



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO BACHARELADO EM FARMÁCIA

JOSÉ NETO DE OLIVEIRA

**CONTROLE DE QUALIDADE DE XAMPU DE CETOCONAZOL:
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA.**

Cuité – PB
2014

José Neto de Oliveira

**CONTROLE DE QUALIDADE DE XAMPU DE CETOCONAZOL:
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Pereira de Souza.

Cuité-PB
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

O48c Oliveira, José Neto de.

Controle de qualidade de xampu de cetoconazol: avaliação da eficácia. / José Neto de Oliveira. – Cuité: CES, 2014.

62 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientadora: Dra. Júlia Beatriz Pereira de Sousa.

1. Xampu. 2. Xampu – controle de qualidade. 3. Xampu de cetaconozol. I. Título.

CDU 615

José Neto de Oliveira

**CONTROLE DE QUALIDADE DE XAMPU DE CETOCONAZOL:
AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

APROVADO EM: 11 / 08/ 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Júlia Beatriz Pereira de Sousa
(Orientadora/UAS/CES/UFCG)

Prof^ª. Dr^ª. Igara Oliveira Lima
(Examinadora interna/UAS/CES/UFCG)

Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luis
(Examinador interno/UAS/CES/UFCG)

Dedico este trabalho a Deus por ter me dado o dom da vida e por me abençoar a cada dia dela. A João Paulo e Almirza Braga pelo apoio financeiro, mas principalmente pelo apoio moral, dizendo sempre que eu era capaz. A minha família que durante toda a minha jornada, esteve ao meu lado em todos os momentos, acreditando sempre no meu potencial. Dedico a vocês esta vitória!

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a DEUS, o criador do céu e da terra, sem O qual não existiríamos.

Aos meus pais Margarida de Sousa e Francisco Rodrigues, pois sem a união dos mesmos não tinha sido concebido.

Aos meus irmãos pelo apoio e força para que eu concluísse essa tão sonhada etapa de minha vida.

A João Paulo e Almira Braga, pela bolsa concedida, mas principalmente pela confiança em mim deposita, foi nela que eu sempre busquei forças para vencer as batalhas da vida.

À professora Dr^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza pelo apoio, confiança e paciência na orientação, que tornaram possível o desenvolvimento e a conclusão desta monografia. Não podia ser outra minha orientadora, pois nossa história foi bem marcante, a senhora é uma das poucas pessoas que sabem minha verdadeira história de vida.

A Maria da Glória Batista minha “Co-orientadora do coração”, por toda ajuda prestada, você é simplesmente fantástica.

A todos dos professores do curso de Farmácia/UFCG, com os quais eu tive o privilégio de conviver, não apenas os Farmacêuticos, mas os de todas as áreas afins, vocês foram muito importantes na minha vida acadêmica e no desenvolvimento desta monografia.

A Gerivaldo Bezerra pelo companheirismo e paciência ao longo desses cinco anos de convivência.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constante, não citarei nomes para não pecar por esquecimento, sintam-se lembrados. Não esquecendo as pessoas que torciam contra, era de vocês a força que precisava para continuar caminhando. Só em pensar que vocês torciam contra minhas forças se refaziam quase que instantaneamente.

E a todos as pessoas que contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

“O Altíssimo deu-lhes a ciência da medicina para ser honrado em suas maravilhas; e dela se serve para acalmar as dores e curá-las; o farmacêutico faz misturas agradáveis, compõe unguentos úteis à saúde, e seu trabalho não terminará, até que a paz divina se estenda sobre a face da terra.”

(Eclesiástico - 38, 6-8).

RESUMO

As infecções micóticas que acometem os humanos incidem de formas diversas, apresentando-se como micoses superficiais, sendo assim, de fácil tratamento até micoses sistêmicas, disseminadas no organismo, as quais podem tornar-se potencialmente fatais. Em se tratando do couro cabeludo, a dermatite seborreica e a caspa são as principais manifestações atribuídas aos fungos, sobretudo aos do gênero *Malassezia*, tendo maior prevalência a espécie *Malassezia furfur*. O xampu de cetoconazol é um dos mais utilizados para o tratamento da caspa e dermatite seborreica, sendo a concentração de 2% a mais comumente veiculada em formulações de xampus, mas tem apresentado problemas de estabilidade. Esse trabalho objetivou avaliar a eficácia microbiológica de xampus de cetoconazol em formulação convencional e microemulsionada, frente a cepas de *Candida albicans*. A potência do cetoconazol presente no xampu foi determinada através do método de difusão em ágar – cilindros em placas, com delineamento 2 x 2 e por doseamento por espectrofotometria UV/visível. Os parâmetros empregados para a realização do ensaio microbiológico foram os seguintes: *Candida albicans* como microrganismo teste, concentração do inóculo de 0,5%, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, concentração das soluções de 100 e 200 µg/mL e incubação das placas por 48 horas, 37 °C. A potência do xampu microemulsionado em relação ao xampu convencional foi de 99,13%, ou seja, o xampu microemulsionado tem potência semelhante ao xampu convencional; em relação ao doseamento por espectrofotometria UV/visível o xampu microemulsionado apresentou teor de 101,07 %, superior a concentração teórica estipulada enquanto o xampu convencional apresentou teor de 86,15 %. Portanto, o xampu de cetoconazol microemulsionado ancora-se com uma alternativa promissora no tratamento da caspa.

Palavras-chave: Xampu. Potência. Eficácia. Cetoconazol. Microemulsão.

ABSTRACT

The mycotic infections affecting humans relate in different ways, presenting as superficial mycoses, so easy to treat systemic mycoses, disseminated in the body, which can become life-threatening. In the case of the scalp, seborrheic dermatitis and dandruff are the main manifestations attributed to fungi, especially those of the genus *Malassezia*, with higher prevalence species *Malassezia furfur*. The ketoconazole shampoo is one of the most widely used for dandruff and seborrheic dermatitis treatment, and the 2% concentration is the most commonly conveyed in the shampoos formulation, but has presented problems of stability. This study aimed to evaluate the microbiological efficacy of ketoconazole shampoos in conventional and microemulsion formulation against strains of *Candida albicans*. The ketoconazole potency present in the shampoo was determined by the agar diffusion method - cylinder plates with 2 x 2 design and the determination of ketoconazole shampoos in the UV / visible spectrophotometry. The parameters used for conducting microbiological testing were: *Candida albicans* as a test microorganism, inoculum concentration of 0.5% agar culture medium, Sabouraud dextrose 2%, concentration of solutions 100 and 200 mg / ml and incubation the plates for 48 hours, 37 ° C. The potency of the microemulsion shampoo compared to conventional shampoo was 99.13%, ie, the microemulsion shampoo has similar potency to conventional shampoo, with respect to the determination by UV / visible spectrophotometry showed the microemulsion shampoo content of 101.07% higher than the theoretical concentration stipulated while conventional shampoo submitted content 86.15%. Therefore, the microemulsion ketoconazole shampoo is anchored with a promising alternative in the treatment of dandruff.

Keywords: Shampoo. Power. Effectiveness. Ketoconazole. Microemulsion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Tipos morfológicos de <i>Candida albicans</i> : levedura (1A), pseudo-hifas (1B) e hifas verdadeiras (1C).....	22
FIGURA 2 – Estrutura característica dos imidazólicos (A) e triazólicos (B).....	23
FIGURA 3 – Estrutura química do Cetoconazol, observar o núcleo imidazol característico.....	24
FIGURA 4 – Representação esquemática da metodologia para preparação da solução de cetoconazol padrão para o ensaio de potência antimicrobiana.....	34
FIGURA 5 – Representação esquemática da metodologia para preparação das amostras de xampu convencional (Xc) e xampu microemulsionado (Xm) para o ensaio de potência antimicrobiana.....	35
FIGURA 6 – Representação esquemática do procedimento de padronização do inóculo - <i>C. albicans</i> à 25 %T.....	36
FIGURA 7 – Representação esquemática do procedimento de realização do ensaio microbiológico.....	37
FIGURA 8 – Representação esquemática da metodologia para confecção da curva de calibração.....	38
FIGURA 9 – Representação esquemática da metodologia para o doseamento de cetoconazol em xampus por espectrofotometria UV.....	39
FIGURA 10 – Doseamento microbiológico (método de difusão em ágar- cilindros em placas), utilizando <i>Candida albicans</i> como microrganismo teste, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C. Cetoconazol substância de referência com concentrações de 200 (P2) e 100 (P1) µg/mL e xampu convencional com concentrações de 100 (A1) e 200 (A2) µg/mL. Notar a não formação de halo de inibição ao redor das amostras de cetoconazol substância de referência.....	42

FIGURA 11 – Doseamento microbiológico (método de difusão em ágar- cilindros em placas), utilizando *Candida albicans* como microrganismo teste, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C. Xampu convencional com concentrações de 200 (C2) e 100 (C1) µg/mL e xampu microemulsionado com concentrações de 100 (M1) e 200 (M2) µg/mL..... 44

FIGURA 12 – Cálculo da potência do xampu microemulsionado de cetoconazol em relação ao xampu convencional pela equação de Hewitt..... 45

FIGURA 13 – Curva padrão de soluções de cetoconazol obtida por espectrofotometria UV-Vis a 266nm (n=3)..... 49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Diâmetros, médias, desvios-padrão e coeficientes de variação dos halos de inibição para o ensaio de potência xampu de cetoconazol convencional versus microemulsionado, obtidos através de ensaio microbiológico - método de difusão em ágar - cilindros em placas utilizando meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, <i>Candida albicans</i> como microrganismo teste, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C (delineamento 2 x 2). Xampu microemulsionado com concentrações de 200 (A2) e 100 (A1) µg/mL e xampu convencional com concentrações de 200 (P2) e 100 (P1) e µg/mL.....	43
TABELA 2 – Resultados das leituras para diferentes concentrações de cetoconazol em espectrofotometria UV-Vis.....	48
TABELA 3 – Resultados do doseamento dos xampus para a quantificação do cetoconazol por espectrofotometria UV-Vis.....	50
TABELA 4 – Composição do xampu convencional de cetoconazol.....	62
TABELA 5 – Composição do xampu microemulsionado de cetoconazol.....	62
TABELA 6 – Composição da microemulsão utilizada no xampu de cetoconazol.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Absorbância
ASD	Ágar Sabouraud-dextrose
b	Caminho ótico
c	Concentração
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMD	Concentração média determinada
CV	Coefficiente de variância
D	Dalton
DCB	Denominação comum brasileira
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio padrão relativo
h	Hora
MEs	Microemulsões
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mm	Milímetros
n	Número de repetições
nm	Nanômetros
pH	Potencial de hidrogeniônico
Pow	Coefficiente de partição octanol-água
T	Transmitância
UV-Vis	Ultravioleta visível
X	Concentração em $\mu\text{g/mL}$

Xc	Xampu convencional
Xm	Xampu microemulsionado
y	Absorbância do espectro
μg	Microgramas
μL	Microlitros

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
°C	Graus Celsius
ε	Absortividade molar
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3. FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1 Doenças Fúngicas	19
3.2 Cetoconazol	23
3.3 Xampus	26
3.3.1 Xampu de cetoconazol.....	27
3.4 Controle de Qualidade	28
3.4.1 Controle de qualidade microbiológico	29
3.4.1.1 Ensaio Microbiológico por Difusão em Ágar	29
3.4.1.2 Espectrofotometria no UV/Visível	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 Material	32
4.1.1 Matérias-primas	32
4.1.2 Equipamentos e Acessórios	32
4.2 Métodos	33
4.2.1 Ensaio Microbiológico (Adaptado de STAUB, 2005).	33
4.2.1.1 Preparo das soluções de cetoconazol substância química de referência (SQR) .	33
4.2.1.2 Preparo das Soluções das Amostras, Xampu Convencional (Xc) e Xampu Microemulsionado (Xm)	34
4.2.1.3 Preparo do Meio de Cultura.....	35
4.2.1.4 Preparo do Inóculo	36
4.2.1.5 Determinação do Teor de Cetoconazol nos Xampus pelo Método de Difusão em Ágar	37
4.2.2 Doseamento do Cetoconazol por Espectrofotometria no UV/Visível (AZEVEDO, 2012).	38
4.2.2.1 Preparação da Curva de Calibração	38
4.2.2.2 Preparação das Amostras e Leitura em Espectrofotômetro UV/visível.	39

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1 Determinação da Potência Antifúngica do Cetoconazol nos Xampus pelo Método de Difusão em Ágar	41
5.2 Doseamento do Cetoconazol por Espectrofotometria no UV/Visível (AZEVEDO, 2012).....	48
5.2.1 Curva de Calibração	48
5.2.2 Doseamento dos xampus de cetoconazol por Espectrofotometria UV/visível.....	49
6. CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE	61

1. INTRODUÇÃO

As infecções causadas por fungos estão entre as causas mais comuns de doenças cutâneas. Essas vão desde micoses superficiais, sendo assim, de fácil tratamento até micoses sistêmicas, disseminadas no organismo, as quais podem tornar-se potencialmente fatais. (STAUB et al., 2007; AZEVEDO, 2012).

