



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP)

DANIEL AUGUSTO GOMES MIRANDA

Sistema nanoestruturado para a localização cutânea de compostos doadores de H₂S visando o tratamento de psoríase

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Biagini Lopes

Co-orientadora: Profa. Dra. Soraia Katia Pereira Costa

São Paulo

2019

RESUMO

MIRANDA, D A G. Sistema nanoestruturado para a localização cutânea de compostos doadores de H₂S visando o tratamento de psoríase. 2019. 94 f. Dissertação (Mestrado em farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A psoríase é uma doença inflamatória crônica, imunomediada, que se apresenta de diversas formas e impacta a qualidade de vida dos pacientes. O tratamento é feito conforme a gravidade da doença; no caso da doença leve a moderada, o tratamento geralmente é tópico utilizando corticoide. Entretanto, esse tratamento apresenta diversos efeitos adversos, principalmente em decorrência dos efeitos sistêmicos dos corticoides. Aqui propomos a associação de corticoides a doadores de H₂S na forma de um novo pró-fármaco (dexametasona-TBZ e dexametasona-ADT), a fim de potencializar o efeitos anti-inflamatórios sem a necessidade de aumentar a dose aplicada do corticoide, de modo a restringir efeitos adversos. Desenvolvemos 2 grupos de formulações variando o tensoativo e a fase oleosa. Em ambos os grupos, o tipo de fase formada foi dependente do teor de água: sistemas contendo 20 e 70% de água formaram fase lamelar e dispersão estabilizada por fase lamelar, respectivamente. As dispersões apresentaram duas populações com diâmetro variando até 1000 nm e potencial zeta negativo. Todas as formulações apresentaram comportamento reológico do tipo pseudoplástico. A força necessária para destacar as formulações A e B contendo 20% de água da pele foi 1,5-1,9 vezes superior comparado à água, indicando potencial bioadesivo das formulações. A dexta-TBZ foi incorporada a 1%, e sua estabilidade nas formulações foi demonstrada por 8 h, mesmo naquelas contendo 70% de água. As formulações A com 20% (A-20) e 70% (A-70) de água promoveram acantose. As formulações do grupo B promoveram aumento na penetração cutânea do pró-fármaco, sendo a penetração no estrato córneo e epiderme viável 1,9-2,2 vezes (B-20) e 1,7-2,6 vezes (B-70) maior quando comparados ao controle. Selecionamos B-70 para os estudos in vivo em camundongos com psoríase induzida por imiquimode. Os pró-fármacos são eficazes na redução de parâmetros inflamatórios em camundongos com psoríase experimental, mas esses efeitos são semelhantes ao tratamento convencional (dexametasona).

Palavras-chave: Sistema nanoestruturado. Pró-fármaco. Co-localização. Doador H₂S. Fase lamelar.

ABSTRACT

MIRANDA, D A G. Nanoestrutured systems for the cutaneous delivery of H₂S donor compounds for treatment of psoriasis. 2019. 94 p. Dissertation (Masters thesis in Pharmacology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Psoriasis is a chronic inflammatory disease, immune-mediated, that occurs in various forms, causing major psychosocial impact and decreases in the quality of life of patients. Treatment varies according to the severity of the disease; in the case of mild-to-moderate disease, the standard treatment is topical corticosteroids. However, this treatment has several adverse effects, mainly due to the systemic effects of corticosteroids. Here we propose the association of corticosteroids to H₂S donors (dexamethasone-TBZ and dexamethasone-ADT) in the form of a new codrug in order to potentiate the anti-inflammatory effects without the need to increase the applied dose of the corticosteroid, reducing the incidence of adverse effects. We developed two groups of formulations varying the surfactant and the oil phase. In both groups, the type of phase formed was dependent on the water content: systems containing 20 and 70% water formed lamellar phase and dispersion stabilized by lamellar phase, respectively. The dispersions had two populations with a diameter ranging up to 1000 nm and negative zeta potential. All formulations showed pseudoplastic rheological behavior. The dexamethasone-TBZ was incorporated at 1%, and its stability in the formulations was demonstrated for 8 h, even for those containing 70% water. Formulations A with 20% (A-20) and 70% (A-70) of water promoted acanthosis. The formulations of group B increased skin penetration of the codrug, and 1.9-2.2 times (B-20) and 1.7-2.6 times (B-70) more drug was quantified in the stratum corneum and epidermis compared to the control. We selected B-70 for *in vivo* studies in mice with psoriasis induced for imiquimode. The codrugs were effective in reducing inflammatory parameters in mice with experimental psoriasis, but these effects are similar to conventional treatment (dexamethasone).

Keywords: Nanostructured system. Co-drug. Co-localization. Donor H₂S. Lamellar phase.

1.0 INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença inflamatória crônica, imunomediada que atinge cerca de 1% da população brasileira e 1 a 3 % da população mundial (Sociedade Brasileira de Dermatologia-SBD, 2012; Parisi et al., 2013; Szepietowski, Reich, 2016). Fatores como idade, sexo, geografia e etnia, influenciam a prevalência da psoríase, sendo as taxas de prevalência maiores em regiões de latitude mais alta, assim como em caucasianos quando comparados a outras etnias. Observou-se que a prevalência em crianças, aproximadamente 0,7% (Kravvas, Gholam, 2018), é menor do que em adultos e acima da média mundial em alguns países do continente europeu, como França (5,2%) e Noruega (8,5% da população afetada), enquanto que países mais próximos da linha do equador, incluindo Egito, China, Taiwan e Sri Lanka, possuem uma baixa prevalência, com cerca de 0,5% da população afetada (Parisi et al., 2013; Naldi, 2013).

A psoríase impacta grandemente a qualidade de vida do paciente, sendo comparável ao comprometimento físico e emocional de outras morbidades crônicas como doenças cardíacas, câncer ou diabetes, e apresenta um índice maior de suicídio, depressão e consumo de álcool (Rapp et al., 2009, SBD, 2012). A doença se apresenta de várias formas, sendo a psoríase vulgar a mais comum, a qual representa de 85 a 90% dos casos, e pelo menos 60 a 90% dos pacientes com a doença apresentam prurido intenso e efeitos inflamatórios na pele (Krueger, Bowcock, 2005; Nestle et al., 2009; SBD, 2012; Szepietowski, Reich, 2016). A psoríase vulgar se caracteriza por formação de placas secas, avermelhadas, com escamas prateadas ou esbranquiçadas e prurido, podendo atingir qualquer parte do corpo (Nestle et al., 2009). Os tratamentos disponíveis podem deixar a pele livre das lesões, mas não promovem a cura (Mrowitez et al., 2011). Nos casos leves a moderados e localizados, que não comprometem a qualidade de vida do paciente, o tratamento de escolha é feito pela via tópica em decorrência da conveniência, segurança e menor custo, com corticosteroides, tacrolimus, calcipotriol, coaltar ou antralina (SBD, 2012; Beyer, Wolverton, 2010).

