inicial, mas sustentada por um tempo longo (SCHWARTZ, 2005).

Além de facilitar o processo de reparo, o zinco parece conferir uma função protetora através da sua atividade antioxidante. Esse elemento reduz o dano celular e genético causado pela exposição à luz ultravioleta (UV) e aumenta a resistência dos fibroblastos da pele ao estresse oxidativo. O óxido de zinco micronizado é utilizado em fotoprotetores físicos de amplo espectro, por sua habilidade de dispersar e refletir tanto a radiação UVA quanto a UVB. O piritionato de zinco é outra forma desse metal usada em xampus anticaspa, pela sua capacidade de agir como potente antifúngico. A pasta de óxido de zinco é encontrada na forma de pomadas para melhorar a dermatite de fraldas, devido às suas propriedades de barreira e anti-inflamatória (SCHWARTZ, 2005), mas acredita-se que essas propriedades possam ser exercidas em outras formas farmacêuticas, tais como, as emulsões.

## 2.5. Emulsões

O termo “emulsão” é empregado para descrever um sistema disperso de pelo menos dois líquidos imiscíveis – um deles finamente e uniformemente disperso na forma de gotículas (fase dispersa) em uma fase líquida dispersante (fase contínua), estabilizadas pela presença de um agente de superfície (McCLEMENTS *et al.*, 2007; McCLEMENTS, 2010; MARTIN, 2011).

A redução da tensão interfacial entre os dois líquidos imiscíveis que ocorre devido às diferenças nas interações atrativas entre as moléculas dos dois líquidos a fim de minimizar a área interfacial entre eles formando uma fina camada, é uma variável dependente da presença de um surfactante (MASON *et al.*, 2007).

As EM, também conhecidas como macroemulsões, podem ser classificadas de acordo com a disposição espacial da fase dispersa e contínua. Onde, uma das

fases será essencialmente polar enquanto a outra será relativamente apolar. Quando a fase dispersa é composta por gotículas de água, a EM pode ser classificada como água em óleo (A/O). No entanto, se a fase dispersa for composta pela fase oleosa será classificada como óleo em água (O/A). Ademais, esses dois sistemas podem coexistir gerando as EM múltiplas, que podem ser do tipo óleo em água em óleo (O/A/O) ou água em óleo em água (A/O/A) (FORGIARINI, ESQUENA, GONZALEZ, *et al.*, 2001; MORAIS *et al.*, 2009).

Como base para a classificação das EM, o diâmetro médio das gotículas da fase dispersa pode ser igualmente utilizado. As EM convencionais, também denominadas como macroemulsões, possuem gotículas com o diâmetro médio se alterando entre 100 nm à 100 µm e tendem à ser opticamente turvas opacas, visto que o tamanho de suas gotículas apresentam tamanho equivalente ao comprimento de onda da luz, além de possuírem forte capacidade de espalhamento de luz (McCLEMENTS *et al.*, 2007; KHAN *et al.*, 2011). Enquanto que as NE tendem a ser opticamente transparentes, dado que suas gotículas possuem um comprimento de onda inferior do que o da luz, possuindo assim, pouca capacidade em espalhar a luz (QIAN & McCLEMENTS, 2011; FRYD & MASON, 2012). As macro e nanoemulsões são sistemas instáveis termodinamicamente, e tendem à separação de fases por intermédio de diversos mecanismos físico-químicos (McCLEMENTS, 2010).

Além dessas, as microemulsões (ME) são sistemas termodinamicamente estáveis, isto é, estão propensas a formação espontânea se dado prazo suficiente e do mesmo modo que as NE, possuem gotículas que variam de magnitude entre 5 a 50 nm. Diferem das emulsões convencionais e das NE, porque sua existência está relacionada com parâmetros termodinâmicos extrínsecos e intrínsecos, tais como concentração, pressão e temperatura, podendo dessa forma se tornarem instáveis se estas variáveis mudarem durante a seu armazenamento, transporte e produção (JADHAV *et al.*, 2006; CERPNAJ *et al.*, 2013).

**TABELA 1.** Resumo das características dos diferentes tipos de sistemas emulsionados (Adaptado de McCLEMENTS, 2010).

<b>Tipo de emulsão</b>	<b>Diametro</b>	<b>Estabilidade termodinâmica</b>	<b>Razão Massa- área superficial (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>Aparência</b>
Macroemulsão	0,1-100 µm	Instável	0,07-70	Turva/Opaca
Nanoemulsão	20-100 nm	Instável	70-330	Transparente
Microemulsão	5-100 nm	Estável	330-1300	Transparente

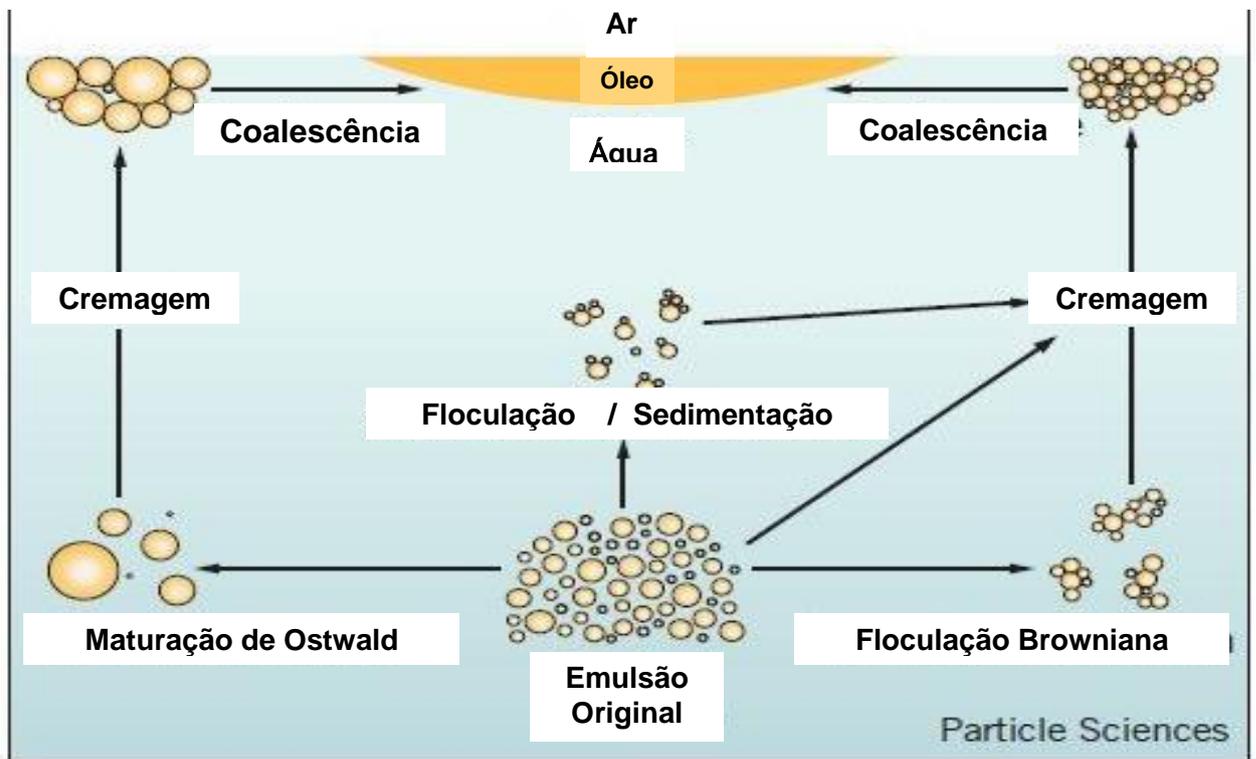
A vantagem mais importante das EM convencionais é que a razão óleo-surfactante necessária para sua estabilização é em geral inferior aquela para a formação de ME e NE, sem a necessidade de altos níveis de surfactantes sintéticos e em alguns casos a utilização de cossolventes e surfactantes secundários, o que muitas vezes encarece a produção (OSTERTAG *et al.*, 2012; PIORKOWSKI & McCLEMENTS, 2014). As principais características físico-químicas dos diversos tipos de sistemas emulsionados estão resumidas na tabela 1.

Devido ao caráter termodinamicamente instável dos sistemas emulsionados é preciso, durante a etapa de desenvolvimento da formulação, um estudo sistemático e complexo que garanta o mapeamento do conhecimento das características físico-químicas e de estabilidade do sistema, de forma à auxiliar na escolha do melhor conjunto de estabilizantes para a formulação pretendida (BURY *et al.*, 1995; ROLAND *et al.*, 2003). Dentre essas alterações podemos citar a floculação, cremagem, coalescência e separação de fases (Figura 3) (OSTERTAG *et al.*, 2012). Os fenômenos de floculação e cremagem (separação gravitacional) são processos reversíveis nos quais, intercorrem mudanças estruturais nas EM que podem não alterar a distribuição do tamanho de gotícula. Onde a cremagem é caracterizada quando ocorre um deslocamento das gotículas de óleo para a superfície do sistema, baseado na diferença de potencial de densidade entre duas fases, matendo a integridade da gotícula. Em contrapartida, a coalescência leva a alterações na distribuição de tamanho com o tempo, conduzindo para uma separação de fases,

sendo assim um processo irreversível (TCHOLAKOVA *et al.*, 2006). Devido à esse caráter termodinamicamente instável dos sistemas emulsionados é necessário, durante a etapa de desenvolvimento da formulação, um estudo sistemático e complexo que garanta o conhecimento das características físico-químicas e de estabilidade do sistema, de forma à auxiliar na escolha do melhor conjunto de estabilizantes para a formulação pretendida (ROLAND *et al.*, 2003).

A teoria clássica da estabilidade coloidal da emulsão considera que as partículas dispersas estão submetidas a ação de duas forças independentes. Sendo elas as forças de atração de Van der Waals e forças de Repulsão eletrostática. A atração de Van der Waals se estabelece por ser uma força atrativa que se origina nas flutuações da densidade eletrônica em um átomo neutro. A distribuição desigual da densidade eletrônica cria momentaneamente um dipolo que pode induzir a formação de uma estrutura similar em um átomo vizinho. O potencial atrativo entre as partículas é igual a soma de todas as forças sobre todos os átomos, aumenta com o tamanho das partículas e diminui com a distância entre elas. Já a repulsão eletrostática ocorre quando uma partícula com uma superfície carregada uniformemente pode causar uma distribuição desigual dos íons da solução, formando uma dupla camada elétrica sobre sua superfície. Os íons com carga oposta a da partícula se acumulam em cerca da superfície, em uma concentração que decresce com a distância.

Os dois principais mecanismos de desestabilização são a coalescência e a floculação. O primeiro deles é causado pela ruptura dos filmes de fase contínua e a fusão de duas gotículas em uma única gotícula superior. Já a floculação é o resultado das forças de atração entre as gotas que leva a formação de flocos de fase dispersa que são redispersíveis por efeito de agitação. Esses flocos podem ser formados quando há excesso de agente emulsionante (surfactante ou biopolímero) na fase contínua que provocam um aumento na força de atração entre as gotas por efeito osmótico devido a exclusão do agente emulsionante da região estreita entre as duas gotículas. As EM também podem sofrer a sedimentação ou separação gravitacional, que consiste na migração de glóbulos para a parte inferior ou superior da dispersão, dependendo das densidades relativas das duas fases líquidas (MASON *et al.*, 2007; KHAN *et al.*, 2011; BOUYER *et al.*, 2012).



**FIGURA 3.** Representação esquemática dos mecanismos de desestabilização de emulsões (Adaptado de <http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2011/emulsion-stability-and-testing.html>. Acessado em 10/06/2015 as 17h

O mecanismo de “Ostwald Ripening” é outro fenômeno de desestabilização que pode ocorrer caso a fase dispersa tenha uma solubilidade moderadamente elevada na fase contínua. É um mecanismo no qual moléculas individuais da fase dispersa de gotículas de menor tamanho, que possuem uma maior pressão de Laplace, se difundem pela fase contínua em direção a gotículas maiores, que detém uma pressão de Laplace mais elevada. Esse processo também conduz à um crescimento não reversível no tamanho das gotículas gerando assim à uma separação de fases (BOUYER *et al.*, 2012).

