

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento de sistemas de liberação para a administração
tópica passiva e iontoforética do minoxidil no tratamento da
alopecia androgênica**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos

Orientado: Guilherme Martins Gelfuso

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Fonseca
Vianna Lopez

Ribeirão Preto
2009

RESUMO

GELFUSO, G. M. **Desenvolvimento de sistemas de liberação para a administração tópica passiva e iontoforética do minoxidil no tratamento da alopecia androgênica.** 2009. 158f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Diante da hipótese de que micropartículas poliméricas podem atravessar a barreira epidérmica através da rota transfolicular, e baseado na evidência de que a iontoforese é um método que consegue direcionar a liberação de fármacos para os folículos pilosos, este trabalho teve como objetivo estudar *in vitro* a permeação cutânea do minoxidil sulfato (MXS), fármaco utilizado no tratamento da alopecia androgênica, tanto em sua forma microencapsulada como não encapsulada utilizando ou não a iontoforese, na tentativa de aumentar, controlar e direcionar a sua liberação tópica para o folículo piloso. O MXS foi primeiramente incorporado em um gel hidrofílico contendo 2,0% (m/m) do ativo e sua permeação e retenção cutânea *in vitro* verificada com e sem a presença de corrente elétrica durante 6 h, utilizando células de difusão e pele de orelha de porco. A quantidade de MXS retida no EC da pele foi determinada e diferenciada daquela retida nos folículos pilosos utilizando-se a técnica denominada *tape stripping* diferencial. Foi observado que o fluxo passivo de fármaco através da pele aumentou 150 vezes com aplicação de iontoforese anódica e que o aumento do pH da formulação de 3,5 para 5,5 restringiu 3 vezes essa permeação iontoforética e aumentou a retenção do MXS no EC e folículos pilosos. Estes resultados mostram que a iontoforese do MXS nestas condições é capaz de promover a liberação folicular do fármaco de maneira bastante significativa. Uma série de micropartículas de quitosana contendo MXS foi obtida por *spray drying* modificando quantidades e proporções de polímero e fármaco. O sistema selecionado para estudo foi obtido a partir de 1,50 g de polímero e 0,75 g de MXS, e apresentou alta eficiência de encapsulação (~82%), diâmetro médio igual a 3,05 μm , morfologia esférica e sem porosidades, e potencial zeta igual a + 5,87 mV. Quando incorporadas a uma formulação hidroalcoólica, essas micropartículas sofreram intumescimento, aumentando 1,5 vezes o seu diâmetro médio, mas não tiveram sua morfologia esférica alterada. Experimentos de liberação *in vitro* mostraram que as micropartículas obtidas foram capazes de sustentar 3,5 vezes a liberação do MXS. As micropartículas ainda restringiram a permeação passiva do fármaco, reduzindo 2 vezes seu fluxo de permeação e aumentando em 5 vezes a retenção de fármaco na região folicular, apesar das partículas em si não penetrarem a pele após administração passiva. Assim, este sistema foi capaz de promover uma liberação mais sustentada do fármaco, o que deve reduzir o número de aplicações do produto pelo paciente ao longo do dia, e garantiu a entrada de grandes quantidades do fármaco nos folículos pilosos, seu alvo de ação. A iontoforese dessas micropartículas, apesar de também não fazê-las penetrar a pele, conseguiu direcioná-las mais rapidamente para as aberturas foliculares, como mostrou os estudos de microscopia confocal de varredura a *laser* das micropartículas marcadas. Adicionalmente, a iontoforese aumentou 6 vezes a quantidade de MXS retida nos folículos já nas primeiras 3 h de aplicação, garantindo assim que grandes quantidades do fármaco atingissem seu local de ação mais rapidamente que quando as partículas foram aplicadas passivamente sobre a pele.

Palavras-chave: Iontoforeses. Micropartículas. Minoxidil. Alopecia Androgênica. Penetração folicular.

1 Introdução

1.1 Alopecia androgênica

Alopecia é o nome dado à queda de cabelos e/ou pêlos de determinadas áreas ou de todo o corpo. Os tipos mais comuns de alopecia são: alopecia androgênica, alopecia quimioterápica e alopecia areata. A alopecia areata é uma perda capilar que geralmente ocorre em placas no couro cabeludo e, em alguns casos, pode progredir para calvície total na cabeça (alopecia total), ou perda total de pêlos no corpo (alopecia universal); as causas da alopecia areata podem incluir doenças auto-imunes, hereditariedade, exposição a produtos químicos e mediação pelo sistema nervoso. Já a alopecia quimioterápica é a perda dos cabelos devido à quimioterapia e/ou radioterapia no tratamento do câncer. Este tipo de queda normalmente desaparece com a finalização do tratamento.

A alopecia androgênica, também conhecida como alopecia hereditária ou calvície masculina, é o tipo mais freqüente de perda de cabelos em humanos (BIENOVÁ et al., 2005). Embora este tipo de alopecia seja mais conhecido no sexo masculino - acomete aproximadamente 50% dos homens adultos maiores de 40 anos (SHAPIRO, 2003) - ela pode ocorrer também em mulheres causando uma perda difusa do cabelo deixando-os mais ralos e podendo expor o couro cabeludo. A alopecia androgênica inicia-se com o afinamento dos cabelos nas têmporas e pode aumentar com o passar do tempo.

Embora se tenha descoberto muito sobre esta condição nos últimos anos, seu mecanismo patofisiológico ainda não está totalmente estabelecido. A maioria dos estudos sobre a alopecia está focada nos efeitos androgênicos sobre as unidades pilossebáceas isoladas (HERNANDEZ, 2004). Desta forma, considera-se que a queda de cabelos está relacionada com o ciclo capilar individual, o qual faz com que o folículo piloso seja constantemente renovado, passando por estágios de proliferação (anagênese), involução (catagênese), e inatividade (telogênese) (Figura 1) (TRUEB, 2002; MAGERL et al., 2004). Há variações consideráveis na duração desses estágios, dependendo da localização no corpo, sendo que a duração da anagênese determina o tipo de cabelo produzido e seu tempo de vida (PAUS; COTSARELIS, 1999). Na maior parte do corpo humano a anagênese dura em torno

de meses, enquanto no couro cabeludo leva de 3 a 8 anos (MEIDAN et al, 2005). A duração da fase anagênica depende, por sua vez, da presença da testosterona e da enzima 5- α -redutase, a qual converte biologicamente este hormônio em dihidrotestosterona (DHT), seu metabólito mais ativo. A DHT liga-se a receptores androgênicos localizados nas células do bulbo do folículo piloso o que desencadeia processos celulares que reduzem a fase anagênica do ciclo capilar. Estudos de fios de cabelos arrancados de couros cabeludos calvos e não-calvos demonstram que, com a alopecia androgênica, os níveis de 5- α -redutase e DHT no couro cabeludo estão bastante elevados. Por esta razão, nas pessoas que sofrem deste tipo de calvície, os cabelos passam mais precocemente para a fase telogênica e caem (BIENOVÁ et al., 2005).

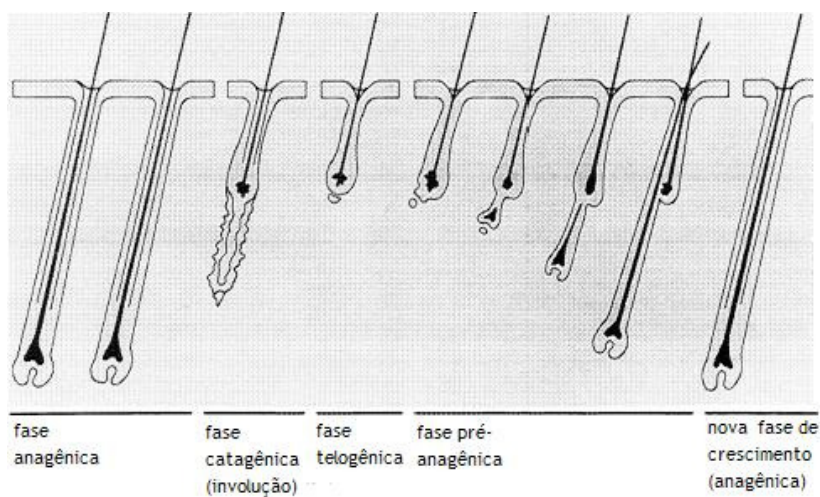


Figura 1. Ciclo de crescimento do folículo piloso (adaptado de LAUER et al., 1995).

Estudos recentes, no entanto, apontam uma nova possibilidade para a patofisiologia da alopecia, na qual os hormônios androgênicos induzem a calvície através de efeitos indiretos, isto é, efeitos em outros tecidos que não as unidades pilossebáceas isoladas. A alopecia androgênica seria mediada via efeito dos hormônios androgênicos no sistema vascular que irriga o couro cabeludo. Segundo esta hipótese, o efeito androgênico gera mudanças anatômicas no sistema vascular capilar de indivíduos suscetíveis, resultando em um ambiente no qual o crescimento capilar é bastante diminuído e eventualmente cessa (HERNANDEZ, 2004).

Embora a perda de cabelos normalmente não afete negativamente a saúde física, ela traz consigo o estigma de estar associada a doenças, velhice prematura e

perda de vitalidade (SHAPIRO, 2003). Cash (1999) analisou criticamente evidências científicas a respeito da alopecia androgênica nos processos psico-sociais e confirmou que este tipo de patologia gera um efeito negativo e muito visível nas percepções sociais; e, mais importante, a calvície androgênica é normalmente considerada uma condição de estresse moderada que diminui a satisfação com a imagem do corpo, gerando efeitos deletérios na auto-estima e até alguns traumas psicológicos, principalmente entre as mulheres.

Várias opções de tratamentos têm sido utilizadas nos últimos 20 anos para a alopecia androgênica. Uma das terapias mais empregadas e estudadas é a aplicação de soluções tópicas contendo o fármaco minoxidil (SHAPIRO, 2003; HAN et al., 2004).

1.2 Minoxidil

O minoxidil é um derivado de pirimidina (2,4-diamino-6-piperidino-pirimidina-3-óxido) (Figura 2), que foi sintetizado em 1963, pelos Laboratórios Upjohn-Michigan e foi introduzido na terapêutica em meados de 1970 como anti-hipertensivo na forma de comprimidos orais (PRADEEP et al., 1975; HAN et al., 2004). Foi observado na época que um efeito colateral comum desse tipo de tratamento era a hipertricose auricular, ou seja, o crescimento de pêlos nas orelhas, assim como o reaparecimento de cabelos em pessoas calvas (VOORHEES, 1987; RUSHTON et al., 1989; KUDLACEK et al., 1995; MESSENGER; RUNDEGREN, 2004). Este fato levou ao desenvolvimento de formulações tópicas de minoxidil para o tratamento de alopecia androgênica em homens e posteriormente, em mulheres. Em 1985, foi estabelecido que 2% é a menor concentração de minoxidil em solução tópica capaz de trazer os efeitos terapêuticos desejados sem afetar a pressão sanguínea dos pacientes, e o primeiro medicamento de uso tópico contendo este fármaco foi liberado para o tratamento de alopecia em 1987 (VOORHEES, 1987). A partir de 1993, essa dosagem foi aumentada para 5% (MESSENGER; RUNDEGREN, 2004; BIENOVÁ et al., 2005). No mercado nacional e internacional, o minoxidil é comercializado na forma de soluções tópicas com o nome fantasia de Regaine® (Pharmacia & Upjohn Co., Kalamazoo, EUA) nas concentrações de 2% e 5%.