A Candidíase ou candidose é uma micose causada por leveduras do gênero *Candida*. A *Candida albicans* é uma levedura diploide com história de dimorfismo fúngico invertido, ou seja, enquanto outros fungos se encontram na natureza na fase miceliana e causam doenças no homem na fase leveduriforme, a *C. albicans* comporta-se de modo contrário (BARBEDO E SGARBI, 2010). Pode colonizar o trato intestinal, oral, vaginal, respiratório, urinário, sanguíneo, etc. Contudo, num paciente imunocomprometido, esta levedura pode causar sérias infecções nas mucosas, que incluem candidíases vaginais e infecções orais ou sistêmicas (CARDOSO, 2004).

Em se tratando do couro cabeludo, a dermatite seborreica e a caspa são as principais manifestações atribuídas aos fungos, sobretudo aos do gênero *Malassezia*, tendo maior prevalência a espécie *Malassezia furfur*. Apresentando características lipofílicas, esses microrganismos acumulam-se principalmente em áreas ricas em glândulas sebáceas, ocasionando eritema, prurido e descamação. Embora a dermatite seborreica e a caspa não representem risco vital, como todas as micoses superficiais, sua ocorrência pode levar a uma baixa auto-estima, influenciando de forma negativa a qualidade de vida do indivíduo. Os xampus, destinados ao controle dessas afecções cutâneas, são produtos de tratamento capilar prescritos com grande frequência (FERREIRA, 2008; AZEVEDO, 2012).

O cetoconazol é um agente antifúngico de ação sistêmica e tópica que desempenha um importante papel no tratamento de micoses superficiais por apresentar baixo custo e amplo espectro, apresentando ação contra fungos como *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton* e *Pityrosporum ovale* (FUJIWARA, 2009).

O xampu de cetoconazol é um dos mais utilizados para o tratamento da caspa e dermatite seborreica, sendo a concentração de 2% a mais comumente veiculada em formulações de xampus (RASTINE, 2007). O tratamento exige aplicação regular deste produto sobre o cabelo e couro cabeludo, evitando assim, as recidivas da doença (PONS JUNIOR, 2011).

A avaliação da qualidade dos antifúngicos, bem como de todos os fármacos e medicamentos, é de suma importância e, portanto, deve corresponder à descrição estabelecida

nos códigos oficiais. Dentre os métodos de análise do cetoconazol descritos na literatura encontram-se espectrofotometria e cromatografia líquida de alta eficiência para comprimidos e avaliação microbiológica por difusão em ágar para cetoconazol xampu (SANTOS et al, 2009; RUBIM, 2012).

O ensaio microbiológico de difusão em ágar tem por finalidade a avaliação da potência de antimicrobianos por meio da avaliação das dimensões dos halos de inibição formados pela difusão da solução do fármaco no meio adequado inoculado com o microrganismo teste. Uma vantagem deste tipo de determinação é que não requer equipamentos especializados e dispendiosos, além de não utilizar solventes potencialmente tóxicos para o analista em grande quantidade (ESCARRONE et al., 2007).

A espectrofotometria UV-Visível é uma das técnicas analíticas mais empregadas na determinação da concentração de fármacos em amostras de medicamentos, em função de sua robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas. O método baseia-se na absorção de luz pela amostra, a parte da molécula responsável por essa absorção de luz é chamada de cromóforo. Esta técnica obedece à lei de Lambert-Beer, o qual estabelece que a absorbância seja proporcional à concentração da espécie absorvente e se aplica à maioria das substâncias que possuem radiação monocromática (FERREIRA et al, 2013).

A avaliação da eficácia terapêutica de produtos medicamentosos, seja ele de ação sistêmica ou local, constitui um aspecto de preocupação, pois existem casos em que a faixa entre dose ineficaz e dose tóxica é muito próxima. Assim a pesquisa e/ou avaliação da eficácia desses medicamentos é um importante meio de avaliar o êxito do tratamento e, conseqüentemente, a resposta do paciente ao esquema terapêutico utilizado. O monitoramento desse parâmetro em laboratórios de controle de qualidade permite a fabricação e comercialização de medicamentos cada vez mais eficazes. O estudo de eficácia é parte integrante da garantia da qualidade, tendo por finalidade avaliar a efetividade dos fármacos ou medicamentos em desenvolvimento. Assim, percebe-se a importância da comprovação da eficácia do xampu microemulsionado de cetoconazol, onde, através dos resultados obtidos, espera-se auxiliar no desenvolvimento e produção de novas formas farmacêuticas mais estáveis e conseqüentemente mais efetivas.

Com base no exposto esse trabalho objetivou avaliar a eficácia microbiológica de xampu de cetoconazol frente a cepas de *Candida albicans*, comparando a capacidade de inibição de *Candida albicans* das formulações de xampu frente à substância padrão.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia microbiológica de xampu de cetoconazol frente a cepas de *Candida albicans*.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar o doseamento do cetoconazol em xampu, através de ensaio microbiológico pelo método de difusão em ágar;
- Comparar a capacidade de inibição de *Candida albicans* das formulações de xampu frente à substância padrão;
- Fazer o doseamento do cetoconazol nos xampus por espectrofotometria UV/visível;
- Comparar os resultados da potência e doseamento obtidos pelos métodos microbiológico e físico-químico, respectivamente;
- Avaliar a eficácia das duas formulações de xampu.

3. FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Doenças Fúngicas

Dermatófitos são um grupo de fungos estreitamente relacionados, capazes de invadir tecidos queratinizados como pele, cabelo, pelo e unha, causando infecções denominadas dermatofitoses. Estudos epidemiológicos indicam que essas doenças estão entre as mais prevalentes no mundo, sendo considerada a segunda doença de pele mais frequente na população adulta. Estima-se que 10-15% da população humana poderão ser acometidos por esses micro-organismos no decorrer de sua vida. Mais de 30 espécies de dermatófitos são conhecidas, mas a maioria está taxonomicamente classificada em três gêneros anamórficos: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, sendo que as espécies mais frequentemente relatadas como causadoras de infecção em humanos são *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton tonsurans* e *Epidermophyton floccosum*, as quais apresentam distribuição geográfica bastante variável, dependendo das condições socioeconômicas, higiênicas e ambientais da população. Entre os fatores de risco associados com a dermatofitose incluem-se: aumento da idade, imunossupressão, histórico familiar para Diabetes mellitus, doença vascular periférica, distúrbios relacionados com a pele, como hiperidrose e psoríase, uso de calçados apertados e traumas nas unhas (MAGAGNIN et al, 2010).

As infecções fúngicas superficiais podem ser classificadas em dermatomicoses e candidíase. As dermatomicoses são infecções da pele, dos cabelos e das unhas causadas por dermatófitos. As mais comuns são produzidas por microrganismos do gênero *Tinea*, dentre as quais se destacam *Tinea capitis*, *Tinea cruris*, *Tinea pedis* e *Tinea corporis*. As malassezioses, formas clínicas da infecção causada pela levedura *Malassezia*, como Pitiríase versicolor, foliculite por *Malassezia*, caspa e dermatite seborréica também são corriqueiras; sendo, as duas últimas correlacionadas ao fungo *Malassezia furfur* (STAUB et al., 2007). Na candidíase superficial, o microrganismo leveduriforme infecta as mucosas da boca (afta), da vagina ou pele (CABRAL, 2014).

As infecções causadas por fungos representam um dos principais problemas sanitários em nível mundial, sendo responsável por cerca de 10 a 15% das infecções hospitalares transmitidas a pacientes internados, podendo ser fatal em vários casos, além de causar 5 a 10% das consultas dermatológicas (PONS JUNIOR, 2011).

Em se tratando do couro cabeludo, a caspa e a dermatite seborreica são as principais manifestações atribuídas aos fungos, sobretudo aos do gênero *Malassezia*, tendo maior prevalência a espécie *Malassezia furfur*. Apresentando características lipofílicas, esses microrganismos acumulam-se principalmente em áreas ricas em glândulas sebáceas, ocasionando eritema, prurido e descamação. Embora a dermatite seborreica e a caspa não representem risco vital, como todas as micoses superficiais, sua ocorrência pode levar a uma baixa auto-estima, influenciando de forma negativa a qualidade de vida do indivíduo. Os xampus, destinados ao controle dessas afecções cutâneas, são produtos de tratamento capilar prescritos com grande frequência (FERREIRA, 2008; AZEVEDO, 2012).

A caspa é a descamação esbranquiçada do tecido do couro cabeludo. Sua intensificação chama-se seborreia ou dermatite seborreica e inclui inflamações e lesões avermelhadas que podem atingir outras áreas não apenas o couro cabeludo. Sabe-se que ela é bastante suscetível às variações bruscas ou constantes de temperatura; stress, alterações hormonais, no caso dos homens, o excesso de testosterona aumenta a atividade da glândula sebácea, exposição excessiva a altas temperaturas, excesso de química, utilização incorreta de produtos e processos alérgicos estão entre os fatores desencadeantes dessa doença (VIEIRA, MACHADO E MOSER, 2014).

A dermatite seborreica ou eczema seborreico é definida como uma alteração crônica, não contagiosa e recorrente, em que ocorre inflamação nas áreas da pele onde existe um maior número de glândulas sebáceas. Caracterizando-se por placas eritemato-descamativas de formato arredondado ou ovalado, localizadas em áreas mais oleosas como couro cabeludo, face, colo e dorso, porém, outras áreas como virilha, axilas, região mamária e nádegas também podem ser acometidas por tal inflamação (FORMARIZ et al., 2005).

O tratamento dessas infecções fúngicas, de caráter superficial ou sistêmico se faz usando agentes antifúngicos, destacando-se os imidazólicos e os triazólicos, os quais incrementaram importantes progressos na terapêutica destas enfermidades (AZEVEDO, 2012).

O tratamento da caspa e dermatite seborreica é estabelecido, de acordo com a idade do paciente e com a intensidade e extensão das manifestações clínicas. Esse é geralmente realizado com medicamentos de uso tópico na forma de xampus, loções capilares ou cremes e,

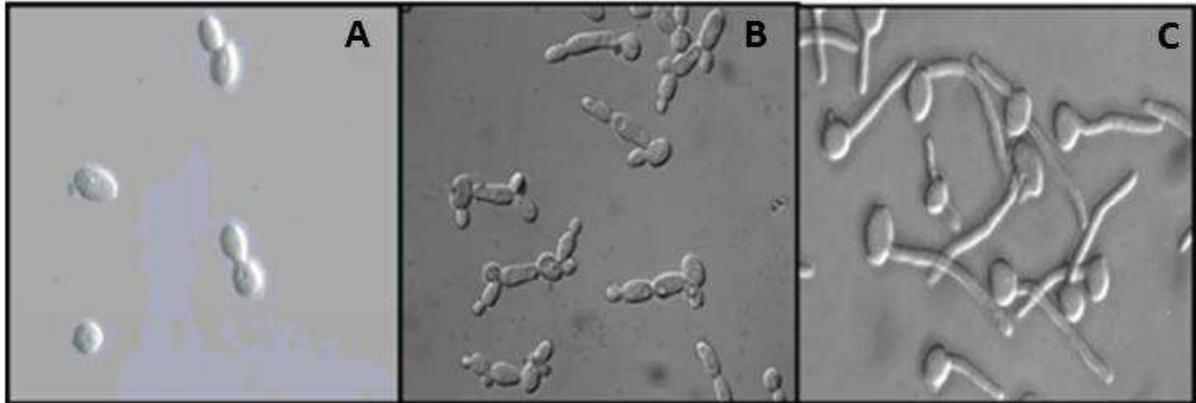
em alguns casos, medicamentos de ação sistêmica também podem ser utilizadas. Em geral, nas formas discretas, as lavagens são suficientes, associadas à aplicação de loções ou xampus contendo cetoconazol (FORMARIZ et al., 2005; PROENÇA, 2007; CUNHA, SILVA E CHORILLI, 2009).

Candidíase ou candidose é uma micose causada por leveduras do gênero *Candida*, em que a lesão pode ser branda, aguda ou crônica, superficial ou profunda, e de espectro clínico bem variável, seu principal agente das candidíases é a *Candida albicans* (BARBEDO E SGARBI, 2010).

As leveduras são fungos oportunistas responsáveis pela maior parte das infecções fúngicas nos seres humanos. Durante as últimas décadas, a incidência de infecções causadas por leveduras em humanos sofreu um grande aumento, especialmente em doentes com o sistema imunológico comprometido (CARDOSO, 2004).

