

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Dissertação de Mestrado

**Avaliação da permeação cutânea de nanoemulsão contendo óleo de  
copaíba incorporada em hidrogéis**

LETÍCIA GROLI LUCCA

Porto Alegre, 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação da permeação cutânea de nanoemulsão contendo óleo de  
copaíba incorporada em hidrogéis**

Dissertação apresentada por **Letícia  
Grolli Lucca** para obtenção do GRAU  
DE MESTRE em Ciências  
Farmacêuticas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Letícia Scherer Koester

Porto Alegre, 2013.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 12.11.2013 pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Gilsane Lino Von Poser

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Martin Steppe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Tatiana Pereira de Souza

Universidade Federal do Amazonas

Grolli Lucca, Letícia

Avaliação da permeação cutânea de nanoemulsão contendo óleo de copaíba incorporada em hidrogéis / Letícia Grolli Lucca. -- 2013.

73 f.

Orientadora: Letícia Scherer Koester.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. Permeação cutânea. 2. Óleo de Copaíba. 3. Nanoemulsão. 4. Hidrogel. I. Scherer Koester, Letícia, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento Galênico e no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da UFRGS e na Central Analítica do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da UFRGS, com financiamento do CNPq e apoio da Rede NanoFito (CAPES).



Para cultivar a sabedoria é preciso força interior. Sem crescimento interno é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. Sem elas nossa vida se complica. O impossível torna-se possível com a força de vontade.

Dalai Lama



## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia S. Koester, pela oportunidade, pela confiança no meu trabalho e por todos os ensinamentos passados.

A todos do grupo de pesquisa do Laboratório de Desenvolvimento Galênico pela companhia, pelo conhecimento, pela força e, principalmente, pela amizade neste período. Agradeço especialmente as minhas amigas Cristiane, Sara, Bruna e Marina pelos momentos de alegria e aconselhamentos.

Ao Laboratório de Toxicologia e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Limberger pela disponibilidade dos seus equipamentos e também pela sua ajuda.

A bolsista de iniciação científica, Sheila, pela colaboração na realização dos experimentos.

Aos meus pais, Romildo e Ires, a minha irmã, Juliana, e a minha tia, Dorilda, pelo carinho, suporte emocional e financeiro (não necessariamente nesta ordem).

Ao Lúcio que, mesmo acompanhando por pouco tempo, pôde me ajudar com seu apoio incondicional, seu afeto e também com o seu talento em fazer gráficos.





## RESUMO

O óleo de copaíba é largamente utilizado na medicina popular da região amazônica, principalmente para tratar enfermidades relacionadas a inflamações. Estudos prévios demonstraram que o óleo extraído da espécie *Copaifera multijuga* Hayne tem uma promissora atividade anti-inflamatória, assim como seu componente majoritário, o  $\beta$ -cariofileno. Entretanto, o caráter untuoso deste óleo torna pouco aceitável sua aplicação direta na pele. Nosso grupo de pesquisa propôs a formulação de nanoemulsões contendo o óleo, uma vez que estes sistemas, além de hidrofílicos, possuem pequeno tamanho de gotícula e alta área de superfície, o que pode melhorar a penetração de substâncias através da pele. O único inconveniente destes é a sua baixa viscosidade, que pode ser contornado por sua incorporação em um hidrogel. No presente estudo, foi desenvolvida uma formulação de hidrogel contendo a nanoemulsão de óleo de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) e avaliado seu perfil de permeação/retenção cutânea no modelo de pele de orelha suína. A viabilidade de incorporação da nanoemulsão em dois agentes geleificantes (Carbopol 980® e quitosana) foi testada. No período de sete dias, a formulação de quitosana, ao contrário da formulação de Carbopol 980® (CARB-NE) que permaneceu estável por 60 dias, apresentou visível instabilidade e aumento dos valores de tamanho de gotícula e índice de polidispersão. Devido a isto, a formulação CARB-NE foi escolhida para dar continuidade aos estudos de perfil reológico e de permeação/retenção cutânea. O perfil reológico de CARB-NE foi caracterizado como pseudoplástico, assim como o do hidrogel controle, o que indica que a nanoemulsão não interferiu na matriz polimérica do hidrogel. A formulação CARB-NE aumentou significativamente a penetração do componente  $\beta$ -cariofileno na derme comparada com a nanoemulsão não incorporada em hidrogel. Não houve um aumento da penetração na epiderme, e os valores não foram significativamente diferentes para as duas formulações. Portanto, o hidrogel de Carbopol 980® demonstrou ser o melhor agente geleificante para a nanoemulsão de copaíba, já que permaneceu estável durante o tempo testado e aumentou a penetração de  $\beta$ -cariofileno na pele, especialmente na derme, camada de interesse no tratamento da inflamação pela via tópica.