A etiologia da psoríase não é bem conhecida, mas sabe-se que ela é multifatorial, na qual tanto fatores intrínsecos quanto extrínsecos podem desencadeá-la ou agravá-la, incluindo trauma leve, alguns medicamentos, fumo, obesidade,

estresse, infecções por estreptococos beta-hemolítico e HIV. Com relação aos fatores genéticos, a relação é bem estabelecida, com maior incidência da doença em parentes de primeiro e segundo grau quando comparado a população em geral. Essa relação fica evidente em estudos onde a taxa de concordância entre gêmeo monozigótico é até três vezes maior do que entre gêmeos dizigóticos (Boehncke, 2015; Naldi, 2013; Nestle et al., 2009; Schon, Boehncke, 2005). Além disso, estudos mostram que indivíduos que tem início da psoríase na infância geralmente tem algum familiar que apresenta a doença, enquanto que em pacientes sem histórico familiar da doença, ela normalmente tem início na fase adulta e apresenta-se na forma menos grave (Boehncke, 2015; Naldi, 2013; Nestle et al., 2009; Schon, Boehncke, 2005).

O mecanismo de herança genética da psoríase é complexo; estudos demonstram que ao menos nove *loci* cromossômicos estão ligados à doença, os quais são denominados genes de susceptibilidade “PSORS”. O PSORS 1 é o principal envolvido e considerado fator determinante genético da psoríase, que provavelmente responde por 35 a 50% da hereditariedade e está localizado no cromossomo 6p (Boehncke, 2015; Nestle et al., 2009). Com relação à sua fisiopatologia (**Figura 1**), é observada hiperplasia de células da epiderme, com maturação prematura dos queratinócitos, que se encontram com a taxa mitótica aumentada em comparação com a pele normal, levando a uma queratinização incompleta com retenção de núcleos no estrato córneo (paraqueratose), ocasionando o espessamento da epiderme (acantose). Juntamente com este processo ocorre a proliferação e dilatação de vasos sanguíneos, além do aparecimento de infiltrado inflamatório com células dendríticas, macrófagos, células T e neutrófilos (Nestle et al., 2009; Krueger, Bowcock, 2005).

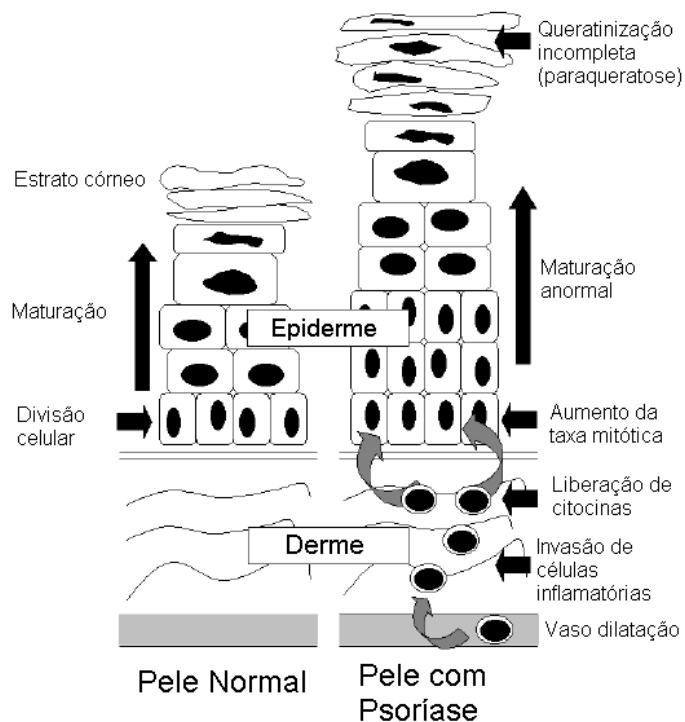


Figura 1. Representação esquemática da fisiopatologia da psoríase. Adaptado de Mason, 2013.

1.1 Tratamento da Psoríase

A terapia da psoríase visa remover a pele escamosa (escamas) e impedir ou limitar a proliferação celular acelerada. Além da terapia farmacológica com agentes tópicos e sistêmicos, existem alternativas não farmacológicas, que podem oferecer alívio, dependendo da gravidade da doença.

Há mais de 30 anos, o conhecimento da fisiopatologia e a participação de fatores genéticos na psoríase eram limitados, sendo a base e o controle da terapia desta doença, o emprego de fármacos, como corticosteroides e imunossupressores, cuja gravidade dos efeitos adversos é bem conhecida (Torsekar, Gautan, 2017; Castela et al., 2012; Lamba, Lebwohl, 2001).

Os corticoides tópicos são os compostos mais usados para tratar a psoríase leve a moderada devido a sua ação anti-inflamatória, antiproliferativa, imunossupressora, vasoconstritora e antipruriginosa. A eficácia varia conforme a forma clínica, formulação e o composto utilizado, variando de 5 a 90% no tratamento de psoríase de placa corporal e de 40 a 90% na psoríase do couro cabeludo. Em vista dos graves efeitos adversos locais e sistêmicos, a utilização tópica de corticoides não

deve exceder 2- 3 semanas para aqueles de alta potência, como o clobetasol e dipropionato de betametasona, quatro semanas para os de média potência, como furoato de mometasona, e três meses para os de baixa potência, como acetato de hidrocortisona (Castela et al., 2012; Lamba, Lebwohl, 2001).

O principal fator que determina a abordagem terapêutica da psoríase é a gravidade da doença, que pode ser classificada em leve, moderada ou grave. Os tratamentos disponíveis podem deixar a pele livre das lesões, mas não promovem a cura (Mrowitez *et al.*, 2011; Schon, Boehncke, 2005). A severidade da doença é classificada conforme a superfície corporal afetada, na leve < 3% da superfície, moderada 3 – 10% e na grave > 10% da superfície (Kim, Jerome, Yeung, 2017). Aproximadamente 70 a 80% dos pacientes podem ser tratados adequadamente somente com o uso de terapia tópica (Schon, Boehncke, 2005), e em casos refratários, pode ser adicionado ao tratamento a fototerapia (Mrowitez *et al.*, 2011). Nos casos leves e localizados, que não comprometem a qualidade de vida do paciente, pode ser usado somente o tratamento tópico, feito com corticosteróides, tacrolimus, calcipotriol, coaltar, antralina ou com o retinóide tazaroteno (Beyer, Wolverson, 2010; Schon, Boehncke, 2005). Nos casos moderados a graves, o tratamento deve ser feito com fototerapia ou fármacos sistêmicos, como metotrexato, ciclosporina, acitretina, adalimumabe, infliximabe; em alguns casos podem ser utilizadas ambas as abordagens (Beyer, Wolverson, 2010; Schon, Boehncke, 2005).

A antralina foi por muitos anos o tratamento mais efetivo para psoríase em placas, devido a sua ação na redução da proliferação de queratinócitos, inibição da ativação de células T e restauração da diferenciação celular (Torsekar, Gautan, 2017). Os análogos da vitamina D, como o calcipotriol, são muito utilizados como adjuvante na psoríase de placa crônica; eles se ligam aos receptores intracelulares da vitamina D e regulam os genes envolvidos na proliferação da epiderme, inflamação e queratinização (Torsekar, Gautan, 2017). O tazaroteno é um derivado da vitamina A utilizado em pacientes que tem psoríase de placa estável, muitas vezes é associado ao calcipotriol, atuando na hiperproliferação da epiderme, normalizando a diferenciação dos queratinócitos e diminuindo a inflamação (Torsekar, Gautan, 2017).