O controle ou a eliminação desses processos de desestabilização tem sido então um desafio no desenvolvimento de EM para que elas obtenham uma estabilidade cinética satisfatória longa e isso só é possível através da adição de substâncias conhecidas como estabilizantes. A seleção de estabilizantes apropriados é um dos fatores mais importantes para sistemas emulsionados, pois estes determinam suas propriedades físico-químicas e seu período de prateleira (McCLEMENTS *et al.*, 2007).

Os surfactantes, também conhecidos como tensoativos, são moléculas que se adsorvem às gotículas da fase dispersa durante a homogeneização, reduzindo a tensão interfacial, gerando uma camada protetora ao redor dessas gotículas,

prevenindo a agregação e aumentando assim a sua estabilidade (McCLEMENTS, 2010; YANG *et al.*, 2013). São moléculas anfifílicas, visto que são constituídas por uma parte polar (hidrofílica) e outra parte apolar (hidrofóbica), sendo solúveis tanto em solventes orgânicos como em solventes polares, como a água, residindo assim na interface entre os dois líquidos. Para classificar a tendência desses agentes em se dispersar mais em líquidos polares ou apolares, Griffin sistematizou essa tendência por meio de uma escala arbitrária conhecida como Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico (EHL) de classificação dos surfactantes. Esse sistema associa de forma numérica a solubilidade relativa dos surfactantes em fases líquidas aquosas e oleosas e de acordo com esse sistema numérico, é possível estabelecer uma escala de EHL de eficácia confiável para cada classe de surfactantes, EHL é proporcional a hidrofiliicidade do surfactante (MASON *et al.*, 2007; MARTIN, 2011; ROSEN & KUNJAPPU, 2012).

Outro exemplo importante de estabilizantes são os sólidos coloidais que dão origem a um tipo particular de EM conhecido como EM Estabilizada por Partículas (Pickering Emulsion). As partículas sólidas coloidais se adsorvem nas gotículas formando uma barreira física, atrasando ou prevenindo o processo de coalescência, aumentando assim a sua estabilidade. Esse tipo de EM retêm as características das EM estabilizadas por surfactantes podendo assim substituí-las na maiorias das aplicações, onde o caráter "livre de surfactante" as torna mais atraentes em diversos campos de aplicação, em especial em farmacêuticos, alimentícios e cosméticos, aplicações onde surfactantes expressam frequentemente efeitos adversos (BOUYER *et al.*, 2012; CHEVALIER & BOLZINGER, 2013).

A utilização de surfactantes poliméricos tem desenvolvido nos últimos anos, em especial os biopolímeros (polissacarídeos e proteínas) que despontam como alternativa a utilização de surfactantes sintéticos, devido a sua não toxicidade, além de reduzir os impactos ambientais ocasionados pela produção desses surfactantes sintéticos. Os biopolímeros na sua maioria atuam na redução da tensão interfacial do sistema, proporciona repulsão eletrostática e efeitos estéricos, além de aumentar a viscosidade do sistema, impedindo assim a aproximação entre as gotículas. As proteínas (p.ex. Lactoferrina,  $\beta$ -Lactoglobulina, Gelatina e Lecitina) atuam como surfactantes, enquanto os polissacarídeos (adraganta, xantana e goma

arábica) colaboram aumentando a viscosidade além de ter propriedades estéricas (BOUYER *et al.*, 2012; SHIMONI *et al.*, 2013).

As EM também podem ser estabilizadas por mecanismos que incluem a adsorção de íons na superfície da gotícula, sem afetar a tensão superficial ou facilitar o processo de emulsificação, apenas restringindo sua aproximação por repulsão eletrostática. Além da modificação da viscosidade da fase contínua, diminuindo a movimentação das gotículas, na formação de filmes multimoleculares através da utilização de colóides liofílicos hidratados que formam uma barreira resistente contra a coalescência e possuindo como efeito secundário o aumento de viscosidade que auxilia no aumento da estabilidade. Além disso, o acréscimo de substâncias que aumentam a densidade da fase oleosa, reduzindo a força motriz para a separação gravitacional, ou de substâncias com alto grau de hidrofobicidade que apoiam na prevenção do efeito de “Ostwald Ripening”, também contribuem na estabilização de EM (McCLEMENTS, 2010; BOUYER *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2013).

Diante dos aspectos teóricos relacionados com a estabilidade das EM, é importante compreender o meio pelo qual estes sistemas podem ser influenciados pela adição de vários elementos necessários à utilização clínica final das EM (WASHINGTON, 1996). A presença de componente adicional numa EM pode complicar consideravelmente seu comportamento físico-químico, o que justifica um cauteloso zelo na avaliação dos seus parâmetros de estabilidade quando do desenvolvimento de EM como sistemas de liberação de fármacos com limitações de ordem farmacotécnica e/ou farmacocinética.

## **2.6. Óleos vegetais**

Os óleos vegetais são constituídos principalmente de triglicérides (95-98 %) e uma mistura de componentes menores (2-5%) de uma vasta série de compostos químicos. Os componentes menores apresentam uma ampla composição qualitativa e quantitativa, dependendo da espécie vegetal de que foram obtidos. Entretanto, em uma mesma espécie o conteúdo e a composição destes componentes podem variar

devido às condições climáticas e agrônômicas, qualidade da matéria-prima, método de extração e procedimentos de refino. Os principais grupos dos componentes menores presentes nos óleos vegetais são: hidrocarbonetos, ceras, alcoóis, componentes fenólicos voláteis, fosfolipídios, pigmentos, tocoferóis, tocotrienóis e ácidos triterpênicos (CERT *et al.*, 2000). Os óleos vegetais são obtidos principalmente de sementes oleaginosas, da polpa de alguns frutos e germe de cereais (SARMENTO, 2002).

O girassol (*Helianthus annuus L.*) também conhecido como margarida, é uma dicotiledônea anual da família Compositae, originária do continente Norte Americano, que inicialmente era utilizada como fonte de alimentos pelos índios. A mesma foi levada para Europa no século XVI como planta ornamental. Estados Unidos, Argentina e Rússia se apresentam como os maiores produtores mundiais de girassol (OLIVEIRA, 2004).

Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o fruto do girassol tem 24% de proteínas e 47,3% de óleo fixo. Segundo Castro (1996), para cada tonelada de sementes de girassol são produzidos 400 kg de óleo, 250 kg de casca e 350 kg de torta, contendo de 45 a 50% de proteína. O mesmo contém diversos tipos de ácidos graxos: saturados (ácidos palmítico C<sub>16:0</sub>, esteárico C<sub>18:0</sub>, laurílico C<sub>12:0</sub> e mirístico C<sub>14:0</sub>), monoinsaturado (ácido oléico C<sub>18:1, n-9</sub>) e poliinsaturados (ácidos linoléico C<sub>18:2, n-6</sub> e  $\alpha$ -linolênico C<sub>18:3, n-3</sub>) (PEDERSEN *et al.*, 2000). Já é sabido da literatura a capacidade de reversão e cura de lesões na pele e dermatoses cutâneas após aplicação tópica do óleo de semente de girassol, que contém alta concentração de ácido linoléico (WENDT, 2005).

Na cosmetologia, o óleo de girassol (OG) está sendo utilizado em cremes, produtos de limpeza, sabonetes e cremes. Ademais, o OG é bastante utilizado na preparação de EM cosméticas também por conter vitamina E (RAHATE & NAGARKAR, 2007) que por causa de propriedades oxidantes, vem recebendo crescente atenção na indústria de cosméticos (THIELE & EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, 2007).

Devido o fato de ser um sequestrador de radicais livres, os polifenóis de girassol se apresentam como potentes antioxidantes (VISIOLI *et al.*, 1998). Nos últimos anos tem sido motivos de vários estudos, pois apresentam agentes

preventivos contra inúmeras doenças degenerativas, além de proteger os tecidos contra o estresse oxidativo. Diversos estudos *in vitro* têm mostrado que os polifenóis de girassol demonstram ações protetoras contra muitas doenças cardiovasculares (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002; TAPIERO *et al.*, 2002; CHIOU *et al.*, 2007). Também apresentam características vasodilatadoras, antitrombóticas, anticarcinogênicas, antimicrobianas, analgésicas e antiterogênicas. Além disso, desempenham esses benefícios pelo seu poder antioxidante (WOLLGAST & ANKLAM, 2000).

## **2.7. Produção e desenvolvimento de emulsões**

A escolha dos surfactantes para o preparo de EM foi realizada durante muito tempo por métodos empíricos. Para sistematizar esta escolha, Griffin desenvolveu o sistema do EHL e este conceito tem sido usado por mais de 20 anos para a seleção de surfactantes (KNOWLTON & PEARCE, 1996).

O sistema de EHL auxilia na determinação da proporção correta da mistura dos surfactantes para a emulsificação, através do emprego de fórmulas matemáticas para a determinação do valor de EHL exigido pela formulação ou da mistura dos mesmos (AZZINI, 1999). Assim, o EHL requerido para emulsificar um óleo em particular, pode ser determinado pela preparação de uma bateria de EM com surfactantes apropriados, numa faixa de valores de EHL conhecidos. O valor de EHL no qual se obtenha a EM mais estável será considerado como valor de EHL do óleo (EHL requerido ou EHL crítico) (KNOWLTON & PEARCE, 1996; SILVA & SOARES, 1996; PELTOLA *et al.*, 2003; FANG *et al.*, 2004).

Os métodos de emulsificação usando energia mecânica, chamados dispersão, ou métodos de alta energia de emulsificação (tais como homogeneização a alta pressão), são largamente utilizados na indústria para obter emulsões com pequenas gotas de tamanho uniformes. Os métodos de emulsificação que utilizam a energia química armazenada nos componentes são chamados de condensação, ou emulsificação espontânea. Nestes métodos, as emulsões são obtidas como resultado da transição de fases produzidas durante o processo de emulsificação (FORGIARINI, ESQUENA, GONZALEZ, *et al.*, 2001; FORGIARINI, ESQUENA,

GONZALEZ, *et al.*, 2001; IZQUIERDO *et al.*, 2002; MORALES *et al.*, 2003; SADURNI *et al.*, 2005). Outros métodos de emulsificação foram propostos e são comumente utilizados em várias aplicações: Temperatura de Inversão de Fases (MORALES *et al.*, 2003), Emulsificação por Membrana (VAN DER GRAAF *et al.*, 2005; VLADISAVLJEVIC & WILLIAMS, 2005), Emulsificação Espontânea (YU *et al.*, 1993; EGITO *et al.*, 1994), SolEmuls® (FREITAS & MÜLLER, 1998) e outros métodos que utilizam baixa energia para emulsificação (SADURNI *et al.*, 2005).

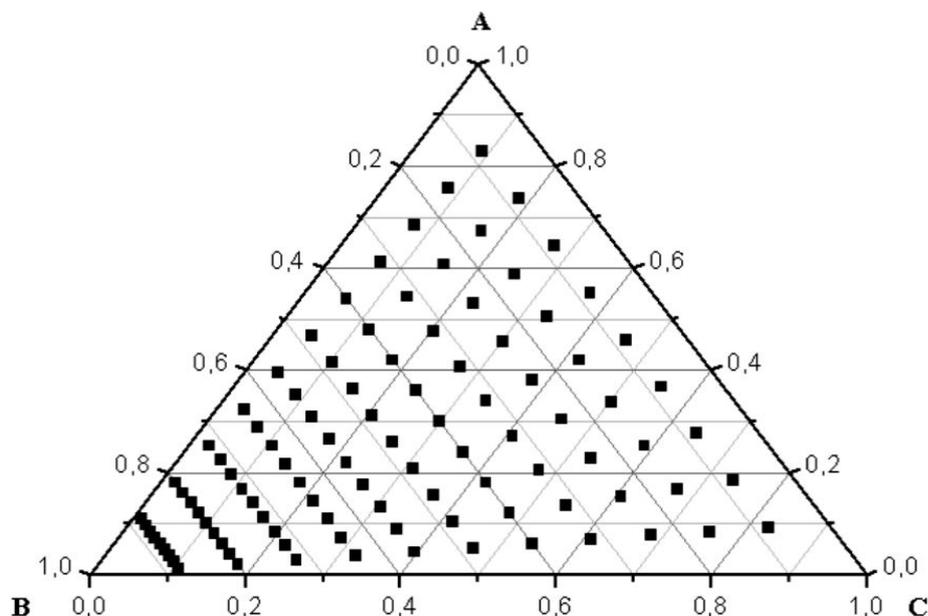
Os mais importantes dispositivos convencionais de emulsificação são aparatos de agitação, e sistemas homogeneizadores de alta pressão. Os agitadores foram os primeiros tipos de equipamentos utilizados para a produção de emulsões. Nesse caso, a fase dispersa é dividida pelo cisalhamento da turbulência e há geralmente um grande consumo de energia. Em sistemas de homogeneização à alta pressão a mistura é passada através de um estreito orifício, nesse processo pode haver a utilização de ultrassons ou campos elétricos. A emulsificação é causada pelos efeitos de turbulência e cavitação; alguns problemas de produção podem ser associados a esses métodos: (a) o tamanho e a distribuição granulométrica das gotas não podem (facilmente) ser controlados; (b) a reprodutibilidade é muitas vezes deficiente e isso faz a qualidade do produto variar a cada lote. A transposição para escala industrial (scale-up) é, portanto, uma dificuldade (VAN DER GRAAF *et al.*, 2005).

