

Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações

Filipa Rocha Alves dos Santos

**Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2011



Filipa Rocha Alves dos Santos

**Emulsões múltiplas: formulação,  
caracterização, estabilidade e aplicações**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2011

Filipa Rocha Alves dos Santos

**Emulsões múltiplas: formulação, caracterização, estabilidade e aplicações**

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

## **Resumo**

As emulsões múltiplas são sistemas complexos e polidispersos desenvolvidos recentemente na área da tecnologia. Trata-se de sistemas constituídos simultaneamente por emulsões A/O e O/A, sendo estabilizados por tensoactivos de diferente polaridade. A quantidade e tipo de tensoactivo é essencial para a formação de uma emulsão estável. Os tipos de emulsões múltiplas abordadas nesta revisão dizem respeito às emulsões A/O/A e às O/A/O. Embora as vantagens neste tipo de sistemas sejam bastantes, como a protecção das moléculas, possibilidade de controlar a libertação de fármacos, maior biodisponibilidade oral, melhoria das características organolépticas e sensoriais de certos produtos, entre outras, possuem também algumas condicionantes devido á sua instabilidade termodinâmica. Assim, as emulsões múltiplas necessitam de uma caracterização completa, através de estudos complexos, para que dessa forma seja possível obter uma formulação estável. As aplicações deste tipo de sistemas são várias e abrangem muitas áreas, como a farmacêutica, a alimentar, a médica e a biotecnológica como iremos constatar.

## **Abstract**

Multiple emulsions are complex and polydisperse systems developed recently in the area of technology. These systems are formed simultaneously by emulsion W/O and O/W, being stabilized by surfactants of different polarity. The amount and type of surfactant is essential for the production of a stable emulsion. The types of multiple emulsions discussed in this review concern the W/O/W and O/W/O emulsions. Some of the advantages in this type of systems are the protection of molecules, the ability to control drug delivery, higher oral bioavailability, improved organoleptic and sensory characteristics of certain products, among others, but it also have some limitations due to its thermodynamic instability. Thus, the emulsion need complete characterization by means of complex studies, to be possible to obtain a stable formulation. The applications of such systems are varied and cover many areas such as pharmaceuticals, food, medical and biotechnology like we will discussed in this review.

## **Agradecimentos**

A terminar esta tese de mestrado resta-me registar os meus sinceros agradecimentos às pessoas que de várias formas contribuíram para que este se tornasse numa realidade.

Primeira mente, gostaria de agradecer aos meus pais, Inês e Artur Santos, a possibilidade que me concederam de frequentar este curso que tanto prazer me deu concluir. Gostaria também de agradecer aos restantes membros da minha família, e em especial á minha irmã Inês e á minha sobrinha Gabriela, todo o apoio nos momentos menos fáceis e todos os momentos de lazer que me proporcionaram.

Agradeço também aos finalistas de Ciências Farmacêuticas 2006/2011 pelos bons momentos partilhados durante os 5 anos. Tenho a certeza que deste grande convívio e companheirismo nasceram grandes amizades que iram perdurar por toda a vida.

Não posso deixar também de agradecer ao grupo de docentes da Universidade Fernando Pessoa que me acompanhou ao longo de 5 anos e onde cada um, à sua maneira, transmitiu os seus conhecimentos não só a nível académico mas também a nível humano.

Por fim, gostaria de agradecer á minha orientadora da tese, Professora Rita Oliveira, a disponibilidade e as criticas construtivas que sempre realizou, sendo essas essenciais na execução da tese.

Assim, aqui deixo o meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização da minha tese, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

## Índice

<b>RESUMO</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>6</b>
<b>ABREVIATURAS:</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. TEORIAS DA EMULSIFICAÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>3. COMPONENTES DAS EMULSÕES</b> .....	<b>14</b>
3.1. AGENTES EMULSIVOS .....	14
3.1.1. <i>Equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL)</i> .....	14
3.1.2. <i>Tensioactivos</i> .....	17
3.1.3. <i>Materiais de origem natural e seus derivados</i> .....	20
3.1.4. <i>Sólidos finamente divididos</i> .....	21
3.1.5. <i>Fase oleosa</i> .....	21
3.1.6. <i>Fase aquosa</i> .....	22
<b>4. DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO</b> .....	<b>22</b>
4.1. TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO.....	23
4.1.1. <i>Método da dupla emulsificação</i> .....	23
4.1.2 <i>Método da etapa única</i> .....	23
4.1.3 <i>Método de emulsificação por membrana</i> .....	24
4.2. EQUIPAMENTOS USADOS NA EMULSIFICAÇÃO .....	25
4.3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO E CONTROLO DE EMULSÕES .....	26
4.3.1 <i>Agitação</i> .....	27
4.3.2 <i>Temperatura</i> .....	28
4.3.3 <i>Reologia</i> .....	29
4.4. CARACTERIZAÇÃO <i>IN VITRO</i> .....	31
4.4.1 <i>Exame macroscópico</i> .....	31
4.4.2 <i>Exame microscópico / tamanho da gotícula</i> .....	31
4.4.3. <i>Número de glóbulos</i> .....	33
4.4.4. <i>Determinação da velocidade de formação de creme ou de sedimentação por centrifugação</i> .....	33
4.4.5. <i>Determinação do pH</i> .....	34
4.4.6. <i>Determinação do sinal da emulsão</i> .....	34
4.4.7. <i>Eficiência de encapsulação / percentagem de fármaco encapsulado / rendimento da emulsão</i> .....	35
4.4.8. <i>Potencial zeta</i> .....	36
<b>5. ESTABILIDADE</b> .....	<b>37</b>
5.1 ESTABILIDADE FÍSICA .....	37
5.1.1 <i>Coalescência:</i> .....	38
5.1.2 <i>Agregação</i> .....	39
5.1.3 <i>Cremação</i> .....	39
5.1.4. <i>Inversão de fases</i> .....	41
5.1.5. <i>Difusão molecular</i> .....	41
5.1.6 <i>Relação entre o volume das fases</i> .....	42
5.2. ESTABILIDADE QUÍMICA .....	43

5.3 ESTABILIDADE MICROBIANA .....	44
5.4 ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES .....	45
5.4.1 Estabilização através da formação de gel polimérico .....	45
5.4.2 Aditivos para a fase aquosa interna .....	46
5.4.3 Estabilização termodinâmica: redução da tensão interfacial .....	46
5.4.4 Formação do filme interfacial.....	47
5.4.6 Estabilização electrostática e estérica .....	48
5.5 ESTUDOS DA ESTABILIDADE ACELERADA.....	49
<b>6. TIPOS DE ADMINISTRAÇÃO.....</b>	<b>50</b>
6.1. ADMINISTRAÇÃO ORAL.....	51
6.2 ADMINISTRAÇÃO PARENTERAL: .....	51
6.3. ADMINISTRAÇÃO TÓPICA .....	53
<b>7. ESTADO DA ARTE: APLICAÇÕES ACTUALIZADAS DAS EMULSÕES .....</b>	<b>54</b>
7.1. SUBSTITUTO DE OXIGÉNIO .....	54
7.2. DIRECCIONAMENTO DE FÁRMACOS.....	55
7.3. MASCARAR SABORES.....	55
7.4. TRATAMENTO DA SOBREDOSAGEM / DESINTOXICAÇÃO: .....	56
7.5. APLICAÇÃO EM COSMÉTICA .....	56
7.6. NUTRACÊUTICOS.....	57
7.7. OUTRAS UTILIZAÇÕES.....	58
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>9. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>60</b>

**Abreviaturas:**

A/O – Emulsão simples água-óleo

A/O/A – Emulsão múltipla água-óleo-água

cm – Centímetros

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

°C – Graus Centígrados

dm<sup>2</sup> – Decímetros quadrados

EHL – Equilíbrio hidrófilo-lipófilo

EPI – Epirrubicina

HPC - 1 octanol hidroxil propil celulose

i.m. – Intra-muscular

i.p. - Intra-peritoneal

i.v. – Intra-venosa

m - Metros

mm<sup>3</sup> – Milímetros cúbicos

NaCl – Cloreto de sódio

nm – nanometros

O/A – Emulsão simples óleo-água

O/A/O – Emulsão múltipla óleo-água-óleo

O<sub>2</sub> - Oxigénio

PEG – Polietilenoglicol

PFC's – Perfluroquímicos

rpm – Rotações por minuto

s.c. – Subcutânea

TAE – Terapia de embolização percutânea

TIF – Temperatura de inversão de fases

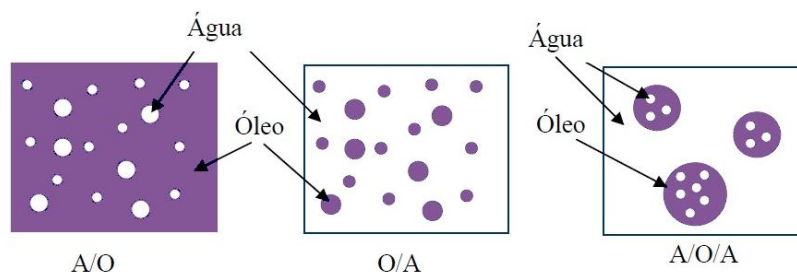
U.V. – Ultra-violeta

## 1. Introdução

A ciência dos colóides está relacionada com o estudo dos sistemas nos quais pelo menos um dos componentes da mistura apresenta uma dimensão no intervalo de 1 a 1000 nanómetros ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ). As dispersões coloidais constituem grande parte das formas farmacêuticas líquidas, sendo administradas pelas vias oral, tópica e parenteral. São sistemas particularmente interessantes na terapia de pacientes pediátricos e geriátricos e capazes de solucionar numerosos problemas farmacotécnicos, desde a baixa solubilidade de certos fármacos até a melhoria de sua biodisponibilidade (Jafelicci, 1999, Consiglieri, 2002).

As emulsões são dispersões coloidais formadas por uma fase dividida designada de interna, dispersa ou descontínua, e por uma fase que rodeia as gotículas, designada de externa, dispersante ou contínua. Para além destes dois componentes existe um terceiro designado de agente emulsivo, o qual contribui para tornar a emulsão mais estável, pois interpõe-se entre a fase dispersa e dispersante, retardando assim a sua separação, e que constitui a interfase. Desta forma, tratam-se de sistemas termodinamicamente instáveis sendo necessário um considerável aporte de energia para obtê-las, geralmente energia mecânica (Prista *et al.*, 1995, Lachman, 2001, Martina, 2005).

De acordo com a hidrofilia ou lipofilia da fase dispersante, estes sistemas classificam-se em óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O). É também possível preparar emulsões múltiplas do tipo A/O/A ou O/A/O (Prista *et al.*, 1995).



**Figura 1:** Diferentes tipos de emulsões. Adaptado de (Salager, 1999)

As emulsões múltiplas são sistemas complexos e heterogêneos em que ambos os tipos de emulsões simples (O/A e A/O) coexistem simultaneamente, na presença de dois agentes emulsionantes, um hidrofílico e outro lipofílico. Este tipo de emulsões têm aplicações como veículos de fármacos, cosméticos e alimentares devido á sua capacidade de reter e libertar lentamente diferentes agentes associada á capacidade de mascarar e proteger os produtos veiculados. No entanto, o seu uso foi restringido devido à sua instabilidade intrínseca e á estrutura complexa. Consequentemente, é necessária uma investigação sistemática dos efeitos de diferentes processos e parâmetros de composição, tais como: o tipo de fase oleosa, o tipo de agentes emulsivos, a relação do volume de fase, a relação hidrofílica/lipofílica do agente emulsivo, as variáveis do processo (por exemplo, a temperatura de emulsificação e velocidade de agitação) sobre a formação e estabilidade da emulsão (Morais *et al.*, 2009, Bonnet *et al.*, 2010b).

Embora a formulação de emulsões múltiplas seja relativamente complexa e propensa a várias vias de degradação física, ainda assim, existem algumas vantagens relativamente às emulsões simples. Como já foi referido, as emulsões múltiplas têm a excelente capacidade de libertação controlada de compostos activos aprisionados como também têm a capacidade de proteger as espécies encapsuladas da degradação (Bonnet *et al.*, 2010c, Khan *et al.*, 2006). Outras vantagens incluem (Khan *et al.*, 2006, Bonnet *et al.*, 2010b):

- Notável biocompatibilidade;
- Completamente biodegradável e pouca produção de compostos tóxicos decorrentes da degradação do veículo;
- Diminuição da resposta imune indesejada à substância activa encapsulada;
- Capacidade de incorporar substâncias activas com polaridades diferentes;
- Protecção do composto veiculado contra a inactivação ou degradação por factores endógenos;
- Diminuição da flutuação da concentração da substância activa no estado-estacionário;
- Possibilidade de direccionamento de fármacos;
- Possibilidade de serem usados aditivos para disfarçar as características organolépticas dos fármacos.

## 2. Teorias da emulsificação

Algumas teorias têm sido propostas na tentativa de explicar como os agentes emulsivos promovem a emulsificação e mantêm a estabilidade da emulsão. Entre as teorias mais prevalentes estão as da tensão superficial, da cunha orientada e do filme interfacial (Ansel, 2007).

Os líquidos têm a tendência de assumir a forma que produza menos área superficial exposta, sendo essa a forma de uma esfera. Quando o líquido estiver em contacto com um outro líquido no qual é insolúvel e imiscível, a força que faz com que cada um deles resista à fragmentação em partículas menores é chamada de tensão interfacial. Substâncias como os tensoactivos ou agentes molhantes reduzem essa resistência e facilitam a fragmentação em gotas ou partículas menores pois reduzem a tensão interfacial entre dois líquidos imiscíveis, reduzindo a força repelente e a atracção entre as suas próprias moléculas (Ansel, 2007).

A teoria da cunha orientada está baseada no pressuposto de que determinados emulgentes se orientam na superfície e no interior do líquido, de modo que a sua solubilidade seja reflectida nesse líquido em particular. Num sistema contendo dois líquidos imiscíveis, o emulgente é preferencialmente solúvel em uma das fases e penetra com maior profundidade e tenacidade nessa fase do que na outra. Dependendo da forma e do tamanho das moléculas, das suas características de solubilidade e, portanto, da sua orientação, o arranjo em cunha concebido para elas faz com que circundem os glóbulos de óleo ou de água. A fase na qual o emulgente é mais solúvel vai-se tornar a fase externa da emulsão, ou seja emulgente com características mais hidrófilas do que hidrófobas promoverá a formação de uma emulsão O/A pois penetra mais na fase aquosa que se curvará envolvendo a fase oleosa e vice-versa (Ansel, 2007, Prista *et al.*, 1995).

A teoria do filme interfacial descreve que o emulgente se encontra na interface entre o óleo e água como uma fina camada de um filme adsorvido na superfície das mesmas. O filme evita o contacto e a coalescência da fase dispersa; quanto mais resistente e flexível este for, maior a estabilidade da emulsão. Naturalmente, é preciso que haja quantidade suficiente do material formador de filme para cobrir toda a superfície de cada uma das gotas da fase interna. Assim,

a formação da emulsão depende da solubilidade do emulgente, sendo que aqueles solúveis em água formam emulsões O/A e aqueles solúveis em óleo o inverso (Ansel, 2007).

Na realidade, é improvável que uma única teoria de emulsificação possa explicar o modo pelo qual os muitos e diversos emulgentes promovem a formação da emulsão e a sua estabilidade. É mais provável que mesmo numa só emulsão mais de uma dessas teorias seja aplicável (Ansel, 2007).

### **3. Componentes das emulsões**

#### **3.1. Agentes emulsivos**

Um emulgente actua como um estabilizante da forma da gotícula da fase interna, podendo ser descrito como molécula que possui duas partes distintas: uma parte hidrofílica e uma hidrofóbica. Por esta razão, este grupo de compostos é conhecido normalmente por anfifílico, ou seja, com apetência para água e óleo (Lachman, 2001).

É possível distinguir três grandes grupos de agentes emulsionantes: os tensioactivos, os materiais de origem natural e os sólidos finamente divididos. Todos eles possuem como característica comum formar uma película de adsorção em redor das gotas dispersas que previnem a coagulação e coalescência podendo actuar por vários mecanismos em simultâneo, o que por vezes torna difícil a previsão da estabilidade da emulsão (Jato, 1997).