*Palavras-chave: Permeação cutânea, óleo de copaíba, nanoemulsão, hidrogel.*



## ABSTRACT

### ***Skin permeation evaluation of nanoemulsion-loaded copaiba oil incorporated into hydrogels***

Copaiba oil is a natural product widely used in folk medicine of the Amazon region mostly to treat diseases related to inflammation. Previous studies have shown that the oil extracted from *Copaifera multijuga* Hayne has a promising anti-inflammatory activity, as well as its major component,  $\beta$ -caryophyllene. However, the unctuous nature of this oil makes it slightly acceptable to apply directly to the skin. Our research group has proposed the formulation of nanoemulsions containing copaiba oil, since these systems are hydrophilic, have a small droplet size and high surface area, which can improve the penetration of substances through the skin. The only disadvantage of these systems is their low viscosity that can be modified by incorporating it into a hydrogel. In the present study, we developed a hydrogel formulation containing the nanoemulsion of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne) and evaluated its skin permeation/retention profile in porcine ear skin model. The feasibility of incorporating the nanoemulsion into two gelling agents (Carbopol<sup>®</sup> 980 and chitosan) was assessed. Within seven days, chitosan formulation had increased values for droplet size and polydispersity index, in opposite to Carbopol<sup>®</sup> 980 formulation (CARB-NE), which continued stable for 60 days. Due to this, the formulation CARB-NE was chosen to continue studies of the rheological profile and skin permeation/retention profile. The rheological profile of CARB-NE was characterized as pseudoplastic, the same was observed for the control hydrogel, which indicates that the nanoemulsion had no effect on the hydrogel polymer matrix. The CARB-NE formulation significantly increased the penetration of  $\beta$ -caryophyllene in the dermis compared to the nanoemulsion not incorporated. There was no increase in the epidermis permeation, nor the values were significantly different for the two formulations. Therefore, the hydrogel Carbopol<sup>®</sup> 980 proved to be the best gelling agent for copaiba nanoemulsion since it remained stable over the tested time and increased  $\beta$ -caryophyllene penetration in the skin, especially in the dermis, the layer of interest in the treatment of topical inflammation.

*Key words: skin permeation, copaiba oil, nanoemulsion, hydrogel.*



## LISTA DE FIGURAS

---

### CAPÍTULO 1

Figura 1. Estruturas químicas dos compostos majoritários do óleo de copaíba 26

---

### CAPÍTULO 2

Figure 1. Physicochemical characterization 48

Figure 2. Rheological profile 50

Figure 3. Viscosity profile 51

Figure 4. Spreadability profile 51

Figure 5. Transmission electron microphotography 52

Figure 6. Specificity chromatograms 54

Figure 7. Permeation profile 56

Figure 8. Histology cuts 57



## LISTA DE TABELAS

---

### CAPÍTULO 2

Table 1. Main constituents from <i>C. multijuga</i> Hayne oleoresin	47
Table 2. Formulations characterization right after preparation	47
Table 3. Recovery of $\beta$ -caryophyllene added to skin methanol extract	54





## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	19
<b>CAPÍTULO 1. Revisão da Literatura</b>	23
Óleo de copaíba	25
Nanoemulsões	27
Hidrogéis	29
Permeação cutânea	30
<b>CAPÍTULO 2. Proposta de artigo</b>	33
Characterization and skin permeation of copaiba oil ( <i>Copaifera multijuga</i> Hayne) nanoemulsion-loaded hydrogel	34
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b>	61
<b>REFERÊNCIAS</b>	65



## **INTRODUÇÃO GERAL**

---



No Brasil, há uma extensiva cultura de uso de plantas na medicina popular. Dentre todas as doenças, a inflamação é a mais citada das que se utilizam de produtos naturais. O óleo extraído da árvore da copaífera (*Copaifera* L.) é um produto natural muito usado na medicina popular da região amazônica para diferentes enfermidades, porém, as mais mencionadas são aquelas em que há algum tipo de inflamação (Veiga Junior & Pinto, 2002; Ferreira Junior *et al.*, 2011).

Segundo estudo recente, dentre todas as espécies do gênero *Copaifera* L., o óleo extraído da espécie *Copaifera multijuga* Hayne apresentou melhor atividade anti-inflamatória que as espécies *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke e *Copaifera reticulata* Ducke, o que foi atribuído ao alto percentual de  $\beta$ -cariofileno (Veiga Junior *et al.*, 2007). No entanto, o caráter untuoso do óleo torna pouco aceitável sua aplicação direta sobre a pele (Veiga Junior & Pinto, 2002). Uma alternativa é a formulação do óleo em nanoemulsões, que além de permitirem a incorporação do óleo em uma formulação de fase externa hidrofílica, podem, através do reduzido tamanho de gotícula e da alta superfície específica destes sistemas, melhorar a permeação de moléculas através da pele ou mesmo constituir um reservatório nas camadas mais superficiais (Shakeel *et al.*, 2007; Mason *et al.*, 2006). Contudo, a baixa viscosidade das nanoemulsões requer um espessamento, o que em geral é feito pela incorporação em um hidrogel. Isto porque hidrogéis têm aspecto sensorial agradável e não tem afinidade pelo núcleo oleoso da nanoemulsão, facilitando, assim, a sua liberação da matriz polimérica (Mou *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2009).

