

Uso de diagramas de fase pseudoternários como ferramenta de obtenção de nanoemulsões transdérmicas

Use of pseudo-ternary phase diagrams as a tool to produce transdermal nanoemulsion

José Aleksandro da Silva¹, Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno², Valéria Ferreira da Costa Borba³, Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito⁴ & Davi Pereira de Santana³

RESUMO – As nanoemulsões (NE) são dispersões isotrópicas, transparentes, termodinamicamente estáveis, usualmente formadas por misturas de 4 componentes, água, óleo, tensoativo (T) e cotensoativo (CO). A construção de diagramas de fase pseudoternários (DFPT) é uma ferramenta fundamental para obtenção de sistemas nanoemulsionados. Os DFPT, deste estudo, foram obtidos por inspeção visual das misturas dos componentes PEG-8 cáprico caprílico glicérido (T) com poligliceril-6 dioleato (CO) na proporção 4:1; 3:1; 2:1 e 1:1 e, a esta mistura de T/CO, foi adicionado miristato de isopropila (fase oleosa) nas proporções 1:9 a 9:1. As titulações foram feitas com água ultrapura, utilizando uma pipeta automática ajustada a 1000µL, gota a gota, sob agitação magnética e à temperatura ambiente. Após as titulações, foi possível definir as várias regiões dos diagramas. A técnica empregada para a sua determinação mostrou-se simples e reprodutível, podendo indicar a melhor combinação dos componentes da fórmula e suas respectivas quantidades, a fim de produzir um sistema estável para a incorporação de fármacos.

PALAVRAS-CHAVE – Diagramas de fase pseudoternário; nanoemulsões transdérmicas.

SUMMARY – The nanoemulsions (NE) are isotropic, transparent and thermodynamically stable systems. They are usually produced with 4 ingredients: water, oil, surfactant and co-surfactant. The pseudo-ternary phase diagram (PTPD) construction is an essential step to NEs systems' production. The PTPD were produced by the mixture 4:1, 3:1, 2:1 and 1:1 of PEG-8 caprylic/capric glycerides (T) and polyglyceryl-6 dioleate (CO), respectively, with the isopropyl miristrate [oil phase (O)] in the range from 1:9 to 9:1. To this T/CO/O mixture, the aqueous phase (water Milli-Q) was titrate with an automatic pipette, and shaken with magnetic stirrer at room temperature. After the titration, the transition from separated phase to optically clear NE was seen and analyzed by naked eye. The technique used to determine the NE regions in the PTPD and the bist ratio of NE components were simple, reliable, and suitable to obtain droplets with nanometer dimensions and generate a thermodynamic stable system (NE systems).

KEYWORDS – Pseudo-ternary phase diagram; transdermal nanoemulsion.

INTRODUÇÃO

As NE são dispersões isotrópicas, transparentes, termodinamicamente estáveis, usualmente formadas por misturas de 4 componentes, água, óleo, tensoativo e cotensoativo. Elas apresentam grande potencial como sistemas de liberação e de direcionamento de fármacos, pelas propriedades de solubilizar fármacos hidrofílicos em meio lipofílico, lipofílico em meio aquoso e anfifílicos na interface óleo/água (KE *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2004; DJORDJEVIC *et al.*, 2004; ESCRIBANO *et al.*, 2003; MENDONÇA, BICA & PIATNICKI, 2003; PAOLINO *et al.*, 2002; TAHA *et al.*, 2002; SILVA, 2001; CANDAU & PABON, 1999; CONSTANTINIDES &

SCALART, 1997; TROTA & GASCO, 1994; LEUNG & SHA, 1989).

Este sistema apresenta uma estabilidade termodinâmica que oferece vantagens sobre dispersões instáveis e sistemas tradicionais de liberação tópica e transdérmicas, pois é possível a incorporação de vários tipos de compostos na fase que apresenta baixa constante dielétrica (fase oleosa), na região interfacial (constante dielétrica intermediária entre o óleo e a água) e ou na fase aquosa em que a constante dielétrica é elevada (KE *et al.*, 2005; CHEN & CHANG, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2004; SHAH, 1998; LEUNG & SHA, 1989).