##### **3.1.1. Equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL)**

Só em 1948 Griffin introduziu a noção de Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL), estabelecendo assim, e pela primeira vez, um sistema para classificar, numericamente (numa escala de 1 a 50), um composto segundo as suas características de hidrofília e lipofília. Este conceito de EHL baseia-se, como aliás já era anteriormente admitido, no reconhecimento de que todas as substâncias tensioactivas são constituídas por uma parte hidrossolúvel e outra lipossolúvel, dependendo a sua solubilidade final da proporção em que elas estão associadas numa mesma molécula (Prista *et al.*, 1995).

Deste modo, a noção vaga que anteriormente andava associada à hidro ou lipossolubilidade de um determinado composto passou a ser substituída por um critério mais preciso, no qual cada

produto é assinalado por um número que automaticamente o inclui num grupo especial, cujas aplicações práticas figuram na própria escala de Griffin, como podemos verificar na tabela 1 (Prista *et al.*, 1995).

**Tabela 1:** Escala de Griffin (Schulz, 2005, Prista *et al.*, 1995)

<b>Dispersibilidade/Solubilidade e em água</b>	<b>Número HLB</b>	<b>Características</b>	<b>Aplicação</b>
Não dispersa na água	0	Agentes anti-espuma	<b>Emulsificante para A/O</b>
Pobre dispersibilidade	2		
	4		
	6		
Dispersão leitosa instável	8	Agentes molhantes	
Dispersão leitosa estável	10		
Solução clara transparente	12	Detergentes	<b>Emulsificante para O/A</b>
Solução clara	14		
	16		
	18		

De facto, conforme se pode ver na tabela 1 as substâncias de EHL muito baixo, portanto acentuadamente lipófilas, são agentes anti-espuma. Aquelas cujo valor de EHL vai de 3 a 9, possuindo ainda características de lipofilia, constituem os agentes emulsivos A/O, mas a partir de 8 os tensoactivos começam a apresentar propriedades hidrófilas. Assim o grupo de substâncias cujo EHL vai desde 8 a 16 engloba os agentes emulsivos O/A, situando-se os agentes solubilizantes na zona compreendida entre 16 e 18. Estes últimos utilizam-se para

obter dispersões muito perfeitas de óleos e essências em água e, desde que se empregue uma grande quantidade de fase dispersante em relação á fase dispersa o produto obtido comporta-se como uma pseudo-solução (Prista *et al.*, 1995).

Apesar dos limites de valores de EHL que na escala de Griffin definem as emulsões A/O e O/A serem um tanto dilatados, acontece que cada emulsão em particular tem um valor de EHL que se pode considerar específico para cada caso. Este valor dependerá do óleo ou óleos presentes, das respectivas proporções, e ainda, da circunstância de o óleo constituir a fase interna ou externa da emulsão. Para cada fórmula, o valor de EHL corresponde ao seu óptimo de estabilidade, sendo que esse óptimo de estabilidade tem um tempo de vida (Prista *et al.*, 1995, Pays, 2002).

Muitas vezes, contudo, o emulgente é constituído por uma mistura de uma ou mais substâncias, não sendo raro que uma seja um agente emulsivo A/O e a outra, um agente emulsivo O/A. Do ponto de vista teórico, o uso de uma mistura de agentes emulsivos dão origem a emulsões muito mais estáveis pois actuam de uma maneira complexa, podendo exercer uma ou várias das seguintes acções: originar um equilíbrio hidrófilo-lipófilo mais perfeito; estabelecer uma película interfacial mais estável; dar à emulsão uma consistência mais conveniente (Prista *et al.*, 1995).

Na preparação de uma emulsão múltipla é normal a utilização de dois tensioactivos de natureza oposta no sistema. Um tensioactivo estabiliza a emulsão A/O (lipófilico), enquanto o outro estabiliza a emulsão O/A (hidrofilico). Os complexos interfaciais formados para utilização dos dois tensioactivos contribuem para a estabilização de uma emulsão porque diminuem a tensão superficial mais acentuadamente do que quando se emprega um só agente emulsivo, para além de originarem uma película compacta, mas flexível, na interfase (Khan *et al.*, 2006, Prista *et al.*, 1995).

Para emulsões A/O/A não é possível seleccionar um emulsificante puramente com base no seu valor de EHL sendo necessário a determinação do valor de EHL da fase de oleosa numa emulsão simples O/A. Desta forma, depois de alguns estudos concluiu-se que a concentração do agente emulsivo secundário é geralmente inferior a 1/5 da concentração do agente

emulsivo primário. É importante que o tipo de agente tensoactivo e a sua concentração seja optimizada para que assim se obtenha uma emulsão estável (Khan *et al.*, 2006, Schmidts *et al.*, 2009).

Embora haja vantagens na utilização de uma mistura de emulgentes na preparação das emulsões, deve ter-se em conta, porém, que alguns agentes emulsivos são incompatíveis e não podem ser associados na mesma formulação. Certos agentes emulsivos do mesmo tipo podem ser incompatíveis entre si, como, por exemplo, as substâncias de natureza coloidal possuindo carga eléctrica de sinal contrário, que, uma vez misturadas, coagulam. Também os agentes aniónicos e catiónicos, apesar de ambos poderem favorecer a formação de emulsões O/A, não devem ser utilizados juntamente porque reagem entre si, anulando-se, assim, as suas propriedades emulsivas. Porém, existem associações completamente funcionais e com larga aplicação (Prista *et al.*, 1995).

### **3.1.2. Tensioactivos**

Os tensioactivos constituem um grupo muito numeroso. A classificação deste grupo é feita tendo em conta as características da porção polar da molécula. Um dos grupos é o formado pelos que possuem uma cabeça polar que se pode ionizar, e que por sua vez se classificam em aniónicos, catiónicos e anfotéricos. O segundo grande grupo é constituído por aqueles cuja porção polar não se pode ionizar, e que se denominam tensioactivos não iónicos (Jato, 1997).

#### **3.1.2.1. Tensioactivos aniónicos**

Os tensioactivos aniónicos são aqueles, cuja porção polar apresenta carga negativa. Apesar de serem económicos, o seu uso está limitado devido à sua toxicidade. Desta forma, utilizam-se apenas em formulações de aplicação externa (Jato, 1997, Lachman, 2001).

Os principais grupos de agentes tensioactivos aniónicos são os sabões e compostos sulfonados e sulfatados. Os sabões sódicos, potássicos e amónicos permitem obter emulsões O/A estáveis, embora por vezes seja necessária a presença de um cotensioactivo não iónico para formar uma película interfacial eficaz. Os sabões de cálcio permitem unicamente obter emulsões A/O (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

No segundo grande grupo de tensoactivos aniónicos estão incluídos os alquil sulfatos e sulfonados. O representante mais conhecido deste grupo é o lauril sulfato de sódio, sendo utilizado frequentemente na obtenção de emulsões O/A. Possui uma elevada hidrosolubilidade e para além disso não é capaz de formar películas interfaciais condensadas na interfase água-óleo. Por este motivo, utiliza-se sempre combinado com outro tensoactivo não iónico (por exemplo, álcool cetosteárfico) com o objectivo de formar uma película complexa e densa (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

### **3.1.2.2. *Tensoactivos catiónicos***

Os tensoactivos catiónicos são compostos cuja fracção polar se ioniza, adquirindo carga positiva. Os típicos representantes são os sais de amónio quaternário e de piridínio. Necessitam da presença de um agente emulsivo não iónico para formar emulsões estáveis O/A (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Possuem propriedades desinfectantes e conservantes, mas também são bastante tóxicos e por esta razão, o seu uso limita-se a formulações de cremes antisépticos. Os componentes deste grupo são a cetrimida e o cloreto de benzalcónio (Jato, 1997).

### **3.1.2.3. *Tensoactivos não iónicos***

O grupo dos tensoactivos não iónicos é o mais importante por diversas razões. Em primeiro lugar, a sua baixa toxicidade permite a sua utilização por via tópica, via oral e inclusivamente parental. Para além da baixa toxicidade, apresenta menos problemas de compatibilidade e é menos sensível a mudanças de pH ou à adição de electrólitos. Trata-se de um grupo bastante numeroso e integra compostos tanto hidrossolúveis como lipossolúveis, o que permite obter emulsões A/O ou O/A. É possível utilizar uma combinação de ambos com o objectivo de obter uma película interfacial densa. Como principal desvantagem podemos referir o seu maior custo (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Entre os principais tipos de tensoactivos não iónicos, destacam-se os ésteres de glicol e de glicerol, os ésteres de sorbitano, os polissorbitos, os éteres de álcoois gordos e poliglicóis, os ésteres de ácidos gordos e poliglicóis e alguns álcoois gordos (Jato, 1997).

Os ésteres de sorbitano também conhecidos como a serie Span®, nome com o qual são comercializados, são de carácter lipofílico, e por esse motivo formam emulsões A/O. Na prática, o mais frequente é utiliza-los em combinação com polissorbatos para obter emulsões O/A e A/O. Os polissorbatos são derivados dos ésteres do sorbitano e do polietilenoglicol correspondendo comercialmente à serie dos Tween®. Estes compostos dão melhor estabilidade à emulsão, assegurando melhor encapsulamento e libertação controlada da espécie encapsulada quando comparados com os tensioactivos de menor peso molecular (Jato, 1997, Bonnet *et al.*, 2010b).

Os polissorbatos, para além de apresentarem baixa toxicidade, são compatíveis com praticamente todos os outros tipos de tensioactivos, sendo também solúveis em água. Possuem, por outro lado, um pH neutro e são estáveis ao calor, às variações de pH e às elevadas concentrações de electrólitos. Como principais desvantagens apresentam um sabor desagradável e a possibilidade de inactivar alguns conservantes com os quais podem formar complexos (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Os éteres de poliglicol e álcoois gordos obtêm-se por condensação do polietilenoglicol com álcoois gordos (cetílico e cetoestearílico). Um representante deste grupo muito utilizado é o cetomacrogol® 1000. Este é de carácter hidrossolúvel e forma emulsões O/A, requerendo a presença de um segundo emulsificante lipófilo. Outros éteres de macrogol de carácter lipófilo, que formam emulsões A/O pertencem à serie comercial dos Brij® (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Noutro grupo de tensioactivos estão incluídos os ésteres de ácidos gordos com poliglicóis, entre os quais os ésteres de estearato que são os mais utilizados. Um grupo muito numeroso é o formado pelos polioxialcoois, que são copolímeros do polioxietileno com o polioxipropileno. Alguns dos membros deste grupo podem-se utilizar por via endovenosa (Jato, 1997).

Por último, outro grupo de agentes emulsionantes auxiliares, são os álcoois gordos tipo cetílico, estearílico e cetoestearílico. Estes componentes aumentam a viscosidade, pelo que

retardam a formação de cremes e também podem participar na formação de películas interfaciais complexas e densas (Jato, 1997).

#### **3.1.2.4. Tensioactivos anfotéricos**

Os tensioactivos anfotéricos são aqueles cuja porção polar se pode ionizar positiva ou negativamente consoante o pH do meio seja ácido ou básico, comportando-se como bases aminadas em meio ácido e como ácido em meios alcalinos, não sendo ionizados em meio neutro. Embora não se utilizem muito como emulsionantes, deverá destacar-se a lecitina utilizada em emulsões parenterais e também o miranol (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995) .

#### **3.1.3. Materiais de origem natural e seus derivados**

O uso de materiais de origem natural normalmente limita a formulação de preparações extemporâneas. Esse facto deriva de duas razões: da dificuldade em obter um produto homogéneo que apresente uma mínima variabilidade entre diferentes lotes e do facto de os materiais naturais constituírem um local propício ao crescimento microbiano. Por esse motivo, para a formulação de emulsões, que requerem uma estabilidade prolongada, são preferíveis os derivados sintéticos. Podemos considerar dois grupos: os derivados do esterois e os coloides hidrofílicos (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995) .

Dentro dos derivados do esterois podemos encontrar a cera de abelha de utilização frequente na cosmética, a lanolina anidra e os álcoois de lã. A lanolina anidra não se aplica com muita frequência porque requer a presença de antioxidantes e pelas possíveis reacções alérgicas que pode causar. Já foram obtidos alguns derivados da lanolina que melhoram as suas características; estes são de carácter iónico, emulsionantes O/A e emolientes. Os álcoois de lã, os esteróis e o colesterol presente na lanolina possuem também propriedades emulsivas A/O (Jato, 1997).

No segundo grande grupo estão incluídos os coloides hidrófilos, que se tratam de polímeros usados principalmente como agentes emulsionantes auxiliares e espessantes. No geral, estes hidrocoloides favorecem a formação de emulsões O/A, devido á formação da barreira hidrofílica forte entre as fases. Segundo a sua origem, podem classificar-se nos provenientes de exsudados de árvores (goma arábica ou acácia, goma karaya e tragacanta), de algas (agar,

carragenatos e alginatos) e de extractos de sementes (goma guar e sementes de marmeleiro). De todos os compostos referidos, o que mais se destaca é a goma de acácia, que estabiliza emulsões O/A, pois retarda a coalescência mediante a formação de uma película interfacial forte (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Dentre os polissacarídeos semi-sintéticos destacam-se os derivados da celulose, por exemplo a metil celulose e a carboximetilcelulose. Com estes derivados as variações entre os lotes diminuem relativamente às observadas com produtos naturais (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

#### **3.1.4. Sólidos finamente divididos**

Os sólidos finamente divididos que possuam a capacidade de se adsorverem na interfase das emulsões podem estabiliza-las. Entre os compostos utilizados encontram-se hidróxidos de metais pesados, argilas e pigmentos. Algumas argilas (bentonite e silicato de alumínio e magnésio) e o dióxido de sílica coloidal são usados para estabilizar emulsões de aplicação externa. Por via oral são preferíveis os hidróxidos de alumínio e de magnésio. No geral, podem usar-se em combinação com outros tensoactivos ou com macromoléculas que aumentem a viscosidade do sistema (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

#### **3.1.5. Fase oleosa**

Os óleos utilizados na preparação de emulsões farmacêuticas são de diferentes tipos químicos, incluindo ésteres simples, óleos voláteis, hidrocarbonetos e derivados terpenoides. O óleo em si pode ser a substância activa, ou pode funcionar como transportador, ou mesmo fazer parte de uma mistura de emulsificantes. Os óleos mais utilizados em preparações orais são os óleos minerais não-biodegradáveis, os óleos de rícino (que proporcionam um efeito laxante local), os óleos de fígado de peixe e os óleos de origem vegetal (por exemplo, amendoim, algodão, e óleos de milho) como suplementos nutricionais. Os óleos minerais proporcionam um rendimento muito superior ao dos óleos vegetais (Khan *et al.*, 2006). Num estudo realizado com duas emulsões semelhantes a nível de tamanho da gotícula e do tipo de agentes estabilizantes, foi testado o efeito da alteração da fase oleosa na evolução da libertação do composto desejado. Numa das emulsões a fase oleosa era constituída por dodecano (alcano), sendo que a fase oleosa da outra emulsão era constituída por óleo de girassol (óleo vegetal). Na fase final da experiência concluíram que a cinética da libertação é comparável, ou seja, a

associação dos polímeros utilizados para a estabilização, é que determinou o perfil de libertação e não a fase oleosa ( Pays, 2002).

Outro factor que vai influenciar a estabilidade é a natureza do óleo, pois não só controla a reologia das emulsões múltiplas, mas também a permeabilidade da membrana, ou seja, influencia a difusão do soluto através da membrana oleosa. Os óleos de diferentes densidades e viscosidades podem ser usados para alterar as características de libertação da substancia activa. O volume da fase oleosa vai afectar as propriedades oclusivas da formulação e consequentemente as características hidratantes da emulsão (Khan *et al.*, 2006, Erdal, 2006).

### **3.1.6. Fase aquosa**

A fase aquosa das emulsões serve essencialmente para dissolver aditivos e estabilizantes necessários à emulsão, assim como também pode veicular fármacos hidrofílicos. Os aditivos mais comumente usados são os antioxidantes, os antimicrobianos e alguns corantes. Quando a emulsão é aplicada na pele, a água tem também como função manter a elasticidade e a juventude da epiderme, mantendo a pele hidratada (Lachman, 2001).