Visto isso, nosso grupo de pesquisa vem trabalhando no desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleo de copaíba com vistas ao tratamento tópico da inflamação. Em um primeiro trabalho, foi desenvolvido e validado um método para quantificação do  $\beta$ -cariofileno em nanoemulsões, que utiliza microextração em fase sólida (SPME) e cromatografia gasosa (CG) (Dias *et al.*, 2012). Em um estudo subsequente, foi otimizada a preparação das nanoemulsões por homogeneização à alta pressão. Foi comprovado que este sistema permite que uma grande quantidade de óleo de copaíba seja veiculada e que, por consequência, uma elevada quantidade de  $\beta$ -cariofileno esteja disponível (Dias *et al.*, submetido).

Tendo em vista estes aspectos, os objetivos deste trabalho foram desenvolver hidrogéis contendo óleo de copaíba nanoemulsionado, revalidar o método anteriormente validado (HS-SPME-CG-FID) a fim de permitir a quantificação de  $\beta$ -cariofileno na matriz pele e avaliar a permeação cutânea *in-vitro* das formulações de hidrogel desenvolvidas.

# **CAPÍTULO 1**

**Revisão da Literatura**

---



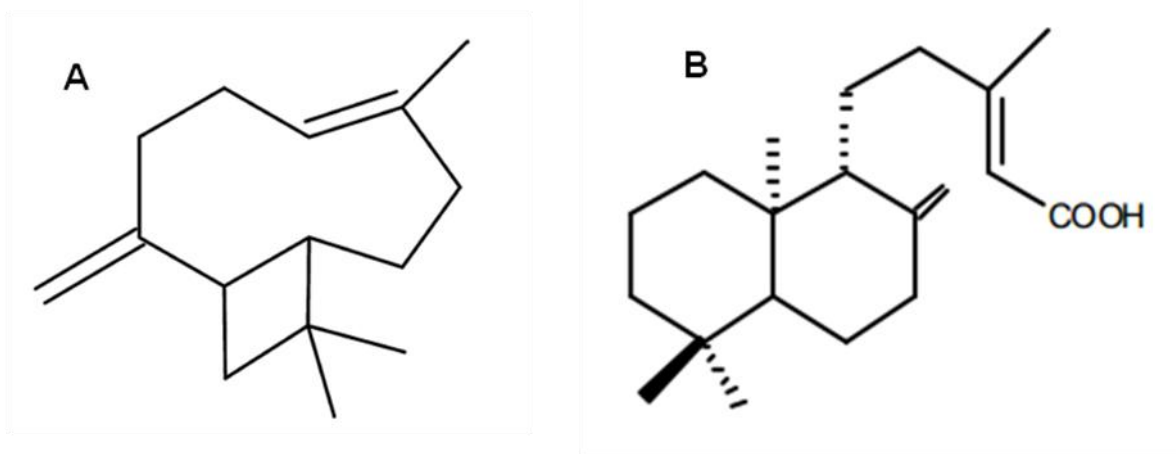


## ÓLEO DE COPAÍBA

O gênero *Copaífera* L. abrange diversas espécies. Segundo a classificação botânica, estas plantas pertencem à família *Leguminosae*, subfamília *Caesalpinoideae*, gênero *Copaifera*. Estas árvores são encontradas em diferentes áreas do continente americano, entre Honduras e o centro-oeste do Brasil e também na costa oeste africana, sendo de grande interesse comercial, tanto pela extração do seu óleo quanto pela sua madeira (Tappin *et al.*, 2004).

O óleo de copaíba é um óleo-resina extraído a partir de uma incisão feita no tronco da árvore copaífera. Apresenta uma coloração que vai do amarelo ao marrom e possui diversas aplicações na indústria de perfumes, na indústria de cosméticos, na indústria de vernizes, sendo também utilizado na medicina popular como anti-inflamatório, cicatrizante, anti-edêmico, anestésico local, antimicrobiano e antioxidante (Veiga Junior & Pinto, 2002; Tappin *et al.*, 2004; Veiga Junior *et al.*, 2007). A *Copaifera multijuga* Hayne, alvo deste estudo, é uma das espécies que produz a maior quantidade do óleo de copaíba, segundo estudos realizados por Veiga-Junior e colaboradores (2002).