Além disso, esses sistemas podem se formar espontaneamente (SINTOV & BOTNER, 2006; PAOLINO *et al.*,

Data do aceite: 10/8/2009

¹Depto. de Farmácia, Univ. Estadual da Paraíba, Rua Juvêncio Arruda, s/n, 58109-790, Campina Grande-PB, Brasil

²Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, Univ. Estadual da Paraíba, João Pessoa-PB, Brasil

³Departamento Ciências Farmacêuticas, Univ. Federal de Pernambuco, Programa Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC), Recife-PE, Brasil

⁴Depto. de Farmácia, Laboratório de Sistemas Dispersos (LASID), Univ. Fed. do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil

2002; CANDAU & PABON, 1999) e resultarem em sistemas reservatórios com propriedades particulares (FORMARIZ *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2004) podendo existir sob várias formas estruturais: globular (a/o, o/a), bicontínuas e cúbicas ou lamelares (JURKOVIC & GASPERLIN, 2004; SHA, 1998).

O sistema de equilíbrio das fases em preparações contendo três ou mais componentes, como é o caso das NE, são representados classicamente por um DFPT (Figura 1), em que cada vértice do triângulo representa 100% de um componente particular. Este diagrama permite identificar várias regiões geradas, assim como aquela que representa a melhor combinação dos componentes da fórmula em suas respectivas quantidades e que produz o sistema de maior estabilidade (MACEDO, 2005).

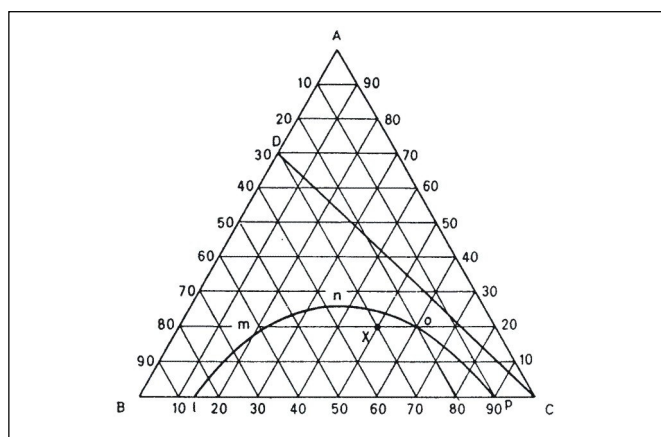


FIG. 1 - Representação esquemática de um DFPT.
Fonte: FLORENCE & ATTWOOD (2003).

A construção de DFPT é uma ferramenta fundamental para caracterizar o domínio das regiões de NE, cuja interpretação descreve as estruturas presentes contidas neles, podendo-se escolher a região cuja viscosidade é mais apropriada para o fármaco ser incorporado (FORMARIZ, 2004). Dahl, em 1946, em seu estudo sobre cristalização, foi um dos primeiros pesquisadores a estudar e interpretar os DFPTs (MACEDO, 2005).

Os diagramas são construídos em três dimensões a partir de dados obtidos por titulação ou pela preparação de um amplo número de amostras de diferentes composições. A vantagem do primeiro método é que este pode ser usado para estudar um amplo número de amostras de diferentes composições de uma maneira mais rápida, indicando as proporções nas quais os componentes devem ser misturados (LAWRENCE & REES, 2000) e as várias formas encontradas no sistema podem ser identificadas qualitativamente pela comparação com estudos prévios na literatura (BAKER & FLORENCE, 1984).

Segundo CERA (2001), as propriedades dos triângulos equiláteros devem ser extremamente exploradas, ou seja, a soma dos lados perpendiculares de um determinado ponto no triângulo é igual a sua altura. A Figura 1 mostra um triângulo equilátero onde cada lado (dividido em 100 partes correspondentes à composição centesimal de cada ponto) é representado por um dos componentes da fórmula. O ponto A representa a mistura T/CO, o ponto B, a água e o C, o óleo (MACEDO, 2005). Na escolha de um ponto do diagrama, para obter uma formulação, é importante evitar

regiões limites, caso contrário, haverá o perigo de indesejáveis transições de fase (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