A *C. albicans* é uma levedura diploide com história de dimorfismo fúngico invertido, ou seja, enquanto outros fungos se encontram na natureza na fase miceliana e causam doenças no homem na fase leveduriforme, a *C. albicans* comporta-se de modo contrário. A biologia desse microrganismo apresenta diferentes aspectos, entre eles, a habilidade de se apresentar com distintas morfologias (Figura 1). A fase unicelular leveduriforme (Figura 1A) pode gerar um broto e formar hifas verdadeiras (Figura 1C). Entre esses dois extremos, brotamento e filamentação, o fungo ainda pode exibir uma variedade de morfologias durante seu crescimento, formando assim as pseudo-hifas (Figura 1B), que na realidade são leveduras alongadas unidas entre si. A mudança na morfologia de fase leveduriforme para filamentosa pode ser induzida por uma variedade de condições ambientais, como variação de temperatura e de pH (BARBEDO E SGARBI, 2010).

Figura 1- Tipos morfológicos de *Candida albicans*: levedura (1A), pseudo-hifas (1B) e hifas verdadeiras (1C).



Fonte: CAMPOS, 2011.

As células de *C. albicans* possuem a parede celular composta de aproximadamente 80 a 90% de polissacarídeos de glicose com ramificações de ligações β -1,6 e β -1,3. Moléculas de N-acetil-D-glicosamina ligadas a quitina contendo ligações β -1,4 e polímeros de manose ligados covalentemente as manoproteínas, também são encontrados na composição dessa célula, além de proteínas (cerca de 6 a 25 %) e lipídeos (SANTANA, 2013).

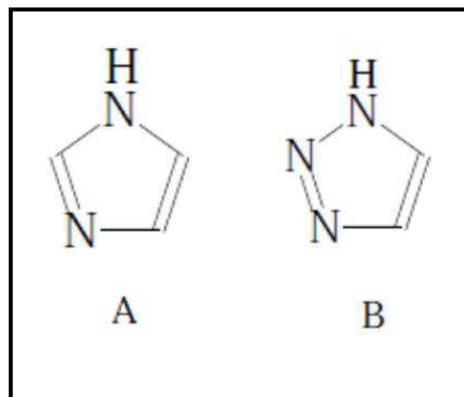
A *Candida albicans* é, sem dúvida alguma, a espécie mais frequentemente isolada de infecções superficiais e invasivas em diferentes sítios anatômicos e em casuísticas de todas as partes do mundo. Trata-se de levedura com potencial patogênico bastante conhecido, apresentando como principais fatores de patogenicidade e virulência a capacidade de aderência a diferentes mucosas e epitélios, o dimorfismo com produção de estruturas filamentosas que auxiliam a invasão tissular, a termotolerância significativa, e a produção de enzimas como proteinases e fosfolipases. Esta espécie é naturalmente sensível a todas os fármacos antifúngicos de uso sistêmico (COLOMBO E GUIMARÃES, 2003).

Esta levedura é um organismo comensal estando presente no ser humano sem causar infecções, coexistindo com o hospedeiro. Pode colonizar o trato intestinal, oral, vaginal, respiratório, urinário, sanguíneo, etc. Contudo, num paciente imunocomprometido, esta levedura pode causar sérias infecções nas mucosas, que incluem candidíases vaginais e infecções orais ou sistêmicas (CARDOSO, 2004).

3.2 Cetoconazol

Os azóis são agentes antifúngicos totalmente sintéticos, divididos em dois grupos, caracterizados pela presença de um anel pentagonal na sua estrutura molecular. Esse anel pode conter três átomos de carbono e dois de nitrogênio (imidazólicos) (Figura 2A), ou dois de carbono e três de nitrogênio (triazólicos) (Figura 2B) (AZEVEDO, 2012).

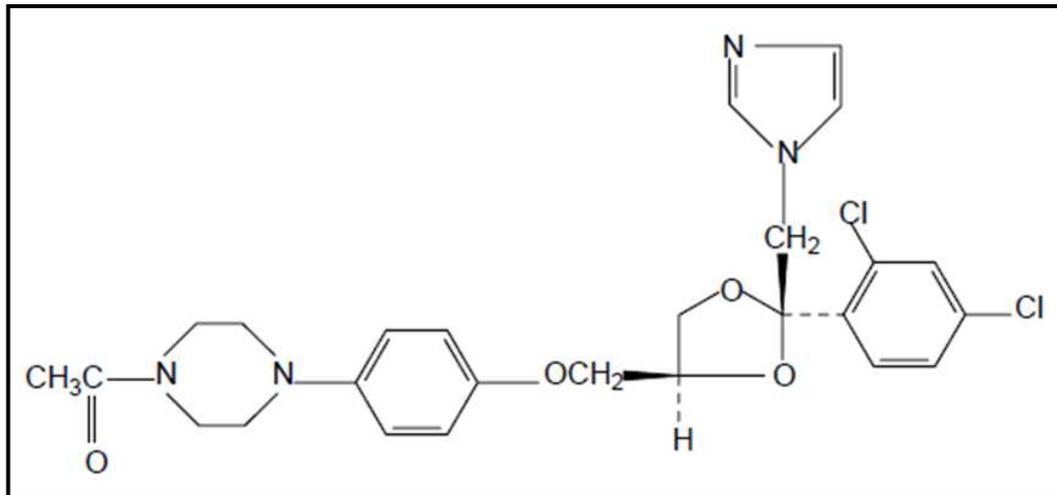
Figura 2 - Estrutura característica dos imidazólicos (A) e triazólicos (B).



Fonte: AZEVEDO, 2012.

Pertencendo a classe dos imidazólicos o cetoconazol é um dos diferentes antifúngicos atualmente utilizados no tratamento de infecções micóticas. Sua estrutura química é caracterizada pela presença de três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio, formando o núcleo imidazol, característico dos antifúngicos dessa classe (Figura 3). (STAUB, 2005; AZEVEDO, 2012).

Figura 3- Estrutura química do Cetoconazol, observar o núcleo imidazol característico.



Fonte: STAUB, 2005.

O cetoconazol foi sintetizado pela primeira vez por pesquisadores da Janssen Indústria Farmacêutica e Química Ltda e introduzido na terapêutica no final dos anos 70. Seu nome químico é *cis*-1-acetil-4-[4-[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-imidazol-1-ilmetil)-1,3-dioxalan-4-il]metoxifenil]-piperazina. Possui fórmula mínima $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ e massa molecular de 531,4 D, sendo encontrado na forma de pó branco cristalino, com temperatura de fusão entre 148 a 152°C. O fármaco puro deve conter no mínimo 98% e no máximo 102% de cetoconazol (PROENÇA, 2007; AZEVEDO, 2012).

Com relação a sua solubilidade, o cetoconazol é praticamente insolúvel em água, solúvel em clorofórmio (1:2), metanol (1:9); levemente solúvel em etanol (1:54) e muito pouco solúvel em éter, no entanto, apresenta uma solubilidade intrínseca em água acidificada. Seu coeficiente de partição octanol-água (P_{ow}) é de 3,547 à temperatura de 25°C. Quando administrado por via oral, sua solubilização e absorção requerem um pH gástrico inferior a 3. Pode ser administrado por via oral ou tópica. Sua denominação comum brasileira (DCB) é: Cetoconazol (PONS JUNIOR, 2011).

Por ser um agente antifúngico de ação sistêmica e tópica, o cetoconazol desempenha um importante papel no tratamento de micoses superficiais por apresentar baixo custo e amplo espectro, podendo ser veiculado em várias formas farmacêuticas, apresentando ação contra os gêneros fúngicos como *Candida*, *Cryptococcus*, *Mallassezia*, *Epidermophyton*, *Microsporium*, *Trichopytum* e *Pityrosporium ovale* (FUJIWARA, 2009).

O cetoconazol pode ter ação fungicida, ou seja, aquela que provoca a morte do microrganismo ou fungistática, a que apenas inibe o crescimento, isso vai depender da concentração do fármaco utilizada. A ação antifúngica do cetoconazol se deve ao fato do mesmo inibir o sistema citocrômico que causa a 14-desmetilação do lanosterol, um precursor do ergosterol, e sendo assim impede a sua biossíntese; este efeito altera a permeabilidade da membrana da célula fúngica, o que vai levar a parada do crescimento ou a morte do fungo. Além disso, também inibe a biossíntese de triglicerídios e fosfolipídios por parte dos fungos; inibe a atividade enzimática oxidativa e peroxidativa, o que resulta na formação intracelular de concentrações tóxicas de peróxido de hidrogênio. Assim o peróxido de hidrogênio formado contribui para a deterioração das organelas subcelulares e necrose celular (RASTINE, 2007).

Esta ação resulta da atividade inibitória do cetoconazol sobre a enzima citocromo P-450, a qual é responsável pela síntese e degradação dos ácidos graxos e esteróides endógenos nas células animais, vegetais e seres unicelulares. Esta ação sobre a membrana é variável de acordo com o fungo e a dose do medicamento, agindo não só sobre as células fúngicas, mas, também, inibindo a síntese de estrogênios e testosterona no homem (PONS JUNIOR, 2011).

Os principais efeitos adversos dos fármacos azólicos estão relacionados com intolerância gastrointestinal, hepatotoxicidade, hipersensibilidade e, para o cetoconazol em doses elevadas, ginecomastia e irregularidades menstruais. São drogas teratogênicas, por isso, não devem ser administradas a gestantes. Com relação às interações medicamentosas temos que várias classes de fármacos interagem com os azólicos, umas reduzindo os níveis séricos do antifúngico como a rifampicina, isoniazida, fenitoína, fenobarbital, carbamazepina, outras como a ciclosporina, digoxina, terfenadina, warfarina, benzodiazepínicos e inibidores de protease do vírus da imunodeficiência humana tem seus níveis elevados quando usados com esses antifúngicos (MARTINEZ, 2006).

As formas de uso tópico do cetoconazol como xampus, loções capilares ou cremes são largamente empregados na terapêutica dermatológica. O cetoconazol é comumente veiculado em xampus ou loções capilares nas concentrações de 1 e 2%, sendo, a concentração de 2% a mais efetiva para o tratamento da caspa e dermatite seborreica. O tratamento tópico com cetoconazol exige aplicação regular do produto sobre a pele e couro cabeludo para evitar as recidivas da doença (AZEVEDO, 2012).

3.3 Xampus

Por definição, o xampu é um produto cosmético ou de uso medicinal, podendo apresentar-se na forma de líquido, gel, emulsão ou aerossol, utilizado para o cuidado dos cabelos e couro cabeludo. Consiste num produto com tensoativos que, através de propriedades detergentes, molhantes, emulsificantes e formadoras de espuma, promove a limpeza do cabelo, removendo da superfície do couro cabeludo e cabelo as impurezas provenientes das secreções, resíduos celulares e do ambiente, ou seja, asseguram a limpeza do cabelo, deixando-o suave, brilhante e maleável e ainda devolvendo ou acentuando seus aspectos naturais como maciez, volume, penteabilidade, etc. Assim como também tem a finalidade de tratar o couro cabeludo, melhorando seu aspecto e facilitando suas funções (FERREIRA, 2010; ALMEIDA, 2012; PALERMO e ZANETTI, 2014).

Os xampus podem ser classificados quanto a sua aplicabilidade: em cosmética ou medicinal; aparência: transparente, opaca ou perolada; tipo de cabelo e/ou couro cabeludo: seco, oleoso ou normal; e quanto à finalidade de uso: como auxiliar na prevenção da queda, caspa, seborreia excessiva, entre outras. Os produtos transparentes transmitem a sensação de pureza e limpeza, sendo indicados para cabelos oleosos, enquanto as fórmulas opacas e peroladas transmitem a ideia de tratamento, sendo também indicadas para cabelos secos. Os aspectos que geralmente são avaliados em xampus são viscosidade, espuma, eliminação com o enxágue, estabilidade, inocuidade, brilho, cor, odor, funcionalidade e economia. Devem ser estáveis frente às alterações de temperatura ambiental e exposição à luz solar durante seu tempo de vida (FUJIWARA et al, 2009).

Xampus medicamentosos são aqueles que contêm em sua composição ingredientes farmacologicamente ativos, são frequentemente usados na prática médica, principalmente na área dermatológica. São utilizados em problemas que afetam o couro cabeludo, como psoríase, caspa, dermatite seborreica, parasitoses e foliculite. A eficácia terapêutica dos xampus medicamentosos sofre influência direta da viscosidade e do tempo de permanência da espuma no couro cabeludo. A viscosidade das formulações deve permitir uma boa aderência ao couro cabeludo a fim de que haja a ação antimicrobiana; o tempo de permanência deve ser igual ou superior a cinco minutos antes do enxágue para que o produto apresente a eficácia esperada (FERREIRA, 2010).