O óleo de copaíba é constituído de sesquiterpenos e diterpenos, sendo o  $\beta$ -cariofileno e o ácido copálico os compostos majoritários encontradas no óleo-resina da espécie *C. multijuga* Hayne, respectivamente (Figura 1 (Veiga Junior *et al.*, 2007)). Estudos realizados com o óleo obtido de *C. multijuga* Hayne, demonstraram variações na composição de óleos coletados de uma mesma árvore, em períodos diversos do ano (verão-inverno). As substâncias detectadas foram basicamente as mesmas, porém suas concentrações variaram (Veiga Junior *et al.*, 2005).



**Figura 1.** Estrutura química dos compostos majoritários do óleo de copaíba,  $\beta$ -cariofileno (A) e ácido copálico (B).

Segundo estudo sobre a atividade anti-inflamatória do óleo de copaíba (Veiga Junior *et al.*, 2007), a administração oral do óleo-resina da espécie *Copaifera multijuga* Hayne promoveu significativa inibição da acumulação total de leucócitos na dose de 100mg/kg em inflamação aguda induzida na cavidade pleural de ratos. Este estudo demonstrou que o óleo-resina da *Copaifera multijuga* Hayne obteve efeito anti-inflamatório similar ao tratamento com o fármaco de referência, diclofenaco, em dose de 100mg/kg.

O composto majoritário,  $\beta$ -cariofileno, também já foi estudado quanto a sua atividade anti-inflamatória e anestésica. Ghelardini e colaboradores (2001) estudaram a atividade *in vivo* do  $\beta$ -cariofileno através do teste de reflexo conjuntival em coelhos, onde pode-se verificar que o composto apresenta atividade anestésica local dose-dependente, tendo efeito similar ao da procaína. Gertsch e colaboradores (2008) descobriram que o  $\beta$ -cariofileno pode atuar pela via dos receptores canabinóides (CB), sendo agonista do receptor CB<sub>2</sub>, os quais se encontram nos tecidos periféricos, inibindo a expressão de

TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Mais recentemente, Paula-Freire e colaboradores (2013) confirmaram esta premissa e ainda acrescentaram, através de testes *in vivo* e *in vitro*, que este composto pode também atuar pela via dos opióides, inibindo a dor aguda e crônica.

Atualmente, no Brasil, existe apenas um registro na ANVISA relacionado ao óleo de copaíba como produto farmacêutico. Este é comercializado na forma de cápsulas gelatinosas para uso como anti-inflamatório, produzido pelo Laboratório Farmacêutico Vitamed Ltda com registro número 116950004 (ANVISA, 2013). Porém, em locais próximos à região amazônica, principalmente localidades com difícil acesso a medicamentos industrializados, o óleo é extraído e vendido sem nenhum registro ou controle de espécies utilizadas (Cascon *et al.*, 2000; Veiga Junior & Pinto, 2002).

Contudo, ainda não existem estudos na literatura a respeito do desenvolvimento de formas farmacêuticas de aplicação tópica contendo este óleo, que possa ser de interesse no tratamento anti-inflamatório.

## **NANOEMULSÕES**

Nanoemulsões são sistemas heterogêneos, de aspecto leitoso e, geralmente, compostas por gotículas de óleo estabilizadas por surfactantes e dispersas em um meio aquoso (Borhade *et al.*, 2012). São caracterizadas por apresentarem tamanho de gotícula inferior a 1  $\mu\text{m}$ , porém, na área farmacêutica, a faixa aceitável está entre 50 a 500 nm (Burguera & Burguera, 2012).

As nanoemulsões podem ser produzidas de diversas maneiras, dependendo da substância ativa e excipientes a serem utilizados. Atualmente,

os métodos mais citados na literatura são a homogeneização a alta pressão e a microfluidização, mas também pode-se citar a ultra-sonicação e a emulsificação espontânea (Almeida *et al.*, 2008). O método de homogeneização a alta pressão mostra-se muito vantajoso em relação aos outros, pois tem fácil escalonamento, curto tempo de produção e não utiliza solventes orgânicos (Pardeike *et al.*, 2009). Além disso, este método vem apresentando ótimos resultados no que se refere à veiculação de altas concentrações de fase oleosa em nanoemulsões, como descrito no estudo de Müller e colaboradores (2012), o qual relata a produção de nanoemulsões contendo até 40% de núcleo oleoso com baixo índice de polidispersão e tamanho de gotícula na faixa de 150 a 250 nm. Estes sistemas coloidais têm sido utilizados em pesquisas recentes com a finalidade de aperfeiçoar o desempenho terapêutico de diversos fármacos lipofílicos, pois aumentam a sua solubilidade intrínseca, taxa de dissolução e permeação em membranas biológicas (Baboota *et al.*, 2007; Kuo *et al.*, 2008; Borhade *et al.*, 2012; Fathi *et al.*, 2012).

