



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊTICAS**

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

**SISTEMA MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA COM
POTENCIAL AGENTE PARA O TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE**

CAMPINA GRANDE

2020

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

**SISTEMA MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA COM
POTENCIAL AGENTE PARA O TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador:
Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima
Damasceno.

CAMPINA GRANDE

2020

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

L533s Leite, Joandra Máisa da Silva.
Sistema microemulsionado contendo dexametasona
com potencial agente para o tratamento da artrite reumatoide
[manuscrito] / Joandra Máisa da Silva Leite. - 2020.
106 p. : il. colorido.
Digitado.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, 2020.
"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima
Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."
1. Anti-inflamatório. 2. Microemulsão. 3. Dexametasona. 4.
Artrite reumatoide. I. Título

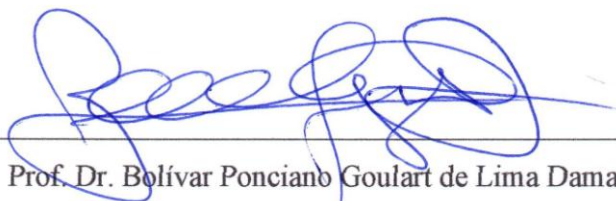
21. ed. CDD 615.1

JOANDRA MAÍSA DA SILVA LEITE

**SISTEMA MICROEMULSIONADO CONTENDO DEXAMETASONA COM
POTENCIAL AGENTE PARA O TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito para obtenção do título de mestre.

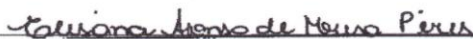
Aprovada em: 02 / 03 / 2020



Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno

Universidade Estadual da Paraíba

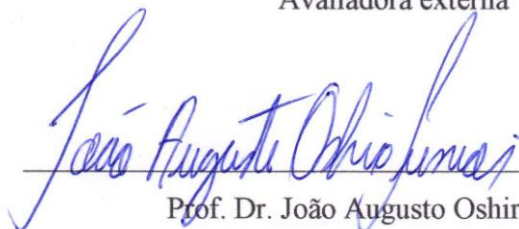
Orientador



Profa. Dra. Elisana Afonso de Moura Pires

Faculdade de Enfermagem Nova Esperança

Avaliadora externa



Prof. Dr. João Augusto Oshiro Júnior

Universidade Estadual da Paraíba

Avaliador interno

AGRADECIMENTOS

Á Deus e a Nossa Senhora, pelo o dom da vida, por me direcionar naquilo que já tinha sido planejado para minha vida.

Aos meus pais João Xavier e Nilda Silva, tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim. Por nunca medirem esforços para me dar uma boa educação. E por sempre me ensinarem agir com respeito, simplicidade, dignidade e honestidade. Mesmo distantes sempre foram meu escudo e proteção.

Ao meu irmão Johan Manoel pelo carinho, companheirismo e por estar sempre torcendo pelas minhas conquistas. Aos meus avôs, avós, tios, tias, primos e primas pelo carinho, apoio, torcida e por todas as orações em meu favor.

Ao meu orientador Bolívar P. G. de L. Damasceno pela oportunidade de desenvolver a pesquisa, por toda contribuição, competência e paciência. Seus ensinamentos foram essenciais para minha formação.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDPF) por todo o suporte para a pesquisa. E aos colegas de laboratório Larissa Pereira, Thayse Medeiros, Demis Melo, Amaro César, Lívia Carvalho, Joyce Cordeiro, Camila Barros, Gabryella Guedes, Milena Raissa, Emmily Oliveira, Beatriz Patrício.

Aos Laboratórios de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UFCG e UEPB, Laboratório de Mineração e Geologia da UFCG e Laboratório de Engenharia de Pavimentos (LEP) da UFCG, pelo suporte, disponibilidade e acessibilidade na realização das análises.

Aos professores Elisana Pires e João Oshiro por aceitarem fazer parte desse momento tão importante. Já adianto e agradeço pelas contribuições que virão. Serão de grande valia.

A todos, o meu muito obrigada!

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença reumática sistêmica crônica de múltiplas articulações. A dexametasona (DEXA) é um potente corticosteroide sintético com ação antiinflamatória utilizada no tratamento da AR. O uso prolongado é associado a efeitos colaterais sistêmicos graves, como hipertensão, hiperglicemia, supressão imunológica, dependência e resistência. A utilização de microemulsão (ME) visa formar um sistema para incorporar a DEXA e aumentar a sua eficácia terapêutica. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar uma ME contendo DEXA para o tratamento da AR. Inicialmente realizou os estudos de pré-formulação e prosseguiu com o desenvolvimento do diagrama de fases pseudotérmico (DFPT) para obter a região de formação de ME. Foi realizada a validação analítica para a quantificação da DEXA. Realizou-se a caracterização dos sistemas quanto aos seus aspectos físico-químico e morfológico pelas técnicas de: aspecto macroscópico, pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio de gotícula (TMG), índice de polidispersão (IPD), potencial zeta (PZ), microscopia de luz polarizada, medidas reológicas, termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raios-X (DRX). Verificou-se a estabilidade preliminar dos sistemas pelos testes de centrifugação, estresse térmico e ciclo resfriamento/aquecimento. Realizou teste de liberação *in vitro*. O DFPT foi construído utilizando a mistura de tensoativos Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60 (9:1), como fase oleosa o triglicerídeo do ácido cáprico e caprílico e como fase aquosa a água destilada. Foram selecionadas três formulações (ME-1; ME-2; ME-3). A validação analítica mostrou-se um método específico, exato, preciso, robusto e rápido. A EE dos sistemas variou entre 88 e 99% e quantidade máxima de DEXA incorporado nos sistemas foram de 0,06%; 0,29% e 0,36% para as ME-1, ME-2 e ME-3, respectivamente. Para análise macroscópica observou-se formulações líquidas, transparentes, límpidas e homogêneas. O pH variou entre 5,57 e 6,26 sendo viável para administrado por via parenteral. A condutividade elétrica para ME-1 ($135,30 \pm 1,66 \mu\text{S}/\text{cm}$), ME-2 ($196,17 \pm 1,17 \mu\text{S}/\text{cm}$) e ME-3 ($204,10 \pm 1,45 \mu\text{S}/\text{cm}$) sugerindo serem ME do tipo O/A. Os TMG dos sistemas variaram entre $22,25 \pm 0,76$ e $37,03 \pm 1,11$ nm confirmando serem MEs. O IPD com valores entre $0,206 \pm 0,007$ e $0,314 \pm 0,017$ sugerindo possuir gotículas homogêneas. Pelas medidas reológicas atestou-se comportamento de fluido não-newtoniano do tipo pseudoplástico. Pelo DSC revelou-se aparecimento de pico endotérmico de fusão em $259,81 \text{ }^\circ\text{C}$ para a DEXA, comprovando sua cristalinidade (forma B) pelo DRX e as formulações apresentaram característica amorfa, sugerindo incorporação da DEXA. Os sistemas permaneceram estáveis diante os testes de estabilidade preliminar. O estudo de liberação *in vitro* revelou que no tempo de 6 h ocorreu liberação de 54% para a ME-1 DEXA 0,08%, e 50% para a ME-2 DEXA 0,1%, seguida de liberação lenta por até 72 h, ocorre uma liberação burst release, seguida de liberação lenta e sustentada. Portanto, os sistemas microemulsionados propostos foram capazes de incorporar a DEXA, sendo assim uma alternativa promissora a fim de aumentar a eficácia terapêutica da DEXA.

Palavras-chave: Anti-inflamatório. Microemulsão. Novos Sistemas de Liberação de Fármacos. Via parenteral.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic rheumatic disease of multiple joints. Dexamethasone (DEXA) is a potent synthetic corticosteroid with anti-inflammatory action used in the treatment of RA. Prolonged use is associated with serious systemic side effects, such as hypertension, hyperglycemia, immune suppression, dependence and resistance. The use of microemulsion (ME) aims to form a system to incorporate DEXA and increase its therapeutic effectiveness. The objective of this work was to develop and characterize an ME containing DEXA for the treatment of RA. Initially, he performed the pre-formulation studies and proceeded with the development of the pseudo-ternary phase diagram (PTPD) to obtain the EM formation region. Analytical validation was performed to quantify DEXA. The systems were characterized in terms of their physical-chemical and morphological aspects using the following techniques: macroscopic aspect, pH, electrical conductivity, refractive index, average droplet size (ADS), polydispersity index (PDI), zeta potential (PZ), polarized light microscopy, rheological measurements, thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC) and X-ray diffraction (DRX). The preliminary stability of the systems was verified by tests of centrifugation, thermal stress and cooling / heating cycle. Performed an in vitro release test. The PTPD was built using a mixture of surfactants Kolliphor[®] HS 15 and Span[®] 60 (9:1), as the oil phase the capric and caprylic acid triglyceride and as the aqueous phase the distilled water. Three formulations were selected (ME-1; ME-2; ME-3). Analytical validation proved to be a specific, exact, precise, robust and fast method. The EE of the systems varied between 88 and 99% and the maximum amount of DEXA incorporated in the systems was 0.06%; 0.29% and 0.36% for ME-1, ME-2 and ME-3, respectively. For macroscopic analysis, liquid, transparent, clear and homogeneous formulations were observed. The pH varied between 5.57 and 6.26 being viable for parenteral administration. The electrical conductivity for ME-1 ($135.30 \pm 1.66 \mu\text{S}/\text{cm}$), ME-2 ($196.17 \pm 1.17 \mu\text{S}/\text{cm}$) and ME-3 ($204.10 \pm 1.45 \mu\text{S}/\text{cm}$)) suggesting they are O/W type ME. The TMG of the systems varied between 22.25 ± 0.76 and 37.03 ± 1.11 nm confirming that they were MEs. The PDI with values between 0.206 ± 0.007 and 0.314 ± 0.017 suggests having homogeneous droplets. The rheological measurements confirmed the behavior of non-Newtonian fluid of the pseudoplastic type. The DSC revealed an endothermic melting peak at 259.81 °C for DEXA, proving its crystallinity (form B) by the DRX and the formulations showed an amorphous characteristic, suggesting incorporation of DEXA. The systems remained stable in the face of preliminary stability tests. The in vitro release study revealed that in 6 h the release occurred of 54% for ME-3 DEXA 0.08%, and 50% for ME-3 DEXA 0.1%, followed by slow release for up to 72 hours. h, a burst release occurs, followed by a slow and sustained release. Therefore, the proposed microemulsion systems were able to incorporate DEXA, thus being a promising alternative in order to increase the therapeutic efficacy of DEXA.

Keywords: Anti-inflammatory. Microemulsion. New Drug Release Systems. Parenteral route.

ABREVIATURAS

Λ	Comprimento de Onda
Σ	Desvio Padrão Intercepto Eixo y
Γ_i	Tensão Interfacial
%p	Porcentagem em Peso para Tensoativo
ABS	Absorbância
ΔG	Diferença entre a Energia Livre de Gibbs
Δm	Variação de massa
ΔS	Diferença entre a Área Interfacial
AF-1	Função de Ativação Domínio 1
AF-2	Função de Ativação Domínio 2
AINEs	Antiinflamatórios não esteroidais
ANOVA	Análise de Variância
A/O	Óleo em Água
AP	Proteína ativadora
AR	Artrite Reumatoide
CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
COX-2	Ciclooxigenase 2
CV	Coeficiente de Variação
DBD	Domínio Central de Ligação ao DNA
DCE	Dupla Camada Elétrica
DEXA	Dexametasona
DFPT	Diagrama de Fases Pseudo-ternário
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico
DP	Desvio Padrão
DRX	Difração de Raio X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EE	Eficiência de Encapsulação
EHL	Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo
ELL	Emulsão Líquido Leiteira
ELO	Emulsão Líquido Opaca
F	Distribuição F de Fisher-Snedecor
F0	é a fração inicial do fármaco na solução resultante de uma liberação de explosão
FA	Frequência Angular
FDA	Food and Drug Administration
F _{max}	é a fração máxima do fármaco liberado em tempo infinito
G	Energia Livre de Gibbs
G'	Módulo de Armazenamento
G''	Módulo de Perda
G-GR	Receptor glicocorticoide monomérico
GL	Graus de Liberdade
IC	Inclinação da Curva Analítica
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleucinas
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
IPD	Índice de Polidispersão

IR	Índice de Refração
KOLLI	Kolliphor [®] HS 15
LBD	Domínio de Ligação C-terminal
LD	Limite de Detecção
LDCPF	Laboratório de Desenvolvimento de Caracterização de Produtos Farmacêuticos
LEP	Laboratório de Engenharia de Pavimentos
LQ	Limite de Quantificação
ME	Microemulsão
MEs	Microemulsões
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MQ	Média Quadrática
NF	Fator nuclear
Nm	Nanômetro
NSLF	Novos Sistemas de Liberação de Fármacos
NTD	Domínio de Transaminação N-terminal
MSC	Critério de seleção do modelo
MSE	Desvio padrão dos resíduos
O/A	Óleo em Água
PBS	Solução tampão fosfato de potássio pH 7,4
PZ	Potencial Zeta
R ²	Coefficiente de correlação
SF	Separação de Fases
SFM	Sistema fagocítico mononuclear
SM	Solução Mãe
SQ	Soma Quadrática
ST	Sistema Transparente
STB	Sistema Transparente Bicontínuo
TACC	Triglicerídeo do Ácido Cáprico e Caprílico
TG	Termogravimetria
TIF	Temperatura de Inversão de Fases
TMG	Tamanho Médio de Gotícula
TNF- α	Fator Necrose Tumoral α
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UV-Vis	Ultravioleta Visível

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Composição percentual (m/m) dos sistemas selecionados.....	47
Tabela 2	Teste de análise de variância (ANOVA).....	51
Tabela 3	Valores analíticos da precisão do método espectrofotométrico validado (n=6).....	52
Tabela 4	Valores analíticos da exatidão do método espectrofotométrico validado (n=3).....	53
Tabela 5	Valores analíticos da robustez do método espectrofotométrico validado (n=3).....	53
Tabela 6	Doseamento da dexametasona nos sistemas microemulsionados.....	54
Tabela 7	Eficiência de encapsulação da dexametasona nos sistemas microemulsionados.....	55
Tabela 8	Quantidade máxima de dexametasona incorporada aos sistemas.....	57
Tabela 9	Caracterização físico-química e morfológica dos sistemas, contemplando as análises de pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio de gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta.....	58
Tabela 10	Resultados de decomposição térmica da dexametasona, microemulsões com e sem dexametasona.....	72
Tabela 11	Resultados dos eventos calorimétricos da dexametasona, microemulsões com e sem dexametasona.....	80
Tabela 12	Análise do tamanho médio de gotícula antes e após o ciclo de resfriamento/aquecimento.....	84
Tabela 13	Modelos matemáticos utilizados para ajuste da curva de liberação da DEXA pela ME-3.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química da dexametasona.....	19
Figura 2	Esquema de domínios do receptor de ligação a glicocorticoides.....	22
Figura 3	Tipos de microemulsão.....	26
Figura 4	Estudo do EHL do Kolliphor [®] HS 15.....	44
Figura 5	Diagrama de fases pseudoternário.....	46
Figura 6	Aspecto macroscópico das formulações.....	47
Figura 7	Espectro de varredura da dexametasona no (λ) de 200 a 400 nm.....	48
Figura 8	Espectro de varredura da microemulsão com e sem dexametasona no (λ) de 200 a 400 nm.....	49
Figura 9	Curva de calibração da dexametasona.....	50
Figura 10	Gráfico de análise de resíduos.....	51
Figura 11	Fotomicrografias sob microscópio óptico de luz polarizada.....	63
Figura 12	Teste de fluxo.....	65
Figura 13	Teste de oscilações.....	67
Figura 14	TG dos componentes separados e das misturas binárias.....	69
Figura 15	TG das MEs com e sem fármaco.....	71
Figura 16	DSC da dexametasona.....	74
Figura 17	DSC dos componentes da ME.....	75
Figura 18	DSC dos componentes separados e das misturas binárias.....	76
Figura 19	DSC das MEs com e sem fármaco.....	79
Figura 20	Difratograma da dexametasona.....	81
Figura 21	Difratograma das microemulsões com e sem dexametasona.....	82
Figura 22	Perfil de liberação da DEXA nas soluções e nas MEs.....	85

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	ARTRITE REUMATOIDE.....	16
3.2	DEXAMETASONA.....	19
3.2.1	Aspectos gerais.....	19
3.2.2	Mecanismo de Ação e Farmacocinética.....	20
3.3	NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS	23
3.4	MICROEMULSÃO.....	25
3.4.1	Conceito.....	25
3.4.2	Constituintes da microemulsão	26
3.5	VIA DE ADMINISTRAÇÃO PARENTERAL	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	MATERIAL	32
4.2	MÉTODOS.....	32
4.2.1	Determinação do equilíbrio hidrófilo lipófilo do Kolliphor® HS 15	32
4.2.2	Construção do diagrama de fases pseudoternário	33
4.2.3	Seleção das formulações e incorporação da dexametasona	33
4.2.4	Quantificação da dexametasona no sistema microemulsionado	34
4.2.4.1	<i>Validação de metodologia analítica para quantificação da dexametasona</i>	34
4.2.5	Doseamento e eficiência de encapsulação da dexametaxona nas MEs	36
4.2.5.1	<i>Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado</i>	36
4.2.5.2	<i>Eficiência de encapsulação</i>	36
4.2.6	Caracterização físico-química e morfológica do sistema microemulsionado	37
4.2.6.1	<i>Análise macroscópica.....</i>	37
4.2.6.2	<i>Determinação do pH.....</i>	37
4.2.6.3	<i>Determinação da condutividade elétrica</i>	38
4.2.6.4	<i>Índice de refração</i>	38
4.2.6.5	<i>Tamanho médio da gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta.....</i>	38
4.2.6.6	<i>Microscopia de luz polarizada.....</i>	38

4.2.6.7	<i>Medidas reológicas</i>	39
4.2.6.8	<i>Termogravimetria (TG)</i>	39
4.2.6.9	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	39
4.2.6.10	<i>Difração de raio</i>	40
4.2.7	Avaliação da estabilidade preliminar	40
4.2.7.1	<i>Teste de centrifugação</i>	40
4.2.7.2	<i>Estresse térmico</i>	41
4.2.7.3	<i>Ciclo resfriamento/aquecimento</i>	41
4.2.8	Estudo de liberação <i>in vitro</i>	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	ESTUDO DE PRÉ FORMULAÇÃO.....	43
5.2	CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES PSEUDOTÉRNARIO	45
5.3	SELEÇÃO DOS SISTEMAS E INCORPORAÇÃO DA DEXAMETASONA.....	46
5.4	ANÁLISE MACROSCÓPICA	47
5.5	QUANTIFICAÇÃO DA DEXAMETASONA NO SISTEMA MICROEMULSIONADO.....	48
5.5.1	Validação de metodologia para o doseamento da dexametasona por Ultravioleta/Visível	48
5.5.1.1	<i>Seletividade</i>	49
5.5.1.2	<i>Linearidade</i>	49
5.5.1.3	<i>Precisão</i>	52
5.5.1.4	<i>Exatidão</i>	52
5.5.1.5	<i>Robustez</i>	53
5.5.2	Doseamento e eficiência de encapsulação da dexametaxona nas MEs	54
5.5.2.1	<i>Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado</i>	54
5.5.2.2	<i>Eficiência de encapsulação</i>	54
5.5.2.3	<i>Quantidade máxima de dexametasona incorporada nos sistemas</i>	56
5.6	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DO SISTEMA MICROEMULSIONADO.....	57
5.6.1	Determinação do pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio da gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta	57
5.6.2	Microscopia de luz polarizada	62
5.6.3	Medidas reológicas	63

5.6.4	Termogravimetria	68
5.6.5	Calorimetria exploratória diferencial	73
5.6.6	Difração de raio-X.....	81
5.7	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR	83
5.7.1	Teste de centrifugação.....	83
5.7.2	Estresse térmico	83
5.7.3	Ciclo resfriamento/aquecimento	83
5.8	ESTUDO DE LIBERAÇÃO <i>IN VITRO</i>.....	85
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

1 INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença reumática crônica difundida no mundo, afetando cerca de 24,5 milhões de pessoas, com prevalência em mulheres e idosos (FANG et al., 2019). No Brasil em estudo multicêntrico com amostras populacionais das macrorregiões norte, nordeste, centro-oeste e sul, encontrou uma prevalência de 1% da população adulta, que corresponde a uma estimativa de 1,3 milhão de pessoas acometidas (VAZ et al., 2013).

Causada pela deformação e degeneração estrutural dos tecidos articulares, inflamação sinovial e erosão óssea periarticular, pode levar a incapacidade física grave. Ao longo da doença, os pacientes geralmente sofrem uma diminuição da qualidade de vida, uma incapacidade potencial e uma redução na expectativa de vida de cerca de 10 anos. Dentre as estratégias terapêuticas para AR, destaca-se o tratamento com glicocorticoides (GIRDLER et al., 2019; JIA et al., 2018; LORSCHIEDER et al., 2019).

Entre os glicocorticoides, a dexametasona (DEXA) é um potente corticosteroide sintético caracterizado por sua ação anti-inflamatória e imunossupressora de grande magnitude, frequentemente utilizado como um agente anti-inflamatório, devido a sua potência anti-inflamatória ser 25 vezes superior à da hidrocortisona (ANSARI et al., 2019; NEJAD et al., 2019). Ela é utilizada para o tratamento de diversas doenças, como câncer, leucemia, artrite reumatoide, edema cerebral, asma, esclerose múltipla, distúrbios gastrointestinais, colite ulcerativa, psoríase e doenças da retina (JOHANNSDOTTIR et al., 2018; KIM et al., 2018; PRAMANIK et al., 2018; WANG et al., 2017).

A atividade imunomoduladora da DEXA é desejável no contexto de sua aplicação farmacológica, porém a sua administração em excesso ou a longo prazo pode inibir o metabolismo celular (MIKIEWICZ et al., 2017). Trazendo assim o risco de ocorrência de reações adversas como hipertensão, glaucoma, osteoporose, dores de cabeça, ganho de peso, depressão, sangramento estomacal e intestinal devido à ulceração (JIA et al., 2018; NEJAD et al., 2019; SMAJDOR; PIECH; PACZOSA-BATOR, 2018).

Os novos sistemas de liberação de fármacos (NSLF) propõem carrear um insumo farmacêutico ativo (IFA), alcançando uma administração eficiente, minimizando a incidência de efeitos adversos e aumentando o índice terapêutico através de uma liberação controlada em sítios específicos (VILLEGAS et al., 2019).

Entre os NSLF, destacam-se as microemulsões (MEs), que são dispersões termodinamicamente estáveis de dois líquidos imiscíveis, estabilizados por películas

interfaciais de moléculas de tensoativos e, em alguns casos, por um cotensoativo adicional (VLADISAVLJEVIĆ, 2019).

As MEs possuem diversas vantagens no carregamento de IFA como a capacidade de proteção contra possíveis instabilidades no organismo, redução da toxicidade, liberação controlada de fármacos, possibilidade de incorporação de moléculas hidrofílicas e lipofílicas, diminuição da dose e número de administração e maior adesão do paciente a terapia (CALLENDER et al., 2017). Com estes benefícios farmacêutico das MEs é relevante estudo do efeito da formulação com a incorporação de compostos anti-inflamatório (PINEROS et al., 2017).

Portanto, o desenvolvimento de MEs com DEXA para o tratamento da AR através de administração por via parenteral possui o intuito de melhorar as ações anti-inflamatórias, melhora dos efeitos terapêuticos, com consequente redução das reações adversas, aumento no tempo de liberação do IFA, redução da frequência de administração e maior adesão do paciente.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar um sistema microemulsionado contendo DEXA com potencial agente para o tratamento da artrite reumatoide.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste projeto são:

- a) desenvolver e utilizar um diagrama de fases pseudo-ternário (DFPT) para obtenção de possíveis regiões de formação de sistemas opticamente transparentes;
- b) selecionar pontos do DFPT da região opticamente transparente para incorporar a DEXA;
- c) quantificar a DEXA no sistema, bem como avaliar a eficiência de encapsulação e a quantidade máxima de fármaco incorporado ao sistema;
- d) caracterizar físico-quimicamente e morfologicamente os sistemas obtidos, contemplando as análises de: aspecto macroscópico, pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio das gotículas, índice de polidispersão, potencial zeta, microscopia eletrônica de transmissão, microscopia de luz polarizada, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, difração de raio X e medidas reológicas;
- e) avaliar a estabilidade preliminar dos sistemas obtidos, através dos ensaios de centrifugação, ciclo de resfriamento/aquecimento e estresse térmico;
- f) avaliar o perfil de liberação *in vitro* do sistema contendo DEXA.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ARTRITE REUMATOIDE

A AR é uma doença autoimune inflamatória sistêmica crônica de múltiplas articulações, afetando principalmente as articulações diartrodiais das mãos e pés. A sua cronicidade manifesta-se com a inflamação na cápsula sinovial, destruição da cartilagem articular, formação de pannus, angiogênese por erosão óssea, dor insuportável e rigidez nas articulações, levando a uma incapacidade física grave (JIA et al., 2018; SRIVASTAVA et al., 2017; SYED; DEVI, 2019; WANG et al., 2016b).

Os sintomas musculoesqueléticos e os sintomas mais gerais tem sido associado a AR, como dor e inchaço nas articulações, calor, vermelhidão e sensação de queimação nas articulações, rigidez matinal, fraqueza muscular, perda de força motora, fadiga, dificuldades para dormir e sintomas depressivos (BOHEEMEN; SCHAARDENBURG, 2019). A AR também é considerada uma doença multissistêmica que afeta órgãos extra-articulares, como, pele, olhos, coração, pulmão, rins, coração, vasos sanguíneos, sistemas nervoso e gastrointestinal (BOSSOLANI et al., 2019).

Fang et al. (2019) relatou que a AR afeta cerca de 24,5 milhões de pessoas em todo o mundo a partir de 2015. Com prevalência cerca de 3 vezes maior em mulheres que em homens. entre as mulheres, as com idade entre 30 e 60 anos são mais propensas para o desencadeamento da doença. A AR leva a deterioração funcional grave e morte prematura se não for tratada. A incidência da taxa de mortalidade é associada as condições co-mórbidas como doença cardiovascular, aterosclerose, doença renal, infecção, malignidade, doença pulmonar, osteoporose e depressão (SYED; DEVI, 2019).

A patogênese da AR é associada as células e citocinas dos sistemas imunológico e inflamatório, apontam o envolvimento de fatores genéticos, hormonais e ambientais. Estes fatores iniciam a produção de auto-antígenos, incluindo proteoglicanos, colágeno tipo II, proteínas citrulinadas, glicoproteína da cartilagem humana e proteínas de choque térmico (MA et al., 2019; ZEB et al., 2017).

O sistema imunológico responde aos auto-antígenos produzindo auto-anticorpos, incluindo fator reumatoide e anticorpo peptídico anti-citrulinado, via estimulação de células B por células T CD4⁺ ativadas por antígeno (BOISSIER et al., 2012; NOGUEIRA et al., 2016; ZEB et al., 2017). Uma vez estas células T CD4⁺ ativadas por antígeno, secretam citocinas

inflamatórias como interferon- γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) para ativar monócitos, macrófagos e fibroblastos sinoviais para a superprodução de interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-15 e IL-18) e TNF- α (NOGUEIRA et al., 2016; SCOTT; WOLFE; HUIZINGA, 2010; SRIVASTAVA et al., 2017; ZEB et al., 2017).

Na AR são expressos o TNF- α , IL-1 β e IL-6 que desempenham um papel fundamental em sua patogênese, provocando a liberação de metaloproteinases da matriz, óxido nítrico sintase indutível (iNOS) e ciclooxigenase-2 (COX-2) de condrócitos, fibroblastos sinoviais, osteoclastos e neutrófilo. A degradação dos tecidos conjuntivos por essas enzimas destrutivas e a estimulação da osteoclastogênese acabam resultando em destruição da cartilagem e erosão óssea (JANAKIRAMAN et al., 2018; LITTLEJOHN; MONRAD, 2018; ZEB et al., 2017).

O tratamento da AR visa a supressão da dor nas articulações, alívio do inchaço e inflamação da membrana sinovial, prevenção de danos nas subestruturas articulares e articulares, a interrupção do progresso da doença, a prevenção da erosão óssea e o restabelecimento da mobilidade articular e funcionamento geral das articulações. Para atingir estes objetivos, são utilizados agentes terapêuticos, como: antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), corticosteroides, antirreumáticos modificadores da doença e agentes biológicos (FANG et al., 2019; LAW; TAYLOR, 2019).

Os glicocorticoides como DEXA, prednisolona e α -metilprednisolona são frequentemente utilizados no tratamento da AR criticamente ativa, interferindo no acúmulo de macrófagos e enfraquecendo a permeabilidade capilar, a utilização destes glicocorticoides exigem altas doses e frequência para atingir a eficiência antiartrite, pois serão rapidamente eliminados após a administração sistêmica, levando ao aumento do risco da ocorrência de efeitos colaterais, como cardiovasculares, atrofia muscular, glaucoma, úlcera péptica, infecções e osteoporose (YANG et al., 2017).

Com o tratamento convencional para AR atinge-se o efeito terapêutico, porém apresenta altos riscos de tolerância terapêutica e defuncionalização induzida pelo aumento da dose. Assim, uma alternativa é a administração de fármacos de liberação controlada em nanoescala, pois oferecem novas oportunidades para melhorar a segurança e eficácia de terapêutica convencional (PRASAD et al., 2018). Assim auxilia na melhora da AR, pelo o fato da condição artrítica exigir uma liberação controlada de droga por um período prolongado de tempo, desta forma satisfazendo o propósito do tratamento, especificamente

para rigidez matinal que causa dor insuportável e inflamação (SRIVASTAVA et al., 2017; YANG et al., 2017).

Jia et al. (2018) desenvolveram o nanocarreador lipossoma com DEXA para o tratamento da AR. Em seu estudo de liberação *in vitro*, 80% de DEXA livre foram liberadas durante 6 h pelos os sacos de diálise, enquanto que a DEXA encapsulada nos lipossomas obteve uma liberação de 60% no período de 72 h, indicando liberação sustentada por um período de tempo prolongado. Os estudos farmacocinéticos *in vivo* evidenciaram meia vida longa do lipossoma com DEXA. Os estudos de biodistribuição *in vivo* demonstraram uma internalização mais alta do agente de imagem ligado a lipossomas na sinóvia inflamada por um período prolongado (até 72 h), como também uma redução significativa na espessura da pata e inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-1 β) foi evidenciada em animais tratados com DEXA-lipossomas em comparação com o controle. O encapsulamento da DEXA em lipossomas resultou na melhoria na sua segurança e biocompatibilidade, como também melhor ingestão celular, maior retenção nas células e redução na toxicidade.

Nos estudos de Lorscheider et al. (2019) foi realizado o desenvolvimento de nanopartículas com o pró fármaco palmitato de DEXA para tratamento da AR. O estudo de liberação *in vitro* evidenciou liberação de 60% de palmitato de DEXA após 8 horas. Os efeitos antiinflamatórios *in vitro* obteve resultados de diminuição da concentração de citocinas resultante do efeito antiinflamatório. A atividade *in vivo* observou escore da AR de $2,5 \pm 0,7$. A avaliação dos efeitos colaterais realizado a partir de parâmetros biológicos e hematológicos mostrou que nenhum efeito adverso foi detectado para as nanopartículas (palmitato de DEXA).

Wang et al. (2016b) realizaram estudos para tratamento da AR através de micelas contendo DEXA. Os resultados de liberação *in vitro* mostrou que 50% de DEXA foi liberada das micelas após 72 h, enquanto a DEXA livre obteve liberação de 90,6% nas primeiras 6 h. A biodistribuição *in vivo* mostrou fluorescência intensa nas articulações artríticas após 2 h, persistindo por mais de 24 h. A análise farmacocinética mostrou $AUC_{0 \rightarrow t}$ de 2,71 vezes maior para micelas-DEXA do que para DEXA livre, e $T_{1/2}$ foi 5,44 vezes maior para Micelas-DEXA. No estudo *in vivo* de medição da espessura da pata e escore articular foi evidenciado um tamanho de 4 mm de espessura e escore de 4, comprovando tratamento eficaz pelo o estudo histológico, que foi observado superfícies normais da cartilagem com uma interface clara e apenas infiltrados celulares limitados.