Até o presente momento os corticoides continuam sendo os compostos mais utilizados na terapia tópica e sistêmica da psoríase, pois possuem custo menos elevado do que os agentes biológicos, e efeitos adversos de gravidade equiparada.

Mesmo quando aplicado topicamente, os corticosteroides promovem diversos efeitos adversos locais (ex.: como atrofia da pele, caracterizada pelo afinamento, perda de elasticidade e telangiectasia) e sistêmicos graves, decorrentes da absorção transdérmica destes (ex.: supressão do eixo *Hipotálamo-Pituitária-Adrenal* e síndrome de Cushing) (Castela et al., 2012). Diante desse cenário, ainda se faz necessária a pesquisa por opções terapêuticas para o controle da psoríase, particularmente em casos onde a terapia com corticosteroides não responde eficazmente.

O uso de combinações de fármacos com corticoides representa uma estratégia interessante para potencializar o efeito farmacológico desejado, reduzindo a concentração necessária do corticoide comparado ao seu uso individual. Com isso, infere-se a possibilidade de redução dos efeitos adversos cutâneos, da quantidade de fármaco absorvida através do tecido e da incidência dos efeitos adversos sistêmicos, principalmente no tratamento de manutenção de longo prazo e prevenção de remissões (Lamba, Lebwohl, 2001; Castela et al., 2012b; Devaux et al., 2012). A viabilidade dessa base racional é demonstrada pela utilização da combinação de corticosteroides e análogos da vitamina D para melhoria da segurança e eficácia do tratamento (Lamba, Lebwohl, 2001).

Nesse sentido, estudos recentes mostram que um novo mediador endógeno, sulfeto de hidrogênio (H_2S), participa de processos fisiológicos e fisiopatológicos, incluindo psoríase (Ashorafa et al., 2012; Li et al., 2011; Lowica, Bettowski, 2007).

1.2 Biossíntese e doadores de H_2S na inflamação

Doadores de H_2S têm despertado interesse no controle da inflamação e nocicepção, diminuindo o infiltrado de leucócitos, edema e o prurido (Li et al., 2011; Lowica, Bettowski, 2007; Cunha et al., 2008; Whiteman et al., 2010; Rodrigues et al., 2017).

O H_2S é um gás gerado pelas células dos mamíferos por duas vias, a enzimática e a não enzimática, sendo a via enzimática a responsável pela maior parte da produção de H_2S (Wang, 2012). Ele é produzido em quantidade significativa em diversos tecidos, sendo as maiores taxas de produção encontradas no cérebro, sistema cardiovascular, fígado e rins (Lowica, Bettowski, 2007). O principal substrato para a produção de H_2S endógeno pela via enzimática é a L-cisteína, um aminoácido que contém enxofre na sua estrutura e pode gerar o H_2S por diferentes vias, essas

reações são catalisadas pelas enzimas cistationina- β -sintase (CBS) e cistationina- γ -liase (CSE), ambas necessitam da vitamina B6 como co-fator da reação (Wang, 2012; Li et al., 2011; Lowica, Bettowski, 2007). Outra via enzimática para a produção de H₂S que também utiliza L-cisteína como substrato e é catalisada pelas enzimas cisteína aminotransferase (CAT) e a 3-mercaptopiruvato sulfurtransferase (MST) (Wang, 2012; Li et al., 2011; Lowica, Bettowski, 2007).

Estudos anteriores de Costa e colaboradores demonstram que os doadores de H₂S, especificamente a molécula híbrida de ATB-346, reduziu os parâmetros de dor e inflamação causada pela sinovite articular de joelho induzida por carragenina em ratos (Ekundi-Valentim et al., 2013). Outro estudo demonstrou que os doadores de H₂S espontâneos de liberação rápida, Na₂S e reagente de Lawesson, melhoram significativamente o prurido e a inflamação cutânea induzida por histamina e pela degranulação de mastócitos na pele dorsal do camundongo (Rodrigues et al., 2017). Esse grupo demonstrou também que, na psoríase experimental induzida por imiquimode em camundongos, houve redução de alguns sinais clínicos da doença, como eritema, descamação, espessamento epidérmico, prurido espontâneo e do número de leucócitos no sangue periférico e no baço, após tratamento sistêmico com o doador de H₂S de liberação lenta GYY4137, o que demonstra o potencial terapêutico desta molécula, sugerindo que a suplementação de H₂S pode ser uma alternativa ao tratamento da psoríase (Rodrigues et al., 2015).

Outros autores empregando modelos experimentais distintos vêm revelando o potencial anti-inflamatório e anti-nociceptivo de doadores de H₂S (Li et al. 2011; Lowica, Bettowski, 2007; Cunha et al., 2008; Whiteman et al., 2010; Rodrigues et al., 2017). De fato, estudos pré-clínicos (Laboratório Antibe) com moléculas híbridas contendo AINEs (cetoprofeno) e doadores de H₂S vêm sendo realizados com sucesso na terapia da artrite reumatoide, osteoartrite e dor severa (<http://www.antibether.com/2017/04/26/antibe-therapeutics-advances-development-of-atb-352-in-wake-of-growing-global-opioid-epidemic/>).

Além de AINEs, a associação com corticosteroides também vem sendo proposta. Um estudo realizado por Yun Sun et al. (2015), com células de pulmão *in vitro* de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica, sugere que a administração concomitante de doadores de H₂S e dexametasona tem um efeito sinérgico, aumentando o potencial anti-inflamatório do corticoide.

Com base nesses estudos, propomos a administração tópica de uma combinação do corticóide dexametasona com um doador de H₂S (**Figura 2**) como uma nova alternativa aos atuais tratamentos. A molécula híbrida (à qual também nos referiremos como pró-fármaco ao longo do texto) é formada por dois ou mais fármacos, através de uma ligação covalente, obtendo-se uma única molécula. A utilização desta abordagem permite a potencialização do efeito, já que ambos os compostos podem ser co-localizados no mesmo sítio, e o aumento da estabilidade por preservar grupos funcionais lábeis (Das et al., 2004; Thomas et al., 2014).

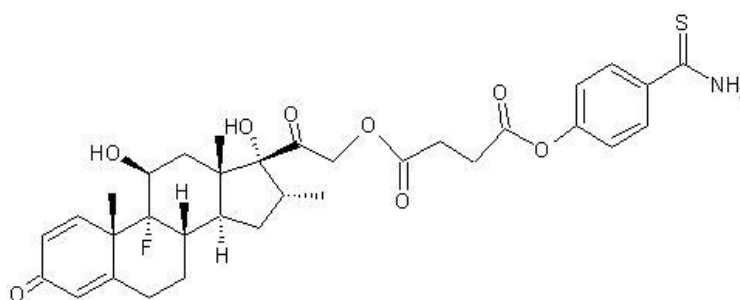


Figura 2. Molécula híbrida de doador de H₂S (TBZ) acoplado à dexametasona.

1.3 Aplicação tópica de fármacos e sistemas de liberação

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a cerca de 15% do peso corporal. Sua função primária é de proteção, funcionando como uma barreira entre o meio externo e o meio interno do organismo (Azulay, 2015; Proksch, Bradner, Jensen, 2008).