## **4. Desenvolvimento da formulação**

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis e portanto, utilizam-se agentes emulsionantes, como os tensoactivos, polímeros, etc, para fornecer estabilidade cinética e manter a sua estrutura durante um período relativamente longo. Na preparação de uma emulsão múltipla é normal introduzir dois tensoactivos de natureza oposta ao sistema. Um tensoactivo estabiliza a emulsão A/O (lipofílico), enquanto o outro estabiliza a emulsão O/A (hidrofílica). A utilização de diagramas de fase pode ajudar na produção de emulsões múltiplas usando apenas um tensoactivo para estabilizar tanto a emulsão primária e secundária. Isto é, a presença de uma fase líquida cristalina no sistema ternário constituída por água-óleo-emulsionante, onde a solução aquosa micelar do agente emulsivo e a solução oleosa do agente emulsivo estão em equilíbrio com a outra, tem mostrado que melhora a estabilidade de emulsões (Khan *et al.*, 2006).

## **4.1. Técnicas de preparação**

### **4.1.1. Método da dupla emulsificação**

É o método mais comum para a preparação de emulsões múltiplas, pois é fácil de executar e produz um elevado rendimento, sendo facilmente reproduzível, conseguindo dar origem a emulsões com sistema de libertação controlada. A primeira etapa envolve, obtenção de uma emulsão primária A/O ou O/A que em seguida é re-emulsificada com um excesso de fase aquosa ou de fase oleosa, na presença do segundo agente emulsionante para obter emulsões múltiplas do tipo A/O/A ou O/A/O, respectivamente. O efeito da relação do tensoactivo hidrofóbico e o tensoactivo hidrofílico influencia as propriedades físicas das formulações (Morais *et al.*, 2009, Khan *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2011).

A segunda etapa da emulsificação é muito importante, pois pode levar a fractura de glóbulos internos formando emulsões simples do tipo A/O ou O/A (dependendo de vários outros factores). Em pesquisas recentes, uma versão modificada da técnica de emulsificação em duas etapas está a ser utilizada, pelo que cada passo foi dividido em duas sub-etapas (pré-emulsificação por sonicação e posterior agitação) levando a um método de emulsificação duas etapas 2x2. Este método modificado proporciona alta produtividade e estabilidade á emulsão. A segunda etapa envolve a temperatura e a pressão como parâmetros de produção pois influenciam o tamanho das gotículas de óleo. Alguns estudos realizados revelaram que, para fazer uma emulsão estável A/O/A o tamanho dos poros da membrana para a segunda etapa de emulsificação deve ser inferior a duas vezes o diâmetro do mercado interno gotas. Outros estudos têm sido feitos para tornar este processo industrial (Morais *et al.*, 2009, Khan *et al.*, 2006, Vladisavljevic e Williams, 2005).

### **4.1.2 Método da etapa única**

O desenvolvimento de sistemas A/O/A foi relatado pela primeira vez durante a inversão de fases de uma emulsão A/O concentrada para uma emulsão O/A. A emulsão A/O/A foi elaborada através da sua extrusão por uma membrana de policarbonato que possui poros de 3 a 8 µm de diâmetro. Esta emulsão múltipla após a extrusão tornou-se semi-sólida, e alterou-se para uma emulsão A/O. Esta emulsão resultante foi facilmente re-dispersa em solução aquosa de emulsificante hidrofílico para formar uma emulsão do tipo A/O/A, tendo um tamanho de gotículas menor e mais homogéneo do que a emulsão múltipla original. O mecanismo de

inversão de fase pode ser descrito como: emulsão O/A → formação da estrutura lamelar → micela invertida → emulsão A/O → redispersão para formular emulsões A/O/A homogêneas. A inversão de fase de emulsões A/O/A ocorre se o total EHL dos emulsionantes no sistema se aproximar do EHL requerido do óleo (Morais *et al.*, 2009, Khan *et al.*, 2006).

A técnica de inversão de fase tem uma ampla distribuição de tamanho das gotículas e número indefinido de compartimentos encapsulados. É por isso que esta técnica não é usada para a preparação de emulsões múltiplas de tamanho uniforme (Khan *et al.*, 2006).

O processo de emulsificação de etapa única para a preparação de emulsões múltiplas pela introdução de dois tensioactivos e dois polímeros consiste da adição da fase aquosa, contendo polietilenoglicol (PEG) e tween 20, á fase oleosa, que contém 1-octanol hidroxil propil celulose (HPC) e span 80, por agitação com um agitador magnético. Este método é considerado mais eficiente comparativamente com o método de emulsificação em duas fases, pela utilização dos dois polímeros, que melhoram a estabilidade da emulsão. A temperatura de emulsificação, a ordem de adição de fases e de tensioactivos e a razão entre o volume das duas fases são parâmetros cruciais para a produção de emulsões múltiplas estáveis através deste método (Morais *et al.*, 2009, Khan *et al.*, 2006).

#### **4.1.3 Método de emulsificação por membrana**

Esta é uma técnica recente e mais útil onde uma membrana de vidro microporoso, com um tamanho de poro definido pode ser utilizada como ferramenta de emulsificação. Esta técnica é baseada no princípio da dispersão numa fase imiscível (fase dispersa) noutra fase (fase contínua) através da aplicação de pressão. Outros métodos de preparação dão origem a elevada variabilidade no tamanho das gotículas, mas esta técnica dá á emulsão o tamanho de gotícula desejado, devido á possibilidade de escolher o tamanho do poro da membrana. O tamanho da partícula da emulsão A/O/A pode ser controlada com a selecção adequada da membrana porosa de vidro e a relação entre o tamanho dos poros da membrana e o tamanho da partícula da emulsão apresenta boa correlação, tal como descrito pela fórmula 1 (Lachman, 2001):

$$Y = 5,03x + 0,19 \quad (1)$$

$y$  = tamanho medio das gotículas preparadas por esta técnica

$x$  = tamanho do poro

Esta técnica foi utilizada na preparação de emulsões O/A e A/O/A estáveis. Essas emulsões foram encapsuladas de forma eficaz e a sua libertação controlada foi conseguida (Khan *et al.*, 2006).

#### **4.2. Equipamentos usados na emulsificação**

Quase todos os métodos usados para dividir a fase interna em gotículas dependem da energia, necessitando de algum tipo de agitação. Quando um líquido é injectado no seio de outro líquido, o jacto produzido em forma cilíndrica, é quebrado em pequenas porções. Os factores que influenciam a divisão do jacto do líquido injectado são: o diâmetro do bico, a velocidade com que o líquido é injectado, a densidade e a viscosidade do líquido injectado e, evidentemente, a tensão interfacial entre os dois líquidos. De forma semelhante, obtêm se gotículas quando um líquido é vertido num segundo líquido sob agitação vigorosa. Uma vez ocorrida uma quebra inicial das gotículas, estas continuam a ser sujeitas a forças adicionais devido à turbulência que leva à deformação da gotícula com a divisão desta em gotículas mais pequenas (Lachman, 2001, Prista *et al.*, 1995).

Encontram-se no mercado vários tipos de equipamentos que permitem produzir emulsões a uma escala laboratorial ou industrial. Independentemente do tamanho ou, de pequenas variações, esses equipamentos podem ser agrupados em quatro categorias principais (Lachman, 2001, Prista *et al.*, 1995):

- Agitadores mecânicos;
- Homogeneizadores;
- Ultra-sonicadores;
- Moinhos coloidais.

O factor mais importante envolvido na produção de uma emulsão é o grau de corte e turbulência necessários para se obter grau determinado da dispersão de gotículas líquidas. O

grau de agitação necessário depende do volume total de líquido a ser agitado, da viscosidade do sistema e da tensão interfacial na interface óleo-água. Os dois últimos factores são determinados pelo tipo de emulsão a produzir, pela razão entre as duas fases e pelo tipo e concentração dos emulgentes. Por esta razão, não existe um único método de dispersão que possa ser usado para a preparação de qualquer emulsão (Lachman, 2001).

Durante a agitação ou durante a transferência de uma emulsão para outro contentor, pode-se formar espuma. A formação de espuma ocorre porque o tensoactivo, solúvel em água, necessário para a emulsificação também reduz a tensão interfacial entre o ar e a água, o que leva à incorporação de ar pela emulsão. Para minimizar a formação de espuma a emulsificação pode ser efectuada em sistemas fechados, com um mínimo de espaço ou sob vácuo. Para além disso, a agitação mecânica, particularmente durante o arrefecimento de uma emulsão recém preparada, pode ser regulada para que o ar suba até ao topo da preparação. Se estas precauções não forem suficientes para eliminar ou reduzir a formação de espuma, pode ser necessária a adição de agentes anti-espuma à preparação. No entanto, o uso destas substâncias deve ser evitado completamente uma vez que podem ser incompatíveis com outros materiais. Os agentes anti-espuma mais eficazes são os álcoois de cadeia longa e os derivados de silicone, que se encontram disponíveis comercialmente. Estas substâncias actuam ao espalharem-se facilmente na interface ar-água formando filmes insolúveis (Lachman, 2001).

### **4.3. Técnicas de caracterização e controlo de emulsões**

Entre as numerosas técnicas de caracterização e controlo de emulsões, podem distinguir-se 3 grupos. Num grupo, aquelas que são próprias das emulsões, entre as quais, a medida do tamanho da gotícula, a determinação do sinal da emulsão, a temperatura de inversão de fases e a velocidade de formação de creme ou de sedimentação por centrifugação. Noutro tipo de controlo estão incluídos os ensaios comuns a todo o tipo de formulações semi-sólidas e pastosas, tratando-se essencialmente da caracterização das propriedades reológicas, o teste da extrusão e a determinação do ponto da gotícula. Num terceiro grupo encontram-se os ensaios destinados a estabelecer a estabilidade da emulsão formulada. Nestes ensaios submete-se a emulsão a condições drásticas de temperatura, ciclos de temperatura, centrifugação ou agitação forte. Estes ensaios têm como finalidade avaliar a estabilidade do sistema e com eles se comprova se haverá separação de fases, modificação do tamanho da gotícula ou

modificação da viscosidade. Existem por último, outros ensaios, como os microbiológicos, organolépticos, de conteúdo do princípio activo, controlo de embalagem, etc., que são muito comuns às formulações farmacêuticas em geral (Jato, 1997, Lachman, 2001).

#### **4.3.1 Agitação**

A duração de agitação tal como a variação da temperatura tem uma influência profunda e complexa sobre o processo de emulsificação. Durante o período de agitação inicial requerida para emulsificação formam-se gotículas, no entanto, á medida que a agitação continua, a probabilidade de colisão das gotículas aumenta e a coalescência pode ocorrer e, para além disso, pode diminuir a viscosidade de uma emulsão com propriedades tixotrópicas. Segundo O termo tixotropia é usado para descrever uma transição estrutural reversível a qual é associada a um aumento na tensão de cisalhamento, seguida de uma redução até ao valor original, ou seja, para um fluido ser definido como tixotrópico, este deve regenerar totalmente a sua estrutura quando deixado em repouso, após cisalhado. O cisalhamento está relacionado com a aplicação de uma força na estrutura das partículas da emulsão, que vai produzir a redução do seu tamanho e portanto, reduz a viscosidade aparente do produto (Jato, 1997, Lachman, 2001, Branco, 2003).

Foi demonstrado que a melhor maneira de formar uma emulsão consiste em utilizar uma agitação intermitente. Existe ainda uma relação entre a temperatura e a duração da agitação, isto é, o ciclo de arrefecimento/aquecimento. Por rotina preparam-se emulsões a temperaturas elevadas. A velocidade de arrefecimento da emulsão formada também tem influência nas características da emulsão. Infelizmente, não é possível prever para uma determinada emulsão se é desejável um ciclo de arrefecimento lento ou rápido (Lachman, 2001).

No que diz respeito às emulsões múltiplas, uma elevada taxa de cisalhamento interrompe uma maior percentagem de gotículas múltiplas oleosas e, portanto, resulta na instabilidade do sistema devido a um grande aumento na área superficial efectiva. Por isso, com um aumento do tempo de homogeneização, o rendimento do sistema diminui rapidamente. Geralmente, nas emulsões múltiplas utiliza-se uma elevada velocidade de agitação para a emulsificação primária e uma velocidade mais baixa é utilizada para a emulsificação secundária. Taxas de cisalhamento muito altas ou muito baixas afectam drasticamente a estabilidade do sistema,

portanto, o tempo de cisalhamento/agitação deverá ser otimizado. Uma maior tensão de cisalhamento causa a incorporação de ar e conseqüentemente há formação excessiva de espuma resultando em perda de tensioactivo na interface ar-água, enquanto uma menor tensão de cisalhamento reduz o tamanho dos glóbulos, ou seja, é necessário encontrar um equilíbrio (Khan *et al.*, 2006).

#### 4.3.2 Temperatura

Na prática, a emulsificação é conseguida pelo calor, ou melhor, por diversas formas de alteração da temperatura. As interações são complexas sendo praticamente impossível prever se um aumento da temperatura irá favorecer a emulsificação ou a coalescência (Lachman, 2001).

Um aumento da temperatura diminui a tensão interfacial bem como a viscosidade, logo, poder-se-á prever, o que é normalmente verdade, que a emulsificação é favorecida por um aumento de temperatura. Ao mesmo tempo, no entanto, um aumento da temperatura aumenta a energia cinética das gotículas e assim facilita a sua coalescência. Alterações da temperatura alteram a distribuição dos coeficientes de partilha dos emulgentes entre as duas fases, provocando migração do emulgente em função da temperatura. Isto não pode ser correlacionado directamente com a formação ou com a estabilidade de uma emulsão, uma vez que ocorrem simultaneamente alterações na tensão superficial e na viscosidade (Lachman, 2001).

A influência mais importante que a temperatura tem sobre uma emulsão é provavelmente sobre a sua inversão. A temperatura a que a inversão ocorre depende da concentração do emulgente e é conhecida como temperatura de inversão de fases (TIF). Este fenómeno pode ocorrer durante a formação de emulsões, uma vez que estas são normalmente preparadas a temperaturas relativamente elevadas e, em seguida, arrefecidas à temperatura ambiente. As emulsões formadas por uma técnica de inversão de fases são consideradas bastante estáveis e as gotículas da fase interna encontram-se finamente dispersas. A temperatura de inversão de fases é considerada, normalmente, como a temperatura à qual as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do emulgente se equilibram, sendo também conhecida como a temperatura de EHL (Lachman, 2001).

No que diz respeito as emulsões múltiplas, o aumento da temperatura vai aumentar também o carácter lipofílico dos tensoactivos hidrofílicos, o que vai aumentar a tendência para este precipitar. Desta forma, é comum que para a formulação da emulsão primária a temperatura é mantida em 70°C, enquanto para a preparação de emulsões múltiplas é mantida a 10°C. Grandes variações de temperatura durante a fabricação, transporte, armazenagem e utilização leva a modificações drásticas nas emulsões (Khan *et al.*, 2006).

### 4.3.3 Reologia

A medição das propriedades reológicas das emulsões tem interesse por várias razões. Por um lado, é necessária consistência, de forma que se mantenham no local de aplicação durante o tempo necessário; por outro lado, também é necessário que consigam fluir em determinadas circunstâncias, (para facilitar a agitação durante a preparação, para propiciar a sua extensão sobre uma superfície ou fluir sem dificuldade por uma agulha hipodérmica). Como também, a consistência e textura da emulsão farmacêutica ou cosmética pode ser um factor crítico relativamente à sua aceitação por parte do paciente. Para a realização dos controlos reológicos do produto é aconselhável esperar umas horas (24-48h) já que uma emulsão recém preparada demora um determinado tempo a atingir a viscosidade que lhe corresponde (Jato, 1997, Lachman, 2001).

Embora a viscosidade das emulsões possa variar amplamente, é possível fazer algumas considerações gerais sobre o comportamento das mesmas. Como tal, existe uma relação proporcional entre a fracção volúmica da fase interna e a viscosidade aparente. A concentrações menores que 74%, as gotas da emulsão não estão em contacto e não interferem no seu movimento. Ao aumentar a concentração, vão-se produzir maiores interferências entre as gotas, pelo que o fluxo é mais difícil. Um empacotamento elevado de gotas dificulta seriamente o fluxo e conseqüentemente isso traduz-se num aumento da viscosidade, o que vai requerer grandes forças de cisalhamento para vencer a resistência ao fluxo que se opõe a essa estrutura tão densa. Se se continuar a adicionar fase interna, como ocorre frequentemente, produz-se uma inversão da emulsão, e observa-se uma redução brusca da viscosidade; por exemplo, podemos passar de uma consistência tipo pomada para creme fino, o que se traduz num ajuste das taxas de cisalhamento. Quando a viscosidade for alta as taxas de cisalhamento

terão de ser baixas e vice-versa, de forma a manter a estabilidade. Assim, o produto obtido poderá fluir sem requerer um grande aporte de energia (Jato, 1997).