A abordagem contextualizada no ensino da farmacotécnica tem se mostrado eficiente para a compreensão dos conteúdos que envolvem o ensino-aprendizagem dessa ciência. No entanto, o tema abordado neste trabalho ainda é considerado pouco explorado nas revistas de publicação nacional na área farmacêutica. Considerando que pesquisas relatadas na literatura apontam a eficácia de estratégias de desenvolvimentos de novas formas farmacêuticas (NE) pautadas na utilização de artigos científicos, temos como objetivo, desenvolver os DFPT para obtenção de NE transdérmicas e identificar o domínio de regiões de NE líquidas ou géis opticamente transparentes, isotrópicas e estáveis para posterior estudo de desenvolvimento farmacotécnico, caracterização e utilização em cinéticas de permeação *in vitro*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substâncias de referência

PEG-8 cáprico/caprílico glicerídios (Labrasol[®]) e poligliceril-6 dioleato (Plurol Oleique[®]) foram obtidos pela Gattefossé-França; miristato de isopropila foi adquirida pela Volp, Brasil. A água purificada foi produzida por um sistema Millipore Milli-Q[®] (Millipore Corporation, USA).

Construção dos diagramas de fase pseudoternários

Os diagramas foram obtidos por inspeção visual das misturas dos componentes polietilenoglicol-8 cáprico caprílico glicerídeo (T) com poligliceril 6-dioleato (CO) na proporção 4:1; 3:1; 2:1 e 1:1 e, a esta mistura, foi adicionado miristato de isopropila (fase oleosa) nas proporções de 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1, respectivamente. As titulações foram feitas com água purificada ultrapura Milli-Q[®], utilizando uma pipeta automática ajustada para 1000µL, adicionando gota a gota, em temperatura ambiente. Durante a titulação, a mistura foi homogeneizada por agitador magnético por 3min e as mudanças do aspecto visual, contra um fundo preto, foram observadas. Considerando-se as proporções dos componentes, após as titulações aquosas, plotaram-se os pontos em que se deu a formação de sistema isotrópico e opticamente transparente líquido ou gel (NEs) ou de NEs para sistema opaco líquido ou sólido (emulsão) ou dispersão opaca ou ainda separação de fases em cada diagrama. (KE *et al.*, 2005; DJORDJEVIC *et al.*, 2004; FORMARIZ *et al.*, 2007; FORMARIZ *et al.*, 2006; SINTOV & SHAPIRO, 2004). Os diagramas foram feitos em duplicatas.

Seleção das formulações NE

Após a construção dos DFPT, as formulações NE líquidas e gel foram obtidas de regiões distintas dos DFPTs. A partir dessas regiões, foram selecionadas 14 formulações (NEs líquidas e gel), as quais foram preparadas por simples solubilização dos componentes sob agitação magnética. As formulações foram preparadas 48h antes dos testes de caracterização para estabilização termodinâmica do sistema em temperatura ambiente (SILVA *et al.*, 2009).

Microscopia de luz polarizada

A isotropia das NE foram realizadas por microscopia de luz polarizada e *software* analisador de imagem (Zeiss) depois de percorrido o tempo de 5 dias para o equilíbrio dos sistemas (ROSSETI, 2006).

Determinação do índice de refração (IR)

O IR foi determinado, utilizando-se Refratômetro de Abbé, Carl Zeiss-Jena, aferido com água deionizada ultrapura Milli-Q® (índice de refração 1,3325), à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C, em triplicata (FORMARIZ *et al.*, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento empregado na construção dos DFPTs, na maioria dos casos, constitui na preparação de misturas binárias com posterior titulação de um terceiro componente (óleo ou água), avaliando-se a mistura a cada adição (MACEDO, 2005), cujos resultados das misturas obtidas são registrados e plotados em um triângulo equilátero, onde cada ponto da superfície corresponde às proporções definidas dos componentes da mistura (LAWRENCE & RESS, 2000).

A mistura dos constituintes das NEs nem sempre conduzirá a um sistema disperso homogêneo, podendo coexistir diferentes estruturas (FORMARIZ, 2004). Um sistema de classificação foi proposto por Winsor em 1948 para definir os vários equilíbrios existentes entre as fases oleosas e aquosas, as quais foram estabelecidas em 4 tipos de sistemas:

- Região Winsor I, fase bifásica representada por uma fase oleosa em equilíbrio com uma fase emulsionada contendo óleo, água e a maior parte de mistura de tensoativo;
- Winsor II, também bifásica, constituída de uma fase aquosa em equilíbrio com uma emulsão;
- Winsor III, trifásica, contendo uma fase aquosa e outra oleosa, separadas por uma fase emulsionada e
- Winsor IV, correspondente a uma região monofásica visualmente (WINSOR, 1948).