A pele é estruturalmente composta por duas camadas principais, a epiderme e a derme. A epiderme é a camada mais externa da pele, constituída basicamente por tecido epitelial estratificado queratinizado, caracterizada por ser avascular e composta por queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. A derme é uma camada mais interna, formada por tecido conjuntivo, composta por estruturas fibrosas, filamentosas e amorfas, na qual são acomodados vasos, nervos, folículos pilosos e as glândulas sebáceas e sudoríparas (Moser et al., 2001; Azulay, 2015). Alguns autores consideram a hipoderme como sendo uma terceira camada da pele (Shai, Baran, Maibach, 2009).

O estrato córneo é considerado a principal barreira à penetração de fármacos na pele, o que decorre da sua estrutura altamente organizada e composição. Ele é a camada mais externa da epiderme, que compreende estrutura de células planas, colesterol, ceramidas e ácidos graxos livres, formando um envelope celular de corneócitos, o que gera uma barreira lipídica hidrofóbica, em modelo chamado “tijolos e argamassa”, onde os corneócitos são os tijolos e os lipídeos, a argamassa (Moser et al., 2001; Elias, 1983). Essa estrutura altamente organizada confere alto grau de dificuldade para o transporte de substâncias através da pele. Além disso, o estrato córneo também está envolvido na regulação da libertação de água do organismo para a atmosfera (prevenindo uma grande perda de água para o ambiente), o que é conhecido como perda de água transepidérmica (**Figura 3**). (Moser et al., 2001; Azulay, 2015; Proksch, Bradner, Jensen, 2008).

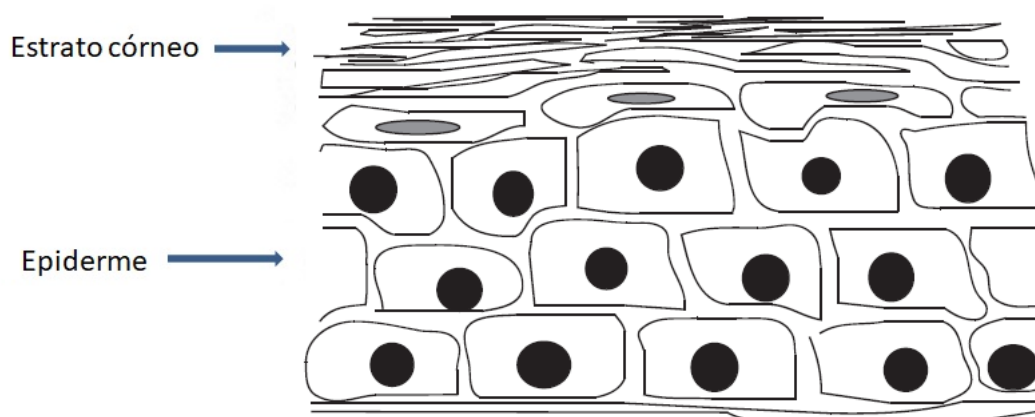


Figura 3. Representação esquemática da organização da pele e estruturação da Epiderme e do Estrato Córneo. Adaptado de Proksch, Bradner, Jensen, 2008.

A penetração cutânea de compostos na pele integra pode ocorrer por difusão através da pele ou através dos seus apêndices, como folículo piloso e glândula sudorípara. Entretanto, estes apêndices ocupam apenas 0,1% da superfície da pele humana e por isso, sua contribuição para a penetração é considerada pequena. A difusão através da pele integra, por sua vez, pode seguir dois caminhos (**Figura 4**): uma das rotas consiste na difusão através da matriz de lipídeos intercelulares, onde o composto se difunde entre os corneócitos, e a outra é constituída pela via transcelular, na qual o composto atravessa os corneócitos e os lipídeos intervenientes (Moser et al., 2001).

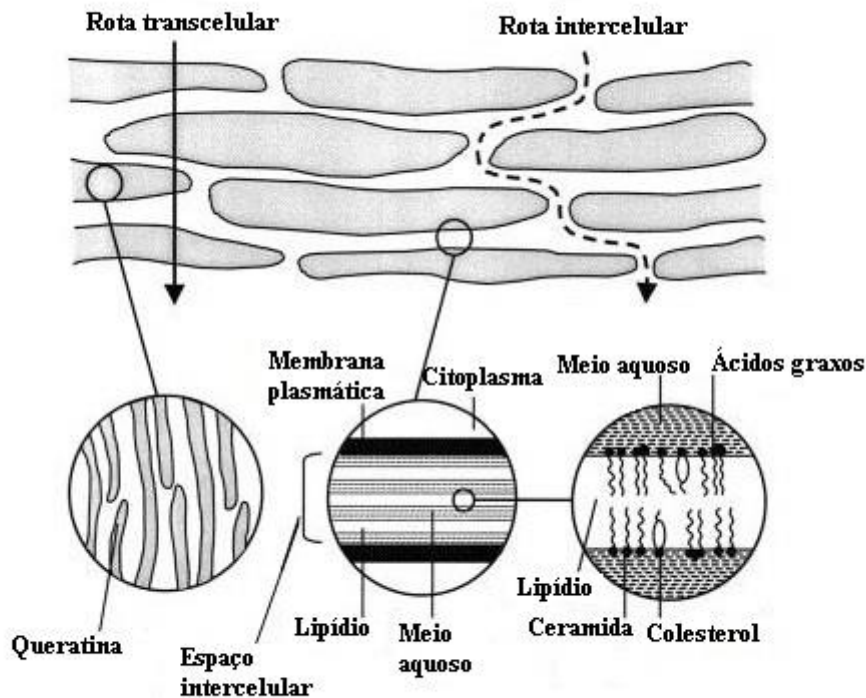


Figura 4. Representação das vias de penetração através da pele íntegra: (i) Atravessando os corneócitos e a matriz lipídica (rota transcelular) e (ii) através da matriz lipídica entre os corneócitos (via intercelular). Adaptado de Moser et al., 2001.

A penetração através do estrato córneo depende grandemente das características físico-químicas do composto. Por exemplo, compostos com massa molecular inferior a 500 g/mol e logP entre 0,5 e 2,5 conseguem ultrapassar essa barreira e atingir camadas viáveis da pele mais eficientemente. No entanto, existe uma grande variedade de compostos farmacologicamente ativos cuja utilização na terapêutica seria de grande interesse, mas que não atendem a esses requisitos, o que explica por que existe um pequeno número de medicamentos disponíveis para aplicação transdérmica a despeito das vantagens relativas à essa via. Com uma massa molecular superior a 600 g/mol e um logP estimado de $4,13 \pm 0,75$, a molécula híbrida que propomos trabalhar é um exemplo. Para possibilitar que esse composto atinja camadas viáveis da pele, é necessário utilizar estratégias de promoção da penetração. Dentre elas, destaca-se o uso de sistemas nanoestruturados.

Diversos sistemas têm sido utilizados para promoção da penetração cutânea, incluindo microemulsões, fases líquido-cristalinas e vesículas lipossomais (Hosmer,

Steiner, Lopes, 2013; Cichewicz et al., 2013; Cevec, Blume, 2004). Considerando que a liberação do H₂S se dá por hidrólise e que tanto o H₂S quanto a dexametasona devam ser co-localizados na pele, a fim de se obter os benefícios da sua associação, a molécula híbrida deve ser estável no nanocarreador. Vale ressaltar que o nosso grupo mostrou aumento da estabilidade de um pró-fármaco lipofílico de vitamina E e ácido lipóico em nanocarreadores mediante a redução do conteúdo aquoso, embora a penetração cutânea tenha aumentado com o conteúdo aquoso do sistema (Thomas et al., 2014).