Inicialmente, acreditava-se que a aplicação tópica do minoxidil somente estimulava o crescimento capilar devido a uma ação indireta do fármaco, isto é,

induzindo vasodilatação na área, aumentando o fluxo sanguíneo na papila dérmica ou criando uma irrigação local (KURBEL et al., 1999; HAN et al., 2004). No entanto, Buhl et al. (1990), descrevendo os efeitos do minoxidil em cultura de folículos pilosos de rato, sugeriram que a ação do minoxidil *in vivo* também envolve um efeito direto no folículo via receptores. Atualmente, sabe-se que o crescimento capilar pode ser estimulado de várias formas por este fármaco: o minoxidil pode aumentar a taxa de crescimento capilar linearmente, aumentar o diâmetro da fibra capilar, alterar o ciclo capilar diminuindo a fase telogênica e/ou prolongando a fase anagênica, ou agir através da combinação desses efeitos (MESSENGER; RUNDEGREN, 2004).

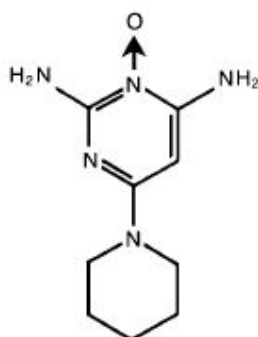


Figura 2. Estrutura química do minoxidil.

A forma sulfatada do minoxidil, o minoxidil sulfato (MXS, Figura 3), vem sendo recentemente utilizado para o tratamento tópico da calvície pois além de mais hidrossolúvel que o minoxidil base, o que facilita bastante sua manipulação farmacotécnica, é o sulfoconjugado ativo do minoxidil, sendo o principal responsável pelos efeitos farmacológicos deste fármaco na pele. No folículo, as moléculas de minoxidil são metabolizadas em MXS pela atividade de uma fenossulfotransferase, a qual está presente em maior quantidade no folículo piloso do que na epiderme e derme (BUHL et al., 1990; KUDLACEK et al., 1995).

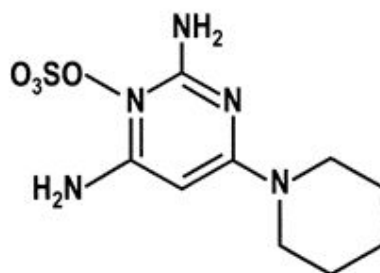


Figura 3. Estrutura química do minoxidil sulfato (MXS).

1.3 Estrutura da pele e as unidades pilosebáceas

A pele é o maior órgão do corpo humano, contabilizando mais ou menos 15% da massa corpórea total em adultos. Ela exerce inúmeras funções vitais, como metabólicas, imunológicas, táteis, termorreguladoras e de proteção contra agressões ambientais. Isto faz-se possível graças a uma estrutura bem elaborada, associando vários tecidos de origem ectodérmica e mesodérmica, arranjadas em três camadas, incluindo (da superfície para o interior) a epiderme e seus apêndices, a derme e a hipoderme (Figura 4) (CHIEN, 1992; BOUWSTRA et al., 2003; KANITAKIS, 2002; PROST-SQUARCIONI, 2006; WY SOCKI, 1999).

A proteção da pele é primariamente conferida pelo estrato córneo (EC). Esta camada superficial da epiderme, com somente 10 a 15 μm de espessura, é a primeira barreira à absorção percutânea de substâncias, assim como contra a perda de água pelo organismo. Abaixo do EC está a epiderme viável (50 - 100 μm de espessura), que é responsável pela geração do EC (BOUWSTRA et al., 2003).

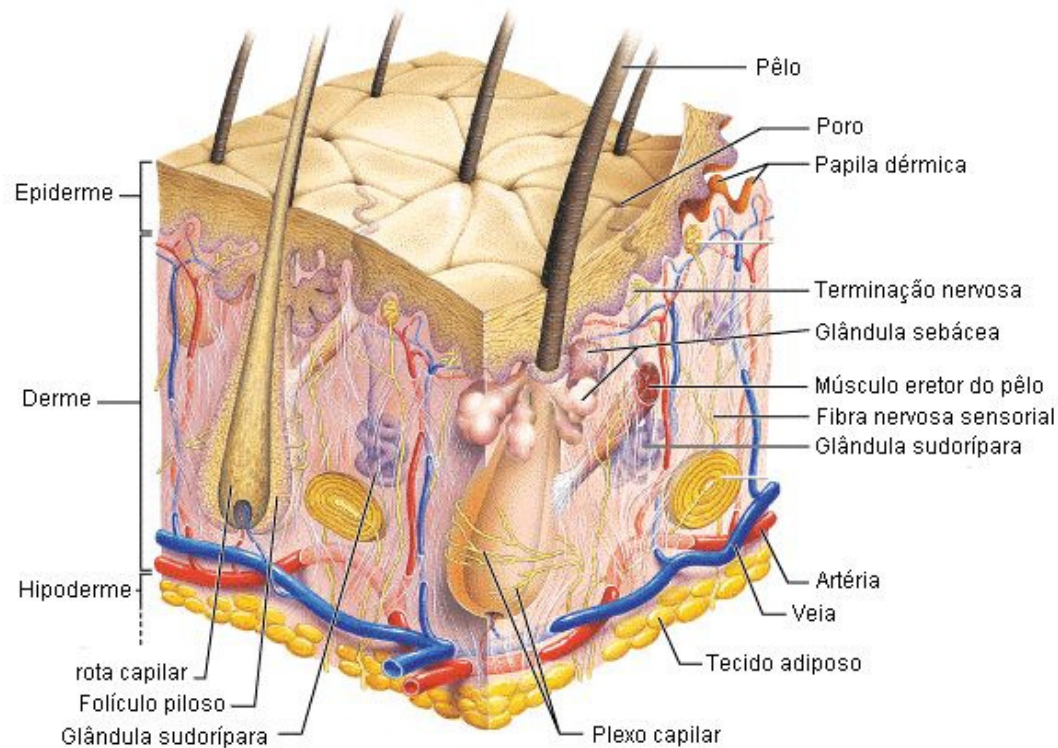


Figura 4. Camadas da pele: epiderme, derme e hipoderme (adaptado de <http://www.bioaula.loja.ghi.com.br>).

A epiderme viável é um epitélio estratificado composto principalmente pelas camadas basal, espinhosa e granular (Figura 5). Cada camada é definida pela posição, forma, morfologia e estado de diferenciação dos queratinócitos (nome dado às células da epiderme viável). A epiderme é um tecido dinâmico que constantemente se auto-regenera, onde a perda de células da superfície do EC (descamação) é balanceada pelo crescimento celular em suas camadas mais profundas (multiplicação) (BOUWSTRA et al., 2003; HOATH; LEAHY, 2003; PROST-SQUARCIONI, 2006). Na camada basal, os queratinócitos iniciam sua diferenciação e, durante a migração em direção aos estratos espinhoso e granuloso, passam por uma série de mudanças estruturais e de composição. Os queratinócitos sintetizam e expressam diferentes proteínas e lipídios estruturais durante sua maturação. As últimas seqüências de diferenciação dos queratinócitos estão associadas a mudanças profundas em sua estrutura, transformando-os nas escamas cornificadas física e quimicamente resistentes do EC, os corneócitos.

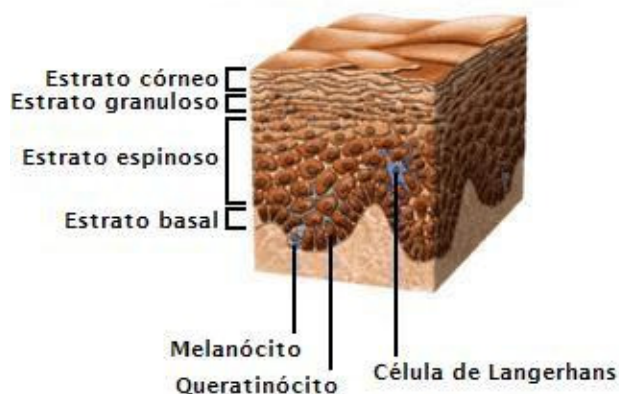


Figura 5. Camadas da epiderme: estrato córneo (EC), estrato granuloso, estrato espinoso e estrato basal (adaptado de <http://www.bioaula.loja.ghi.com.br>).

Os corneócitos são células anucleadas e escamosas compostas principalmente por filamentos de queratina. São circundados intercelularmente por uma matriz de lipídios apolares e interconectados entre si por estruturas protéicas conhecidas como desmossomos (BOUWSTRA et al., 2003; HOATH; LEAHY, 2003). A matriz lipídica que circunda o EC é constituída principalmente por ceramidas (18%), ácidos graxos livres (19%), esteróis (14%) e triacilgliceróis (25%). Em um EC normal, as células possuem cerca de 20% de água, enquanto que no estrato germinativo fisiologicamente ativo possui cerca de 70%. O EC requer no mínimo 10% de umidade para que sua flexibilidade seja mantida, e a camada de lipídios intercelulares é a responsável direta por evitar a perda de água transcutânea.

Além dos queratinócitos e corneócitos, há também na epiderme outros tipos celulares (células dendrídicas), como células de Merkel, melanócitos e células de Langerhans (HOATH; LEAHY, 2003). Numa histologia padrão, os melanócitos, que produzem melanina (pigmento fotoprotetor que confere cor à pele), e células de Langerhans, as células de defesa primária, aparecem entre as camadas basal e supra basal da epiderme. As células de Merkel não podem ser identificadas claramente (PROST-SQUARCIONI, 2006).

A derme (1 - 2 mm de espessura) é diretamente adjacente à epiderme e confere à pele suporte mecânico e elasticidade (BOUWSTRA et al., 2003). Ela é formada por fibras colágenas e elásticas embebidas em uma substância amorfa. Os fibroblastos, macrófagos, mastócitos e linfócitos são suas células residentes (PROST-SQUARCIONI, 2006). A camada superior da derme é formada por papilas

que se projetam em direção à epiderme. Elas contêm vasos sanguíneos, linfáticos e terminações nervosas. A partir da derme emergem os apêndices cutâneos como folículos pilosos e glândulas sebáceas (unidade pilossebácea), além das glândulas sudoríparas (CHIEN, 1992).

Unidade pilossebácea (Figura 6) é o termo usado para descrever a estrutura integrada do folículo piloso, pêlo, músculo eretor do pelo e glândulas sebáceas, as quais estão todas interligadas. Cada folículo piloso pode estar associado a uma ou mais glândulas sebáceas (MEIDAN et al., 2005).

O folículo piloso é uma invaginação da epiderme, que se apresenta com uma dilatação terminal: o bulbo piloso, cujas células regulam o crescimento capilar durante a fase anagênica, quando o pêlo está na fase de crescimento (anagênese). Quando o pêlo está na fase de repouso (catagênese), o bulbo piloso não é mais observado. No centro do bulbo piloso está a papila dérmica. As células que recobrem a papila formam a raiz do pêlo, de onde emerge seu eixo (RAMACHANDRAN; FLEISHER, 2000; MEIDAN et al., 2005).