As nanoemulsões podem ser utilizadas em todas as vias de administração e mostram-se muito vantajosas para tratamentos na via tópica, já que apresentam baixa irritabilidade, alto poder de penetração e alta capacidade de veicular grandes quantidades de fármacos (quando comparadas a microemulsões e lipossomas) (Mou *et al.*, 2008).

Diversos estudos demonstram vantagens no uso de nanopartículas para administração tópica (Senyigit *et al.*, 2010; Chen-yu *et al.*, 2012; Shin *et al.*, 2012; Ridolfi *et al.*, 2012; Kandadi *et al.*, 2012; Nam *et al.*, 2012). No que se refere às nanoemulsões, Kotyla e colaboradores (2008) observaram um

aumento em 36 vezes da permeação transdérmica de vitamina E nanoemulsionada, comparada com microemulsão de composição semelhante.

Azeem e colaboradores (2012) estudaram a permeação de gel contendo ropinirol nanoemulsionado comparando-o com outras formas farmacêuticas. Os pesquisadores observaram o aumento da biodisponibilidade e do tempo de liberação do princípio ativo veiculado na nanoemulsão.

Baspinar e colaboradores (2012) investigaram a permeação cutânea de nanoemulsões positiva e negativamente carregadas contendo prednicarbato. As nanoemulsões positivamente carregadas obtiveram melhor permeação devido à interação destas cargas positivas com as cargas negativas das células do estrato córneo e apresentaram-se como uma alternativa para as formulações presentes no mercado.

## **HIDROGÉIS**

Hidrogéis são redes macromoleculares de polímeros hidrofílicos que incham em contato com soluções aquosas, podendo absorver até centenas de vezes a sua massa em água. As redes formadas por estes polímeros são reticuladas por ligações químicas ou outras forças coesivas, tais como interações iônicas, ligações de hidrogênio ou interações hidrofóbicas (Peppas *et al.*, 2000; Hamidi *et al.*, 2008).

Os hidrogéis são considerados biocompatíveis, pois são muito similares aos tecidos naturais, já que possuem alto conteúdo de água e consistência mole (Peppas *et al.*, 2000). Uma ampla gama de composições poliméricas tem sido utilizada na produção de hidrogéis, as quais podem ser classificadas baseadas em diversas características destes polímeros, tais como natureza

dos grupos laterais (aniônicos, catiônicos e neutros) e origem (sintéticos e naturais) (Hoffman *et al.*, 2002; Hamidi *et al.*, 2008).

A forma farmacêutica hidrogel é a uma interessante escolha para a administração tópica de compostos ativos, uma vez que apresenta um elevado teor de água, torna-se facilmente lavável e não deixa um aspecto gorduroso na pele, promovendo, assim, uma maior aceitação do usuário (Leonardi *et al.*, 2005). Além disso, a formulação de uso tópico contendo um sistema nanoemulsionado não deve apresentar maior afinidade pelo veículo do que pela pele. Assim, a incorporação em uma base hidrofílica tende a eliminar esse problema aumentando, também, a liberação dos componentes contidos na matriz do hidrogel (Alves *et al.*, 2007; Baboota *et al.*, 2007; Mou *et al.*, 2008).

Joshi e Patravale (2008) descrevem o aumento a liberação *in vitro* e da permeação em pele de rato *in vitro* de calecoxibe nanoencapsulado incorporado em hidrogel comparado ao gel branco. Mou e colaboradores (2008) também descrevem o aumento da penetração cutânea quando hidrogel é adicionado à nanoemulsão contendo cânfora, salicilato de metila e mentol, compostos conhecidos por serem altamente lipofílicos, mas que conseguiram atravessar a barreira da pele devido a esta formulação.

## **PERMEÇÃO CUTÂNEA**

A pele é o órgão mais externo do corpo humano e funciona como uma barreira, que retém água no interior do corpo e que impede a penetração de contaminantes externos. Ela é composta por três camadas, que diferem em composição e estrutura: epiderme, derme e hipoderme (Bolzinger *et al.*, 2012).

O termo global absorção percutânea/dérmica descreve a passagem de compostos através da pele, sendo dividida em três fases: penetração (a entrada de uma substância em uma das camadas da pele), permeação (a passagem de uma substância de uma camada para outra) e reabsorção (a absorção no sistema vascular). A via tópica é uma alternativa para a administração de fármacos, permitindo uma entrega sustentada para a corrente circulatória e evitando efeitos adversos que provém da administração oral ou parenteral. Entretanto, existem desafios para esta via de administração, já que o estrato córneo forma uma barreira micrométrica que regula a passagem de agentes externos, tornando-se, assim, um passo limitante da penetração cutânea (Crosera *et al.*, 2009; Cevc & Vierl, 2010; Prow *et al.*, 2011; Bolzinger *et al.*, 2012).