3.3.1 Xampu de Cetoconazol

O xampu de cetoconazol é um dos mais utilizados para o tratamento da caspa e dermatite seborréica, sendo a concentração de 2% a mais comumente veiculada em formulações de xampus (RASTINE, 2007). O tratamento exige aplicação regular deste produto sobre o cabelo e couro cabeludo, evitando assim, as recidivas da doença (PONS JUNIOR, 2011).

Os xampus de cetoconazol são formulados utilizando tensoativos aniônicos e anfóteros, desengordurantes, antioxidantes, conservantes, sequestrantes, agentes de viscosidade e veículo aquoso. Em situações nas quais a formulação de cetoconazol não está adequada, o mesmo sofre processos de desestabilidade por degradação, incluindo oxidação e hidrólise, especialmente em meio aquoso, pois o preparado adquire coloração avermelhada muito rapidamente. Desse modo, o controle do pH e a quantidade de antioxidante são parâmetros importantes, da mesma maneira que o controle da temperatura e sua exposição a luz (PONS JUNIOR, 2011). Um grande problema da instabilidade de uma formulação é a diminuição no teor da substância ativa e a possível formação de produtos tóxicos de degradação (STAUB, 2005).

O cetoconazol é praticamente insolúvel em água, dificultando sua incorporação em formas farmacêuticas que utilizam o meio aquoso como veículo. Para tanto, é necessário sua prévia solubilização em meio ácido, o que pode precipitar o processo de degradação do ativo. De tal modo, a incorporação deste fármaco em sistemas microemulsionados para posterior inclusão em xampus mostra-se como uma promissora alternativa para resolver os problemas farmacotécnicos do princípio ativo, podendo, adicionalmente, melhorar a estabilidade e a eficácia terapêutica do mesmo (AZEVEDO, 2012).

3.4 Controle de Qualidade

O controle de qualidade pode ser entendido como o conjunto de atividades destinadas a verificar e assegurar que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que o produto não seja disponibilizado para uso e venda até que cumpra com a qualidade necessária preestabelecida. A qualidade dos produtos pode ser controlada por meio de métodos de ensaios de referência. A confiabilidade dos resultados deve ser comprovada e demonstrar que o procedimento conduz efetivamente ao objetivo desejado (Guia de cosméticos, ANVISA, 2008; BEZERRA, 2013).

A avaliação da qualidade dos antifúngicos, bem como de todos os fármacos e medicamentos, é de suma importância e, portanto, deve corresponder à descrição estabelecida nos códigos oficiais. Entre as análises a que são submetidos incluem-se os ensaios de identificação, pureza, atividade, métodos de doseamento, entre outros. Dentre os métodos de análise do cetoconazol descritos na literatura encontram-se espectrofotometria e cromatografia líquida de alta eficiência para comprimidos e avaliação microbiológica por difusão em ágar para cetoconazol xampu (SANTOS et al, 2009; RUBIM, 2012).

A atividade (potência) de antimicrobianos pode ser demonstrada sob condições adequadas através de seu efeito inibitório sobre o crescimento microbiano. Uma redução na atividade antimicrobiana pode revelar alterações sutis, não demonstradas por métodos químicos (USP, 2008).

A determinação da potência dos antimicrobianos é importante no controle e na garantia da qualidade das preparações farmacêuticas e faz-se necessário o desenvolvimento de procedimentos práticos e econômicos que possam ser validados e aplicados no doseamento desses fármacos.

3.4.1 Controle de qualidade microbiológico

O controle da qualidade microbiológico de medicamentos é importantíssimo para avaliação de pontos críticos de contaminação e estabelecer normas, a fim de se obter produtos de excelente qualidade, estabilidade e confiança. É definido como conjuntos de procedimentos que asseguram que ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam liberados para uso, até que a qualidade dos mesmos seja garantida. Produtos contaminados podem causar danos à saúde do consumidor, comprometimento do produto final, como degradação da formulação, inativação e oxidação dos componentes (SILVA E SILVA, 2014).

Entres os ensaios de controle de qualidade microbiológico temos o ensaio de dosagem microbiológica de antibióticos, o mesmo destina-se a determinar a potência ou atividade de um produto contendo antimicrobiano comparando a dose que inibe o crescimento de um micro-organismo susceptível em relação à dose de uma substância padrão ou preparação biológica de referência do antibiótico que produz inibição similar (FARMACOPEIA BRASILEIRA, V, Parte I. 2010).

A quantificação da substância ativa demanda sempre o emprego de uma avaliação comparativa, frente a um padrão biológico de referência. Entre os métodos oficiais da Farmacopéia Brasileira V, estão o microbiológico ou indireto, sendo a difusão em ágar (ou em placas) e o turbidimétrico (ou em tubos), os que se prestam à determinação do teor de antimicrobianos.

3.4.1.1 Ensaio Microbiológico por Difusão em Ágar

O método de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, que emprega meio de cultura sólido inoculado, distribuído em placas, em sistema de mono ou bicamada, através do qual a substância-teste se difunde. A solução-teste é aplicada sobre a superfície desse meio, em uma área restrita, e as placas são então incubadas. O crescimento do microrganismo ocorre respeitando, porém, áreas onde tenha ocorrido a difusão do antibiótico, gerando contraste e resultando na chamada zona de inibição de crescimento, ou ainda restrito a áreas onde tenha ocorrido a difusão do fator de crescimento. Tal fenômeno origina toda a teoria que embasa o método de difusão, estudada num primeiro momento apenas para antibióticos (PINTO, KANEKO E PINTO, 2010).

A aplicação do método de difusão se limita a microrganismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos. A avaliação é comparativa frente a um padrão biológico de referência (controle positivo) e a zona ou o halo de inibição de crescimento é medida partindo-se da circunferência do disco ou poço, até a margem onde há crescimento de microrganismos. As condições de incubação recomendadas são temperatura de 35-37 °C para bactérias durante 24 a 48 horas e de 25 a 27 °C por 48 a 72 horas para fungos filamentosos. As técnicas de aplicação da substância antimicrobiana no método de difusão são por meio de disco, cilindros de aço inoxidável ou vidro e perfuração em ágar (OSTROSKY et al., 2008).

Esse teste é um método prático, de fácil execução, os reagentes são relativamente econômicos, não há necessidade de equipamentos especiais, além de apresentar grande flexibilidade na escolha do número e tipo de antimicrobianos a serem testados. Entretanto, este método apresenta algumas limitações, como a dificuldade na avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos que se difundem mal através do ágar, como, por exemplo, a polimixina. O teste de bactérias nutricionalmente exigentes requer suplementação dos meios de cultura para que seja realizado. Além disso, os resultados representam apenas um valor qualitativo e apresentam dificuldades na interpretação de microrganismos anaeróbios ou fastidiosos (SEJAS et al., 2009).

3.4.1.2 Espectrofotometria no UV/Visível

A Química Analítica enfrenta com bastante frequência o desafio proveniente das mais variadas áreas da ciência, sempre com o objetivo de contribuir com o estabelecimento de metodologias analíticas cada vez mais sensíveis, seletivas, confiáveis e de menor custo. Por motivos óbvios, o controle de qualidade de produtos farmacêuticos adquire grande importância, não apenas para avaliar os processos de produção, mas principalmente para assegurar o cumprimento de padrões qualitativos e quantitativos que garantam a eficácia e segurança dos medicamentos. Deste ponto de vista, a disponibilização de metodologias analíticas confiáveis e, se possível, rápidas e de baixo custo, mostra-se extremamente importante (CORDEIRO et al, 2008).

A espectroscopia pode ser definida como a ciência que estuda a interação dos diferentes tipos de radiação com a matéria, assim, a espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta/visível (UV/Vis) é um método analítico baseado na propriedade das espécies iônicas ou moleculares de absorver determinados comprimentos de onda de radiação UV/Vis (SABINO, 2011; WEBER, 2011).

A espectrofotometria de absorção molecular se baseia na medida de transmitância (T) ou absorbância (A) de soluções contidas em uma célula transparente a radiação, tendo um caminho ótico (b) (WEBER, 2011).

A concentração (c) de um analito absorvente se relaciona literalmente com a absorbância, conforme a equação abaixo, a qual é designada lei de Beer.

$$A = -\log T = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Onde:

A = Absorbância da solução;

T = Transmitância da solução;

b = Caminho ótico (Comprimento da célula onde está a amostra;)

ϵ = Absortividade molar (Característico de cada substância).

A espectrofotometria UV-Vis é uma ferramenta analítica consolidada, apresentando um conjunto de características que favorecem sua participação em rotinas de análise química. Dentre outras, é possível destacar sua simplicidade operacional, elevada velocidade analítica, baixo custo e sensibilidade compatível com as necessidades da indústria farmacêutica. (CORDEIRO et al, 2008; MALUF et al, 2008).

Essa técnica é uma das técnicas analíticas mais empregadas na determinação da concentração de fármacos em amostras de medicamentos, em função de sua robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas. O método baseia-se na absorção de luz pela amostra, a parte da molécula responsável por essa absorção de luz é chamada de cromóforo. Esta técnica obedece à lei de Lambert-Beer, o qual estabelece que a absorbância seja proporcional à concentração da espécie absorvente e se aplica à maioria das substâncias que possuem radiação monocromática (FERREIRA et al, 2013).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

O ensaio microbiológico foi realizado utilizando-se placas de Petri (20 mm x 100 mm) e cilindros de aço inoxidável (8 mm x 6 mm x 10 mm). Esses materiais, assim como vidraria não volumétrica, utilizados no ensaio microbiológico foram esterilizados em estufa à temperatura de 180° C, durante duas horas. Para o doseamento do cetoconazol nas amostras de xampu foi usada cubeta de quartzo e as leituras foram feitas em comprimento de onda de 266 nm.

4.1.1 Matérias-primas

- Álcool Metílico;
- Cetoconazol 99,56% de pureza (Comércio e indústria Farmos Ltda), cedido pela Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida;
- Etanol 70%;
- Xampu de cetoconazol 2% (cedido pela Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida) – Apêndice A;
- Xampu microemulsionado de cetoconazol 1,5% (cedido pela Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida) – Apêndice A;
- Solução salina;
- Tampão fosfato.

4.1.2 Equipamentos e Acessórios

- Balança analítica Marte, mod AY220;
- Balança semi-analítica, Bel Engineering, Mark®;
- Espectrofotômetro Visível Digital Microprocessado, Quimis ®;
- Espectrofotômetro UV;
- Estufa de secagem e esterilização, Biopar®;
- Estufa Bacteriológica, Qualxtron®;
- Autoclave Vertical, Phoenix®;

- Pipetas automáticas, Digipet®;
- Contador digital;
- Paquímetro;
- Bico de Bunsen;
- Banho-maria Termostático, Hydrasan®;
- Vidrarias diversas (balões volumétricos, placas de Petri, erlenmeyers, béqueres, bastões de vidro, tubos de ensaio, pipeta graduada);
- Ponteiras;
- Alça platinada;
- Pissetas com álcool a 70%.

4.2 Métodos

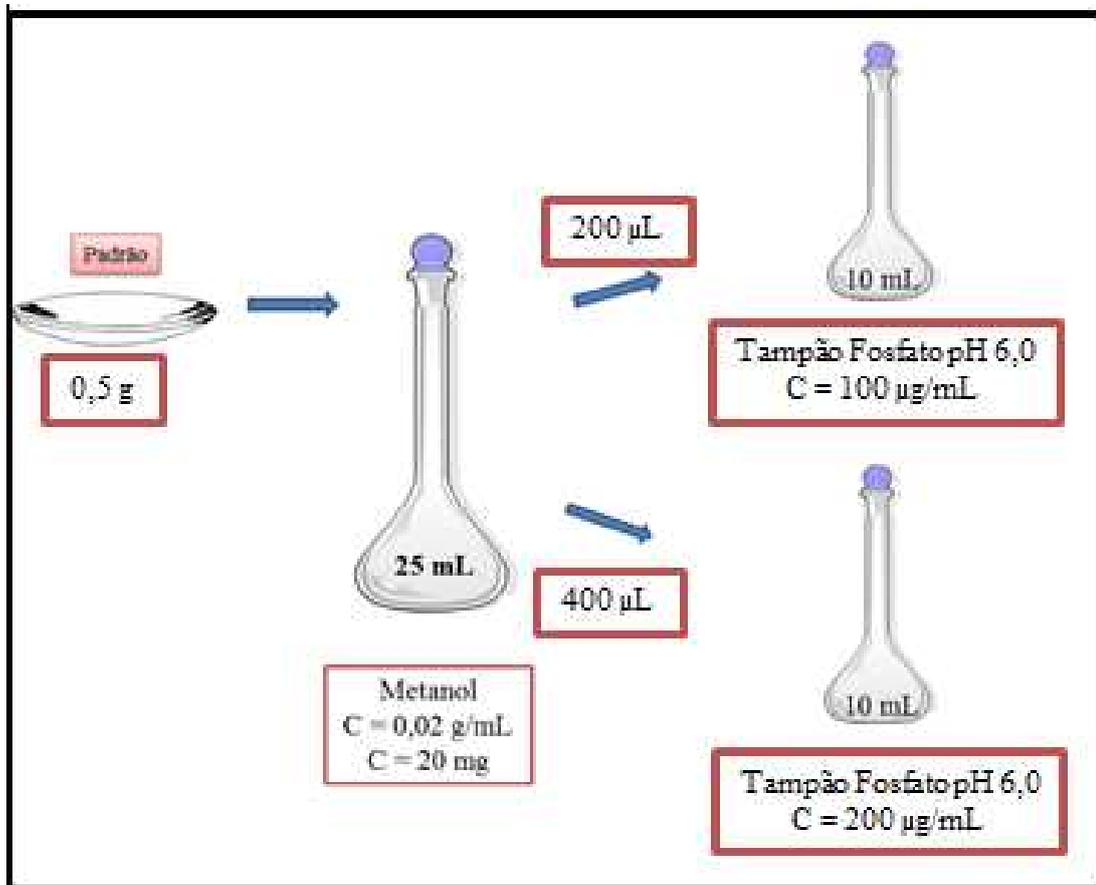
4.2.1 Ensaio Microbiológico (Adaptado de STAUB, 2005).