## **2.8. Diagramas de fases pseudoternário**

A construção de diagrama de fases é uma ferramenta ideal para caracterizar o domínio das regiões de EM, cuja interpretação descreve as estruturas presentes contidas neles, podendo-se escolher a região mais apropriada para o fármaco ser incorporado (SILVA *et al.*, 2010).

Os diagramas são construídos em três dimensões a partir de dados obtidos por titulação ou pela preparação de um amplo número de amostras de diferentes composições. A vantagem do primeiro método é que este pode ser usado para estudar um amplo número de amostras de diferentes composições de uma maneira

mais rápida, indicando as proporções nas quais os componentes devem ser misturados (LAWRENCE & REES, 2000) e as várias formas encontradas no sistema podem ser identificadas qualitativamente pela comparação com estudos prévios na literatura (BAKER & FLORENCE, 1984).



**FIGURA 4.** Representação esquemática de um triângulo equilátero em que cada lado é representado por um dos componentes da mistura (fase aquosa, fase oleosa e mistura de surfactantes) (Damasceno, 2011).

Durante o desenvolvimento de um diagrama de fases, as propriedades dos triângulos equiláteros são exploradas, ou seja, a soma dos lados perpendiculares de um determinado ponto no triângulo é igual a sua altura. A Figura 4 mostra um triângulo equilátero em que cada lado (dividido em dez partes correspondentes à composição centesimal de cada ponto) é representado por um dos componentes da mistura. Os vértices do diagrama de fases (A, B e C) representam os componentes puros. Normalmente, o diagrama de fases utilizando um triângulo equilátero é chamado de diagrama ternário, pois haverá a mistura de três componentes. Porém, no caso das EM, esses diagramas podem ser chamados de pseudoternário, quando o ponto “A”, que representa normalmente apenas o surfactante, poderá representar a mistura de surfactante/Co-surfactante. Nesse caso, o diagrama será a representação da mistura de quatro substâncias no triângulo equilátero e pode ser

chamado de diagrama de fases pseudoternário (DFPT). Para desenvolvimento de um DFPT são realizadas 99 formulações. Uma vez que normalmente, pra construir o mesmo são elaboradas 9 proporções diferentes (óleo, tensoativo e água) e cada proporção é composta por 11 adições de água. Após cada adição de água, é realizada uma caracterização. Depois que todas as regiões são caracterizadas, é realizado um mapeamento das amostras, como todos os dados possíveis associados as regiões dos diagramas, esse mapeamento é usado para alimentar um programa (Origin) e assim, gerar o diagrama. Na escolha de um ponto do diagrama, para obter uma formulação, é importante evitar regiões limites, caso contrário, haverá o perigo de indesejáveis transições de fase (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

TABELA PARA DIAGRAMA TERNÁRIO (PROPORÇÃO ÓLEO/TENSOATIVOS 1:9)													
Amostras	Quantidade (mg)					Qte. Água adicionar	Amostras	Porcentagem (%)					Resultados
	Óleo	Span 80	Tween80	Água	Total			Óleo	Span 80	Tween80	Água	Total	
1	500	540	3960	435	5435	435	1	9,2	53,82	28,98	8,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada, emulsão em formação e leitosa.
2	500	540	3960	952	5952	518	2	8,4	49,14	26,46	16,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada, início de separação de fase e leitosa.
3	500	540	3960	1579	6579	627	3	7,6	44,46	23,94	24,0	100	EL, tendência para viscosidade, branca levemente amarelada e muita espuma.
4	500	540	3960	2353	7353	774	4	6,8	39,78	21,42	32,0	100	EV, branca levemente amarelada e sem espuma.
5	500	540	3960	3333	8333	980	5	6,0	35,10	18,90	40,0	100	EV, branca levemente amarelada, sem espuma, homogênea e viscosa.
6	500	540	3960	4615	9615	1282	6	5,2	30,42	16,38	48,0	100	EV, branca levemente amarelada, sem espuma, homogênea e viscosa (menos, em relação a anterior).
7	500	540	3960	6364	11364	1748	7	4,4	25,74	13,86	56,0	100	EV, branca levemente amarelada, sem espuma, homogênea e viscosa (menos, em relação a anterior).
8	500	540	3960	8889	13889	2525	8	3,6	21,06	11,34	64,0	100	SF, muita espuma e começo da separação de fase.
9	500	540	3960	12857	17857	3968	9	2,8	16,38	8,82	72,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada, líquida e transparente.
10	500	540	3960	20000	25000	7143	10	2,0	11,70	6,30	80,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada, líquida (mais, em relação a anterior) e transparente.
11	500	540	3960	36667	41667	16667	11	1,2	7,02	3,78	88,0	100	ME, muita espuma, branca levemente amarelada, líquida (mais, em relação a anterior) e transparente.
TABELA PARA DIAGRAMA TERNÁRIO (PROPORÇÃO ÓLEO/TENSOATIVOS 2:8)													
Amostras	Quantidade (mg)					Qte. Água adicionar	Amostras	Porcentagem (%)					Resultados
	Óleo	Span 80	Tween80	Água	Total			Óleo	Span 80	Tween80	Água	Total	
1	1000	480	3520	435	5435	435	1	18,4	47,84	25,76	8,0	100	ME, pouca espuma, branca levemente amarelada e transparente.
2	1000	480	3520	952	5952	518	2	16,8	43,68	23,52	16,0	100	ME, pouca espuma, branca levemente amarelada e transparente.
3	1000	480	3520	1579	6579	627	3	15,2	39,52	21,28	24,0	100	EL, pouca espuma, branca levemente amarelada e alguns grumos.
4	1000	480	3520	2353	7353	774	4	13,6	35,36	19,04	32,0	100	EV, sem espuma, branca levemente amarelada, viscosa e homogênea.
5	1000	480	3520	3333	8333	980	5	12,0	31,20	16,80	40,0	100	EV, sem espuma, branca levemente amarelada, viscosa (menos, em relação a anterior) e homogênea.
6	1000	480	3520	4615	9615	1282	6	10,4	27,04	14,56	48,0	100	EV, sem espuma, branca levemente amarelada, viscosa (menos, em relação a anterior) e homogênea.
7	1000	480	3520	6364	11364	1748	7	8,8	22,88	12,32	56,0	100	EL, muito pouca espuma, branca levemente amarelada, líquida e homogênea.
8	1000	480	3520	8889	13889	2525	8	7,2	18,72	10,08	64,0	100	EL, muito pouca espuma, branca levemente amarelada, líquida e homogênea.
9	1000	480	3520	12857	17857	3968	9	5,6	14,56	7,84	72,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada e líquida.
10	1000	480	3520	20000	25000	7143	10	4,0	10,40	5,60	80,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada e líquida.
11	1000	480	3520	36667	41667	16667	11	2,4	6,24	3,36	88,0	100	EL, muita espuma, branca levemente amarelada, líquida e leitosa.

FIGURA 5. Mapeamento das amostras para elaboração dos DFPT.

### 3. JUSTIFICATIVA

O emprego do método de obtenção de EM através de DFPT, é um pré-requisito para identificação e análise do comportamento de fases dos sistemas dispersos formados por água/surfactante/óleo. Sendo possível assim, identificar, através do emprego dessa ferramenta, a melhor região, ou seja, as razões entre

fase aquosa, surfactante e fase oleosa que pode resultar na formulação desejada, através da metodologia proposta.

Diante de todo o exposto, considerando que pesquisas relatadas na literatura apontam a eficácia no uso de diagramas de fases pseudoternário como uma importante ferramenta para o desenvolvimento de formas farmacêuticas emulsionadas, faz possível a utilização desses diagramas para auxiliar na elaboração de formas farmacêuticas com propriedades antifúngicas de forma à, melhorar a elucidação dos DFPT, a seleção da formulação e avaliar as alterações frente à formulação obtida dos DFPT, além de, estudar sua estabilidade. Tornando plausível o desenvolvimento de uma base emulsionada, tendo como fase lipofílica o óleo de girassol, contendo o NYS e óxido de zinco, vem a ser uma nova alternativa para a terapêutica para a dermatite de fraldas.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivos gerais**

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma forma farmacêutica emulsionada para veiculação de NYS e óxido de zinco, que apresente características aceitáveis para uso tópico para a prevenção e/ou tratamento de DF e, empregando em sua composição o OG, o qual apresenta características terapêuticas cientificamente comprovadas.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Construir e caracterizar diagramas de fases pseudoternário (DFPT);
- Avaliar se os componentes da formulação desencadeiam alteração nos diagramas;
- Selecionar as formulações desejadas dentre os diagramas obtidos;
- Observar estabilidade macroscópica.

## **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1. Matérias-primas**

- Nistatina (PHARMA NOSTRA, BR)
- Óleo de girassol (FERQUIMA, BR);
- Óxido de zinco (PHARMA NOSTRA, BR);
- Tween<sup>®</sup> 80 – monooleato de POE-sorbitano (TEDIA, BR);
- Tween<sup>®</sup> 20 – monolaurato de POE-sorbitano (TEDIA, BR);
- Span<sup>®</sup> 80 – monooleato de sorbitano (TEDIA, BR);
- Água destilada.

### **5.2. Equipamentos**

- Ultraturrax T25 (IKA);
- Processador ultrassônico (IKA)
- Balança Analítica (BEL, BR);
- Pipetas automáticas: (5000, 1000, 500 e 250)  $\mu$  (KASVIbasic);
- Banho de Ultrassom (UNIQUE, BR);
- Placa aquecedora (IKA);
- Termômetro (INCONTERM, BR).

## **6. MÉTODOS**

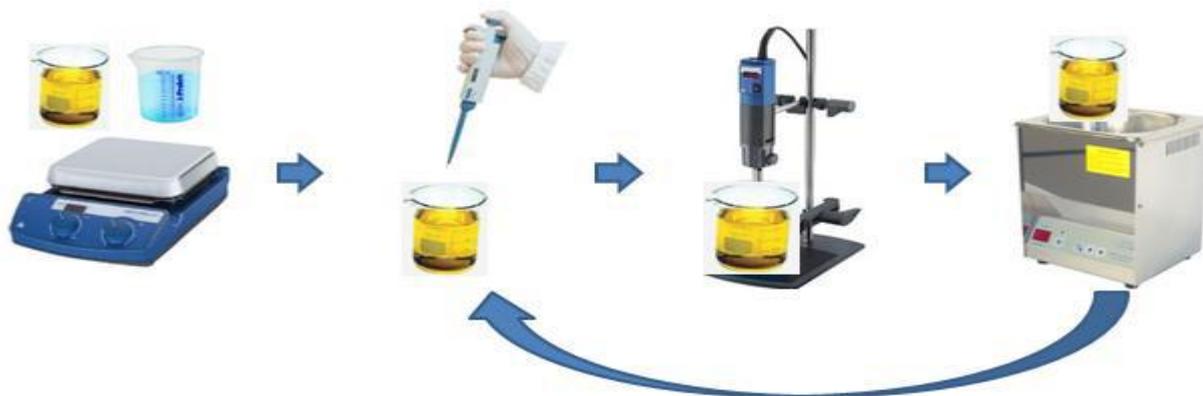
### **6.1. Diagramas de fases pseudoternário**

Os DFPT foram construídos por inspeção visual dos sistemas ternários formados a partir da mistura dos surfactantes Tween<sup>®</sup> 80 com Span<sup>®</sup> 80 e Tween<sup>®</sup> 20 com Span<sup>®</sup> 80, nas proporções de 10:0 a 0:10, e OG como fase lipofílica, nas proporções de 1:9 a 9:1, de acordo com o método de inversão de fase (MIF) (SOLANS & SOLÉ, 2012). A fase oleosa e a mistura de surfactante foram aquecidos

à  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , e em seguida essas misturas foram tituladas com água destilada, também a  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , com o auxílio de uma pipeta automática os sistemas foram homogeneizados com o auxílio de uma sonda de ultrassom na frequência de 30% e um UltraTurrax T25 (IKA) na frequência de 13500 rpm. O processo de agitação foi mantido pelo período de 3 minutos, com subsequente banho de ultrassom por 5 minutos (SILVA *et al.*, 2010). O mesmo procedimento foi adotado para obter os diagramas contendo fármaco, no caso, nistatina e/ou óxido de zinco. Uma vez que a concentração usada para cada um dos mesmos foi de 0,5 % da concentração da formulação (cálculo realizado proporcionalmente a uma formulação já existente no mercado, mas em outra forma farmacêutica; DERMODEX TRATAMENTO<sup>®</sup> fabricado pela Bristol-Myers Squibb Farmacêutica SA) e eles foram adicionados à parte oleosa após a mesma ser retirada do aquecimento, para assim, ser homogeneizada à mistura de surfactante e titulada com água destilada. Dando seguimento ao mesmo procedimento realizado para o diagrama que não continha fármaco.