No que se refere à penetração de compostos visando a uma ação antiinflamatória, sistemas nanoestruturados são descritos muitas vezes como sistemas promissores, relatando que estes apresentam tendência a interagir com tecidos inflamados. Assim, estes sistemas apresentam uma grande vantagem na aplicação tópica e na incorporação de fármacos anti-inflamatórios (Alves *et al.*, 2007; Prow *et al.*, 2011).

Friedman e colaboradores (1995) estudaram a liberação transdérmica de anti-inflamatórios usados comumente na prática clínica (betametasona, indometacina, diclofenaco, piroxicam e naproxeno) comparando formulações presentes no mercado e formulações nanoemulsionadas. Neste estudo, as nanoemulsões apresentaram melhores resultados que as formulações de referência, produzindo efeito sistêmico em alguns casos.



Em estudo conduzido por Alves e colaboradores (2007), comparou-se a permeação de diferentes nanoestruturas (nanocápsula, nanoesfera e nanoemulsão) contendo o anti-inflamatório nimesulida e verificou-se que as nanoemulsões conseguem alcançar a parte mais profunda da pele, a derme, enquanto as nanocápsulas e as nanoesferas ficam retidas no estrato córneo. Makhmalzadeh e colaboradores (2012) estudaram a permeação de nanoemulsões do anti-inflamatório ibuprofeno, comparando-as com uma formulação comercial. Obtiveram como resultado a melhor permeação da preparação nanoemulsionada. O mesmo efeito foi verificado por Barakat e colaboradores (2012) com nanoemulsão de indometacina.

## **CAPÍTULO 2**

**Proposta de artigo a ser submetido ao periódico *International  
Journal of Pharmaceutics***

---





























































## **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

---



Através do estudo realizado pode-se concluir que:

- O método de microextração em fase sólida no modo *headspace* foi revalidado para a quantificação do  $\beta$ -cariofileno em amostras de pele, mostrando-se específico, linear, preciso e exato;
- O estudo de formulação e estabilidade do hidrogel demonstrou que apenas o gel aniônico (Carbopol 980<sup>®</sup>) apresentou-se estável para prosseguir nos estudos de permeação, permanecendo dentro das condições adequadas por até 60 dias após sua preparação nos parâmetros teor, potencial zeta, tamanho de gotícula e índice de polidispersão;
- A formulação de gel de Carbopol 980<sup>®</sup> incorporado a nanoemulsão de óleo de copaíba apresentou um comportamento reológico pseudoplástico de fluido não-newtoniano com valores de viscosidade e espalhabilidade estatisticamente diferentes do seu gel branco;
- A incorporação da nanoemulsão em hidrogel aumentou significativamente a penetração do marcador na derme, camada de interesse no tratamento de inflamações pela via tópica;
- Através deste trabalho, pode-se verificar que há uma grande possibilidade no uso do óleo de copaíba, tanto na forma de nanoemulsão, quanto incorporado em hidrogel, no tratamento de inflamações pela via tópica;
- Estes resultados abrem perspectivas para trabalhos futuros, de avaliação da atividade anti-inflamatória *in vivo* do óleo de copaíba nanoemulsionado associado à hidrogel.





## **REFERÊNCIAS**

---



Almeida, M.E.; Teixeira, H.F.; Koester, L.S., 2008. Preparação de emulsões submicrométricas: aspectos teóricos sobre os métodos empregados na atualidade. **Latin American Journal of Pharmacy**. 27, 780-788.

Alves, M. P.; Scarrone, A. L.; Santos, M.; Pohlmann, A. R.; Guterres, S. S., 2007. Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers. **International Journal of Pharmaceutics**. 341, 215- 220.

Alves, P.M.; Pohlmann, A.R.; Guterres, S.S., 2005. Semisolid topical formulations containing nimesulide-loaded nanocapsules, nanospheres or nanoemulsion: development and rheological characterization. *Pharmazie*. 60, 900–904.

ANVISA. <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 20/10/2013.

Azeem, A.; Talegaonkar, S.; Negi, L.M.; Ahmad, F.J.; Khar, R.K.; Iqbal, Z., 2012. Oil based nanocarrier system for transdermal delivery of ropinirole: a mechanistic, pharmacokinetic and biochemical investigation. **International Journal of Pharmaceutics**. 422, 436-444.

Baboota, S.; Shakeel, F.; Ahuja, A.; Ali, J.; Shafiq, S., 2007. Design development and evaluation of novel nanoemulsions formulations for transdermal potential of celecoxib. **Acta Pharmaceutica**. 8, 315-332.

Baspinar, Y.; Borchert, H.H., 2012. Penetration and release studies of positively and negatively charged nanoemulsions – is there a benefit of the positive charge? **International Journal of Pharmaceutics**. 430, 247-252.