Conforme já relatado anteriormente, os DFPTs desta pesquisa, foram obtidos a partir da mistura binária do PEG-8 cáprico caprílico glicerídeo (T) com poligliceril-6 dioleato (CO), cujos pontos experimentais obtidos através das titulações, refletiram as regiões limite e de transição entre as duas fases (aquosa e oleosa), as quais foram confeccio-

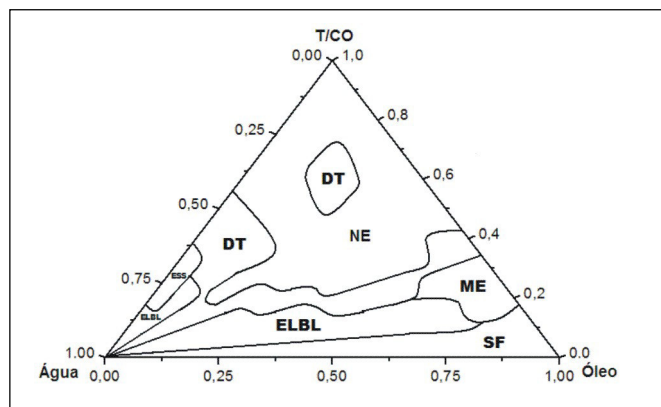


FIG. 2 - Diagrama de fase pseudoternário para o sistema PEG-8 cáprico/caprílico glicerídeo (Labrasol®)/poligliceril 6-dioleato (Plurol oleico®), miristato de isopropila e água para proporções T:CO 1:1. As áreas delimitadas representam: SF – separação de fases; ELBL – emulsão líquida branca leitosa; DT – dispersões turvas; ESS – emulsão semissólida; NE – nanoemulsão.

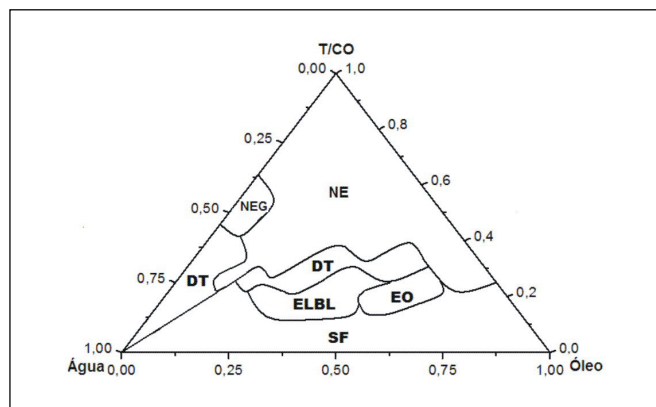


FIG. 3 - Diagrama de fase pseudoternário para o sistema PEG-8 cáprico/caprílico glicerídeo (Labrasol®)/poligliceril 6-dioleato (Plurol oleico®), miristato de isopropila e água para proporções T:CO 2:1. As áreas delimitadas representam: SF – separação de fases; ELBL – emulsão líquida branca leitosa; EO – emulsão opaca; DT – dispersões turvas; NE – nanoemulsão e NEG – nanoemulsão gel.

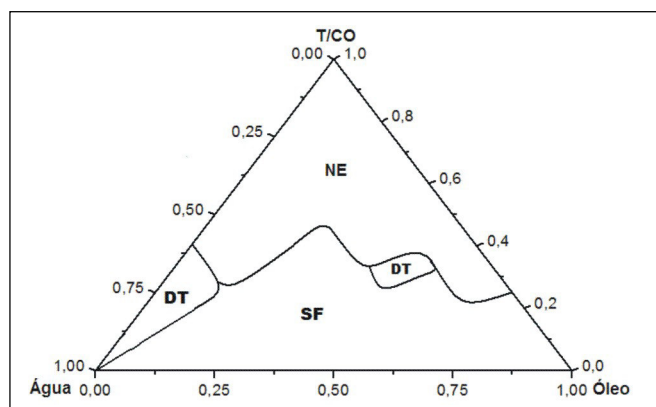


FIG. 4 - Diagrama de fase pseudoternário para o sistema PEG-8 cáprico/caprílico glicerídeo (Labrasol®)/poligliceril 6-dioleato (Plurol oleico®), miristato de isopropila e água para proporções T:CO 3:1. As áreas delimitadas representam: SF – separação de fases; DT – dispersões turvas; NE – nanoemulsão.