**FIGURA 6.** Desenho esquemático e ilustrativo do método de produção do DFPT com Tween 20<sup>®</sup> e Span 80<sup>®</sup>.



**FIGURA 7.** Desenho esquemático e ilustrativo do método de produção do DFPT com Tween 80<sup>®</sup> e Span 80<sup>®</sup>.

Os sistemas dispersos obtidos durante o desenvolvimento dos DFPT foram macroscopicamente classificados após serem retirados do banho de ultrassom (em cada etapa de titulação) em microemulsão (ME), emulsão líquida (EL), emulsão viscosa (EV) e separação de fases (SF) e essa classificação foi estabelecida através de análise visual macroscópica. Primeiramente, foi verificado o grau de escoamento da amostra dentro do frasco e caso a mesma apresentasse escoamento, a mesma poderia ser classificada com EL, ME ou SF, caso a amostra não apresentasse escoamento, a mesma era classificada como EV. Onde, para EL, a amostra poderia se apresentar leitosa, esbranquiçada, alguns grupos, com muita espuma (em relação a formulação analisada) e levemente amarelada (devido a coloração do óleo de girassol); EV, levemente amarelada (devido a coloração do óleo de girassol), com pouca ou sem espuma, maior consistência e homogênea (em sua totalidade); SF, separação de fases e muita espuma (geralmente); e ME, líquida e tendência à transparência. Além disso, para os diagramas contendo algum fármaco, era considerada a possível influência da coloração do(s) fármaco(s) presente(s), no caso, NYS (coloração amarelada) e óxido de zinco (coloração esbranquiçada).

## 6.2. Seleção do sistema tensoativo

$$\begin{cases} x + y = 1 \\ (EHL_x \cdot x) + (EHL_y \cdot y) = EHL_{\text{óleo}} \end{cases}$$

Conhecendo o OG devido as suas propriedades comprovadas perante a literatura, em um trabalho anterior realizado no mesmo laboratório (LaSHI/UFRJ), foi determinado o seu EHL em 13,7. Sabendo dessa informação, foram avaliados dois tipos de sistema tensoativo, no intuito de verificar se o Tween 20 ou 80, se adequavam melhor, a formulação pretendida. Com isso, a proporção foi realizada, baseada no EHL do OG.

## 6.3. Seleção das formulações

Após a construção dos DFPT, 7 formulações de EV foram obtidas a partir das regiões dos diagramas que apresentaram tal sistema. Estas formulações foram produzidas variando-se as concentrações de surfactante e, conseqüentemente, os valores de EHL. As formulações foram produzidas através do MIF. As fases hidrofílica e lipofílica foram aquecidas separadamente a  $70 \pm 2$  °C e, em seguida, a fase hidrofílica foi vertida lentamente sobre a lipofílica sob constante agitação (UltraTurrax T25) a 13500 rpm durante 5 minutos.

## 6.4. Análise macroscópica

Os aspectos organolépticos das formulações, assim como uma variação na sua estabilidade (presença de cremagem, coalescência e/ou separação de fases), foram avaliados por inspeção visual (SILVA *et al.*, 2010).

## 6.5. Índice de cremagem

$$IC \% = (Hc/He) \times 100$$

Uma alíquota de aproximadamente 10 mL das EM foi transferida para um tubo de ensaio com tampa imediatamente após a preparação. O índice de cremagem foi medido diretamente no tubo de ensaio com o auxílio de uma escala graduada, através da razão entre a altura da camada de cremagem ( $Hc$ ) com a altura total da EM ( $He$ ), como mostrado na equação abaixo (MACEDO *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2009).

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na preparação de sistemas emulsionados, a construção de DFPT é uma ferramenta fundamental para caracterizar em que condições experimentais a formulação desejada existe, e em quais proporções dos componentes outras estruturas podem estar presentes. A partir desses dados, pode-se selecionar a região do DFPT que mais convenientemente represente a condição mais apropriada para o fim a que se destina (SILVA *et al.*, 2010). Baseado nessa premissa, DFPT foram utilizados nesse trabalho com o objetivo de otimizar a seleção das formulações, levando em consideração a estabilidade e a obtenção de uma EV para administração tópica de nistatina e óxido de zinco.

Um parâmetro de extrema importância durante o desenvolvimento de emulsões, é a determinação do EHL requerido pela fase oleosa. A seleção do surfactantes é o ponto crítico para obter a formulação desejada. Cada surfactante possui um EHL específico, e esse valor é dado pelo balanço entre as partes hidrofílica e lipofílica da molécula. Em contrapartida, cada óleo ou fase oleosa possui um EHL requerido para o tipo de emulsão que se deseja formular, de acordo com a fase externa da mesma.

A escolha do surfactante ou mistura de surfactantes é feita baseada no EHL requerido pelo óleo, e o correto EHL promove a diminuição da tensão interfacial

entre as fases aquosa e oleosa promovendo a formação de um sistema emulsionado com maior estabilidade possível. Por isso, a seleção do sistema surfactante está diretamente relacionada com a máxima estabilidade da emulsão em desenvolvimento.

O conhecimento do EHL para formar uma emulsão O/A à partir do óleo de girassol, permitiu estabelecer a melhor proporção entre os surfactantes (cálculo abaixo) e posterior investigação do comportamento das fases, a partir do estudo de diagramas ternários. Nesse trabalho em especial, a utilização de uma mistura de surfactantes caracteriza os diagramas construídos como diagramas pseudoternários.

$$\begin{cases} x + y = 1 \\ (\text{EHL}_x \cdot x) + (\text{EHL}_y \cdot y) = \text{EHL}_{\text{óleo}} \end{cases}$$

↓

$$(\text{EHL}_{\text{Tw20}} \cdot x) + (\text{EHL}_{\text{Sp80}} \cdot y) = \text{EHL}_{\text{óleo}}$$

$$(16,7 \cdot x) + (4,3 \cdot y) = 13,7$$

$$16,7 \cdot (1-y) + 4,3y = 13,7$$

$$16,7 - 16,7y + 4,3y = 13,7$$

$$[-12,4y = -3] (-1)$$

$$y = 0,24 = 24\% \text{ de Tween 20}$$
  

$$x = 1 - y$$

$$x = 1 - 24$$

$$x = 76\% \text{ de Span 80}$$

↓

$$(\text{EHL}_{\text{Tw80}} \cdot x) + (\text{EHL}_{\text{Sp80}} \cdot y) = \text{EHL}_{\text{óleo}}$$

$$(15 \cdot x) + (4,3 \cdot y) = 13,7$$

$$15 \cdot (1-y) + 4,3y = 13,7$$

$$15 - 15y + 4,3y = 13,7$$

$$[-10,7y = -1,3] (-1)$$

$$y = 0,12 \Rightarrow 12\% \text{ de Tween 80}$$
  

$$x = 1 - y$$

$$x = 1 - 12$$

$$x = 88\% \text{ de Span 80}$$

A formação de emulsões O/A ou A/O depende da composição da mistura de surfactante e da sua solubilidade em água. Quando a mistura de lípideos e surfactante formam uma mistura turva quando adicionados em água, esses sistemas são considerados emulsões. Nesse estudo uma extensa área de emulsões podem ser observada nos diagramas, e em sua maioria são observadas sistemas O/A devido a maior proporção de tensoativo hidrofílico utilizado (Tween 80<sup>®</sup>).

Após conhecimento das fases formadas no diagrama construídos com os componentes lipofílicos e hidrofílicos escolhidos, a presença do fármaco foi analisada.

Se apresenta como uma possibilidade, à escolha de uma formulação à partir do diagrama, caracterização e análise da estabilidade da mesma e em seguida a

incorporação do fármaco a ser veiculado. No entanto, este trabalho se propôs a avaliar a influência de fármacos no comportamento das fases de diagramas construídos com óleo de girassol.

Considerando as propriedades farmacêuticas do óleo de girassol e sua reconhecida utilização em formulações tópicas, optou-se por incorporar na formulação fármacos com propriedades e aplicações tópicas como Nistatina e óxido de zinco, ambos bastante utilizados em produtos para dermatite atópica infectadas ou não por *Candida albicans*. Para isso, diagramas foram construídos na presença dos fármacos e a disposição das fases foram observadas.

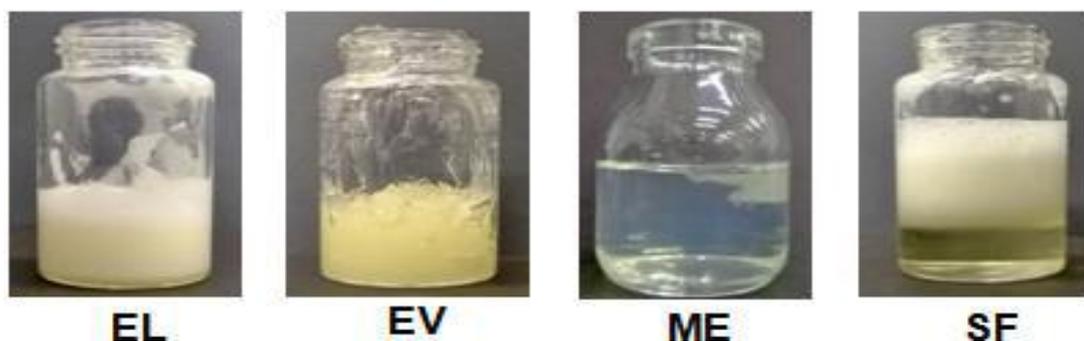
Para o desenvolvimento de sistemas emulsionados, os diagramas são chamados de ternários uma vez que esses são sistemas complexos constituídos por água, óleo e agente emulsionante, nesse caso um surfactante. Nos casos nos quais uma mistura de agentes de superfície é necessária, os diagramas de fases são denominados "pseudoternário" (SCHMIDTS *et al.*, 2009). Nesse estudo foi utilizada uma mistura de dois surfactantes com características aceitáveis para aplicação tópica, sendo um deles de característica hidrofílica (Tween 80<sup>®</sup>, EHL = 15,0) e outro de característica lipofílica (Span 80<sup>®</sup>, EHL = 4,3).

O estudo do comportamento de fase do sistema pseudoternário água/óleo/Tween 80<sup>®</sup> + Span 80<sup>®</sup> foi realizado com a proporção da mistura de surfactante (88:12), uma vez que essa mistura é capaz de alcançar o EHL requerido pelo óleo de girassol (13,7). Além disso, é consenso que a utilização de uma mistura de surfactante promove melhor estabilização da emulsão do que a utilização de apenas um componente de superfície. Uma vez que a mistura de 2 tensoativos de finalidades distintas (um hidrofílico e outro lipofílico) promove melhor estabilização da superfície das gotículas, gerando por consequência emulsões mais estáveis. Isso deve-se ao fato do tensoativo lipofílico (apresenta menor EHL) ter a cauda apolar maior (em relação a cabeça polar), o que proporciona que essa molécula esteja mais internalizada na gotícula oleosa. O contrário acontece nos tensoativos hidrofílicos, que devido a sua maior proporção da cabeça polar em relação a cauda apolar (apresenta maior EHL) favorece a localização dessa molécula, mais para fora da gotícula oleosa, ficando sua maior parte no meio aquoso. A utilização de uma mistura, forma um filme interfacial de maior espessura, garantindo uma maior

estabilização da interface, além de promover maior recobrimento da superfície da gotícula, devido a diferença entre o tamanho das cabeças polares de ambas moléculas.