Desta forma, para emulsões com baixo volume de fase interna, a consistência é geralmente semelhante à da fase contínua; assim, emulsões O/A/O são geralmente mais espessas do que emulsões A/O/A. A consistência dum sistema A/O/A pode ser aumentada através da adição de gomas, argilas, e outros agentes de espessantes que transmitam propriedades de fluxo plástico ou pseudoplástico, embora a adição destes agentes esteja condicionada a que a reologia do sistema resultante seja aceitável para a sua aplicação (Khan *et al.*, 2006, Jato, 1997).

É possível aumentar a viscosidade de uma emulsão ao diminuir o tamanho da gotícula; quando a proporção da fase interna é elevada, uma diminuição do tamanho do glóbulo produz um aumento da viscosidade, a qual incide sobre a viscosidade do sistema. Por outro lado, se as gotículas possuem um tamanho uniforme é fácil que se produza um empacotamento ordenado e compacto; uma grande dispersão de tamanhos dificulta o ordenamento e, portanto, dificulta o empacotamento, o qual facilita o movimento das gotículas. Consequentemente, uma emulsão homogénea possui uma maior viscosidade relativamente a uma muito heterogénea. Quanto ao ponto de semi-ruptura, este é proporcional à tensão interfacial existente no sistema e inversamente proporcional ao raio da gotícula e traduz-se no tempo necessário para que o valor da interfase específica se reduza a metade. A interfase específica é o coeficiente entre a área interfacial (em  $\text{dm}^2$ ) e a quantidade da fase interna (Jato, 1997).

A medição da viscosidade é um parâmetro importante para estudos de caracterização e estabilidade de emulsões múltiplas. No caso de uma emulsão instável, a camada oleosa pode sofrer rupturas internas e as gotículas aquosas fundem-se com a fase aquosa contínua e desaparecem instantaneamente diminuindo a viscosidade do sistema (Khan *et al.*, 2006).

A análise reológica das emulsões múltiplas é muito importante pois determina a estabilidade da emulsão *in vitro* e o desempenho clínico *in vivo*. Os viscosímetros de Brookfield são amplamente utilizados para determinação da viscosidade das emulsões múltiplas. Três diferentes tipos de testes foram propostos para simular as condições *in vivo*, tais como ensaio

oscilatório, testes de fluxo no estado estacionário e testes de choque e turbulência. A força do filme interfacial, isto é, a elasticidade dos componentes (A/O) e (O/A) da emulsão múltipla (A/O/A) foi avaliada por medição reológica interfacial na interface óleo/água usando um reómetro de superfície oscilatória. Um fluxo tixotrópico negativo de emulsões A/O/A foi observada quando a taxa de cisalhamento se encontrava baixa, sendo mais pronunciada quando a taxa de cisalhamento aumentava, ou quando se aumentava o tempo da operação (Khan *et al.*, 2006).

A viscosidade das emulsões tende a aumentar com o tempo de armazenamento; por exemplo, se durante o tempo de armazenamento ocorrer floculação do sistema pode-se observar um aumento da viscosidade. Este fenómeno é designado de envelhecimento (Jato, 1997).

#### **4.4. Caracterização *in vitro***

A avaliação *in vitro* de emulsões múltiplas é um importante passo no desenvolvimento de um sistema com suporte estável e eficaz de fármacos, o que leva à previsão da correlação *in-vitro in-vivo*. Mudanças significativas nos parâmetros que se seguem durante a preparação, armazenamento ou transporte são indicadores de pouca estabilidade na emulsão (Khan *et al.*, 2006).

##### **4.4.1 Exame macroscópico**

O exame macroscópico e das características organolépticas, no que diz respeito às emulsões, realiza-se sobre a formulação recém preparada e após o seu armazenamento mediante condições drásticas. Este tipo de exame baseia-se em observações primárias como coloração, consistência e homogeneidade, características usadas frequentemente para garantir a formação da emulsão. Para além das possíveis consequências terapêuticas, por exemplo, uma má dosificação devida á formação de creme, as características organolépticas adequadas são indispensáveis para atingir a aceitação e seguimento do tratamento por parte do paciente (Jato, 1997, Khan *et al.*, 2006).

##### **4.4.2 Exame microscópico / tamanho da gotícula**

A determinação do tamanho da gotícula realiza-se sobre o produto acabado e depois do seu armazenamento. Um aumento do tamanho da gotícula indica a existência de processos de

coalescência, crescimento dos glóbulos e, portanto, a instabilidade da emulsão ao longo do tempo. Assim, determinando a evolução do tamanho da gotícula e a partir deste, a área da interfase, é possível avaliar a estabilidade da emulsão ao longo do tempo. Para a determinação do tamanho da gotícula podem utilizar-se várias técnicas. A microscopia de luz ou electrónica são métodos directos que proporcionam a distribuição dos tamanhos e, portanto, o valor da área interfacial. As emulsões múltiplas também têm sido estudadas através de vídeos de microscopia feitos no interior de microcapilares. Diferentes técnicas de filmagem (Time-lapse, cinemicrografia contínua e de alta velocidade, fotomicrografia) foram utilizadas para caracterização (Lachman, 2001, Khan *et al.*, 2006).

O exame microscópico da emulsão sem diluição coloca em evidência os processos de recristalização do princípio activo e aditivos. O inconveniente desta técnica é a possibilidade de se sobrestimar o tamanho da gotícula. O exame microscópico pode também ser realizado sobre uma amostra diluída, sendo a diluição realizada de forma standardizada. O problema desta técnica é o número elevado de gotas cujo tamanho se tem que medir para se estabelecer correctamente a distribuição do tamanho (mais de 600). Quando se observam emulsões múltiplas estão inerentes mais duas desvantagens (Khan *et al.*, 2006, Lachman, 2001):

1. Pequenas gotas passam a formar grandes gotas, o que dá uma falsa impressão de natureza múltipla
2. Se as gotas internas forem muito pequenas estas podem não ser visualizadas devido à reflexão da luz na superfície das gotículas de óleo.

Com as emulsões de fase externa aquosa podem utilizar-se outras técnicas mais sofisticadas, como é o exemplo dos contadores de Coulter. O inconveniente deste método reside na necessidade de diluir a amostra num electrólito, portanto, não se trata a emulsão original. Embora tenha sido demonstrado que na maioria dos casos as modificações de tamanho originadas pela diluição são pouco importantes e reprodutíveis (Jato, 1997).

Outros sistemas utilizados para a medição do tamanho da gotícula são os baseados na difracção de luz laser ou nas emulsões multiplas. Estes são utilizados, principalmente, quando as emulsões possuem um tamanho de gotícula não visível ao microscópio, por exemplo, como

é o caso das emulsões preparadas por inversão de fase. Estes métodos normalmente requerem a diluição da amostra, o que leva à consideração da possibilidade de causar instabilidade da mesma como também a mudança das propriedades iniciais. Sempre que seja possível, é melhor utilizar a mesma fase externa como dissolvente (Jato, 1997).

#### 4.4.3. Número de glóbulos

O número de glóbulos é também um parâmetro importante para a caracterização de emulsões múltiplas. Um número elevado de glóbulos múltiplos sugere uma emulsão boa e estável após o armazenamento. O número de glóbulos por milímetro cúbico ( $\text{mm}^3$ ) pode ser medida utilizando hemocitometria celular após diluição adequada da emulsão. Os glóbulos são contados em cinco grupos de 16 pequenos quadrados (total 80 quadrados) e o número total de glóbulos por milímetro cúbico pode ser calculado através da seguinte fórmula (2) (Khan *et al.*, 2006):

$$\text{Nr}^\circ \text{ de Glóbulos /mm}^3 = \frac{\text{Nr}^\circ \text{ de glóbulos} \times \text{Diluição} \times 4000}{\text{Nr}^\circ \text{ de quadrados pequenos contados}} \quad (2)$$

#### 4.4.4. Determinação da velocidade de formação de creme ou de sedimentação por centrifugação

Sabe-se que a armazenagem sob condições normais pode ser prevista rapidamente, por observação da separação da fase dispersa quando a emulsão é exposta a centrifugação. A equação de Stokes, abaixo referida, na fórmula 3, mostra que a cremagem é uma função da gravidade e que um aumento desta acelera a separação, embora não seja possível fazer uma previsão quantitativa (Lachman, 2001).

$$\frac{dx}{dt} = \frac{2r^2(\rho_2 - \rho)g}{9\eta} \quad (3)$$

$\frac{dx}{dt}$  – velocidade de formação de cremes

$r$  – raio das gotículas

$\rho_2$  – densidade da fase dispersa

$\rho$  – densidade do meio

$\eta$  – viscosidade do meio de dispersão

Foram estabelecidas condições standard de realização deste ensaio. Considera-se uma emulsão estável quando depois de centrifugada não se observam separações de fases. Assim, por exemplo, considera-se que a centrifugação a 3750 rpm durante 5 horas, numa centrífuga com 10 cm de raio, é equivalente à acção da gravidade durante um ano. Por vezes, o processo de centrifugação é mantido durante o tempo necessário para que ocorra a separação das fases. A separação pode conduzir a três fases: uma de óleo, uma intermédia e uma aquosa. Este ensaio utiliza-se principalmente para avaliar a estabilidade das emulsões durante a etapa de pré-formulação, embora também se possa utilizar para detectar alterações durante o armazenamento (Jato, 1997).

#### **4.4.5. Determinação do pH**

Esta determinação para além de ser de interesse geral, no caso das emulsões é importante para determinar se ocorrem alterações de pH com o tempo. Estas alterações podem, por um lado, levar a um pH pouco adequado ao local de aplicação, à instabilidade de algum componente da formulação ou do próprio sistema. Por exemplo, os emulsificantes não iónicos podem conter em alguns casos impurezas de sabões alcalinos que poderão originar problemas se ocorrer uma acidificação durante o armazenamento. Dependendo da viscosidade da emulsão, vai ser necessário um tipo ou outro de eléctrodo para a realização da medição (Jato, 1997).

#### **4.4.6. Determinação do sinal da emulsão**

Para determinar o sinal de uma emulsão o mais simples é comprovar se um volume pequeno da mesma se mistura facilmente com a água; se assim for, a fase externa é aquosa e vice-versa. No entanto, as emulsões muito concentradas e muito viscosas podem não se misturar com a água mesmo tendo a fase externa aquosa, o que dificulta a determinação do sinal correcto. Outra técnica que pode ser utilizada é a da incorporação de um corante, quer hidrossolúvel ou lipossolúvel, e com o auxílio do microscópio observar qual das fases, contínua ou dispersa, incorpora o corante (Jato, 1997).

A fluorescência é outra das técnicas que poderá ser usada já que os óleos apresentam fluorescência quando expostos aos raios UV. Como tal, as emulsões O/A apresentam um aspecto ponteadado enquanto as emulsões A/O fluorescem uniformemente. Este tipo de técnica não é sempre aplicável (Lachman, 2001).

Por último, a medida da condutividade eléctrica das emulsões também serve para determinar o seu sinal. Se a contribuição da condutividade interfacial é significativa, a condutividade eléctrica da emulsão irá variar com o tamanho e a distribuição do tamanho da gotícula; servindo então, para detectar modificações neste sentido. No entanto, a maioria das emulsões possui uma condutividade independente do tamanho da gotícula, que se pode tratar mediante a teoria eléctrica simples. Nos casos em que não é necessário considerar os efeitos da interface, pode-se utilizar para o cálculo da condutividade específica eléctrica a seguinte expressão (Jato, 1997):

$$L = \frac{L_1[2L_1+L_2-2(L_1-L_2)V]}{[2L_1+L_2+(L_1-L_2)V]} \quad (4)$$

$L_1$  – condutividade específica da fase externa

$L_2$  – condutividade específica da fase interna

$V$  – fracção de volume da fase interna

#### 4.4.7. Eficiência de encapsulação / percentagem de fármaco

##### encapsulado / rendimento da emulsão

Os parâmetros existentes para avaliar a qualidade das emulsões múltiplas são a formação de emulsão e o seu rendimento. A relação entre o tensoactivo lipofílico na fase de oleosa relativamente ao tensoactivo hidrofílico na fase contínua, afectam o rendimento da emulsão A/O/A. Esta relação deverá ser superior a 10 para alcançar 90% ou mais do rendimento das emulsões. Outro dos parâmetros que influencia a eficiência da encapsulação é o stress que a emulsão sofre durante a sua preparação (Khan *et al.*, 2006, Vladislavljevic e Williams, 2005).

Existem dois métodos, utilizados para avaliar a produção de gotículas na produção de emulsões múltiplas, a análise granulométrica e da técnica do traçador interno. A análise da distribuição granulométrica de gotículas simples e múltiplas do sistema pode ser estimada através do rendimento da emulsão. O segundo método baseia-se no uso do traçador interno e estabelece a eficiência de encapsulação; neste método um marcador molecular impermeável é adicionado á primeira fase aquosa da emulsão, ou seja, basicamente envolve a determinação da substância activa não encapsulada através do uso de marcadores. O rendimento da emulsão

pode ser medido pela dissolução dum composto marcador na fase interna da fase aquosa e medindo a concentração do marcador na fase aquosa exterior. O rendimento pode ser determinado subtraindo-se o montante remanescente do marcador a partir do valor original. A diálise, centrifugação, filtração e condutividade são os quatro métodos geralmente utilizados para determinação da eficácia de encapsulação por esta técnica. Diversos marcadores têm sido utilizados como a glicose, iões de hidrogénio, electrólitos, fármacos iónicos (efedrina, ácido clorídrico), corantes (politarazina), marcadores radioactivos (água tritiada), etc (Khan *et al.*, 2006).

O rendimento das emulsões A/O/A melhorou através da adição de vários aditivos na fase interna aquosa como alquilsulfonato de sódio, alquilcarbonato de sódio, tweens, carbonato de sódio e sorbitol. Este aumento foi atribuído à diminuição da tensão interfacial entre a fase interna aquosa e fase oleosa da emulsão. Resultados semelhantes no encapsulamento do fármaco foram relatados após a adição de cloreto de sódio na fase interna aquosa em emulsões A/O/A contendo triptofano como fármaco modelo. O encapsulamento do fármaco aprisionado diminuiu quando o cloreto de sódio foi adicionado á fase aquosa externa (Khan *et al.*, 2006). Um estudo realizado por Bonnet *et al.*, demonstrou que o aumento da fracção dos glóbulos foi um método eficiente para melhorar a retenção das espécies encapsuladas nas gotículas aquosas internas. (Bonnet *et al.*, 2010c).

#### **4.4.8. Potencial zeta**

O potencial zeta das emulsões pode ser medido com a ajuda do método da camada móvel ou, mais rápida e directamente, pela observação do movimento das partículas sobre a influência de uma corrente eléctrica. O potencial zeta é bastante útil para a avaliação da floculação, uma vez que cargas eléctricas sobre as partículas influenciam a velocidade de floculação. Se a instabilidade for devida a coalescência, a determinação das cargas de superfície das partículas pode não ser importante na previsão da sua estabilidade (Lachman, 2001).

A medição da condutividade eléctrica tem sido considerada como uma ferramenta útil para a avaliação da estabilidade da emulsão imediatamente após a sua preparação, como também pode ser utilizada para determinar a carga da superfície das emulsões múltiplas. No que diz respeito á condutividade eléctrica de emulsões simples, esta é determinada com a ajuda de

eléctrodos de platina por microamperometria para produzir uma corrente de cerca de 15 a 50 LiA. As medições são feitas à temperatura ambiente ou a 37° C, em emulsões armazenadas por períodos de tempo reduzidos (Lachman, 2001, Khan *et al.*, 2006).