- Benita, S.; Levy, M.Y., 1993. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 82, 1069-1079.
- Bentley, M.V.L.B.; Marchetti, J.M.; Ricardo, N.; Ali-abi, Z.; Collett, J.H., 1999. Influence of lecithin on some physical chemical properties of poloxamer gels: rheological, microscopic and in vitro permeation studies. **International Journal of Pharmaceutics**. 193, 49–55.
- Bolzinger, M.A.; Briançon, S.; Pelletier, J.; Chevalier, Y., 2012. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. 17, 156-165.
- Borghetti, G.S.; Knorst, M.T., 2006. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 42, 531-537.
- Borhade, V.; Pathak, S.; Sharma, S.; Patravale, V., 2012. Clotrimazole nanoemulsion for malaria chemotherapy. Part I: Preformulation studies, formulation design and physicochemical evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**. 431, 138–148,
- Burguera, J.L.; Burguera, M., 2012. Analytical applications of emulsions and microemulsions. **Talanta**. 15, 11-20.
- Cascon, V.; Gilbert, B., 2000. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**. 55, 773-778.

Cevc, G.; Vierl, U., 2010. Nanotechnology and the transdermal route: A state of the art review and critical appraisal. **Journal of Controlled Release**. 141, 277-299.

Chen-Yu, G.; Chun-Fen, Y.; Qi-Lu, L.; Qi, T.; Yan-Wei, X.; Wei-Na, L.; Guang-Xi, Z., 2012. Development of a Quercetin-loaded nanostructured lipid carrier formulation for topical delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. 430, 292– 298,

Corrêa, N. M.; Júnior, F.B.C.; Ignácio, R. F.; Ricci, G.; Leonardi, G. R., 2005. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 41, 73-78.

Crosera, M.; Bivenzi, M.; Maina, G., 2009. Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of literature. **International Archives of Occupational and Environmental Health**. 82, 1043-1055.

Dias, D.O.; Colombo, M.; Kelmann, R.G.; De Souza, T.P.; Bassani, V.L.; Teixeira, H.F.; Veiga Jr., V.F.; Limberger, R.P.; Koester. L.S., 2012. Optimization of headspace solid-phase microextraction for analysis of  $\beta$ -caryophyllene in a nanoemulsion dosage form prepared with copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oil. **Analytica Chimica Acta**. 721, 79-84.

Dias, D.O.; Colombo, M.; Kelmann, R.G.; Kaiser, S.; Teixeira, H.F.; Veiga Jr., V.F.; Limberger, R.P.; Koester. L.S. Nanoemulsion loaded with copaiba oil: screening of composition using fractional factorial design and evaluation of different preparation methods. Submetido para publicação no periódico *Industrial Crops and Products*.

Edsman, K.; Carlfors, J.; Harju, K. , 1996. Rheological evaluation and ocular contact time of some carbomer gels for ophthalmic use. **International Journal of Pharmaceutics**. 137, 233-241.

Escobar-Chávez, J.J.; Merino-Sanjuán, V.; López-Cervantes, M.; Urban-Morlan, Z.; Piñón-Segundo, E.; Quintanar-Guerrero, D.; Ganem-Quintanar, 2008. The tape-stripping technique as a method for drug quantification in skin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 11, 104-130.

Fathi, M.; Mozafari, M.R.; Mohebbi, M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. **Trends in Food Science & Technology**. 23, 13-27.

Gertsch, J.; Leonti, M.; Raduner, S.; Racz, I.; Chen, J.Z.; Xie, X.Q.; Altmann, K.H.; Karsak, M.; Zimmer, A., 2008. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 26, 9099–9104.

Ghelardini, C.; Galeotti, N.; Mannelli, L.D.C.; Mazzanti, G.; Bartolini, A., 2001. Local anaesthetic activity of  $\beta$ -caryophyllene. **Il Farmaco**. 56, 387-389.

Gomes, N.M.; De Rezende, C.M.; Fontes, S.P.; Matheus, M.E.; Pinto, A.C.; Fernandes, P. D., 2010. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of fractions obtained from *Copaifera multijuga* Hayne. **Journal of Ethnopharmacology**. 128, 177–183.

Hamidi, M.; Azadi, A.; Rafiei, P., 2008. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 60, 1638–1649.

Hoffman, A.S., 2002. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. 43, 3-12.

Höller, S.; Valenta, C., 2007. Effect of selected fluorinated drugs in a “ringing” gel on rheological behaviour and skin permeation. **European Journal of Pharmaceutis and Biopharmaceutics**. 66, 120–126.

Joshi, M.; Patravale, V., 2008. Nanostructured lipid carrier (NLC) based gel of celecoxib. **International Journal of Pharmaceutics**. 346, 124–132.

Junyaprasert, V.B.; Teeranachaideekul, V.; Souto, E. B.; Boonme, P.; Müller, R.H., 2009. Q10-loaded NLC versus nanoemulsions: Stability, rheology and *in vitro* skin permeation. **International Journal of Pharmaceutics**. 377, 207–214.