Os DFPT desta pesquisa, foram obtidos a partir da mistura ternária, cujos pontos experimentais obtidos através das titulações, refletiram as regiões limite e de transição entre as fases. Durante as titulações, teve-se o cuidado de padronizar a homogeneização para que um aumento inadequado da velocidade não proporcionasse a coalescência das gotículas e conseqüentemente, gerar resultados inadequados. Além disso, os sistemas emulsionados foram diferenciados dos demais por inspeção visual contra um fundo preto. Os diagramas elaborados demonstraram quatro situações possíveis: a formação de sistemas líquidos, com possíveis diferentes estruturas, a formação de sistemas viscosos, com pouca quantidade de água livre, a formação de sistemas microemulsionados e separação de fases.

Após a manipulação as formulações foram classificadas (de forma sucinta) através de análise visual em: Emulsão Líquida (EL), caso a formulação apresentasse característica leitosa ou turva e apresentasse algum escoamento, Emulsão Viscosa (EV), caso a formulação apresentasse cremosa e com a ausência algum escoamento, Microemulsão (ME), caso a formulação se apresente transparente ou translúcida, com algum escoamento, e Separação de Fases (SF), caso não fosse possível obter um sistema homogêneo (figura 8).



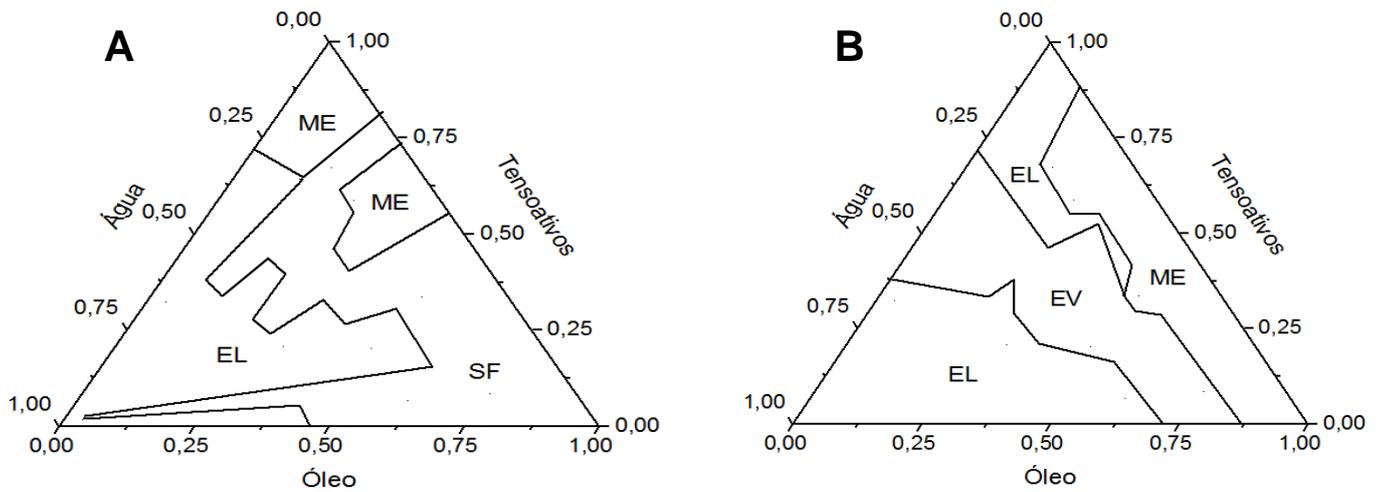
**FIGURA 8.** Representação da classificação das amostras através de análise visual. EL (Emulsão líquida), EV (Emulsão viscosa), ME (Microemulsão) e SF(Separação de fases).

Os diagramas foram representados no plano como um triângulo equilátero, onde cada vértice do triângulo representa 100% de um constituinte (Figura 9). A partir da análise das fases, comparando-se os diagramas construídos com Tween 20<sup>®</sup>: Span 80<sup>®</sup> (Figura 9A) versus Tween 80<sup>®</sup>: Span 80<sup>®</sup> (Figura 9B), ambos na ausência dos fármacos, pode-se observar que maior região de EM é formada quando a mistura de surfactantes Tween 80<sup>®</sup>: Span 80<sup>®</sup> é utilizada.

Os dois processos fundamentais que ocorrem durante a emulsificação são a coalescência e separação de fases. Estes processos ocorrem simultaneamente, e as velocidades relativas dos dois processos determinam o tamanho final da gota. Os surfactantes afetaram ambos os processos através da redução da tensão interfacial e a energia interfacial, promovendo assim a ruptura, e fornecendo uma barreira à coalescência através de interações entre as camadas adsorvidas em duas gotas colidem (ODIO, 2000; MICHEL, 1977).

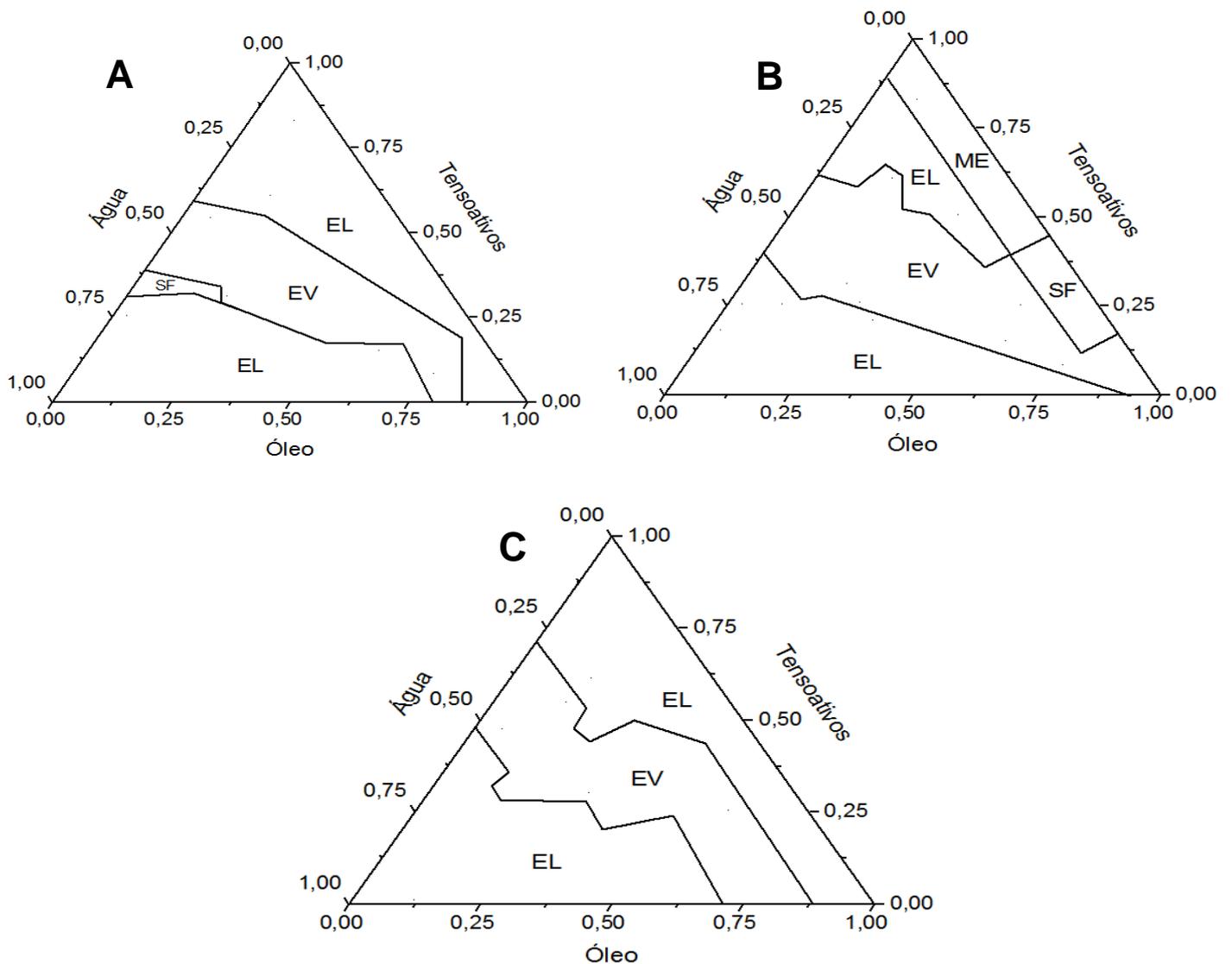
À princípio pode causar estranheza, a diferença significativa das fases quando se compara os diagramas 9A e 9B, devido a ausência da região de separação de fases no último. De fato, espera-se que mantendo-se o valor do EHL fornecido pelo sistema surfactante, dentro de uma mesma classe de surfactante que se obtenha regiões muito próximas, uma vez que o mecanismo de estabilização é o mesmo. A diferença observada nos diagramas em questão deve-se ao fato dos mesmos terem sido produzidos sob condições de agitação distintas.

O diagrama 9A foi produzido por cavitação ultrassônica, enquanto que o 9B foi construído utilizando agitação por turbilhonamento. Sabendo disso, era esperado que obtivéssemos regiões um tanto distintas pois a agitação por cavitação é capaz de formar gotículas relativamente menores, o que acarreta numa maior área de superfície, sendo portanto necessária maior concentração de surfactante para recobrir e estabilizar essa área de interface. Por isso, no diagrama 9A observa-se uma extensão área de SF, provavelmente devido a necessidade de surfactante disponível na interface (DAMASCENO, 2011; BURY, 1995; MARTIN, 2011; MACEDO, 2006; MORALES, 2003; SCHMIDTS, 2009 e SHIMONI, 2013).



**FIGURA 9** – Diagramas de Fases Pseudoternário (Água/Óleo/ Surfactantes: a) Diagrama I; Span 80<sup>®</sup>:Tween 20<sup>®</sup> : b) Diagrama II; Span 80<sup>®</sup>:Tween80<sup>®</sup>. As áreas delimitadas representam: EV - Emulsão Viscosa; EL - Emulsão líquida; ME - Microemulsão e SF – separação de fases.

Em contrapartida, o diagrama 9B, foi produzido por agitação por turbilhonamento e considerando que esse tipo de agitação produz gotículas com centenas de nanômetros é possível sugerir, baseado na ausência de SF, que a concentração de surfactante utilizada é suficiente para estabilizar sistemas emulsionados macroscópicos (DAMASCENO, 2011; BURY, 1995; MARTIN, 2011; MACEDO, 2006; MORALES, 2003; SCHMIDTS, 2009 e SHIMONI, 2013).



**FIGURA 10** – Diagramas de Fases Pseudoternário na presença dos fármacos. A: Nistatina; B: Óxido de Zinco; C: Nistatina e Óxido de Zinco.

Além disso, o aparecimento da região de EV corrobora com essa proposta, uma vez que o aumento da viscosidade de um sistemas emulsionado no qual não é utilizado agente viscosificante, pode estar relacionado com o aumento do tamanho das gotículas e a diminuição do meio dispersante, aumentando a interação entre as

gotículas e diminuindo o movimento das mesmas, contribuindo portanto para o aumento da viscosidade. No entanto, estudos reológicos são necessários para confirmar essa hipótese.

Após a análise do comportamento das fases nos diagramas construídos apenas com os componentes da emulsão-base, foram construídos diagramas na presença dos fármacos escolhidos para este trabalho: NYS, óxido de zinco e de ambos, NYS e óxido de zinco (Figura 10).

A análise do comportamento das fases, na presença dos fármacos estudados, permite visualizar rapidamente que os mesmos interferem nos sistemas formados e coloca em questão a usual metodologia de desenvolver sistemas emulsionados partindo do diagrama apenas dos componentes da formulação base seguida da incorporação do fármaco sem a análise de como o mesmo interfere na disposição das fases como um todo.