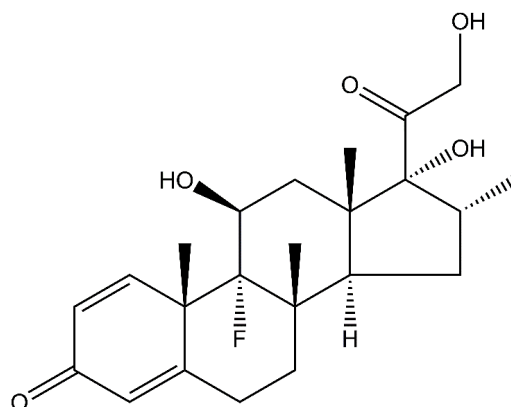
3.2 DEXAMETASONA

3.2.1 Aspectos gerais

Os glicocorticoides são corticosteroides pertencentes ao grupo dos hormônios esteroides produzidos naturalmente no corpo humano, e também ocorrem em grande variedade de drogas sintéticas. Sintetizados no córtex adrenal, participam de muitas ações, como metabolismo da glicose e regulação do sistema imunológico (SMAJDOR; PIECH; PACZOSA-BATOR, 2018). Amplamente utilizados como agentes imunossupressores e antiinflamatórios em diferentes contextos clínicos, sendo a cortisona o primeiro glicocorticoide administrado a pacientes com AR em 1948. Atualmente, os glicocorticoides são relevantes no tratamento de asma, dermatite, doenças autoimunes e inflamação (FALCÓN-BEAS et al., 2019).

A DEXA é um fármaco representante dos esteroides sintético, derivado do núcleo ciclopentanoidrofenantreno, com nome químico (9 α -fluoro-11 β , 17 α , 21-tri-hidroxi-16 α metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona). Aprovado pelo FDA em 1958, sendo considerado um potente antiinflamatório e imunossupressor pertencente à classe dos glicocorticoides e caracteriza-se por ser um pó cristalino branco, ou quase branco de fórmula molecular $C_{22}H_{29}FO_5$ (Figura 1) com massa molecular de 392,46 g/mol (ARTH et al., 1958a, 1958b; JAIN; DATTA, 2015). É praticamente insolúvel em água; facilmente solúvel em etanol, acetona, dioxano e metanol; levemente solúvel em clorofórmio; muito solúvel em éter. Atinge seu ponto de fusão na temperatura de 255 °C, com decomposição (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019)

Figura 1 – Estrutura química da dexametasona



Fonte: autor próprio.

Foi sintetizada pelo grupo de pesquisa de Arth et al. (1958a, 1958b), a partir de um análogo da prednisolona ao qual foi adicionado um átomo de flúor no carbono 9 e um radical metila no carbono 16, sendo chamado de 9-alfa-fluoro-16-alfa-metilprednisolona. Assim, produzido pelos laboratórios da Merck, Sharp & Dohme chamada primeiramente pelo nome genérico de hexadecadrol mais tarde batizada como DEXA e lançada no mercado cerca de dez anos após a cortisona original da Merck, com o nome comercial de Decadron® (BUNIM et al., 1958; WALTON, 1959).

É um fármaco utilizado para o tratamento de inúmeras patologias, como câncer, leucemia, artrite reumatoide, edema cerebral, asma, esclerose múltipla, distúrbios gastrointestinais, colite ulcerativa, psoríase, doenças da retina, dentre outras (JAIN; DATTA, 2015; LORSCHIEDER et al., 2019; SMIT-MCBRIDE; MODJTAHEDI; MORSE, 2013; TAN et al., 2017; YUAN et al., 2015). Assim está contida na lista de medicamentos essenciais da organização nacional da saúde, que possui os medicamentos que são considerados os mais importantes no sistema de saúde, sendo possível observar em diferentes formas farmacêuticas e concentrações, como creme (0,1 mg/mL – 0,1 %), pomada oftálmica (0,1 mg/mL – 0,1 %), suspensão oftálmica (0,1 mg/mL – 0,1 %), comprimido (4 mg) e elixir (0,1 mg/mL), solução injetável (4 mg/mL). Como também é alvo de estudo e incorporação em diversos sistemas de liberação modificada de fármacos (JAIN; DATTA, 2015; RENAME, 2018).

Possui um arsenal terapêutico que é desejável no contexto de sua aplicação farmacológica, porém devido as suas características de hidrofobicidade e baixa biodisponibilidade são necessárias doses elevadas para atingir o seu nível terapêutico no plasma sanguíneo, levando a uma administração em excesso ou a longo prazo, conseqüentemente, um fator de risco para o surgimento de reações adversas como hipertensão, glaucoma, osteoporose, dores de cabeça, ganho de peso, depressão e sangramento estomacal e intestinal devido à ulceração (SMAJDOR; PIECH; PACZOSA-BATOR, 2018; URBANSKA; KAREWICZ; NOWAKOWSKA, 2014).

3.2.2 Mecanismo de Ação e Farmacocinética

A DEXA liga-se ao receptor de glicocorticoide de forma mais eficiente do que o cortisol, devido a presença do átomo de flúor o torna mais lipofílico, enquanto o grupo metil

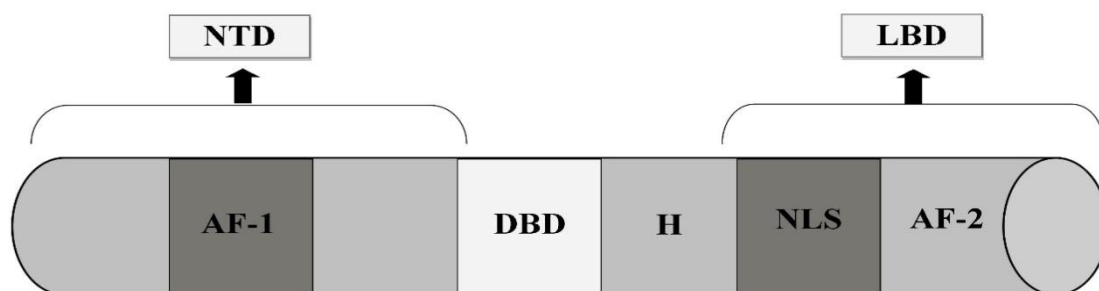
ligado ao carbono C-16 aumenta sua afinidade com o receptor mineralocorticoide (URBANSKA; KAREWICZ; NOWAKOWSKA, 2014).

Os corticosteroides podem ser classificados quanto aos seus efeitos em mineralocorticoides e glicocorticoides. Os mineralocorticoides estão envolvidos na regulação de eletrólitos e metabolismo da água, enquanto que os glicocorticoides possuem efeito na regulação da inflamação, no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (ANNANE et al., 2015; BIANCHI et al., 2017).

O mecanismo de ação do glicocorticoide é fundamentado através da ligação da molécula ao receptor nuclear intracelular (Figura 2), composto de pelos domínios, sendo eles: domínio de transativação N-terminal (NTD), domínio central de ligação ao DNA (DBD), e um domínio de ligação C-terminal (LBD) (VANDEWALLE et al., 2018).

O NTD participa da regulação do processo de transcrição e engloba a função de ativação domínio 1 (AF-1) que é importante para a interação com os co-reguladores e recrutamento do mecanismo de transcrição basal. O DBD, que é altamente conservado entre os receptores de esteroides, consiste em dois motivos de dedo de zinco que são importantes para a dimerização do receptor de glicocorticoide e ligação ao DNA. O LBD responsável pela ligação de ligantes, auxiliando na dimerização e interagindo com as proteínas protetoras, engloba a função de ativação domínio 2 (AF-2). A ligação do ligante pelo receptor de glicocorticoide é seguida pela mudança na conformação de AF-2, que permite interações com outros fatores que participam em ambos: a ativação e a inibição da transcrição. Os glicocorticoides também podem ativar os receptores dos mineralocorticoides (SCHERHOLZ; SCHLESINGER; ANDROULAKIS, 2018; URBANSKA; KAREWICZ; NOWAKOWSKA, 2014; VANDEWALLE et al., 2018).

Figura 2 – Esquema de domínios do receptor de ligação a glicocorticoides.



Fonte: adaptado de Vandewalle et al. (2018) e Urbanska; Karewicz; Nowakowska (2014).

Legenda: NTD: domínio de transativação N-terminal; LBD: domínio de ligação C-terminal; DBD: domínio central de ligação ao DNA; H: hinge; AF-1: função de ativação domínio 1; AF-2: função de ativação domínio 2.

Os glicocorticoides a nível molecular possuem efeitos não genômicos e genômicos. Os efeitos não-genômicos ocorrem a partir da interação com o receptor citosólico, mas não internaliza no núcleo, acontece uma rápida inibição dos mediadores inflamatórios, como o ácido araquidônico, conseqüentemente incluem uma diminuição na agregação plaquetária, na adesão celular e nas fosfotirosina-quinases intracelulares. Os efeitos genômicos podem ser indiretos e direto, os indiretos são chamados de transrepressão e decorre após poucas horas de exposição sendo resultante da interação física entre o complexo α do receptor glicocorticoide monomérico (G-GR) e outros variados fatores de transcrição nuclear, como fator nuclear (NF) - κ B e proteína ativadora (AP) - 1 (ANNAME et al., 2015; BIANCHI et al., 2017).

Em seguida os fatores de transcrição nucleares são capturados no citosol e não podem entrar no núcleo, impossibilitando a expressão de genes que codificam a maioria ou todos os mediadores pró-inflamatórios. Os genômicos diretos são chamados de transativação que exigem alguns dias de exposição celular aos glicocorticoides, sendo necessário mudanças conformacionais antes de o complexo migrar para o núcleo e interagir com elementos responsivos do glicocorticoide. Ambas as vias genômicas e não genômicas contribui para o efeito anti-inflamatório e imunomodulador, diferenciando-se pela forma de ativação, sendo a via não genômica a mais rápida, contudo necessita doses elevadas, além de ser expressa apenas durante processos inflamatórios agudos, enquanto a via genômica é ativada em doses baixas (ANNAME et al., 2015; BIANCHI et al., 2017).

Como descrito, são atribuídos vários mecanismos de ação moleculares para corticosteroides, ao qual envolvem a inibição de várias vias de síntese da fosfolipase A2 inibição da atividade bioquímica resultando numa disponibilidade diminuída de substrato de ácido araquidônico para a síntese de prostaglandina e leucotrieno, como também resultando

numa produção reduzida de interleucinas do fator de necrose tumoral- α (por exemplo, IL-1, IL-6 e IL-2), redução da produção de IL-5 (inibição de IL-5 \gg IL-2); 4) supressão da expressão de antígeno de histocompatibilidade principal tipo II induzida por IFN- γ acompanhada de uma síntese induzida de IL-10 endógena que exerce poderosamente propriedades anti-inflamatórias profundas (COYNE; NARAYANAN, 2016; FERRER et al., 2014; QI et al., 2018).

A absorção dos glicocorticoides ocorre na parte proximal do jejuno, atingindo o pico plasmático 30 a 90 minutos após a ingestão. Os alimentos podem retardar, porém não diminuem a sua absorção. Os glicocorticoides sintéticos possuem baixa afinidade por proteínas plasmáticas (aproximadamente 70% de ligação) obtendo assim, uma maior atividade biológica e tendência a efeitos adversos com doses menores. Os principais locais do metabolismo do cortisol em humanos são o fígado, rins e tecidos-alvo específicos, incluindo os pulmões, tecidos adiposos, leitos vasculares, ovários e sistema nervoso central. A metabolização dos glicocorticoides é fundamentalmente hepática, através das enzimas citosólicas e microsossomais, como o citocromo 450, 11 β -hidroxidehidrogenase, 5 α /5 β redutase, 3 α /3 β oxidoreductase. O cortisol e a cortisona podem ser convertidos pela ação da enzima 11 β -HSD. Tanto a cortisona quanto o cortisol podem ser influenciados pelas 5 α e 5 β -redutases e pela 3 α hidroxisteróide desidrogenase, levando à geração de tetrahydrocortisona, 5 β -tetrahydrocortisol e 5 α -tetrahydrocortisol. Os glucuronídeos inativos e os metabólitos sulfatados dos glicocorticoides são eliminados pelos rins (DENG et al., 2019; SCHERHOLZ; SCHLESINGER; ANDROULAKIS, 2018; VILLEGAS et al., 2019).

3.3 NOVOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS

A nanoterapêutica é uma aplicação recente da nanotecnologia que tem amplo impacto no campo da medicina. Nanotecnologia lida com a investigação, modificação e controle de estruturas atômicas/moleculares para criação de novos nanomateriais sofisticados, processos e produtos designados em nanoescala, na qual um nanômetro (1 nm = 10⁻⁹) equivale a milionésima parte de um milímetro (JANAKIRAMAN et al., 2018; PRASAD et al., 2018).

O estudo da nanoescala é importante, posto que as propriedades físico-químicas dos materiais tendam a ser diferentes das propriedades do mesmo material em larga escala, devido ao aparecimento de efeitos quânticos de tamanho e fenômeno de superfície. Um elemento,

quando reduzido à escala nanométrica, pode apresentar propriedades eletrônicas, mecânicas, térmicas, ópticas diversas, quando comparado com seu natural. Esta alteração nas propriedades fundamentais com a variação do tamanho das partículas é denominada de efeito do tamanho (HUPFFER; LAZZARETTI, 2019).

Existem basicamente dois tipos de efeitos dependentes de tamanho: o primeiro relacionado com a fração de átomos na superfície, e o segundo conhecido com o efeito quântico, que é derivado do comportamento dos elétrons em relação ao tamanho da partícula. Os efeitos de superfície ocorrem devido ao aumento da razão entre o número de átomos que estão em sua superfície relativamente a aqueles dispersos por seu volume. Assim, a medida que o tamanho das partículas diminui, a relação entre a área e o volume das partículas aumenta. A teoria quântica é um ramo da física que explica, entre outras coisas, o comportamento dos átomos e dos elétrons na matéria. De acordo com ela, os elétrons podem se comportar como ondas, o que se manifesta de forma mais clara quando o material tem dimensões nanométricas (NASCIMENTO NETO, 2015).

Na escala nanométrica, as propriedades dos materiais podem mudar de forma drástica, denominando-se efeitos quânticos a essas mudanças. Os átomos passam a revelar características peculiares, podendo apresentar condutividade elétrica, elasticidade, maior reatividade química, maior resistência, cores diferentes, entre outras características, apenas reduzindo o tamanho, sem mudar a substância (BARIL et al., 2012; SANTOS, 2014).

De acordo com Janakiraman et al. (2018) os nanomateriais são utilizados no campo medicinal para administração de medicamentos terapêuticos, com foco em tratamentos de várias doenças ou distúrbios. Os sistemas de micro e nanoescala podem maximizar a eficácia de tratamentos terapêuticos de várias maneiras, porque possuem a capacidade de detectar e responder rapidamente aos estados de doença diretamente no local, melhorando a qualidade de vida do paciente.

A viabilidade farmacêutica e terapêutica dos nanocarreadores se deve as suas características físico-químicas notáveis (tamanho nanométrico, carga superficial, alta eficiência carregamento), capacidade de proteger compostos lábeis da degradação por exposição ao ambiente bioquímico e fisiológico, comportamento de liberação sustentada /controlada, tempo de circulação mais longo, eficiência de direcionamento específica do local e interação com tecido, células e domínio subcelular alvo, melhor penetração e acúmulo no tecido ou células patológicas e aprimorada eficácia terapêutica (FANG et al., 2019).

A nanotecnologia oferece novas possibilidades para a criação de novos materiais e para o desenvolvimento de formas farmacêuticas únicas e sistemas de administração de fármacos (TYAGI; SUBRAMONY, 2018). Os sistemas de administração de fármacos em nanoescala proporcionam uma alternativa ideal para o tratamento da AR, podendo destacar, as MEs, lipossomas, dendrímeros, micelas, nanopartículas, nanocápsulas, nanogéis, entre outros (YANG et al., 2017).

3.4 MICROEMULSÃO

3.4.1 Conceito

As MEs foram descobertas por Rodawald no ano de 1928 com a primeira aplicação comercial, as ceras líquidas. No entanto, reconhecidas por Hoar e Schulman no ano de 1943 quando misturaram uma solução de aspecto leitoso com hexanol e produziram uma solução monofásica, uniforme e não-condutora. Todavia, só no ano de 1970 atingiu o pico nas pesquisas, devido a sua aplicação na recuperação do petróleo. Atualmente, tem aplicação potencial em ciências farmacêuticas, produtos alimentícios, cosméticos, ciências de separação, ciências ambientais, ciências dos materiais e engenharia de reação (ABRAR; BHASKARWAR, 2019; CALLENDER et al., 2017; KUCHLYAN; KUNDU; SARKAR, 2016).

As MEs são dispersões coloidais termodinamicamente estáveis, isotrópicas e opticamente transparentes. Formada pela mistura de dois líquidos imiscíveis (óleo e água) estabilizadas por tensoativo e em alguns casos, por um co-tensoativo adicional, que minimizam a tensão interfacial entre esses dois filmes líquidos e formam uma emulsão estável. Possuem tamanho pequeno de gotículas na faixa de 5 nm a 200 nm (KUMAR; SAW; MANDAL, 2019; VLADISAVLJEVIĆ, 2019).

Dependendo do tipo e da fração dos componentes, as MEs são classificadas com água em óleo (A/O), óleo em água (O/A) e bicontínuas (Figura 3). Quando gotas de água estão dispersas em uma fase contínua de um óleo são denominadas de ME reversas A/O. Por outro lado, quando gotículas de óleo são dispersas em água é chamada de ME direta O/A. As micelas conhecidas como microrreatores, são estabilizadas utilizando um ou mais tensoativos. Quando as micelas se colidem, se fundem e são separadas de forma periódica, é formado a

ME bicontínua (DEMIRKURT; CAKAN-AKDOGAN; AKDOGAN, 2019; MOURA et al., 2019; PINEDA-REYES; OLVERA, 2018).

Figura 3 – Tipos de microemulsão.



Fonte: Damasceno et al., 2011.

Legenda: as estruturas esféricas representam a fase de ME contendo micelas formadas por um filme interfacial de tensoativo/cotensoativo, as regiões cinzas representam a fase oleosa e as regiões brancas representam a fase aquosa.

O tamanho das gotículas de ME pode ser modificado por vários parâmetros, como teor de água, tipo de surfactante (por exemplo, proporção do balanço hidrofílico-lipofílico), tipo de óleo e proporção de peso de óleo: tensoativo (DEMIRKURT; CAKAN-AKDOGAN; AKDOGAN, 2019; OBERDISSE; HELLWEG, 2017).

A ME é um transportador versátil, com suas várias propriedades notáveis, como capacidade de carrear fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos, levando a uma biodisponibilidade aprimorada dos fármacos pouco solúveis além de protegerem as moléculas do fármaco contra oxidação, hidrólise enzimática, alta absorção e permeação induzida devido à tensão superficial muito baixa e ao tamanho pequeno das gotículas (KAUR; MEHTA, 2017; PADULA et al., 2018; SHUKLA et al., 2018).

3.4.2 Constituintes da microemulsão

A triagem de excipientes é a principal etapa para a formulação de MEs. Os principais componentes da ME incluem óleo, tensoativo, fase aquosa, e quando necessário um cotensoativo. O estudo de solubilidade do fármaco ajuda a selecionar os melhores óleos e tensoativos para o desenvolvimento das formulações de ME (HARWANSI; DESHMUKH; RAHMAN, 2019).

O óleo é um componente principal das MEs, pois ajuda a facilitar a emulsificação em associação com a mistura de tensoativos para aumentar a solubilização do fármaco

hidrofóbico no núcleo oleoso das gotículas (HARWANSH; DESHMUKH; RAHMAN, 2019). Segundo Chatterjee et al. (2019) o principal obstáculo de novas entidades químicas para a lipofilicidade, é que 40% das moléculas possui problemas de solubilidade, afetando as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco. Assim, os fármacos lipofílicos incorporados em ME são usualmente solubilizados na fase lipídica, e essa solubilidade do fármaco aumenta com o aumento da lipofilicidade dos óleos.

De acordo com Silva et al. (2014) o tamanho da cadeia alquílica do óleo influencia fortemente a distribuição do tensoativo nas fases óleo e água, bem como a composição e as propriedades físico-químicas das MEs. Óleos vegetais hidrolisados, triglicerídeos longos de cadeia média e modificados são amplamente utilizados como excipientes nas MEs (HARWANSH; DESHMUKH; RAHMAN, 2019).

Os tensoativos são o componente integral da ME, que ajuda a reduzir a tensão superficial e impedir a coalescência de glóbulos e a separação de fases. Um tensoativo ideal deve ter capacidade suficiente para dissolver uma quantidade alta do fármaco para expressar uma carga aumentada de fármaco. O tensoativo ajuda a tornar a ME estável, além de afetar o tamanho das gotículas e podem ser classificados como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros, que consistem de cabeça hidrofílica e uma cauda hidrofóbica que podem atuar como um emulsificante para produzir ME (CHATTERJEE et al., 2019).

Os tensoativos não iônicos são os mais utilizados, pois são menos tóxicos e irritantes do que os anionicos e, particularmente, os catiônicos. Os tensoativos não iônicos têm uma hidrofobicidade maior do que os tensoativos iônicos, diminuem a tensão interfacial e também aumentam a solubilidade, reduzindo assim o tamanho das gotículas mais do que os tensoativos iônicos (ABRAR; BHASKARWAR, 2019).

Frequentemente é necessário a adição de um cotensoativo, que são tipicamente um álcool de cadeia média aplicado na formação de MEs com tensoativos iônicos. Os cotensoativos aumentam a flexibilidade da monocamada anfifílica, propriedade necessária para ter uma maior extensão de solubilização, proporcionando redução máxima do tamanho das gotículas da fase interna, ampliando assim as regiões de ME (PRÉVOST; GRADZIELSKI; ZEMB, 2017).

Em sistemas estabilizados com tensoativos, como as ME, a água é comumente utilizada como fase aquosa. A água é considerada um solvente anfiprótico neutro estruturado, tendo como característica de apresentar auto associação entre as moléculas através de ligação hidrogênio, mantendo a estrutura cristalina do estado sólido a distâncias da ordem de

grandeza molecular. Também pode ser utilizado na fase aquosa de ME, soluções salinas, além disso, pode conter aditivos, como tampões, antibactericidas e agentes isotônicos (LEITE, 2017; SILVA et al., 2014).

As MEs são obtidas a partir de diagrama de fases ferramenta útil para identificar e selecionar a formulação apropriada para a incorporação de fármacos. Geralmente utiliza-se diagrama de fases ternário, contudo no desenvolvimento de MEs pode-se utilizar de misturas de tensoativos, ou adicionar um co-tensoativo, nestes casos, passam a possuir 4 componentes, e assim tratados como diagrama de fases pseudoternário (DFPT) (CIRÍACO et al., 2020; SHUKLA et al., 2018).

As formulações de ME comumente são desenvolvidas utilizando DFPT. Estes apresentam a forma de um triângulo equilátero, onde cada vértice representa um componente da ME a concentração de cada componente varia de 0 a 100%. Sua análise possibilita identificar os componentes mais adequados e suas proporções relativas para a obtenção de sistemas fisicamente estáveis e encontrar as regiões de transição entre emulsões, fases separadas e MEs (LEITE, 2017; SILVA et al., 2014).

Historicamente existem três teorias para explicar os fenômenos que levam a formação de uma ME, são elas: teoria de solubilização, teoria da tensão interfacial e a teoria termodinâmica. A mais simples das teorias, é a teoria da solubilização, que diz que a formação de uma ME ocorre simplesmente por meio de um intumescimento de micelas, no qual a água é solubilizada nas micelas reversas ou o óleo é solubilizado em micelas normais (DAMASCENO et al., 2011).

Uma tensão interfacial (γ_i) muito baixa ($\gamma < 10^{-3}$ dina/cm) é um pré-requisito para a formação de ME. A teoria da tensão interfacial propõe que à medida que o número de moléculas de tensoativo aumenta por unidade de área na interfase O/A elas começam a se comprimirem, umas ao lado das outras, desenvolvendo uma pressão lateral bidimensional (ASSIS, 2014). Esse fenômeno pode ser expresso na Equação 1:

$$\gamma_i = (\gamma_{O/A})a - \pi \quad (1)$$

Onde:

$(\gamma_{O/A})a$: é a tensão interfacial O/A após o potencial químico do tensoativo em cada fase ter sido equalizado por partição.

Com o aumento da área interfacial por um aumento π , a γ_i se aproxima do zero favorecendo a dispersão de uma fase na outra. Esse resultado indica que os tensoativos de caráter muito hidrofílicos ou lipofílicos são inapropriados para a formulação de ME, mesmo com ajuda de co-tensoativos, pois mesmo com a adição desses compostos, a tensão interfacial não diminuirá suficientemente para a formação de um sistema microemulsionado (DAMASCENO et al., 2011).

A formulação de MEs estáveis depende do equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) do tensoativo utilizado. O EHL de um tensoativo foi introduzido por Griffin em 1949, é um parâmetro empírico representativo do conteúdo de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos de um tensoativo, possui um intervalo de um a quarenta, onde baixos valores de EHL são atribuídos a tensoativos lipofílicos, enquanto, altos valores de EHL a tensoativos hidrofílicos. Posteriormente, a escala de EHL foi alterada de (1 a 40) para (0 a 20), onde zero e vinte representam casos extremos de moléculas surfactantes totalmente lipofílicas e hidrofílicas, respectivamente (ABRAR; BHASKARWAR, 2019).

As MEs são sensíveis à temperatura, uma vez que a curvatura do filme muda em um ponto crítico conhecido como temperatura de inversão de fase (TIF). As MEs O/A são formadas abaixo da TIF, enquanto as MEs A/O são formadas acima dela, e as MEs bicontínuas se formam quando a temperatura é igual ao TIF. Com o aumento da temperatura, normalmente observa-se uma transição de ME O/A para uma ME bicontínua, ao qual, em uma temperatura mais alta se inverte para ME A/O (ABRAR; BHASKARWAR, 2019; PRÉVOST; GRADZIELSKI; ZEMB, 2017).

A teoria termodinâmica leva em consideração a energia livre de Gibbs (G) de acordo com a segunda Lei da Termodinâmica, no qual o G deve se tornar negativa para a formação espontânea de uma ME termodinamicamente estável (OLIVEIRA, 2014). Este fenômeno, em condições de temperatura constante, pode ser descrito pela Equação 2:

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

Onde:

ΔS – a diferença entre a área interfacial.

γ_i – a tensão interfacial entre a fase aquosa e oleosa à temperatura, volume e número de moles constante.

A área interfacial não pode ser zero, assim a tensão interfacial deve reduzir a um ponto que a energia livre do sistema também reduza. Para a formação da ME, a γ_i , tem uma

tendência para se aproximar de zero; conseqüentemente, a variação de energia livre também tende a zero e, com isso, o sistema fica estável termodinamicamente ($\Delta G \rightarrow 0$). Quando a γ_i for negativo, ΔG será < 0 e a microemulsificação será espontânea (DAMASCENO et al., 2011).

A formação de ME é um processo espontâneo fortemente ligado à natureza do tensoativo e a natureza das fases. A estabilidade e termodinâmica dos sistemas microemulsionados é decorrente a combinação da redução da tensão interfacial e do aumento da entropia do sistema decorrente do tamanho reduzido das gotículas da fase dispersa (AUM, 2016).

3.5 VIA DE ADMINISTRAÇÃO PARENTERAL

A administração via parenteral é realizada por injeções, que podem ser intramusculares, subcutâneas, intravenosa, intralesionais, intravítreas e intra-articulares entre outros. Ela oferece várias vantagens quando comparada a outras vias de administração, como efeito rápido redução do metabolismo hepático, eliminação da inativação gastrointestinal, possibilidade de administração quando a via oral não está disponível (por exemplo, quando o paciente está inconsciente), acesso facilitado a certos compartimentos (por exemplo, articulação) e administração direta da nutrição (HENRIQUES et al., 2019; LI et al., 2019).

Medicamentos injetáveis precisam ser fabricados com cuidado, prevendo um produto livre de contaminação microbiana, ou seja, estéril, além das características, como, livre de pirogênio e partículas visíveis, estabilidade, compatibilidade e isotonicidade (HENRIQUES et al., 2019).

A administração parenteral de sistemas de nonocarreadores oferecem as vantagens de proteção aprimorada aos fármacos, liberação controlada, circulação prolongada (TYAGI; SUBRAMONY, 2018). E com a utilização de sistemas de liberação controlada por via vias parentéricas de administração de fármacos proporciona benefícios de administração de doses mais baixas, redução na frequência de injeção, redução de efeitos colaterais e maior adesão do paciente (LI et al., 2019; PINEROS et al., 2017).

Um nanocarreador injetável deve superar a eliminação natural, aumentar a captação celular nas células alvo e a fuga endossômica. Os processos de eliminação natural incluem depuração renal e captação do sistema fagocítico mononuclear (SFM). O SFM, também conhecido como sistema retículo-endotelial, é o principal método de depuração natural via

fagocitose para partículas não filtradas pelos rins. Para que a fagocitose ocorra, o nanocarreador deve ser reconhecido pelo SFM. O reconhecimento pelo SFM é auxiliado pela opsonização, a ligação de opsoninas que aumentam a fagocitose. Um nanocarreador injetável deve ser maior que 10 nm para evitar a depuração renal e menor que 500 nm para evitar a internalização pelo SFM. Uma carga de superfície de gotículas de -10 mV a +10 mV é desejada para ajudar a evitar o reconhecimento pelo SFM, como também auxilia no aumento da captação celular e a evitar a auto-agregação entre gotículas da ME, resultando também em menor reconhecimento pelo SFM (WEBSTER; SUNDARAM; BYRNE, 2013).

Devido propriedades únicas das MEs, elas podem ser utilizadas em várias vias de administração, como administração parenteral, oral, tópica, ocular e pulmonar. As ME pode ser utilizada como veículo de administração parenteral de fármacos solúveis em óleo ou em água, como exemplo, a administração de ME por via parenteral de fármacos pouco solúveis, incluindo alguns fármacos anticâncer, mostraram vantagens distintas como, melhoria da biodisponibilidade maior tempo de permanência na circulação sanguínea e redução na irritação da droga (GHARBAVI et al., 2019).

A formulação de ME é considerada um dos mais importantes sistemas de administração de fármacos para via parenteral, devido à sua estabilidade, alta capacidade de solubilização de substâncias polares e não polares e habilidade de suportar técnicas de esterilização. Como também, a nanoestrutura da ME diminui a possibilidade de formação de êmbolos após administração intravenosa (ABOUMANEI et al., 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

O material utilizado no estudo foi:

- a) dexametasona base micronizada, Valdequímica, China;
- b) triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico, All Chemistry, Brasil;
- c) Kolliphor[®] HS 15, Sigma Aldrich, USA;
- d) Span[®] 60, Sigma Aldrich, USA;
- e) água destilada, Destilador de água Pilsen, modelo SP5L, Brasil;
- f) miristato de isopropila, Fragon, Brasil;
- g) álcool etílico absoluto 99,8% P.A., Neon, Brasil;
- h) álcool metílico P.A., Solução Tecnológica LTDA[®], Brasil,
- i) fosfato de potássio monobásico anidro 98% P.A., Neon, Brasil;
- j) hidróxido de sódio em micro pérola P.A., Neon, Brasil;
- k) ácido clorídrico, Vetec, Brasil;
- l) sacos de diálise peso molecular de 12 kDa, Sigma Aldrich, USA.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Determinação do equilíbrio hidrófilo lipófilo do Kolliphor[®] HS 15

O equilíbrio hidrófilo lipófilo (EHL) do Kolliphor[®] HS 15, de acordo com sua ficha técnica varia entre 14 e 16. Assim houve a necessidade de estabelecer o EHL real do mesmo. Foram preparadas emulsões utilizando como tesoativos o Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60, como fase oleosa, o triglicerídeos do ácido cáprico caprílico e fase aquosa, a água destilada, variando os componentes para obter emulsões em que o EHL do Kolliphor[®] HS 15 possuísse valores de 14; 14,5; 15; 15,5 e 16. Em um bécker adicionou 1 g da razão de tensoativos e 1,25 g de fase oleosa, levando-os ao aquecimento da mistura até a temperatura de 60 °C. Em outro bécker adicionou 22,75 mL de fase aquosa e aqueceu à mesma temperatura. Sob agitação mecânica adicionou a fase aquosa sobre a fase oleosa e deixou sobre agitação durante 5 minutos. Após 24 horas foram avaliadas macroscopicamente quanto a separação de fases.

4.2.2 Construção do diagrama de fases pseudotérmico

Os sistemas microemulsionados foram obtidos com a construção do DFPT, utilizando a mistura de 4 componentes: água destilada (fase aquosa), triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico (TACC - fase oleosa), Kolliphor[®] HS 15/Span[®] 60 (tensoativos). A proporção de tensoativos foi determinada a partir do cálculo do EHL, com o intuito de assemelhar o valor do EHL da mistura de tensoativos em função do valor do EHL do TACC, baseada na Equação 3:

$$EHL_{mistura\ tensoativos} = \frac{\%p_{Kolliphor^{\circledR}\ HS\ 15} \times EHL_{Kolliphor^{\circledR}\ HS\ 15} + \%p_{Span^{\circledR}\ 60} \times EHL_{Span^{\circledR}\ 60}}{100} \quad (3)$$

onde:

%p: é a porcentagem em peso para os tensoativos;

EHL: é o valor do equilíbrio hidrófilo-lipófilo específico para cada tensoativo.