A condutividade depende também do grau de dispersão. As preparações O/A com partículas pequenas apresentam resistência reduzida: um aumento da resistência revela agregação de gotículas de óleo e conseqüentemente revela instabilidade. Uma emulsão fina de água num produto A/O não conduz a corrente até que se verifique coalescência das gotículas, isto é, quando se torna instável (Lachman, 2001).

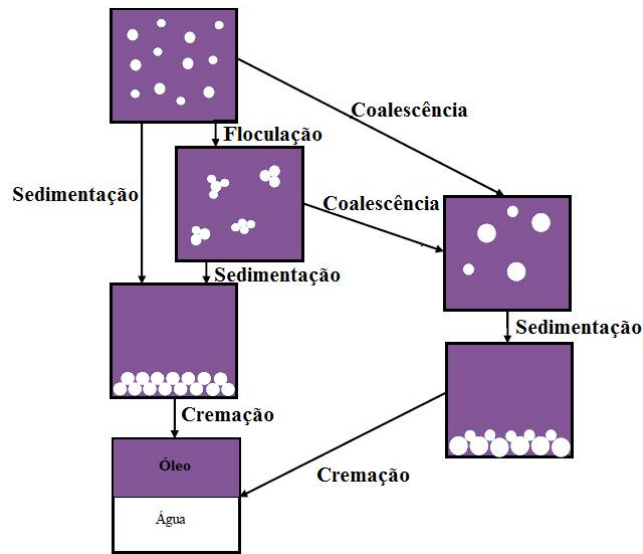
## **5. Estabilidade**

A estabilidade das emulsões constitui o seu ponto mais crítico. Do ponto de vista termodinâmico, só se considera uma emulsão estável no caso de o número e o tamanho das gotículas da fase interna, por unidade de volume de fase contínua, se mantiverem constantes ao longo do tempo. Isso indicaria que não se produzem modificações no valor energético do sistema nem na sua área interfacial (Jato, 1997, Khan *et al.*, 2006).

No entanto, do ponto de vista farmacêutico, não é necessário que uma emulsão seja termodinamicamente estável. Na realidade, uma estabilidade cinética é suficiente, ou seja, considera-se uma emulsão estável quando as gotículas mantêm o seu tamanho e forma iniciais e permanecem uniformemente distribuídos na fase contínua por um período razoável de tempo (suficiente para seu armazenamento e uso), ou seja não deverá ocorrer nenhuma mudança de fase ou contaminação microbiana no armazenamento, e a emulsão deverá manter a elegância no que diz respeito ao odor, cor e consistência (Jato, 1997, Khan *et al.*, 2006).

### **5.1 Estabilidade física**

Existem vários processos físicos que contribuem para o fim da estabilidade de uma emulsão, entre os quais a cremação, a agregação, coalescência das gotículas, a inversão de fases, a difusão molecular e a relação do volume das fases. De seguida, é apresentado um esquema que caracteriza esses processos de instabilidade (Jato, 1997).



**Figura 2:** Esquema dos diversos processos que conduzem á instabilidade de uma emulsão – Adaptado de (Jato, 1997).

### 5.1.1 Coalescência:

A coalescência envolve a ruptura do filme interfacial e pode ocorrer a vários níveis: entre as pequenas gotículas aquosas internas; entre os grandes glóbulos de óleo e entre os glóbulos e as pequenas gotículas dispersas no seu interior. Então, o fenómeno da coalescência ocorre quando a tensão interfacial diminui na superfície de separação de fases, provocando agregação das partículas. Essa agregação forma partículas mais grossas, produzindo assim uma maior separação das fases (Prista *et al.*, 1995, Bonnet *et al.*, 2010a).

Quando este fenómeno ocorre, uma nova agitação é incapaz de voltar a dispersar as fases uma na outra, o que só é possível se adicionarmos à mistura mais agente emulsivo. Este comportamento parece sugerir que a coalescência dos glóbulos está directamente relacionada com o agente emulsivo, admitindo-se hoje que o ritmo de coalescência depende, além de outros factores, muito principalmente das características físicas da película formada pelo emulgente (Prista *et al.*, 1995).

Para evitar este inconveniente, é necessário construir uma capa interfacial mais rígida proporcionando mais resistência às deformações. Para consegui-lo, utilizam-se tensioactivos orientados para a interfase, para que estes estabeleçam união entre a fase externa e a fase interna, tornando mais difícil a coalescência. (Martina, 2005).

### **5.1.2 Agregação**

Como o nome indica, a agregação é um processo de desestabilização de uma emulsão relacionado com a união das gotículas da fase dispersa de forma a originar agregados. Embora a identidade das gotículas seja mantida, cada agregado comporta-se como uma unidade. Este fenómeno é influenciado pelas alterações da superfície dos glóbulos emulsionados. Na ausência de uma barreira mecânica (protectora) na interface, e, se uma quantidade insuficiente de um emulgente está presente, as gotículas da emulsão agregam-se e coalescem rapidamente. A agregação difere da coalescência sobretudo pelo facto de o filme interfacial e as partículas individuais permanecerem intactas (Jato, 1997, Lachman, 2001).

As partículas presentes na emulsão estão carregadas electricamente positiva ou negativamente, em função da sua natureza química e dos fenómenos de fricção, polarização e solvatação a que estão submetidos. O valor do potencial zeta deverá ser suficientemente elevado para manter as partículas dispersas e separadas umas das outras. Quando as cargas são muito numerosas, a diferença de potencial com o meio que as rodeia é importante pois as partículas repelem-se entre si. Quando as cargas estão total ou parcialmente neutralizadas, as partículas dispersas agregam-se, ocorrendo o fenómeno da floculação. Quando há um aumento da força iónica, devido ao aumento da concentração de electrólitos ou um aumento da concentração do emulgente tende também a promover a floculação. Embora os electrólitos possam ser usados para levar á instabilidade das emulsões, uma quantidade reduzida de um electrólito contribui para a estabilização das emulsões (Martina, 2005, Lachman, 2001).

A floculação é então um fenómeno teoricamente reversível por agitação, mas denota uma estabilidade precária da emulsão, que poderá transformar-se em coalescência quando o filme interfacial não é suficientemente sólido. Para além da floculação existe outro tipo de agregação designada de coagulados cuja redispersão é bastante mais difícil e que, portanto, provocam problemas mais graves de estabilidade (Jato, 1997, Martina, 2005).

### **5.1.3 Cremação**

Muitas emulsões têm tendência a formar creme quando são deixados em repouso. Este fenómeno é consequência da acção da gravidade sobre a fase dispersa e da diferença de

densidade entre as fases que constituem a emulsão. Trata-se de um processo de sedimentação (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

Se a densidade das gotículas é superior à da fase externa estas terão a tendência de sedimentar na emulsão, mas se a densidade das gotículas for inferior estas irão agrupar-se na parte superior da emulsão. Assim, formar-se-ão zonas mais ou menos concentradas dependendo do local onde as gotículas se acumulem (Jato, 1997).

A ocorrência de cremação não implica necessariamente a coalescência nem a agregação das gotículas e é um processo reversível. Desta forma, quando a cremação é o único processo de desestabilização de uma emulsão, este poderá ser resolvido mediante agitação. No entanto, do ponto de vista farmacêutico é um processo que se deve evitar, já que pode originar uma dosificação errónea, causar mau aspecto e também, devido à maior proximidade das gotículas, facilitar a coalescência e agregação (Jato, 1997, Prista *et al.*, 1995).

A cremação, em essência, é um processo de sedimentação, e por isso é possível aplicar-se a equação de Stokes (formula 3) para estudá-la. A aplicação da lei de Stokes supõe que as gotículas são esféricas e que se encontram tão separadas que o movimento de umas não modifica o movimento das outras. Na realidade, não é o que acontece, já que muitas vezes as gotículas das emulsões não se encontram homoganeamente dispersas, interferindo assim umas com as outras no seu movimento. Além disso, se num sistema existe floculação, a esfericidade das gotículas é perdida (Jato, 1997).

Apesar de todas estas limitações, a equação de Stokes constitui uma boa aproximação qualitativa da realidade, como também serve para observar os factores que controlam a formação de creme. Em primeiro lugar, a velocidade da formação de creme é proporcional ao quadrado do raio dos glóbulos, portanto, o processo é mais rápido à medida que o tamanho da gotícula da emulsão aumenta. Para além disso, nos sistemas em que tenha ocorrido coalescência e/ou agregação também se acelera o processo de cremação. Uma forma de reduzir a velocidade de cremação é obter um menor tamanho de gotícula na emulsão, através da melhora do sistema de obtenção e da selecção de um bom agente emulsionante. Em segundo lugar, a equação de Stokes prevê que não ocorrerá formação de creme se a densidade

da fase interna e externa da emulsão forem iguais, mas formular emulsões cujas fases possuam a mesma densidade é muito difícil a nível prático, já que essa igualdade só se produz num intervalo estreito de temperatura (Jato, 1997).

Por último, um aumento da viscosidade do meio externo também reduz a velocidade de formação de creme e constitui outra forma de aumentar a estabilidade da emulsão, pois previne a difusão da água e dos seus compostos solúveis para as fases exteriores. Muitos agentes emulsionantes incluem esta propriedade como parte da sua acção estabilizante. Por exemplo, a adição de metilcelulose reduz a mobilidade das gotículas da emulsão O/A, e a parafina, nas emulsões A/O. Outro composto que ajuda a estabilizar a emulsão é a presença de cloreto de sódio (NaCl) na fase interna da emulsão (Jato, 1997, Schmidts *et al.*, 2009, Lutza, 2009).

#### **5.1.4. Inversão de fases**

Este fenómeno pode ocorrer em emulsões cuja concentração na fase dispersa é elevada sendo esse resultado derivado da adição de compostos ou da alteração da temperatura. No entanto, é necessário indicar que se trata de um processo pouco frequente durante o armazenamento, excepto no caso de sistemas muito sensíveis a mudanças de temperatura ou alguma interacção com algum componente da formulação (Jato, 1997).

A temperatura de inversão de fases (TIF) é aquela na qual a emulsão muda de sinal; o seu valor depende da natureza da fase oleosa, dos tensioactivos e da concentração dos tensioactivos e outros adjuvantes. Para muitos tensioactivos não iónicos, a TIF aumenta com o valor de EHL. A inversão de fases pode ser provocada voluntariamente com o fim de obter espontaneamente emulsões com um tamanho reduzido de gotículas, sendo por isso mais finas e homogéneas devido a alterações na viscosidade e condutividade eléctrica da emulsão, ou pode ser provocada involuntariamente. Quando a inversão é involuntária traduz-se numa instabilidade que obriga à modificação da formulação (Martina, 2005, Jato, 1997).

#### **5.1.5. Difusão molecular**

A difusão molecular ou crescimento de Ostwald é o processo pelo qual as gotículas mais pequenas se solubilizam nas maiores, provocando um aumento do tamanho. Este processo

ocorre em emulsões cujo tamanho de gotícula é pequeno, essencialmente os de dimensões coloidais. É por isso que emulsões que contenham apenas algumas gotas pequenas se tornam mais estáveis do que as que contêm algumas gotas ou muitas gotas menores (Jato, 1997, Lieberman, 1996).

Este processo diz respeito a uma verdadeira instabilidade pois trata-se de uma modificação na textura de emulsão, sendo mais proeminente em emulsões grosseiras e heterogêneas (Martina, 2005). A difusão molecular poderá ser representada através da equação de Kelvin (Jato, 1997):

$$RT \times \ln \frac{S_r}{S_o} = \frac{2\gamma V_m}{r} \quad (6)$$

$S_r$  – solubilidade da fase dispersa com gotícula com raio "r"

$r$  – raio da gotícula

$S_o$  – solubilidade da fase dispersa com gotícula com tamanho infinito

$\gamma$  – tensão interfacial

$V_m$  – volume molar

Esta equação indica que as gotículas de menor tamanho são mais solúveis que as maiores, pelo que tendem a dissolver-se com mais facilidade. As gotículas maiores são mais insolúveis, e por isso tendem a aumentar de tamanho. Para evitar este processo, deve-se tentar obter uma distribuição homogênea do tamanho da partícula (Jato, 1997).

### 5.1.6 Relação entre o volume das fases

A relação entre o volume das fases, isto é, os volumes relativos de água e de óleo que figurem numa emulsão pode, igualmente, exercer uma certa influencia na estabilidade da formulação. De facto, se se tentar incorporar mais de 74% de óleo numa emulsão do tipo O/A, os glóbulos de óleo coalescem na maioria das vezes, desfazendo a emulsão. Este valor, denominado *ponto crítico*, representa a concentração da fase interna para além da qual um agente emulsivo é incapaz de originar uma emulsão estável do tipo pretendido (Prista *et al.*, 1995).

Acontece, no entanto, ser possível obter-se emulsões estáveis em que a fase interna é superior a 74% do total da emulsão, mas tal facto deve-se à circunstância de nesses casos as partículas

dispersas se apresentarem com formas e dimensões irregulares, só assim há um aumento do *ponto crítico*, pois este, foi calculado partindo da permissa de que todos os glóbulos dispersos são esféricos (Prista *et al.*, 1995).

A relação entre a proporção da fase interna relativamente á fase externa é também influenciada pela solubilidade do fármaco que necessita estar presente numa quantidade farmacologicamente activa. Se a solubilidade não apresentar um problema, então, a razão entre as fases é determinada normalmente pela consistência desejada do produto. Geralmente, as emulsões mais estáveis correspondem a uma relação de volume das fases de 1:1, tendo sido essa proporção descoberta empiricamente (Prista *et al.*, 1995, Lachman, 2001).

No que diz respeito às emulsões múltiplas, o volume da fase primária não tem efeito significativo sobre o rendimento de emulsões A/O/A, portanto, uma vasta gama de volumes de fase primária podem ser usados para a formulação de emulsões múltiplas. Um volume óptimo de fase interna (25-50%) pode ser utilizado para a formulação da emulsão. O volume da fase secundária influencia o rendimento da formação de gotículas mas apenas em fracções de volume baixas. É igualmente muito importante ter uma ordem da adição de fases adequada, como também é importante que a adição da fase dispersa seja feita de forma lenta e continua na fase continua (Khan *et al.*, 2006).

## **5.2. Estabilidade química**

As emulsões também podem sofrer processos de instabilidade química. Em primeiro lugar encontram-se as incompatibilidades entre os diferentes componentes; por exemplo, os tensoactivos de carga oposta. Também se terá de ter em conta que os agentes emulsivos podem precipitar com a adição de alguns compostos em que estes são insolúveis; por exemplo, os coloides hidrófilos podem precipitar ao adicionar álcool. Outra das situações que pode causar instabilidade química relaciona-se com a alteração da hidratação dos tensoactivos devido á presença de electrólitos, pois estes podem originar precipitação, ou em outros casos inversão de fase (Jato, 1997, Lachman, 2001).

As alterações de pH podem também causar instabilidade na emulsão. Assim, os sabões sódicos podem reagir com compostos ácidos, dando origem a um ácido gordo livre e o sal

sódico do ácido, o que faz com que as formulações que contêm estes tensioactivos são normalmente estabilizadas a pH alcalino (Jato, 1997).

As reacções de oxidação são um grupo de reacções químicas que também possui importância neste tipo de instabilidade. Quando se utiliza gorduras de origem animal ou vegetal as emulsões, estas podem sofrer processos de ranço. Estes processos consistem em reacções de oxidação causadas pelo oxigénio atmosférico ou por acção de microrganismos. Os produtos de degradação têm muitas vezes um odor desagradável. Para evitar o ranço podem-se utilizar conservantes de acção anti-microbiana, agentes redutores ou anti-oxidantes (Jato, 1997).

Deste modo, a inércia química é um requisito absoluto e óbvio, sendo importante que a natureza química dos constituintes de uma emulsão seja entendida antes da sua selecção para ser incluída numa dada preparação (Lachman, 2001).

### **5.3 Estabilidade microbiana**

As emulsões também podem desestabilizar-se em consequência de uma contaminação microbiana. Existem muitos fungos e bactérias que podem contaminar a fase aquosa, já que conseguem proliferar à temperatura ambiente e em intervalos amplos de pH (Jato, 1997).

Em alguns casos, uma elevada contaminação pode não se manifestar no aspecto da emulsão, o que pode representar um risco para o paciente, se os microrganismos em causa forem patogénicos. Em outros casos, a contaminação microbiana manifesta-se em mudanças de pH, odor e cor, produção de gás e hidrólise das gorduras presentes (Jato, 1997).