Com base nesse estudo, idealizamos um nanocarreador que contenha água para maximizar a penetração cutânea da molécula híbrida, mas que possa ser obtido de forma extemporânea ou permitir a incorporação do composto após o sistema ter sido formado e imediatamente antes da aplicação, a fim de assegurar a estabilidade da molécula. Propomos a comparação de um sistema nanoemulsionado, onde as nanogotículas sejam estabilizadas por fase líquido-cristalina, e de um gel de fase lamelar. Com isso, visamos nos beneficiar do potencial promotor de absorção das nanogotículas e da fase líquido-cristalina, bem como aumento da estabilidade da nanoemulsão e da capacidade de controle da liberação da molécula híbrida conferidos pelo sistema líquido-cristalino (dos Santos, da Rocha-Filho, 2007; Kudla et al., 2010).

Os sistemas nanoemulsionados são obtidos pela mistura de óleo, água e tensoativo, dependendo das proporções de cada componente. Sabe-se que essa mistura é capaz de formar sistemas do tipo óleo-em-água (O/A) ou água-em-óleo (A/O), onde a fase interna é composta por gotículas na ordem de nanômetros (Kreilgaard, 2002; Formariz et al., 2005). A nanoemulsão é uma dispersão coloidal de dois líquidos imiscíveis, caracterizada por ser termodinamicamente instável e por possuir a fase interna compostas por gotículas geralmente até 300 nm, embora sistemas com fase interna de até 500 nm tenham sido descritos (McClements, 2012; Kong, Park, 2011; Porras et al., 2004).

Ainda, dependendo do tipo de tensoativo estrutural (ou composto formador da estrutura, geralmente um lipídio polar ou tensoativo), seu fator de empacotamento (P, razão entre volume da cauda hidrofóbica e área da cabeça polar multiplicada pelo tamanho da cauda), temperatura e teor de água, fases líquido-cristalinas podem também ser formadas. As mais comumente utilizadas para liberação de fármacos são as fases lamelar, hexagonal e cúbica (**Figura 5**).

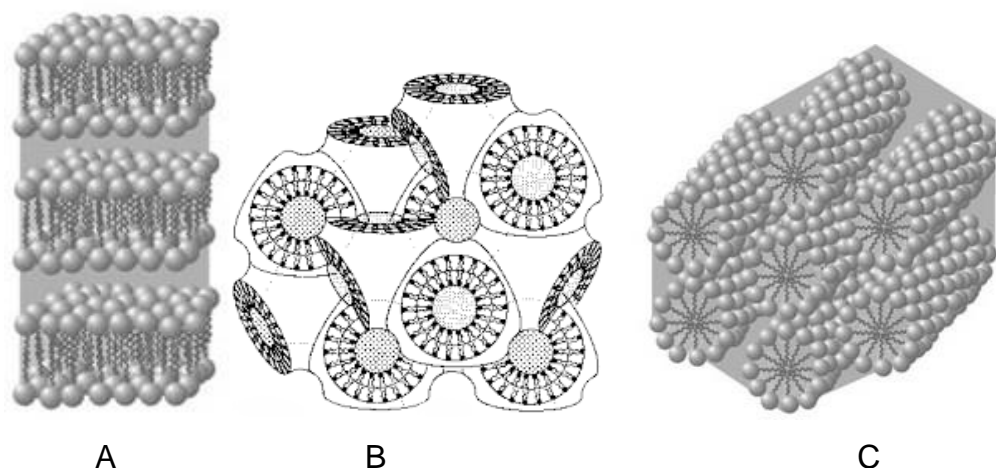


Figura 5. Representação das fases líquido-cristalinos comumente empregadas como sistemas de liberação de fármacos. A- Fase lamelar, B- Fase cúbica e C- Fase hexagonal. Adaptado de Blunk et al., 2006.

A fase lamelar é formada por bicamadas planas de tensoativo separadas por camada intermediária de solvente, geralmente água, e dispostas paralelamente uma a outra, formando uma rede unidimensional (**Figura 5A**) (Formariz et al., 2005; Ezrahi et al., 1999). As fases cúbicas liotrópicas têm estruturas mais complicadas e difíceis de serem visualizadas do que outras fases. A fase cúbica é dividida em duas classes distintas, a fase cúbica bicontínua (**Figura 5B**), na qual uma única bicamada de tensoativo divide o espaço entre duas redes de água interligadas, e a fase cúbica micelar, que consiste em agregados micelares dispostos em retículos cúbicos (Ezrahi et al., 1999). A fase hexagonal consiste em cilindros de micelas resultantes da auto-agregação de um composto estrutural organizadas como um hexágono (**Figura 5C**), cujo diâmetro dos cilindros é geralmente na ordem de 30-50 Å (Muller-Goymann, 2004; Drummond, Fong, 2000). As fases líquido-cristalinas servem como nanocarreadores devido à estrutura composta por regiões aquosas e lipídicas distintas, tendo potencial de incorporar fármacos com propriedades físico-químicas diferentes, tanto lipofílicas quanto hidrofílicas, proporcionando um reservatório de fármaco com liberação sustentada (Dong et al., 2012; Tangso et al., 2014).

Propomos avaliar sistemas em que o tensoativo estrutural seja a fosfatidilcolina, um fosfolípido derivado da soja, que tem tendência a formar cristais líquidos (Simões et al., 2005; Damasceno et al., 2011). Como mencionado, o sistema nanoemulsionado estabilizado por fase líquido-cristalina será comparado com a fase líquido-cristalino do tipo lamelar (Hosmer, Steiner, Lopes, 2013). Essas formulações

foram selecionadas pois, embora o aumento na proporção de fase aquosa de nanocarreadores geralmente resulte em aumento da penetração de compostos lipofílicos (como a molécula híbrida em questão) e redução do potencial irritativo, a estabilidade de pró-fármacos diminui (Pepe et al., 2013; Carvalho et al., 2016; Thomas et al., 2014). Assim, visamos comparar o efeito do teor aquoso e do tipo de sistema formado sobre o potencial irritativo, efeito promotor e estabilidade do pró-fármaco.

1.4 Justificativa do estudo

Considerando os diversos efeitos adversos locais e sistêmicos decorrentes da utilização de corticosteróides, que incluem atrofia e risco de supressão do eixo *Hipotálamo-Pituitária-Adrenal* (Castela et al, 2012), o uso de combinações de outros compostos ativos com corticoides representa uma estratégia interessante para potencializar o efeito farmacológico desejado, reduzindo a concentração necessária do corticoide comparado ao seu uso individual, de modo a reduzir a dose utilizada, a concentração absorvida através da pele e a incidência de efeitos adversos sistêmicos (Kircik, Zografos, 2015). A viabilidade dessa base racional é demonstrada pela utilização da combinação de corticosteroides e análogos da vitamina D para melhoria da segurança e eficácia do tratamento (Lamba, Lebwohl, 2001).