A proporção de tensoativos foi adicionado quantidades de TACC com a finalidade de obter as proporções 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1. Esta mistura foi levada ao banho-maria (SOLAB SL155/10, Brasil) à temperatura de 70 °C. Em seguida a água destilada na mesma temperatura foi adicionada em volumes pré-definidos pelo o método de titulação. Esta mistura foi submetida a 2 ciclos, cada ciclo correspondendo a 3 min de agitação em sonicador (Desruptor Ultrasônico – Unique[®] DES 500, Brasil) e 3 min no banho de ultrassom (Lavadora Ultrassônica – Unique[®] USC 2800A, Brasil) (CAVALCANTI et al., 2016). Após 24 horas os sistemas obtidos foram classificados macroscopicamente em: separação de fases (SF), emulsão líquido leitosa (ELL), emulsão líquido opaca (ELO), sistema transparente bicontínuo (STB) e sistema transparente (ST). Os resultados da classificação dos sistemas foram transferidos para o programa Origin[®] Pro 8.0 para obtenção do modelo gráfico do diagrama.

4.2.3 Seleção das formulações e incorporação da dexametasona

Com a obtenção do DFPT, foram selecionadas 3 amostras da região ST, com características macroscópicas de região de formação de ME e, assim, definidas as proporções de cada componente utilizado nas formulações. A DEXA foi incorporada aos sistemas nas concentrações de 0,08 e 0,1% (p/p). Ela foi adicionada a mistura de tensoativos e óleo, com posterior adição da água destilada e homogeneização no sonicador e banho de ultrassom como

indicado no item anterior. (JIA et al., 2018; URBAN; MAINARDES; GREMIÃO, 2009; WANG et al., 2016a).

4.2.4 Quantificação da dexametasona no sistema microemulsionado

4.2.4.1 Validação de metodologia analítica para quantificação da dexametasona

Foi desenvolvido e validado metodologia para a quantificação da DEXA por espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-Vis). Seguiu os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez da RDC 166 da Anvisa (BRASIL, 2017). Todos os experimentos de validação da metodologia analítica foram realizados em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, UV-1900, Japão) disponível no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

Foi preparado solução tampão fosfato de potássio pH 7,4 (PBS) de acordo com a metodologia da Anvisa, a partir das soluções de fosfato de potássio monobásico e hidróxido de sódio a 0,2 M, com ajuste de pH para 7,4 em pHmetro digital (MS TECNOPON Instrumentação mPA210, Brasil). Em seguida foi elaborado a solução PBS/etanol (50:50 v/v), ao qual a DEXA foi diluída a uma solução mãe (SM) com concentração de 500 µg/mL.

Com o intuito de alcançar o comprimento de onda (λ) do fármaco preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2019), prosseguiu-se com varredura espectrofotométrica na região UV-Vis (faixa de 200 a 400 nm), da solução de DEXA em PBS/etanol (50:50 v/v) com concentração de 25 µg/mL, obtida a partir da SM.

A seletividade do método foi determinada através da comparação das curvas espectrais da DEXA e dos sistemas desenvolvidos com e sem incorporação do fármaco, obtidas pela leitura de diluições individuais de em PBS/etanol (50:50 v/v) com concentração de 25 µg/mL, com o intuito de observar a banda de absorbância característica do fármaco.

A linearidade foi alcançada com a construção de três curvas analítica para se obter uma curva analítica média. Preparou-se três SM e de cada uma seguiu diluições seriadas em solução PBS/etanol (50:50 v/v), obtendo soluções em 8 concentrações (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, e 40 µg/mL) em triplicata. Os resultados foram tratados estatisticamente, com equação da reta obtida através de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e avaliada por análise de variância (ANOVA). Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram

calculados a partir do desvio padrão do intercepto com o eixo y e da inclinação da curva analítica (IC), conforme a Equações 4 e 5.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad (4)$$

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (5)$$

onde:

σ : é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y;

IC: é a inclinação da curva de calibração.

Para precisão foi realizada através da leitura em sextuplicata da solução na concentração 25 $\mu\text{g/mL}$, considerada o ponto médio da linearidade. E analisada pelos parâmetros de repetibilidade e precisão intermediária por analistas distintos e em dias diferentes, sendo representada como coeficiente de variação (CV%), com nível de significância inferior a 5%. A exatidão foi avaliada por meio da leitura de 3 níveis de concentração: baixa (5 $\mu\text{g/mL}$), média (25 $\mu\text{g/mL}$) e alta (40 $\mu\text{g/mL}$), com triplicata de cada nível, sendo expressa pela concentração média experimental e a concentração teórica, conforme a Equação 6.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (6)$$

A robustez foi averiguada em triplicata na concentração do ponto médio (25 $\mu\text{g/mL}$), variando a composição do solvente (PBS/metanol (50:50 v/v) e o pH da solução, acrescentando ácido clorídrico na solução PBS/etanol (50:50 v/v), passando do pH de 8,5 para 7,0 e 5,0.

4.2.5 Doseamento e eficiência de encapsulação da dexametaxona nas MEs

4.2.5.1 Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado

A DEXA nos sistemas escolhidos foi quantificada baseada na metodologia analítica foi desenvolvida e validada por espectrofotometria UV-Vis. As ME com DEXA (ME-DEXA) foram diluídas em PBS/etanol (50:50) a fim de atingir concentração teórica de 25 µg/mL. Posteriormente foi realizada a leitura das absorbâncias em triplicata no espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, UV-1900, Japão) no λ de 242 nm. Para determinação da concentração real das amostras utilizou o valor médio das absorbâncias da equação da reta, obtida durante a determinação da linearidade da validação (DAMASCENO et al., 2012; SILVA et al., 2014).

4.2.5.2 Eficiência de encapsulação

Para a eficiência de encapsulação da DEXA utilizou 1 mL das formulações de ME-DEXA, a mesma foi submetida ao processo de centrifugação a 24510 g por 30 minutos (Centrífuga Hettich – MIKRO 220 R, Alemanha). Ao final da centrifugação, alíquotas do sobrenadante foram cuidadosamente extraídas e diluídas em PBS/etanol (50:50) de modo a obter soluções com concentração teórica de 25 µg/mL. Posteriormente foi realizada leituras em triplicata em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, UV-1900, Japão) λ de 242 nm. A eficiência de encapsulação foi calculada conforme a Equação 7 (DAMASCENO et al., 2012; LEITE, 2017):

$$EE = \frac{ABS\ sob}{ABS\ form} \times 100 \quad (7)$$

onde:

EE: eficiência de encapsulação.

ABS sob: absorbância do sobrenadante da formulação pós-centrifugação no λ de 242 nm.

ABS form: absorbância da formulação antes da centrifugação no λ de 242 nm.

4.2.5.3 Quantidade máxima de dexametasona incorporada nos sistemas

Foi realizada a produção dos 3 sistemas escolhidos com a concentração de 0,5% de DEXA, para avaliar a incorporação máxima de fármaco em cada sistema. Destes sistemas foi retirado uma alíquota de 1 mL e levadas a centrifugação a 24510 g por 30 minutos (Centrífuga Hettich – MIKRO 220 R, Alemanha). Foi preparada uma solução mãe na concentração de 500 µg/mL. Tanto a solução mãe como o sobrenadante são diluídas em PBS/etanol (50:50) para resultar em soluções com concentração teórica de 25 µg/mL. Ambas foram lidas as absorvâncias em triplicata no espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu, UV-1900, Japão) λ de 242 nm, e assim realizado os cálculos com auxílio da Equação 7.

4.2.6 Caracterização físico-química e morfológica do sistema microemulsionado

Foram realizadas as análises de caracterização físico-química e morfológica dos sistemas com e sem DEXA, conforme os itens seguintes.

4.2.6.1 Análise macroscópica

Os sistemas foram preparados e deixados em temperatura ambiente de 25 °C, e após 48 h da preparação foi avaliado as características organolépticas, homogeneidade, separação de fases ou presença de precipitado (CAVALCANTI et al., 2016; DAMASCENO et al., 2012).

4.2.6.2 Determinação do pH

O pH das formulações foi analisado por meio de pHmetro digital (MS TECNOPON Instrumentação mPA210, Brasil) com eletrodo de vidro e sensor de temperatura, calibrado inicialmente com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (DEHGHANI et al., 2017; NEVES et al., 2018; RASHID et al., 2019; SINDHU et al., 2018). As análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

4.2.6.3 *Determinação da condutividade elétrica*

Medidas de condutividade elétrica foram realizadas para classificar as ME como O/A ou A/O. Seguiu a metodologia de Dehghani et al. (2017), Neves et al. (2018) e Rashid et al. (2019), em que uma alíquota de 10 mL da formulação foi utilizada para medição em condutivímetro digital (MS TECNOPON Instrumentação, mCA 150, Brasil), calibrado com solução de calibração apresentando condutância específica de 146,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C. A análise foi realizada em triplicata no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

4.2.6.4 *Índice de refração*

O índice de refração (IR) foi averiguado utilizando refratômetro de bancada tipo Abbé. A análise foi executada em triplicata e o equipamento aferido com água destilada (IR= 1,334) à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (DAMASCENO et al., 2012; DEGHANI et al., 2017; NEVES et al., 2018; RASHID et al., 2019; SINDHU et al., 2018). As análises foram realizadas no laboratório de físico-química da UEPB.

4.2.6.5 *Tamanho médio da gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta*

Para determinação do tamanho médio das gotículas (TMG), assim como o potencial zeta (PZ) e índice de polidispersão (IPD), foi realizada análise em triplicata pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), através do equipamento ZetaPALS (Brookhaven Instruments Corporation, NewYork) no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UFCG. As medições foram realizadas utilizando 3 mL das formulações sem diluição, em um ângulo de dispersão de 90° com temperatura constante de 25°C (CAVALCANTI et al., 2016; KUMAR; GOINDI, 2015; NEVES et al., 2018; POOMANEE et al., 2017).

4.2.6.6 *Microscopia de luz polarizada*

Para avaliar a isotropia, os sistemas foram analisados em microscópio petrográfico (Carl Zeiss Microscopy, Alemanha), na qual uma gota das amostras foram colocadas em

lâminas de vidro e cobertas com lamínulas. As análises foram realizadas no Laboratório de Mineração e Geologia da UFCG.

4.2.6.7 *Medidas reológicas*

As propriedades reológicas dos sistemas foram avaliadas utilizando ensaios de fluxo e escoamento, através do reômetro (TA - Discovery HR-1 hybrid rheometer, New Castle) do Laboratório de Engenharia de Pavimentos (LEP) da UFCG. Os ensaios foram realizados com placas paralelas de 25 mm, Gap de 500 μm e temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$. O ensaio de fluxo as leituras foram realizadas no intervalo de 0,1 a 100 s^{-1} para curva ascendente e de 100 a 0,1 s^{-1} , sendo plotado curvas relacionando a viscosidade com a taxa de cisalhamento para descrever as características de escoamento dos sistemas (NEVES et al., 2018). O ensaio de oscilações foi realizado expondo os sistemas a um aumento gradual de frequência angular (FA) em 3 ciclos, o primeiro a FA de 0,1 a 0,7 rad/s com deformação de 0,1 %, o segundo de 1,0 a 9,0 rad/s de FA e deformação de 1,0 %, por fim o ciclo com FA de 10,0 a 100,0 rad/s e deformação de 1,0 %. Obtendo assim a relação entre os módulos de armazenamento (G') e perda (G'') em função da FA e os valores plotados graficamente em escala logarítmica (BENIGNI et al., 2018).

4.2.6.8 *Termogravimetria (TG)*

As curvas termogravimétricas foram obtidas em módulo termogravimétrico TG (Q600 TA – Instruments, New Castle, DE, EUA), na faixa de temperatura de 30 a 900 $^{\circ}\text{C}$, com razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 mL/min. Utilizou amostras ($5,000 \pm 0,005$ mg) das ME, componentes individuais e misturas binárias, em cadinhos de alumina. A calibração do equipamento realizada com padrão de oxalato de cálcio. As análises foram realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UEPB.

4.2.6.9 *Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

O comportamento térmico foram analisadas por DSC Q20 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) de acordo com a metodologia de Neves et al. (2018), utilizando amostras

(2,000 ± 0,005 mg) em cadinho hermético de alumínio. Os ensaios de DSC para as MEs, componentes separados foram realizados sob as seguintes condições: equilíbrio a 25 °C, resfriamento a uma taxa de 10 °C/min a -50 °C, mantendo a esta temperatura por 3 min e aquecimento a uma taxa de 10 °C/min até 280 °C. Para a DEXA e as misturas binárias a faixa de temperatura foi de 0 °C a 300 °C. O nitrogênio foi utilizado como gás de purga com fluxo de 20 mL/min. A aparelho foi calibrado para o parâmetro de temperatura utilizando como padrão o ponto de fusão do índio (156,6 °C). A calibração para o fluxo de calor foi feita com base na entalpia de fusão do índio ($\Delta H_{\text{fusão}} = 28,54 \text{ J.g}^{-1}$). As análises foram realizadas no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UEPB.

4.2.6.10 Difração de raio X

A caracterização por difração de raio X (DRX) foi realizada para avaliar o perfil de cristalinidade da DEXA e seu comportamento quando incorporada nos sistemas. As amostras foram analisadas em difratômetro (Shimadzu modelo XRD 7000, Japão) do Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da UFCG, com varredura angular de $4^\circ < 2\theta < 70^\circ$, sistema θ - θ , utilizando radiação de Cu, voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA, fendas de $+1^\circ$ e -1° (divergente e convergente), no passo de $0,02^\circ$ (θ) e intervalo de 0,6 s para cada amostra.

4.2.7 Avaliação da estabilidade preliminar

4.2.7.1 Teste de centrifugação

Para centrifugação seguiu a metodologia de Mouri et al. (2016) e Tao et al. (2017), no qual foi retirada uma alíquota de 1,0 mL das formulações e adicionou em um microtubo do tipo Eppendorf e submeteu à centrifugação (Centrífuga Hettich – MIKRO 220 R, Alemanha), com ciclo de 24510 g por 30 min e por 1 h. No final de cada ciclo, as amostras foram analisadas quanto à ocorrência de possíveis modificações na instabilidade da formulação. Se o sistema não for estável, a alta força gravitacional efetiva em um tubo de ensaio causa uma separação de fases com precipitação no fundo do tubo. As análises foram realizadas no

Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

4.2.7.2 *Estresse térmico*

O teste de estresse térmico foi realizado de acordo com Patriota (2015), em que foi retirada amostras de 3 mL de cada formulação e colocadas em tubos de ensaios e em seguida levadas ao aquecimento em Banho-Maria (SOLAB SL155/10, Brasil) na faixa de temperatura de 40 a 80 °C, com um aumento gradual da temperatura de 5 em 5 °C, mantendo as amostras em cada temperatura por 30 min. As amostras foram avaliadas quanto a características macroscópicas ao término de cada temperatura. As análises foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

4.2.7.3 *Ciclo resfriamento/aquecimento*

As formulações foram submetidas a 5 ciclos, em que cada ciclo corresponde a um período de 24 h em refrigerador (Consul Biplex, Brasil) na temperatura de 4 °C, seguido por 24 h na temperatura de 40 °C na estufa (TECNAL TE-394/2, Brasil) (BASAK; GUHA, 2017; KUMAR; GOINDI, 2015; POOMANEE et al., 2017; TAO et al., 2017). Utilizou 5 mL das formulações em recipientes para armazenamento. No dia inicial e ao final de cada ciclo as amostras foram analisadas quanto ao tamanho médio das gotículas através do equipamento Nanotrak Wave (Model MN40, EUA). As análises foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB.

4.2.8 **Estudo de liberação *in vitro***

O teste de liberação *in vitro* das ME-DEXA foi realizado pelo método de diálise (JIA et al., 2018; WANG et al., 2017). Para realização do ensaio utilizou sacos de diálise (peso molecular limite de 12 kDa, Sigma Aldrich, USA) que foram hidratados por 24 h antes ao experimento. Neles foram adicionados 1 mL das formulações ME-3 (0,08 e 1 %, correspondendo a 0,8 e 1 mg/mL) e solução de fármaco livre nas mesmas concentrações das formulações. Os sacos de diálise foram imersos em 100 mL de PBS/etanol 50:50 (n = 3), a 37 °C sob agitação constante de 150 rpm em Shaker (Incubadora Tecnal TE-420, São Paulo). Em

intervalos de tempo pré-estabelecidos (0,5; 1; 1,5; 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 e 72 h) foi retirado 3 mL do meio de liberação e um volume igual de PBS/etanol 50:50 fresco foi adicionado para manutenção da condição *sink*. A concentração de DEXA liberada no meio de diálise foi analisada em espectrofotômetro UV-Vis (SHIMADZU 1800, Japão), λ de 242 nm. As análises foram realizadas no Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF) da UEPB. A partir dos resultados foi plotada a curva de percentagem de liberação cumulativa da DEXA (média) versus tempo (h). Os dados de liberação da DEXA da ME-3 foram modelados usando o Excel[®] e o programa DDSolver 1.0, seguindo modelos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Peppas-Sahlin, juntamente com as respectivas equações e parâmetros, com o principal objetivo de caracterizar o processo de liberação da DEXA através da ME-3.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDO DE PRÉ FORMULAÇÃO

O efeito emulsionante está relacionado com o EHL, que reflete na afinidade do emulsificante com o óleo ou a água. Quanto mais alto o valor de EHL maior afinidade com a água, e mais adequado para formar emulsões O/A (LIAN et al., 2019). O estudo iniciou com a escolha dos componentes com o intuito de formação de sistemas microemulsionados. Segundo Chiappisi; Noirez; Gradzielski (2016) é necessário o uso de componentes farmacologicamente aceitáveis. A escolha dos componentes baseou-se em obter formulações com EHL ideal que proporcionasse a formação de ME do tipo O/A, como também os componentes fossem adequados para via de administração parenteral. Escolheu-se como tensoativos (Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60), como fase oleosa o TACC e como fase aquosa a água destilada.

A composição do Kolliphor[®] HS 15, também conhecido como Solutol[®] HS 15, contém, principalmente, hidroxistearato de polioxil 15, obtido a partir da reação de cerca de 15 mol de óxido de etileno com 1 mol de ácido 12-hidroxistearico. O hidroxistearato de polioxil 15 consiste em cerca de 70% de mono e ésteres de poliglicol (lipofílicos) e cerca de 30% de polietilenoglicol livre (hidrofílico) (ZHANG; WANG; LIU, 2016). É um solubilizador anfifílico, não iônico com baixo peso molecular (~963,25 g / mol), seu EHL varia entre 14 e 16, constituído de uma pasta branca/incolor e inodora bem tolerada, disponível comercialmente e empregado como excipiente parenteral em formulações aquosas sendo utilizado na indústria farmacêutica em formulações injetáveis humanas e veterinárias (GROTZ et al., 2017; SCHELLER et al., 2014). Segundo Lamaisakul et al. (2019) é um tensoativo reconhecido como seguro e utilizados para administração parenteral em altas concentrações de 50% a 65%. O estudo de Prabhu et al. (2016) obteve êxito utilizando como excipiente o Solutol[®] HS 15 na produção de careadores lipídicos nanoestruturados para terapia intravenosa da malária cerebral. Li et al. (2019) relata que o Solutol[®] HS 15 é um tensoativo de segurança, que pode ser esterilizado e utilizado em injeções indolores em concentrações de até 50% (m/m).

O Span[®] 60 (monoestearato de sorbitano) é um tensoativo não iônico de baixo peso molecular, natureza hidrofóbica que possui EHL de 5, sendo considerado biocompatível, não irritante e tem a capacidade de atuar como um agente estruturante para o desenvolvimento de

produtos farmacêuticos, formulações de cosméticos e aplicações alimentares (SWE; ASAVAPICHAYONT, 2018; TRUJILLO-RAMÍREZ et al., 2019). Nos estudos de Hsu et al. (2018) utilizaram o Span[®] 60 como um dos excipientes para o desenvolvimento de nanovesícula (fosfatiossomas) para administração intravenosa de ciprofloxacino tendo em vista o tratamento da pneumonia. Karim et al. (2017) também utilizaram o Span[®] 60 como excipiente, para produção de vesículas multilamelares contendo transferrina que aprisionam α -tocotrienol, na qual foi possível administração intravenosa e eficácia do tocotrienol na supressão de tumores.

O TACC com nome de referência Mygliol[®] 812, é uma mistura de ácidos graxos de cadeia média obtido a partir da esterificação dos ácidos graxos C8 e C10 com glicerina. É caracterizado por possuir viscosidade de 30 mPas, índice de refração de 1,45 e massa específica de 0,95 g/cm³ a 20 °C (ATANASE; RIESS, 2014). Li et al. (2019) utilizaram o TACC como fase oleosa em sua ME de administração parenteral do antitumoral bufalina.

Para se obter MEs estáveis é importante que o tensoativo ou combinação de tensoativos possua o valor de EHL próximo ao valor do EHL requerido da fase oleosa (HONG; KIM; LEE, 2018). Devido ao EHL do Kolliphor[®] HS 15 possuir uma variação entre 14 e 16, fez-se necessário a realização do experimento para determinar o seu EHL real, e assim ser possível obter a proporção de tensoativo ideal, quando calculados pela equação 1 para a construção do diagrama de fases. As emulsões foram preparadas a partir de componentes com ELH conhecidos e após 24 h analisadas macroscopicamente (Figura 4).

Figura 4 – Estudo do EHL do Kolliphor[®] HS 15.



Fonte: dados da pesquisa.

Na emulsão em que o EHL do Kolliphor[®] HS 15 foi considerado 16, não houve separação de fases e a emulsão permaneceu estável, ao contrário das outras emulsões que apresentaram processo de instabilidade e, conseqüentemente, separação de fases. Dessa forma, o EHL do Kolliphor[®] HS 15 foi considerado 16 neste trabalho.

Ambos os tensoativos escolhidos são não iônicos, considerados seguros, atóxicos, livres de irritações e biocompatíveis para via de administração parenteral, como também não são afetados pelas mudanças de pH nos meios (MAHDI et al., 2011; RASHID et al., 2019). Segundo Zhang; Wang e Liu (2016) o Kolliphor[®] HS 15 e o Miglyol[®] 812 não apenas melhoram a solubilidade e adsorção do IFA, mas também são associados a estabilidade e a funcionalidade do produto.

5.2 CONSTRUÇÃO DO DIAGRAMA DE FASES PSEUDOTERNÁRIO

Os diagramas de fases são uma ferramenta útil para identificar e selecionar a formulação apropriada para a incorporação de fármacos. Essa ferramenta nos permite determinar as proporções dos componentes que constituem a ME. Os diagramas ternários são empregados para representar misturas de três componentes, proporcionando todos os estados de um sistema trifásico. No desenvolvimento de sistema microemulsionado utiliza-se o DFPT, devido a ME ser um sistema complexo com 4 componentes, óleo, água e mistura de tensoativos, este último, preparado em misturas definidas e apresentados em um eixo do diagrama de fase ternária (CIRÍACO et al., 2020; SCHMIDTS et al., 2009).

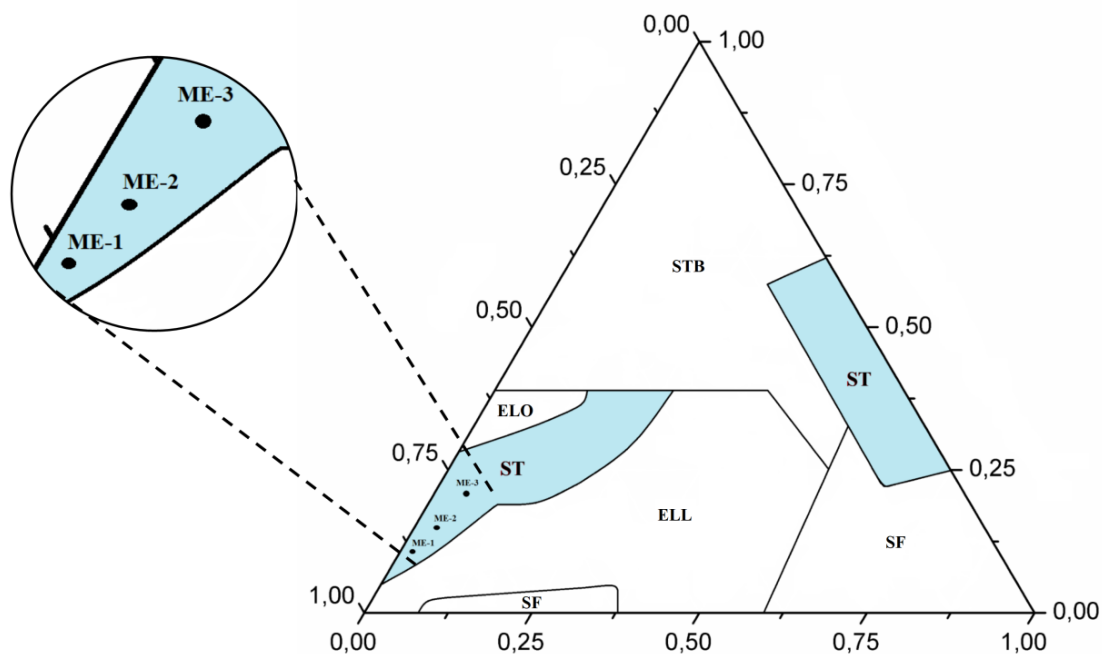
O tamanho da gotícula de uma ME é afetado pelas condições de trabalho e operação do equipamento. Para construção do DFPT utilizou-se a metodologia de titulação de água, empregada para estudar um amplo número de amostras de diferentes composições de maneira rápida (LEITE, 2017).

Tendo em vista o valor de EHL requerido para o TACC (15,36) realizou-se o cálculo de EHL, determinando a utilização da proporção de 9:1 da mistura de tensoativos (Kolliphor[®] HS 15/Span[®] 60). Segundo Mahdi et al. (2011) a correção do EHL do tensoativo ou mistura de tensoativos para o correspondente EHL do óleo promove uma menor tensão interfacial entre as fases aquosa e oleosa, refletindo na estabilidade do sistema.

A Figura 5 apresenta o DFPT obtido no estudo, em que cada vértice representa 100% do óleo TACC, 100% de tensoativo total (Kolliphor[®] HS 15/Span[®] 60 9:1) e 100% de água

destilada, respectivamente. As áreas sombreadas equivalem o limite da região de sistemas transparentes (ST), considerada uma indicação preliminar da formação de ME.

Figura 5 – Diagrama de fases pseudoternário.



Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: separação de fases (SF); emulsão líquido leitosa (ELL); emulsão líquido opaca (ELO); sistema transparente bicontínuo (STB) e sistema transparente (ST); triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico (TACC).

5.3 SELEÇÃO DOS SISTEMAS E INCORPORAÇÃO DA DEXAMETASONA

Com base no DFPT construído selecionou-se amostras para futuras investigações, a composição dos mesmos é apresentada na Tabela 1. Esta escolha foi baseada na área relacionada a possível ocorrência de MEs, na obtenção de sistemas do tipo O/A dando ênfase a região do lado esquerdo do diagrama com predominância de fase aquosa e na quantidade tensoativos, pois quanto menor quantidade de tensoativos, menor a possibilidade de ocorrência de toxicidade inerente aos tensoativos. A variação na quantidade de óleo com o intuito de avaliar a EE, devido a DEXA ser lipofílica e possuir afinidade pela fase oleosa.

Tabela 1 - Composição percentual (m/m) dos sistemas selecionados.

Componentes	ME-1	ME-2	ME-3
Kollipor [®] HS 15 + Span [®] 60 (9:1)	10%	17%	20%
Triglicerídeo de ácido capríco caprílico	2%	3%	5%
Água destilada	88%	80%	75%

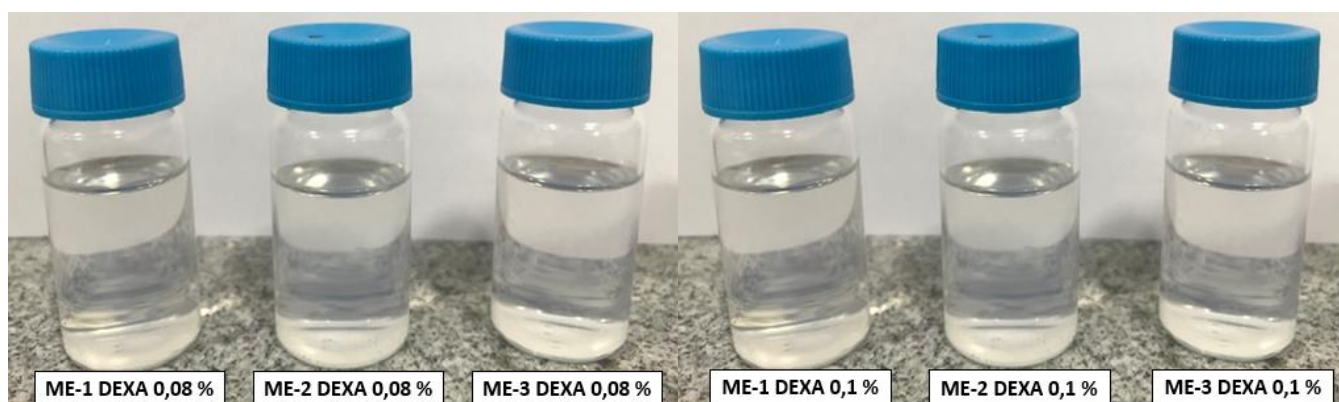
Fonte: dados da pesquisa.

A DEXA foi incorporada nas concentrações de 0,08 e 0,1 %, valores estes baseados em dados descritos na literatura. Muitos trabalhos com sistemas nanoestruturados realizaram a incorporação de 0,1% de DEXA (OYAFUSO, 2012; URBAN; MAINARDES; GREMIÃO, 2009; VEDOVATO, 2011). No estudo conduzido Wang et al. (2016b) realizou-se a incorporação de DEXA em baixa dose (0,08%) usando micelas para o tratamento eficaz da artrite reumatoide.

5.4 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Após 48 h do preparo dos sistemas averiguou-se o aspecto macroscópico. Mesmo com a incorporação da DEXA, todas as amostras permaneceram com as mesmas características: líquidas, transparentes, límpidas, homogêneas e inodora. (Figura 6). Como também, não apresentaram separação de fases ou presença de precipitado.

Figura 6 - Aspecto macroscópico das formulações.



Fonte: dados da pesquisa.

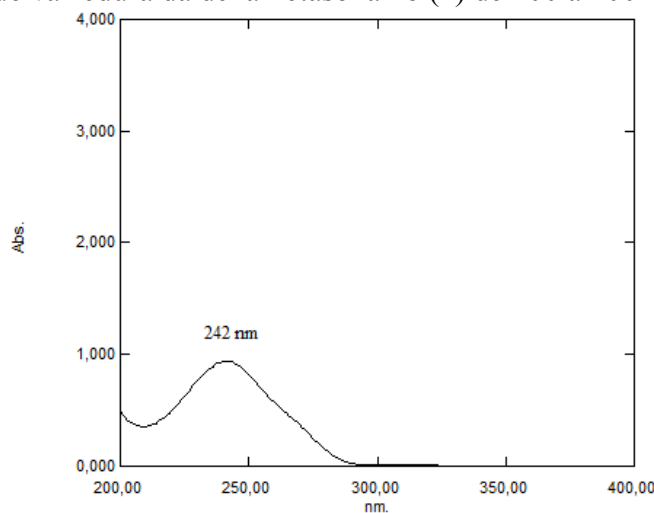
5.5 QUANTIFICAÇÃO DA DEXAMETASONA NO SISTEMA MICROEMULSIONADO

5.5.1 Validação de metodologia para o doseamento da dexametasona por Ultravioleta/Visível

A espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica comumente utilizada nos ensaios de quantificação de fármacos e fundamenta-se na absorção de energia gerada pela emissão de feixes de luz em moléculas, sendo a intensidade desta absorção variável de acordo com algumas características do material a ser analisado, como a sua concentração e também as estruturas químicas que compõem a matéria (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019).

A varredura espectrofotométrica foi realizada na faixa de 200 a 400 nm (Figura 7) para a verificação do λ adequado, demonstrando que a DEXA apresentou pico máximo de absorbância em 242 nm, cujo valor foi definido para utilização no desenvolvimento e validação do método analítico. Através da técnica de espectrofotometria UV-Vis outros autores avaliaram o perfil de liberação da DEXA a 242 nm, como Nejad et al. (2019) em seus estudos com hidrogéis injetáveis e nanopartículas de fosfato de sódio PLGA/DEXA e Fan et al. (2015) ao desenvolver hidrogéis de ácido hialurônico com a proposta de avaliar o perfil de liberação controlada da DEXA.

Figura 7 – Espectro de varredura da dexametasona no (λ) de 200 a 400 nm.



Fonte: dados da pesquisa.