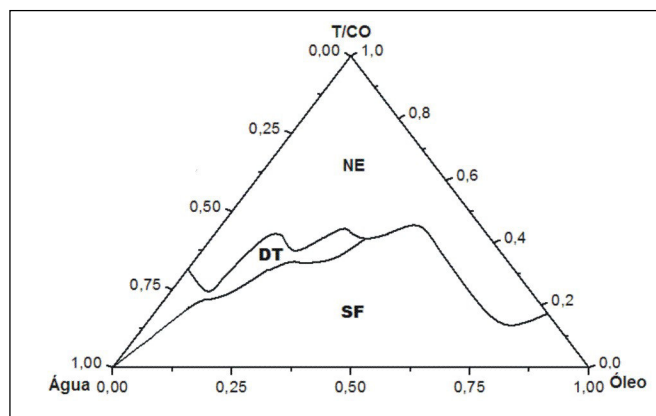


FIG. 5 - Diagrama de fase pseudoternário para o sistema PEG-8 cáprico/caprílico glicerídeo (Labrasol®)/poligliceril 6-dioleato (Plurol oleico®), miristato de isopropila e água para proporções T:CO 4:1. As áreas delimitadas representam: SF – separação de fases; DT – dispersões turvas; NE – nanoemulsão.

nadas nos diagramas das Figuras 2, 3, 4 e 5, estabelecendo-se as regiões de domínio das NE. Durante as titulações, teve-se o cuidado de padronizar a homogeneização para que um aumento inadequado da velocidade não proporcionasse a coalescência das gotículas, gerando resultados inadequados, além do tempo de observação ser padronizado em 3min.

Os sistemas NEs foram diferenciados dos demais por inspeção visual contra um fundo preto, uma vez que os demais sistemas se apresentaram como emulsão líquida

branco leitosa (ELBL), emulsão semissólida (ESS), emulsão opaca (EO), dispersão turva ou sistema turvo (DT) e separação de fases (SF). A partir dos dados das Figuras 2, 3, 4 e 5, observa-se uma larga faixa do lado de cima de cada diagrama, cujos destaques são as regiões de NEs, para qualquer proporção de T/CO, aos quais foram caracterizadas por microscopia de luz polarizada como sendo sistemas isotrópicos, cujas propriedades são utilizadas para revelar informações sobre a microestrutura interna dos sistemas (FORMARIZ *et al.*, 2007). Sendo assim, as NEs encontradas apresentaram apenas um índice de refração ($\approx 1,39 \pm 0,01$), não havendo, portanto, nenhum desvio ou vibração da luz polarizada, as quais se apresentaram com as mesmas propriedades ópticas em todas as direções, sejam com elevada ($\sim 90\%$) ou com baixa concentração ($\sim 30\%$) de água.

Segundo MACEDO (2005), as regiões do diagrama, particularmente com composição nas proximidades do eixo binário óleo/água, onde a quantidade de surfactante é insuficiente para a formação de uma única fase, podem existir sob a forma de múltiplas fases, cuja complexidade aumenta com o número dos componentes da mistura. Estes sistemas multifásicos podem ser descritos pela classificação de Winsor (WINSOR, 1948). A Figura 6 mostra os resultados da classificação Winsor desta pesquisa, a qual foi possível determinar em condições experimentais as regiões limites de transição, ou seja, equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase oleosa em excesso (Winsor I), equilíbrio entre a fase emulsionada e a fase aquosa em excesso (Winsor II), sistema trifásico óleo/emulsão/água (Winsor III) e formação de um sistema monofásico (Winsor IV), caracterizando as NEs. Nesta classificação, o sistema NE, geralmente explorado como sistema de liberação de fármacos é conhecido como sistema de Winsor IV.