Na figura 10A observamos que na presença de NYS ocorreu o desaparecimento da região de ME. Considerando que a característica anfífilica desse fármaco, é provável que de modo o mesmo tenha interferido nas propriedades de superfície e contribuído para formação de sistemas emulsionados. No diagrama 6B, construído apenas na presença do óxido de zinco, quando comparado com o 5B houve redução da área de ME e o aparecimento da região de SF no vértice com maior concentração de óleo e menor concentração de surfactante. A dispersão de partículas insolúveis demandam a diminuição do ângulo de molhagem para que ocorra a dispersão das mesmas na meio dispersante. A presença das partículas insolúveis do óxido de zinco na região do vértice com menor concentração de surfactante podem ter favorecido para a desestabilização da microemulsão inicialmente formada nessa região, pelo deslocamento de moléculas de surfactantes para diminuição da tensão interfacial sólido/líquido, diminuindo a região de microemulsão. Por último, no diagrama construído na presença de ambos os fármacos, pôde se observar a predominância da formação de EM, sem região de SF. Se compararmos os diagramas 10A e 10C é possível visualizar um aumento da região de EV, provavelmente devido à presença de partículas de óxido de zinco em suspensão. Fazendo contextualizar que há a possibilidade de existir uma provável

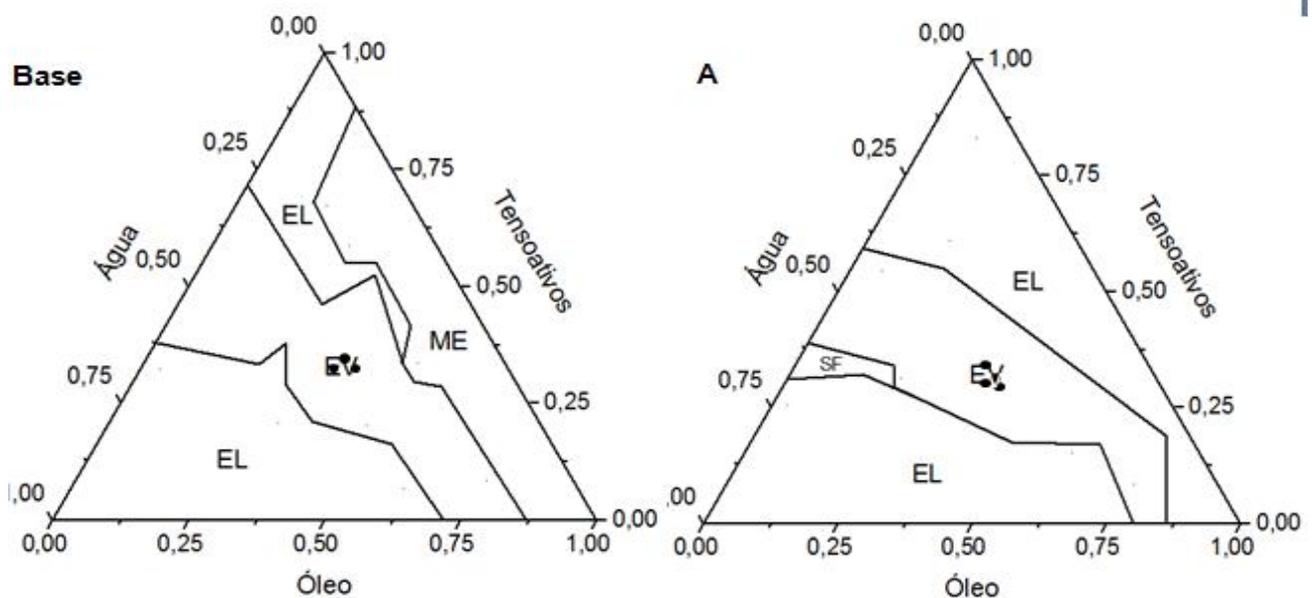
atividade sinérgica de superfície desses fármacos, resultando em sistemas mais estáveis.

Considerando as modificações nas regiões que podem ser observados, é importante destacar o desaparecimento da região de ME encontrada no digrama 9B em relação ao 10A sugerindo que a presença de nistatina influencia nessa modificação, uma vez que no diagrama 10B no qual há apenas a presença do óxido de zinco esse desaparecimento não acontece, voltando a ser observado no diagrama 10C. Em paralelo a presença do óxido de zinco diminui a região de ME e promove uma pequena região de SF em sistemas com alta concentração de óleo e baixas concentração de tensoativos. Apesar de alguns trabalhos sugerirem que partículas sólidas podem atuar como agentes de superfície e favorecer a estabilização de emulsões em nosso caso, pode-se sugerir que o tamanho das partículas de óxido de zinco e/ou a hidrofobicidade não favoreceram esse efeito que era esperado. Quando foi avaliado a presença de ambos os fármacos nas fases dos diagramas observou-se o desaparecimento por completo das regiões de ME e SF, em contrapartida o aumento da região de emulsões líquidas e viscosas, sugerindo que a presença desses fármacos favorecem a estabilização de emulsões.

É importante que as emulsões para serem usadas como veículos de fármacos sejam suficientemente estáveis. O principal desafio levantado para utilização de emulsões é a sua instabilidade termodinâmica, que converge para a a desestabilização da dispersão e a separação de fases. Os fenômenos de instabilidade mais comuns são floculação, cremagem, coalescência, separação de fases, e maturação de Ostwald, esses eventos podem ocorrer separada ou simultaneamente em sistemas emulsionados (ZIELINSKI, 1988). As emulsões podem permanecer praticamente inalteradas visualmente durante vários meses, mas finalmente voltar ao seu estado estável, o qual é um sistema de fases separadas. A estabilidade é refletida pelo valor do índice de cremagem normalmente utilizado para avaliar as formulações de emulsão. Diversas técnicas têm sido descritas para prever a estabilidade de emulsões como análise de tamanho de partícula por difractometria de laser, caracterização óptica automática da estabilidade, e medição do potencial zeta (BOROWSKI, 1971).

As análises de estabilidade física de um sistema emulsionado podem ser realizadas por dois métodos: estudos de estabilidade de curto prazo e de longo prazo. A análise de longo prazo consiste em observar as variações visuais e microscópicas durante um longo período pré-estabelecido. A análise de curto prazo, no entanto, consiste em submeter as emulsões para testes de centrifugação a diferentes velocidades de rotação.

Nesse estudo, após a elaboração dos DFPT na presença dos fármacos, foram selecionadas 7 amostras e a estabilidade macroscópica foi avaliada durante 90 dias. (Tabela 2).



**FIGURA 11.** Representação das regiões selecionadas para amostragem. Cada ponto preto, representa uma das 7 amostras. Diagrama Base) Span 80<sup>®</sup>, Tween 80<sup>®</sup> e Óleo; A) Span 80<sup>®</sup>, Tween80<sup>®</sup>, Óleo e Nistatina. As áreas delimitadas representam: EV - Emulsão Viscosa; EL - Emulsão líquida; ME - Microemulsão e SF – separação de fases.

**TABELA 2.** Composição (%) das formulações selecionadas a partir de pontos específicos dos DFPT.

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F5</b>	<b>F6</b>	<b>F7</b>
<b>Óleo de Girassol</b>	10	20	57	10	20	20	40
<b>Tween® 80</b>	38,72	38,72	17,6	38,72	38,72	26,4	26,4
<b>Span® 80</b>	5,28	5,28	2,4	5,28	5,28	3,6	3,6
<b>Água</b>	46	36	23	45,5	35,5	49,5	29,5
<b>Nistatina</b>	...	...	...	0,5	0,5	0,5	0,5
<b>Óxido de Zinco</b>	...	...	...	...	...	...	...

Com o intuito de avaliar melhor a estabilidade das EM, foi avaliado o índice de cremagem das 7 amostras escolhidas através dos DFPT, podendo dessa forma, observar se havia SF em função do tempo. Sendo assim, é importante ressaltar que na cremagem ocorre a formação da sobrenadante ou a migração das gotículas da fase interna para a fase inferior da EM. Isso, por sua vez, é causado pela diferença de densidade entre as duas fases, sendo que a direção do movimento depende da fase interna ser mais ou menos densa do que a fase externa/contínua. Esse efeito nem sempre é considerado um indício de instabilidade, uma vez que é um processo reversível, onde a uniformidade da dispersão pode ser restabelecida mediante simples agitação da emulsão (as gotículas ainda estão circundadas por uma camada protetora de surfactante) (LACHMAN *et al.*, 2001; THOMPSON, 2006; ALLEN *et al.*, 2007). Com isso, uma EM com tal efeito, além de pouco atraente pode acarretar num erro da dose a ser utilizada pelo paciente, uma vez que não há uniformidade na mesma.

Ademais, a velocidade ( $v$ ) na qual essa camada é formada é determinada pela lei de Stokes (FERRARI, 1998; AZZINI, 1999).

$$v = \frac{2r^2(d_2 - d_1)g}{9\eta}$$

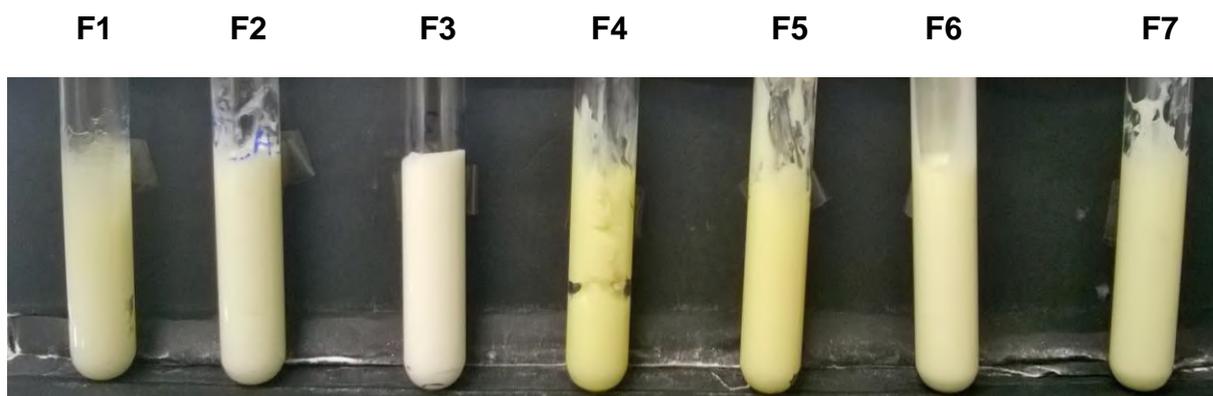
Onde  $r$  é o raio da gotícula,  $g$  é a constante gravitacional,  $d_1$  é a densidade da fase contínua de viscosidade  $\eta$ ,  $d_2$  é a densidade da fase dispersa.

Entretanto essa equação nos dá a velocidade de cremagem de apenas uma única gotícula e as EM são sistemas polidispersos. Desta forma, a equação acima pode ser reescrita como um somatório de gotículas  $n_i$  de raio  $r_i$  dispersas em um volume de amostra  $V$ , para se obter a taxa de cremagem ( $\bar{u}$ ) (ORAFIDIYA & OLADIMEJI, 2002).

$$\bar{u} = \sum_i \frac{8\pi}{27\eta V} g n_i r_i^5 (d_2 - d_1)$$

Contudo, algumas limitações devem ser consideradas antes de se aplicar a lei de Stokes para melhorar a estabilidade de uma emulsão, como a via de administração, que nem sempre permite aumentar a viscosidade de sua fase externa. Outro fator limitante desta lei também é a presença de gotículas eletricamente carregadas (FERRARI, 1998; AZZINI, 1999).

Dessa maneira, a ausência do processo de cremagem nas 7 formulações (Figura 7) pode ser explicada em parte pela característica viscosa da EM, isto é, alta viscosidade, que contribui para o não aparecimento desse fenômeno. Além disso, índices de cremagem podem estar associados à gotículas muito grandes ou um sistema com uma polidispersividade elevada, diminuindo assim a estabilidade das formulações. Desta forma, o fato das 7 formulações escolhidas não apresentarem um percentual de cremagem no decorrer dos 30 dias, sugere a possibilidade de serem EV estáveis.