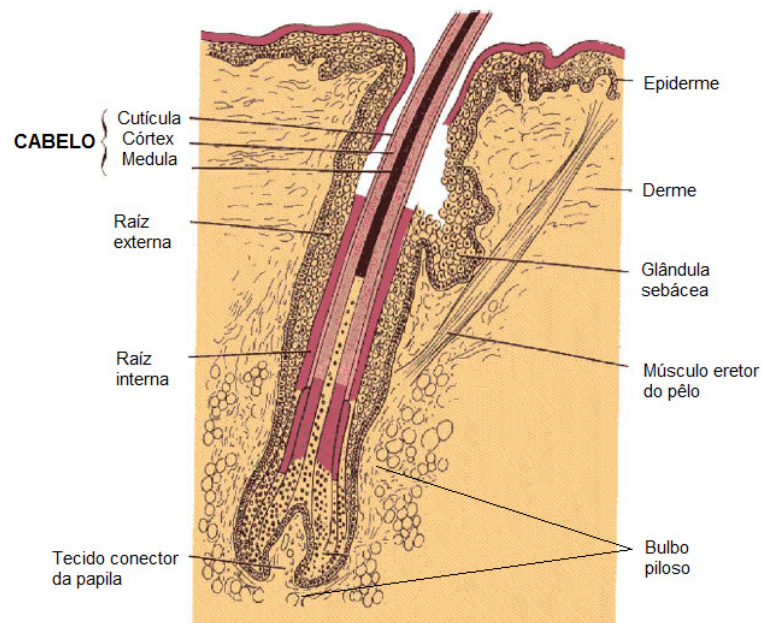


Figura 6. Estrutura anatômica de uma unidade pilossebácea (adaptado de MEIDAN et al., 2005).

Na derme há feixes de músculos lisos dispostos obliquamente que se inserem de um lado na raiz externa do folículo e do outro na camada papilar que há entre a epiderme e a derme. A contração desses músculos provoca o eriçamento do pêlo, por isso eles são chamados músculos eretores do pêlo. A presença de melanócitos

dá a cor ao pêlo. Eles estão dispostos entre a papila e o epitélio da raiz do pêlo e fornecem melanina às células da raiz e córtex. A partir dessa descrição, é possível depreender-se que toda a estrutura do pêlo origina-se a partir do folículo piloso, que também está relacionado ao seu suprimento sangüíneo, nervoso e muscular.

As variações observadas quanto à quantidade de pêlos das pessoas não está relacionada ao número individual de folículos pilosos e sim na variação no tipo de pêlos produzidos por homens ou mulheres, ou diferentes tipos étnicos. Os pêlos podem ser do tipo terminal, os quais são mais longos (>2 cm), espessos (>0,03 mm) e pigmentados, ou do tipo *vellus*, que são mais curtos, pouco espessos e não pigmentados. A produção de cada um desses tipos de pêlo é controlada geneticamente por hormônios (MEIDAN et al., 2005).

1.4 Vias de administração epidérmica e transfolicular e seu papel na administração tópica do MXS

A via de administração tópica de fármacos vem despertando cada vez mais o interesse de pesquisadores e das indústrias farmacêuticas devido às diversas vantagens apresentadas por essa via e, no que diz respeito ao MXS para o tratamento da alopecia, é sem dúvidas a via de administração mais adequada, visto que uma absorção sistêmica poderia gerar efeitos colaterais indesejáveis, incluindo eventos cardiovasculares (MESSENGER; RUNDEGREN, 2004; BIENOVÁ et al., 2005). Shapiro (2003) já demonstrou que a utilização de soluções tópicas de minoxidil base para o tratamento da alopecia androgênica é segura e efetiva, não havendo a ocorrência de eventos cardiovasculares ou qualquer outro efeito colateral grave.

De maneira geral, a permeação cutânea de fármacos aplicados passivamente sobre a pele inclui a sua difusão através da epiderme intacta. Como já foi mencionado, essa permeação é normalmente limitada pelo EC. Desta forma, podem ser identificadas duas diferentes rotas de permeação através desta barreira intacta, conforme ilustra a Figura 7: a via intercelular, em que a substância se difunde ao redor dos corneócitos passando somente pela matriz lipídica, e a via transcelular em que o fármaco passa diretamente através dos corneócitos e matriz lipídica intercelular (KITSON; THEWALT, 2000; MOSER et al., 2001).

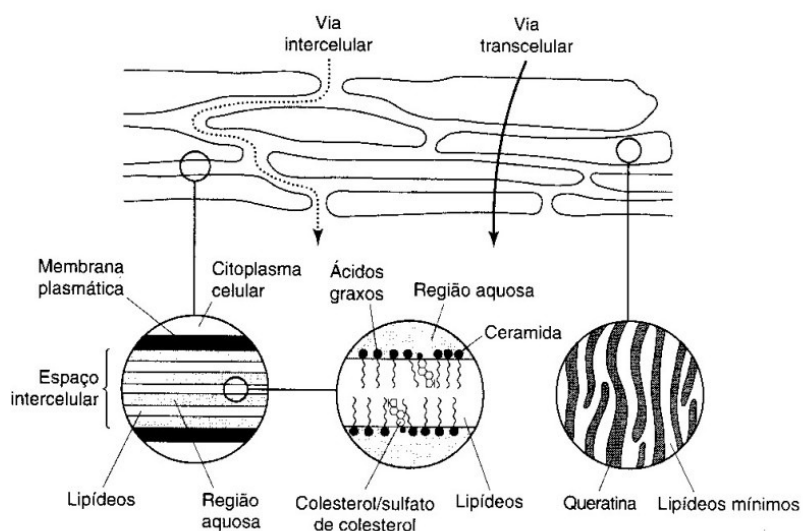


Figura 7. Rotas de permeação de fármacos através do EC: via matriz lipídica, entre os corneócitos (penetração intercelular) e através dos corneócitos e a matriz lipídica (penetração transcelular) (AULTON, 2005).

Uma terceira via de permeação cutânea de fármacos dá-se através dos apêndices cutâneos (folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas), que formam uma rota alternativa através da epiderme.

No passado, a rota de permeação transfolicular era tida por alguns pesquisadores como insignificante, já que os folículos pilosos representam somente cerca de 0,1% da superfície total da pele humana. Os folículos eram vistos por alguns autores como meros poros na superfície cutânea que poderiam atuar apenas de maneira coadjuvante no transporte de substâncias através da pele, fazendo com que o fluxo de fármacos aplicados topicamente atingisse seu estado estacionário um pouco mais rapidamente (SCHEUPLEIN, 1965). Atualmente, entretanto, este paradigma foi modificado e os folículos pilosos já estão sendo considerados elementos bastante importantes na permeação cutânea de substâncias. Em alguns casos, estas estruturas podem atuar como verdadeiros depósitos de fármacos na pele (MEIDAN et al., 2005). Sabe-se ainda que a via transfolicular pode ser a principal via de penetração e permeação cutânea para alguns fármacos, dependendo de suas características físico-químicas, como é o caso, por exemplo, do quimioterápico cisplatina (SIMONETTI et al., 2009). Simonetti et al. (2009), estudando o efeito do promotor de absorção cutâneo monoleína sobre a permeação da cisplatina, verificou que o estrato córneo não era a principal barreira para a

permeação deste quimioterápico e concluiu que seu transporte através pele dava-se preferencialmente através dos folículos pilosos.

O direcionamento da liberação de um fármaco para a via folicular torna-se extremamente interessante quando o fármaco a ser administrado objetiva tratar disfunções relacionadas ao folículo, como é o caso da alopecia e da acne (MEIDAN et al., 2005). Algumas estratégias podem ser utilizadas para este fim. Acredita-se, por exemplo, que a aplicação tópica de sistemas de liberação nano e microparticulados (nano e microemulsões, e nano e micropartículas poliméricas) consiga direcionar a liberação passiva de fármacos para a via transfolicular devido ao tamanho controlado de partículas que se obtém com o desenvolvimento desse tipo de sistema (SHIM et al., 2004; TOLL et al., 2004). O tamanho ótimo para uma partícula penetrar a pele, no entanto, é um assunto ainda muito controverso entre os pesquisadores desta área (SHIN et al., 2004; TOLL et al., 2004). Por outro lado, já está bem estabelecido na literatura que fármacos liberados com a aplicação da iontoforese atravessam a pele transfolicularmente, uma vez que esta via atua como rota de baixa resistência à passagem da corrente elétrica através do tecido cutâneo (BATH et al., 2000; CULLANDER; GUY, 1991; LAUER et al., 1995; MEIDAN et al., 2005). Cullander e Guy (1991), utilizando uma técnica de marcador vibracional, determinaram que há fluxos iônicos sítio-específicos através da pele de camundongos com a aplicação de corrente elétrica. Scott et al. (1992) também identificaram os folículos pilosos como canais iônicos através da pele de camundongos durante a iontoforese.

O direcionamento da liberação do MXS para a via folicular é portanto uma estratégia bastante vantajosa para otimizar a terapia tópica deste fármaco, pois garantiria que quantidades adequadas do composto chegasse ao seu local de ação, aumentando assim a eficácia do tratamento, além de diminuir a ocorrência de efeitos colaterais relacionados à exposição do fármaco a outros locais do organismo. Desta forma, o desenvolvimento de formulações contendo MXS microencapsulado ou não para serem administradas passivamente ou com a aplicação de iontoforese foi objeto de estudo deste trabalho, com o intuito principal de promover e direcionar a liberação do MXS para a via folicular. Além disso, espera-se que os resultados obtidos neste estudo contribua para responder questões relativas à localização de micropartículas aplicadas sobre a pele passivamente ou sobre a influência de uma

corrente elétrica fraca (iontoforese), um assunto ainda pouco explorado até o momento.

1.5 Iontoforese

A iontoforese é um método físico, extensivamente investigado durante o século XX, capaz de promover a permeação cutânea de fármacos. Este método não-invasivo e seguro é capaz de aumentar e controlar a penetração de moléculas e macromoléculas carregadas ou não na pele e através dela (LOPEZ et al., 2003b, 2004) como tem demonstrado vários estudos *in vitro* (LI et al., 2001; LOPEZ et al., 2001, 2003a, 2003b, 2004; SYLVESTRE et al., 2008) e *in vivo* em animais (CURDY et al., 2001; FANG et al., 1999; GELFUSO et al., 2008; PATURI et al., 2009).

Ela se dá através da aplicação de uma corrente elétrica de baixa intensidade, não superior a $0,5 \text{ mA/cm}^2$ (KANIKKANNAN et al., 1999; JADOUL et al., 1999; LOPEZ et al., 2001, 2003a, 2003a, 2004; GELFUSO, 2006; GELFUSO et al., 2008). Durante a iontoforese, a corrente iônica atravessa uma solução eletrolítica e carrega consigo moléculas para dentro da pele.

O interesse pela iontoforese nestes últimos anos está em parte ligado à grande aceitabilidade e sucesso financeiro dos dispositivos transdérmicos passivos como a nicotina, fentanil, nitroglicerina e estradiol; ao impulso tecnológico na indústria de microeletrônicos, que tem permitido a miniaturização de componentes eletrônicos programáveis a custos mais baixos; e à aumentada produção de fármacos peptídicos terapeuticamente ativos a partir da expansão da indústria biotecnológica e avanços na tecnologia do DNA recombinante (WALTERS; HADGRAFT, 1993). Assim como em outras técnicas para permeação tópica e transdérmica de fármacos, a iontoforese também evita o efeito de primeira passagem no fígado e possível degradação do fármaco no estômago (KANEBAKO et al., 2003).