Kandadi, P.; Syed, M.A.; Goparaboina, S.; Veerabrahma, K., 2012. Albumin coupled lipid nanoemulsions of diclofenac for targeted delivery to inflammation. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**. 8, 1162–1171.

Khurana, S.; Jain, N.K.; Bedi, P.M.S., 2013. Nanoemulsion based gel for transdermal delivery of meloxicam: Physico-chemical, mechanistic investigation. **Life Sciences**. 92, 383–392.

Kim; B.S.; Won, M.; Lee, K.M.; Kim, C.S., 2008. In vitro permeation studies of nanoemulsions containing ketoprofen as a model drug. **Drug Delivery**. 15, 465-569.

Kotyla, T.; Kuo, F.; Moolchandani, V.; Wilson, T.; Nicolosi, T., 2008. Increased bioavailability of a transdermal application of a nano-sized emulsion preparation. **International Journal of Pharmaceutics**. 347, 144–148.



Kuo, F.; Subramanian, B.; Kotyla, T.; Wilson, T.A.; Yoganathan, S.; Nicolosi, R.J., 2008. Nanoemulsions of an anti-oxidant synergy formulation containing gamma tocopherol have enhanced bioavailability and anti-inflammatory properties. **International Journal of Pharmaceutics**. 363, 206–213.

Leandro, L.M.; Vargas, F.S.; Barbosa, P.C.S.; Neves, J.K.O.; Da Silva, J.A.; Veiga-Junior, V.F., 2012. Chemistry and biological activities of terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. **Molecules**. 17, 3866-3889.

Mou, D.; Chen, H.; Du, D.; Mao, C.; Wan, J.; Xu, H.; Yang, X., 2008. Hydrogel-thickened nanoemulsion system for topical delivery of lipophilic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**. 353, 270–276.

Müller, R.H.; Harden, D.; Keck, C.M., 2012. Development of industrially feasible concentrated 30% and 40% nanoemulsions for intravenous drug delivery. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. 38, 420-430.

Nam, Y.S.; Kim, J.W.; Park, J.Y.; Shim, J.; Lee, J.S.; Han, S.H., 2012. Tocopheryl acetate nanoemulsions stabilized with lipid-polymer hybrid emulsifiers for effective skin delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. 94, 51-57.

Pardeike, J.; Hommoss, A.; Müller, R.H., 2009. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics**. 366, 170-184.

Paula-Freire, L.I.G.; Andersen, M.L.; Gama, V.S.; Molska, G.R.; Carlini, E.L.A., 2013. The oral administration of trans-caryophyllene attenuates acute and chronic pain in mice. [HTTP:// dx.doi.org/10,1016/j.phytomed.2013.08.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.phytomed.2013.08.006)

Peppas, N.A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikaea, H., 2000. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Europ. J. Pharm. Biopharm.* 50, 27-46.

Peppas, N.A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikaea, H., 2009. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** 50, 27-46.

Prow, T.W.; Grice, J.E.; Lin, L.L.; Faye, R.; Butler, M.; Becker, W.; Wurm, E.M.T.; Yoong, C.; Robertson, T.A.; Soyer, H.P.; Roberts, M.S., 2011. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews.** 63, 470–491.

Ridolfi, D.M.; Marcato, P.D.; Justo, G.Z.; Cordi, L.; Machado, D.; Durán, N., 2012. Chitosan-solid lipid nanoparticles as carriers for topical delivery of tretinoin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** 93, 36–40.

Senyigit, T.; Sonvico, F.; Barbieri, S.; Özer, O.; Santi, P.; Colombo, P., 2010. Lecithin/chitosan nanoparticles of clobetasol-17-propionate capable of accumulation in pig skin. **Journal of Controlled Release.** 142, 368-373.

Shin, J.; Shin, K.; Lee, H.; Suh, K.D.; Kim, H.; Kim, J.W., 2012. Enhanced transdermal delivery by using electrostatically interactive chitosan nanocapsules. **Colloid & Polymer Science.** 290, 553–559.

Tappin, M.R.R.; Pereira, J.F.G.; Lima, L.A.; Siani, A.C., 2004. Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova.** 27, 236-240.

Tung, Y.T.; Chua, M.T.; Wang, S.Y.; Chang, S.T., 2008. Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon

(*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. **Bioresource Technology**. 99, 3908–3913.

Veiga Junior, V.F.; Pinto, A.C., 2002. O gênero *Copaífera* L. **Química Nova**. 25, 273-286.

Veiga Junior, V.F.; Pinto, A.C.; Maciel, M.P.M., 2005. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. 28, 519-528.

Veiga Junior, V.F.; Rosas, E.C.; Carvalho, M.V.; Henriques, M.G.M.O.; Pinto, A.C., 2007. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne — A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**. 112, 248–254.