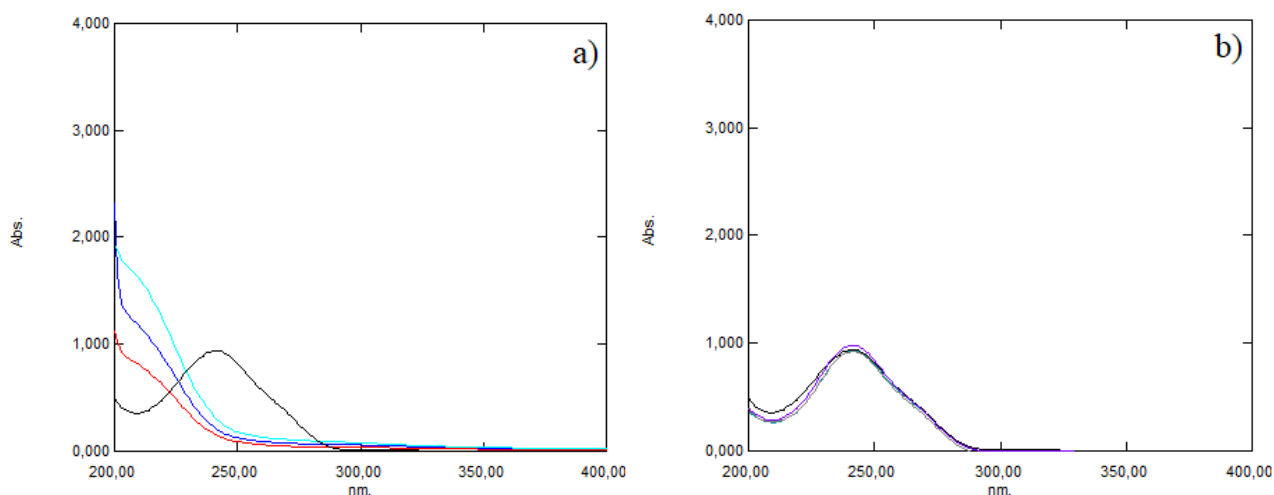
Legenda: solução de DEXA a 25 $\mu\text{g/mL}$.

5.5.1.1 Seletividade

A seletividade é a capacidade do método em medir exatamente um composto na presença de outros componentes que possam ser esperados em determinada amostra, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (BORBA et al., 2013).

Para verificar a seletividade do método foram obtidos os espectros de varredura da solução de DEXA, MEs sem fármaco (Figura 8a), e as MEs com DEXA (Figura 8b). A metodologia analítica desenvolvida mostrou-se seletiva, não foi evidenciado picos interferentes relacionados aos componentes da formulação. Para as MEs sem fármaco possivelmente ocorre a presença do pico máximo em λ abaixo de 200 nm, e quando analisadas as MEs com fármaco, ocorre a prevalência do pico característico da DEXA (242 nm), e possivelmente o pico das MEs brancas estão em λ abaixo de 200 nm.

Figura 8 – Espectro de varredura da microemulsão com e sem dexametasona no (λ) de 200 a 400 nm.



Fonte: dados da pesquisa.

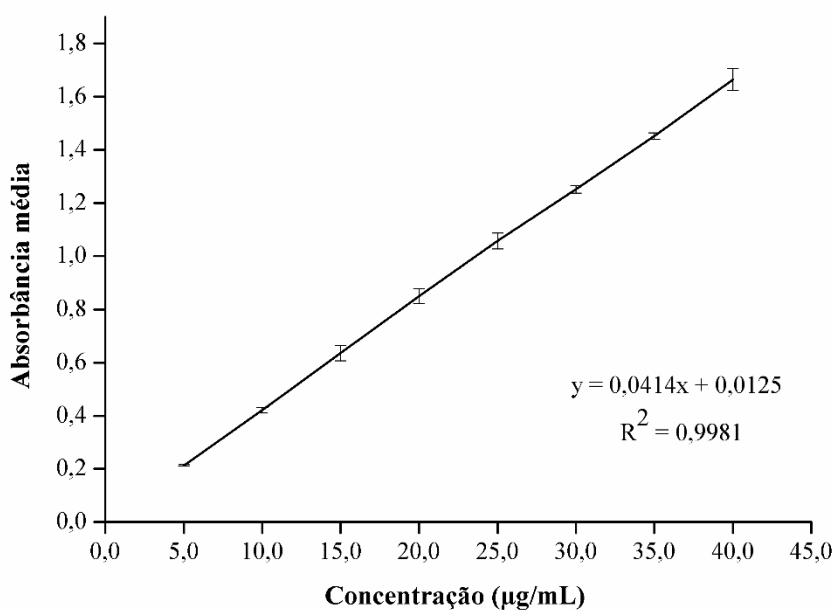
Legenda: a) DEXA (preto); ME-1 (vermelho); ME-2 (azul escuro); ME-3 (azul claro). b) DEXA (preto); ME-1 DEXA 0,1% (verde); ME-2 DEXA 0,1% (cinza); ME-3 DEXA 0,1% (azul escuro). Todas as soluções na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$.

5.5.1.2 Linearidade

A linearidade é conceituada como a capacidade de um método analítico em obter resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo específico (BORBA et al., 2013).

Foi avaliada na faixa de 5 a 40 $\mu\text{g/mL}$, utilizando oito níveis de concentração de DEXA. A curva analítica (Figura 9) foi alcançada por análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, realizada na média das três curvas produzidas, apresentando uma equação da reta de regressão $Y = 0,04136 x + 0,01251$, um coeficiente de determinação $R^2 = 0,9981$ e coeficiente de correlação ($r = 0,9990$) indicando linearidade do método dentro dos limites de concentrações estudadas, encontrando-se de acordo com o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação ($r = 0,990$) descrito na resolução para validação de métodos analíticos, RDC N° 166 da Anvisa (BRASIL, 2017).

Figura 9 – Curva de calibração da dexametasona.



Fonte: dados da pesquisa.

Por meio da análise de variância (ANOVA) testou-se a significância estatística da curva ajustada e a linearidade do método. Os parâmetros obtidos no tratamento estatístico dos resultados são mostrados na Tabela 2. A validade da regressão (linearidade) foi analisada por meio da comparação dos valores de F tabelado e calculado. O valor de F calculado (11614,582989) muito maior que o F tabelado (1,856697) confirmando que o método é linear, a um nível de confiança de 95%.

Tabela 2 – Teste de análise de variância (ANOVA).

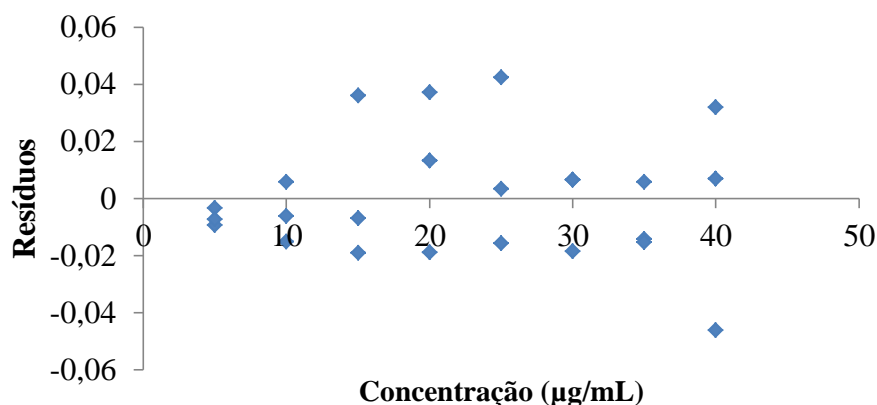
	GL	SQ	MQ	F	F de significância
Regressão	1	5,389663	5,389663	11614,582989	1,856697
Resíduo	22	0,010208	0,000464		
Total	23	5,399872	5,399872		

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: SQ = Soma Quadrática. GL = Graus de Liberdade. MQ = Média Quadrática.

A Figura 10 apresenta o gráfico do comportamento dos resíduos (diferença entre os valores experimentais e os preditos pela equação do modelo da análise de variância) a respeito das distribuições quanto à normalidade e à aleatoriedade. Logo, pode-se afirmar que o modelo é adequado e os resíduos atendem aos pressupostos de variância constante (homoscedasticidade), pois os pontos estão dispostos aleatoriamente sem nenhum padrão definido, os dados encontram-se mais homoganeamente e menos dispersos (concentrados) em torno da reta de regressão do modelo (PCZIECZEK et al., 2019).

Figura 10 – Gráfico de análise de resíduos.



Fonte: dados da pesquisa.

A partir da curva analítica foram calculados os parâmetros de sensibilidade do método, sendo eles, o LD de 0,773 µg/mL e o LQ de 2,342 µg/mL. Analisando-se o valor do LQ, observou um valor menor que a concentração mínima estabelecida no intervalo de quantificação (5 µg/mL), assim o método proposto apresenta excelente sensibilidade, visto que durante a dissolução/liberação do fármaco se espera quantificar desde valores muito baixos de concentração até valores mais elevados. Desta forma, assegura-se que o método proposto é capaz de detectar e quantificar uma ampla faixa de concentrações com segurança.

5.5.1.3 Precisão

A precisão do método avalia a proximidade dos resultados obtidos em uma amostragem múltipla referente a uma mesma amostra (CIRÍACO et al., 2020). Analisou-se através dos níveis de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi analisada em sextuplicata com as condições de mesmo analista e mesma instrumentação, enquanto que a precisão intermediária se utilizou de sextuplicada com um analista diferente, ambas realizadas intradia e interdía. Os resultados são apresentados na Tabela 3, contempla-se que os valores de coeficiente de variação (CV) foram inferiores a 5%, encontrando-se dentro o limite estabelecido, conforme recomendação da Anvisa (BRASIL, 2017).

Tabela 3 - Valores analíticos da precisão do método espectrofotométrico validado (n=6).

Analistas	Dia	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Média das absorbâncias	DP	CV (%)
Analista 1	1	25,0	1,002	0,0102	1,01
	2	25,0	1,009	0,0158	1,57
Analista 2	1	25,0	1,007	0,0074	0,73
	2	25,0	1,008	0,0100	0,99

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

5.5.1.4 Exatidão

Segundo Alves (2017) a exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão do método foi averiguada através da análise de três concentrações distintas: baixa (5 $\mu\text{g/mL}$), média (25 $\mu\text{g/mL}$) e alta (40 $\mu\text{g/mL}$). Os valores obtidos estão expressos na Tabela 4. Demonstrou-se proximidade entre os valores de concentração obtidos pelo método e os seus valores teóricos, apresentando valores de exatidão entre 97 e 102%.

Tabela 4 – Valores analíticos da exatidão do método espectrofotométrico validado (n=3).

Nível	Média das Absorbâncias	DP	CV (%)	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Exatidão (%)
Baixo	0,2143	0,0047	2,44	5,0	4,87	97,40
Médio	1,0697	0,0294	2,74	25,0	25,53	102,12
Alto	1,6370	0,0211	1,29	40,0	39,24	98,10

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

5.5.1.5 Robustez

A robustez é a capacidade do método proposto em resistir a pequenas variações dos parâmetros analíticos. Segundo Silva et al., (2014) considera-se um método robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberado em seus parâmetros. A solução utilizada durante a validação do método foi o PBS/etanol (50:50 v/v) ao qual apresenta pH de 8,5. Na robustez realizou-se modificações nestas variáveis. A primeira modificação foi a mudança do pH da solução para o pH de 7,0 e 5,0. A outra alteração foi na composição da solução, substituindo o etanol pelo o metanol.

Os resultados experimentais são apresentados na Tabela 5. Constatou-se possuir robustez devido os valores de CV não ultrapassarem o valor de 5% e a exatidão manteve-se no intervalo de confiança entre 97 e 101%, assim encontrando-se dentro das especificações exigidas pela legislação.

Tabela 5 – Valores analíticos da robustez do método espectrofotométrico validado (n=3).

Modificação	Médias das absorbâncias ± DP	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Precisão CV (%)	Exatidão (%)	
pH da solução	PBS/Etanol (50:50) pH 5,0	1,063 ± 0,015	25,0	25,37	1,37	101,48
	PBS/Etanol (50:50) pH 7,0	1,017 ± 0,017	25,0	24,26	1,70	97,04
Composição	PBS/Metanol (50:50)	1,053 ± 0,017	25,0	25,13	1,59	100,52

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

5.5.2 Doseamento e eficiência de encapsulação da dexametaxona nas microemulsões

5.5.2.1 Doseamento da dexametasona no sistema microemulsionado

A quantificação de um fármaco em uma formulação e na sua forma isolada representa um aspecto fundamental da garantia da qualidade de medicamentos (BORBA et al., 2013). O doseamento da DEXA foi realizado através na metodologia analítica desenvolvida e validada em espectrofotometria no UV-Vis.

A DEXA carregada aos sistemas foi quantificada através da diluição das MEs em PBS/etanol (50:50 v/v) a fim de obter a concentração de 25 µg/mL. Destas soluções preparadas realizou-se leituras em triplicata no espectrofotômetro UV-Vis em λ de 242 nm. Obteve-se as médias de absorbâncias, que foram utilizadas na equação da reta de regressão ($Y = 0,04136 x + 0,01251$), para alcançar o valor real da concentração da DEXA nos sistemas microemulsionados (Tabela 6).

Tabela 6 - Doseamento da dexametasona nos sistemas microemulsionados.

Formulação	Absorbância média	DP	CV (%)	Concentração da DEXA (µg/mL)
ME-1 DEXA 0,08%	1,021	0,010	0,95	24,4
ME-1 DEXA 0,1%	1,082	0,010	0,89	25,8
ME-2 DEXA 0,08%	1,037	0,018	1,70	24,7
ME-2 DEXA 0,1%	1,019	0,016	1,57	24,3
ME-3 DEXA 0,08%	1,094	0,032	2,93	26,1
ME-3 DEXA 0,1%	1,046	0,034	1,09	24,9

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

Através dos cálculos na foi evidenciado que as concentrações do fármaco foram próximas da concentração real da DEXA incorporadas nas MEs. Portanto, o doseamento por espectrofotometria UV/Vis é considerada como sensível e eficaz para determinar a concentração real do fármaco incorporado (LEITE, 2017).

5.5.2.2 Eficiência de encapsulação

Um dos parâmetros essenciais na otimização de nanocarreadores de fármacos é a EE. Altas EE garantem a eficácia terapêutica dos agentes carregados em concentrações mais

baixas do que a necessária no caso de IFA livres administrados, reduzindo assim a existência potencial de efeitos colaterais tóxicos (RAHDAR et al., 2019).

Segundo Shah et al. (2016) a EE refere-se à quantidade, expressa em porcentagem, de fármaco encapsulado em nanogotículas e essa determinação especifica a quantidade da substancia ativa está efetivamente associada as gotículas e o quanto permanece livre na fase dispersante.

Para determinação da EE utilizou-se da metodologia baseada em comparação dos valores de absorvância das ME-DEXA, antes e após o processo de centrifugação, pois as partículas do fármaco que não estiverem encapsuladas dentro das gotículas da ME, irão se sedimentar e formar um precipitado (LEITE, 2017).

As MEs passaram pelo processo de centrifugação a 24510 g por 30 min, procedendo-se o doseamento diluindo alíquotas do sobrenadante em PBS/etanol (50:50 v/v) com o intuito de atingir a concentração de 25 µg/mL. Em seguida, realizou-se leituras em triplicata no espectrofotômetro UV-Vis em λ de 242 nm. Os resultados (Tabela 7) de EE foram obtidos com base na (Equação 7), que compara a média das absorvâncias pós-centrifugação do sobrenadante, com a absorvância média da formulação obtida no doseamento.

Tabela 7 – Eficiência de encapsulação da dexametasona nos sistemas microemulsionados.

Formulação	Absorvância média	DP	CV (%)	EE (%)
ME-1 DEXA 0,08%	0,986	0,008	0,81	96,6
ME-1 DEXA 0,1%	0,956	0,012	1,27	88,3
ME-2 DEXA 0,08%	1,029	0,007	0,70	99,2
ME-2 DEXA 0,1%	1,014	0,026	2,58	99,5
ME-3 DEXA 0,08%	1,083	0,035	3,19	99,0
ME-3 DEXA 0,1%	1,039	0,010	1,00	99,3

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; EE = eficiência de encapsulação.

Através dos dados obtidos foi possível evidenciar uma alta EE para os sistemas, principalmente para a ME-2 e ME-3 que em ambas concentrações de fármaco obtiveram 99% de EE, valores semelhantes foram encontrados por Gadhve et al. (2019) em sua ME intranasal de teriflunomida para o tratamento de glioblastoma. Para ME-1 alcançou-se EE de 96,6 e 88,3%, para as concentrações de 0,08 e 0,1%, respectivamente.

Segundo Leite (2017) e Li et al. (2019) inúmeros fatores podem influenciar na EE de fármacos em sistemas nanoestruturados, destacando-se as características físico-químicas do

ativo, características do lipídio, pH do meio, e a quantidade de fármaco utilizada. Assim os resultados encontrados, com altos valores de EE para as MEs podem estar relacionados a natureza lipofílica da DEXA e sua afinidade pela fase oleosa.

5.5.2.3 Quantidade máxima de dexametasona incorporada nos sistemas

Com a finalidade de encontrar a quantidade máxima de fármaco, foram realizadas a produção dos sistemas na concentração de 0,5% de DEXA. Estas formulações foram submetidas a centrifugação a 24510 g por 30 min. Ao mesmo tempo foi preparada a solução de DEXA em PBS/etanol (50:50) na concentração de 500 µg/mL. Tanto o sobrenadante das formulações como a solução de DEXA foram diluídas em PBS/etanol (50:50) até a concentração de 25 µg/mL e ambas lidas as absorvâncias em triplicata no espectrofotômetro UV-Vis em λ de 242 nm.

Os resultados (Tabela 8) foram obtidos com base na (Equação 7), através da comparação das absorvâncias médias de soluções preparadas com o sobrenadante das formulações, com a absorvância média da solução de DEXA. Os sistemas com concentração de DEXA à 0,5% demonstraram EE de 12,58; 58,68 e 71,17% para as ME-1, ME-2 e ME-3, respectivamente. E uma incorporação máxima de 0,06% para ME-1; 0,29% para a ME-2 e 0,36% para a ME-3. Estes dados corroboraram com os da EE dos sistemas na concentração de 0,08 e 0,1% de DEXA, pois para a ME-1 só é possível incorporar 0,06% de DEXA, e quando encapsulado a concentração de 0,1 % atingiu uma EE de 88,3%. Segundo Gadhave et al. (2019) uma maior quantidade de fase oleosa fornece o máximo encapsulamento do fármaco, fato visto nos sistemas, pois as ME-2 e ME-3 apresentam quantidade de fase oleosa maior, em relação a ME-1.

Tabela 8 – Quantidade máxima de dexametasona incorporada aos sistemas.

Formulação	Absorvância média	DP	CV (%)	EE (%)	Máxima incorporação (%)
Solução de DEXA	1,0782	0,22	2,08	-	-
ME-1 DEXA 0,5%	0,1357	0,003	1,96	12,58	0,06
ME-2 DEXA 0,5%	0,6327	0,038	3,07	58,68	0,29
ME-3 DEXA 0,5%	0,7674	0,011	1,46	71,17	0,36

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; EE = eficiência de encapsulação.

5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DO SISTEMA MICROEMULSIONADO

5.6.1 Determinação do pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio da gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta

Valores de pH de formulações afetam na estabilidade, atividade do produto, segurança do conforto, eficácia conservante e biodisponibilidade do fármaco (RASHID et al., 2019). Os valores de pH das MEs brancas e com incorporação de DEXA estão evidenciados na Tabela 9. Pode-se observar que variaram entre (5,57 e 6,26), e com a adição do fármaco aos sistemas não ocorreu mudança no pH. Lamaisakul et al. (2019) realizaram o desenvolvimento de MEs como um adjuvante alternativo para vacinas parentéricas contra influenza, e relataram que pH entre 5,0 e 9,0 é aceitável como pH fisiológico, implicando em nenhum dano celular ou flebite quando administrado por via parenteral.

De acordo com Poh, Ng e Ho (2019) alterações no pH é um aspecto importante que pode afetar o potencial zeta do sistema, implicando na estabilidade da preparação. Este fato ocorre devido a adição de excipientes ácidos que levam ao acúmulo de carga positiva conduzindo para modificação do potencial zeta do sistema. Nas formulações avaliadas não se evidenciou diferença de significância entre os pH dos sistemas, demonstrando que o impacto do pH no potencial zeta é considerado mínimo, uma vez que utilizou excipientes semelhantes em todas as formulações.

As regiões de transição de fases em MEs são sensíveis a alterações de condutividade elétrica, essas mudanças relacionam-se aos mecanismos de transporte elétrico de materiais usados para produzir MEs, uma vez que um aumento na concentração de fases condutivas resulta em um aumento gradual na condutividade (CIRÍACO et al., 2020).

Tabela 9 – Caracterização físico-química e morfológica dos sistemas, contemplando as análises de pH, condutividade elétrica, índice de refração, tamanho médio de gotícula, índice de polidispersão e potencial zeta.

Formulações	pH	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Índice de refração	Tamanho médio de gotícula (nm)	Índice de polidispersão	Potencial zeta (mV)
ME-1	6,14 \pm 0,10	135,30 \pm 1,66	1,350 \pm 0,0003	24,35 \pm 0,30	0,239 \pm 0,010	-6,60 \pm 0,91
ME-1 DEXA 0,08%	6,18 \pm 0,03	137,47 \pm 1,05	1,350 \pm 0,0006	26,22 \pm 1,07	0,237 \pm 0,007	-4,41 \pm 0,59
ME-1 DEXA 0,1%	5,97 \pm 0,03	134,37 \pm 1,36	1,350 \pm 0,0006	32,19 \pm 3,83	0,314 \pm 0,017	-6,57 \pm 0,38
ME-2	6,21 \pm 0,06	196,73 \pm 1,14	1,361 \pm 0,0003	23,06 \pm 0,38	0,219 \pm 0,006	-4,01 \pm 0,27
ME-2 DEXA 0,08%	6,06 \pm 0,07	196,17 \pm 1,17	1,361 \pm 0,0003	22,25 \pm 0,76	0,206 \pm 0,007	-3,34 \pm 0,81
ME-2 DEXA 0,1%	6,08 \pm 0,06	196,27 \pm 1,12	1,361 \pm 0,0005	24,24 \pm 0,60	0,239 \pm 0,012	-4,54 \pm 0,37
ME-3	6,26 \pm 0,03	204,10 \pm 1,45	1,367 \pm 0,0003	37,03 \pm 1,11	0,289 \pm 0,005	-2,15 \pm 0,84
ME-3 DEXA 0,08%	6,22 \pm 0,14	201,77 \pm 1,70	1,368 \pm 0,0003	33,66 \pm 0,20	0,295 \pm 0,014	-1,72 \pm 1,02
ME-3 DEXA 0,1%	6,22 \pm 0,10	203,27 \pm 1,10	1,367 \pm 0,0003	32,52 \pm 0,95	0,285 \pm 0,005	-2,72 \pm 0,62

Fonte: dados da pesquisa.

As medidas de condutividade são utilizadas para determinar o tipo de ME (RASHID et al., 2019). As MEs contínuas em água (O/A) tem condutividade relativamente alta quando comparado com o sistema contínuo em óleo (A/O), fato explicado pela a água ser um bom condutor de íons, assim, quanto maior o teor de água, maior o valor de condutividade (CALLENDER et al., 2017; XU et al., 2016). Segundo Guo et al. (2019) para ME não iônica com menor teor de água, a condutividade é semelhante ao da fase oleosa, enquanto que, com maior teor de água, a condutividade passa a ser equivalente ao da água pura.

Os valores de condutividade elétrica (Tabela 9) expressão altos valores de condutividade para ME-1 (135,30 \pm 1,66 $\mu\text{S}/\text{cm}$), ME-2 (196,17 \pm 1,17 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e ME-3 (204,10 \pm 1,45 $\mu\text{S}/\text{cm}$) sugerindo serem MEs do tipo O/A. O uso do tensoativo Kolliphor[®] HS 15 favorece a formação de ME O/A devido ao alto EHL. Assim, a DEXA, um fármaco lipofílico, seria dispersa na fase oleosa na forma de gotículas coloidais.

O índice de refração (IR) é um parâmetro importante na avaliação da estabilidade de sistemas microemulsionados. Este parâmetro permite a detecção de processos de inversão de fase, monitorando mudanças no desvio do plano de luz incidente de MEs (CIRÍACO et al., 2020). Ele indicará a natureza isotrópica da formulação e se há interação química entre fármacos e excipientes (SINDHU et al., 2018b). O IR das MEs foram medidos e os resultados obtidos estão descritos na (Tabela 9), em ambas as formulações o IR se encontrou próximo ao IR da fase aquosa. O aumento da quantidade da fase aquosa nas formulações influencia o IR, que diminui para valores mais próximos do IR da água (1,334) e se distanciando do IR do TACC (1,45). E não houve alteração no IR dos sistemas após o carregamento com a DEXA, desta forma, caracterizados como formulações claras e transparentes.

O tamanho médio das gotículas (TMG) foi analisado pela técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), também conhecida como espectroscopia de correlação de fótons, na qual, utiliza-se da determinação do raio hidrodinâmico que é extraído das medições das constantes de difusão da fase dispersas (gotículas) em movimento browniano. A determinação TMG é indispensável para caracterização adequada de MEs, pois tamanho de gotícula na faixa de 10 a 200 nm é um critério para distinguir MEs de emulsões (ACHARYA; HARTLEY, 2012; POH; NG; HO, 2019).

As amostras analisadas foram caracterizadas como ME, todos os valores estão relatados na Tabela 9. Estes variaram entre $22,25 \pm 0,76$ e $37,03 \pm 1,11$ nm, e este tamanho pode ser explicado pelo método de preparação dos sistemas, utilizando-se de um sonicador. Na preparação dos sistemas utilizou-se um sonicador, equipamento com fonte de alta energia que emprega ondas ultrassônicas (forças de cavitação e turbulência) por meio de sonda necessária para reduzir as gotículas de tamanho micron da emulsão em gotículas minúsculas (HARWANSH; DESHMUKH; RAHMAN, 2019).

Quando ondas de ultrassom são transferidas para o meio líquido ocorre mudanças muito rápidas de força e pressão em que o líquido é rompido, através do fenômeno de cavitação, compreendendo a formação, crescimento e colapso implosivo de cavidades e microbolhas no meio líquido. As bolhas de cavitação são nucleadas e crescem durante os semi-ciclos de expansão de baixa pressão das ondas ultrassônicas. Durante os semi-ciclos de alta pressão as bolhas são fortemente espremidas e catastróficamente colapsadas gerando microjatos ultrassônicos que possuem a capacidade de produzir pontos quentes locais, seguidos de fluxo e fluxo micro-turbulentos locais, causando a quebra e dispersão de gotículas

na fase contínua resultando na homogeneização de líquidos ou emulsões multifásicas (CARPENTER; SAHARAN, 2017; MODARRES-GHEISARI et al., 2019).

O método do ultrassom é considerado uma técnica eficiente para a preparação de ME, por possuir melhor controle sobre as características das emulsões. Os seus benefícios incluem consumo menor de energia, utilização de menor quantidade de tensoativos (emulsionante) e produção ME mais homogênea em comparação com os métodos mecânicos (CARPENTER; SAHARAN, 2017; HAMIDI et al., 2015; LEITE, 2017).

Para ME-1 encontrou-se TMG de $24,35 \pm 0,30$ nm, com a adição da DEXA ocorreu um aumento TMG para valores de $26,22 \pm 1,07$ nm e $32,19 \pm 3,83$ nm, para ME-1 DEXA 0,08% e ME-1 DEXA 0,1%, respectivamente. Já a ME-2 apresentou TMG de $23,06 \pm 0,38$ nm, não havendo variação significativa no TMG com a adição do fármaco, com TMG de $22,25 \pm 0,76$ nm para a ME-2 DEXA 0,08% e $24,24 \pm 0,60$ nm para a ME-2 DEXA 0,1%. Valores semelhantes as ME-1 e ME-2 de TMG foram encontrados por Gadhve et al. (2019) em sua ME intranasal de teriflunomida para o tratamento de glioblastoma, observou-se TMG de $22,81 \pm 0,48$ e $26,58 \pm 0,75$ nm.

Por fim, a ME-3 com TMG de $37,03 \pm 1,11$ nm, e segundo Chatterjee et al. (2019), o TMG de ME aumenta com o aumento da fase oleosa na formulação. E ao ser incorporado a DEXA correu uma diminuição no TMG, $33,66 \pm 0,20$ nm e $32,52 \pm 0,95$ nm, para ME-3 DEXA 0,08% e ME-3 DEXA 0,1%, respectivamente. Este efeito de tamanho está relacionado com os efeitos quânticos, inerente a interação dos átomos de superfície da DEXA com a fase oleosa da ME (HUPFFER; LAZZARETTI, 2019; NASCIMENTO NETO, 2015).

O índice de polidispersão (IPD) indica homogeneidade e distribuição do tamanho das gotículas no sistema microemulsionado. Quanto maior o valor de IPD, menor a uniformidade do tamanho das gotículas na formulação (KAUR; AJITHA, 2019). Segundo Sindhu et al., (2018) quando o valor de IPD é mais próximo de zero sugere uma homogeneidade da formulação, e se este valor estiver acima de 0,5 indica uma distribuição muito ampla no tamanho das gotículas. Nas formulações analisadas, os resultados de IPD variaram entre $0,206 \pm 0,007$ e $0,314 \pm 0,017$ (Tabela 9). Valores de IPD menores que 0,3 sugerem uma distribuição homogênea do tamanho das gotículas. Ressaltando também, que não houve alteração significativa nos resultados com a adição da DEXA aos sistemas.

O potencial zeta (PZ) é o potencial no plano de cisalhamento ou escorregamento de uma gota em movimento sob influência de um campo elétrico. É medido com a formação de uma dupla camada elétrica (DCE) que se desenvolve na superfície das gotículas de óleo

dispersas. Existe um plano hipotético denominado plano de deslizamento/cisalhamento dentro da camada difusa ou DCE que se comporta como uma interface entre a gota e a camada circundante durante a eletroforese, e o potencial nessa interface gotícula-líquido é medido como valor de PZ, sendo ele proporcional à velocidade com que as gotículas se movem na ativação do campo elétrico, e a direção do movimento das gotículas indica o tipo de carga (positiva ou negativa) (PAL et al., 2019a). O PZ influencia na energia de interação entre as gotículas, que é responsável pela estabilidade, pelo sistema de liberação do fármaco e o comportamento de fluxo (UJHELYI et al., 2018).

Para os sistemas estudados, experimentalmente constatou valores negativos de PZ para as ME-1 e ME-2 variando de $-3,34 \pm 0,81$ e $-6,60 \pm 0,91$, enquanto que para ME-3 observou PZ negativos próximos de zero (neutras) com valores entre $-1,72 \pm 1,02$ e $-2,72 \pm 0,62$ (Tabela 9), sugerindo que a ausência de carga na superfície da gotícula do óleo é devido à natureza não iônica do Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60, por isso a agregação das gotículas não ocorre devido a uma carga ligeiramente negativa, indicando estabilidade dos sistemas (SHARMA et al., 2019; ZHAO et al., 2020).

É importante salientar que a carga superficial observada pelo PZ influencia na captação celular, processo que envolve ligação a membrana celular e internalização. É comumente reconhecido que ME com carga positiva são mais internalizadas pelas células do que as ME com carga negativa ou neutra, devido ao fato que as interações eletrostáticas são favorecidas com a membrana celular que possui carga negativa. Esta teoria considera apenas a carga, ou seja, o potencial de superfície, porém muitos parâmetros estão envolvidos, um deles é a proteína corona (FOREST; COTTIER; POURCHEZ, 2015; FOREST; POURCHEZ, 2017).

Quando ME são introduzidas no meio biológico são cercadas por uma variedade de biomoléculas (imunoglobulina, albumina, complementos e apolipoproteínas) que adsorvem a superfície do nanomaterial formando a chamada proteína corona, ela modifica as características físico químicas da ME e gera uma nova identidade biológica que adiciona complexidade as respostas biológicas. A proteína corona regula a nanotoxicologia, o reconhecimento de macrófagos, opsonização, interação da ME com a célula alvo nos processos de captação celular, cinética, sinalização, acumulação, transporte e toxicidade, assim, emergindo como cofator importante para a entrega direcionada de fármacos (FOROOZANDEH; AZIZ, 2015; NEAGU et al., 2017; PALCHETTI et al., 2017).

A formação da proteína corona depende das propriedades físico-químicas do nanomaterial (carga superficial, hidrofobicidade, tamanho, forma, composição, grupos funcionais da superfície), da natureza do ambiente fisiológico (sangue, fluido intersticial, citoplasma, organela) e sobre a duração da exposição (CARACCILO, 2015; NGUYEN; LEE, 2017).