O crescimento microbiano é favorecido quando algum dos componentes da emulsão constitui um meio nutritivo adequado, ou quando o componente em si é a fonte de contaminação, como pode ser o caso da água. Assim, de uma forma geral, as emulsões A/O são menos sensíveis a contaminações do que as O/A porque quanto menor é a proporção de fase aquosa, menor é a probabilidade de se produzir uma proliferação microbiana, como também a fase oleosa (contínua) vai actuar como barreira á contaminação e assim esta não difunde por toda a emulsão (Jato, 1997).

Para evitar este tipo de instabilidade é normal incluir na formulação um agente antimicrobiano, e realiza-se um controlo microbiológico das matérias-primas (Jato, 1997).

#### **5.4 Estabilização de emulsões**

Os principais mecanismos pelos quais a instabilidade ocorre em emulsões do tipo A/O/A são essencialmente os seguintes (Khan *et al.*, 2006):

1. Agregação das gotículas internas da emulsão múltipla.
2. Quebra ou ruptura da camada oleosa na superfície interna das gotículas.
3. Escoamento do conteúdo do interior da gotícula para a fase externa.
4. Retracção e inchaço das gotas internas.
5. Separação de fases.

Desta forma, a instabilidade inerente a emulsões múltiplas é um grande desafio para este sistema de libertação. Uma série de abordagens foram tentadas para melhorar a estabilidade da emulsão múltipla e muitos têm sido sugeridos para futuras investigações (Khan *et al.*, 2006).

##### **5.4.1 Estabilização através da formação de gel polimérico**

A gelificação da fase interna, externa ou mesmo da membrana interfacial tem sido utilizada em vários estudos para estabilizar emulsões. Este método é baseado no reforço da viscosidade da fase aquosa melhorando, desta forma, a estabilidade das gotículas da emulsão (Khan *et al.*, 2006, Schmidts *et al.*, 2009).

Esta estabilização pode ser utilizada em formulações onde a libertação do fármaco é feita de forma sustentada como antitranspirantes ou produtos de higiene pessoal, como também em engenharia alimentar e em engenharia química. A adição de carbómeros para além de estabilizar a emulsão, também vai tornar a formulação mais agradável ao toque (Khan *et al.*, 2006, Lieberman, 1996).

#### **5.4.2 Aditivos para a fase aquosa interna**

Diferentes aditivos, têm diferente influência na estabilidade da emulsão. Um estudo realizado por Schmidts et al, demonstrou que aditivos influenciam fortemente a estabilidade e as propriedades das emulsões múltiplas, pois através do aumento da concentração dos ingredientes osmoticamente activos, menores gotículas múltiplas são formadas sendo a viscosidade do sistema significativamente aumentada. Relativamente aos agentes de espessamento a estabilidade é ligeiramente melhorada. Por exemplo, foi estudada a influência de vários compostos na estabilidade do sistema, sendo esses compostos a glucose, sacarose, ácido acético, ácido cítrico, ácido ascórbico, cloreto de sódio e acetato de sódio e observou-se que a glucose e a sacarose podem aumentar a viscosidade, o que leva a um aumento da estabilidade do sistema. A adição de aditivos na fase interna aquosa torna-a hipertónica, e esse fenómeno estabiliza o sistema (Khan *et al.*, 2006, Lieberman, 1996). Um estudo microscópico realizado em tais emulsões indicou que a concentração de dextrose (quando varia entre 0 e 2,5%), na fase aquosa interna da emulsão aumentou a estabilidade verificada em termos de grau de coalescência de gotículas internas e em relação á taxa de ruptura da camada oleosa interfacial ( Schmidts *et al.*, 2010).

#### **5.4.3 Estabilização termodinâmica: redução da tensão interfacial**

Foi comprovado que outros factores, como a consistência da película interfacial, são tanto ou mais decisivos na estabilidade de uma emulsão do que a diminuição da tensão interfacial. Isso explica o facto dos compostos com escassa actividade superficial possam estabilizar emulsões que outros tensioactivos mais potentes são incapazes de estabilizar. Assim, fala-se de tensioactivos que formam películas interfaciais gasosas, como o dodecil sulfato de sódio, ou condensadas, como o oleato de sódio (Jato, 1997, Lachman, 2001).

Imaginando o caso de uma emulsão O/A: quando duas gotas se aproximam produz-se a repulsão das cabeças iónicas das moléculas de tensioactivo. Numa película tipo gasosa, as moléculas desta encontram-se bastante separadas e possuem uma certa mobilidade; assim, em consequência da repulsão das moléculas estas deslocam-se. Em seguida, deixam zonas livres na interfase da emulsão que derivam da interacção e coalescência das gotículas. No entanto, no caso de uma película interfacial do tipo condensada as moléculas de tensioactivo não se podem mover, o que faz com que a repulsão entre elas também origine uma repulsão entre as gotículas e consequentemente uma maior estabilidade (Jato, 1997).

No que diz respeito às emulsões múltiplas, utilizam-se misturas de emulsionantes para dar mais força ao filme interfacial, sendo a relação dos tensoactivos hidrofílicos e hidrofóbicos muito importante na optimização de emulsões múltiplas estáveis. Emulsões múltiplas A/O/A foram produzidas com uma estabilidade a longo prazo através da modulação das concentrações de span 83 e tween 80 (Khan *et al.*, 2006).

Após a realização de um estudo, foi verificado que a concentração ideal, relativamente aos tensoactivos, que dá origem a uma emulsão múltipla A/O/A estável a longo prazo é 20% (peso/volume) de Span 83 na fase oleosa e 0,1% (peso/volume) de Tween 80 na fase contínua. Uma maior concentração de Tween 80 tem um efeito destrutivo sobre a estabilidade das emulsões A/O/A. Essa conclusão foi tirada através da observação da diminuição da força do filme interfacial na interface óleo/água quando a concentração de Tween 80 aumentava. Uma elevada concentração de Span 83 aumentou os valores do módulo de armazenamento, tornando-a mais elástica (solidlike) e, portanto, a estabilidade da emulsão múltipla é reforçada. No entanto, quando 30% de Span 83 foi incorporada, a viscosidade da emulsão primária aumentou consideravelmente e as gotículas da emulsão perderam a sua forma (Jiao e Burgess, 2003).

#### **5.4.4 Formação do filme interfacial**

É aceite que os agentes tensoactivos tendem a concentrar-se nas interfaces e que os emulgentes são adsorvidos nas interfaces óleo-água como filmes monomoleculares. Se a concentração do emulsificador for suficientemente elevada, forma um filme rígido entre as fases imiscíveis que actua como uma película quer na adesão quer na coalescência das gotículas da emulsão (Lachman, 2001, Jato, 1997).

As medições da área ocupada por uma única molécula de agente tensoactivo na interface das gotículas da emulsão mostraram que, para emulsões estáveis, as moléculas dos agentes tensoactivos encontram-se de facto num empacotamento apertado formando um filme interfacial forte. Este conceito é baseado em considerações espaciais que têm sido usadas para explicar um facto bastante conhecido: as misturas de emulgentes são, mais eficazes por se empacotarem de forma mais densa, contribuindo para a resistência do filme e, assim, para a estabilidade da emulsão (Lachman, 2001).

Assim, emulsões estáveis apresentam camadas de cristais líquidos na interface das gotículas emulsificadas com a fase contínua. Através de microscopia óptica (luz polarizada), electrónica e difractometria de raios-X de ângulo reduzido, é possível demonstrar que misturas de emulgentes podem interagir com a água para formarem estruturas associadas em três dimensões. Consequentemente, o conceito clássico de emulsões como sistemas bifásicos com uma camada monomolecular de um emulgente na interface tem que ser revisto, pois com estas evidências, as emulsões devem ser encaradas como sistemas de três componentes compreendendo um óleo, água e cristais líquidos dispostos em lamelas, sendo estes constituídos por camadas consecutivas de água-emulgente-óleo-água (Lachman, 2001).

Relativamente às emulsões A/O/A, a membrana interfacial polimerizada demonstrou ser mais eficaz do que métodos anteriores porque a membrana resultante restringe a migração de tensoactivo duma interface para outra, sendo essa uma das causas de instabilidade destas emulsões. Este modo de estabilização poderá ser executada através da polimerização *in situ* na interface ou através da interacção interfacial entre um polímero e um tensoactivo. Durante a procura de emulsões A/O/A estáveis para utilizar como veículo para um processo de libertação sustentado, inúmeros pesquisadores têm recorrido á complexação interfacial entre tensoactivos não iónicos e macromoléculas. Assim, devido a um estudo com poloxamero 403 (tensoactivo hidrofílico de elevado peso molecular) autores concluíram que a estrutura metaestável da emulsão e a sua estabilidade a longo prazo é dependente da pressão osmótica no interior das gotículas (Khan *et al.*, 2006).

#### **5.4.6 Estabilização electrostática e estérica**

As forças eléctricas repulsivas existentes em gotículas que se aproximam devem-se à existência de uma camada dupla que advém de grupos eléctricos orientados sobre a superfície de glóbulos emulsificados (provenientes das moléculas anfifílicas). O potencial eléctrico produzido pela dupla camada cria um efeito repulsivo entre as gotículas do óleo evitando a sua coalescência (Lachman, 2001, Khan *et al.*, 2006).

Embora o potencial eléctrico de repulsão, existente na interface da emulsão possa ser calculado, não pode ser medido directamente nem permite a comparação com os pressupostos teóricos. O potencial responsável pela repulsão entre duas gotículas carregadas inclui o

potencial eléctrico de repulsão e uma série de outras interacções conhecidas como forças de Van der Waals e interacções de London. O potencial de repulsão para grandes distâncias é reduzido, aumentando rapidamente com a diminuição da distância entre as gotículas. Admite-se que as fases constituídas pelos cristais líquidos rodeiam as gotículas emulsificadas e, se estas fases aderirem fortemente, é de esperar uma alteração do potencial de Van der Waals. A distância para a qual esta alteração ocorre depende, não só do raio da gotícula, mas também da fase líquida cristalina da compressibilidade e da reologia deste conjunto (Lachman, 2001).

A presença de tensoactivos iónicos na interfase das emulsões contribui para a modificação da carga superficial e, conseqüentemente, da dupla camada eléctrica, aumentando as forças de repulsão existentes entre as gotas e, deste modo, a estabilidade. A adição de um tensoactivo iónico não é o único factor que pode modificar a magnitude do potencial zeta, sendo outro factor decisivo nos valores do potencial zeta a concentração do electrólito presente. A adição de electrólitos a uma emulsão pode, como já foi referido, favorecer a sua tendência para a agregação (Jato, 1997, Khan *et al.*, 2006).

A estabilização estérica deve-se à capacidade da nuvem estérica impedir a instabilidade das emulsões, podendo ser conseguida através da adsorção ou enxertia de polímeros naturais, como também, usando tensoactivos poliméricos ou enxertos de polímeros lipídicos. As emulsões múltiplas poderão também ser estabilizadas se as revestirmos com polissacarídeos hidrofobizados (Khan *et al.*, 2006).

### **5.5 Estudos da estabilidade acelerada**

Não é com facilidade que se determina a instabilidade de uma emulsão, é por isso necessário esperar períodos, mais ou menos prolongados, antes que apareçam sinais de instabilidade numa emulsão. Para acelerar os testes de estabilidade o formulador submete frequentemente a emulsão a condições de *stress*. Alternativamente, pode-se procurar um teste ou parâmetro da emulsão que permita detectar mais facilmente a sua instabilidade, do que basear a análise em meras observações macroscópicas. Ambas as concepções não são perfeitas (Lachman, 2001).

Para prever a estabilidade de uma emulsão durante o armazenamento, podem-se utilizar alguns ensaios efectuados em condições drásticas. Para isso, armazenam-se as emulsões

durante diferentes períodos de tempo e a temperaturas geralmente maiores que as habituais. Na selecção das temperaturas é necessário ter em consideração que uma emulsão pode ser perfeitamente estável durante grandes períodos a 40-50°C; embora, temperaturas superiores a 55°C já não sejam toleradas mesmo por pouco tempo. Desta forma, é necessário ser cuidadoso na interpretação dos resultados destes estudos. Não é recomendável utilizar temperaturas superiores a 50°C, excepto no caso de emulsões que irão ser submetidas a essas mesmas temperaturas (por exemplo, emulsões parenterais) (Jato, 1997).

Num tipo de estudo com mais interesse incluem-se os ensaios cíclicos. Nestes estudos, submete-se uma emulsão a ciclos de temperatura, onde esta varia desde 4 a 45°C. Noutros casos, armazena-se a emulsão a 4°C e posteriormente submete-se a mesma a ciclos em que a temperatura varia de -20 a +25°C. Assim, a emulsão fica exposta às distintas temperaturas em que se poderá encontrar durante o seu armazenamento. Este estudo tem interesse pois, de acordo com o tipo de emulsão considerada, poderão ser tanto as altas como as baixas temperaturas as mais prejudiciais no que refere à estabilidade. Por um lado, as altas temperaturas favorecem a coalescência, a formação de cremes e diminuem a viscosidade. Por outro lado, as emulsões ficam mais viscosas quando arrefecem até á temperatura ambiente. As mudanças de temperatura podem também modificar a solubilidade dos agentes emulsionantes e a velocidade de cristalização dos componentes. Desta forma, com a realização destes estudos é possível obter uma melhor informação sobre a estabilidade da emulsão na prática (Jato, 1997).

Após o armazenamento, avalia-se a emulsão de forma a verificar se ocorreu separação de fases, mudança de viscosidade, condutividade eléctrica, distribuição do tamanho, características organolépticas ou alterações do tipo químico (Jato, 1997, Lachman, 2001).

## **6. Tipos de administração**

Nos últimos 20 anos, tem havido uma revolução na tecnologia das emulsões, sendo estes sistemas investigados para vários processos industriais e como sistemas de libertação de fármacos. Este tipo de emulsões são utilizadas como transportadores de fármacos polares e apolares estando dependentes da intenção da aplicação, via de administração e da viabilidade da formulação. As emulsões múltiplas podem ser administradas por via oral, parenteral (i.v,

i.p, s.c, i.m) e tópica dependendo do fim terapêutico. O destino *in vivo* das emulsões múltiplas diferem de outros sistemas de entrega em termos de estabilidade, perspectivas farmacocinéticas e farmacodinâmicas (Khan *et al.*, 2006).

### **6.1. Administração oral**

Após a administração oral, a emulsão é digerida e absorvida pelo sistema linfático e, em seguida, transportada para o sangue. Assim, em primeiro lugar, os lipídios, são hidrolisados no estômago e no intestino delgado, dando origem a ácidos gordos e monoglicéridos, que posteriormente são absorvidos pelos enterócitos, sendo re-esterificados em triglicéridos e armazenados em lipoproteínas intestinais como também podem também ser absorvidos directamente pelos macrófagos intestinais. Estes são finalmente secretados na linfa mesentérica, chegando de seguida à circulação sistémica através do ducto linfático torácico. Desta forma, o transporte do fármaco através dos vasos linfáticos intestinais pode ser utilizado (Khan *et al.*, 2006, Maiti *et al.*, 2009a, Maiti *et al.*, 2009b):

1. Na modulação da taxa de absorção do fármaco;
2. No aumento a biodisponibilidade pela diminuição do efeito de primeira passagem;
3. Na segmentação de fármacos para vasos linfáticos.

O potencial das emulsões múltiplas para contornar o efeito de primeira passagem e o severo ambiente gastrointestinal, bem como, a capacidade de serem absorvidos através do sistema linfático colocam-nas numa posição vantajosa no que diz respeito á administração por via oral de agentes bioactivos, como a insulina e a vancomicina, ou outro tipo de proteínas, os quais normalmente não são absorvidos por esta via (Cui *et al.*, 2005, Degim e Celebi, 2007, Gallarate *et al.*, 2009, Onuki *et al.*, 2004, Okochi e Nakano, 2000, Pays, 2002, Khan *et al.*, 2006,).