A iontoforese é capaz de promover a liberação do fármaco em maior quantidade e mais rapidamente (em apenas alguns minutos) que os sistemas passivos de liberação tópica e transdérmica (JADOUL et al., 1999; GRATIERI et al., 2008). É possível promover a liberação de fármacos de meia-vida curta diretamente nos tecidos (GREENBAUM, 2001). Ela também garante que a dosagem será respeitada com aplicação contínua e boa aceitação do paciente. Outro aspecto

importante quanto à dosagem é a baixa variabilidade biológica paciente/paciente devido ao controle promovido pela corrente elétrica. Singh et al. (2001) estudaram o efeito da iontoforese na liberação de uma solução salina na função barreira da pele e irritação da mesma em quatro grupos étnicos, analisando a perda de água transepidermal (TEWL), a capacitância e a temperatura da pele. Foi verificado que não houve diferença significativa de permeação nos diferentes grupos citados após 4 h de experimento.

Na iontoforese, a corrente elétrica de baixa intensidade é fornecida por uma fonte ou baterias e distribuída com o auxílio de um eletrodo positivo (ânodo) e um eletrodo negativo (cátodo) (LOPEZ et al., 2001, 2003a e 2003b). Os eletrodos convencionalmente usados em iontoforese são os de Ag e AgCl. Eles não causam variação de pH, pois suas trocas eletroquímicas ocorrem a uma voltagem inferior à necessária para a eletrólise da água (KALIA et al., 2004; PANCHAGNULA et al., 2000).

Um dispositivo iontoforético é composto por dois compartimentos: um contendo a formulação em contato com eletrodo positivo (no caso de fármacos positivamente carregados ou neutros) e o outro com o eletrodo negativo (Figura 8). Desta maneira, o fármaco com carga deve ser adicionado no compartimento próximo ao eletrodo de igual polaridade. A formulação que o contém deve sempre ser hidrofílica, para permitir a passagem da corrente elétrica.

A Figura 8 ilustra a aplicação de um potencial elétrico e o deslocamento da corrente elétrica pelo circuito. Na superfície do eletrodo positivo (ânodo), a Ag perde um elétron e reage com o Cl^- da solução formando AgCl insolúvel que fica depositado no eletrodo, e esse elétron que transporta a corrente até o cátodo é responsável pela redução do eletrodo de AgCl (negativo). No ânodo, os cátions presentes na solução, inclusive o fármaco com carga positiva, são repelidos durante a passagem da corrente elétrica e migram em direção à pele. Ao mesmo tempo os íons endógenos, principalmente Cl^- , são transportados para o ânodo. Já no cátodo, ânions são repelidos em direção à pele e, para compensar essa perda, cátions migram da pele em direção ao cátodo (KALIA et al., 2004; GRATIERI et al., 2008).

Existem várias análises detalhadas sobre os mecanismos envolvendo o fenômeno iontoforético e o transporte das moléculas de fármaco, sendo os dois mais aceitos, a eletrorrepulsão e a eletrosmose (MARRO et al., 2001; GRATIERI et al., 2008).

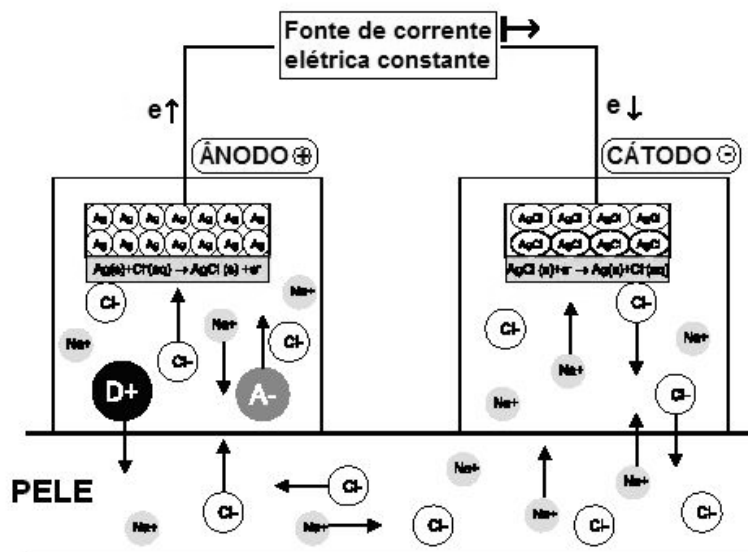


Figura 8. Iontoforese utilizando sistema de eletrodos de Ag/AgCl. O ânodo contém um fármaco ionizável D^+ e seu contra-íon A^- e Na^+Cl^- (adaptado de KALIA et al., 2004).

A eletrorrepulsão (Figura 9A) refere-se ao movimento ordenado de íons na presença de uma corrente elétrica aplicada ao meio. A presença de outros íons no sistema pode reduzir o fluxo do fármaco e, conseqüentemente, sua permeação (ARAMAKI et al., 2003; KOCHHAR; IMANIDIS, 2004; NUGROHO et al., 2005; SYLVESTRE et al., 2008). O fluxo eletrorrepulsivo de cada íon está relacionado com sua mobilidade elétrica e concentração. Dessa forma, aumentando-se a concentração de moléculas competidoras de alta mobilidade no sistema, o fluxo do fármaco é certamente diminuído, e o inverso ocorre quando se compara o fluxo deste fármaco na presença de moléculas competidoras com baixa mobilidade e mesma concentração (ÁLVARES-FIGUEROA et al., 2001; GUY et al., 2000; NAIR; PANCHAGNULA, 2003; SYLVESTRE et al., 2008).

O fluxo eletrosmótico (Figura 9B), outro mecanismo envolvido na iontoforese, corresponde ao fluxo de um volume de solvente e movimentação de cargas quando uma diferença de potencial é aplicada a uma membrana carregada. A eletrosmose se deve ao fato da pele possuir ponto isoelétrico de aproximadamente 4,0 – 4,5 e, acima desta faixa de pH, os grupos carboxilados associados a resíduos de aminoácidos presentes na membrana encontram-se ionizados negativamente (MERINO et al., 1997; SYLVESTRE et al., 2008). A aplicação de um campo elétrico através da pele, que está carregada negativamente em pH fisiológico, favorece o movimento de íons no sentido do ânodo para o cátodo, na tentativa de neutralizar as cargas desta membrana (BATH et al., 2000). Assim: (i) moléculas neutras podem ser liberadas por iontoforese através do ânodo (LOPEZ et al., 2001; 2003b) e (ii) os cátions se beneficiam desta segunda força, adicional à eletrorrepulsão, quando administrados no ânodo (CULLANDER et al., 1993). No geral, a mobilidade elétrica de uma molécula é inversamente proporcional ao seu tamanho e, desta forma, a eletrosmose desempenha papel fundamental no transporte de macromoléculas através de membranas (BOINPALLY et al., 2004; PIKAL, 2001; SYLVESTRE et al., 2008).

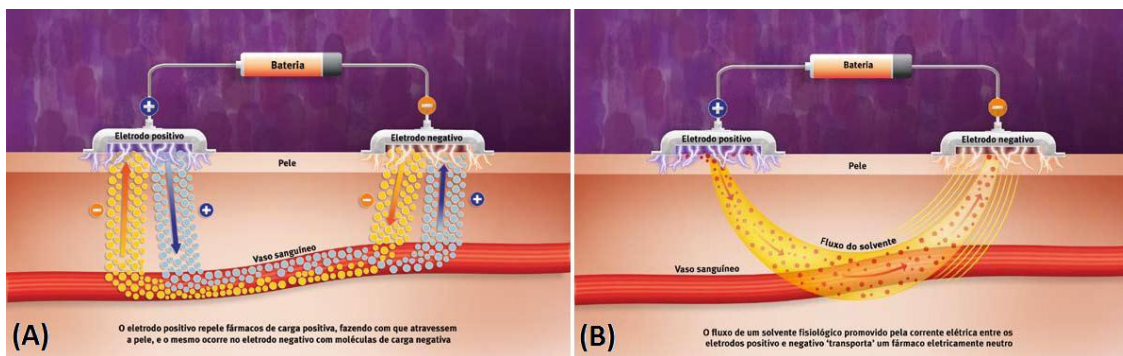


Figura 9. Representação dos mecanismos envolvidos na iontoforese: (A) a eletrorrepulsão e (B) a eletrosmose (GRATIERI et al., 2009).

Até 1993, a iontoforese havia sido aprovada pelo conselho norte-americano (FDA) somente como um teste diagnóstico para a fibrose cística (GIBSON; COOKE, 1959) e para o tratamento de hiperidrose (LEVIT, 1980). Em maio de 2004 o FDA anunciou a aprovação do *LidoSite[®] Topical System* da Vyteris, um dispositivo de aplicação iontoforética de lidocaína e epinefrina (Figura 10). O produto foi aprovado para uso em pacientes acima de cinco anos de idade. Em junho de 2004, também, a Alza recebeu aprovação do FDA para o dispositivo iontoforético *Ionsys[®]*, para liberação de fentanil, um analgésico. Atualmente os dispositivos iontoforéticos são miniaturizados e colocados sobre a pele da mesma maneira que o tradicional sistema transdérmico passivo (Figura 11).

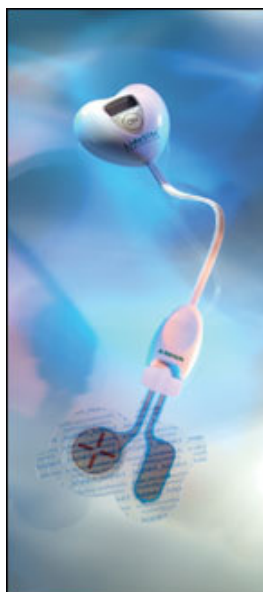


Figura 10. Dispositivo iontoforético *LidoSite[®]* (VYTERIS, www.vyteris.com, 2006).

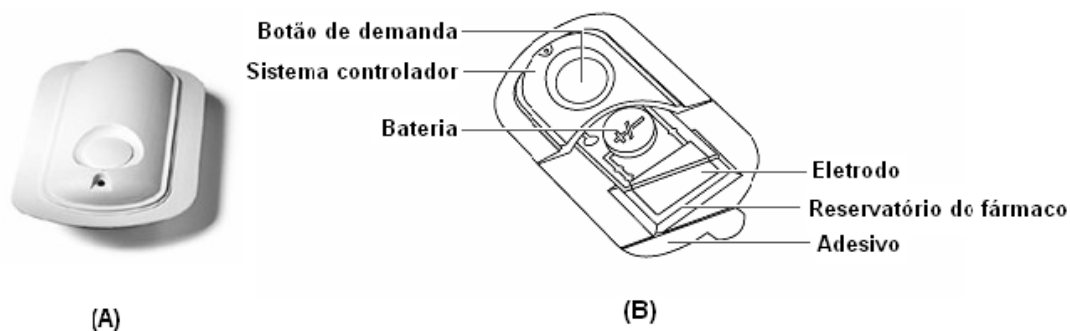


Figura 11. Dispositivo iontoforético E-Trans®. (A) Dispositivo fechado. (B) Dispositivo aberto (adaptado de ALZA COMPANY, www.alza.com, 2006).