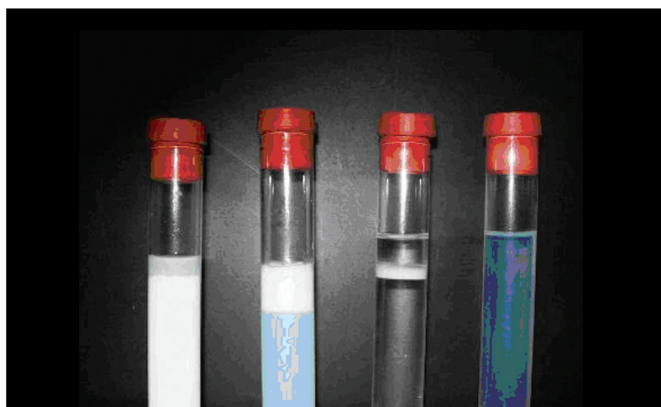


FIG. 6 - Representação da classificação de Winsor, representados respectivamente por Winsor I, Winsor II, Winsor III e Winsor IV.

Durante o processo de produção dos sistemas NEs, selecionados a partir dos DFPT deste estudo, foi possível observar que a energia empregada e as proporções de seus componentes (óleo, água, tensoativo e cotensoativo) foram apropriadas para reduzir a tensão interfacial até certo ponto e foi capaz de conduzir a formação de um sistema homogêneo, límpido e translúcido tipo Winsor IV que é característico de NE (WINSOR, 1948). Tal observação está em concordância com OSBORNE & WARD (1990), quando afirma que a estabilidade termodinâmica das NE é um fator de suma importância para os sistemas tópicos, pois, estas características resultam numa formulação cujas propriedades não dependem do processo de fabrica-

ção, ou seja, velocidade de rotação e esfriamento forçado e que não sofrerá separação de fases, desde que a pressão e a temperatura permaneçam razoavelmente constantes.

CONCLUSÃO

A técnica empregada para a determinação do DFPT se mostrou bastante simples e reprodutível, onde foi possível determinar e identificar as várias regiões geradas como NE líquida e gel, emulsão líquida branca leitosa, emulsão opaca, emulsão semissólida e separação de fases, além de indicar a melhor combinação dos componentes das fórmulas em suas respectivas quantidades a fim de produzir um sistema mais estável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKER, R.C. & FLORENCE, A.T. Investigations into the Formation and Characterization of Microemulsions .1. Phase-Diagrams of the Ternary-System Water Sodium Alkyl Benzene Sulfonate Hexanol and the Quaternary System Water Xylene Sodium Alkyl Benzene Sulfonate Hexanol. *J. Colloid Interface Sci.*, 100(2): p 311-33, 1984.
2. CANDAU, F. & PABON, M. Polymerizable microemulsions: some criteria to achieve an optimal formulation. *Colloids Surf. B.*, 153(1): 47-59, 1999.
3. CERA, L.F.R. *Estudo da interação do diclofenaco sódico com microemulsões lipídicas: Formulação e liberação in vitro*. 2001. 145p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita, São Paulo.
4. CHEN, H. & CHANG, X. A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. *J. Control. Release*, v 98, p 427-436, 2004.
5. CONSTANTINIDES, P.P. & SCALART, J.P. Formulation and physical characterization of water-in-oil microemulsions containing long-versus medium-chain glycerides. *Int. J. Pharm.*, 158(1): p 57-68, 1997.
6. DJORDJEVIC, L.; PRIMORAC, M.; STUPAR, M.; KRAJISNIK, D. Characterization of caprylocaproyl macroglycerides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphiphilic drug. *Int. J. Pharm.*, 271 (1-2): p. 11-19, 2004.
7. ESCRIBANO, E.; CALPENA, A.C.; QUERALT, J.; OBACH, R. & DOMENECH, J. Assessment of diclofenac permeation with different formulations: anti-inflammatory study of a selected formula. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 19(4): p 203-210, 2003.
8. FLORENCE, A.T. & ATTWOOD, D. *Princípios Físico-Químicos em Farmácia*. Edusp, São Paulo, 2003, 333-335p.
9. FORMARIZ, T.P. *Incorporação da doxorubicina em microemulsões estabilizadas por fosfatidilcolina de soja e estudo da atividade antiproliferativa in vitro através de culturas de células*. 2004. 199p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
10. FORMARIZ, T.P.; URBAN, M.C.C.; SILVA-JUNIOR, A.A.; GREMIÃO, M.P.D. & OLIVEIRA, A.G. Microemulsão e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, 41(3): p 301-313, 2005.
11. FORMARIZ, T.P.; SARMENTO, V.H.V.; SILVA-JUNIOR, A.A.; SCARPA, M.V.; SANTILLI, C.V. & OLIVEIRA, A.G. Doxorubicin biocompatible O/W microemulsion stabilized by mixed surfactant containing soya phosphatidylcholine. *Colloids Surf. B.*, 51: p 54-61, 2006.
12. FORMARIZ, T.P.; CHIAVACCI, L.A.; SARMENTO, V.H.V.; SANTILLI, C.V.; EGITO, E.S.T. & OLIVEIRA, A.G. Relationship between structural features and *in vitro* release of doxorubicin from biocompatible anionic microemulsion. *Colloids Surf. B.*, 60: p 28-35, 2007.
13. JURKOVIC, P. & GASPERLIN, M. Microemulsion as dermal drug delivery systems. *Farmaceutski Vestnik*, 55: p 565-571, 2004.
14. KE, W.T.; LIN, S.Y.; HO, H.O. & SHEU, M.T. Physical characterizations of microemulsion systems using tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) as a surfactant for the oral delivery of protein drugs. *J. Control. Release*, 102(2): p 489-507, 2005.
15. LAWRENCE, M.J. & REES, D.G. Microemulsions-based as novel drug delivery systems. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 45: p 89-121, 2000.
16. LEUNG, R. & SHA, D.O. Microemulsions: an evolving technology for pharmaceutical applications. *Control. Release Drugs*, 1: p 185-216, 1989.
17. MACEDO, J.P.F. *Uso de diagramas ternários e HLB como ferramenta de previsão da estabilidade de sistemas emulsionados*. 2005. 72p. Dissertação (Mestrado Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