### **6.2 Administração parenteral:**

A administração parenteral de emulsões múltiplas pode ser realizada através de uma multiplicidade de vias como intra-muscular (i.m), intra-venosa (i.v), intraperitonal (i.p) ou sub-cutânea (s.c). O mecanismo realmente importante, no que diz respeito aos sistemas parenterais, está relacionado com a rápida libertação dos macrófagos do sistema

reticuloendotelial na circulação sistêmica (mecanismo de defesa não específico) (Khan *et al.*, 2006).

Após a administração i.v., as emulsões ficam envoltas com os macrófagos circulatórios e são transportadas para a linfa e fígado para dar início ao metabolismo da gordura, enquanto para outras rotas parenterais, a emulsão tem acesso aos espaços intersticiais dos vasos linfáticos, ficando assim próxima dos nódulos linfáticos (em contraste com os compostos de baixo peso molecular solúveis em água, que são absorvidos no sangue) que são relativamente porosos em relação aos capilares sanguíneos. As emulsões múltiplas têm características intrínsecas de linfotrópismo, portanto, estão a ser investigadas para o tratamento de infecções bacterianas, de metástases de cancro mas também como prevenção em vacinas e alimentação parenteral essencialmente quando a camada oleosa existente entre as duas aquosas actua como uma membrana, controlando a libertação do soluto (Khan *et al.*, 2006, Lieberman, 1996, Bozkir e Hayta, 2004, Guidetti *et al.*, 2008).

Ensaio clínico demonstraram que uma emulsão contendo na fase aquosa epirrubicina (fármaco antineoplásico), e na fase oleosa, óleo de semente de papoila iodado usando o polioxietileno (40) hidrogenado como tensoactivo hidrofóbo, quando é administrada directamente no fígado através a artéria hepática, contrai eficazmente o tecido cancerígeno. Neste tipo de terapia é essencial um bom controlo no tamanho da gotícula para que desta forma estas fiquem acumuladas nos pequenos vasos do tumor, em vez de nem lá chegarem, se forem demasiado grandes, ou passarem por lá sem parar, se forem demasiado pequenas (Vladislavjevic e Williams, 2005, Liu *et al.*, 2011, Khopade, 2000).

As emulsões múltiplas têm também atraído interesse na terapia da embolização percutânea (TAE), devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de encapsulamento. Emulsões múltiplas contendo epirrubicina (EPI) foram utilizadas para a terapia TAE. Esta emulsão apresentou uma baixa hemólise, em comparação com emulsão simples, devido ao encapsulamento do fármaco na camada oleosa. Os estudos de toxicidade aguda destas emulsões após a administração intravenosa foram inferiores às da emulsão simples. Após a administração arterial hepática, toxicidade do fármaco no fígado foi também reduzida (Khan *et al.*, 2006).

### 6.3. Administração tópica

Quando um medicamento é aplicado na pele duas consequências físicas ocorrem constituindo uma limitação à permeação cutânea: libertação do composto activo do veículo e a penetração do composto através da barreira cutânea. Estes dois processos estão intimamente relacionados, e ambos são dependentes das propriedades físicas do fármaco, do veículo e da barreira (Laugel *et al.*, 2000, Dehghanyar *et al.*, 2004).

Ferreira e colaboradores desenvolveram uma emulsão múltipla A/O/A que continha na sua constituição metronidazol e glucose, comparando a sua libertação percutânea com a de emulsões simples A/O e O/A. A absorção do metronidazol foi semelhante no que diz respeito às emulsões A/O/A e às O/A sendo menor na emulsão A/O. Relativamente á absorção da glucose a ordem obtida foi a seguinte: O/A >A/O/A >A/O (Ferreira *et al.*, 1995).

As emulsões A/O/A podem ainda ser aplicadas na cavidade ocular podendo ter na sua constituição fármacos para o tratamento, por exemplo, do glaucoma. Neste tipo de emulsões, o modo de preparação terá de ser mais rigoroso devido á administração num local tão sensível e susceptível a infecções (Khan *et al.*, 2006, Karatas *et al.*, 2009).

Neste caso, as emulsões O/A/O podem ser usadas como uma forma potencial de libertação do fármaco, pois o seu uso tópico tende a diminuir o efeito sistémico, já que eles permanecem retidos na epiderme e na derme. Neste caso a viscosidade é um parâmetro a ter em atenção pois influencia fortemente a penetração do fármaco na pele, durante o fenómeno de oclusão. Existem ainda poucos estudos sobre a administração tópica de emulsões múltiplas. (Laugel *et al.*, 2000, Khan *et al.*, 2006, Pianovski, 2008).

Este tipo de administração poderá também ser relacionado com a aplicação vaginal. Estudos observaram que, especialmente em meio alcalino há uma elevada libertação das substâncias activas, tratando-se de uma vantagem nas infecções vaginais com origem na alteração do pH para mais alcalino. Assim as emulsões A/O/A foram localmente eficazes quando aplicadas localmente na vagina podendo também ser introduzidas como um novo sistema de transportador de drogas para o parto vaginal (Gupta *et al.*, 2011, Ozer, 2007 ). Um dos principais compostos activos que se pode incorporar neste tipo de sistemas diz respeito aos

anti-sépticos devido às suas características antimicrobianas. Neste caso, é possível fazer associações de anti-sépticos pois podemos incorporá-los nas duas fases aquosas que constituem o sistema ( Tedajoa, 2005, Tedajo, 2002, Bozkir e Hayta, 2004).

No que diz respeito à formulação as emulsões múltiplas neste caso podem também apresentar algumas vantagens como facilitar a aplicação, evitar a irritação e ardor na região vulvovaginal como também originar formulações com textura leve, não gordurosa e não pegajosa (Ozer, 2007 ).

## **7. Estado da arte: aplicações actualizadas das emulsões**

### **7.1. Substituto de oxigénio**

Uma emulsão múltipla estável de hemoglobina (Hb /O/A) foi preparada para simular as propriedades dos glóbulos vermelhos do sangue. As emulsões múltiplas servem de membrana líquida através da qual os gases ( $O_2$  e  $CO_2$ ) são trocados com a hemoglobina incorporada na fase aquosa interna. Desta forma, esta abordagem poderá ainda ser utilizada no futuro, utilizando emulsões múltiplas como substituto do sangue (Khan *et al.*, 2006, Kocian, 2005, Pape e Habler, 2007).

Outros materiais estão ser utilizados para o mesmo efeito, sendo esses materiais derivados sintéticos e fluorados da hemoglobina, inertes com compostos orgânicos e designados de perfluroquímicos (PFC's). Os PFC's dissolvem grandes volumes de oxigénio e outros gases, não reagindo com o corpo, e sendo excretados principalmente como um vapor de exalação. São líquidos imiscíveis com sangue e outros fluidos corporais, mas podem ser injectados na corrente sanguínea de forma segura como emulsões. Estudos básicos e clínicos têm demonstrado que este tipo de emulsões podem manter adequadamente e de forma eficaz a oxigenação dos tecidos durante a perda aguda de sangue sem alterações anormais a nível hemodinâmico. Este tipo de sistema pode também ser utilizado em casos de anemia normovolémica aguda (Lowe, 2003, Kocian, 2005, Cabrales e Briceno, 2011, Barbosa, 2009, Riess, 2006, Pape e Habler, 2007).

## 7.2. Direcçãoamento de fármacos

A especificidade do fármaco é um pré-requisito muito importante para qualquer terapia farmacológica. A abordagem ideal para um sistema de entrega de fármacos é fazê-lo somente no tecido/órgão doente e não afectando os outros tecidos que não estão doentes (*targeting* ou direcçãoamento de fármacos). O *targeting* de fármacos está intimamente relacionado com o tamanho das gotículas e a dimensão da distribuição. Quando as dimensões são reduzidas para além de conseguirem passar através de finos capilares, têm um maior tempo em circulação, maior capacidade de ligação e acumulação no local desejado, provocando assim uma menor reacção inflamatória e resposta imune. Se as dimensões das gotículas forem homogéneas (monodispersas) vai permitir que haja um maior controlo sobre a libertação da dose do fármaco encapsulado assim como uma melhor biocompatibilidade (Khan *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2011, Constantinides, 2008, Wang *et al.*, 2009, Piacentini *et al.*, 2011).

Este sistema tem particular interesse, como já foi referido, para os fármacos citotóxicos devido à baixa toxicidade para tecido não-doente mas também podem ser utilizados em problemas cardiovasculares, em formas de administração de anti-inflamatórios (de forma a evitar sobredosagens e a direccionar o fármaco) ou como agentes de contraste para imagiologia molecular (nas ressonâncias magnéticas) (Khan *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2011, Constantinides, 2008, Wang *et al.*, 2009, Kaneda e Wickline, 2009, Talegaonkar, 2005, Vasiljevic, 2006).

## 7.3. Mascarar sabores

Emulsões múltiplas foram também investigadas para mascarar o gosto dos fármacos amargos. Fármacos amargos e solúveis em água poderão ser incorporados na fase aquosa interna da emulsão A/O/A, que esta cercado por uma camada oleosa, levando a que o sabor amargo do fármaco fique mascarado. Vários óleos biocompatíveis/comestíveis foram utilizados para mascarar sabor de muitos fármacos como a cloroquina. A cloroquina é um antimalárico conhecido pelo seu sabor amargo e pode ser administrado através de uma emulsão múltipla, facilitando a adesão ao tratamento (Khan *et al.*, 2006, Vaziri e Warburton, 1994, Musabayane *et al.*, 2003).

#### **7.4. Tratamento da sobredosagem / desintoxicação:**

As emulsões múltiplas podem ser utilizadas para o tratamento de sobredosagem de substâncias ácidas como barbitúricos ou salicilatos. No caso dos barbitúricos, quando a emulsão é administrada por via oral, o pH ácido do estômago transfere-se para a fase externa aquosa, onde este existe principalmente na forma não ionizada, o que vai facilitar a transferência deste, mediante o gradiente de concentração, através da fase oleosa até a fase aquosa interna. A presença de um tampão na fase interna ioniza o barbitúrico e impede seu transporte no sentido inverso. Assim, o aprisionamento do fármaco em excesso na emulsão múltipla trata a sobredosagem (Lieberman, 1996, Khan *et al.*, 2006, Pays, 2002).

No que diz respeito aos salicilatos, quando estes se encontram no tracto gastrointestinal são “capturados” para o interior da emulsão na sua forma não ionizada. Depois de passarem a membrana oleosa, os salicilatos são convertidos na fase interna da emulsão em aniões insolúveis em óleo, evitando assim a saída do anião para o meio exterior. Em condições favoráveis a taxa de remoção do barbitúrico ronda os 95% em 5 minutos, e os salicilatos ainda são extraídos mais rápido (Lieberman, 1996).

#### **7.5. Aplicação em cosmética**

As emulsões são agentes muito úteis em cosméticos e em produtos de higiene pessoal, onde a maioria das formulações têm como base tanto emulsões O/A como emulsões A/O. Várias formulações, como protectores solares, creme para as mãos, cremes de barbear, perfumes etc são preparados com fins nutritivos, hidratantes e protectores na ciência dos cosméticos, sendo baseados nos sistemas de emulsões múltiplas. Tensioactivos não-iónicos de aplicação cutânea são usados para a preparação de emulsões múltiplas utilizadas em cosméticos devido á sua baixa toxicidade. A produção de emulsões estáveis a longo prazo, tem sido o objectivo proposto para aplicações cosméticas (Khan *et al.*, 2006, Nonomura *et al.*, 2011, Akhtar *et al.*, 2008).

As emulsões múltiplas têm um grande potencial como sistemas de libertação controlada dos compostos activos usados em cosmética como é o exemplo da vitamina C usado para o rejuvenescimento cutâneo como também o ácido glicólico usado para realizar *peeling's* químicos (Akhtar e Yazan, 2008, Farahmand, 2006, Yener e Baitokova, 2006, Rozman e Gasperlin, 2007). Possuem por isso uma elevada capacidade de aprisionamento em

comparação com outros sistemas, apresentam uma protecção de substâncias frágeis e ainda a possibilidade de combinar substâncias incompatíveis num produto. Recentemente, emulsões O/A/O têm sido utilizadas com mais frequência neste tipo de sistemas devido á sua maior oclusividade, durabilidade na pele, aceitabilidade e maior capacidade de retenção da substancia activa na epiderme comparativamente com as emulsões A/O (Degim e Celebi, 2007, Boonme, 2007, Laugel *et al.*, 2000, Myung-Han Lee, 2001).

### **7.6. Nutracêuticos**

Actualmente, existe uma grande procura de veículos comestíveis com a capacidade de encapsular, proteger e libertar lípidos bioactivos e outros compostos como vitaminas, antioxidantes, péptidos bioactivos, aromas, cores, minerais e conservantes, sendo as emulsões A/O/A um dos mais estudados. Existem várias indústrias interessadas nestes sistemas, como a farmacêutica, a alimentar e mesmo a médica. Os lípidos bioactivos que na indústria alimentar são incorporados nestes sistemas incluem os ácidos gordos  $\omega$ -3, carotenoides e fitoesteróis (McClements *et al.*, 2007, McClements 2009, McClements e Li, 2010, Li *et al.*, 2010, Miyanoshita *et al.*, 2011, Nonomura *et al.*, 2011, Guidetti *et al.*, 2008).

Um veículo que seja comestível deve cumprir diversos requisitos. Primeiro, deve encapsular uma quantidade apreciável do componente funcional de uma forma que seja facilmente incorporado nos sistemas alimentares; segundo, o veículo pode ter de proteger o componente funcional de degradação química (oxidação ou hidrólise por exemplo) para que este permaneça em seu estado activo; terceiro, o veículo pode ter que libertar o componente funcional num determinado local de acção, a uma taxa controlada e/ou em resposta a um ambiente específico (por exemplo pH, força iónica ou temperatura); quarto, o veículo deve ser compatível com o alimento específico matriz que a rodeia, em quinto, o veículo deve ser resistente aos vários tipos de condições ambientais que um alimento esta sujeito durante sua produção, armazenamento, consumo e transporte (McClements 2009, McClements e Li, 2010).

O facto de estes veículos serem comestíveis causa restrições acerca do tipo de ingredientes e operações de tratamento que podem ser usados para criar a emulsão, e apesar do potencial destes sistemas há poucos exemplos de emulsões múltiplas a serem usadas em produtos

alimentares no presente. A principal razão para isso é a grande susceptibilidade das emulsões múltiplas à degradação durante o armazenamento ou quando expostas a tensões ambientais comumente utilizadas na indústria de alimentos, tais como forças mecânicas, o processamento térmico, refrigeração, congelação e desidratação (McClements *et al.*, 2007, Li *et al.*, 2010).

### **7.7. Outras utilizações**

Recentemente, as emulsões múltiplas foram utilizadas para biblioteca de genes, onde emulsões A/O foram utilizadas para compartimentar e para seleccionar as bibliotecas de genes de grande porte. A função das gotículas aquosas da emulsão A/O é a de formar compartimentos semelhantes a células em cada um dos quais um único gene é transcrito e traduzido dando origem a múltiplas cópias da proteína (por exemplo, uma enzima). Enquanto a compartimentação garante que o gene e a proteína que ele codifica e os produtos da actividade dessa proteína permaneçam ligados, não garante uma forma de seleccionar a actividade desejada. (Khan *et al.*, 2006, Bernath *et al.*, 2004).

Nos últimos anos, as emulsões múltiplas tornaram-se também uma nova ferramenta no campo da biotecnologia, no que diz respeito à imobilização de enzimas, proteínas, aminoácidos, etc. (Khan *et al.*, 2006, Sun *et al.*, 2006).

Emulsões O/A/O que actuem como membranas líquidas têm sido usadas para separar hidrocarbonetos, onde a fase aquosa serve de membrana e um solvente como fase externa ou como sistema de encapsulação de compostos pouco solúveis em água como as microsferas de retinol em sílica. (Lieberman, 1996, Myung-Han Lee, 2001).

Outra das mais recentes utilizações de emulsões múltiplas diz respeito à sua aplicação em *spray's* secos, ou seja, um *spray* seco é produzido a partir de uma emulsão A/O/A contendo os fármacos a incorporar nas diferentes fases. Assim, este tipo de sistema pode ser utilizado em pacientes com problemas respiratórios sendo a veiculação das substâncias no pulmão feita de forma sustentada e directamente no local desejado, oferecendo benefícios potenciais para os pacientes (Learoyd *et al.*, 2010, Chaw *et al.*, 2003).