Em relação a carga superficial, nanoestruturas com carga positiva são capazes de adsorver uma grande quantidade de proteínas, enquanto que nanoestruturas com carga negativa exibem uma capacidade menor de ligação as proteínas e as nanoestruturas neutras adsorvem poucas proteínas (positiva > negativa > neutra). Além da carga afetar a composição da proteína corona formada, pois superfícies mais altamente carregadas aumentam as alterações conformacionais da proteína. E partículas carregadas tem maior internalização celular e taxas de opsonização mais rápidas do que partículas neutras (FOREST; POURCHEZ, 2017; NGUYEN; LEE, 2017). Segundo Kharazian, Hadipour e Ejtehadi (2016) as proteínas podem desnaturar na presença de ligantes carregados, positivo ou negativo, enquanto os ligantes neutros mantêm a estrutura das proteínas. As MEs em estudo devido a carga negativa, e em especial a ME-3 que possui carga próximas de zero, espera-se que ao entrar em contato com os fluidos biológicos ocorra uma baixa adsorção a proteínas.

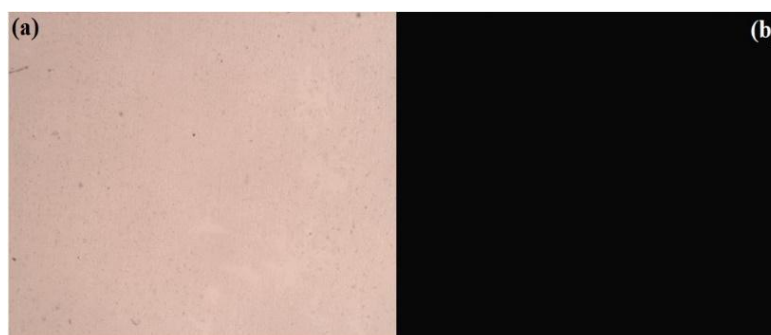
A presença da proteína corona pode alterar significativamente as propriedades da superfície da nanoestrutura, mascarando os efeitos esperados das moléculas especialmente seu potencial elétrico de superfície, as vezes mascarando os efeitos esperados das moléculas enxertadas propositadamente. A nova interface da ME resultante pode desempenhar um papel importante em suas interações com a superfície celular, pois é o que as células “veem” e podem afetar profundamente as respostas biológicas, a biodistribuição da ME (FOREST; COTTIER; POURCHEZ, 2015; FOREST; POURCHEZ, 2017).

5.6.2 Microscopia de luz polarizada

A microscopia de luz polarizada decorre da presença de um cruzamento de polarização, originando uma figura de interferência conoscópica, produzida quando os raios de luz divergentes viajam através de um corpo opticamente não isotrópico, no qual o índice de refração varia em diferentes direções (birrefringência) e as bandas escuras (isogiros) correspondem as direções em que existe extinção óptica, ou uma isotropia aparente (HALLER et al., 2018).

Todos os sistemas foram examinados em polarizador cruzado para avaliação da homogeneidade e birrefringência. A análise consistiu em incidir sob a lâmina o polarizador inferior do microscópio (nicóis paralelo) obtendo uma imagem de fundo branco (Figura 11a), pois toda substância transparente deixa a luz passar. Em seguida incidiu o polarizador superior do microscópio (nicóis cruzado) fornecendo um ângulo de 90° em relação ao polarizador inferior, não deixando a luz passar e alcançando uma imagem de fundo escuro (Figura 11b) e mesmo com a movimentação da base móvel do microscópio (isogiros) a imagem permanece com fundo totalmente escuro. Quando o material analisado é isotrópico, ao cruzar os polarizadores obtém imagens de fundo escuro, para anisotropia com o cruzamento dos polarizadores, a luz vibra em duas direções e com os isogiros ocorre a formação de cristais. As observações indicaram que todas as formulações de MEs com e sem DEXA são dispersões coloidais isotrópicas.

Figura 11 – Fotomicrografias sob microscópio óptico de luz polarizada.



Fonte: dados da pesquisa.

5.6.3 Medidas reológicas

A análise reológica de MEs é utilizada na investigação das propriedades estruturais, estabilidade do sistema, manuseio, armazenamento e transporte de MEs por tubulação (GHARBAVI et al., 2019). E de acordo com Ciríaco et al. (2020) a viscosidade de MEs depende das concentrações dos seus componentes, à medida que aumenta o conteúdo de água, diminui a viscosidade, e aumento nas concentrações de tensoativos, ocorre aumento da viscosidade.

A análise reológica foi avaliada através dos testes de fluxo e de oscilações. O comportamento do fluxo (viscosidade) foi analisado sob diferentes taxas de cisalhamento, como pode ser evidenciado na Figura 12. As MEs com e sem fármacos demonstraram

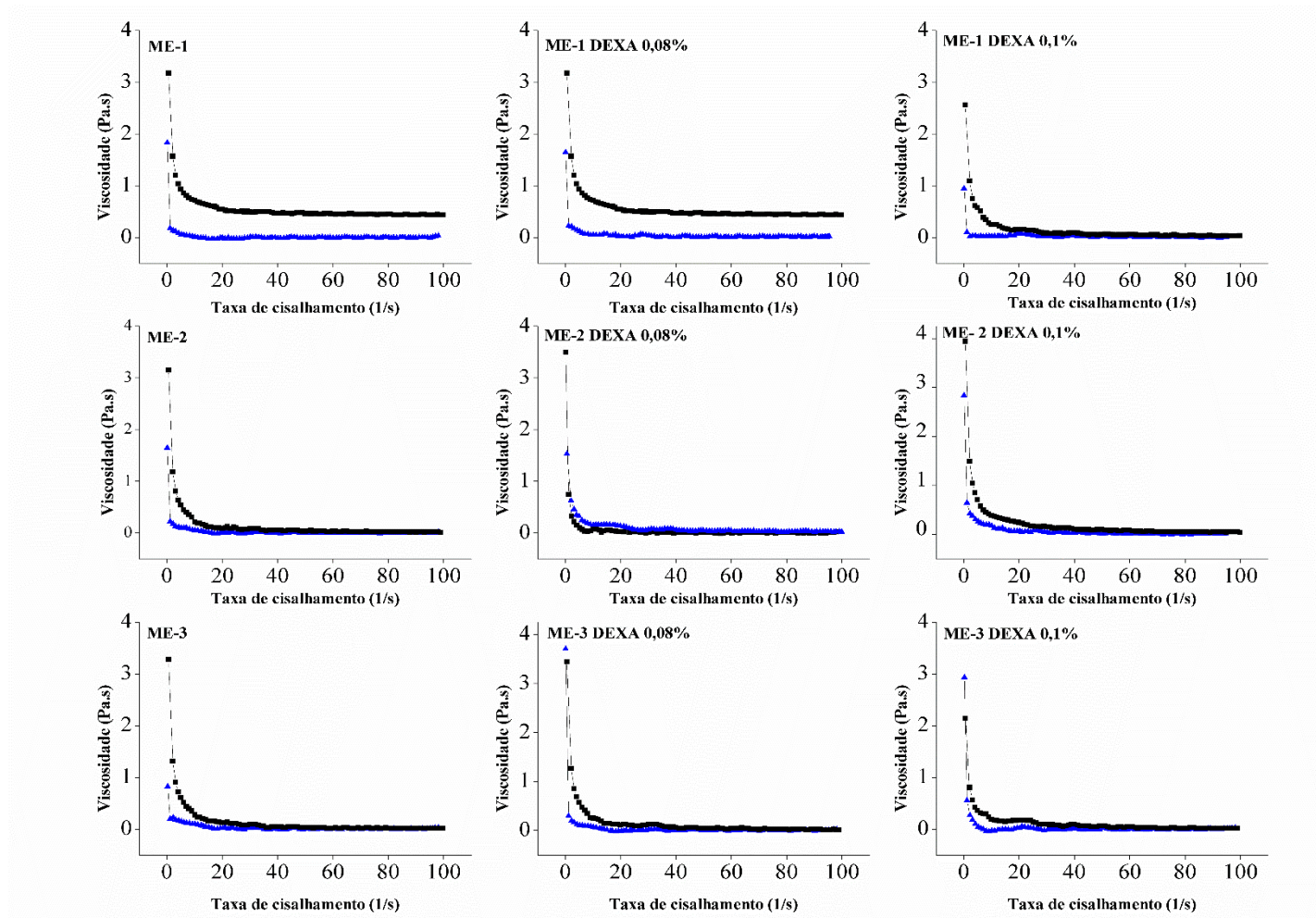
características de fluido não newtoniano do tipo pseudoplástico, com viscosidade indiretamente proporcional à taxa de cisalhamento, característica da propriedade de afinamento por cisalhamento (GHARBAVI et al., 2019; PAL et al., 2019b). Segundo Pal et al. (2019a) as MEs geralmente mostram um comportamento pseudoplástico.

As curvas de fluxo de ambas as MEs passaram pelas coordenadas de origem e são côncavas em direção ao eixo horizontal, e estes resultados indicam o comportamento pseudoplástico que permite restaurar de volta ao seu estado reológico original (HAMED; AL-ADHAMI; ABU-HUWAIJ, 2019; TUNG; VU; NGUYEN, 2019). A diminuição da viscosidade com o aumento das taxas de cisalhamento é atribuída ao efeito mínimo da suspensão coloidal (gotículas) em sistemas de fase de emulsão contínua, o que influencia o alinhamento das gotículas de emulsão ao longo da linha de fluxo e causa o desembaraço de moléculas com o aumento da força de cisalhamento (PAL et al., 2019a)

Nas formulações analisadas foram evidenciados baixos valores de viscosidade, sendo uma propriedade necessária para a injeção através de uma seringa com facilidade. A administração parenteral de MEs muito viscosas costuma ser dolorosa ao paciente, e este parâmetro é influenciado pela composição das MEs, como a concentração e natureza dos óleos e tensoativos, e pelo diâmetro das gotículas (TUNG; VU; NGUYEN, 2019).

Todos os sistemas analisados possuíram comportamento de viscosidade semelhante, por possuírem os mesmos constituintes, a diferença é na porcentagem dos componentes. Com o aumento na porcentagem de tensoativos e diminuição da fase aquosa ocorre um pequeno aumento na viscosidade (Figura 12). As MEs do tipo O/A, geram micelas com maiores quantidades de tensoativos, o que é justificado pelo o pequeno aumento no TMG para a ME-3 ($37,03 \pm 1,11$ nm), quando comparado com a ME-1 ($24,35 \pm 0,30$ nm) e ME-2 ($23,06 \pm 0,38$ nm). Quantidades maiores de tensoativos presentes na micela requerem uma quantidade maior de moléculas de água para hidratá-la. As interações entre a água da superfície do surfactante (água-íon) são mais fortes que as interações água-água (ligação de hidrogênio). Resultando em aproximação mais alta dessas espécies químicas, redução da mobilidade e aumento da viscosidade (WANDERLEY NETO et al., 2019).

Figura 12 – Teste de fluxo



Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: as curvas em azul correspondem a variação de 100 a 0,1 s^{-1} de taxa de cisalhamento e as curvas em preto correspondem a variação de 0,1 a 100 s^{-1} de taxa de cisalhamento.

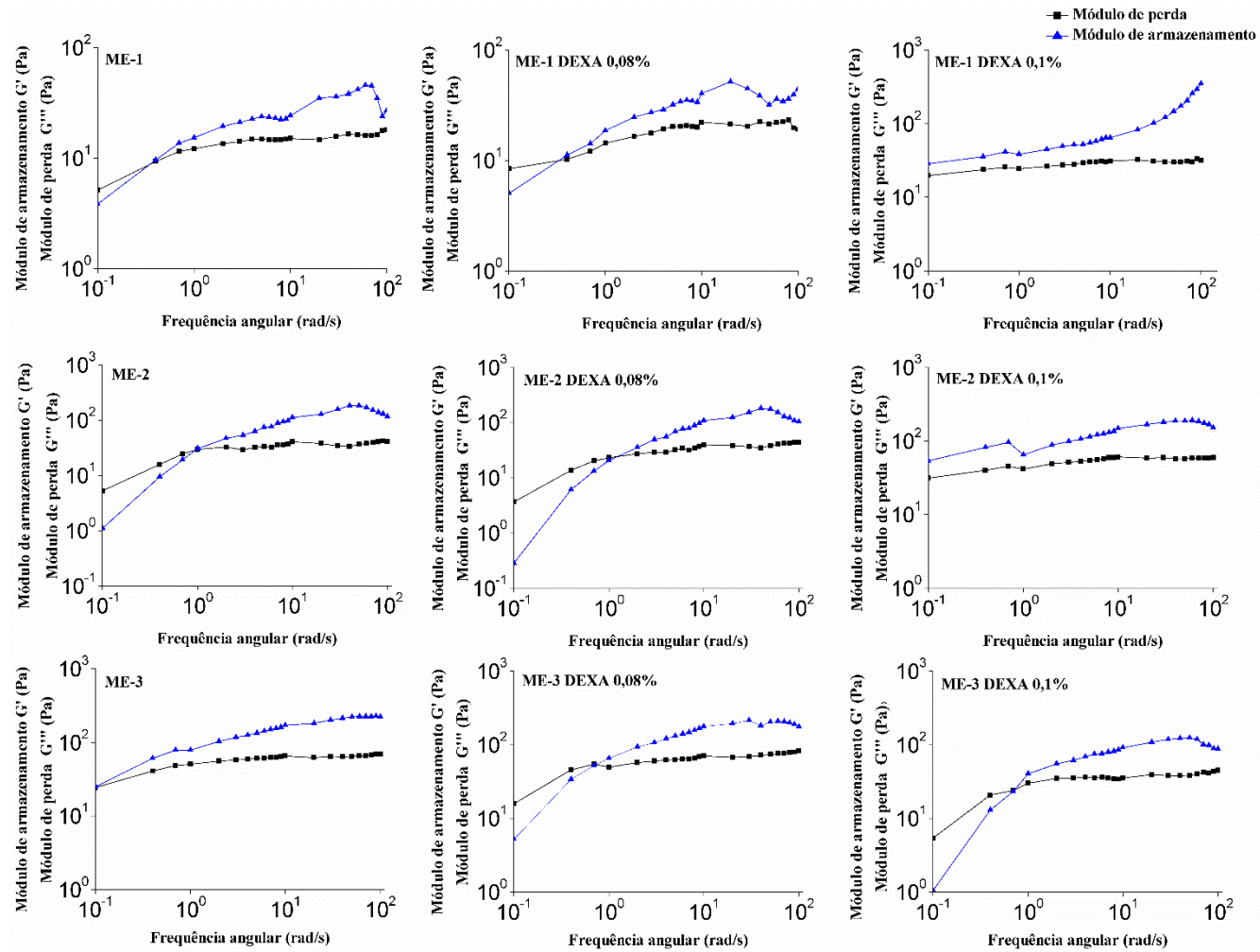
As propriedades viscoelásticas são avaliadas a partir de testes de cisalhamento oscilatório. A análise fornece informações abrangentes sobre as propriedades estruturais das MEs e entendimento racional das propriedades elásticas e viscosas, na qual, a compreensão do comportamento mecânico e a extensão da estrutura interna da ME e suas alterações sob estresse levarão a uma melhor avaliação das propriedades do perfil de liberação e estabilidade do fármaco (FORMARIZ et al., 2010).

O teste de oscilações é caracterizado pela medição dos módulos de armazenamento (G') e perda (G'') em função da mudança do estresse oscilatório. Estes parâmetros monitorados fornecem informações sobre a estrutura e propriedades das amostras, permitindo também a classificação dos sistemas investigados. O módulo de armazenamento está relacionado à resposta elástica, enquanto o módulo de perda fornece informações sobre a parte da energia que é dissipada de maneira típica para fluidos viscosos (FROELICH et al., 2019; KUMAR; SAW; MANDAL, 2019).

O teste de oscilações foi realizado e seus resultados são demonstrados na Figura 13. As MEs sem fármaco e nas concentrações de 0,08% demonstraram que os módulos de perda foram maiores do que os módulos de armazenamento ($G'' > G'$) na faixa de frequências menores que 10 rad/s, apresentando domínio de propriedades viscosas. Quando ocorre o aumento da frequência, o módulo de armazenamento passou a ser maior que o módulo de perda ($G' > G''$), ocorrendo a prevalência das propriedades elásticas (CORTÉS; LORENZO; CALIFANO, 2018; WANG et al., 2016a).

Para a MEs com maiores concentrações de DEXA (0,1%) os módulos de armazenamento foram maiores do que os módulos de perda ($G' > G''$), característico de possuir um comportamento elástico, por haver uma dominação da propriedade elástica sobre a propriedade viscosa (BENIGNI et al., 2018; HAMED; AL-ADHAMI; ABU-HUWAIJ, 2019). Segundo Kumar, Saw e Mandal (2019) quando o módulo de armazenamento é maior que o módulo de perda confirma que a ME possui estrutura em rede e essas microestruturas sugerem estabilidade para regiões de alta frequência.

Figura 13 – Teste de oscilações.



Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: as curvas em azul correspondem ao módulo de armazenamento (G') e as curvas em preto correspondem aos módulos de perda (G'').

5.6.4 Termogravimetria

A termogravimetria (TG) é uma técnica que mede a mudança de peso (massa) de uma substância em função da temperatura ou tempo sob determinadas condições atmosféricas. As curvas obtidas fornecem informações relativas a composição e estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado. Ela determina os níveis de temperatura nos quais ocorre decomposição, desidratação, perda de umidade, variação de massa, entre outros (MOREIRA et al., 2019).

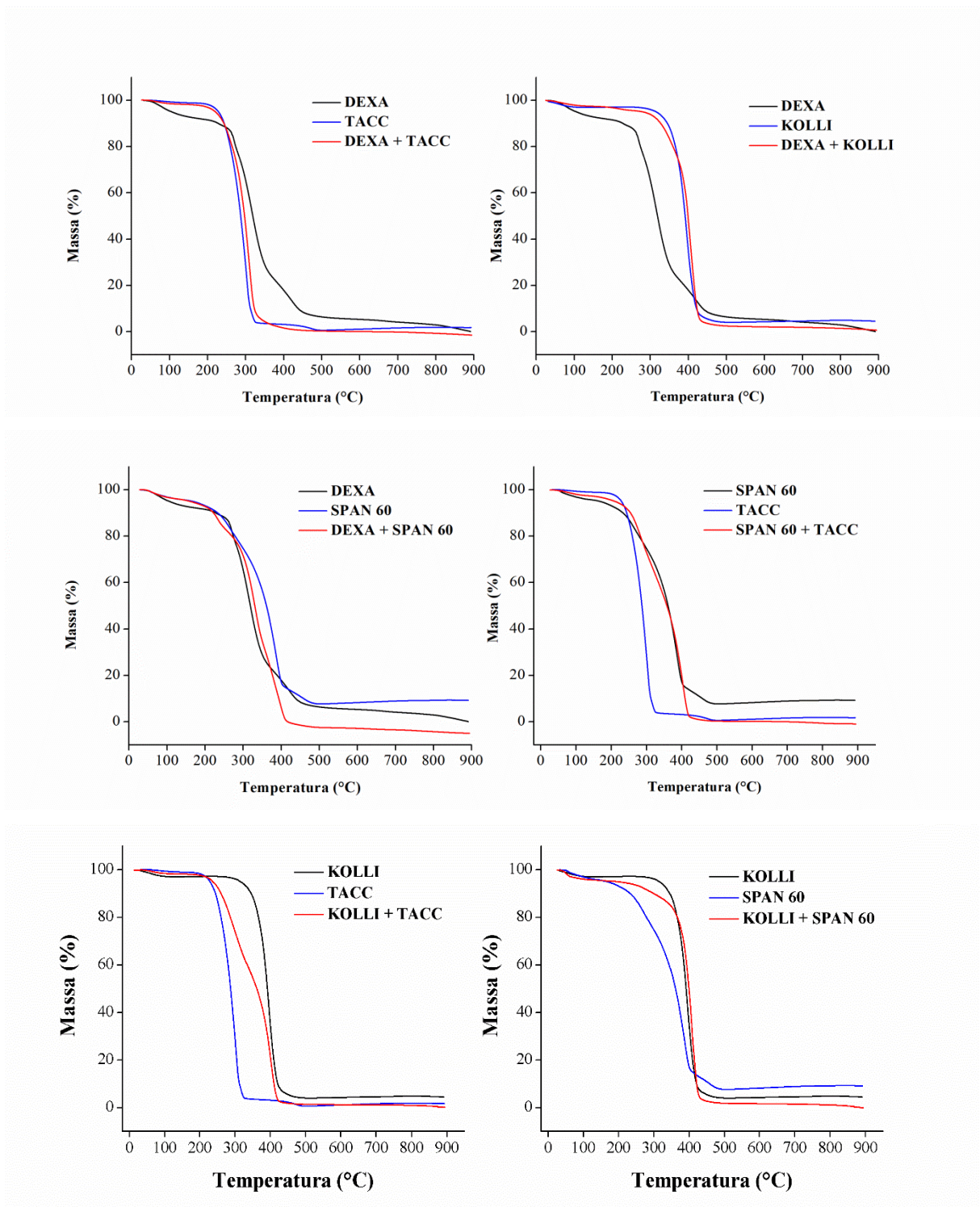
A Figura 14 mostra os gráficos de TG dos componentes separados e as misturas binárias, afim de avaliar as interações que ocorreram entre eles. Para a DEXA foram identificados dois estágios de perda de massa, a primeiro ocorreu entre 42,95 e 169,62 °C ($\Delta m = 8,86\%$), evento relacionado a desidratação, o segundo evento de perda de massa indica que a decomposição térmica ocorre imediatamente após o evento de fusão na faixa de 192,31 a 543,01 °C ($\Delta m = 72,65\%$), resultados semelhantes foram encontrados por Chen et al. (2008) e Islam (2011).

Na análise do TACC, a degradação térmica ocorreu praticamente por completo em um único evento, iniciou em 171,01 °C até 343,81 °C com perda de 95,28% da massa total do TACC (MEDEIROS, 2019). Para a mistura binária da DEXA e TACC, foi observado um evento de perda de massa na faixa de temperatura de 193,7-383 °C com perda de 98% de massa, com redução da estabilidade térmica da DEXA. Este resultado encontrado é semelhante aos valores encontrados na TG do TACC, explicado pela solubilização da DEXA no óleo.

A amostra de Kolliphor[®] HS 15 apresentou uma pequena perda de massa na temperatura de (30,60-100,61 °C, $\Delta m = 2,44\%$), relacionada a perda de umidade da amostra e uma perda maior de massa ocorreu em (270,77-527,89 °C, $\Delta m = 92,93\%$). A mistura binária DEXA e Kolliphor[®] HS 15 apresentaram degradação em 265,2-458,7 °C com 96,85 % de perda de massa, ocorrendo aumento da estabilidade térmica da DEXA, também pela solubilização da DEXA no Kolliphor[®] HS 15 e aparecimento apenas do evento principal de decomposição do tensoativo.

O Span[®] 60 começa a perder massa em (41,06-128,97 °C, $\Delta m = 3,94\%$), relacionado a perda de água, em seguida há ocorrência de três eventos de perda de massa em (144,10-281,17 °C, $\Delta m = 16,22\%$; 281,17-427,69 °C, $\Delta m = 66,37\%$; 427,69-517,49 °C, $\Delta m = 5,44\%$) resultados semelhante foram encontrados por Madni et al. (2018) e Savrik, Balköse, Lku (2011).

Figura 14 - TG dos componentes separados e das misturas binárias.



Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DEXA = Dexametasona; TACC = Triglicerio de ácido caprico caprilico; KOLLI = Kolliphor[®] HS 15.

A mistura binária da DEXA com o Span[®] 60 apresentou 4 eventos de perda de massa, o primeiro em (39,87-117,70 °C; $\Delta m = 3,74\%$) relacionado a desidratação e

consequente perda de água, evento este observado nos componentes isolados, o segundo evento em (213,90-267,40 °C; $\Delta m = 15,66\%$), e os dois eventos finais (267,40-359,30 °C; $\Delta m = 59,82\%$), (359,30-441,60 °C; $\Delta m = 20,78\%$) ligados a decomposição térmica dos dois componentes, com manutenção da estabilidade térmica da DEXA.

Em relação a mistura binária Span[®] 60 com o TACC relatou eventos térmicos em (49,30-136,90 °C; $\Delta m = 2,61\%$) relativo a perda de água proporcionada pelo Span[®] 60, o próximo evento em (136,90-322,40 °C; $\Delta m = 33,00\%$) referente a degradação do Span[®] 60 como também do TACC, que isolado sua primeira degradação começa na temperatura de 171,01 °C e etapa final de decomposição térmica em (322,40-447,33 °C; $\Delta m = 63,47\%$) para ambos os componentes.

Para a mistura binária Kolliphor[®] HS 15 com TACC, foi observado duas etapas de perda de massa, a primeira na faixa de temperatura de (175,50-340,10 °C), relacionada a degradação do TACC com $\Delta m = 57,70\%$ de perda de massa e a segunda na faixa de temperatura de (340,10-447,20 °C; $\Delta m = 40,52\%$) referente a degradação térmica do Kolliphor[®] HS 15.

Por fim, a mistura binária Kolliphor[®] HS 15 com Span[®] 60, o primeiro evento em (25,40- 67,90 °C; $\Delta m = 3,13\%$) proveniente da perda de umidade dos dois componentes, e a segunda perda de massa em (240,30-454,90; $\Delta m = 94,4\%$) relativa a decomposição térmica principal de ambos componentes.

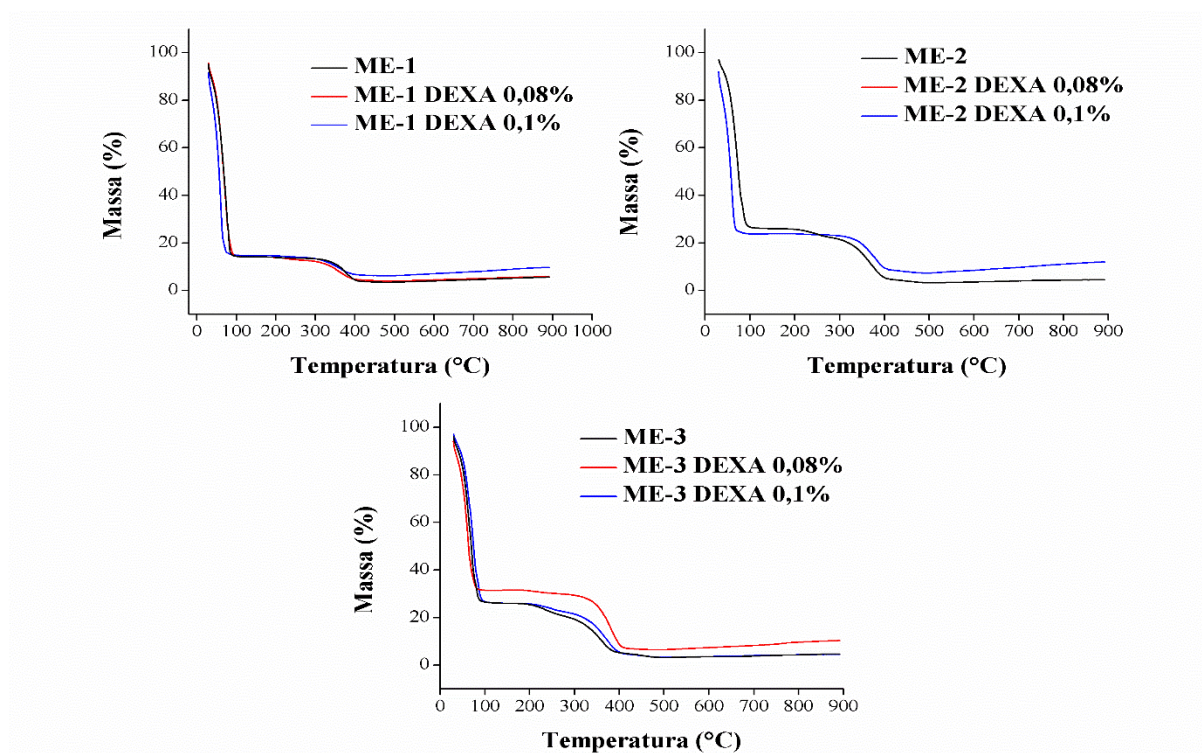
Os TG das formulações de ME estão demonstrados na Figura 15. Para a ME-1 os eventos de perda de massa ocorreram em (30,00-37,28 °C, $\Delta m = 5,79\%$; 37,28-120,47 °C, $\Delta m = 75,18\%$ e 267,93-424,85 °C, $\Delta m = 9,75\%$). Para a ME-2 houve 3 eventos de perda de massa nas temperaturas de (30,66-39,17 °C, $\Delta m = 5,69\%$; 39,17-145,99 °C, $\Delta m = 67,84\%$ e 195,14-464,55 °C, $\Delta m = 19,23\%$). Enquanto que para ME-3 ocorreu quatro eventos de perda de massa em (30,16-38,23 °C, $\Delta m = 4,92\%$; 38,23-125,19 °C, $\Delta m = 65,16\%$; 174,35-277,38 °C, $\Delta m = 5,23\%$ e 277,38-413,51 °C, $\Delta m = 15,67\%$).

As formulações seguiram mesmo perfil de degradação. O primeiro e segundo evento de ambas formulações está relacionado a perda de água, apresentando 75,18; 67,84 e 65,16 % de perda de massa para ME-1, ME-2 e ME-3, respectivamente. Isso é explicado por as formulações se apresentarem na forma líquida e está diretamente relacionado a composição percentual de água nas formulações (88% para ME-1, 80% para ME-2 e 75% para ME-3).

Após estes eventos restou de massa residual 17,03; 26,47 e 29,93 % para ME-1, ME-2 e ME-3, respectivamente. Correspondente a quantidade de tensoativos (ME-1: 10%; ME-2:

17% e ME-3: 20%) e óleo (ME-1: 2%; ME-2: 3% e ME-3: 5%) nos sistemas. Assim a terceira etapa de degradação corresponde a decomposição térmica do TACC e dos tensoativos (Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60). Resultado mais evidente na ME-3 que possui 4 eventos, o primeiro e segundo (30,16-38,23 °C e 38,23-125,19 °C) relacionado a perda de água, o terceiro em (174,35-277,38 °C) referente a degradação do TACC, que quando avaliado sozinho só começa sua decomposição na temperatura de 171,01 °C, e quarto evento associado a degradação dos tensoativos. É importante salientar que mesmo com a adição da DEXA, as formulações seguiram o mesmo perfil de degradação.

Figura 15 – TG das ME com e sem fármaco.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 10 – Resultados de decomposição térmica dos componentes separados e misturas binárias, MEs com e sem dexametasona.

Amostras	Etapas	Faixa de temperatura (°C)	Massa (%)
DEXA	1	42,95-169,62	8,86
	2	192,31-543,01	91,14
KOLLI	1	30,60-100,61	2,44
	2	270,77-527,89	92,93
Span® 60	1	41,06-128,97	3,93
	2	144,10-281,17	16,22
	3	281,17-427,69	66,36
	4	427,69-517,49	5,44
TACC	1	171,01-343,81	95,28
DEXA + TACC	1	193,70-383,00	98,00
DEXA + KOLLI	1	265,20-458,70	96,85
DEXA + SPAN 60	1	39,87-117,70	3,74
	2	213,90-267,40	15,66
	3	267,40-359,30	59,82
	4	359,30-441,60	20,78
SPAN 60 + TACC	1	49,30-136,90	2,61
	2	136,90-322,40	33,00
	3	322,40-447,33	63,47
KOLLI + TACC	1	175,50-340,10	57,70
	2	340,10-447,20	40,52
KOLLI + SPAN 60	1	25,40- 67,90	3,13
	2	240,30-454,90	94,40
ME-1	1	30,00-37,28	5,79
	2	37,28-120,47	75,18
	3	267,93-424,85	9,75
ME-1 DEXA 0,08%	1	30,03-38,23	5,64
	2	38,23-128,03	75,96
	2	195,14-456,99	9,79
ME-1 DEXA 0,1%	1	30,29-38,23	9,97
	2	38,23-114,79	66,98
	3	202,71-497,64	8,27
ME-2	1	30,66-39,17	5,69
	2	39,17-145,99	67,84
	3	195,14-464,55	19,23
ME-2 DEXA 0,08%	1	30,66-38,23	4,562
	2	38,23-136,54	69,78
	3	202,71-468,28	17,64
ME-2 DEXA 0,1%	1	30,00-37,28	9,49
	2	37,28-131,81	58,79
	3	279,27-415,40	14,62
ME-3	1	30,16-38,23	4,92
	2	38,23-125,19	65,16
	4	277,38-413,51	15,67
ME-3 DEXA 0,08%	1	30,00-38,23	7,08
	2	38,23-96,83	55,72
	3	151,66-454,15	24,89
ME-3 DEXA 0,1%	1	30,66-38,23	3,91
	2	38,23-128,97	67,17
	3	185,69-488,18	22,53

Fonte: dados da pesquisa.

5.6.5 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é um método térmico utilizado na indústria farmacêutica para identificação das propriedades físico-químicas de fármacos e matérias-primas. O seu gráfico é plotado através das variáveis de fluxo de calor e temperatura, fornecendo informações de transição de primeira ordem (fusão e cristalização) e transições de segunda ordem (temperatura de transição vítrea) (KUMAR; BHATIA; RAWAL, 2018).