Propomos aqui a administração cutânea de uma molécula híbrida, pró-fármaco formado pela combinação de dexametasona com doador de H₂S. A utilização de doadores de H₂S no controle da inflamação vem ganhando destaque com diversos estudos, inclusive do grupo de Costa e colaboradores, que demonstram diminuição do infiltrado de leucócitos, edema e prurido (Li et al 2011; Lowica, Bettowski, 2007; Cunha et al, 2008; Whiteman et al, 2010; Rodrigues et al, 2017). Diante do pressuposto, propomos aqui maximizar o efeito terapêutico desejado da molécula sem a necessidade de aumentar (sendo possível talvez até mesmo reduzir) a dose de corticoide, de modo a minimizar os efeitos adversos locais e sistêmicos associados ao composto. Consideramos tal estratégia importante, pois poderá beneficiar pacientes com psoríase e outras doenças atópicas de pele. Considerando a função barreira da pele, proporcionada principalmente pela estrutura altamente organizada do estrato córneo, propomos a encapsulação do composto ativo em um sistema nanoestruturado que permita a entrega eficiente e aumento da biodisponibilidade cutânea do composto ativo.

2.0 CONCLUSÕES

As formulações foram desenvolvidas com êxito e capazes de incorporar o fármaco até 1%, mantendo a concentração estável por 8 horas, com exceção de A-20.

Apenas a formulação A-20 aumentou a perda de água transepidermica quando comparada ao controle, indicando que somente esta formulação foi capaz de alterar a função barreira do estrato córneo. Mesmo alterando a função barreira, as formulações do grupo A não foram capazes de aumentar a penetração do pró-fármaco. As formulações do grupo B apresentaram maior eficiência na entrega e retenção do fármaco nas camadas viáveis da pele.

As formulações do grupo A demonstraram potencial irritativo, apresentando rubor, descamação e acantose na pele dorsal do camundongo. Animais tratados com B-20 não apresentaram rubor e descamação, apenas pequeno grau de acantose.

O dexta-TBZ tem baixa solubilidade em meio aquoso e sofre hidrólise quando incorporado na solução de fase oleosa e tensoativo, sugerindo que, para manter a estabilidade da molécula, é necessário a apresentação na forma de pó liofilizado para ser incorporado na formulação apenas no momento da administração.

Os pró-fármacos dexta-TBZ e dexta-ADT apresentaram um maior efeito sistêmico quando comparados à dexametasona, indicando uma maior absorção percutânea (ou transdérmica).

Os pró-fármacos dexta-TBZ e dexta-ADT são eficazes na redução dos parâmetros inflamatórios nos camundongos com psoríase induzida por imiquimode, mas os efeitos demonstrados são similares à dexametasona, não promovendo potencialização dos efeitos anti-inflamatórios.

REFERÊNCIAS ¹

ALLAM, Ahmed N. et al. Preparation, characterization and in vivo evaluation of curcumin self-nano phospholipid dispersion as an approach to enhance oral bioavailability. **International journal of pharmaceutics**, v. 489, n. 1, p. 117-123, 2015.

ALSHORAF, Ammar KH et al. Psoriasis is associated with low serum levels of hydrogen sulfide, a potential anti-inflammatory molecule. **The Tohoku journal of experimental medicine**, v. 228, n. 4, p. 325-332, 2012.

AZULAY, David Rubem; AZULAY, David Rubens; AZULAY-ABULAFIA, Luna. **Dermatologia**. 6. ed., rev. e atual. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

BARNES, Howard A.; HUTTON, John Fletcher; WALTERS, Kenneth. **An introduction to rheology**. Elsevier, 1989.

BENSON, Heather AE. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. **Current drug delivery**, v. 2, n. 1, p. 23-33, 2005.

BERNARDI, Daniela S. et al. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments. **Journal of nanobiotechnology**, v. 9, n. 1, p. 44, 2011.

BEYER, Vivianne; WOLVERTON, Stephen E. Recent trends in systemic psoriasis treatment costs. **Archives of dermatology**, v. 146, n. 1, p. 46-54, 2010.

BOEHNCKE, Wolf-Henning. Etiology and pathogenesis of psoriasis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 41, n. 4, p. 665-675, 2015.

BOUCHEMAL, Kawthar et al. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. **International journal of pharmaceutics**, v. 280, n. 1-2, p. 241-251, 2004.

BONACUCINA, Giulia et al. Characterization of ternary phase diagrams by means of thermal and rheological analyses. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 39, n. 10, p. 1547-1554, 2013.

CARVALHO, Flávia Chiva et al. Mucoadhesive drug delivery systems. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 1, p. 1-17, 2010.

CARVALHO, Flávia Chiva et al. Rheological, mechanical, and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 11, p. 1750-1757, 2013.

1 - De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração: Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

CARVALHO, Vanessa F. et al. Potential of non-aqueous microemulsions to improve the delivery of lipophilic drugs to the skin. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, p. 1-11, 2016.

CASTELA, E. et al. Topical corticosteroids in plaque psoriasis: a systematic review of risk of adrenal axis suppression and skin atrophy. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, n. s3, p. 47-51, 2012.

CASTELA, E. et al. Topical corticosteroids in plaque psoriasis: a systematic review of efficacy and treatment modalities. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, p. 36-46, 2012b.

CEVC, Gregor; BLUME, Gabriele. Hydrocortisone and dexamethasone in very deformable drug carriers have increased biological potency, prolonged effect, and reduced therapeutic dosage. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1663, n. 1, p. 61-73, 2004.

CHORILLI, Marlus et al. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Rev bras farm**, v. 88, n. 1, p. 7-13, 2007.

CHORILLI, Marlus et al. Ensaio biológicos para avaliação de segurança de produtos cosméticos. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, p. 19-30, 2009.

CICHEWICZ, Allie et al. Cutaneous delivery of α -tocopherol and lipoic acid using microemulsions: influence of composition and charge. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 65, n. 6, p. 817-826, 2013.

COAVOY-SÁNCHEZ, S. A. et al. Hydrogen sulfide donors alleviate itch secondary to the activation of type-2 protease activated receptors (PAR-2) in mice. **Pharmacological research**, v. 113, p. 686-694, 2016.

CUNHA, Thiago M. et al. Dual role of hydrogen sulfide in mechanical inflammatory hypernociception. **European journal of pharmacology**, v. 590, n. 1, p. 127-135, 2008.

DAMASCENO, B. P. G. L. et al. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, p. 9-18, 2011.

DANBY, Simon G. et al. Effect of olive and sunflower seed oil on the adult skin barrier: implications for neonatal skin care. **Pediatric dermatology**, v. 30, n. 1, p. 42-50, 2013.

DE MATTOS, Cristiane Bastos et al. Nanoemulsions containing a synthetic chalcone as an alternative for treating cutaneous leishmaniasis: optimization using a full factorial design. **International journal of nanomedicine**, v. 10, p. 5529, 2015.

DEVAUX, S. et al. Topical vitamin D analogues alone or in association with topical steroids for psoriasis: a systematic review. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 26, n. s3, p. 52-60, 2012.

DONG, Yao-Da et al. Understanding the interfacial properties of nanostructured liquid crystalline materials for surface-specific delivery applications. **Langmuir**, v. 28, n. 37, p. 13485-13495, 2012.