**FIGURA 12.** Demonstração da ausência de cremagem nas 7 formulações escolhidas. Da esquerda pra direita, F1 a F7.

## 8. CONCLUSÃO

Após analisar a estabilidade macroscópica das formulações, as 7 amostras selecionadas apresentaram resultados promissores para dar continuidade aos estudos por apresentarem na sua composição uma mistura de tensoativos, os quais acredita-se que promovem uma maior estabilidade à EM, além de considerar a concentração de óleo presente nas mesmas, tendo em vista as suas propriedades intrínsecas, visando uma ação sinérgica da fase lipofílica com o ativo adicionado.

Pode-se concluir que a construção de diagramas de fases é imprescindível para o desenvolvimento de sistemas emulsionados, e o estudo da influência que os fármacos terão no mesmo se faz necessário uma vez que cada fármaco possui características de superfície distintas e podem portanto influenciar na atividade de superfície dos sistemas emulsionados formados em um diagrama.

Além disso, considerando a complexidade de um sistema disperso de dois líquidos imiscíveis, a metodologia normalmente utilizada a qual considera o estudo da incorporação do fármaco após o desenvolvimento da emulsão ideal, se torna limitada uma vez que a incorporação do fármaco em apenas um ponto do diagrama não é capaz de inferir se possíveis fenômenos de instabilidade estão ligadas à molécula posteriormente incorporada.

Portanto, à partir do trabalho realizado é possível sugerir que para o bom desenvolvimento de uma emulsão farmacêutica é preciso analisar as fases formadas pelos componentes da formulação bem como influência do fármaco na totalidade dessas.

## **9. PERSPECTIVAS FUTURAS**

É notório que perspectivamente seja possível analisar a influência da adição do óxido de zinco na EM e a eficácia terapêutica das formulações de modo a verificar se existe um favorecimento à obtenção de um creme estável, o que demonstra a viabilidade do uso de emulsões com óleo de girassol como veículo para este ativo. Além disso, a avaliação do tamanho de gotícula, bem como um estudo reológico mais minucioso, se apresenta de extrema importância para uma melhor afirmação e continuidade do trabalho por, visar uma melhoria contínua dos processo empregados no estudo, bem como, possíveis não conformidade que possam vir a alterar a estabilidade da formulação final pretendida.

## **10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ADALAT, S.; WALL, D.; GOODYEAR, H. Diaper Dermatitis-Frequency and Contributory Factors in Hospital Attending Children. *Pediatric Dermatology*, v. 24, n. 5, p. 483-488, 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1470.2007.00499.x> >.
- AL-WAILI, N. S. Clinical and mycological benefits of topical application of honey, olive oil and beeswax in diaper dermatitis. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 11, n. 2, p. 160-163, 2005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14622199> >.

- ALBERTA, L.; SWEENEY, S. M.; WISS, K. Diaper Dye Dermatitis. *Pediatrics*, v. 116, n. 3, p. e450-e452, September 1, 2005. Disponível em: < <http://pediatrics.aappublications.org/content/116/3/e450.abstract> >.
- ALLEN, J. *et al.* Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- ARAD, A. *et al.* Efficacy of Topical Application of Eosin Compared with Zinc Oxide Paste and Corticosteroid Cream for Diaper Dermatitis. *Dermatology*, v. 199, n. 4, p. 319-322, 1999. Disponível em: < <http://www.karger.com/DOI/10.1159/000018282> >.
- AULTON, M. E. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 2. Porto Alegre: Artemd, 2005. 677.
- AZZINI, R. G. Desenvolvimento e avaliação in vitro e in vivo emulsões contendo óleo de canola e ácidos carboxílicos. 1999. 169 Dissertação (Mestrado) (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas,, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BAE, Y. S. *et al.* Innovative Uses for Zinc in Dermatology. *Dermatologic Clinics*, v. 28, n. 3, p. 587-597, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733863510000471> >.
- BAER , E. L. Disposable nappies for preventing napkin dermatitis in infants. 2006.
- BAKER, R. C.; FLORENCE, A. T. Investigations into the Formation and Characterization of Microemulsions .1. Phase-Diagrams of the Ternary-System Water Sodium Alkyl Benzene Sulfonate Hexanol and the Quaternary System Water Xylene Sodium Alkyl Benzene Sulfonate Hexanol. *Journal Colloid Interface Science*, v. 100, n. 2, p. 311-33, 1984.

BEGUIN, A. Nappy rash: always current events? Archives De Pediatrie, v. 13, p. 6-9, Nov 2006. ISSN 0929-693X. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:000242891600003 >.

BOUYER, E. *et al.* Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? International Journal of Pharmaceutics, v. 436, n. 1-2, p. 359-378, 2012. Disponible em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312006503> >.

BURY, M. *et al.* Application of a New Method Based on Conductivity Measurements to Determine the Creaming Stability of O/W Emulsions. International Journal of Pharmaceutics, v. 124, n. 2, p. 183-194, Oct 1995. ISSN 0378-5173. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:A1995RU06600004 >.

CERPNAJ, K. *et al.* Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. Acta Pharmaceutica. 63: 427-45 p. 2013.

CERT, A.; MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. J Chromatogr A, v. 881, n. 1-2, p. 131-148, 2000.

CHEVALIER, Y.; BOLZINGER, M.-A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 439, n. 0, p. 23-34, 2013. Disponible em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092777571300157X> >.

CHIOU, A. *et al.* Retention and Distribution of Polyphenols after Pan-Frying of French Fries in Oils Enriched with Olive Leaf Extract. Journal of Food Science, v. 72, n. 8, p. S574-S584, 2007. Disponible em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00493.x> >.

CHONG, C. N.; RICKARDS, R. W. Macrolide antibiotic studies. XVI. The structure of nystatin. *Tetrahedron Letters*, v. 11, n. 59, p. 5145-5148, 1970. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403900969624> >.

CONCANNON, P. *et al.* Diaper Dermatitis: A Therapeutic Dilemma. Results of a Double-Blind Placebo Controlled Trial of Miconazole Nitrate 0.25%. *Pediatric Dermatology*, v. 18, n. 2, p. 149-155, 2001. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1470.2001.018002149.x> >.

DAMASCENO, B. P. G. L. S., J.A.; OLIVEIRA, E.E.; SILVEIRA, W.L.L.; ARAÚJO, I.B.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011. ISSN 1808-4532.

DRAELOS, Z. D. Cosmeceuticals: undefined, unclassified, and unregulated. *Clinics in Dermatology*, v. 27, n. 5, p. 431-434, 2009/10// 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X09001205> >.

\_\_\_\_\_. The Art and Science of New Advances in Cosmeceuticals. *Clinics in Plastic Surgery*, v. 38, n. 3, p. 397-407, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0094129811000034> >.

\_\_\_\_\_. New treatments for restoring impaired epidermal barrier permeability: Skin barrier repair creams. *Clinics in Dermatology*, v. 30, n. 3, p. 345-348, 2012/6// 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X11002227> >.

E. BOROWSKI, J. Z., L. FALKOWSKI, T. ZIMIŃSKI, J. GOLIK, P. KOŁODZIEJCZYK, E. JERECZEK, M. GDULEWICZ. The complete structure of the polyene macrolide antibiotic nystatin A1. *Tetrahedron Letters*, v. 12, n. 8, p. 685-690,

1971. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403901965311> >.

EGITO, E. S. T. *et al.* New Techniques for Preparing Submicronic Emulsions - Application to Amphotericin-B. *Stp Pharma Sciences*, v. 4, n. 2, p. 155-162, Mar-Apr 1994. ISSN 1157-1497. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994NG07800011 >.

ERASALA, G. N.; MERLAY, I.; ROMAIN, C. Evolution of disposable diapers and reduction of diaper dermatitis. *Archives de Pédiatrie*, v. 14, n. 5, p. 495-500, 2007. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929693X07001625> >.

FANG, J. Y. *et al.* Lipid nano/submicron emulsions as vehicles for topical flurbiprofen delivery. *Drug Delivery*, v. 11, n. 2, p. 97-105, Mar-Apr 2004. ISSN 1071-7544. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220662700003 >.

FERRARI, M. Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleo de andiroba e copaíba. 1998. [Mestrado thesis] (Mestrado). Universidade de São Paulo, Riberão Preto.

FERRAZZINI, G. *et al.* Microbiological Aspects of Diaper Dermatitis. *Dermatology*, v. 206, n. 2, p. 136-141, 2003. Disponível em: <  
<http://www.karger.com/DOI/10.1159/000068472> >.

FERREIRA, M. R. A. *et al.* Development and Evaluation of Emulsions from *Carapa guianensis* (Andiroba) Oil. *AAPS PharmSciTech*, Boston, v. 11, n. 3, p. 1383-1390, 2009. Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2974161/> >.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. *Princípios Físico-Químicos em Farmácia*. São Paulo: Edusp, 2003.

FORGIARINI, A. *et al.* Formation of Nano-emulsions by Low-Energy Emulsification Methods at Constant Temperature. *Langmuir*, v. 17, n. 7, p. 2076-2083, 2001. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/la001362n> >.

FORGIARINI, A. *et al.* Formation of Nano-emulsions by Low-Energy Emulsification Methods at Constant Temperature. *Langmuir*, v. 17, n. 7, p. 2076-2083, 2001. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/la001362n> >.

FORMARIZ, T. P. *et al.* Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, p. 301-313, 2005. ISSN 1516-9332. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S15169332200500030003&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15169332200500030003&nrm=iso) >.

FREITAS, C.; MÜLLER, R. H. Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 168, n. 2, p. 221-229, 1998. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517398000921> >.

FRYD, M. M.; MASON, T. G. Advanced Nanoemulsions. *Annual Review of Physical Chemistry*, v. 63, n. 1, p. 493-518, 2012. Disponível em: < <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-physchem-032210-103436> >.

GALE, E. F. C., E.; REYNOLDS, P.E.; RICHMOND, M.H.; WARING M.J. The molecular basis of antibiotic action. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 62, n. 2 edição Cambridge: Ed. John Wiley & Sons, p. 1577-1578, 1973. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600620955> >.

GROLL, A. H. *et al.* Liposomal nystatin against experimental pulmonary aspergillosis in persistently neutropenic rabbits: efficacy, safety and non-compartmental pharmacokinetics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 43, n. 1, p. 95-

103, January 1, 1999 1999. Disponível em: < <http://jac.oxfordjournals.org/content/43/1/95.abstract> >.

GUPTA, A. K.; SKINNER, A. R. Management of diaper dermatitis. *International Journal of Dermatology*, v. 43, n. 11, p. 830-834, 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2004.02405.x> >.

HAYES, S. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, volume 1-2, 22nd edition. *Journal of the Medical Library Association*, v. 102, n. 3, Jul 2014. ISSN 1536-5050. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000346145700016 >.

HOEGER PH, Stark S, Jost G. Efficacy and safety of two different antifungal pastes in infants with diaper dermatitis: a randomized, controlled study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010; 24(9):1094-8.

HIEMENZ, J. W.; WALSH, T. J. Lipid Formulations of Amphotericin B: Recent Progress and Future Directions. *Clinical Infectious Diseases*, v. 22, n. Supplement 2, p. S133-S144, May 1, 1996 1996. Disponível em: < [http://cid.oxfordjournals.org/content/22/Supplement\\_2/S133.abstract](http://cid.oxfordjournals.org/content/22/Supplement_2/S133.abstract) >.

IZQUIERDO, P. *et al.* Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir*, v. 18, n. 1, p. 26-30, Jan 2002. ISSN 0743-7463. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000173341200004 >.

JADHAV, K. R. *et al.* Applications of microemulsion based drug delivery system. *Curr Drug Deliv*, v. 3, n. 3, p. 267-73, Jul 2006. ISSN 1567-2018 (Print) 1567-2018 (Linking). Disponível em: < <http://www.eurekaselect.com/56318/article> >.

JANSSEN, M. *et al.* Dermatite das fraldas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 68, n. 2, p. 85-86, 1993.

KHAN, B. A. *et al.* Basics of pharmaceutical emulsions: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 5, n. 25, p. 2715-2725, Dec 2011. ISSN 1996-0816. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000299680500001 >.

KNOWLTON, J.; PEARCE, S. *Emulsions. Handbook of cosmetic science and technology.* Oxford: Cotswold Publishing Company, 1996.