1.6 Micropartículas

As nanopartículas e micropartículas poliméricas são definidas como partículas com tamanhos na faixa de nanômetros e micrômetros, respectivamente (PITAKSUTEEPONG et al, 2007). Este tipo de sistema de liberação de fármacos é bastante estudado para aplicação tópica por ser capaz de proteger, sustentar e até restringir a permeação transdérmica de fármacos através da pele, fazendo com que ele permaneça mais retido no tecido cutâneo (DE JALON et al., 2001). De Jalon et al. (2001), por exemplo, estudaram a distribuição de micropartículas contendo rodamina como sonda fluorescente em pele de porco após aplicação tópica *in vitro*. Os autores verificaram que as micropartículas desenvolvidas conseguiam atravessar o estrato córneo e atingiam a epiderme viável sem, no entanto, cair na circulação. Outra vantagem associada ao uso de nano e micropartículas poliméricas é a sua facilidade de preparação com polímeros biodegradáveis, além da alta estabilidade delas em fluidos biológicos e/ou durante o armazenamento. Desta forma, após a administração, sabe-se que as nano e micropartículas poliméricas permanecem no sítio de aplicação e o fármaco é liberado por difusão, reações químicas, degradação de polímero ou mecanismo de troca iônica, dependendo do polímero utilizado e de sua interação com o fármaco encapsulado (DING, 1998).

1.6.1 Polímeros para a preparação de micropartículas

As nano e micropartículas são geralmente obtidas com polímeros que podem ser biodegradáveis ou não biodegradáveis. Dentre os polímeros biodegradáveis

mais amplamente utilizados no desenvolvimento de nano e micropartículas, podem ser citados principalmente os polímeros do ácido lático (PLA), do ácido glicólico (PGA) ou seus copolímeros (PLGA), caprolactona, além de polímeros naturais como a quitosana e o alginato, entre outros (JAIN, 2000; PITAKSUTTEEPONG et al, 2007).

Os polímeros de PLGA [Poli(D,L-Lactida-co-glicolida)] (Figura 12) são a classe de polímeros mais empregada na obtenção de sistemas nano e microparticulados por serem atóxicos, bem tolerados, biodegradáveis e biocompatíveis, e vêm sendo estudados com este propósito desde 1971 (BRANNON-PEPPAS; BLANCHETTE, 2004; GAVINI et al., 2004; NAFEE et al., 2007; TAKASHIMA et al., 2007). Nano e micropartículas de PLGA têm sido estudadas para sustentar e tornar mais localizada a liberação de vários fármacos incluindo agentes anticâncer (BRANNON-PEPPAS; BLANCHETTE, 2004), plasmídeo de DNA (CSABA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2005; TAKASHIMA et al., 2007), proteínas e peptídeos (CEGNAR et al., 2004; TAKASHIMA et al., 2007), entre outros compostos de menores massas moleculares (NAFEE et al., 2007). O PLGA tem mostrado dar origem a sistemas nano e microestruturados que possuem grande eficiência como veículos para liberação de fármacos, aumentando a quantidade de fármaco que atravessa várias barreiras biológicas, como a barreira hematoencefálica, mucosa gastrointestinal, mucosa nasal e tecido ocular, além da pele (NAFEE et al., 2007).

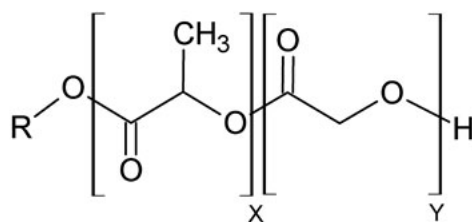


Figura 12. Estrutura química do polímero de PLGA (poli[D,L-Lactida-co-glicolida]), onde X corresponde à molécula de ácido glicólico e Y corresponde à molécula de ácido lático, condensados para a formação do polímero.

No entanto, por ser um polímero sintético, sabe-se que o PLGA possui um preço de mercado elevadíssimo, o que encarece os sistemas preparados a partir dele.

Uma alternativa ao uso do PLGA seria a quitosana (Figura 13), que é um polímero que tem sido bastante empregado atualmente na obtenção de micropartículas. Este polímero, o poli[(1-4)-2-amino-2-deoxi-β-D-glucano], pode ser quimicamente preparado pela N-desacetilação alcalina da quitina, que é um componente estrutural da casca de crustáceos, cutícula de insetos e da parede de alguns fungos e microrganismos, sendo, depois da celulose, o biopolímero mais abundante na natureza (KAO et al., 2006; SHAH et al., 2008). A quitosana, além da obtenção de partículas, tem sido extensivamente investigada para aplicação em vários outros sistemas de liberação de fármacos por possuir características que incluem biodegradabilidade, biocompatibilidade e atoxicidade (SHAH et al., 2008). Além disso, a quitosana possui outras propriedades, como não antigenicidade, propriedades de adsorção, características promotoras de absorção e habilidade de formar gel em baixos pHs. Devido à sua característica catiônica, sua interação com membranas aniônicas (bioadesão) vem sendo proposta para manter a formulação por mais tempo nestes locais (FELT et al., 2001; NAFEE et al., 2007). Além disso, para o caso deste estudo onde se pretende aplicar a iontoforese em formulações de fármaco microencapsulado, a preparação de micropartículas com este polímero seria ainda mais vantajosa, visto que o seu residual de cargas positivas poderia beneficiar o o transporte iontoforético delas quando colocadas em contato com o ânodo.

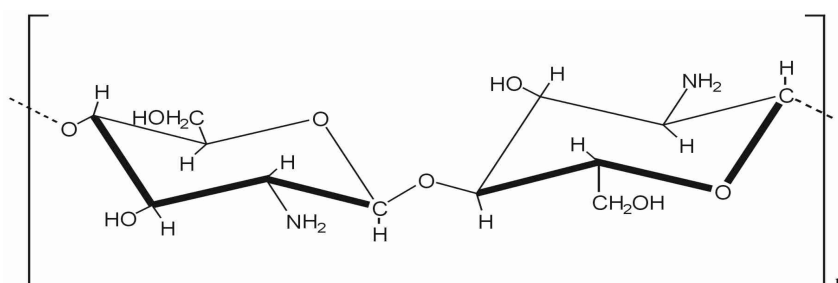


Figura 13. Estrutura química do polímero quitosana.

Oliveira et al. (2006) já prepararam micropartículas de quitosana para veicular plasmídeos de DNA devido a não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade deste polímero, além de suas propriedades mucoadesivas, que favorecem a liberação sustentada de fármacos hidrofílicos.

1.6.2 Aplicação farmacêutica das micropartículas

Os sistemas microparticulados poliméricos vêm sendo extensivamente estudados para administração oral (LAI; D'SOUZA, 2008; SCOCCA et al., 2007), intravenosa (HELSON et al., 2008), nasal e pulmonar (GAVINI et al., 2008), e até mesmo ocular de fármacos (LIU et al., 2008). Para a via tópica, especificamente, os sistemas microparticulados estão sendo bastante investigados, pois se especula que dependendo de seu tamanho, as partículas poliméricas podem penetrar a pele. Partículas menores que 1 μm , portanto nanopartículas, parecem conseguir atravessar o EC pela via transepidérmica, enquanto partículas na faixa de diâmetro entre 3 e 10 μm , de maneira geral, devem ser capazes de carrear fármacos para dentro da pele pela via transfolicular, segundo alguns autores (PITAKSUTTEEPONG et al, 2007; SHIM et al., 2004). Além disso, partículas poliméricas com diâmetro superior a 10 μm parecem permanecer na superfície da pele liberando o fármaco nelas encapsulado (PITAKSUTTEEPONG et al, 2007). O tamanho ótimo que uma micropartícula deve apresentar para atravessar bem a pele pela via transfolicular quando aplicada topicamente é bastante controverso, como já foi mencionado anteriormente. Rolland et al. (1993) encontraram que as partículas de PLGA contendo adapaleno com diâmetro de 5 μm foram as que melhor atravessaram a pele transfolicularmente, enquanto Toll et al. (2004) determinaram que 1,5 μm foi o tamanho ótimo para que as suas micropartículas preparadas com poliestireno permeassem a pele por esta mesma via. Estes trabalhos, no entanto, variaram desde o modelo experimental até as técnicas de análise empregadas para visualização das micropartículas, que foram preparadas com polímeros diferentes: Rolland et al. (1993) trabalharam com partículas de PLGA e utilizaram modelo experimental *in vivo* em camundongo Rhino, enquanto Toll et al. (2004), prepararam partículas de poliestireno para aplicação *in vitro* em pele de humanos, verificando a penetração delas por microscopia de fluorescência.

1.6.3 Métodos de obtenção das micropartículas

Dentre os métodos disponíveis para preparação de nano e micropartículas, são descritos na literatura uma infinidade deles, que vão desde métodos químicos de polimerização interfacial e polimerização *in situ*, passando por métodos físico-

químicos de coacervação simples e complexa, emulsificação e evaporação do solvente, até métodos físicos de revestimento, extrusão e secagem por *spray drying*.

A técnica do *spray drying* é sem dúvidas a mais empregada delas na obtenção de micropartículas poliméricas. Por esta técnica, um gás aquecido é utilizado para secar gotículas da formulação que são aspergidas quando passam sob pressão pelo bico atomizador do aparelho (TEWA-TAGNE et al., 2007).

O *spray drying* é extensivamente usado no campo farmacêutico por permitir a preparação de pós secos com características específicas de tamanho de partícula e forma. As partículas obtidas por este método são geralmente bastante esféricas, com boa eficiência de encapsulação e qualidade consistente. Gavini et al. (2008), por exemplo, prepararam micropartículas de quitosana por *spray drying* e obtiveram micropartículas esféricas, com eficiência de encapsulação superior a 95%, que foram capazes de sustentar a liberação do fármaco encapsulado.

Além disso, por *spray drying*, processos como encapsulação, formação de complexos e até mesmo polimerização ocorrem em um passo único e simples. Isso traz vantagens como rapidez do processo, possibilidade de modular características físico-químicas dos pós resultantes, além de flexibilidade e potencial de transposição de escala (WENDEL, CELIK, 1998; LANNES, MEDEIROS, 2003; TEWA-TAGNE et al., 2007). Trata-se também de um processo barato, se comparado a outros existentes, como o *freeze-drying* (TEWA-TAGNE et al., 2007). Entretanto requer atenção particular no controle de processo devido às limitações e vários números de parâmetros. Essas limitações incluem problemas com eficiência de coleta, que refletem no rendimento do processo, e instabilidade quando se trabalha com materiais termossensíveis. Cada variável de processo é crítica e isto explica algumas dificuldades encontradas na otimização deste processo tentada por alguns autores. Assim, o processo de *spray-drying* envolve a avaliação de parâmetros relacionados tanto à formulação quanto ao *spray-dryer* em si (TEWA-TAGNE et al., 2007).

Pela técnica de *spray drying*, a dispersão do fármaco é bombeada para um atomizador que produz finas gotículas dentro da câmara de secagem principal (Figura 14). Os atomizadores variam seus desenhos, desde os rotatórios e de fluido simples até os de dois fluidos e de desenho ultrassônico. Esses diferentes estilos conferem diferentes vantagens e desvantagens ao processo, e devem ser escolhidos de acordo com a aplicação requerida. De maneira geral, quanto menor o

tamanho do bico atomizador, mais finamente dividida estará a gotícula aspergida e menor será a partícula formada.