DOS SANTOS, Orlando David Henrique; DA ROCHA-FILHO, Pedro Alves. Influence of surfactant on the thermal behavior of marigold oil emulsions with liquid crystal phases. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 33, n. 5, p. 543-549, 2007.

DRUMMOND, Calum J.; FONG, Celesta. Surfactant self-assembly objects as novel drug delivery vehicles. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 4, n. 6, p. 449-456, 1999.

DUMORTIER, Gilles et al. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. **Pharmaceutical research**, v. 23, n. 12, p. 2709-2728, 2006.

EKUNDI-VALENTIM, E. et al. Differing effects of exogenous and endogenous hydrogen sulphide in carrageenan-induced knee joint synovitis in the rat. **British journal of pharmacology**, v. 159, n. 7, p. 1463-1474, 2010.

EKUNDI-VALENTIM, Eduardo et al. A comparative study on the anti-inflammatory effects of single oral doses of naproxen and its hydrogen sulfide (H₂S)-releasing derivative ATB-346 in rats with carrageenan-induced synovitis. **Medical gas research**, v. 3, n. 1, p. 24, 2013.

ELIAS, Peter M. Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 80, 1983.

ESPAÑOL MARIÑO, Laura Victoria. **Aplicação da eletroforese capilar e cromatografia líquida de alta eficiência para a quantificação da dexametasona e diclofenaco em nanosuspensão**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2015.

EZRAHI, Shmaryahu; ASERIN, Abraham; GARTI, Nissim. Aggregation behavior in one-phase (Winsor IV) microemulsion systems. **Handbook of microemulsion science and technology**. New York: Informa Inc, p. 185-246, 1999.

FONSECA-SANTOS, Bruno et al. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 4553, 2016.

FORMARIZ, Thalita Pedroni et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, 2005.

FLORENCE, Alexander Taylor; ATTWOOD, David; ROTHSCHILD, Zuleika. **Princípios Físico-Químicos em Farmácia**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2011.

FLUTTER, Barry; NESTLE, Frank O. TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. **European journal of immunology**, v. 43, n. 12, p. 3138-3146, 2013.

GABBANELLI, Susana; DRAZER, German; KOPLIK, Joel. Lattice Boltzmann method for non-Newtonian (power-law) fluids. **Physical review E**, v. 72, n. 4, p. 046312, 2005.

GILLERON, L. et al. Evaluation of the HET-CAM-TSA method as an alternative to the Draize eye irritation test. **Toxicology in vitro**, v. 11, n. 5, p. 641-644, 1997.

HATHOUT, Rania M. et al. Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosterone. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 188-196, 2010.

HERWADKAR, Anushree et al. Low frequency sonophoresis mediated transdermal and intradermal delivery of ketoprofen. **International journal of pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 289-296, 2012.

HON, K. L. et al. Patient acceptability, efficacy, and skin biophysiology of a cream and cleanser containing lipid complex with shea butter extract versus a ceramide product for eczema. **Hong Kong Med J**, v. 21, n. 5, p. 417-25, 2015.

HOSMER, Jaclyn M.; STEINER, Alexandre A.; LOPES, Luciana B. Lamellar liquid crystalline phases for cutaneous delivery of paclitaxel: impact of the monoglyceride. **Pharmaceutical research**, v. 30, n. 3, p. 694-706, 2013.

IKOKU, Chi U.; RAMEY, Henry J. **Transient flow of non-Newtonian power-law fluids in porous media**. Dept. of Energy, 1978.

JAFARI, Seid Mahdi et al. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. **Food hydrocolloids**, v. 22, n. 7, p. 1191-1202, 2008.

KIM, Whan B.; JEROME, Dana; YEUNG, Jensen. Diagnosis and management of psoriasis. **Canadian Family Physician**, v. 63, n. 4, p. 278-285, 2017.

KIRCIK, Leon H.; ZOGRAFOS, Panagiotis. The Power of Combination Topical Therapy for Psoriasis. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 14, n. 10, p. 1113-1116, 2015.

KONG, Ming; PARK, Hyun Jin. Stability investigation of hyaluronic acid based nanoemulsion and its potential as transdermal carrier. **Carbohydrate polymers**, v. 83, n. 3, p. 1303-1310, 2011.

KRAVVAS, Georgios; GHOLAM, Karolina. Use of topical therapies for pediatric psoriasis: a systematic review. **Pediatric dermatology**, v. 35, n. 3, p. 296-302, 2018.

KREILGAARD, Mads. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. S77-S98, 2002.

KRUEGER, J. G.; BOWCOCK, A. Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 64, n. suppl 2, p. ii30-ii36, 2005.

KUDLA, Petra et al. Phase behavior of liquid–crystalline emulsion systems. **Journal of colloid and interface science**, v. 349, n. 2, p. 554-559, 2010.

LAMBA, S.; LEBWOHL, M. Combination therapy with vitamin D analogues. **British Journal of Dermatology**, v. 144, n. s58, p. 27-32, 2001.

LAWRENCE, M. Jayne; REES, Gareth D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 175-193, 2012.

LEHR, Claus-Michael. Lectin-mediated drug delivery:: The second generation of bioadhesives. **Journal of Controlled Release**, v. 65, n. 1-2, p. 19-29, 2000.

LI, Ling; ROSE, Peter; MOORE, Philip K. Hydrogen sulfide and cell signaling. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 51, p. 169-187, 2011.

LIN, Tzu-Kai; ZHONG, Lily; SANTIAGO, Juan Luis. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 1, p. 70, 2017.

LIU, Weirong et al. Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. **Journal of colloid and interface science**, v. 303, n. 2, p. 557-563, 2006.

LOPES, Luciana B. et al. Liquid crystalline phases of monoolein and water for topical delivery of cyclosporin A: characterization and study of in vitro and in vivo delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 63, n. 2, p. 146-155, 2006.

LOPES, Luciana B.; COLLETT, John H.; BENTLEY, M. Vitória LB. Topical delivery of cyclosporin A: an in vitro study using monoolein as a penetration enhancer. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 60, n. 1, p. 25-30, 2005.

LOPES, Luciana B.; MURPHY, Neal; NORNOO, Adwoa. Enhancement of transdermal delivery of progesterone using medium-chain mono and diglycerides as skin penetration enhancers. **Pharmaceutical development and technology**, v. 14, n. 5, p. 524-529, 2009.

LOPES, Luciana B. et al. Topical delivery of lycopene using microemulsions: enhanced skin penetration and tissue antioxidant activity. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 3, p. 1346-1357, 2010.

LOWICKA, Ewelina; BEŁTOWSKI, Jerzy. Hydrogen sulfide (H₂S)-the third gas of interest for pharmacologists. **Pharmacological reports: PR**, v. 59, n. 1, p. 4-24, 2006.

MASON, Anne R. et al. Topical treatments for chronic plaque psoriasis. **Cochrane database of systematic reviews.**, n. 3, 2013.

MATHIOWITZ, Edith; CHICKERING III, Donald E.; LEHR, Claus-Michael. **Bioadhesive drug delivery systems: fundamentals, novel approaches, and development**. CRC Press, 1999.

MCCLEMENTS, David Julian. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.

MROWIETZ, Ulrich et al. Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. **Archives of dermatological research**, v. 303, n. 1, p. 1-10, 2011.