KRIS-ETHERTON, P. M. *et al.* Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, v. 113, n. 9, Supplement 2, p. 71-88, 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002934301009950> >.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica.* Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LACROIX, C.; FEUILHADE DE CHAUVIN, M. *Tratamientos antifungicos.* *EMC - Dermatologia*, v. 43, n. 1, p. 1-9, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1761289609703498> >.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 45, n. 1, p. 89-121, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X00001034> >.

MACEDO, J. P. F. *et al.* Micro-emultocrit technique: A valuable tool for determination of critical HLB value of emulsions. *Aaps Pharmscitech*, v. 7, n. 1, 2006. ISSN 1530-9932. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000236870300021 >.

MANWARING, D. G.; RICKARDS, R. W.; GOLDING, B. T. The structure of the aglycone of the macrolide antibiotic nystatin. *Tetrahedron Letters*, v. 10, n. 60, p. 5319-5322, 1969. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004040390188953X> >.

MARTIN, S. P. Físico-farmácia e Ciências Farmacêuticas. Artmed, n. 5, 2011.

MASON, T. G. *et al.* Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties (vol 19, pg 079001, 2007). Journal of Physics-Condensed Matter, v. 19, n. 7, Feb 2007. ISSN 0953-8984. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000244153100028 >.

MCCLEMENTS, D. J. Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. In: (Ed.). Annual Review of Food Science and Technology, Vol 1, v.1, 2010. p.241-269. (Annual Review of Food Science and Technology). ISBN 1941-1413 978-0-8243-4901-1.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. Journal of Food Science, v. 72, n. 8, p. R109-R124, Oct 2007. ISSN 0022-1147. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000250408900001 >.

MICHEL, G. W.; KLAUS, F. Nystatin. In: (Ed.). Analytical Profiles of Drug Substances: Academic Press, v. Volume 6, 1977. p.341-421.

MILLER, J.; VROOME, V. Treatment of diaper dermatitis: Review of the treatment options. Journal of the American Academy of Dermatology, v. 58, n. 2, p. AB108-AB108, Feb 2008. ISSN 0190-9622. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252700800431 >.

MORAIS, J. M.; ROCHA-FILHO, P. A.; BURGESS, D. J. Influence of Phase Inversion on the Formation and Stability of One-Step Multiple Emulsions. Langmuir, v. 25, n. 14, p. 7954-7961, 2009. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/la9007125 >.

MORALES, D. *et al.* A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nano-emulsion formation. *Langmuir*, v. 19, n. 18, p. 7196-7200, Sep 2003. ISSN 0743-7463. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185086500009 >.

MORIBE, K.; MARUYAMA, K. Pharmaceutical Design of the Liposomal Antimicrobial Agents for Infectious Disease. *Current Pharmaceutical Design*, v. 8, n. 6, p. 441-454, 2002. Disponível em: < <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2002/00000008/00000006/art00003> <http://dx.doi.org/10.2174/1381612023395853> >.

MORIBE, K.; MARUYAMA, K.; IWATSURU, M. Spectroscopic investigation of the molecular state of nystatin encapsulated in liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 201, n. 1, p. 37-49, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517300003914> >.

NIELD, L. S.; KAMAT, D. Prevention, Diagnosis, and Management of Diaper Dermatitis. *Clinical Pediatrics*, v. 46, n. 6, p. 480-486, July 1, 2007 2007. Disponível em: < <http://cpj.sagepub.com/content/46/6/480.short> >.

ODIO, M.; FRIEDLANDER, S. F. Diaper dermatitis and advances in diaper technology. *Current Opinion in Pediatrics*, v. 12, n. 4, p. 342-346, Aug 2000. ISSN 1040-8703. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000088217000011 >.

OLIVEIRA, M. F. V., V. O. Extração de óleo de girassol utilizando miniprensa. Embrapa Soja Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Soja Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, SET 2004. ISSN 1516-781X. Disponível em: < [http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/documento\\_237.pdf](http://www.cnpso.embrapa.br/download/publicacao/documento_237.pdf) >.

ORAFIDIYA, L. O.; OLADIMEJI, F. A. Determination of the required HLB values of some essential oils. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 237, n. 1-2, p.

241-249, Apr 2002. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000175451700023 >.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 388, p. 95-102, Dec 2012. ISSN 0021-9797. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000310495600014 >.

PADMAVATHY N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater*. 2008; 9(3):1-7.

PAWLAK, J. *et al.* The structure of nystatin A(2). *Polish Journal of Chemistry*, v. 79, n. 10, p. 1673-1679, Oct 2005. ISSN 0137-5083. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000232589600013 >.

PEDERSEN, A. *et al.* An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and a higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *Journal of Lipid Research*, v. 41, n. 12, p. 1901-1911, Dec 2000. ISSN 0022-2275. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000166021700001 >.

PELTOLA, S. *et al.* Microemulsions for topical delivery of estradiol. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 254, n. 2, p. 99-107, Mar 2003. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000181711000001 >.

PIORKOWSKI, D. T.; MCCLEMENTS, D. J. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, v. 42, p. 5-41, Dec 2014. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000343811800002 >.

- POROWSKA, N. et al. Composition of Polifungin, a New Antifungal Agent. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, v. 91, n. 6, p. 780-&, 1972. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1972M794400005 >.
- PRASAD, H. R. Y.; SRIVASTAVA, P.; VERMA, K. K. Diaper dermatitis: An overview. *Indian Journal of Pediatrics*, v. 70, n. 8, p. 635-637, August 2003. ISSN 0019-5456. Disponível em: < <Go to ISI>://BIOABS:BACD200300355726 >.
- QIAN, C.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, v. 25, n. 5, p. 1000-1008, Jul 2011. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000288247300020 >.
- RAHATE, A. R.; NAGARKAR, J. M. Emulsification of vegetable oils using a blend of nonionic Surfactants for cosmetic applications. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 28, n. 7, p. 1077-1080, 2007. ISSN 0193-2691. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000249497200012 >.
- ROLAND, I. *et al.* Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 263, n. 1-2, p. 85-94, Sep 2003. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185430500009 >.
- ROSEN, M. J.; KUNJAPPU, J. T. Molecular Interactions and Synergism in Mixtures of Two Surfactants. In: 4 (Ed.). *Surfactants and Interfacial Phenomena*: John Wiley & Sons, Inc., 2012. p.421-457.
- SADURNI, N. *et al.* Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 26, n. 5, p. 438-445, Dec 2005. ISSN 0928-0987. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000233522900009 >.

SANTIAGO, R. R. *et al.* Metal Products Used in Cosmetic Field for the Treatment of Diaper Dermatitis. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 28, n. 1, p. 151-157, Jan-Feb 2009. ISSN 0326-2383. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000267276300024 >.

SARMENTO, C. M. P. Extração supercrítica de óleo de farelo de arroz e obtenção de frações enriquecidas em tocoferóis e tocotrienóis. 2002. (Mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

SCHMIDTS, T. *et al.* Influence of hydrophilic surfactants on the properties of multiple W/O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 338, n. 1, p. 184-192, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979709007632> >.

SCHWARTZ JR. Metais Cosmecêuticos. In: Draelos ZD, editor. *Cosmecêuticos*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005 p. 95-102.

SEVGI, G.; ERDAL, M. S.; BUKET, A. New Formulation Strategies in Topical Antifungal Therapy. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, v. Vol.03No.01, p. 10, 2013. Disponível em: < <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=26936> >.

SHENIN, Y. D.; BELAKHOV, V. V.; ARAVIISKII, R. A. Nystatin: Methods of preparation, search for derivatives, and prospects for medicinal use (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, v. 27, n. 2, p. 84-92, 1993. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF00781067> >.

SHIMONI, G. *et al.* Emulsions stabilization by lactoferrin nano-particles under in vitro digestion conditions. *Food Hydrocolloids*, v. 33, n. 2, p. 264-272, Dec 2013. ISSN 0268-005X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000320614500012 >.

SHIN, H. T. Diaper dermatitis that does not quit. *Dermatologic Therapy*, v. 18, n. 2, p. 124-135, 2005. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8019.2005.05013.x> >.

SILVA, E.; SOARES, I. Tecnologia de emulsões. v. 8, n. 5, p. 37-46, 1996.

SILVA, J. A. *et al.* Physicochemical Characterization and Development of a Microemulsion System for Transdermal Use. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 31, n. 1, p. 1-8, 2010. ISSN 0193-2691. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000275860200001 >.

SIZENANDO NETO, D. S., T. I. E. Antifúngicos disponíveis para o tratamento das dermatomicoses. *Revista de Ciências da Saúde*, v. 2, n. 1, 2002.

SOLANS, C.; SOLÉ, I. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 17, n. 5, p. 246-254, OCT 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359029412000787> >.

SPRAKER, M. K. *et al.* Topical miconazole nitrate ointment in the treatment of diaper dermatitis complicated by candidiasis. *Cutis*, v. 77, n. 2, p. 113-120, Feb 2006. ISSN 0011-4162. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000235594600012 >.

TAPIERO, H. *et al.* Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 56, n. 4, p. 200-207, 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332202001786> >.

TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. Atheneu, n. 2, 1984.

- TCHOLAKOVA, S. *et al.* Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 123-126, p. 259-293, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000186860600073X> >.
- THIELE, J. J.; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S. Vitamin E in human skin: Organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology. *Molecular Aspects of Medicine*, v. 28, n. 5-6, p. 646-667, 2007/12// 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009829970700057X> >.
- THOMPSON, J. E. A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos. *Porte Alegre: Artmed*, 2006.
- VAN DER GRAAF, S.; SCHROEN, C.; BOOM, R. M. Preparation of double emulsions by membrane emulsification - a review. *Journal of Membrane Science*, v. 251, n. 1-2, p. 7-15, Apr 2005. ISSN 0376-7388. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228305400002 >.
- VISIOLI, F.; BELLOMO, G.; GALLI, C. Free Radical-Scavenging Properties of Olive Oil Polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 247, n. 1, p. 60-64, 1998. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X98987356> >.
- VLADISAVLJEVIC, G. T.; WILLIAMS, R. A. Recent developments in manufacturing emulsions and particulate products using membranes. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 113, n. 1, p. 1-20, Mar 2005. ISSN 0001-8686. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000228340000001 >.
- WARD, D. B. *et al.* CHaracterization of diaper dermatitis in the united states. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, v. 154, n. 9, p. 943-946, 2000. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/archpedi.154.9.943> >.

- WASAN, K. M. *et al.* Physical characteristics and lipoprotein distribution of liposomal nystatin in human plasma. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 41, n. 9, p. 1871-1875, Sep 1997. ISSN 0066-4804. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997XV70100005 >.
- WASHINGTON, C. Stability of lipid emulsions for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 20, n. 2-3, p. 131-145, 1996. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0169409X95001160> >.
- WENDT, S. B. T. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por intensão de feridas em pequenos animais. *Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Paraná*, p. 85, 2005.
- WOLF, R. *et al.* Diaper dermatitis<sup>1</sup>. *Clinics in Dermatology*, v. 18, n. 6, p. 657-660, 2000/12// 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0738081X00001577> >.
- WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, v. 33, n. 6, p. 449-459, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000697> >.
- YANG, Y. *et al.* Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale). *Food Hydrocolloids*, v. 30, n. 2, p. 589-596, MAR 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X12001804> >.
- YU, W. *et al.* A novel approach to the preparation of injectable emulsions by a spontaneous emulsification process. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 89, n. 2, p. 139-146, Jan 1993. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1993KK37100008 >.

ZANINI, M. *et al.* Erupção pápulo-ulcerativa na região da fralda: relato de um caso de dermatite de Jacquet. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 78, p. 355-359, 2003. ISSN 0365-0596. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962003000300012&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962003000300012&nrm=iso) >.

ZIELINSKI, J. *et al.* The Structure of Nystatin-A3, a Component of Nystatin Complex. *Journal of Antibiotics*, v. 41, n. 9, p. 1289-1291, Sep 1988. ISSN 0021-8820. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1988Q149000020 >.

ZIELINSKI, J. *et al.* The structure of a novel sugar component of polyene macrolide antibiotics: 2,6-dideoxy-L-ribohexopyranose. *J Antibiot (Tokyo)*, v. 32, n. 6, p. 565-8, Jun 1979. ISSN 0021-8820 (Print) 0021-8820 (Linking).