O gás quente de secagem é normalmente o próprio ar aquecido; no entanto para fármacos oxidáveis, cujo contato com o oxigênio do ar promoveria sua degradação, o gás nitrogênio inerte é comumente utilizado. Este gás quente de secagem pode ser passado por um fluxo de co-corrente ou contra-corrente em relação à direção da atomização de líquido. O fluxo co-corrente permite que a partícula tenha um menor tempo de residência dentro do sistema e que o separador de partículas (tipicamente na forma de ciclone) opere mais eficientemente. Por outro lado, o fluxo de ar contra-corrente permite um tempo de residência maior das partículas na câmara de secagem. Parâmetros de fluxo e temperatura de ar de secagem também influenciam no tipo de partícula obtida (LANNES, MEDEIROS, 2003).

Finalmente, a formulação líquida a ser secada varia de acordo com as propriedades do fármaco que se deseja encapsular e do polímero, os quais podem estar dispersos no líquido na forma de solução, dispersão coloidal ou suspensão. No caso de suspensões, é empregada agitação durante o processo para que os solutos se mantenham homogêneamente dispersos no líquido, de modo a se obter partículas também homogêneas.

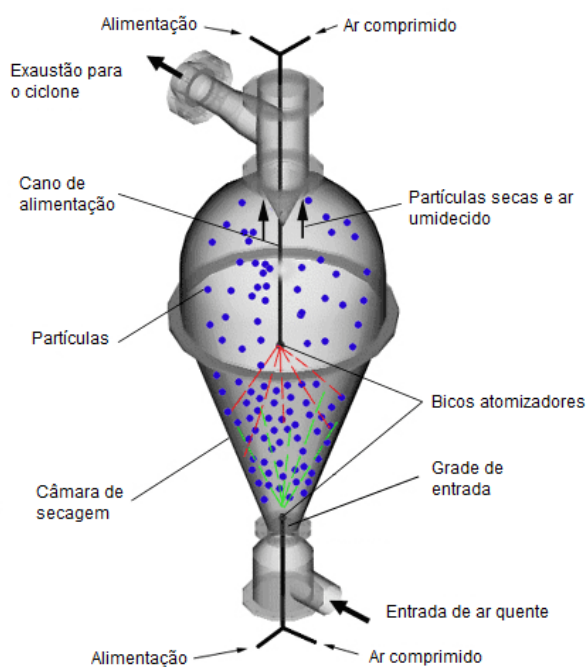


Figura 14. Representação esquemática de um *spray drier* com dois bicos atomizadores.

2 Conclusões

- Os métodos propostos para a quantificação do MXS mostraram-se adequados, apresentando valores satisfatórios de linearidade, sensibilidade, seletividade, precisão e exatidão. O processo de extração do fármaco da pele também mostrou recuperar quantidades aceitáveis de MXS deste tecido.
- Através dos estudos de pré-formulação foi verificado que o MXS apresenta alta hidrofiliabilidade quando em pHs mais ácidos, coeficiente de partilha óleo/água baixo e pKa igual a 4,5. Além disso, mostrou ser eletricamente estável por pelo menos 6 h.
- O gel não-iônico do copolímero de polioxietileno-polioxipropileno-polioxietileno liberou rapidamente o MXS. Mais de 60% do fármaco se difundiu através dele após as primeiras 3 h de experimento.
- A iontoforese anódica do MXS a partir de um gel contendo 2,0% (m/m) do fármaco e 89,5 mM de NaCl, pH 3,5, foi capaz de aumentar o fluxo passivo do MXS através da pele numa razão de 150 vezes, enquanto a iontoforese catódica promoveu um aumento de 50 na permeação do MXS neste pH.
- O aumento do pH do gel do copolímero tribloco de 3,5 para 5,5 reduziu em 3 vezes a permeação iontoforética do MXS através da pele, ao passo que promoveu uma retenção máxima de fármaco tanto no EC quanto nos folículos pilosos;
- A eletrorrepulsão tem maior efeito sobre a permeação do MXS do que a eletrosmose durante a iontoforese anódica do fármaco. A elevação do pH da formulação de 3,5 para 5,5 dobrou a contribuição da eletrosmose no fluxo iontoforético anódico do MXS (de 3,21 para 7,08 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, respectivamente) e reduziu a contribuição da eletrorrepulsão;
- As micropartículas de quitosana contendo o MXS obtidas por *spray drying* a partir de uma formulação contendo 1,50 g de quitosana e 0,75 g de MXS apresentaram bom rendimento de obtenção (aproximadamente 40%), alta eficiência de encapsulação (~82%), diâmetro médio igual a 3,05 μm e morfologia esférica e sem porosidades. Além disso apresentaram um potencial zeta igual a +5,87 mV;

- Após 1 h de contato com a água, as micropartículas de quitosana contendo o MXS intumesceram, aumentando o seu tamanho aproximadamente 1,5 vezes;
- As micropartículas de quitosana foram capazes de sustentar 3,5 vezes a liberação do fármaco;
- As micropartículas de quitosana contendo o MXS foram homogeneamente suspensas em solução hidroalcoólica, pH 5,5, e este sistema apresentou um valor condutividade elétrica alta, possibilitando a passagem da corrente elétrica durante a iontoforese;
- Estudos envolvendo microscopia confocal de varredura a *laser* mostraram que as micropartículas de quitosana, quando aplicadas passivamente sobre a pele, distribuem-se sobre sua superfície concentrando-se em alguns pontos de depressão (incluindo as aberturas foliculares), ao passo que a aplicação da iontoforese as direciona mais rapidamente para as regiões foliculares.
- As micropartículas de quitosana restringiram ainda mais a permeação passiva do fármaco, sustentando sua liberação através da pele e aumentando até 6 vezes sua retenção na região folicular.
- A iontoforese da formulação contendo as micropartículas aumentou a quantidade de fármaco retido nos folículos pilosos mais rapidamente do que com a sua aplicação passiva, e também aumentou a quantidade de MXS que atravessou a pele através da rota transfolicular.

Referências Bibliográficas

ÁLVAREZ-FIGUEROA, M. J.; DELGADO-CHARRO, M. B.; BLANCO-MENDEZ, J. Passive and iontophoretic transdermal penetration of methotrexate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 212, p. 101-107, 2001.

ÁLVAREZ-ROMAN, R.; NAIK, A.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H.; FESSI, H. Enhancement of topical delivery from biodegradable nanoparticles. **Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 10, p. 1818-1825, 2004.

ALZA COMPANY. Disponível em: <http://www.alza.com>, acessado em dezembro de 2006.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR, L. V. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6ª ed. Ed. Premier: São Paulo, 2000.

ARAMAKI, Y.; ARIMA, H.; TAKAHASHI, M.; MIYAZAKI, E.; SAKAMOTO, T.; TSUCHIYA, S. Intradermal delivery of antisense oligonucleotides by the pulse depolarization iontophoretic system. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 10, p. 1461-1466, 2003.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.

BATH, B. D.; SCOTT, E. R.; PHIPPS, J. B.; WHITE, H. S. Scanning electrochemical microscopy of iontophoretic transport in hairless mouse skin: analysis of the relative contributions of diffusion, migration, and electrosmosis to transport in hair follicles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 12, p. 1537-1549, 2000.

BIENOVÁ, M.; KUCEROVÁ, R.; FIURASKOVÁ, M.; HAJDÚCH, M.; KOLÁR, Z. Androgenic alopecia and current methods of treatment. **Acta Dermatovenerologica Alpina**, v. 14, n. 1, p. 5-8, 2005.

BOINPALLY, R. R.; ZHOU, S.; DEVRAJ, G.; ANNE, P. K.; POONDRU, S.; JASTI, B. R. Iontophoresis of lecithin vesicles of cyclosporin A. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, p. 185-190, 2004.

BOUWSTRA, J. A.; HONEYWELL-NGUYEN, P. L.; GOORIS, G. S.; PONEC, M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. **Progress in Lipid Research**, v. 42, p. 1-36, 2003.

BRANNON-PEPPAS, L.; BLANCHETTE, J. O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 11, p. 1649-1659, 2004.

BRUSCHI, M. L.; JONES, D. S.; PANZERI, H.; GREMIÃO, M. P.; DE FREITAS, O.; LARA, E. H. Semisolid systems containing propolis for the treatment of periodontal disease: *in vitro* release kinetics, syringeability, rheological, textural, and mucoadhesive properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 8, p. 2074-2089, 2007.

BUHL A. E.; WALDON D.; BAKER, C. A.; JOHNSON, G. A. Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 95, n. 5, p. 533-537, 1990.

CAMPOS, L. M. P. Microemulsões como sistemas de liberação tópica para a veiculação do 5-ALA, H-ALA e O-ALA para uso na terapia fotodinâmica do câncer de pele: obtenção, caracterização e estudos *in vitro* e *in vivo* de permeação cutânea. Ribeirão Preto, 2006 (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

CASH, T. F. The psychosocial consequences of androgenetic alopecia: a review of the research literature. **British Journal of Dermatology**, v. 141; p. 398-405, 1999.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: viewpoint and discussion. **Journal of Chromatography B**, v. 689, p. 175-180, 1997.

CÁZARES-DELGADILLO, J.; NAIK, A.; GANEM-RONDERO, A.; QUINTANAR-GUERRERO, D.; KALIA, Y.N. Transdermal delivery of cytochrome C—a 12.4 kDa protein—across intact skin by constant-current iontophoresis. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 7, p. 360-368, 2007.

CEGNAR, M.; PREMZL, A.; ZAVASNIK-BERGANT, V.; KRISTL, J.; KOS, J. Poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles as a carrier system for delivering cysteine protease inhibitor cystatin into tumor cells. **Experimental Cell Research**, v. 301, n. 2, 223-231, 2004.

CEVHER, E.; ORHAN, Z.; MÜLAZIMOĞLU, L.; SENSOY, D.; ALPER, M.; YILDIZ, A.; OZSOY, Y. Characterization of biodegradable chitosan microspheres containing vancomycin and treatment of experimental osteomyelitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with prepared microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 317, n. 2, p. 127-135, 2006.

CHIEN, W.Y. **Novel drug delivery systems**. 2^a ed. M Dekker. New York, 1992.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7^a ed. Ed. Unicamp. Campinas, 1997.

CSABA, N.; SÁNCHEZ, A.; ALONSO, M. J. PLGA:poloxamer and PLGA:poloxamine blend nanostructures as carriers for nasal gene delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 2, p. 164-172, 2006.

CULLANDER, C.; GUY, R. H. Sites of iontophoretic current flow into the skin: Identification and characterization with the vibrating probe electrode. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 97, p. 55-64, 1991.

CULLANDER, C.; RAO, G.; GUY, R. H. Why silver/silver chloride: criteria for iontophoresis electrodes. **Prediction of Percutaneous Penetration**, v. 33, p. 381-387, 1993.

CURDY, C.; KALIA, Y.; NAIK A.; GUY, R. H. Piroxicam delivery into human stratum corneum *in vivo*: iontophoresis versus passive diffusion. **Journal of Controlled Release**, v. 76, p. 73-79, 2001.

DE JALON, E. G.; BLANCO-PRIETO, M. J.; YGARTUA, P.; SANTOYO, S. PLGA microparticles: possible vehicles for topical drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, n. 1-2, p. 181-184, 2001.