A DEXA é um fármaco que possui estrutura cristalina e apresenta polimorfismo, ou seja, uma propriedade da substância existir em duas ou mais fases cristalinas, exibindo arranjo ou conformações distintas, isso devido ao estabelecimento de diferentes interações intermoleculares, mantendo a mesma composição química. O polimorfismo pode acarretar em mudanças nas propriedades físico-químicas dos fármacos, como ponto de fusão, solubilidade, estabilidade, umidade, compressibilidade, reatividade química e biodisponibilidade (HOLANDA et al., 2019; PANDEY; DALVI, 2019)

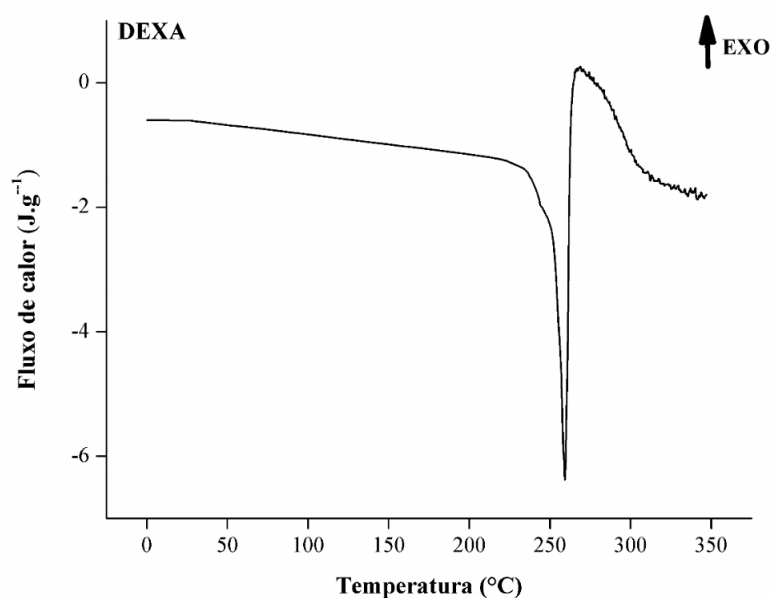
A curva da DEXA está evidenciada na Figura 16, sendo possível observar o aparecimento de pico endotérmico de fusão na temperatura de 259,81 °C. No trabalho conduzido por Wen et al. (2019) a DEXA foi caracterizada por DSC observando ponto de fusão de 259,02 °C, como também Chen et al. (2008) observou ponto de fusão em 259,3 °C. O Merck index (2013) preconiza que os cristais de DEXA possuem ponto de fusão entre 262-264 °C e 268-271 °C.

O pico exotérmico que ocorre após a fusão da DEXA característico da decomposição da amostra, na faixa de temperatura de 282,11-387,04 °C com 65,68% de perda de massa, seguida de 6,97% de perda de massa na faixa de temperatura de 387,04-543,01 °C, obtendo assim perda de 100% de massa. Esses resultados sugerem que as reações de decomposição (identificadas pela exotérmica de fusão no DSC) sejam acompanhadas por alterações de peso e pode, portanto, ser identificado por uma perda de peso no TG (CHEN et al., 2008; ISLAM, 2011).

Segundo Oliveira et al. (2018) a DEXA possui dois tipos de cristais, a forma (A e B). A forma A com pico de fusão a 242 °C e a forma B com pico de fusão a 250 °C. Assim a DEXA analisada sugere possuir estrutura do cristal pertencente a forma B, pois a temperatura encontrada (259,81 °C) está mais próximo a referida pela forma B, a diferença da temperatura pode ser explicada pela diferença da razão de aquecimento utilizada, ao qual, Oliveira et al. (2018) utilizou razão de aquecimento de 5 °C/min e na análise utilizou razão de aquecimento

de 10 °C/min. Posteriormente comprovada pela técnica de DRX que o cristal pertence a forma B.

Figura 16 – DSC da dexametasona



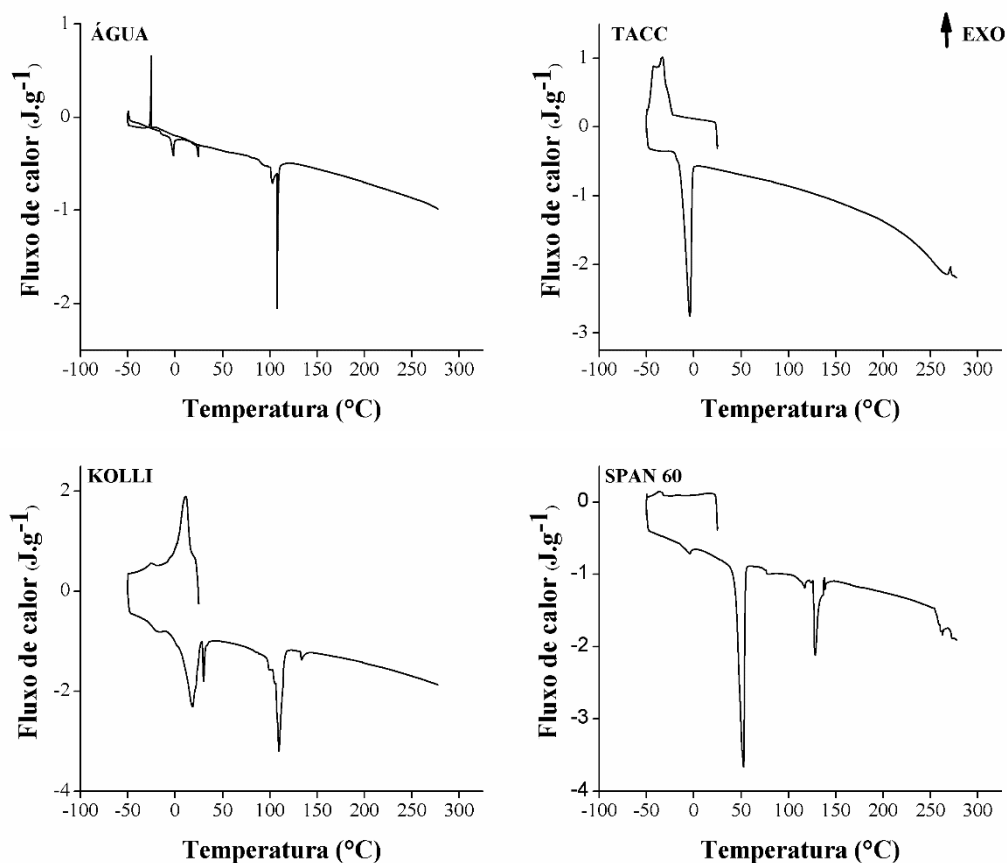
Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 17 é apresentado as curvas de resfriamento e aquecimento de DSC dos componentes da ME. O DSC da água apresenta a existência de pico exotérmico acentuado em (-25,13 °C) correspondendo a cristalização, e três picos endotérmicos em (-1,71 °C), condizendo ao processo de fusão, e em (102,43 e 107,43 °C) referentes a vaporização da água, valores semelhantes foram encontrados por Cavalcanti et al. (2016). O TACC apresentou dois picos, um exotérmico a (-27,91 °C) associado ao cristalização, e pico endotérmico em (-4,16 °C) (CAVALCANTI et al. (2016). Segundo Puglia et al. (2008) quando o TACC é analisado apenas com aquecimento, não apresenta nenhum pico, atribuído a forma polimórfica do TACC.

Para o Kolliphor[®] HS 15 houve a ocorrência de um pico exotérmico (10,86 °C) e três picos endotérmicos, o primeiro em 18,32 °C, o segundo em 30,18 °C relacionado ao pico de fusão e no TG nesta temperatura ocorre o início do primeiro evento de perda de massa (2,44%) e por fim pico endotérmico em 109,62 °C (LIU et al., 2016; YOUNES; ABDEL-HALIM; ELASSASY, 2018). Para o Span[®] 60 é observado um pico endotérmico a 52,36 °C

relacionado a fusão do Span[®] 60 e o calor da fusão é avaliado como 103,5 J/g, além do pico endotérmico em 128,38 °C com ΔH de 23,87 J/g relacionado a evaporação da água livre (SAVRIK; BALKÖSE; LKU, 2011).

Figura 17 – DSC dos componentes da ME.



Fonte: dados da pesquisa.

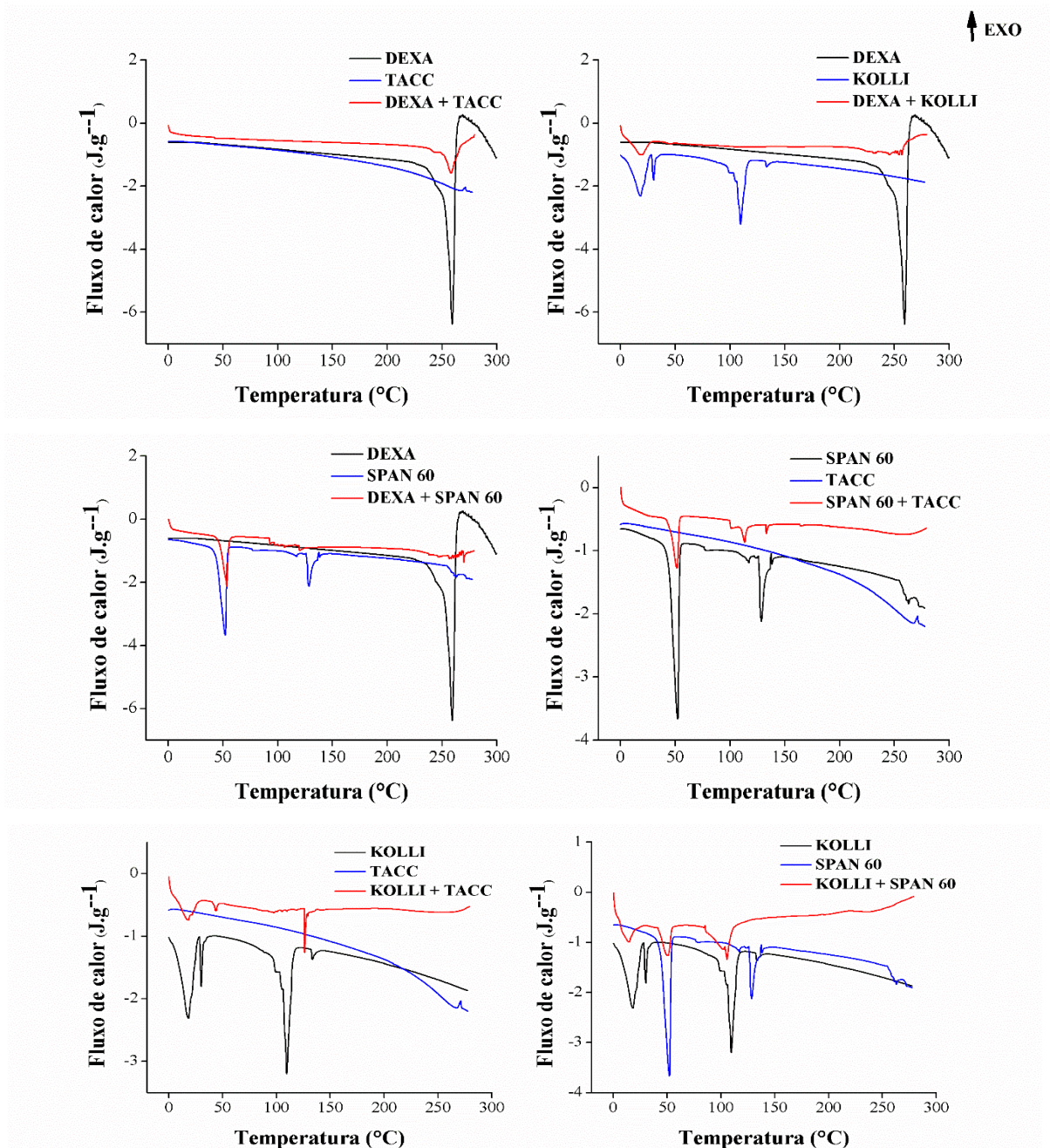
Legenda: DEXA= Dexametasona; TACC= triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico; KOLLI= Kolliphor[®] HS 15.

As análises das misturas binárias mostradas na Figura 18, levou em consideração apenas os picos relacionados as curvas de aquecimento. Para a mistura binária da DEXA e TACC apresentou apenas um pico endotérmico em 257,66 °C referente a fusão da DEXA com diminuição da variação de entalpia para 34,02 J/g, e como esperado no aquecimento não ocorre aparecimento de pico do TACC, assim com a mistura dos componentes não houve incompatibilidade, embora tenha diminuído a entalpia, como é esperado, devido a proporção de 1:1, porém ocorreu a manutenção da forma do pico e a temperatura de fusão.

A mistura binária DEXA e Kolliphor[®] HS 15 é observado primeiro pico endotérmico (17,95 °C) correspondente ao primeiro pico de aquecimento do Kolliphor[®] HS 15. Em

seguida é observada desaparecimento do pico endotérmico de fusão (30,18 °C) e pico endotérmico na temperatura de (109,62 °C) ambos para o Kolliphor[®] HS 15. Ocorreu o aparecimento do pico endotérmico de fusão da DEXA em (256,77 °C) com uma redução da entalpia para 0,47 J/g devido a proporção utilizada de 1:1 e a DEXA está dissolvida no Kolliphor[®] HS 15.

Figura 18 - DSC dos componentes separados e das misturas binárias.



Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: DEXA= Dexametasona; TACC= triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico; KOLLI= Kolliphor[®] HS 15.

Em relação a mistura binária da DEXA com o Span[®] 60 mostra-se um pico endotérmico na temperatura de 53,67 °C relacionado ao pico de fusão do Span[®] 60, seguido de pico endotérmico a 120,23 °C correspondente a evaporação da água livre do Span[®] 60 possuindo redução de entalpia para 1,43 J/g. E com a mistura ocorre o retardo do aparecimento de pico endotérmico de fusão da DEXA, o mesmo só apareceu na temperatura de 269,84 °C, com redução da entalpia (1,55 J/g). Na mistura binária Span[®] 60 com o TACC identifica-se pico endotérmico em 51,62 °C referente a fusão do Span[®] 60, e picos endotérmicos em 113,34 e 133,04 °C relativo da evaporação da água livre do Span[®] 60. Como relatado antes, o TACC não apresenta pico na curva de aquecimento, e na mistura também não é evidenciado.

Para a mistura binária Kolliphor[®] HS 15 com TACC ocorre retardamento dos picos correspondente ao Kolliphor[®] HS 15 aparecem na temperatura de 18,26 °C, seguinte de um retardo do pico endotérmico de fusão (43,59 °C) e retardo do último pico endotérmico (126,19 °C). Por fim a mistura binária Kolliphor[®] HS 15 com Span[®] 60 há ocorrência de três picos endotérmicos, o primeiro em 14,14 °C relacionado ao primeiro pico do Kolliphor[®] HS 15, o segundo em 51,00 °C referente a fusão do Span[®] 60, e terceiro pico em 105,63 °C relativo a pico do Kolliphor[®] HS 15. É possível observar desaparecimento do pico de fusão do Kolliphor[®] HS 15.

Para MEs a técnica de DSC é utilizada para confirmar a microestrutura interna e estudar o comportamento da água em baixas temperaturas. Os diferentes estados físicos da água nos sistemas dispersos refletem no tamanho e na posição de seu pico de congelamento nas curvas de resfriamento. A diferenciação dos tipos de água é baseada na diferença do ponto de fusão dos tipos de água, são elas: água livre (que funde a ± 0 °C), água interfásica (confinada na interface do sistema disperso, derrete a cerca de -10 °C); e água ligada (associada a grupos hidrofílicos, derrete a < -10 °C)(PAJIC[®] et al., 2019; SAVIC[®] et al., 2017).

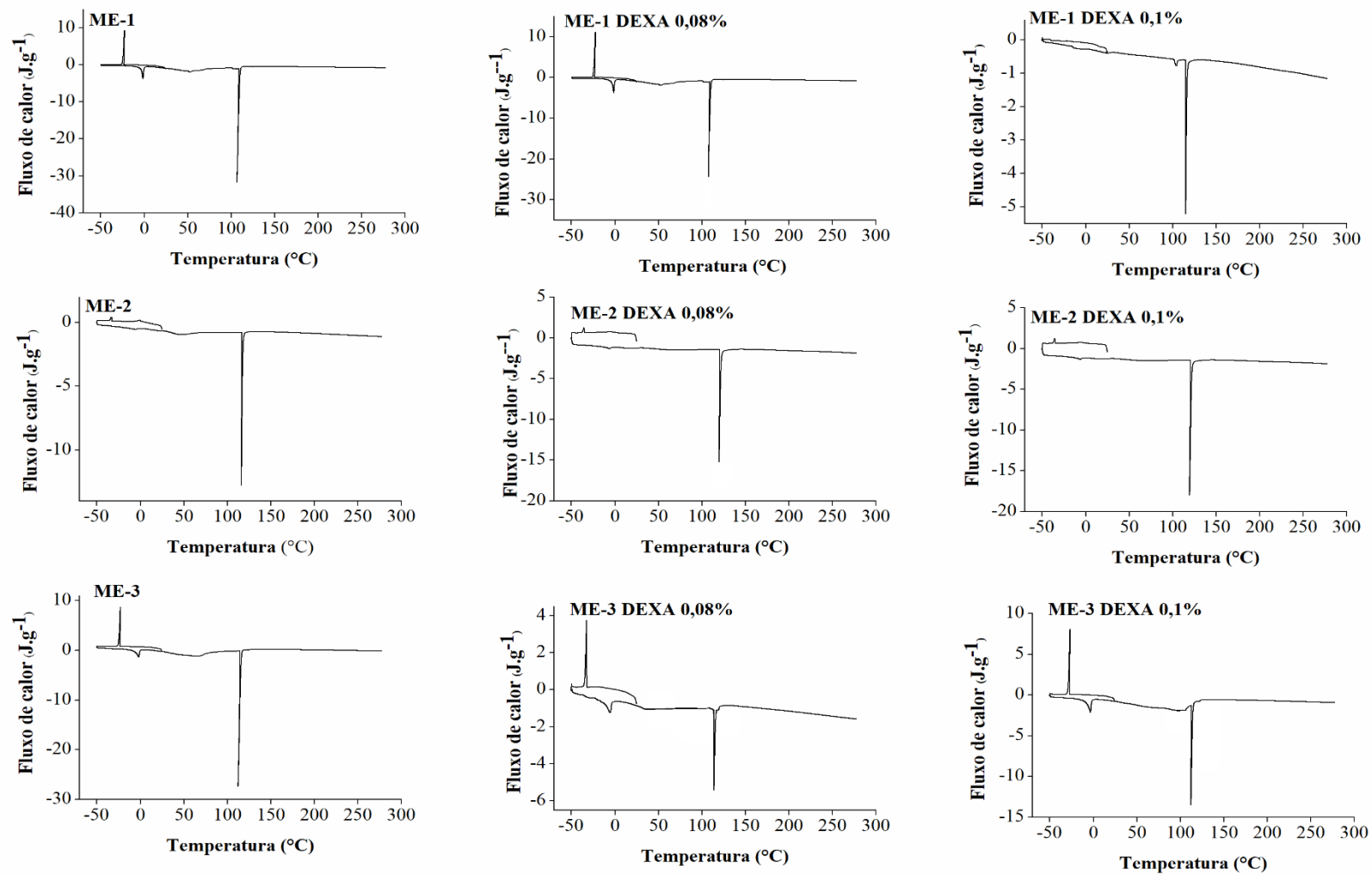
Os DSC das MEs com e sem DEXA são mostrados na Figura 19. Pode-se observar a ocorrência de eventos exotérmicos em ambas MEs (-22,39; -33,20 e -35,59 °C para ME-1, ME-2 e ME-3, respectivamente) atribuídos ao congelamento, ao qual foi próximo ao congelamento da água (-25,13 °C), valores diferentes são observados devido as diferentes concentrações de água no sistema como também a interação com os tensoativos. Em seguida é visualizado picos endotérmicos na temperatura de -1,33 °C para ME-1; -5,12 °C para ME-2 e -1,71 °C para ME-3, que estão relacionados com a fusão da água livre (-1,71 °C). E por fim, picos endotérmicos nas temperaturas de 106,73; 116,13 e 112,50 para ME-1; ME-2 e ME-3,

respectivamente, estes condizentes a vaporização da água (102,43 e 107,45 °C). A ocorrência de pico endotérmico próximo a 100 °C é associado a ebulição da água e a interação entre os dois tensoativos, ambos apresentam picos endotérmicos (109,62 °C para o Kolliphor® HS 15 e 128,38 °C para Span® 60) próximo a esta temperatura, resultados semelhantes foram vistos por Cavalcanti et al. (2016) e Neves et al. (2018).

O estado físico de um sistema pode ser sugerido pela posição na curva de resfriamento DSC dos picos de congelamento, que estão relacionados à água interfacial, isto é, à água que interage com os tensoativos, devido a essa interação, ocorrem alterações nas propriedades da água, como ponto de congelamento, ponto de fusão, entalpia e capacidade de calor (NEVES et al., 2018).

Em relação aos DSC das MEs incorporadas da DEXA, seguiram o mesmo padrão das MEs sem fármaco, e não ocorreu aparecimento de pico relacionado a DEXA, constatando a incorporação da DEXA na fase interna das gotículas dispersas em meio aquoso. Com a análise destes resultados chega à conclusão que as MEs são consideradas do tipo O/A.

Figura 19 – DSC das MEs com e sem fármaco.



Fonte: dados da pesquisa.

Tabela 11 – Resultados dos eventos calorimétricos da DEXA, MEs com e sem DEXA.

Amostras	Etapas	T _{pico} (°C)	ΔH (J g ⁻¹)
DEXA	1	259,81	306,3
Água destilada	1	-25,13	3,854
	2	-1,71	2,274
	3	102,43	2,155
	4	107,75	7,764
Kolliphor® HS 15	1	10,86	60,62
	2	18,32	100,2
	3	30,18	7,996
	4	109,62	80,81
	5	133,19	1,196
Span® 60	1	52,36	103,5
	2	128,38	23,87
TACC	1	-27,91	72,77
	2	-4,16	92,65
DEXA + TACC	1	257,66	34,02
DEXA + KOLLI	1	17,95	7,90
	2	256,77	0,47
DEXA + SPAN 60	1	53,67	45,75
	2	120,23	1,43
	3	269,84	1,55
SPAN 60 + TACC	1	51,62	28,10
	2	113,34	4,19
	3	133,04	0,87
KOLLI + TACC	1	18,26	19,60
	2	43,59	1,64
	3	126,19	4,54
KOLLI + SPAN 60	1	14,14	19,67
	2	51,00	26,04
	3	105,63	43,34
ME-1	1	-22,39	52,45
	2	-1,33	36,48
	3	106,73	129,50
ME-1 DEXA 0,08%	1	-23,08	40,03
	2	-1,51	28,56
	3	105,78	120,45
ME-1 DEXA 0,1%	1	-25,35	1,02
	2	115,07	25,51
ME-2	1	-33,20	4,34
	2	-5,12	0,95
	3	116,13	52,54
ME-2 DEXA 0,08%	1	-34,24	3,21
	2	-4,75	0,84
	3	115,95	50,58
ME-2 DEXA 0,1%	1	-35,69	5,34
	2	-5,90	1,37
	3	119,57	92,98
ME-3	1	-35,59	42,03
	2	-1,71	21,58
	3	112,50	127,7
ME-3 DEXA 0,08%	1	-4,97	15,40
	2	-32,62	25,58
	3	114,01	26,27
ME-3 DEXA 0,1%	1	-3,14	28,93
	2	-26,88	45,43
	3	112,32	67,17

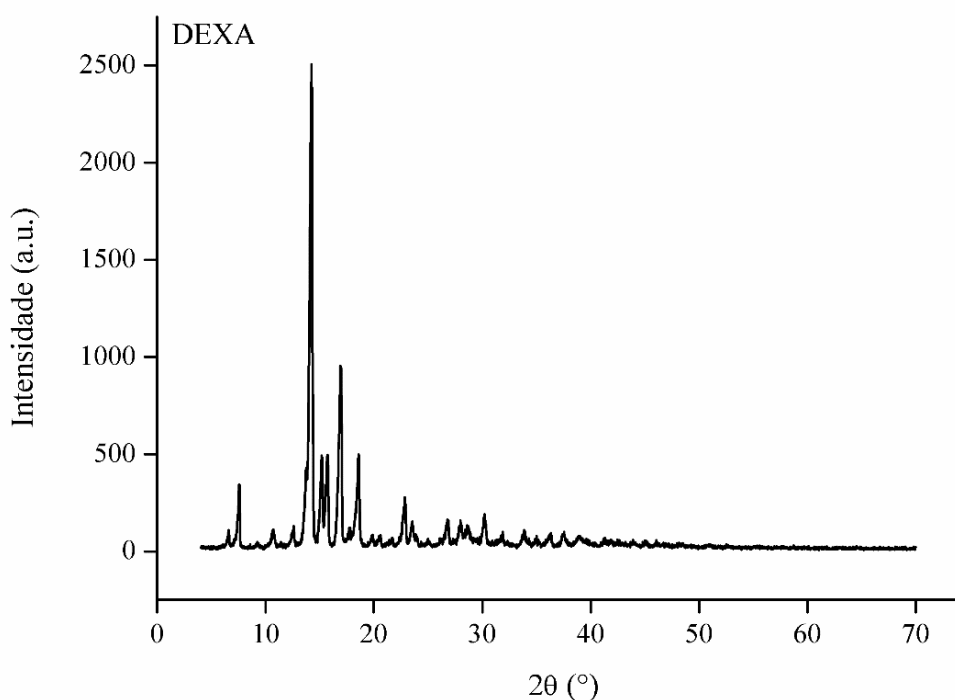
Fonte: dados da pesquisa.

5.6.6 Difração de raio-X

A difração de raios X (DRX) é uma técnica estabelecida para caracterizar as dispersões sólidas e avaliar o grau de cristalização e polimorfismo de fármacos. Ele fornece o meio ideal para entender a estrutura dos materiais cristalinos no nível molecular e, assim, estabelece a ligação entre a estrutura cristalina e as propriedades da substância (ALI et al., 2013; THAKRAL et al., 2018).

Para comprovar a estrutura cristalina da DEXA, foi realizado a análise de DRX, e seu difratograma é mostrado na Figura 20. Apresentando-se as principais reflexões no padrão de DRX correspondente aos valores de $2\theta = 7,62; 14,26; 15,14; 15,68; 16,88; 18,6$ e $22,72$, estes picos agudos com alta intensidade confirmaram a natureza cristalina da DEXA, resultados semelhantes forma encontrados por Swaminathan et al. (2013), Gasmi et al. (2016) e Ali et al. (2013). A DEXA possui polimorfismo e apresenta duas formas de cristal, a forma A e B, e a partir dos dados de DRX foi possível comprovar que o cristal da DEXA possui os ângulos de reflexão característicos da forma B (OLIVEIRA et al., 2018).

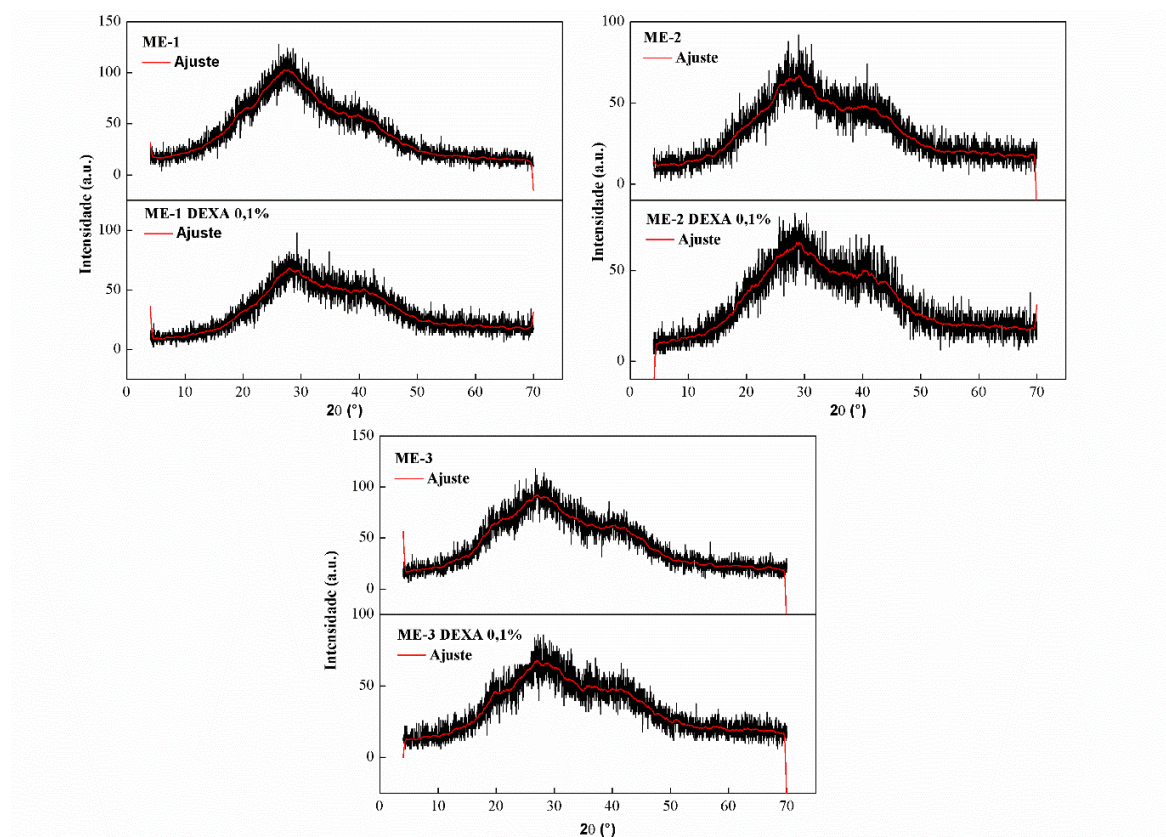
Figura 20 – Difratograma da dexametasona.



Fonte: dados da pesquisa.

Os difratogramas das MEs são exibidos na Figura 21. As MEs brancas apresentam picos largos com halos de ~ 20,51 a ~ 32,60 e ~ 35,4 a 46,1 para a ME-1, ~ 18,95 a ~ 34,32 e ~ 36,19 a 46,64 para a ME-2, ~ 17,26 a ~ 36,03 e ~ 37,90 a 46,80 para a ME-3, ambas constataam estruturas amorfas. A DEXA incorporada aos sistemas ocorre desaparecimento completo das reflexões da DEXA, prevalecem apenas reflexões largas características das MEs sem fármaco (~ 20,16 a 32,79 e 35,16 a 45, 91); (~ 17,42 a 34, 85 e ~ 36,19 a ~ 47,28); (~ 17,61 a 36,17 e 37,21 a 46,25) para ME-1 DEXA, ME-2 DEXA, ME-3 DEXA, respectivamente. A reflexão de alta intensidade do cristal da DEXA, quando carreado aos sistemas, resultam em uma redução drástica da ordem de rede cristalina, sugerindo a incorporação da DEXA aos sistemas e a sua existência em micro e nano-cristalino ou em forma amorfa. Foi evidenciado os difratogramas das MEs na maior concentração de DEXA, pois se nos mesmos não foi possível evidenciar nenhum pico representativo do fármaco, consequentemente na menor concentração, apresentaria o mesmo padrão de gráfico. E mesmo com o ajuste, ou seja, a suavizada nos difratogramas e retirada dos interferentes, não foi possível visualizar nenhum pico referente a DEXA.

Figura 21 - Difratograma das microemulsões com e sem dexametasona.



Fonte: dados da pesquisa.

5.7 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR

5.7.1 Teste de centrifugação

Nas formulações em estado de repouso, há atuação da força de gravidade que faz com que as gotículas ou partículas movimentem-se em seu interior. Quando submetidas a teste de centrifugação, ocorre estresse forçado na amostra, simulando um aumento da força de gravidade, levando ao aumento da mobilidade das gotículas e antecipando possíveis instabilidades. As instabilidades são observadas na forma de precipitação, separação de fases, coalescência, entre outras (KISHISHITA, 2019; LEITE, 2017). As MEs (com e sem DEXA) não exibiram alterações de fases, turbidez e precipitação de fármaco após a centrifugação a 24510 g por 30 min e 1 h.

5.7.2 Estresse térmico

No teste de estresse térmico aplicou-se aos sistemas condições extremas de temperatura em períodos pré-determinados de tempo. As ME-1 e ME-2 (com e sem fármaco) na temperatura de 55 °C contatou-se mudanças nas características macroscópicas, os sistemas transparentes passaram para a coloração branca, e assim iniciou-se o processo de separação de fases. Já para ME-3 (com e sem fármaco) este processo ocorreu na temperatura de 60 °C, que pode ser explicado por possuir uma maior quantidade de tensoativos. A análise procedeu-se até a temperatura de 80 °C, enfatizando a separação de fases. No final da análise deixou as formulações em temperatura ambiente e as mesmas voltaram as características de ME. As ME são sensíveis a mudanças de temperatura, no qual podem sofrer alterações de fase quando expostas a temperaturas mais altas ou inferiores às temperaturas normais. Alterações na temperatura podem levar a mudança do tipo de ME como também levar a separação de fase (CALLENDER et al., 2017).