4.2.1.1 Preparo das soluções de cetoconazol substância química de referência (SQR)

Foi utilizado cetoconazol, substância química de referência, com teor estimado em 99,56 % e identificado pelo número de lote KE10014, cedido pela Farmácia Escola Manuel Casado de Almeida/CES/UFCEG.

Foram transferidos 500 mg de cetoconazol substância química de referência, exatamente pesados em balança analítica, para balão volumétrico de 25 mL. Então solubilizou-se o cetoconazol e completou-se o volume com o álcool metílico. Após filtração com papel de filtro comum, foram transferidos, analiticamente, 0,2 e 0,4 mL da solução com concentração de 20 mg/mL, para balões volumétricos de 10 mL e adicionou-lhes solução tampão fosfato de potássio 1 % pH 6,0 até completar o volume, obtendo concentrações finais de 100 e 200 µg/mL respectivamente, resultando ao final em 2 concentrações para análise (P1, P2), (Figura 4).

Figura 4 – Representação esquemática da metodologia para preparação da solução de cetozonazol padrão para o ensaio de potência antimicrobiana.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

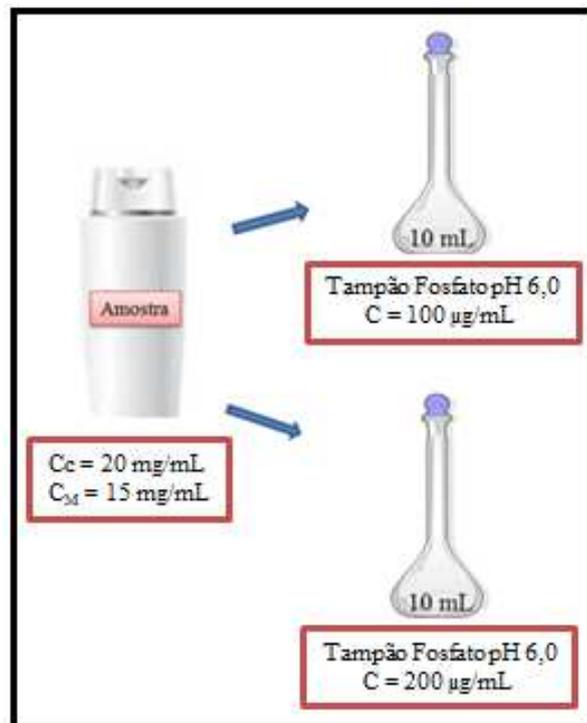
4.2.1.2 Preparo das Soluções das Amostras, Xampu Convencional (Xc) e Xampu Microemulsionado (Xm)

O xampu convencional de cetozonazol 2% (Xc) apresenta fórmula semelhante à descrita no Formulário Terapêutico Nacional e o xampu microemulsionado (Xm) contendo 1,5 % de cetozonazol, segundo fórmula desenvolvida por Azevedo, 2012.

Assim foram medidos e transferidos 0,2 e 0,4 ml da amostra Xc para balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com tampão fosfato de potássio 1 % pH 6,0, obtendo concentrações finais equivalentes à 100 e 200 µg/ml (A1, A2 respectivamente) (Figura 5).

Para as amostras do Xm foram medidos e transferidos 0,15 e 0,3 mL do xampu para balões volumétricos de 10 mL e completou-se o volume com tampão fosfato de potássio 1 % pH 6,0, obtendo as mesmas concentrações que o xampu convencional e padrão, resultando em duas amostras (A1, A2 respectivamente) (Figura 4).

Figura 5 – Representação esquemática da metodologia para preparação das amostras de xampu convencional (Xc) e xampu microemulsionado (Xm) para o ensaio de potência antimicrobiana.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

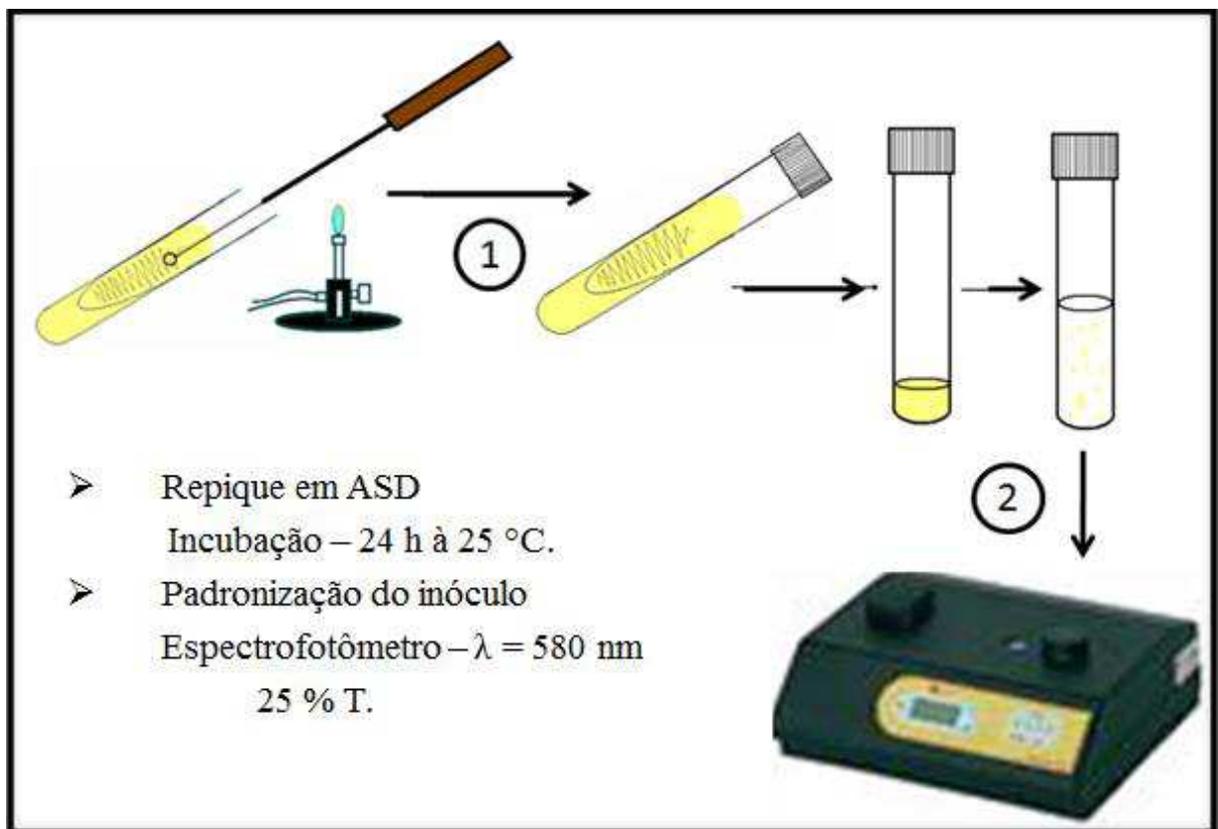
4.2.1.3 Preparo do Meio de Cultura

Para doseamento microbiológico (Avaliação da eficácia) foi utilizado ágar Sabouraud-dextrose 2 %, para manutenção e repique do microrganismo, assim como para o preparo da camada base e inóculo. O meio de cultura, Sabouraud-dextrose 2 %, foi preparado através de reconstituição do meio dessecado em água destilada. Fez-se o aquecimento do meio até total dissolução e após esterilizou-se em autoclave a 121 °C, durante 15 minutos.

4.2.1.4 Preparo do Inóculo

O microrganismo foi mantido em refrigerador, em tubo contendo ágar Sabouraud-dextrose 2 % inclinado, e repicado para outro tubo, 24 horas antes do ensaio, permanecendo à temperatura de 25 °C. No momento do ensaio, o microrganismo foi transferido para solução salina, até obter-se uma suspensão a 25 % \pm 2 % de transmitância, a 580 nm. A partir desta suspensão, preparou-se o inóculo a 0,5 % em ágar Sabouraud-dextrose 2 %, mantendo em banho-maria a 47 °C \pm 1 °C até ser distribuído nas placas (Figura 6).

Figura 6-Representação esquemática do procedimento de padronização do inóculo - *Candida albicans* à 25 % T.



Fonte: BEZERRA, 2013.

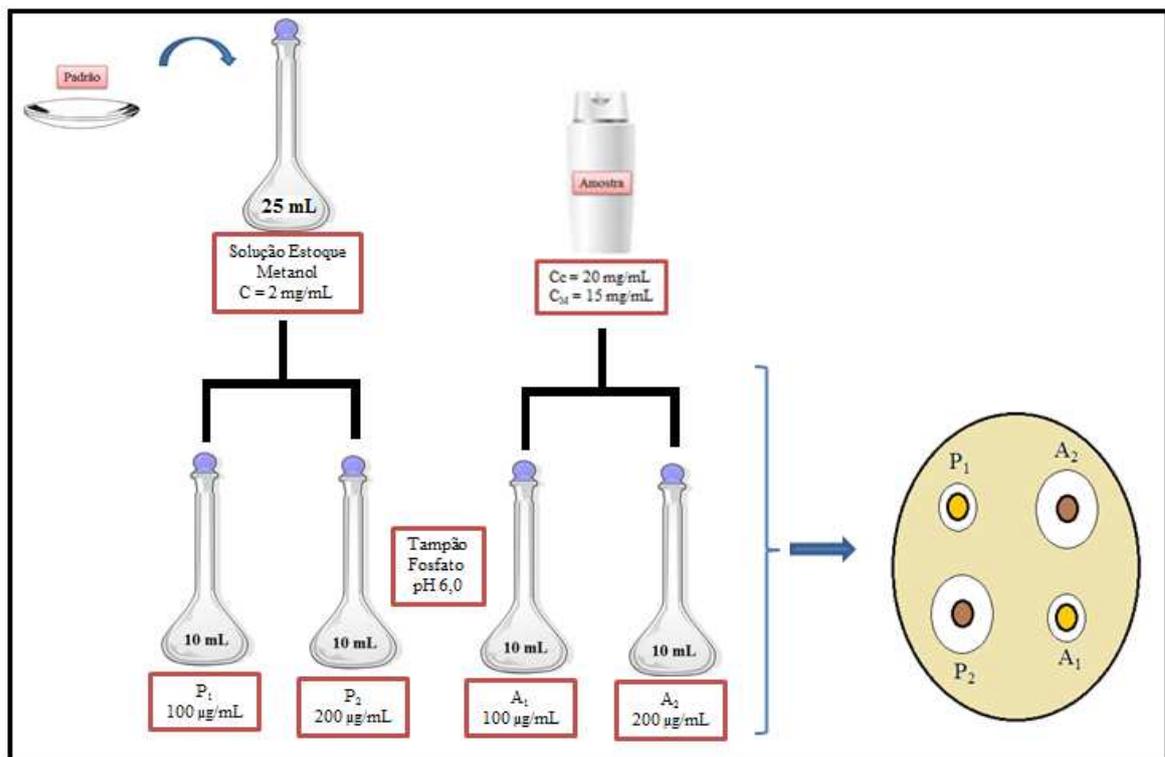
4.2.1.5 Determinação do Teor de Cetoconazol nos Xampus pelo Método de Difusão em Ágar

O teor de cetoconazol presente nos xampus foi determinado através do método de difusão em ágar - cilindros em placas, com delineamento 2 x 2.