DEBBASCH, C.; EBENHAHN, C.; DAMI, N.; PERICOI, M.; VAN DEN BERGHE, C.; COTTIN, M.; NOHYNEK, G. J. Eye irritation of low-irritant cosmetic formulations: correlation of *in vitro* results with clinical data and product composition. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 155-165, 2005.

DING, S. Recent developments in ophthalmic drug delivery. **PSTT**, v. 1, n. 8, p. 328-335, 1998.

DUMORTIER, G.; GROSSIORD, J. L.; AGNELY, F.; CHAUMEIL, J. C. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. **Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 12, p. 2709-2728, 2006.

FANG, J. Y.; SUNG, K. C.; LIN, H. F.; FANG, C. L. Transdermal iontophoretic delivery of diclofenac sodium from various polymers formulations: *in vitro* and *in vivo* studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 178, p.83-92, 1999.

FDA, Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. Center for Drug Evaluation and Research, 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.fdf>, acesso em 14 de junho de 2004.

FELT, O.; GURNY, R.; BURI, P.; BAEYENS, V. Delivery of antibiotics in the eye using a positively charged polysaccharide as vehicle. **AAPS PharmSci3**. Disponível em: <http://www.pharmsci.org>, 2001.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. Edusp. São Paulo, 2003.

FRANETA, J. T.; AGBABA, D.; ERIC, S.; PAVKOV, S.; ALEKSIC, M.; VLADIMIROV, S. HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets. **Farmaco**, v. 57, n. 9, p. 709-713, 2002.

GAVINI, E.; CHETONI, P.; COSSU, M.; ALVAREZ, M. G.; SAETTONE, M. F.; GIUNCHEDI, P. PLGA microspheres for the ocular delivery of a peptide drug, vancomycin using emulsification/spray-drying as the preparation method: *in vitro/in vivo* studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 207-212, 2004.

GAVINI, E.; RASSU, G.; MUZZARELLI, C.; COSSU, M.; GIUNCHEDI, P. Spray-dried microspheres based on methylpyrrolidinone chitosan as new carrier for nasal administration of metoclopramide. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 2, p. 245-252, 2008.

GELFUSO, G. M. Iontoforese de cerivados catiônicos e aniônicos de porfirinas e ftalocianinas de zinco: otimização de formulações e da liberação iontoforética *in vitro* e *in vivo*. Ribeirão Preto, 2006 (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

GELFUSO, G. M.; FIGUEIREDO, F. V.; GRATIERI, T.; LOPEZ, R. F. V. The effects of pH and ionic strength on topical delivery of a negatively charged porphyrin (TPPS₄). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 4249-4257, 2008.

GIBSON, L. E.; COOKE, R. E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. **Pediatrics**, v. 23, p. 545-549, 1959.

GLIKFELD, P.; CULLANDER, C.; HINZ, R. S.; GUY, R. H. A new system for *in vitro* studies of iontophoresis. **Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 443-446, 1988.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G. M. LOPEZ, R. F. V. Princípios básicos e aplicação da iontoforese na penetração cutânea de fármacos. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1490-1498, 2008.

GRATIERI, T.; GELFUSO, G. M. LOPEZ, R. F. V. Medicação do futuro: iontoforese facilita entrada de fármaco no organismo. **Revista Ciência Hoje**, São Paulo, v. 44, n. 259, p. 20-25, maio. 2009. Editorial.

GREENBAUM, S. S. Iontophoresis as a tool for anesthesia in dermatologic surgery: an overview. **Dermatological Surgery**, v. 12, p. 1027-1030, 2001.

GUY, R. H.; KALIA, Y. N.; DELGADO-CHARRO, M. B.; MERINO, V.; LOPEZ, A.; MARRO, D. Iontophoresis: electrorepulsion and electroosmosis. **Journal of Controlled Release**, v. 64, p. 129-132, 2000.

GUY, R. H.; HADGRAFT, J. On the determination of drug release rates from topical dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 60, p. R1, 1990.

HAN, J. H.; KWON, O. S.; CHUNG, J. H.; CHO, K. H.; EUN, H. C.; KIM, K. H. Effect of minoxidil on proliferation and apoptosis in dermal papilla cells of human hair follicle. **Journal of Dermatological Sciences**, v. 34, p. 91-98, 2004.

HELSON, R.; OLSZEWSKA, W.; SINGH, M.; MEGEDE, J. Z.; MELERO, J. A.; O'HAGAN, D.; OPENSHAW, P. J. Polylactide-co-glycolide (PLG) microparticles modify the immune response to DNA vaccination. **Vaccine**, v. 26, n. 6, p. 753-761, 2008.

HERAI, H.; BENTLEY, M. V. L. B.; LOPEZ, R. F. V. Iontophoretic delivery of doxorubicin: effect of concentration and pH. **Proceeds of the International Symposium of Controlled Release of Bioactive Materials**, v. 31, p. 324, 2004.

HERAI, H.; GRATIERI, T.; THOMAZINE, J. A.; BENTLEY, M. V.; LOPEZ, R. F. Doxorubicin skin penetration from monoolein-containing propylene glycol formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, n. 1-2, p. 88-93, 2007.

HERNANDEZ, B. A. C. S. Is androgenic alopecia a result of endocrine effects on the vasculature? **Medical Hypotheses**, v. 62, p. 438-441, 2004.

HOATH, S. B.; LEAHY D. G. The organization of human epidermis: functional epidermal units and phi proportionality. **Human Epidermis Organization**, v. 121, n. 6, p. 1440-1446, 2003.

JADOUL, A.; BOUWSTRA, J. A.; PREAT, V. Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum: review on the biophysical studies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 35, p. 89-105, 1999.

JAIN, R. A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. **Biomaterials**, v. 21, n. 23, p. 2475-2490, 2000.

JEFFERY, G. H.; BASSET, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. **Vogel: análise química quantitativa**. 5ª ed. LTC Editora: Rio de Janeiro, 1992.

Jl, J. J.; DING, Z. J.; YANG, X. L. Preparation and properties of chitosan film as a drug sustained-release system. **West China Journal of Stomatology**, v. 27, n. 3, p. 248-251, 2009.

KALIA, Y. N.; NAIK, A.; GARRISON, J.; GUY, R. H. Iontophoretic drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 619-658, 2004.

KANEBAKO, M.; INAGI, T.; TAKAYAMA, K. Evaluation of skin barrier function using direct current III: effects of electrode distance, boundary length and shape. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 518-522, 2003.

KANIKKANNAN, N.; SINGH, J.; RAMARAO, P. Transdermal iontophoretic delivery of bovine insulin and monomeric human insulin analogue. **Journal of Controlled Delivery**, v. 59, p. 99-105, 1999.

KANITAKIS, J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. **European Journal of Dermatology**, v. 12, n. 4, p. 390-401, 2002.

KAO, H. J.; LIN, H. R.; LO, Y. L.; YU, S. P. Characterization of pilocarpine-loaded chitosan/carbopol nanoparticles. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 58, p. 179-186, 2006.

KITSON, N.; THEWALT, J. L. Hypothesis: the epidermal permeability barrier is a porous medium. **Acta Dermatovenereologica**, v. 208, p. 12-15, 2000.

KOCHHAR, C.; IMANIDIS, G. *In vitro* transdermal iontophoretic delivery of leuprolide under Constant current application. **Journal of Controlled Release**, v. 98, p. 25-35, 2004.

KUDLACEK, P. E.; CLEMENS, D. L.; ANDERSON, R. J. Characterization of recombinant human liver thermolabile phenol sulfotransferase with minoxidil as the substrate. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 210, n. 2, p. 363-369, 1995.

KURBEL, S.; KURBEL, D.; ZANIC-MATANIC, D. Minoxidil and male-pattern alopecia: a potential role for a local regulator of sebum secretion with vasoconstrictive effects? **Medical Hypotheses**, v. 53, n. 5, p. 402-406, 1999.

LAI, Y. H.; D'SOUZA, M. J. Microparticle transport in the human intestinal M cell model. **Journal of Drug Targeting**, v. 16, n. 1, p. 36-42, 2008.

LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 1, p. 115-123, 2003.

LAUER, A. C.; LIEB, L. M.; RAMACHANDRAN, C.; GLYNN, G. L.; WEINER, L. D. Transfollicular drug delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, p. 179-86, 1995.

LEVIT, F. Treatment of hyperhidrosis by tap water iontophoresis. **Cutis**, v. 26, n. 2, p. 192-194, 1980.

LI, G. L.; DANHOF, M.; BOWSTRA J. A. Iontophoretic delivery of apomorphine *in vitro*: physicochemic considerations. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 11, p. 1509-1513, 2001.

LIU, W.; GRIFFITH, M.; LI, F. Alginate microsphere-collagen composite hydrogel for ocular drug delivery and implantation. **Journal of Material Sciences: Materials in Medicine**, v. 19, n. 11, p. 3365-3371, 2008.

LOPEZ, R. F. V. Estudo de um sistema de liberação para o ácido 5-aminolevulínico por iontoforese para aplicação na terapia fotodinâmica do câncer de pele. Ribeirão Preto, 2000 (Tese de Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

LOPEZ, R. F. V.; BENTLEY, M. V. L. B.; DELGADO-CHARRO, M. B.; GUY, R. H. Iontophoretic delivery of 5-aminolevulinic acid (ALA): effect of pH. **Pharmaceutical Research**, v. 18, p. 311-315, 2001.

LOPEZ, R. F. V.; BENTLEY, M. V. L. B.; DELGADO-CHARRO, M. B.; SALOMON, D.; VAN DEN BERGH, H.; LANGE, N.; GUY, R. H. Enhanced delivery of 5-aminolevulinic acid esters by iontophoresis *in vitro*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 77, n. 3, p. 304-308, 2003a.

LOPEZ, R. F. V.; BENTLEY, M. V. L. B.; DELGADO-CHARRO, M. B.; GUY, R. H. Optimization of aminolevulinic acid delivery by iontophoresis. **Journal of Controlled Release**, v. 88, p. 65-70, 2003b.

LOPEZ, R. F. V., LANGE, N., GUY, R. H., BENTLEY, M. V. L. B. Photodynamic therapy of skin cancer: controlled drug delivery of 5-ALA and its esters. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 77-94, 2004.

LUEPKE, N. P. Hen's egg chorioallantoic membrane test for irritation potential. **Food and Chemical Toxicology**, v. 23, n. 2, p. 287-291, 1985.

MAGERL, M.; PAUS, R.; FARJO, N.; MULLER- ROVER, F.; PETERS, E. M. J.; FOITZIK, K.; TOBIN, D. J. Limitations of human occipital scalp hair follicle organ culture for studying the effects of minoxidil as a hair growth enhancer. **Experimental Dermatology**, v. 13, p. 635-642, 2004.

MARRO, D.; KALIA, Y. N.; DELGADO-CHARRO, M. B.; GUY, R. H. Contributions of electromigration and electroosmosis to iontophoretic drug delivery. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 12, p. 1701-1708, 2001.

MEDICINA NET. Bula do medicamento Regaine® (Pharmacia & Upjohn Co.). Disponível em: http://www.medicinanet.com.br/bula/detalhes/4444/reacoes_adversas_regaine_2.htm, acessado em outubro de 2009.

MEIDAN, V. M.; BONNER, M. C.; MICHINIYAK, B. B. Transfollicular drug delivery—is it a reality? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 306, p. 1–14, 2005.