5.7.3 Ciclo resfriamento/aquecimento

Em geral, a ME é um sistema termodinamicamente estável, mas existe a possibilidade de ocorrência de vários fenômenos instáveis com o crescente número de componentes lipofílicos carregados na ME, como a separação de fases (XIAO et al., 2019). A

instabilidade física dos sistemas de ME é indicada por alterações no TMG e no IPD (LAMAISAKUL et al., 2019).

No estudo de estabilidade por meio do ciclo resfriamento aquecimento foram realizadas através de 5 ciclos, contemplando 10 dias de análise, com objetivo avaliar se os limites extremos de frio e calor são capazes de desestabilizar sistemas. Analisou-se as formulações quanto a características organolépticas e TMG, no dia inicial e ao final de cada ciclo. Os resultados apontaram que as MEs permaneceram transparentes e sem separação de fases e no parâmetro TMG (Tabela 12) não foi observado diferença significativa entre valores, assim indicando estabilidade e sugerindo que as MEs podem permanecer estáveis em situações que envolvem mudanças ambientais, como armazenamento, transporte ou distribuição do produto corroborando com o trabalho de Volpe et al. (2018). No estresse térmico só houve mudança na aparência acima da temperatura de 50 °C e no ciclo aquecimento/resfriamento essa temperatura não é atingida. Os valores de TMG obtidos na análise de estabilidade foram diferentes do experimento de caracterização físico-química, devido a utilização de equipamentos diferentes.

Tabela 12 – Análise do tamanho médio de gotícula antes e após o ciclo de resfriamento/aquecimento.

Formulação	Tamanho médio de gotícula (nm)					
	Dia 1	1° ciclo	2° ciclo	3° ciclo	4° ciclo	5° ciclo
ME – 1	15,62 ± 0,36	16,95 ± 0,45	16,69 ± 0,23	16,21 ± 0,58	16,12 ± 0,19	16,02 ± 0,09
ME – 1 DEXA 0,08%	15,43 ± 0,44	15,12 ± 0,25	15,92 ± 0,38	16,96 ± 0,11	17,45 ± 0,56	15,85 ± 0,56
ME – 1 DEXA 0,1%	15,69 ± 0,18	15,21 ± 0,33	15,95 ± 0,40	15,45 ± 0,57	16,15 ± 0,10	16,01 ± 0,23
ME – 2	15,46 ± 0,24	16,15 ± 0,42	17,02 ± 0,19	16,66 ± 0,38	17,00 ± 0,09	18,44 ± 0,76
ME – 2 DEXA 0,08%	15,35 ± 0,28	16,10 ± 0,37	15,79 ± 0,45	16,28 ± 0,05	16,32 ± 0,11	16,27 ± 0,32
ME – 2 DEXA 0,1%	16,08 ± 0,39	15,94 ± 0,57	16,51 ± 0,41	16,53 ± 0,16	17,47 ± 0,59	16,01 ± 0,68
ME - 3	17,46 ± 0,41	18,77 ± 0,61	17,24 ± 0,18	18,33 ± 0,10	17,85 ± 0,61	17,26 ± 0,36
ME – 3 DEXA 0,08%	17,24 ± 0,35	18,26 ± 0,44	16,71 ± 0,17	17,35 ± 0,75	18,58 ± 0,36	17,31 ± 0,32
ME – 3 DEXA 0,1%	17,46 ± 0,29	18,36 ± 0,32	16,81 ± 0,25	17,19 ± 0,37	17,38 ± 0,62	17,23 ± 0,68

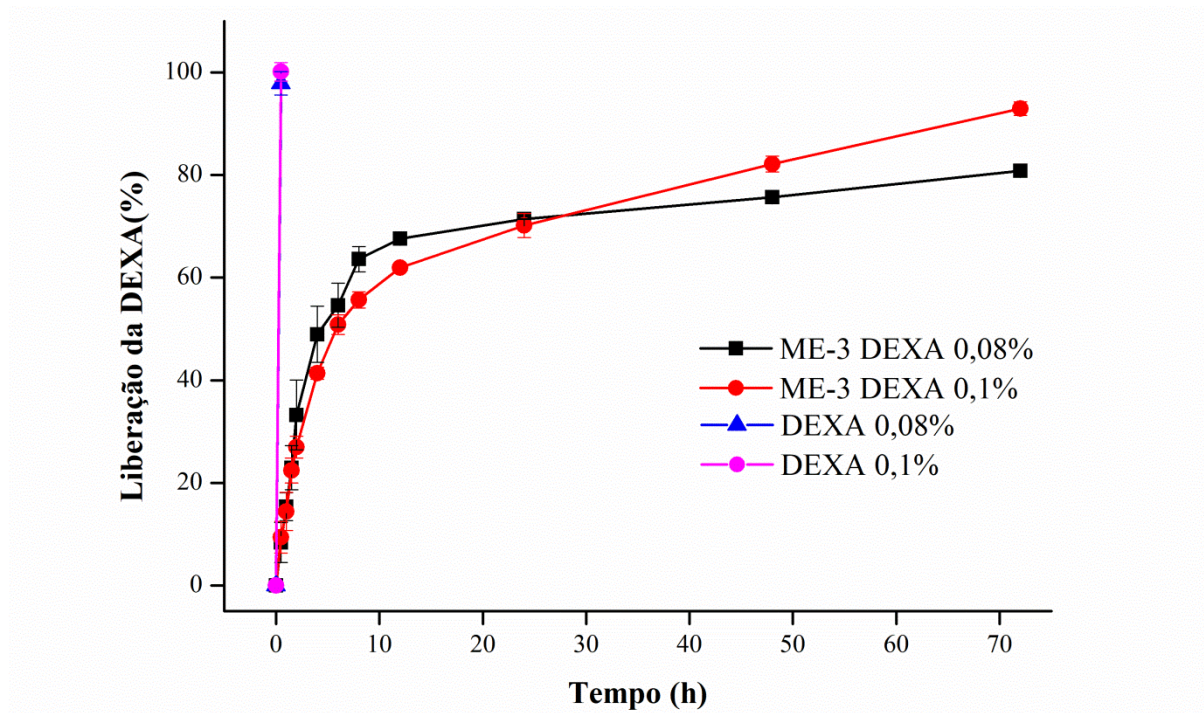
Fonte: dados da pesquisa.

5.8 ESTUDO DE LIBERAÇÃO *IN VITRO*

Avaliações de liberação *in vitro* são muito importantes no desenvolvimento de formulações, pois fornecem informações sobre dosagem e comportamento, bem como o mecanismo de liberação do fármaco, permitindo o estabelecimento de uma correlação entre resultados *in vitro* e *in vivo*. As membranas de diálise e o aparelho celular de difusão de Franz são das metodologias mais comumente usadas (CIRIACO et al., 2020).

Estudo de liberação de fármaco *in vitro* foi utilizado para avaliar a capacidade do veículo de liberar o fármaco. Todas as ME tiveram resultados favoráveis, mas foi escolhido a ME-3 nas duas concentrações de fármaco para realização do estudo de liberação *in vitro* devido proporcionar uma maior EE e um potencial zeta próximo de zero. O experimento em membrana de diálise é utilizado para eliminar a possibilidade das MEs serem dispersas instantaneamente no meio de liberação, garantindo assim perfis de dissolução mais precisos do próprio fármaco a partir das MEs (YIN et al., 2009). A Figura 22 mostra o perfil da curva de liberação cumulativa do fármaco versus o tempo.

Figura 22 – Perfil de liberação da DEXA nas soluções e nas MEs.



Fonte: dados da pesquisa.

Foi observado um padrão de liberação bifásica do fármaco, com uma liberação de burst release, nas primeiras 6 h de estudo, seguido por uma liberação contínua. Ocorre um aumento acentuado da liberação da DEXA na primeira fase, seguido de um platô para a segunda fase. No tempo de 6 h é observada liberação de $54 \pm 4,32$ % para a ME-3 DEXA 0,08%, e $50 \pm 1,90$ % para a ME-3 DEXA 0,1%, seguida de liberação lenta por até 72 h. Após as 6 h ocorre uma liberação contínua da DEXA, considerada uma liberação lenta e sustentada (SIDDIQA et al., 2019). Em 72 h houve liberação de $80 \pm 0,35$ % e $93 \pm 1,32$ % para ME-3 DEXA 0,08% e ME-3 DEXA 0,1%, respectivamente. Enquanto as soluções de DEXA obtiveram liberação de 100% da DEXA em 0,5 h.

As formulações injetáveis de DEXA disponível no mercado se apresentam forma de sais (acetato de DEXA e fosfato dissódico de DEXA), podem ser administradas por via intravenosa ou intramuscular e são usualmente utilizadas de 0,5 a 20 mg por dia, geralmente com faixa posológica parenteral de um terço ou a metade da dose oral, a cada 12 h. As formulações em estudo (ME-3 DEXA 0,08% e ME-3 DEXA 0,1% com 0,8 e 1,0 mg/mL, respectivamente) proporcionam vantagem de reduzir o número de administração e assim como as formulações comerciais podem ser utilizadas por via intravenosa ou intramuscular, proveniente das características dos excipientes.

Os dados de liberação *in vitro* foram substituídos nos modelos matemáticos a fim de reconhecer as características específicas da liberação. Os resultados que estão evidenciados na Tabela 13. O coeficiente de determinação ajustado (R^2), o desvio padrão dos resíduos (MSE) e o critério de seleção do modelo (MSC) foram utilizados para escolher o melhor modelo que se ajusta os dados. O R^2 foi utilizado para comparar o ajuste dos modelos teóricos com os dados experimentais, quanto mais próximo de 1 for o R^2 , melhor será o ajuste do modelo para os dados. O MSE avalia a diferença entre os valores observados experimentalmente e aqueles ajustados pelo modelo. Quanto menor o MSE, melhor será o ajuste dos dados experimentais ao modelo. Já o MSC é outro critério estatístico para seleção do modelo, que será mais apropriado aquele com o maior MSC, geralmente um valor de MSC de mais de dois a três indica que um bom ajuste (FREIRE et al., 2017; MELO, 2018; ZHANG et al., 2010).

Segundo os critérios adotados para escolha do modelo a ser empregado, o modelo de primeira ordem com F_{\max} ($R^2 = 0,99$; MSE = 3,19; MSC = 3,92) foi o melhor ajustado para a ME-3 DEXA 0,08%. De acordo com este modelo, a taxa de liberação depende da concentração, ou seja, as formas farmacêuticas que seguem este perfil, liberam uma quantidade de fármaco proporcional à quantidade do fármaco restante em seu interior, por

unidade de tempo, e a quantidade de fármaco liberado vai diminuindo (SALAZAR, 2015; SOLANKI et al., 2019).

Tabela 13 - Modelos matemáticos utilizados para ajuste da curva de liberação da DEXA pela ME-3.

Formulação	Modelo Matemático	Equação	R ²	MSE	MSC	Constantes
ME-3 DEXA 0,08%	Primeira ordem	$F=100*[1-\text{Exp}(-k_1*t)]$	0,70	13,72	1,06	$k_1 = 0,126$
	Primeira ordem com F _{max}	$F=F_{\text{max}}*[1-\text{Exp}(-k_1*t)]$	0,99	3,19	3,92	$k_1 = 0,25$ $F_{\text{max}} = 74,96$
	Higuchi	$F = k_H*t^{0.5}$	0,41	19,29	0,39	$k_H = 12,86$
	Higuchi com F0	$F=F_0 + k_H*t^{0.5}$	0,69	14,10	0,93	$k_H = 8,55$ $F_0 = 21,83$
	Korsmeyer-Peppas	$F= k_{KP}*t^n$	0,81	11,03	1,42	$k_{KP} = 28,65$ $n = 0,27$
	Korsmeyer-Peppas com F0	$F=F_0 + k_{KP}*t^n$	0,92	6,89	2,29	$F_0 = -45705,41$ $k_{KP} = 45727,32$ $n = 0,00$
	Peppas-Sahlin_1	$F=k_1*t^m + k_2*t^{2m}$	0,92	7,18	2,21	$k_1 = 25,39$ $k_2 = -1,98$ $m = 0,50$
ME-3 DEXA 0,1 %	Primeira ordem	$F=100*[1-\text{Exp}(-k_1*t)]$	0,85	10,66	1,74	$k_1 = 0,098$
	Primeira ordem com F _{max}	$F=F_{\text{max}}*[1-\text{Exp}(-k_1*t)]$	0,94	6,36	2,71	$k_1 = 0,16$ $F_{\text{max}} = 81,21$
	Higuchi	$F = k_H*t^{0.5}$	0,76	13,33	1,29	$k_H = 13,23$
	Higuchi com F0	$F=F_0 + k_H*t^{0.5}$	0,87	9,77	1,83	$k_H = 10,26$ $F_0 = 15,01$
	Korsmeyer-Peppas	$F= k_{KP}*t^n$	0,93	7,19	2,45	$k_{KP} = 24,10$ $n = 0,33$
	Korsmeyer-Peppas com F0	$F=F_0 + k_{KP}*t^n$	0,99	2,87	4,22	$F_0 = -2542,30$ $k_{KP} = 2559,89$ $n = 0,01$
	Peppas-Sahlin_1	$F=k_1*t^m + k_2*t^{2m}$	0,96	5,07	3,08	$k_1 = 21,79$ $k_2 = -1,33$ $m = 0,50$

Fonte: dados da pesquisa.

Legenda: R² = coeficiente de correlação; MSE = Desvio padrão dos resíduos; MSC = Critério de seleção do modelo; F_{max} = é a fração máxima do medicamento liberado em tempo infinito; F0 = é a fração inicial do medicamento na solução resultante de uma liberação de explosão;

Enquanto para a ME-3 DEXA 0,08% o modelo de melhor ajuste foi o de Korsmeyer-Peppas com F0 (R² = 0,99; MSE = 2,87; MSC = 4,22). Este modelo é utilizado para avaliar a

liberação de fármacos quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando possam estar envolvidos mais de um tipo de mecanismo de liberação. O modelo de Korsmeyer-Peppas avalia a liberação de fármacos tanto por Fick quanto não-Fick, e 'n' é o expoente de difusão empírico que indica o tipo de mecanismo de liberação do fármaco. Valores de $n > 0,5$ indica que a difusão é quase-Fickiana, se o valor for igual a 0,5 revela uma difusão Fickiana, valores entre $0,5 < n < 1,0$ a difusão é não-Fickiana, quando o $n=1$ é uma difusão de transporte caso II e $n > 1$ difusão transporte super-caso II (SALAZAR, 2015; SOLANKI et al., 2019).

O valor do expoente de difusão (n) obtido no modelo de Korsmeyer-Peppas foi de (0,01) sugerindo mecanismo de difusão quase-Fickiano. Isso leva em consideração os processos de liberação controlada de difusão e erosão inerente ao nanocarreador. No início a presença de ME aquosa pode-se expandir levemente e permitir que o fármaco interior se difunda pela interface, no entanto os núcleos oleosos hidrofóbicos podem retardar a incorporação de moléculas de água no interior da microemulsão, diminuindo a taxa de difusão (RAHDAR et al., 2019; SALAZAR, 2015).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica utilizada para a construção do DFPT mostrou-se simples, reprodutível e de grande utilidade, sendo possível observar com clareza as várias regiões do diagrama, incluindo as regiões possíveis de formação de ME, e assim facilidade na escolha da proporção dos componentes. O objetivo de desenvolver o sistema microemulsionado utilizando água destilada, TACC, Kolliphor[®] HS 15 e Span[®] 60 foi alcançado.

Foi possível desenvolver e validar o método analítico por espectrofotometria UV-Vis para quantificação da DEXA nos sistemas, e revelou-se específico, exato, preciso, robusto e rápido. Sendo possível avaliar a EE, evidenciando uma incorporação eficaz da DEXA nas MEs.

O pH das formulações foi adequado para a administrado por via parenteral e indicaram não afetar no PZ, implicando na estabilidade das formulações. A condutividade elétrica sugeriu serem sistemas com estrutura do tipo O/A e o IR indicou formulações claras, transparentes e isotrópicas. Através das técnicas de TMG, IPD e PZ os sistemas comprovaram serem MEs estáveis, homogêneas com mesma disposição de tamanhos. Pela microscopia de luz polarizada aponta-se MEs como dispersões coloidais isotrópicas. As análises reológicas evidenciam-se características de fluido não newtoniano do tipo pseudoplástico. Pelas técnicas de DSC e DRX comprovou a estrutura cristalina da DEXA. Como também pelo DSC caracterizou as MEs serem do tipo O/A. As MEs selecionadas verificaram-se estabilidade preliminar diante dos testes propostos. O estudo de liberação *in vitro* observou-se liberação de explosão, seguida por uma liberação contínua, considerada uma liberação lenta e sustentada, com a vantagem de reduzir o número de administração. As liberações foram melhor ajustados aos modelos matemáticos de primeira ordem com F_{max} e Korsmeyer-Peppas com F0. Os sistemas microemulsionados propostos foram capazes de incorporar a DEXA, sendo assim uma alternativa promissora a fim de aumentar a eficácia e consequentemente reduzir os efeitos adversos produzidos pela DEXA.

REFERENCIAS

- ABOUMANEI, M. H.; ABDELBARY, A. A.; IBRAHIM, I. T.; TADROS, M. I.; EL-KOLALY, M. T. Design and development of microemulsion systems of a new antineoplaston A10 analog for enhanced intravenous antitumor activity: In vitro characterization, molecular docking, 125I-radiolabeling and in vivo biodistribution studies. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 545, n. 1–2, p. 240–253, 2018.
- ABRAR, I.; BHASKARWAR, A. N. Microemulsion fuels for compression ignition engines: A review on engine performance and emission characteristics. **Fuel**, London, v. 257, p. 115944, 2019.
- ACHARYA, D. P.; HARTLEY, P. G. Progress in microemulsion characterization. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, New York, v. 17, n. 5, p. 274–280, 2012.
- ALI, H.; KALASHNIKOVA, I.; WHITE, M. A.; SHERMAN, M.; RYTTING, E. Preparation, characterization, and transport of dexamethasone-loaded polymeric nanoparticles across a human placental in vitro model. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 454, n. 1, p. 149–157, 2013.
- ALVES, L. P. **Estudo cinético de liberação do acetato de dexametasona em diferentes formulações comerciais**. 2017. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)– Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.
- ANNAM, D.; BELLISSANT, E.; BOLLAERT, P. E.; BRIEGEL, J.; KEH, D.; KUPFE, Y. Corticosteroids for treating sepsis. **The Cochrane database of systematic reviews**, Oxford, v. 3, n. 12, 2015.
- ANSARI, S.; KARKHANEHA, A.; BONAKDARB, S.; HAGHIGHIPOUR, N. Simultaneous effects of hydrostatic pressure and dexamethasone release from electrospun fibers on inflammation-induced chondrocytes. **European Polymer Journal**, Oxford, v. 118, p. 244–253, 2019.
- ANVISA. Rdc N° 166. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, [s. l.], v. 2017, 2017. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>
- ARTH, G. E.; FRIED, J.; JOHNSTON, D. B. R.; WOLF, D. R.; SARETT, L. H.; SILBER, R. H.; STOERK, H. C.; WINTER, C. A. 16-methylated steroids. II. 16 α -methyl analogs of cortisone, a new group of anti-inflammatory steroids. 9 α -halo derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 80, n. 12, p. 3161–3163, 1958. a.
- ARTH, G. E.; JOHNSTON, D. B. R.; FRIED, J.; SPOONER, W. W.; WOLF, D. R.; SARETT, L. H. 16-methylated steroids. I. 16 α -methylated analogs of cortisone, a new group of anti-inflammatory steroids. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 80, n. 12, p. 3160–3161, 1958. b.
- ASSIS, G. B. **Microemulsões contendo óleo essencial de alecrim: *Rosmarinus officinalis* Linn.** (Lamiaceae). 2014. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em

Farmácia)– Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

ATANASE, L. I.; RIESS, G. Stabilization of non-aqueous emulsions by poly(2-vinylpyridine)-b-poly(butadiene) block copolymers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 458, n. 1, p. 19–24, 2014.

AUM, Y. K. P. G. **Sistemas microemulsionados visando à remoção de depósitos parafínicos**. 2016. 169 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química)– Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

BARIL, M. B.; FRANCO, G. F.; VIANA, R. S.; ZANIN, S. M. W. Nanotecnologia aplicada aos cosméticos nanotechnology applied to cosmetics. **Visão Acadêmica**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 45–54, 2012.

BASAK, S.; GUHA, P. Betel leaf (*Piper betle* L.) essential oil microemulsion: Characterization and antifungal activity on growth, and apparent lag time of *Aspergillus flavus* in tomato paste. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 75, p. 616–623, 2017.

BENIGNI, M.; PESCHINA, S.; GRIMAUDO, M. A.; PADULA, C.; SANTI, P.; NICOLI, S. Development of microemulsions of suitable viscosity for cyclosporine skin delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 545, n. 1–2, p. 197–205, 2018.

BIANCHI, F.; MATTAROZZI, M.; RIBONI, N.; MORA, P.; GANDOLFI, S. A.; CARERI, M. A rapid microextraction by packed sorbent – liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of dexamethasone disodium phosphate and dexamethasone in aqueous humor of patients with uveitis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, London, v. 142, p. 343–347, 2017.

BOHEEMEN, LAURETTE VAN SCHAARDENBURG, D. Van. Predicting Rheumatoid Arthritis in At-risk Individuals. **Clinical Therapeutics**, Princeton, v. 41, n. 7, p. 1286–1298, 2019.

BOISSIER, M. C.; SEMERANO, L.; CHALLAL, S.; SAIDENBERG-KERMANAC'H, N.; FALGARONE, G. Rheumatoid arthritis: From autoimmunity to synovitis and joint destruction. **Journal of Autoimmunity**, London, v. 39, n. 3, p. 222–228, 2012.

BORBA, P. A. A.; RIEKES, M. K.; PEREIRA, R. N.; STULZER, H. K.; VECCHIA, D. D. Desenvolvimento e validação de UM método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 582–586, 2013.

BOSSOLANI, G. D. P.; SILVA, B. T.; PERLES, J. V. C. M.; LIMA, M. M.; FREZ, F. C. V.; SOUZA, S. R. G.; SEHABER-SIERAKOWSKI, C. C.; BERSANI-AMADO, C. A.; ZANONI, J. N. Rheumatoid arthritis induces enteric neurodegeneration and jejunal inflammation, and quercetin promotes neuroprotective and anti-inflammatory actions. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 238, p. 116956, 2019.

BUNIM, J. J.; BLACK, R. L.; LUTWAK, L.; PETERSON, R. E.; WHEDON, G. D. Studies

on dexamethasone, a new synthetic steroid, in rheumatoid arthritis: a preliminary report; adrenal cortical, metabolic and early clinical effects. **Arthritis and rheumatism**, Atlanta, v. 1, n. 4, p. 313–331, 1958.

CALLENDER, S. P.; MATHEWS, J. A.; KOBERNYK, K.; WETTIG, S. D. Microemulsion utility in pharmaceuticals: Implications for multi-drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 526, n. 1–2, p. 425–442, 2017.

CARACCILO, G. Liposome-protein corona in a physiological environment: Challenges and opportunities for targeted delivery of nanomedicines. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 543–557, 2015.

CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 35, p. 422–430, 2017.

CAVALCANTI, A. L. M.; REIS, M. Y. F. A.; SILVA, G. C. L.; RAMALHO, Í. M. M.; GUIMARÃES, G. P.; SILVA, J. A.; SARAIVA, K. L. A.; DAMASCENO, B. P. G. L. Microemulsion for topical application of pentoxifylline: In vitro release and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 506, n. 1–2, p. 351–360, 2016.

CHATTERJEE, B.; GORAIN, B.; MOHANANAIDU, K.; SENGUPTA, P.; MANDAL, U. K.; CHOUDHURY, H. Targeted drug delivery to the brain via intranasal nanoemulsion: Available proof of concept and existing challenges. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 565, n. March, p. 258–268, 2019.

CHEN, Y.; WANG, G.; JIN, X.; LUO, L.; ZHANG, G.; LU, L. Coating preparation and drug delayed release of dexamethasone-eluting intravascular stents in vitro and in vivo. **IFMBE Proceedings**, [s. l.], v. 19 IFMBE, p. 70–72, 2008.

CHIAPPISI, L.; NOIREZ, L.; GRADZIELSKI, M. A journey through the phase diagram of a pharmaceutically relevant microemulsion system. **Journal of Colloid and Interface Science**, Orlando, v. 473, p. 52–59, 2016.

CIRÍACO, S. L.; CARVALHO, I. P. S.; TERCEIRO NETO, J. A.; LIMA NETO, J. de S.; OLIVEIRA, D. H. B.; CUNHA, A. P. G. P.; CAVALCANTE, Y. T. D.; SILVA, D. T. C.; SILVA, J. A.; MINEIRO, A. L. B. B.; FERNANDES, M. Z. de L. C. M.; CARVALHO, A. L. M. Development of microemulsion of tamsulosin and dutasteride for benign prostatic hyperplasia therapy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 185, p. 110573, 2020.

CORTÉS, N. M.; LORENZO, G.; CALIFANO, A. N. Food grade microemulsion systems: Sunflower oil/castor oil derivative-ethanol/water. Rheological and physicochemical analysis. **Food Research International**, Ottawa, v. 107, p. 41–47, 2018.

COYNE, C. P.; NARAYANAN, L. Dexamethasone-(C21-phosphoramidate)-[anti-EGFR]: Molecular design, synthetic organic chemistry reactions, and antineoplastic cytotoxic potency against pulmonary adenocarcinoma (A549). **Drug Design, Development and Therapy**, New

Zealand, v. 10, p. 2575–2597, 2016.

DAMASCENO, B. P. G. L.; DOMINICI, V. A.; URBANO, I. A.; SILVA, J. A.; ARAÚJO, I. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S.; SILVA, A. K. A.; MEDEIROS, A. C.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Amphotericin B microemulsion reduces toxicity and maintains the efficacy as an antifungal product. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, Stevenson Ranch, v. 8, n. 2, p. 290–300, 2012.

DAMASCENO, B. P. G. L.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAÚJO, I. B.; OLIVEIRA, A. G.; EGITO, E. S. T. Microemulsão: Um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 32, n. 1, p. 9–18, 2011.

DEGHANI, F.; FARHADIAN, N.; GOLMOHAMMADZADEH, S.; BIRIAEE, A.; EBRAHIMI, M.; KARIMI, M. Preparation, characterization and in-vivo evaluation of microemulsions containing tamoxifen citrate anti-cancer drug. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 96, p. 479–489, 2017.

DEMIRKURT, B.; CAKAN-AKDOGAN, G.; AKDOGAN, Y. Preparation of albumin nanoparticles in water-in-ionic liquid microemulsions. **Journal of Molecular Liquids**, New York, v. 295, p. 111713, 2019.

DENG, J.; CHALHOUB, N. E.; SHERWIN, C. M.; LI, C.; BRUNNER, H. I. Glucocorticoids pharmacology and their application in the treatment of childhood-onset systemic lupus erythematosus. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, New York, p. 1–9, 2019.

FALCÓN-BEAS, C.; TITTARELLI, A.; MORA-BAU, G.; TEMPIO, F.; PÉREZ, C.; HEVIA, D.; BEHRENS, C.; FLORES, I.; FALCÓN-BEAS, F.; GARRIDO, P.; ASCUI, G.; PEREDA, C.; GONZÁLEZ, F. E.; SALAZAR-ONFRAY, F.; LÓPEZ, M. N. Dexamethasone turns tumor antigen-presenting cells into tolerogenic dendritic cells with T cell inhibitory functions. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 224, n. 5, p. 697–705, 2019.

FAN, M.; MA, Y.; ZHANG, Z.; MAO, J.; TAN, H.; HU, X. Biodegradable hyaluronic acid hydrogels to control release of dexamethasone through aqueous Diels-Alder chemistry for adipose tissue engineering. **Materials Science and Engineering C**, Amsterdam, v. 56, p. 311–317, 2015.

FANG, G.; ZHANG, Q.; PANG, Y.; THU, H. E.; HUSSAIN, Z. Nanomedicines for improved targetability to inflamed synovium for treatment of rheumatoid arthritis: Multi-functionalization as an emerging strategy to optimize therapeutic efficacy. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 303, p. 181–208, 2019.

FARMACOPÉIA, brasileira. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. 1396 p. v. 2.

FERRER, M. C. C.; SHUVAEV, V. V.; ZERN, B. J.; COMPOSTO, R. J.; MUZYKANTOV, V. R.; ECKMANN, D. M. ICAM-1 targeted nanogels loaded with dexamethasone alleviate pulmonary inflammation. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 7, 2014.

FOREST, V.; COTTIER, M.; POURCHEZ, J. Electrostatic interactions favor the binding of positive nanoparticles on cells: A reductive theory. **Nano Today**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 677–680, 2015.

FOREST, V.; POURCHEZ, J. Preferential binding of positive nanoparticles on cell membranes is due to electrostatic interactions: A too simplistic explanation that does not take into account the nanoparticle protein corona. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 70, p. 889–896, 2017.

FORMARIZ, T. P.; CHIAVACCI, L. A.; SCARPA, M. V.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; EGITO, E. S. T.; TERRUGI, C. H. B.; FRANZINI, C. M.; SARMENTO, V. H. V.; OLIVEIRA, A. G. Structure and viscoelastic behavior of pharmaceutical biocompatible anionic microemulsions containing the antitumoral drug compound doxorubicin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 47–53, 2010.

FOROOZANDEH, P.; AZIZ, A. A. Merging Worlds of Nanomaterials and Biological Environment: Factors Governing Protein Corona Formation on Nanoparticles and Its Biological Consequences. **Nanoscale Research Letters**, [s. l.], v. 10, n. 1, 2015.

FREIRE, M. C. L. C.; ALEXANDRINO, F.; MARCELINO, H. R.; PICCIANI, P. H. de S.; E SILVA, K. G. de H.; GENRE, J.; DE OLIVEIRA, A. G.; DO EGITO, E. S. T. Understanding drug release data through thermodynamic analysis. **Materials**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 1–18, 2017.

FROELICH, A.; OSMAŁEK, T.; KUNSTMAN, P.; JADACH, B.; BRZOSTOWSKA, M.; BIAŁAS, W. Design and study of poloxamer-based microemulsion gels with naproxen. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 562, p. 101–112, 2019.

GADHAVE, D.; GORAIN, B.; TAGALPALLEWAR, A.; KOKARE, C. Intranasal teriflunomide microemulsion: An improved chemotherapeutic approach in glioblastoma. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 276–289, 2019.

GASMI, H.; SIEPMANN, F.; HAMOUDI, M. C.; DANEDÉ, F.; VERIN, J.; WILLART, J. F.; SIEPMANN, J. Towards a better understanding of the different release phases from PLGA microparticles: Dexamethasone-loaded systems. **International Journal Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 514, n. 1, p. 189–199, 2016.

GHARBAVI, M.; MANJILI, H. K.; AMANI, J.; SHARAFI, A.; DANAFAR, H. In vivo and in vitro biocompatibility study of novel microemulsion hybridized with bovine serum albumin as nanocarrier for drug delivery. **Heliyon**, London, v. 5, n. 6, 2019.

GIRDLER, S. J.; YE, I.; TANG, R.; KIRSCHNER, N. Altering the natural history of rheumatoid arthritis: The role of immunotherapy and biologics in orthopaedic care. **Journal of Orthopaedics**, Calicut, 2019.

GROTZ, E.; BERNABEU, E.; PAPPALARDO, M.; CHIAPPETTA, D. A.; MORETTON, M. A. Nanoscale Kolliphor[®] HS 15 micelles to minimize rifampicin self-aggregation in aqueous media. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 41, p. 1–6, 2017.