MÜLLER-GOYMANN, C. C. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 343-356, 2004.

NAGATO, Akinori C. et al. Time course of inflammation, oxidative stress and tissue damage induced by hyperoxia in mouse lungs. **International journal of experimental pathology**, v. 93, n. 4, p. 269-278, 2012.

Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Mechanisms of disease Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009;(361):496-509.

OGISO, Taro; IWAKI, Masahiro; PAKU, Tsuyoshi. Effect of various enhancers on transdermal penetration of indomethacin and urea, and relationship between penetration parameters and enhancement factors. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 84, n. 4, p. 482-488, 1995.

OH, Myoung Jin et al. Novel phytoceramides containing fatty acids of diverse chain lengths are better than a single C18-ceramide N-stearoyl phytosphingosine to improve the physiological properties of human stratum corneum. **Clinical, cosmetic and investigational dermatology**, v. 10, p. 363, 2017.

PAL, Rajinder. Effect of droplet size on the rheology of emulsions. **AIChE Journal**, v. 42, n. 11, p. 3181-3190, 1996.

PARISI, Rosa et al. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 2, p. 377-385, 2013.

PEPE, Dominique et al. Decylglucoside-based microemulsions for cutaneous localization of lycopene and ascorbic acid. **International journal of pharmaceutics**, v. 434, n. 1, p. 420-428, 2012.

PEPE, Dominique et al. Protein transduction domain-containing microemulsions as cutaneous delivery systems for an anticancer agent. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 102, n. 5, p. 1476-1487, 2013.

PORRAS, M. et al. Studies of formation of W/O nano-emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 249, n. 1-3, p. 115-118, 2004.

PROKSCH, Ehrhardt; BRANDNER, Johanna M.; JENSEN, Jens-Michael. The skin: an indispensable barrier. **Experimental dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1063-1072, 2008.

PINNAGODA, Jaliya et al. Prediction of susceptibility to an irritant response by transepidermal water loss. **Contact Dermatitis**, v. 20, n. 5, p. 341-346, 1989.

PINNAGODA, J. et al. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. **Contact dermatitis**, v. 22, n. 3, p. 164-178, 1990.

RAPP, Stephen R. et al. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 41, n. 3, p. 401-407, 1999.

RODRIGUES, L et al. The slow-releasing hydrogen sulphide donor, GYY4137, exhibits novel anti-skin symptoms of psoriasis and related itch. Nitric Oxide, Volume 47, Supplement, 1 May 2015, Page S35, ISSN 1089-8603. 3rd European Conference on the Biology of Hydrogen Sulfide, 2015, Athens. Greece. 3rd-6th May 2015.

RODRIGUES, L. et al. Protective effects of exogenous and endogenous hydrogen sulfide in mast cell-mediated pruritus and cutaneous acute inflammation in mice. **Pharmacological Research**, v. 115, p. 255-266, 2017.

SBD – Sociedade Brasileira de Dermatologia. Consenso Brasileiro de Psoríase 2012.

SCHMIDT, Tuanny Priscila. **Avaliação farmacológica de uma nanodispersão contendo GYY4137 (doador de liberação lenta de H₂S) na psoríase experimental**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 2015.

SCHON, Michael P.; BOEHNCKE, Wolf-Henning. **Psoriasis**. N Engl J Med 2005;352:1899–912.

SCHWARZ, Joseph S.; WEISSPAPIR, Michael R.; FRIEDMAN, Doron I. Enhanced transdermal delivery of diazepam by submicron emulsion (SME) creams. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 5, p. 687-692, 1995.

SHAH, Ankita et al. Effect of different polysorbates on development of self-microemulsifying drug delivery systems using medium chain lipids. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 44, n. 2, p. 215-223, 2018.

SHAI, Avi; BARAN, Robert; MAIBACH, Howard I. **Handbook of cosmetic skin care**. Informa UK Ltd., Second Edition, p. 34-40, 2009.

SILVA, José Alexandre da et al. Administração cutânea de fármacos: desafios e estratégias para o desenvolvimento de formulações transdérmicas. **J Basic App Pharm Sci**, v. 31, p. 125-131, 2010.

SIMOES, S. I. et al. Permeabilisation and solubilisation of soybean phosphatidylcholine bilayer vesicles, as membrane models, by polysorbate, Polissorbato 80. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 26, n. 3, p. 307-317, 2005.

SKOLOVÁ, Barbora et al. Phytosphingosine, sphingosine and dihydrosphingosine ceramides in model skin lipid membranes: permeability and biophysics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1859, n. 5, p. 824-834, 2017.

SMYTH, Hugh DC; BECKET, Gordon; MEHTA, Samir. Effect of permeation enhancer pretreatment on the iontophoresis of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) through human epidermal membrane (HEM). **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 91, n. 5, p. 1296-1307, 2002.

STEWART, Mary Ellen; DOWNING, Donald Talbot. A new 6-hydroxy-4-sphingenine-containing ceramide in human skin. **Journal of lipid research**, v. 40, n. 8, p. 1434-1439, 1999.

SZEPIETOWSKI, J. C.; REICH, A. Pruritus in psoriasis: an update. **European Journal of Pain**, v. 20, n. 1, p. 41-46, 2016.

SUN, Yun et al. Metabolic changes of H₂S in smokers and patients of COPD which might involve in inflammation, oxidative stress and steroid sensitivity. **Scientific reports**, v. 5, 2015.

TANGSO, Kristian J. et al. Formation of Liquid-Crystalline Structures in the Bile Salt–Chitosan System and Triggered Release from Lamellar Phase Bile Salt–Chitosan Capsules. **ACS applied materials & interfaces**, v. 6, n. 15, p. 12363-12371, 2014.

THOMAS, Siji et al. Stability, Cutaneous Delivery, and Antioxidant Potential of a Lipoic Acid and α -Tocopherol Codrug Incorporated in Microemulsions. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 103, n. 8, p. 2530-2538, 2014.

TORSEKAR, R.; GAUTAM, Manjyot M. Topical therapies in psoriasis. **Indian dermatology online journal**, v. 8, n. 4, p. 235, 2017.

VERMA, Nandini et al. Anti-Inflammatory effects of shea butter through inhibition of iNOS, COX-2, and cytokines via the Nf-Kb pathway in LPS-activated J774 macrophage cells. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2012.

WANG, Lijuan et al. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. **Journal of colloid and interface science**, v. 330, n. 2, p. 443-448, 2009.

WANG, Rui. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. **Physiological reviews**, v. 92, n. 2, p. 791-896, 2012.

WHITEMAN, Matthew et al. The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. **Antioxidants & redox signaling**, v. 12, n. 10, p. 1147-1154, 2010.

WILLIMANN, Haus et al. Lecithin organogel as matrix for transdermal transport of drugs. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 81, n. 9, p. 871-874, 1992.

WILLIAMS, Adrian C.; BARRY, Brian W. Penetration enhancers. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 128-137, 2012.

WINDHAB, Erich J. et al. Emulsion processing—from single-drop deformation to design of complex processes and products. **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 8-9, p. 2101-2113, 2005.

YAZICI, Cevat et al. A novel approach in psoriasis: first usage of known protein oxidation markers to prove oxidative stress. **Archives of dermatological research**, v. 308, n. 3, p. 207-212, 2016.