MERCLIN, N.; BRAMER, T.; EDSMAN, K. Iontophoretic delivery of 5-aminolevulinic acid and its methyl ester using a carbopol gel as vehicle. **Journal of Controlled Release**, v. 98, p. 57–65, 2004.

MERINO, V.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H. Transdermal therapy and diagnosis by iontophoresis. **Trends in Biotechnology**, v. 15, n. 8, p. 288-290, 1997.

MESSENGER, A. G.; RUNDEGREN, J. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth. **British Journal of Dermatology**, v. 150, p. 186-194, 2004.

MOSER, K.; KRIWET, K.; NAIK, A.; KALIA, Y. N.; GUY, R. H. Passive skin permeation enhancement and its quantification *in vitro*. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 52, p. 103-112, 2001.

MUNSTER, U.; NAKAMURA, C.; HABERLAND, A.; JORES, K.; MEHNERT, W.; RUMMEL, S.; SCHALLER, M.; KORTING, H. C.; ZHOUBOULIS, C. C.; BLUME-PEYTAVI, U.; SCHAFFER-KORTING, M. RU 58841-myristate-prodrug development for topical treatment of androgenetic alopecia. **Pharmazie**, v. 60, p. 8–12, 2005.

NAFEE, N.; TAETZ, S.; SCHNEIDER, M.; SCHAEFER, U. F.; LEHR, C.-M. Chitosan-coated PLGA nanoparticles for DNA/RNA delivery: effect of the formulation parameters on complexation and transfection of antisense oligonucleotides. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 3, p.173–183, 2007.

NAIR, V.; PANCHAGNULA, R. Physicochemical considerations in the iontophoretic delivery of a small peptide: *in vitro* studies using arginine vasopressin as a model peptide. **Pharmaceutical Research**, v. 48, p. 175-182, 2003.

NETZLAFF, F.; SCHAEFER, U. F.; LEHR, C. M.; MEIERS, P.; STAHL, J.; KIETZMANN, M.; NIEDORF, F. Comparison of bovine udder skin with human and porcine skin in percutaneous permeation experiments. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 34, n. 5, p. 499-513, 2006.

NUGROHO, A. K.; LI, L.; DIJKSTRA, D.; WIKSTRÖM, H.; DANHOF, M.; BOUWSTRA, J. A. Transdermal iontophoresis of the dopamine agonist 5-OH-DPAT in human skin *in vitro*. **Journal of Controlled Release**, v. 103, p. 393-403, 2005.

OGISO, T.; IWARI, M.; PAKU, T. Effects of various enhancers on transdermal penetration of indomethacin and urea, as relationship between penetration parameters and enhancement factors. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 84, n. 4, p. 482-488, 2004.

OLIVEIRA, B. F.; SANTANA, M. H. A.; RÉ, M. I. Spray-dried chitosan microspheres as a pDNA carrier. **Drying Technology**, v. 24, p. 373–382, 2006.

PANCHAGNULA, R.; PILLAI, O.; NAIR, V. B.; RAMARAO, P. Transdermal iontophoresis revisited. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 4, n. 4, p. 468-473, 2000.

PARIKH, R. H.; PARIKH, J. R.; DUBEY, R. R.; SONI, H. N.; KAPADIA, K. N. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres containing 5-fluorouracil: optimization of process parameters. **AAPS PharmSciTech**, v. 4, n. 2, E13, 2003.

PATURI, J.; KIM, H. D.; CHAKRABORTY, B.; FRIDEN, P. M.; BANGA, A. K. Transdermal and intradermal iontophoretic delivery of dexamethasone sodium phosphate: quantification of the drug localized in skin. **Journal of Drug Targeting**, 2009. In press.

PAUS, R.; COTSARELIS, G. The biology of hair follicles. **The New English Journal of Medicine**, v. 341, p. 491–497, 1999.

PIKAL, M. J. The role of electroosmotic flow in transdermal and iontophoresis. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 281-305, 2001.

PITAKSUTTEEPONG T, SOMSIRI A, WARANUCH N. Targeted transfollicular delivery of artocarpin extract from *Artocarpus incisus* by means of microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, n. 3, p. 639-645, 2007.

PRADEEP, K.; MEHTA, M. D.; BASHIR MAMDANI, M. D; RONALD, M.; SHANSKY, M. D.; SAKHARAM, D.; MAHURKAR, M. D.; GEORGE DUNEA, M. B. Severe hypertension treatment with minoxidil. **JAMA**, v. 203, n. 3, p. 249-252, 1975.

PRICE, V. H. Treatment of hair loss. **The New English Journal of Medicine**, v. 341, p. 964–973, 1999.

PROST-SQUARCIONI, C. Histology of skin and hair follicle. **Medical Science**, v. 22, n. 2, p. 131-137, 2006.

RAMACHANDRAN, C.; FLEISHER, D. Transdermal delivery of drugs for the treatment of bone diseases. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 42, n. 3. p. 197-223, 2000.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, S.; HUSSAIN, N.; FLORENCE, A. T. Release of DNA from dendriplexes encapsulated in PLGA nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 298, p. 354-360, 2005.

ROLLAND, A.; WAGNER, N.; CHATELUS, A.; SRHOOT, B.; SCHAEFER, H. Site-specific drug delivery to pilosebaceous structures using polymeric microspheres. **Pharmaceutical Research**, v. 10, p. 1738–1744, 1993.

RUSHTON, D. H.; UNGER, W. P.; COTTERILL, P. C.; KINGSLEY, P.; JAMES, K. C. Quantitative assessment of 2,0% topical minoxidil in the treatment of male pattern baldness. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 14, p. 40-46, 1989.

SCHAEFER, H.; REDELMEIER, T. E. Skin barrier: principles of percutaneous absorption. **Karger**, Basel, 1996.

SCHEUPLEIN, R. J. Mechanism of percutaneous absorption: rate of penetration and solubility. **Journal of Investive Dermatology**, v. 45, p. 334-346, 1965.

SCOCCA, S.; FAUSTINI, M.; VILLANI, S.; MUNARI, E.; CONTE, U.; RUSSO, V.; RICCARDI, A.; VIGO, D.; TORRE, M. L. Alginate/polymethacrylate copolymer microparticles for the intestinal delivery of enzymes. **Current Drug Delivery**, v. 4, n. 2, p. 103-108, 2007.

SCOTT, E. R.; WHITE, H. S.; PHIPPS, J. B. Direct imaging of ionic pathways in stratum corneum using scanning electrochemical microscopy. **Solid State Ionics**, v. 53-56, p. 176-183, 1992.

SHAH, P. P.; MASHRU, R. C.; THAKKAR, A. R.; BADHAN, A. C. Effect of chitosan crosslinking on bitterness of artemether using response surface methodology. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 421-427, 2008.

SHAPIRO, J. Safety of topical minoxidil solution: a one-year, prospective, observational study. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 7, n. 4, p. 322-329, 2003.

SHEU, M. T.; WU, A. B.; LIN, K. P.; SHEN, C. H.; HO, H. O. Effect of tocopheryl polyethylene glycol succinate on the percutaneous penetration of minoxidil from water/ethanol/polyethylene glycol 400 solutions. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 32, n. 5, p. 595-607, 2006.

SHIM, J.; SEOK KANG, H.; PARK, W. S.; HAN, S. H.; KIM, J.; CHANG, I. S. Transdermal delivery of minoxidil with block copolymer nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 97, n. 3, p. 477-484, 2004.

SIMONETTI, L. D. D. Obtenção e caracterização de formulações contendo cisplatina para a quimioterapia tópica do câncer de pele: iontoforese versus promotor de absorção. Ribeirão Preto, 2004 (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP.

SIMONETTI, L. D.; GELFUSO, G. M.; BARBOSA, J. C.; LOPEZ, R. F. Assessment of the percutaneous penetration of cisplatin: the effect of monoolein and the drug skin penetration pathway. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, n. 1, p. 90-94, 2009.

SINGH, J.; GROSS, M.; SAGE, B.; DAVIS, H. T.; MAIBACH, H. I. Regional variations in skin barrier function and cutaneous irritation due to iontophoresis in human subjects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, p. 1079-1086, 2001.

SYLVESTRE, J.-P.; GUY, R. H.; DELGADO-CHARRO, M. B. *In vitro* optimization of dexamethasone phosphate delivery by iontophoresis. **Physical Therapy**, v. 88, n. 10, 2008.

TAKASHIMA, Y.; SAITO, R.; NAKAJIMA, A.; ODA, M.; KIMURA, A.; KANAZAWA, T.; OKADA, H. Spray-drying preparation of microparticles containing cationic PLGA nanospheres as gene carriers for avoiding aggregation of nanospheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 343, n. 1-2, p. 262-269, 2007.

TEICHMANN, A.; JACOBI, U.; OSSADNIK, M.; RICHTER, H.; KOCH, S.; STERRY, W.; LADEMANN, J. Differential stripping: determination of the amount of topically applied substances penetrated into the hair follicles. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 125, p. 264-269, 2005.

TEWA-TAGNE, P.; DEGOBERT, G.; BRIANC, S.; BORDES, C.; GAUVRIT, J.-Y.; LANTERI, P.; FESSI, H. Spray-drying nanocapsules in presence of colloidal silica as drying auxiliary agent: formulation and process variables optimization using experimental designs. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 4, p.650-661, 2007.

TOLL, R., JACOBI, U., RICHTER, H., LADERMANN, J., SCHAEFER, H., BLUME-PEYTAVI, U. Penetration profile of microspheres in follicular targeting of terminal hair follicles. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 123, p. 168–176, 2004.

TRUEB, R. M. Molecular mechanisms of androgenetic alopecia. **Experimental Gerontology**, v. 37, n. 8-9, p. 981-990, 2002.

VINARDELL, M. P.; MITJANS, M. The chorioallantoic membrane test as a model to predict the potential human eye irritation induced by commonly used laboratory solvents. **Toxicology in vitro**, v. 20, n. 6, p. 1066-1070, 2006.

VOORHEES, J. J. Topical minoxidil, experimental and clinical results. Editor's introduction. **Dermatologica**, v. 175, n. 2, p. 1-2,1987.

VYTERIS. Disponível em: <http://www.vyteris.com>, acessado em dezembro de 2006.

WALTERS, K. A.; HADGRAFT, J. **Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement**. Ed: Marcel Dekker Inc. New York, p. 311-333, 1993.

WEELS, J. I. **Pharmaceutical preformulation: the psychochemical properties of drug substances**. Ellis Horwood, Hardcover, 1988, p. 21-85.

WENDEL, S.; CELIK, M. Uma visão geral sobre o uso da tecnologia de spray-drying. **Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 2, p. 129-134, 1998.

WU, L.-Q.; YI, H.; LI, S.; RUBLOFF, G. W.; BENTLEY, W. E.; GHODSSI, R.; PAYNE, G. F. Spatially selective deposition of a reactive polysaccharide layer onto a patterned template. **Langmuir** v. 19, p. 519-524, 2003.

WYSOCKI, A. B. Skin anatomy, physiology, and pathophysiology. **The Nursing Clinics of North America**, v. 34, n. 4, p. 777-797, 1999.

ZHANG W. F.; CHEN, X. G.; LI, P. W.; HE, Q. Z.; ZHOU, H. Y. Preparation and characterization of theophylline loaded chitosan/beta-cyclodextrin microspheres. **Journal of Material Sciences: Materials in Medicine**, v. 19, n. 1, p. 305-310, 2008.