18. MENDONÇA, C.R.B.; BICA, C.I.D. & PIATNICKI, C.M.S. Water in soybean oil microemulsions as medium for electrochemical measurements. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14 (4): p 628-636, 2003.
19. OLIVEIRA, A.G.; SCARPA, M.V.; CORREA, M.A.; CERA, L. .R. & FORMARIZ, T.P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Quím. Nova*, 27(1): p 131-138, 2004.
20. OSBORNE, D.W. & WARD, A.J. *Surfactant association colloids as topical drug delivery vehicles. Topical drug delivery formulations*. M. Dekker, New York, 1990, 349-377p.
21. PAOLINO, D.; VENTURA, C.A.; NISTICO, S.; PUGLISI, G. & FRESTA, M. Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability. *Int. J. Pharm.* 244(1-2): p 21-31, 2002.
22. ROSSETI, F.C. *Microemulsões como sistema de liberação cutânea para zinco ftalocianina tetrassulfonada na terapia fotodinâmica do câncer de pele*. 2006. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade São Paulo, Ribeirão Preto.
23. SHAH, D.O. *Micelles, microemulsions and monolayers*. New York, 1998.
24. SILVA, H.S.R.C. *Estudo de sistema microemulsionados para aplicação na extração e formulação de própolis*. 2001. 116p. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
25. SILVA, J.A.; BEDOR, D.C.G.; DAMASCENO, B.P.G.L.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. & SANTANA, D.P. Physicochemical characterization and development of a microemulsion system for transdermal use. *J. Dispersion Sci. Technol.*, 30(8): p. no prelo, 2009.
26. SINTOV, A.C. & SHAPIRO, L. New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo. *J. Control. Release*, 95(2): p. 173-183, 2004.
27. SINTOV, A. C. & BOTNER, S. Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: Influence of skin storage conditions on the in vitro permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems. *Int. J. Pharm.*, 311(1-2): p 55-62, 2006.
28. TAHA, M.O.; AL-GHAZAWI, M.; ABU-AMARA, H. & KHALIL, E. Development of quantitative structure-property relationship models for pseudo-ternary microemulsions formulated with nonionic surfactants and cosurfactants: application of data mining and molecular modeling. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 15(5): p 461- 478, 2002.
29. TROTA, M. & GASCO, M.R.; Transcutaneous diffusion of hematoporphyrin in photodynamic therapy: in vitro release from microemulsion. *STP Pharm. Sci.*, 4: p 150-154, 1994.
30. WINSOR, P.A. Hydrotrophy, Solubilisation and Related Emulsification Processes. Part 1. *Trans. Faraday Soc.*, 44(6): p 376-398, 1948.

Autor correspondente
 José Alexandre da Silva
 e-mail: alexuepb@yahoo.com.br