Foram adicionados 20 mL do meio de cultura (ágar Sabouraud-dextrose 2 %) em cada placa, permanecendo as placas semiabertas até a solidificação do meio. Após a solidificação completa da camada base foram adicionados 5 mL de inóculo (camada semeada) 0,5 %. Após a solidificação do inóculo, procedeu-se à distribuição de quatro cilindros estéreis por placa, nos quais foram adicionados, em cada cilindro, 200 μ L das soluções de cetoconazol SQR (descritas no item 4.2.1) e das soluções amostra (descritas no item 4.2.2), resultando na análise de duas concentrações de cetoconazol SQR e duas concentrações das amostras de xampu de cetoconazol (Figura 7).

Durante o período de análises foram confeccionadas e avaliadas dezoito placas, das quais seis continham o cetoconazol substância de referência e o xampu convencional, seis cetoconazol substância de referência e o xampu microemulsionado e seis xampu microemulsionado versus xampu convencional.

Figura 7 - Representação esquemática do procedimento de realização do ensaio microbiológico.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

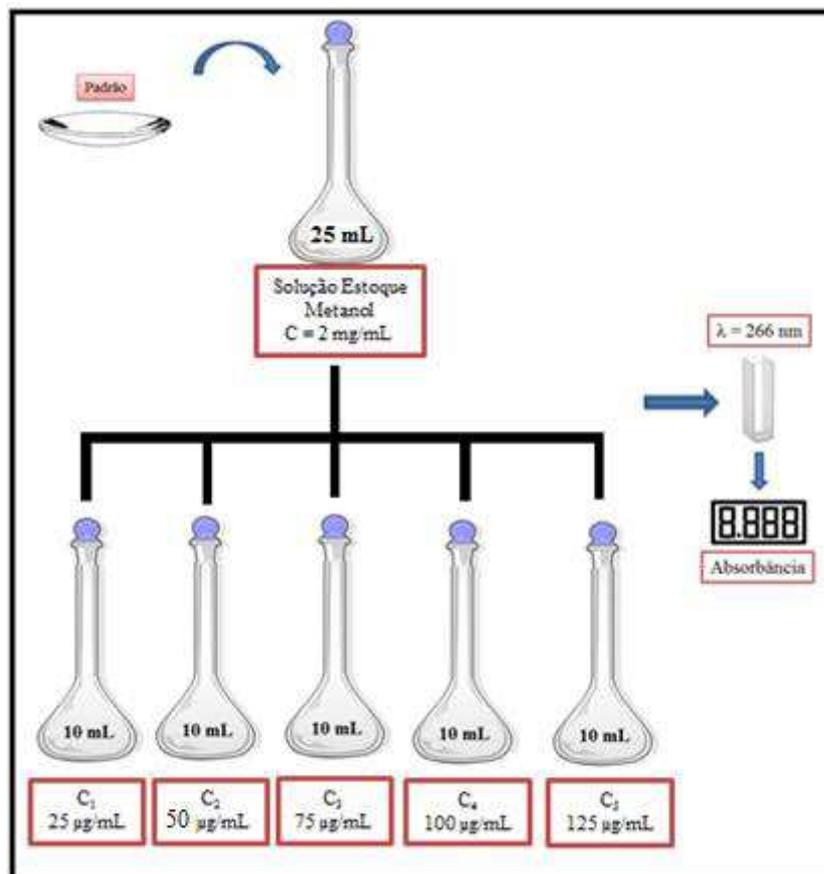
As placas foram então incubadas, em estufa a $37\text{ C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, por um período de 48 horas. Após esse tempo, procedeu-se a leitura dos diâmetros dos halos de inibição formados ao redor de cada cilindro com auxílio de paquímetro e contador digital.

4.2.2 Doseamento do Cetoconazol por Espectrofotometria no UV/Visível (AZEVEDO, 2012).

4.2.2.1 Preparação da Curva de Calibração

Para construção da curva analítica, preparou-se uma solução estoque de cetoconazol, pesando 0,05 g de cetoconazol substância química de referência e o volume completado com metanol em um balão de 25 mL. A partir dessa solução estoque (2 mg/mL) a curva analítica foi construída nas concentrações de 25, 50, 75, 100 e $125\text{ }\mu\text{g/mL}$, utilizando-se o metanol como solvente. Essas soluções metanólicas foram colocadas em cubetas de quartzo e os valores de absorvância detectados em espectrofotômetro no comprimento de onda de 266 nm . O procedimento foi realizado em triplicata.

Figura 8 - Representação esquemática da metodologia para confecção da curva de calibração.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

4.2.2.2 Preparação das Amostras e Leitura em Espectrofotômetro UV/visível.

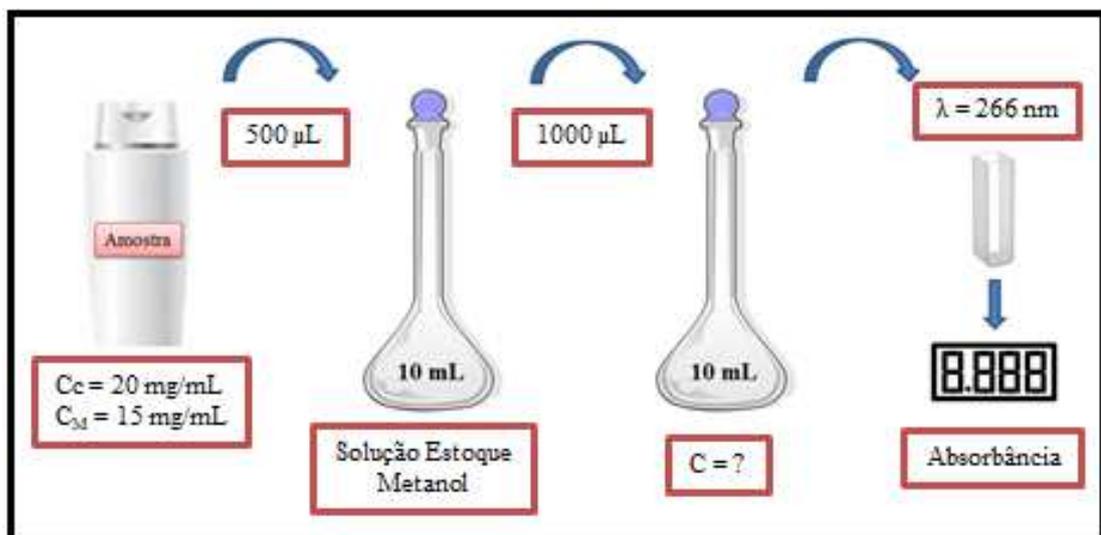
Alíquotas de 0,5 mL das amostras foram transferidas para balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com metanol. Em seguida foi transferido dessa solução 1 mL para outro balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com metanol.

As soluções foram manipuladas de forma a ter-se uma concentração teórica de 100 $\mu\text{g/mL}$ para o xampu convencional e 75 $\mu\text{g/mL}$ para o xampu microemulsionado, o doseamento de cada amostra foi feito em triplicata.

Para realização das leituras em espectrofotometria foi necessário o preparo de uma amostra branco, que é a amostra de uma matriz na qual nenhum analito, no nosso caso o cetoconazol, foi adicionado e é utilizada para avaliar a especificidade do método analítico (BRASIL, 2003); O branco foi obtido pelo mesmo processo descrito acima, empregando-se, no entanto, formulação isenta de cetoconazol, ou seja, foi feita apenas com os xampus base de cada formulação.

As soluções então foram analisadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 266 nm (Figura 9).

Figura 9 – Representação esquemática da metodologia para o doseamento de cetoconazol em xampus por espectrofotometria UV.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se obter concentrações terapêuticas com a capacidade de matar ou inibir o crescimento bacteriano é necessário que a potência do antimicrobiano esteja adequada nas preparações farmacêuticas que serão administradas ao paciente, cuja infecção se deseja combater. Assim a determinação da potência dos antimicrobianos é importante no controle e na garantia da qualidade dessas preparações farmacêuticas (ESMERINO, 2004).

A eficiência de um medicamento é geralmente avaliada pela sua resposta clínica ou terapêutica. A perda da potência antimicrobiana pode influenciar no resultado terapêutico.

O método microbiológico de difusão em ágar, utilizando cilindros em placa, preconizado pela Farmacopeia Americana, é semelhante ao teste de difusão em ágar com discos de papel de filtro (antibiograma) (KONEMAN, et al, 2001) e testa a capacidade de um determinado **micro-organismo** se multiplicar na presença de concentrações presumíveis de um antimicrobiano, aplicado no interior de um cilindro sobre uma camada do ágar em uma placa de Petri. A partir do cilindro, o antimicrobiano se difunde no ágar, em concentrações decrescentes. A cepa bacteriana semeada cresce até encontrar a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e a partir do ponto de aplicação se forma um halo de inibição ao redor do cilindro. Esse halo é determinado em milímetros e é diretamente proporcional a concentração do antimicrobiano. Assim, à medida que se aumenta a concentração do antimicrobiano são obtidos halos maiores até que se esgote a capacidade de difusão do antimicrobiano no ágar. Nesse ponto, o aumento na concentração do antimicrobiano não mais aumenta o halo de inibição.

Nessa pesquisa os resultados do teste foram obtidos pela quantificação do tamanho dos halos de inibição obtidos quando o microrganismo teste foi submetido a concentrações de 100 e 200 µg/mL de cetoconazol substância química de referência e também dos dois xampus estudados.

A potência do cetoconazol presente no xampu foi determinada através do método de difusão em ágar – cilindros em placas, com delineamento 2 x 2, isto é, em cada placa de Petri foram distribuídas duas concentrações do padrão e duas concentrações da amostra. No delineamento 2 x 2, a diferença dos halos de inibição obtidos entre padrão e amostra é menor, pois todos estando na mesma placa, encontram-se nas mesmas condições, uma vez que o crescimento do microrganismo é o mesmo em toda placa. Sendo assim, as variações que

podem vir a ocorrer entre padrão e amostra é menor, facilitando o desenvolvimento e validação do método.

5.1 Determinação da Potência Antifúngica do Cetoconazol nos Xampus pelo Método de Difusão em Ágar

Os parâmetros empregados para a realização do ensaio foram os seguintes: *Candida albicans* como microrganismo teste, concentração do inóculo de 0,5%, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, concentração das soluções de 100 e 200 µg/mL e incubação das placas por 48 horas, 37 °C.

De acordo com a literatura, a densidade microbiana recomendada para os testes de eficácia antimicrobiana varia de 10^5 a 10^8 micro-organismos por mL (PINTO, 2010; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010). No presente estudo, a densidade microbiana exposta à ação dos xampus de cetoconazol foi de aproximadamente $0,5 \times 10^7$ UFC/mL, obtida por meio da padronização do inóculo e calculada conforme transposição da escala de McFarland para valores de transmitância (%) à 580 nm descrita por GRADWOHL, SONNENWIRTH e JARETT, 1983.

O presente estudo optou pelo micro-organismo *Candida albicans* para determinar a potência antimicrobiana dos xampus de cetoconazol por sua alta sensibilidade ao ativo em questão, por apresentar crescimento homogêneo, com formação de halos de inibição bem definidos, que favorecem a visualização, conforme observado por Staub (2005).

As placas que continham o cetoconazol substância de referência não puderam ser utilizadas no estudo, pois os halos de inibição formados foram de má qualidade, provavelmente pela dificuldade de solubilização do cetoconazol, o que inviabilizou a difusão no meio de cultura (Figura 10).

Figura 10 - Doseamento microbiológico (método de difusão em ágar- cilindros em placas), utilizando *Candida albicans* como micro-organismo teste, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C. Cetoconazol substância de referência com concentrações de 200 (P2) e 100 (P1) µg/mL e xampu convencional com concentrações de 100 (A1) e 200 (A2) µg/mL. Notar a não formação de halo de inibição ao redor das amostras de cetoconazol substância de referência.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

Os valores dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento do microrganismo, obtidos para as soluções em diferentes concentrações de xampu convencional e microemulsionado de cetoconazol, encontram-se na tabela 1, acompanhados do diâmetro médio, desvio-padrão e coeficiente de variação (%).

Tabela 1 - Diâmetros, médias, desvios-padrão e coeficientes de variação dos halos de inibição para o ensaio de potência xampu de cetoconazol convencional versus microemulsionado, obtidos através de ensaio microbiológico - método de difusão em ágar - cilindros em placas utilizando meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, *Candida albicans* como microrganismo teste, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C (delineamento 2 x 2). Xampu microemulsionado com concentrações de 200 (A2) e 100 (A1) µg/mL e xampu convencional com concentrações de 200 (P2) e 100 (P1) e µg/mL.