- GUO, J.; ZHANG, L.; WANG, Y.; LIU, T.; GU, X. Microstructural transitions in β -carotene loaded nonionic microemulsions upon aqueous phase dilution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 567, p. 288–296, 2019.
- HALLER, T.; CERRADA, A.; PFALLER, K.; BRAUBACH, P.; FELDER, E. Polarized light microscopy reveals physiological and drug-induced changes in surfactant membrane assembly in alveolar type II pneumocytes. **Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes**, Amsterdam, v. 1860, n. 5, p. 1152–1161, 2018.
- HAMED, R.; AL-ADHAMI, Y.; ABU-HUWAIJ, R. Concentration of a microemulsion influences the mechanical properties of ibuprofen in situ microgels. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 570, p. 118684, 2019.
- HAMIDI, H.; MOHAMMADIAN, E.; ASADULLAH, M.; AZDARPOUR, A.; RAFATI, R. Effect of ultrasound radiation duration on emulsification and demulsification of paraffin oil and surfactant solution/brine using Hele-shaw models. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 26, p. 428–436, 2015.
- HARWANSH, R. K.; DESHMUKH, R.; RAHMAN, M. A. Nanoemulsion: Promising nanocarrier system for delivery of herbal bioactives. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 51, p. 224–233, 2019.
- HENRIQUES, J.; SOUSA, J.; VEIGA, F.; CARDOSO, C.; VITORINO, C. Process analytical technologies and injectable drug products: Is there a future? **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 554, n. October 2018, p. 21–35, 2019.
- HOLANDA, B. B.C.; BANNACH, G.; SILVA, M. R.; EUSÉBIO, M. E. S.; CASTRO, R. A. E. Polymorphism of gemfibrozil: Investigation by thermal and spectroscopic methods. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 675, n. January, p. 113–118, 2019.
- HONG, I. K.; KIM, S. I.; LEE, S. B. Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Seoul, v. 67, p. 123–131, 2018.
- HSU, C.-Y.; SUNG, C. T.; ALJUFFALI, I. A.; CHEN, C.-H.; HU, K.-Y.; FANG, J.-Y. Intravenous anti-MRSA phosphatiosomes mediate enhanced affinity to pulmonary surfactants for effective treatment of infectious pneumonia. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, New York, v. 14, n. 2, p. 215–225, 2018.
- HUPFFER, H. M.; LAZZARETTI, L. L. Nanotecnologia E Sua Regulamentação No Brasil. **Revista Gestão e Desenvolvimento**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 153, 2019.
- ISLAM, S. Lipophilic and hydrophilic drug loaded PLA/PLGA in situ implants: Studies on thermal behavior of drug & polymer and observation of parameters influencing drug burst release with corresponding effects on loading efficiency & morphology of implants. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 3, n. SUPPL. 3, p. 181–188, 2011.
- JAIN, S.; DATTA, M. Oral extended release of dexamethasone: Montmorillonite-PLGA

nanocomposites as a delivery vehicle. **Applied Clay Science**, Amsterdam, v. 104, p. 182–188, 2015.

JANAKIRAMAN, K.; KRISHNASWAMI, V.; RAJENDRAN, V.; NATESAN, S.; KANDASAMY, R. Novel nano therapeutic materials for the effective treatment of rheumatoid arthritis-recent insights. **Materials Today Communications**, Oxford, v. 17, p. 200–213, 2018.

JIA, M.; DENG, C.; LUO, J.; ZHANG, P.; SUN, X.; ZHANG, Z.; GONG, T. A novel dexamethasone-loaded liposome alleviates rheumatoid arthritis in rats. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 540, n. 1–2, p. 57–64, 2018.

JOHANNSDOTTIR, S.; JANSOOK, P.; STEFANSSON, E.; KRISTINSDOTTIR, I. M.; FULOP, Z.; ASGRIMSDOTTIR, GUDRUN MARTA THORSTEINDSOTTIR, M.; EIRIKSSON, F. F.; LOFTSSON, T. Topical drug delivery to the posterior segment of the eye: dexamethasone concentrations in various eye tissues after topical administration for up to 15 days to rabbits. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 45, p. 449–454, 2018.

KARIM, R.; SOMANI, S.; ROBAIAN, M. Al; MULLIN, M.; AMOR, R.; MCCONNELL, G.; DUFÈS, C. Tumor regression after intravenous administration of targeted vesicles entrapping the vitamin E α -tocotrienol. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 246, p. 79–87, 2017.

KAUR, G.; MEHTA, S. K. Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 529, n. 1–2, p. 134–160, 2017.

KAUR, R.; AJITHA, M. Transdermal delivery of fluvastatin loaded nanoemulsion gel: Preparation, characterization and in vivo anti-osteoporosis activity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 136, p. 104956, 2019.

KHARAZIAN, B.; HADIPOUR, N. L.; EJTEHADI, M. R. Understanding the nanoparticle-protein corona complexes using computational and experimental methods. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, [s. l.], v. 75, p. 162–174, 2016.

KIM, S.-N.; KO, S. A.; LEE, S. H.; HUH, B. K.; CHOY, Y. Amine-grafted SBA-15 for ophthalmic delivery of dexamethasone. **Journal of Solid State Chemistry**, San Diego, v. 268, p. 102–107, 2018.

KISHISHITA, J. **Desenvolvimento e avaliação biofarmacotécnica/farmacodinâmica de formulações tópicas contendo betametasona**. 2019. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

KUCHLYAN, J.; KUNDU, N.; SARKAR, N. Ionic liquids in microemulsions: Formulation and characterization. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, New York, v. 25, p. 27–38, 2016.

KUMAR, M.; BHATIA, R.; RAWAL, R. K. Applications of various analytical techniques in quality control of pharmaceutical excipients. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, London, v. 157, p. 122–136, 2018.

KUMAR, A.; SAW, R. K.; MANDAL, A. RSM optimization of oil-in-water microemulsion stabilized by synthesized zwitterionic surfactant and its properties evaluation for application in enhanced oil recovery. **Chemical Engineering Research and Design**, Rugby, v. 147, p. 399–411, 2019.

KUMAR, N.; GOINDI, S. D-optimal experimental approach for designing topical microemulsion of itraconazole: Characterization and evaluation of antifungal efficacy against a standardized *Tinea pedis* infection model in Wistar rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 67, p. 97–112, 2015.

LAMAIKUL, S.; TANTITUVANONT, A.; LIPIUN, V.; RITTHIDEJ, G. Development of novel cationic microemulsion as parenteral adjuvant for influenza vaccine. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, p. 0–42, 2019.

LAW, S. T.; TAYLOR, P. C. Role of biological agents in treatment of rheumatoid arthritis. **Pharmacological Research**, London, v. 150, p. 104497, 2019.

LEITE, J. M. da Si. **Desenvolvimento e caracterização de um sistema microemulsionado contendo dexametasona**. 2017. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)– Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

LI, Y.; ANGELOVA, A.; LIU, J.; GARAMUS, V. M.; LI, N.; DRECHSLER, M.; GONG, Y.; ZOU, A. In situ phase transition of microemulsions for parenteral injection yielding lyotropic liquid crystalline carriers of the antitumor drug bufalin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 173, p. 217–225, 2019.

LIAN, H.; PENG, Y.; SHI, J.; WANG, Q. Effect of emulsifier hydrophilic-lipophilic balance (HLB) on the release of thyme essential oil from chitosan films. **Food Hydrocolloids**, New York, v. 97, n. 61, 2019.

LITTLEJOHN, E. A.; MONRAD, S. U. Early Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, Philadelphia, v. 45, n. 2, p. 237–255, 2018.

LIU, L.; MAO, K.; WANG, W.; PAN, H.; WANG, F.; YANG, M.; LIU, H. Kolliphor® HS 15 Micelles for the Delivery of Coenzyme Q10: Preparation, Characterization, and Stability. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 757–766, 2016.

LORSCHIEDER, M.; TSAPIS, N.; UR-REHMAN, M.; GAUDIN, F.; STOLFA, I.; ABREU, S.; MURA, S.; CHAMINADE, P.; ESPELI, M.; FATTAL, E. Dexamethasone palmitate nanoparticles: An efficient treatment for rheumatoid arthritis. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 296, p. 179–189, 2019.

MA, Y.; ZHANG, X.; FAN, D.; XIA, Q.; WANG, M.; PAN, F. Common trace metals in rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 56, p. 81–89, 2019.

MADNI, A.; RAHIM, M. A.; MAHMOOD, M. A.; JABAR, A.; REHMAN, M.; SHAH, H.; KHAN, A.; TAHIR, N.; SHAH, A. Enhancement of Dissolution and Skin Permeability of Pentazocine by Proniosomes and Niosomal Gel. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 1544–1553, 2018.

MAHDI, E. S.; SAKEENA, M. H.; ABDULKARIM, M. F.; ABDULLAH, G. Z.; SATTAR, M. A.; NOOR, A. M. Effect of surfactant and surfactant blends on pseudoternary phase diagram behavior of newly synthesized palm kernel oil esters. **Drug Design, Development and Therapy**, Auckland, v. 5, p. 311–323, 2011.

MEDEIROS, T. S. **Carreadores lipídicos nanoestruturados como estratégia para incorporação do filtro solar bemotrizinol**. 2019. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

MELO, C. de O. **Nanopartículas de PLA contendo derivado espiro-acridínico com atividade anticancerígena**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2018.

MIKIEWICZ, M.; OTROCKA-DOMAGAŁA, I.; PAŹDZIOR-CZAPULA, K.; ROTKIEWICZ, T. Influence of long-term, high-dose dexamethasone administration on proliferation and apoptosis in porcine hepatocytes. **Research in Veterinary Science**, London, v. 112, p. 141–148, 2017.

MODARRES-GHEISARI, S. M. M.; GAVAGSAZ-GHOACHANI, R.; MALAKI, M.; SAFARPOUR, P.; ZANDI, M. Ultrasonic nano-emulsification – A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, Amsterdam, v. 52, p. 88–105, 2019.

MOREIRA, J. C.; BOCA SANTA, R. A. A.; MIRAGLIA, G. L.; SOARES, C.; RIELLA, H. G. Evaluation of different reaction systems to obtain zeolite 4A via reverse microemulsion. **Microporous and Mesoporous Materials**, Amsterdam, p. 262–270, 2019.

MOURA, M. C. P. A.; DANTAS NETO, A. A.; PERES, A. E. C.; NEITZKE, P. R. M. C.; DANTAS, T. N. de C. Microemulsions and nanoemulsions applied to iron ore flotation. **Journal of Materials Research and Technology**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 2978–2986, 2019.

MOURI, A.; LEGRAND, P.; GHZAOUI, A. El; DORANDEU, C.; MAUREL, J. C.; DEVOISSELLE, J. M. Formulation, physicochemical characterization and stability study of lithium-loaded microemulsion system. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 502, n. 1–2, p. 117–124, 2016.

NASCIMENTO NETO, J. A. **Síntese de nanopartículas de zns:mn por coprecipitação em meio aquoso: efeito das variáveis de síntese na dopagem e nas propriedades ópticas**.

2015. 59 f. Dissertação (Mestrado em Química)– Instituto de Química, Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 2015.

NEAGU, M.; PIPERIGKOU, Z.; KARAMANOU, K.; ENGIN, A. B.; DOCEA, A. O.; CONSTANTIN, C.; NEGREI, C.; NIKITOVIC, D.; TSATSAKIS, A. Protein bio-corona: critical issue in immune nanotoxicology. **Archives of Toxicology**, [s. l.], v. 91, n. 3, p. 1031–1048, 2017.

NEJAD, Z. M.; TORABINEJAD, B.; DAVACHI, S. M.; ZAMANIAN, A.; GARAKANI, S. S.; NAJAFI, F.; NEZAFATI, N. Synthesis, physicochemical, rheological and in-vitro characterization of double-crosslinked hyaluronic acid hydrogels containing dexamethasone and PLGA/dexamethasone nanoparticles as hybrid systems for specific medical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 126, p. 193–208, 2019.

NEVES, J. K. de O.; APOLINÁRIO, A. C.; SARAIVA, K. L. A.; SILVA, D. T. C.; REIS, M. Y. de F. A.; DAMASCENO, B. P. G. de L.; PESSOA JÚNIOR, A.; GALVÃO, M. A. M.; SOARES, L. A. L.; VEIGA JÚNIOR, V. F. Da; SILVA, J. A. Da; CONVERTI, A. Microemulsions containing Copaifera multijuga Hayne oil-resin: Challenges to achieve an efficient system for β -caryophyllene delivery. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 111, p. 185–192, 2018.

NGUYEN, V. H.; LEE, B. J. Protein corona: A new approach for nanomedicine design. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 12, p. 3137–3151, 2017.

NOGUEIRA, E.; GOMES, A. C.; PRETO, A.; CAVACO-PAULO, A. Folate-targeted nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, New York, v. 12, n. 4, p. 1113–1126, 2016.

OBERDISSE, J.; HELLWEG, T. Structure, interfacial film properties, and thermal fluctuations of microemulsions as seen by scattering experiments. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 247, p. 354–362, 2017.

OLIVEIRA, D. X. **Estudo da formação de micelas e microemulsões contendo nifedipina: influência das fases na estrutura dos sistemas**. 2014. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química)– Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

OLIVEIRA, P. F. M.; WILLART, J. F.; SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F.; DESCAMPS, M. Using Milling to Explore Physical States: The Amorphous and Polymorphic Forms of Dexamethasone. **Crystal Growth and Design**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 1748–1757, 2018.

OYAFUSO, M. H. **Desenvolvimento e caracterização de sistema micro e nanoestruturados para a administração cutânea de acetato de dexametasona**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2012.

PADULA, C.; TELÒ, I.; DI IANNI, A.; PESCHINA, S.; NICOLI, S.; SANTI, P. Microemulsion containing triamcinolone acetonide for buccal administration. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 115, p. 233–239, 2018.

PAJIĆ, N. B.; ILIĆ, T.; NIKOLIĆ, I.; DOBRIČIĆ, V.; PANTELIĆ, I.; SAVIĆ, S. Alkyl polyglucoside-based adapalene-loaded microemulsions for targeted dermal delivery: Structure, stability and comparative biopharmaceutical characterization with a conventional dosage form. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 54, p. 101245, 2019.

PAL, N.; KUMAR, N.; SAW, R. K.; MANDAL, A. Gemini surfactant/polymer/silica stabilized oil-in-water nanoemulsions: Design and physicochemical characterization for enhanced oil recovery. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, Amsterdam, v. 183, p. 106464, 2019. a.

PAL, N.; KUMAR, S.; BERA, A.; MANDAL, A. Phase behaviour and characterization of microemulsion stabilized by a novel synthesized surfactant: Implications for enhanced oil recovery. **Fuel**, London, v. 235, p. 995–1009, 2019. b.

PALCHETTI, S.; POZZI, D.; CAPRIOTTI, A. L.; BARBERA, G. La; CHIOZZI, R. Z.; DIGIACOMO, L.; PERUZZI, G.; CARACCILO, G.; LAGANÀ, A. Influence of dynamic flow environment on nanoparticle-protein corona: From protein patterns to uptake in cancer cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 153, p. 263–271, 2017.

PANDEY, K. U.; DALVI, S. V. Understanding stability relationships among three curcumin polymorphs. **Advanced Powder Technology**, Utrecht, v. 30, n. 2, p. 266–276, 2019.

PATRIOTA, Y. B. G. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação de atividade antimicrobiana in vitro de microemulsão contendo derivado tiofênico para administração oral**. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

PCZIECZEK, A.; EFFTING, C.; GOMES, I. R.; SCHACKOW, A.; HENNING, E. Statistical analysis of mechanical properties of mortars with fly ash and waste tire rubber. **Revista IBRACON de Estruturas e Materiais**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 790–811, 2019.

PINEDA-REYES, A. M.; OLVERA, M. la L. Synthesis of ZnO nanoparticles from water-in-oil (w/o) microemulsions. **Materials Chemistry and Physics**, Amsterdam, v. 203, p. 141–147, 2018.

PINEROS, I.; SLOWING, K.; SERRANO, D. R.; DE PABLO, E.; BALLESTEROS, M. P. Analgesic and anti-inflammatory controlled-released injectable microemulsion: Pseudo-ternary phase diagrams, in vitro, ex vivo and in vivo evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 101, p. 220–227, 2017.

POH, Y.; NG, S.; HO, K. Formulation and characterisation of 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate-in-oil microemulsions as the potential vehicle for drug delivery across the skin barrier. **Journal of Molecular Liquids**, New York, v. 273, p. 339–345, 2019.

POOMANEE, W.; CHAIYANA, W.; RANDALL WICKETT, R.; LEELAPORNPISID, P. Stability and solubility improvement of Sompoi (*Acacia concinna* Linn.) pod extract by topical microemulsion. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, v. 12, n. 4, p. 386–393, 2017.

PRABHU, P.; SURYAVANSHI, S.; PATHAK, S.; PATRA, A.; SHARMA, S.; PATRAVALE, V. Nanostructured lipid carriers of artemether–lumefantrine combination for intravenous therapy of cerebral malaria. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 513, n. 1–2, p. 504–517, 2016.

PRAMANIK, A.; SAHOO, R. N.; NANDA, A.; MOHAPATRA, R.; SINGH, R.; MALLICK, S. Ocular Permeation and Sustained Anti-inflammatory Activity of Dexamethasone from Kaolin Nanodispersion Hydrogel System. **Current Eye Research**, London, v. 43, n. 6, p. 828–838, 2018.

PRASAD, M.; LAMBE, U. P.; BRAR, B.; SHAH, I.; J, M.; RANJAN, K.; RAO, R.; KUMAR, S.; MAHANT, S.; KHURANA, S. K.; IQBAL, H. M. N.; DHAMA, K.; MISRI, J.; PRASAD, G. Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, New York, v. 97, p. 1521–1537, 2018.

PRÉVOST, S.; GRADZIELSKI, M.; ZEMB, T. Self-assembly, phase behaviour and structural behaviour as observed by scattering for classical and non-classical microemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 247, p. 374–396, 2017.

PUGLIA, C.; BLASI, P.; RIZZA, L.; SCHOUBBEN, A.; BONINA, F.; ROSSI, C.; RICCI, M. Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: An in vitro and in vivo investigation. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 357, n. 1–2, p. 295–304, 2008.

QI, H.; CHEN, Q.; REN, H.; WU, X.; LIU, X.; LU, T. Electrophoretic deposition of dexamethasone-loaded gelatin nanospheres/chitosan coating and its dual function in anti-inflammation and osteogenesis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 169, p. 249–256, 2018.

RAHDAR, A.; TABOADA, P.; HAJINEZHAD, M. R.; BARANI, M.; BEYZAEI, H. Effect of tocopherol on the properties of Pluronic F127 microemulsions: Physico-chemical characterization and in vivo toxicity. **Journal of Molecular Liquids**, New York, v. 277, p. 624–630, 2019.

RASHID, M. A.; NAZ, T.; ABBAS, M.; NAZIR, S.; YOUNAS, N.; MAJEED, S.; QURESHI, N.; AKHTAR, M. N. Chloramphenicol Loaded Microemulsions: Development, Characterization and Stability. **Colloids and Interface Science Communications**, [s. l.], v. 28, p. 41–48, 2019.

RENAME. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 218 p.

SALAZAR, M. J. C. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana-gelatina e quitosana-colágeno visando a liberação de fármacos**. 2015. 114 f. Dissertação (Mestrado em Química)– Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015

SANTOS, P. C. **Nanopartículas : Toxicidade Biológica**. 2014. 55 f. Trabalho de

Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)– Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

SAVIĆ, V.; TODOSIJEVIĆ, M.; ILIĆ, T.; LUKIĆ, M.; MITSOU, E.; PAPADIMITRIOU, V.; AVRAMIOTIS, S.; MARKOVIĆ, B.; CEKIĆ, N.; SAVIĆ, S. Tacrolimus loaded biocompatible lecithin-based microemulsions with improved skin penetration: Structure characterization and in vitro/in vivo performances. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 529, n. 1–2, p. 491–505, 2017.

SAVRIK, S. A.; BALKÖSE, D.; LKU, S. Synthesis of zinc borate by inverse emulsion technique for lubrication. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [s. l.], v. 104, n. 2, p. 605–612, 2011.

SCHELLER, K. J.; WILLIAMS, S. J.; LAWRENCE, A. J.; JARROTT, B.; DJOUMA, E. An improved method to prepare an injectable microemulsion of the galanin-receptor 3 selective antagonist, SNAP 37889, using Kolliphor® HS 15. **MethodsX**, Amsterdam, v. 1, p. 212–216, 2014.

SCHERHOLZ, M. L.; SCHLESINGER, N.; ANDROULAKIS, I. P. Pharmacology of glucocorticoids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, p. 67–81, 2018.

SCHMIDTS, T.; NOCKER, P.; LAVI, G.; KUHLMANN, J.; CZERMAK, P.; RUNKEL, F. Development of an alternative, time and cost saving method of creating pseudoternary diagrams using the example of a microemulsion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 340, n. 1–3, p. 187–192, 2009.

SCOTT, D. L.; WOLFE, F.; HUIZINGA, T. W. J. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, London, v. 376, p. 1024–1108, 2010.

SHAH, R. M.; ELDRIDGE, D. S.; PALOMBO, E. A.; HARDING, I. H. Encapsulation of clotrimazole into solid lipid nanoparticles by microwave-assisted microemulsion technique. **Applied Materials Today**, Oxford, v. 5, p. 118–127, 2016.

SHARMA, R.; KUMARI, A.; SINGH, N. S.; SINGH, M. K.; DUBEY, S.; IQBAL, N.; PATANJALI, P. K. Development and stability enhancement of neem oil based microemulsion formulation using botanical synergist. **Journal of Molecular Liquids**, New York, v. 296, p. 112012, 2019.

SHUKLA, T.; UPMANYU, N.; AGRAWAL, M.; SARAF, S.; SARAF, S.; ALEXANDER, A. Biomedical applications of microemulsion through dermal and transdermal route. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, New York, v. 108, p. 1477–1494, 2018.

SIDDIQA, A. J.; SHRIVASTAVA, N. K.; ALI MOHSIN, M. E.; ABIDI, M. H.; SHAIKH, T. A.; EL-MELIGY, M. A. Preparation of letrozole dispersed pHEMA/AAm-g-LDPE drug release system: In-vitro release kinetics for the treatment of endometriosis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 179, p. 445–452, 2019.

SILVA, J. A.; GUIMARÃES, G. P.; PATRIOTA, Y. B. G.; SILVA, N. E. de S.; SOUSA, C. E. M.; MENDONÇA JUNIOR, F. J. B.; SANTANA, D. P.; DAMASCENO, B. P. G. de L.

Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para quantificação de um derivado tiofênico em sistemas microemulsionados. **Revista de Ciências Farmaceuticas Basica e Aplicada**, Araraquara, v. 35, n. 4, p. 643–649, 2014.

SINDHU, P.; KUMAR, S.; IQBAL, B.; ALI, J.; BABOOTA, S. Duloxetine loaded-microemulsion system to improve behavioral activities by upregulating serotonin and norepinephrine in brain for the treatment of depression. **Journal of Psychiatric Research**, Oxford, v. 99, p. 83–95, 2018. a.

SMAJDOR, J.; PIECH, R.; PACZOSA-BATOR, B. Highly sensitive voltammetric determination of dexamethasone on amalgam film electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Amsterdam, v. 809, p. 147–152, 2018.

SMIT-MCBRIDE, Z.; MODJTAHEDI, S. P.; MORSE, L. S. Dexamethasone 's Uses in Retinal Diseases. **Nova Science Publishers**, [s. l.], p. 87–116, 2013.

SOLANKI, P.; PATEL, S.; DEVKAR, R.; PATEL, A. Camptothecin encapsulated into functionalized MCM-41: In vitro release study, cytotoxicity and kinetics. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], v. 98, n. January, p. 1014–1021, 2019.

SRIVASTAVA, S.; SINGH, D.; PATEL, S.; PARIHAR, A. K. S.; SINGH, M. R. Novel carriers and targeted approaches: Way out for rheumatoid arthritis quadrum. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 40, p. 125–135, 2017.

SWAMINATHAN, S.; VAVIA, P. R.; TROTTA, F.; CAVALLI, R. Nanosponges encapsulating dexamethasone for ocular delivery: Formulation design, physicochemical characterization, safety and corneal permeability assessment. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, Stevenson Ranch, v. 9, n. 6, p. 998–1007, 2013.

SWE, M. T. H.; ASAVAPICHAYONT, P. Effect of silicone oil on the microstructure, gelation and rheological properties of sorbitan monostearate–sesame oil oleogels. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hong Kong, v. 13, n. 5, p. 485–497, 2018.

SYED, A.; DEVI, V. K. Potential of targeted drug delivery systems in treatment of rheumatoid arthritis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 53, n. August, p. 101217, 2019.

TAN, G.; YU, S.; LI, J.; PAN, W. Development and characterization of nanostructured lipid carriers based chitosan thermosensitive hydrogel for delivery of dexamethasone. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 103, p. 941–947, 2017.

TAO, J.; ZHU, Q.; QIN, F.; WANG, M.; CHEN, J.; ZHENG, Z. P. Preparation of steppogenin and ascorbic acid, vitamin E, butylated hydroxytoluene oil-in-water microemulsions: Characterization, stability, and antibrowning effects for fresh apple juice. **Food Chemistry**, Barking, v. 224, p. 11–18, 2017.

THAKRAL, N. K.; ZANON, R. L.; KELLY, R. C.; THAKRAL, S. Applications of Powder X-Ray Diffraction in Small Molecule Pharmaceuticals: Achievements and Aspirations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 107, n. 12, p. 2969–2982, 2018.

THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. **The Merck Index**. Fifteenth ed. [s.l.: s.n.].

TRUJILLO-RAMÍREZ, D.; LOBATO-CALLEROS, C.; VERNON-CARTER, E. J.; ALVAREZ-RAMÍREZ, J. Cooling rate, sorbitan and glyceryl monostearate gelators elicit different microstructural, viscoelastic and textural properties in chia seed oleogels. **Food Research International**, Ottawa, v. 119, p. 829–838, 2019.

TUNG, N.-T.; VU, V.-D.; NGUYEN, P.-L. DoE-based development, physicochemical characterization, and pharmacological evaluation of a topical hydrogel containing betamethasone dipropionate microemulsion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 181, p. 480–488, 2019.

TYAGI, P.; SUBRAMONY, J. A. Nanotherapeutics in oral and parenteral drug delivery: Key learnings and future outlooks as we think small. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 272, p. 159–168, 2018.

UJHELYI, Z.; VECSENYÉS, M.; FEHÉR, P.; KÓSA, D.; ARANY, P.; NEMES, D.; SINKA, D.; VASVÁRI, G.; FENYVESI, F.; VÁRADI, J.; BÁCSKAY, I. Physico-chemical characterization of self-emulsifying drug delivery systems. **Drug Discovery Today: Technologies**, Oxford, v. 27, p. 81–86, 2018.

URBAN, M. C. C.; MAINARDES, R. M.; GREMIÃO, M. P. D. Development and validation of HPLC method for analysis of dexamethasone acetate in microemulsions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 87–92, 2009.

URBANSKA, J.; KAREWICZ, A.; NOWAKOWSKA, M. Polymeric delivery systems for dexamethasone. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 96, n. 1–2, p. 1–6, 2014.

VANDEWALLE, J.; LUYPAERT, A.; BOSSCHER, K.; LIBERT, C. Therapeutic mechanisms of glucocorticoids. **Trends Endocrinology e Metabolism**, New York, v. 29, n. 1, p. 42–54, 2018.

VAZ, A. E.; FARIA JÚNIOR, W. A.; LAZARSKI, C. F. S.; DO CARMO, H. F.; DA ROCHA SOBRINHO, H. M. Perfil epidemiológico e clínico de pacientes portadores de artrite reumatóide em um hospital escola de medicina em Goiânia, Goiás, Brasil. **Medicina (Brazil)**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 141–153, 2013.

VEDOVATO, N. B. **Avaliação do potencial de sistemas nanoestruturados para a administração cutânea de dexametasona**. 2011. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2011.

VILLEGAS, M.; CID, A. G.; BRIONES, C. A.; ROMERO, A. I.; PISTÁN, F. A.; GONZO, E. E.; GOTTIFREDI, J. C.; BERMÚDEZ, J. os. M. Films based on the biopolymer poly(3-hydroxybutyrate) as platforms for the controlled release of dexamethasone. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Riyadh, v. 27, n. 5, p. 694–701, 2019.

VLADISAVLJEVIĆ, G. T. Preparation of microemulsions and nanoemulsions by membrane emulsification. **Colloids and Surfaces A**, Amsterdam, v. 579, p. 123709, 2019.

VOLPE, V.; NASCIMENTO, D. S.; INSAUSTI, M.; GRÜNHUT, M. Octyl p-methoxycinnamate loaded microemulsion based on *Ocimum basilicum* essential oil. Characterization and analytical studies for potential cosmetic applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 546, p. 285–292, 2018.

WALTON C. H. Clinical experience with dexamethasone. **Can Med Assoc J.**, Ottawa, v. 81, p. 724–726, 1959.

WANDERLEY NETO, A. O.; SILVA, V. L.; RODRIGUES, D. V.; RIBEIRO, L. S.; SILVA, D. N. N. Da; FREITAS, J. C. de O. A novel oil-in-water microemulsion as a cementation flushing fluid for removing non-aqueous filter cake. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, Amsterdam, v. 184, p. 106536, 2019.

WANG, H.; NIU, Y.; FEI, G.; SHEN, Y.; LAN, J. In-situ polymerization, rheology, morphology and properties of stable alkoxysilane-functionalized poly (urethane-acrylate) microemulsion. **Progress in Organic Coatings**, Lausanne, v. 99, p. 400–411, 2016. a.

WANG, Q.; JIANG, H.; LI, Y.; CHEN, W.; LI, H.; PENG, K.; ZHANG, Z.; SUN, X. Targeting NF- κ B signaling with polymeric hybrid micelles that co-deliver siRNA and dexamethasone for arthritis therapy. **Biomaterials**, Guilford, v. 122, p. 10–22, 2017.

WANG, Q.; JIANG, J.; CHEN, W.; JIANG, H.; ZHANG, Z.; SUN, X. Targeted delivery of low-dose dexamethasone using PCL-PEG micelles for effective treatment of rheumatoid arthritis. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 230, p. 64–72, 2016. b.

WEBSTER, D. M.; SUNDARAM, P.; BYRNE, M. E. Injectable nanomaterials for drug delivery: Carriers, targeting moieties, and therapeutics. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 1–20, 2013.

WEN, Y.; BAN, J.; MO, Z.; ZHANG, Y.; AN, P.; LIU, L.; XIE, Q.; DU, Y.; XIE, B.; ZHAN, X. . et al. A potential nanoparticle-loaded in situ gel for enhanced and sustained ophthalmic delivery of dexamethasone. **Nanotechnology**, Bristol, v. 29, n. 42, 2019.

XIAO, X.; WANG, F.; ZHOU, J.; LUO, J.; LI, J.; YI, X. Oral delivery of coix seed oil in o/w microemulsion: Preparation, characterization, and in vitro and in vivo evaluation: Preparation, in vitro and in vivo evaluation of oral CSOME. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 54, p. 101325, 2019.

XU, Z.; JIN, J.; ZHENG, M.; ZHENG, Y.; XU, X.; LIU, Y.; WANG, X. Co-surfactant free microemulsions: Preparation, characterization and stability evaluation for food application. **Food Chemistry**, Barking, v. 204, p. 194–200, 2016.

YANG, M.; FENG, X.; DING, J.; CHANG, F.; CHEN, X. Nanotherapeutics relieve rheumatoid arthritis. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 252, p. 108–124, 2017.

YIN, Y. M.; CUI, F. De; MU, C. F.; CHOI, M. K.; KIM, J. S.; CHUNG, S. J.; SHIM, C. K.; KIM, D. D. Docetaxel microemulsion for enhanced oral bioavailability: Preparation and in

vitro and in vivo evaluation. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 140, n. 2, p. 86–94, 2009.

YOUNES, N. F.; ABDEL-HALIM, S. A.; ELASSASY, A. I. Solutol HS15 based binary mixed micelles with penetration enhancers for augmented corneal delivery of sertaconazole nitrate: Optimization, in vitro, ex vivo and in vivo characterization. **Drug Delivery**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 1706–1717, 2018.

YUAN, Y.; ZHOU, X.; LI, J.; YE, S.; JI, X.; LI, L.; ZHOU, T.; LU, W. Development and validation of a highly sensitive LC-MS/MS method for the determination of dexamethasone in nude mice plasma and its application to a pharmacokinetic study. **Biomed. Chromatogr.**, London, v. 29, n. 4, p. 578–583, 2015.

ZEB, A.; QURESHI, O. S.; YU, C.-H.; AKRAM, M.; KIM, H.-S.; KIM, M.-S.; KANG, J.-H.; MAJID, A.; CHANG, S.-Y.; BAE, O.-N.; KIM, J.-K. Enhanced anti-rheumatic activity of methotrexate-entrapped ultradeformable liposomal gel in adjuvant-induced arthritis rat model. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 525, n. 1, p. 92–100, 2017.

ZHANG, H.; WANG, Z.; LIU, O. Simultaneous determination of kolliphor HS15 and miglyol 812 in microemulsion formulation by ultra-high performance liquid chromatography coupled with nano quantity analyte detector. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 11–17, 2016.

ZHANG, Y.; HUO, M.; ZHOU, J.; ZOU, A.; LI, W.; YAO, C.; XIE, S. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **AAPS Journal**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 263–271, 2010.

ZHAO, Z.; LIAN, Y.; ZHU, Y.; YE, H.; LIU, M.; LI, J. Depot lidocaine-loaded microemulsion for prolonged local anesthesia: Different efficacy model studies. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 55, n. August 2019, p. 1–8, 2020.