## **8. Conclusão**

Como podemos constatar pela revisão efectuada, as emulsões múltiplas são veículos com inúmeras vantagens perante tantas outras formulações. São sistemas que possibilitam a administração por várias vias (como a parentérica, tópica e oral), possuem a capacidade de encapsular compostos com diferente polaridade e ainda se conseguem adaptar a diferentes modos de libertação dos fármacos (libertação de forma sustentada, direccionamento de fármacos, etc).

Embora as emulsões múltiplas sejam sistemas de libertação de fármacos com muitas vantagens, são também, como foi possível verificar, sistemas altamente instáveis, o que vai dificultar a sua preparação e conservação. Formas de instabilidade como a cremação, coalescência, inversão de fases, entre outras, são cada vez mais estudados para assim, ser mais fácil a produção e posterior armazenamento do produto final.

Desta forma, o impacto das emulsões múltiplas como veículos de administração de fármacos é de elevada importância, devido à sua ampla aplicabilidade em diferentes áreas da saúde e biotecnologia como também devido à diversidade das formas de administração.

## 9. Bibliografia

- Akhtar, N., Ahmad, M., Masood, M. e Aleem, M. (2008). Formulation and in vitro evaluation of a cosmetic emulsion from almond oil. *Pak J Pharm Sci*, 21, 430-7.
- Akhtar, N. e Yazan, Y. (2008). Formulation and in-vivo evaluation of a cosmetic multiple emulsion containing vitamin C and wheat protein. *Pak J Pharm Sci*, 21, 45-50.
- Ansel, H., Popovich, N., Allen, L. (2007). *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*, São Paulo, artmed.
- Barbosa, F. T., Juca, M. J., Castro, A. A., Duarte, J. L., Barbosa, L. T. (2009). Artificial oxygen carriers as a possible alternative to red cells in clinical practice. *Sao Paulo Medical Journal*, 127, 97-100.
- Bernath, K., Hai, M., Mastrobattista, E., Griffiths, A., Magdassi, S. e Tawfik, D. (2004). In vitro compartmentalization by double emulsions: sorting and gene enrichment by fluorescence activated cell sorting. *Anal Biochem*, 325, 151-7.
- Bonnet, M., Cansell, M., Placin, F., Anton, M. e Leal-Calderon, F. (2010a). Impact of sodium caseinate concentration and location on magnesium release from multiple W/O/W emulsions. *Langmuir*, 26, 9250-60.
- Bonnet, M., Cansell, M., Placin, F., David-Briand, E., Anton, M. e Leal-Calderon, F. (2010b). Influence of ionic complexation on release rate profiles from multiple water-in-oil-in-water (W/O/W) emulsions. *J Agric Food Chem*, 58, 7762-9.
- Bonnet, M., Cansell, M., Placin, F., Monteil, J., Anton, M. e Leal-Calderon, F. (2010c). Influence of the oil globule fraction on the release rate profiles from multiple W/O/W emulsions. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 78, 44-52.
- Boonme, P. (2007). Applications of microemulsions in cosmetics. *J Cosmet Dermatol*, 6, 223-8.

- Bozkir, A. e Hayta, G. (2004). Preparation and evaluation of multiple emulsions water-in-oil-in-water (w/o/w) as delivery system for influenza virus antigens. *J Drug Target*, 12, 157-64.
- Branco, I. G., Gasparetto, C. A. (2003). Comportamento reológico de suco de laranja concentrado congelado. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, V 5 p.173-178.
- Cabrales, P. e Briceno, C. (2011). Delaying blood transfusion in experimental acute anemia with a perfluorocarbon emulsion. *Anesthesiology*, 114, 901-11.
- Chaw, C. S., Yang, Y. Y., Lim, I. J. e Phan, T. T. (2003). Water-soluble betamethasone-loaded poly(lactide-co-glycolide) hollow microparticles as a sustained release dosage form. *J Microencapsul*, 20, 349-59.
- Consiglieri, V. O. (2002). Farmacotécnica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*.V 38, N. 4.
- Constantinides, P. P. , C. M. V., Shorr, R. (2008). Advances in lipid nanodispersions for parenteral drug delivery and targeting. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 757–767.
- Cui, F., Cun, D., Tao, A., Yang, M., Shi, K., Zhao, M. e Guan, Y. (2005). Preparation and characterization of melittin-loaded poly (DL-lactic acid) or poly (DL-lactic-co-glycolic acid) microspheres made by the double emulsion method. *J Control Release*, 107, 310-9.
- Degim, I. T. e Celebi, N. (2007). Controlled delivery of peptides and proteins. *Curr Pharm Des*, 13, 99-117.

- Dehghanyar, P., Mayer, B. X., Namiranian, K., Mascher, H., Muller, M. e Brunner, M. (2004). Topical skin penetration of diclofenac after single- and multiple-dose application. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 42, 353-9.
- Erdal, M. S., A. A. (2006). Development and evaluation of multiple emulsions systems containing cholesterol and squalene *Turkish Journal Pharmacy Science*, V3, 105-121.
- Farahmand, S., Tajerzadeh, H. e Farboud, E. S. (2006). Formulation and Evaluation of a Vitamin C Multiple Emulsion. *Pharmaceutical Development and Technology*, 11, 255–261.
- Ferreira, L.A.M.; Doucet, J.; Seiller, M.; Grossiord, J.L.; Marty, J.P.; Wepierre, J. (1995). In vitro percutaneous absorption of metronidazole and glucose: Comparison of o/w, w/o/w and w/o systems. *Int. J. Pharm.*, 121, 169.
- Gallarate, M., Trotta, M., Battaglia, L. e Chirio, D. (2009). Preparation of solid lipid nanoparticles from W/O/W emulsions: preliminary studies on insulin encapsulation. *J Microencapsul*, 26, 394-402.
- Guidetti, M., Sforzini, A., Bersani, G., Corsini, C., Grossi, G., Zolezzi, C., Fasano, C. e Pironi, L. (2008). Vitamin A and vitamin E isoforms stability and peroxidation potential of all-in-one admixtures for parenteral nutrition. *Int J Vitam Nutr Res*, 78, 156-66.
- Gupta, S., Gabrani, R., Ali, J. e Dang, S. (2011). Exploring novel approaches to vaginal drug delivery. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 5, 82-94.
- Lieberman, H., Banker, G. (1996). *Pharmaceutical dosage forms-- disperse systems*
- Jato, J. (1997). *Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas*, Madrid, Editorial Sintesis.

- Jiao, J. e Burgess, D. (2003). Rheology and stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions containing Span 83 and Tween 80. *AAPS PharmSci*, 5, E7.
- Kaneda, M. M., Caruthers S., Lanza G. M. e Wickline. (2009). Perfluorocarbon Nanoemulsions for Quantitative Molecular Imaging and Targeted Therapeutics. *Ann Biomed Eng.*, 37, 1922–1933.
- Karatas, A., Sonakin, O., Kilicarslan, M. e Baykara, T. (2009). Poly (epsilon-caprolactone) microparticles containing Levobunolol HCl prepared by a multiple emulsion (W/O/W) solvent evaporation technique: effects of some formulation parameters on microparticle characteristics. *J Microencapsul*, 26, 63-74.
- Khan, A. Y., Talegaonkar, S., Iqbal, Z., Ahmed, F. J. e Khar, R. K. (2006). Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv*, 3, 429-43.
- Khopade, A. J. e Jain, N. K. (2000). Concanavalin-A Conjugated Fine-Multiple Emulsion Loaded with 6-Mercaptopurine. *Drug Delivery* 7, 105–112.
- Kocian, R. e Spahn, D. R. (2005). Artificial O<sub>2</sub> Carriers: Status in 2005. *Current Pharmaceutical Design*, 11, 4099-4114.
- Laugel, C., Rafidison, P., Potard, G., Aguadisch, L. e Baillet, A. (2000). Modulated release of triterpenic compounds from a O/W/O multiple emulsion formulated with dimethicones: infrared spectrophotometric and differential calorimetric approaches. *J Control Release*, 63, 7-17.
- Learoyd, T. P., Burrows, J. L., French, E. e Seville, P. C. (2010). Sustained delivery of salbutamol and beclometasone from spray-dried double emulsions. *J Microencapsul*, 27, 162-70.

- Lachman, L., Liederman, H. A. e Kanig, J. L. (2001). *The theory and practice of industrial pharmacy*, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Li, Y., Hu, M., Xiao, H., Du, Y., Decker, E. A. e McClements, D. J. (2010). Controlling the functional performance of emulsion-based delivery systems using multi-component biopolymer coatings. *Eur J Pharm Biopharm*, 76, 38-47.
- Liu, W., Yang, X. L. e Ho, W. S. (2011). Preparation of uniform-sized multiple emulsions and micro/nano particulates for drug delivery by membrane emulsification. *J Pharm Sci*, 100, 75-93.
- Lowe, K. C. (2003). Engineering blood: synthetic substitutes from fluorinated compounds. *Tissue Eng*, 9, 389-99.
- Lutza, R., Aserina, A., Wickerb, L. e Gartia, N. (2009). Release of electrolytes from W/O/W double emulsions stabilized by a soluble complex of modified pectin and whey protein isolate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74, 178–185.
- Maiti, K., Mukherjee, K., Murugan, V., Saha, B. P. e Mukherjee, P. K. (2009a). Exploring the effect of Hesperetin-HSPC complex--a novel drug delivery system on the in vitro release, therapeutic efficacy and pharmacokinetics. *AAPS PharmSciTech*, 10, 943-50.
- Maiti, S., Dey, P., Kaity, S., Ray, S., Maji, S. e Sa, B. (2009b). Investigation on processing variables for the preparation of fluconazole-loaded ethyl cellulose microspheres by modified multiple emulsion technique. *AAPS PharmSciTech*, 10, 703-15.
- Martina, M.C. (2005). *Introducción a la dermofarmácia y a la cosmetologia*, Zaragoza, Editorial Acribia, S.A.
- McClements, D. J., Decker, E. A. e Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *J Food Sci*, 72, R109-24.

- Mcclements, D. J., Decker, E. A., Park, Y. e Weiss, J. (2009). Structural Design Principles for Delivery of Bioactive Components in Nutraceuticals and Functional Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 577–606.
- Mcclements, D. J. e Li, Y. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Adv Colloid Interface Sci*, 159, 213-28.
- Miyano-shita, M., Hashida, C., Ikeda, S. e Gohtani, S. (2011). Development of low-energy methods for preparing food Nano-emulsions. *J Oleo Sci*, 60, 355-62.
- Morais, J. M., Rocha-Filho, P. A. e Burgess, D. J. (2009). Influence of phase inversion on the formation and stability of one-step multiple emulsions. *Langmuir*, 25, 7954-61.
- Musabayane, C. T., Munjeri, O. e Matavire, T. P. (2003). Transdermal delivery of chloroquine by amidated pectin hydrogel matrix patch in the rat. *Ren Fail*, 25, 525-34.
- Myung-Han Lee, Seong-Geun Oh, Sei-Ki Moon, e Seong-Youl Baey (2001). Preparation of Silica Particles Encapsulating Retinol Using O/W/O Multiple Emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 240, 83-89.
- Nogueira Prista C. A., Morgado, R. (1995). *Tecnologia Farmacêutica*, Porto, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Nonomura, Y., Kobayashi, N. e Nakagawa, N. (2011). Multiple pickering emulsions stabilized by microbowls. *Langmuir*, 27, 4557-62.
- Okochi, H. e Nakano, M. (2000). Preparation and evaluation of w/o/w type emulsions containing vancomycin. *Adv Drug Deliv Rev*, 45, 5-26.

- Onuki, Y., Morishita, M. e Takayama, K. (2004). Formulation optimization of water-in-oil-water multiple emulsion for intestinal insulin delivery. *J Control Release*, 97, 91-9.
- Ozer, O., Ozyazici, M., Tedajo, M., Taner, M. e Koseoglu, K. (2007). W/O/W Multiple Emulsions Containing Nitroimidazole Derivates for Vaginal Delivery. *Drug Delivery*, 14, 139–145.
- Pape, A. e Habler, O. (2007). Alternatives to allogeneic blood transfusions. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 21, 221-39.
- Pays, K., Giermanska-Kahna, J., Poulignya, B., Bibetteb, J. e Leal-Calderona, F., (2002). Double emulsions: how does release occur? *Journal of Controlled Release* 79, 193–205.
- Piacentini, E., Drioli, E. e Giorno, L. (2011). Preparation of stimulus responsive multiple emulsions by membrane emulsification using con a as biochemical sensor. *Biotechnol Bioeng*, 108, 913-23.
- Pianovski, A., Vilela, A., Lima, C., Silva, K., Carvalho, V., Muisis, C., Machado, S. e Ferrari, M. (2008). Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões múltiplas O/A/O com óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). *Revista Brasileira de Farmácia* 89, 155-159.
- Riess, J. G. (2006). Perfluorocarbon-based Oxygen Delivery. *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*, 34, 567–580,.
- Rozman, B. e Gasperlin, M. (2007). Stability of vitamins C and E in topical microemulsions for combined antioxidant therapy. *Drug Deliv*, 14, 235-45.
- Salager, J. L. (1999). Formulaci3n, composici3n y fabricaci3n de emulsiones para obtener las propiedades deseadas. Estado del Arte. Parte B. Propiedades de las emulsiones y su

- madición. In: FIRP, L., Quimica, E. D. I., Andes, U. D. L. e Venezuela, M. (eds.). Mérida-Venezuela.
- Schmidts, T., Dobler, D., Nissing, C. e Runkel, F. (2009). Influence of hydrophilic surfactants on the properties of multiple W/O/W emulsions. *J Colloid Interface Sci*, 338, 184-92.
- Schmidts, T., Dobler, D., Schlupp, P., Nissing, C., Garn, H. e Runkel, F. (2010). Development of multiple W/O/W emulsions as dermal carrier system for oligonucleotides: Effect of additives on emulsion stability. *Int J Pharm*, 398, 107-13.
- Schulz, C. K. (2005). *Tratamento de efluentes oleosos utilizando processos de separação por membranas*. Doutorado, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO.
- Sun, J., Zhang, H., Tian, R., Ma, D., Bao, X., Su, D. S. e Zou, H. (2006). Ultrafast enzyme immobilization over large-pore nanoscale mesoporous silica particles. *Chem Commun (Camb)*, 1322-4.
- Talegaonkar, S. e Vyas, P. (2005). Inverse targeting of diclofenac sodium to reticuloendothelial system-rich organs by sphere-in-oil-in-water (s/o/w) multiple emulsion containing poloxamer 403. *Journal of Drug Targeting*, 13, 173–178.
- Tedajo, G.M., Bouttier, S., Grossiord, J. L., Marty, J. P., Seiller, M., e Fourniat, J. (2002). In vitro microbicidal activity of W/O/W multiple emulsion for vaginal administration. *International Journal of Antimicrobial Agents* 20, 50/56.
- Tedajo, G. M., Bouttier, S., Fourniat, J., Grossiord, J., Marty, J.P. e Seiller, M. (2005). Release of antiseptics from the aqueous compartments of a w/o/w multiple emulsion. *International Journal of Pharmaceutics*, 288, 63–72.
- Vasiljevic, D., Parojcic, J., Primorac, M. e Vuleta, G. (2006). An investigation into the characteristics and drug release properties of multiple W/O/W emulsion systems

containing low concentration of lipophilic polymeric emulsifier. *International Journal of Pharmaceutics* 309, 171–177.

Vaziri, A. e Warburton, B. (1994). Slow release of chloroquine phosphate from multiple taste-masked W/O/W multiple emulsions. *J Microencapsul*, 11, 641-8.

Vladisavljevic, G. T. e Williams, R. A. (2005). Recent developments in manufacturing emulsions and particulate products using membranes. *Adv Colloid Interface Sci*, 113, 1-20.

Wang, S., Yang, R., Yao, H., Zhou, G., Zhang, Y., Yang, B., Ng, L. e Yan, M. (2009). In vivo lymphatic targeting of methylene blue with microemulsion and multiple microemulsion. *Drug Deliv*, 16, 371-7.

Yener, G. e Baitokova, A. (2006). Development of a w/o/w emulsion for chemical peeling applications containing glycolic acid. *J Cosmet Sci*, 57, 487-94.