Placas	Xampu Microemulsionado		Xampu Convencional	
	Diâmetros (mm)			
	A ₂	A ₁	P ₂	P ₁
1	20,0	17,5	20,0	17,0
2	18,5	16,0	19,0	15,5
3	19,0	14,0	18,0	15,5
4	22,0	17,0	21,0	18,0
5	19,0	16,5	19,0	16,0
6	22,0	17,0	21,0	19,0
Total	120,5	98,0	118,0	101,0
Média	20,1	16,3	19,7	16,8
DP	1,4	1,1	1,1	1,3
DPR (%)	7,1	7,0	5,6	7,8

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

O Desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), é a expressão da precisão do método. Representa a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (BRASIL, 2003). Foi obtida em 6 réplicas das concentrações do teste, segundo a fórmula:

$$\text{DPR} = \text{DP}/\text{CMD} \times 100 \quad (1)$$

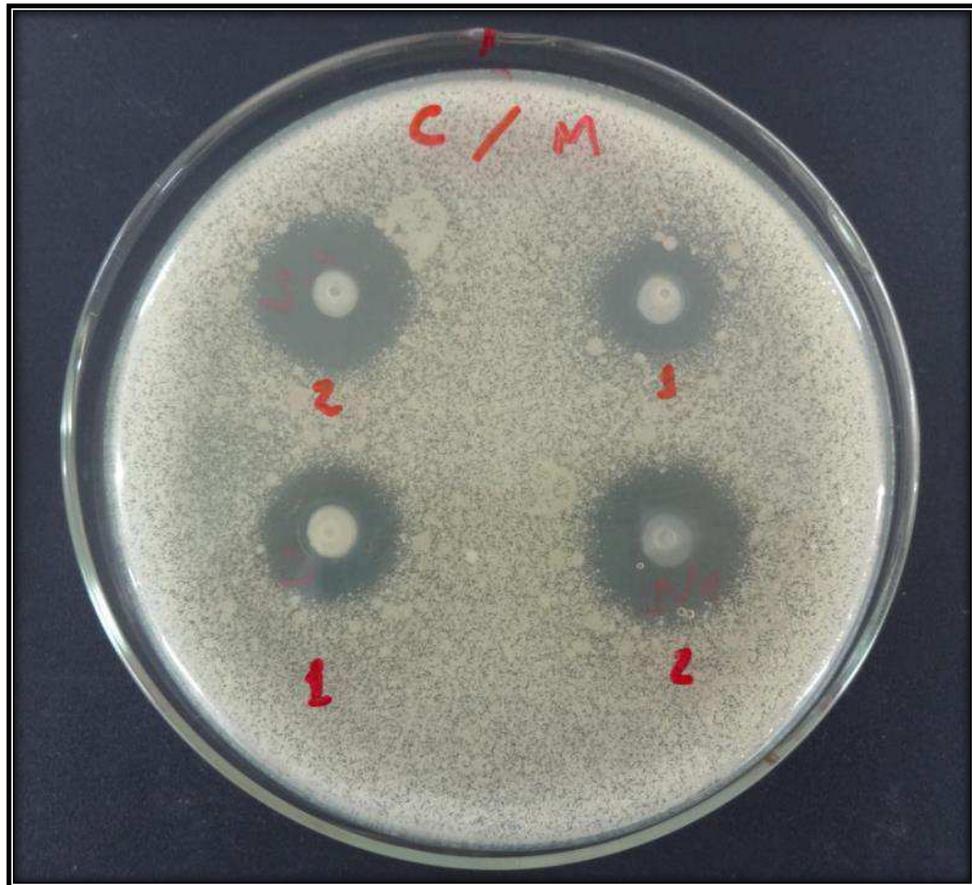
Em que, DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada.

Os valores de DPR obtidos no presente estudo variaram de 5,6 a 7,8 %. De acordo com a RE 899/03, o valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 15% quando se tratar de métodos biológicos.

Desse modo, os coeficientes de variação calculados para os halos de inibição das amostras testadas apresentaram-se inferiores ao limite máximo estabelecido, atendendo, portanto, aos requisitos de precisão preconizados.

A Figura 11 mostra a placa com os halos de inibição formados pelas amostras de xampu de cetoconazol.

Figura 11 – Doseamento microbiológico (método de difusão em ágar- cilindros em placas), utilizando *Candida albicans* como microrganismo teste, meio de cultura Ágar Sabouraud-dextrose 2%, tempo de incubação de 48 horas e temperatura de 37 ± 2 °C. Xampu convencional com concentrações de 200 (C2) e 100 (C1) µg/mL e xampu microemulsionado com concentrações de 100 (M1) e 200 (M2) µg/mL.



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

A potência é determinada comparando-se a dose que inibe o crescimento de micro-organismo adequado e susceptível com a dose da preparação do padrão nas mesmas condições de trabalho. Desta forma a potência foi calculada a partir dos valores obtidos pela leitura dos halos de inibição do crescimento do micro-organismo sensível a este produto em meio de cultura e condições de incubação adequados, utilizando para tal a equação de Hewitt (1977) apud PINTO, KANEKO E PINTO (2010).

O cálculo da potência relativa foi feito pela estimativa da diferença na resposta devido à diferença entre doses alta e baixa e é obtida pela média dessas diferenças para padrão e amostra (figura 12).

Figura 12 – Cálculo da potência do xampu microemulsionado de cetoconazol em relação ao xampu convencional pela equação de Hewitt.

Diferença entre doses alta e baixa (E):	Log dose x resposta (M)
$E = \frac{1}{2} [(P_2 + A_2) - (P_1 + A_1)]$	$M = \frac{F}{E} \log(R)$
$E = \frac{1}{2} [(19,7 + 20,1) - (16,8 + 16,3)] = 3,292$	Razão das doses (R) = 2
Diferença entre amostra e padrão (F)	$M = \frac{-0,042}{3,292} \log(2)$
$F = \frac{1}{2} [(A_2 + A_1) - (P_2 + P_1)]$	$M = -0,01266 \times 0,301$
$F = \frac{1}{2} [(20,1 + 16,3) - (19,7 + 16,8)] = -0,042$	$M = -0,004$
A potência da amostra é dada pelo antilogaritmo de $2 + M$ (10^x):	
Potência = Antilog de $2 + (-0,004)$	
Potência = Antilog de 1,996 = $10^{1,996}$	
$\text{Potência} = 99,13\%$	

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

Diante do exposto acima observa-se que a potência do xampu microemulsionado em relação ao xampu convencional é de 99,13%, ou seja, o xampu microemulsionado tem potência semelhante ao xampu convencional nas mesmas concentrações experimentais.

Quando os antimicrobianos são utilizados no tratamento de infecções, o resultado terapêutico favorável depende de vários fatores. Em termos bem simples, o êxito depende da obtenção de uma concentração do antibiótico no local da infecção suficiente para matar (efeito bactericida) ou inibir o crescimento bacteriano (efeito bacteriostático). A dose do fármaco utilizado deve ser suficiente para produzir o efeito biológico esperado; todavia, as concentrações do antibiótico devem ficar abaixo dos níveis tóxicos para as células humanas. Para o sucesso terapêutico, também é necessário que a potência dos antimicrobianos esteja correta nas apresentações farmacêuticas que serão administradas ao paciente. Se a potência estiver abaixo da rotulada, o fármaco pode não atingir no plasma e/ou tecido uma concentração capaz de exercer a atividade esperada. Por outro lado, se a concentração estiver acima, poderá provocar toxicidade. Nesse aspecto, a Farmacopeia Brasileira estabelece que a potência dos antimicrobianos nas formas farmacêuticas deve estar entre 90 e 120% da potência declarada (FARAGO, 2006).

Em situações nas quais as formulações convencionais contendo cetoconazol não estejam adequadas, o mesmo sofre processos de desestabilidade pela degradação, incluindo oxidação e hidrólise, especialmente em meio aquoso, onde o controle de pH e a quantidade de antioxidante são parâmetros importantes, da mesma maneira que o controle da temperatura e sua exposição a luz. Em geral, formulações de cetoconazol sofrem alteração muito rapidamente sugerindo a formação de produtos de degradação (AZEVEDO, 2012).

Um dos fatores determinantes para a estabilidade da forma farmacêutica xampu de cetoconazol convencional é o processo de solubilização desse princípio ativo, que deve ser feito em solução ácida. Assim recomenda-se utilizar solução de ácido clorídrico 1N em substituição ao ácido cítrico (solução), visto que o cetoconazol possui baixa solubilidade nesta solução e tende a precipitar (FUJIWARA et al, 2009). Então formas farmacêuticas em que o solubilizante adequado não é utilizado o cetoconazol tende a precipitar e o usuário tem que agitar sempre a formulação antes do uso, o que pode ocasionar falha no tratamento, pois nem sempre o paciente se lembrará de agitar a formulação.

Azevedo (2012) afirma ainda que, o cetoconazol é praticamente insolúvel em água, o que dificulta sua incorporação em formas farmacêuticas que utilizam o meio aquoso como veículo. Para tanto, é necessário sua prévia solubilização em meio ácido, o que pode acelerar o processo de degradação do ativo. De tal modo, a incorporação deste fármaco em sistemas

microemulsionados para posterior inclusão em xampus mostra-se como uma promissora alternativa para resolver os problemas farmacotécnicos do princípio ativo, podendo, adicionalmente, melhorar a estabilidade e a eficácia terapêutica do mesmo.

Segundo Rossi et al. (2007) uma das principais características de uma microemulsão é sua elevada estabilidade, com conseqüente resistência à sedimentação.

Nos últimos anos, o interesse na grande aplicabilidade das microemulsões como sistemas de liberação de fármacos vem ganhando espaço e atenção por parte dos laboratórios farmacêuticos, e também dos pesquisadores acadêmicos. No campo farmacêutico, diversos estudos têm sido encontrados na literatura descrevendo o uso desse sistema nas mais variadas vias de administração.

A utilização das microemulsões (MEs) na tecnologia farmacêutica é relativamente recente e, devido às potenciais vantagens oferecidas, elas têm despertado grande interesse como sistemas de liberação de fármacos (CUNHA JÚNIOR, 2003).

O interesse na aplicação das microemulsões como veículos de preparações farmacêuticas se deve à capacidade desses sistemas de solubilizar fármacos hidrofílicos em meio lipofílico ou lipofílico em meio aquoso, e, também, de melhorar a solubilidade e estabilidade dos fármacos. A presença de emulsionantes aumenta a permeabilidade da membrana celular, o que facilita a absorção do fármaco, possibilitando uma maior biodisponibilidade (CUNHA JÚNIOR, 2003; FORMARIZ, 2008).

Atualmente, os fármacos são veiculados em formas farmacêuticas ditas convencionais e geralmente não conseguem atingir concentrações apreciáveis no tecido alvo do organismo. Devido às suas características únicas, tais como a facilidade de preparação por emulsificação e de esterilização por filtração, estabilidade termodinâmica, viscosidade adequada, transparência e a alta capacidade de solubilizar fármacos pouco solúveis em água na fase dispersa oleosa, a utilização de sistemas microemulsionados vem deixando de ser uma possibilidade e está passando a ser uma realidade. As microemulsões também podem proporcionar uma modificação na biodisponibilidade e na diminuição da toxicidade dos fármacos, visto que esses sistemas apresentam-se como reservatórios capazes de liberar e direcionar os fármacos para tecidos e células específicas do organismo e, além disso, dependendo de sua composição, podem ser aplicados, sem restrições, às vias de administração oral, ocular, parenteral, transdérmica, vaginal e retal (DAMASCENO et al., 2011).

5.2 Doseamento do Cetoconazol por Espectrofotometria no UV/Visível (AZEVEDO, 2012).

5.2.1 Curva de Calibração

Para o desenvolvimento da metodologia de doseamento do cetoconazol por espectrofotometria no UV/Visível, foi necessário construir a curva de calibração do cetoconazol, está foi obtida empregando-se soluções metanólicas de cetoconazol nas concentrações de 25, 50, 75, 100 e 150 µg/mL. Obteve-se a equação da reta para a análise dos resultados através de estudos de regressão linear, analisando-se as concentrações de cetoconazol e suas respectivas leituras. Para plotar o gráfico de regressão linear usou-se as médias referentes à leitura de três amostras de cada concentração (Tabela 2). O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9999, indicando uma regressão linear significativa, demonstrando uma linearidade aceitável na faixa estudada, uma vez que, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser 0,99 (BRASIL, 2003). Os respectivos valores do coeficiente de variação obtidos na análise apresentaram-se todos inferiores ao limite máximo de 5% especificado pela Resolução 899 (BRASIL, 2003).

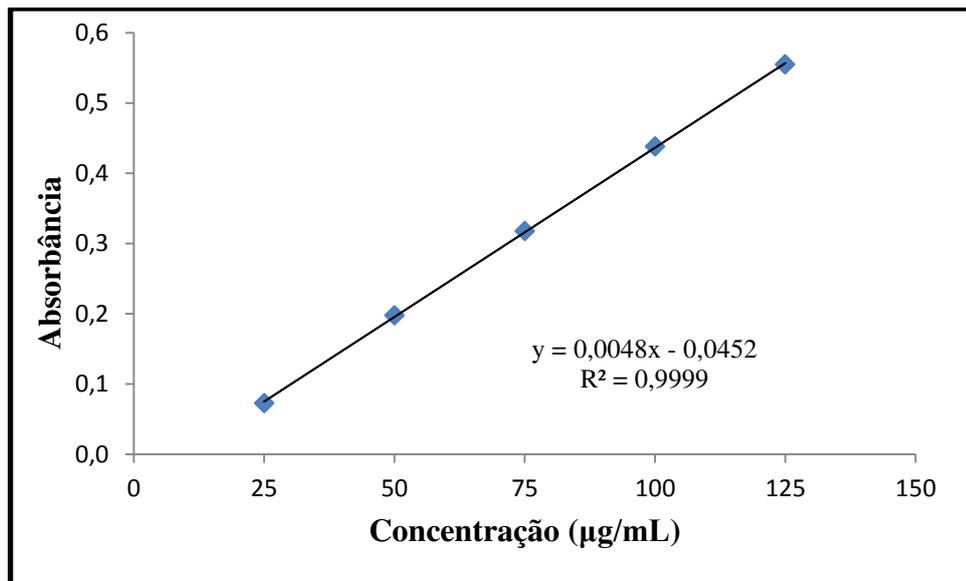
Tabela 2 - Resultados do doseamento para diferentes concentrações de cetoconazol por espectrofotometria UV-Vis.

Concentração do Cetoconazol (µg/mL)				Dados Estatísticos		
Teórica	Experimental		Média	D.P*	C.V* %	
25	24,2	25,0	24,4	24,5	0,42	1,70
50	50,5	50,9	50,5	50,6	0,23	0,46
75	74,8	77,1	74,8	75,6	1,33	1,76
100	99,0	105,7	97,1	100,6	4,52	4,49
125	124,0	128,6	122,3	125,0	3,26	2,61

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

A curva padrão do cetoconazol pode ser visualizada na figura (13), a equação da reta para a mesma apresentou-se como: $y = 0,0048x - 0,0452$ onde x é a concentração em $\mu\text{g/mL}$ e y a absorbância da amostra.

Figura 13 – Curva padrão de soluções de cetoconazol obtida por espectrofotometria UV-Vis a 266nm (n=3).



Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

5.2.2 Doseamento dos xampus de cetoconazol por Espectrofotometria UV/visível

Para a estimativa da quantidade de cetoconazol presente nas amostras de xampu, as soluções a serem analisadas foram manipuladas de forma a ter-se uma concentração teórica de $100 \mu\text{g/mL}$ para o xampu convencional e $75 \mu\text{g/mL}$ para o xampu microemulsionado. Após o processo de análise observou-se que o xampu microemulsionado apresentou teor de 101,07 %, superior que a concentração teórica estipulada enquanto o xampu convencional apresentou teor de 86,15 % (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados do doseamento dos xampus para a quantificação do cetoconazol por espectrofotometria UV-Vis.

Amostra	Xampu Convencional		Xampu Microemulsionado	
	Absorbância (266 nm)	Concentração (µg/mL)	Absorbância (266 nm)	Concentração (µg/mL)
	0,382	89,00	0,303	72,54
	0,361	84,63	0,328	77,75
	0,362	84,83	0,325	77,13
Média		86,2		75,8
D.P		2,47		2,85
C.V (%)		2,86		3,75
Teor (%)		86,15		101,07

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

A quantificação de um fármaco em uma formulação é considerada um aspecto vital da garantia da qualidade de medicamentos (PEREIRA, 2007).

Um aspecto importante das apresentações farmacêuticas de antimicrobianos, na atualidade, é a equivalência terapêutica, pois existem diferentes apresentações do mesmo produto comercializado por diversos laboratórios farmacêuticos (ESMERINDO, PEREIRA E SCHELESKY, 2005).

No estudo dos antimicrobianos e no tratamento das doenças infecciosas, os conceitos de sensibilidade e resistência bacteriana se fundamentam na correlação entre a CIM e os níveis alcançados com o antimicrobiano administrado no local de ação do mesmo. No caso dos antimicrobianos administrados por via oral, ou qualquer outra via, o efeito biológico esperado é a morte do microrganismo (efeito bactericida) ou a diminuição do seu crescimento (efeito bacteriostático). É importante que após a administração do antimicrobiano, a CIM seja atingida rapidamente, se mantenha no intervalo entre as doses e seja, ainda, mantida durante toda a duração do tratamento (PINTO, KANEKO E PINTO, 2010).

A determinação da potência nos antimicrobianos é importante no controle de qualidade das preparações farmacêuticas e faz-se necessário o desenvolvimento de procedimentos práticos e econômicos que possam ser validados e aplicados no doseamento desses fármacos, nas diversas formulações. As Farmacopeias preconizam métodos microbiológicos para o doseamento da potência de antimicrobianos em preparações farmacêuticas, entretanto, ainda não apresentam método para xampus de cetoconazol (ESMERINDO, PEREIRA E SCHELESKY, 2005).

Em trabalho anterior, Azevedo (2012) desenvolveu e validou o método para doseamento do fármaco na forma farmacêutica xampu por Espectrofotometria no UV/Visível. Atualmente, quase todos os ensaios de estabilidade de fármacos recorrem à métodos de análise físico-químicos instrumentais como método de análise, pois conseguem quantificar a substância ativa juntamente com seus produtos de degradação (WATSON, 2005). No entanto o ensaio microbiológico é muito útil, pois este esclarece dúvidas a respeito da possível perda de atividade da substância em análise (USP 28, 2005).

O bioensaio para dosagem de antibióticos fornece um valor único, denominado potência, para a atividade biológica integral de um agente antimicrobiano em uma formulação (THOMPSON, 2000).

Segundo Pinto (2010), existe uma tendência de se medir a confiabilidade de um método biológico comparando-o com um método químico. O que nem sempre é aplicável devido aos graus distintos de interferências nos ensaios. Para Thompson (2000) a Separação e a quantificação de compostos antimicrobianos por métodos químicos, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), embora precisos, pode não fornecer uma indicação verdadeira da atividade biológica, e tentativas de correlacionar os resultados ensaio microbiológico de potência com os resultados de métodos químicos têm, geralmente, se mostrado, fracassados. Portanto o bioensaio continua a representar um papel essencial na produção e no controle da qualidade de produtos antimicrobianos e continua exigindo habilidade e perícia considerável para garantia de sucesso.

Para Cordeiro (2006) o controle de qualidade de medicamentos reveste-se de grande importância, não apenas para aperfeiçoar e avaliar os processos de produção, mas principalmente para assegurar os padrões de qualidade que garantem a eficácia e segurança dos medicamentos.

A qualidade de um produto é dada por vários fatores que vão desde a matéria-prima até o produto final, onde estes afetam significativamente a garantia da segurança e eficácia (SILVA E BARRETO, 2013). Consigliere, Storpirtis e Ferraz (2000) afirmam que o efeito dos excipientes, dos processos empregados na fabricação e até das condições de armazenamento pode ter acentuada influência no resultado terapêutico.

A qualidade de um medicamento é ainda um atributo de caráter não apenas comercial, mas também legal e moral. Verifica-se a importância do doseamento uma vez que, através do mesmo, pode-se identificar se as formas farmacêuticas apresentam a mesma concentração de princípio ativo indicada na fórmula. A administração de um medicamento com concentração de princípio ativo acima da concentração declarada na fórmula pode representar um sério

risco de intoxicação para o paciente. Por outro lado, o medicamento com um teor de princípio ativo abaixo da concentração indicada na fórmula do produto resultará em falha terapêutica, comprometendo o quadro clínico do usuário do medicamento (PEIXOTO et al, 2005; SILVA E BARRETO, 2013).

A avaliação da qualidade de produtos farmacêuticos, disponíveis no mercado, é uma iniciativa importante, principalmente para as ações dos órgãos de Vigilância Sanitária na ocorrência de suspeita ou denúncia de medicamentos adulterados, falsificados, com falha terapêutica e com alterações no aspecto e nas propriedades físico-químicas. Para o paciente, a administração de medicamentos com qualidade, segurança e eficácia é imprescindível, considerando-se que o doente necessita do fármaco para obter uma melhoria ou cura dos processos patológicos, garantindo seu bem-estar físico, social e mental e a melhoria na sua qualidade de vida (PEIXOTO et al, 2005).

Diante dos resultados obtidos observou-se que o método microbiológico de difusão em ágar, utilizando cilindros em placas, é válido para o doseamento do cetoconazol nas formulações de xampus convencional e microemulsionado. Os resultados atestaram ainda a eficácia do xampu microemulsionado de cetoconazol em relação ao xampu convencional com potência microbiológica equivalente e maior concentração resultante, proveniente de uma maior e melhor solubilização do cetoconazol nesse novo sistema. No entanto, estudos de estabilidade são necessários para atestar a qualidade e conseqüentemente a eficácia da formulação a longo prazo.

6. CONCLUSÃO

- ✓ Não foi possível comparar a capacidade de inibição da *Candida albicans* das formulações de xampu frente à substância padrão, tendo em vista a dificuldade na solubilização e consequentemente difusão do cetoconazol substância química de referência no meio de cultura;
- ✓ A avaliação da eficácia microbiológica de xampus de cetoconazol frente a cepas de *Candida albicans* foi realizada comparando-se apenas as duas formulações entre si, tendo as mesmas eficácias semelhantes;
- ✓ A potência do xampu microemulsionado em relação ao xampu convencional foi de 99,13%, ou seja, o xampu microemulsionado tem potência semelhante ao xampu convencional. Devendo-se, contudo ser observado que a microemulsão por ser um sistema termodinamicamente estável, apresenta vantagem em relação à forma farmacêutica convencional de xampu de cetoconazol, uma vez que essa impossibilita a precipitação do princípio ativo na formulação, não necessitando assim de prévia agitação antes do uso;
- ✓ No tocante ao doseamento por espectrofotometria o xampu microemulsionado apresentou uma concentração superior á concentração teórica estipulada;
- ✓ Os ensaios de Doseamento Microbiológico e UV não apresentaram os mesmos resultados indicando graus distintos de interferência nos ensaios;
- ✓ Ao compararmos os resultados da potência microbiológica e doseamento obtido por espectrofotometria, observamos que o xampu microemulsionado ao ter potência (eficácia) semelhante ao convencional, obtém mais uma vez vantagem, uma vez que, a administração de um medicamento com concentração de princípio ativo abaixo da concentração indicada na fórmula do produto, no caso o xampu convencional, devido ao processo de solubilização do mesmo, resultará em falha terapêutica, comprometendo assim o quadro clínico do usuário do medicamento;

- ✓ Portanto o xampu de cetoconazol microemulsionado ancora-se como uma alternativa promissora no tratamento da caspa, necessitando, contudo, de estudos mais aprofundados quanto a sua eficácia e estabilidade a longo prazo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. A. A. L. S. **Desenvolvimento de um xampu contendo neem (*Azadirachta indica*):** validação da metodologia analítica e avaliação do estudo de estabilidade preliminar. 2012. 63 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal de Campina Grande. Cuité, 2012.
- AZEVEDO, M. G. B. **Estudo da solubilização do cetoconazol por microemulsão para incorporação em xampu.** 2012. 72 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal de Campina Grande. Cuité, 2012.
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase, **DST. Jornal brasileiro de doenças sexualmente transmissíveis**, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.
- BEZERRA, P. X. **Avaliação da qualidade de sabonetes íntimos.** 2013. 57f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal de Campina Grande. Cuité, 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos.** 2. ed. Brasília, 2008. 121 p.
- CABRAL, M. A. **Anotações em farmacologia e farmácia clínica.** Nova Friburgo, 2010. Disponível em:
<http://farmacolog.dominiotemporario.com/doc/Anotacoes_em_Farmacologia.pdf>. Acesso em: 19 jan. 2014.
- CAMPOS, T. R. ***Candida albicans*:** fatores de virulência e de resistência e o uso de derivados vegetais como alternativa de tratamento da candidíase oral. 2011. 73 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, 2011.
- CARDOSO, B. C. **Efeito de antifúngicos em suspensões e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*.** 85p. Dissertação (Biotecnologia – Engenharia de Bioprocessos). Universidade do Minho. Braga, Portugal, 2004.
- COLOMBO, A.L.; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 599-607, Set./Out., 2003.
- CONSIGLIERE, V. O.; STORPIRTIS, S.; FERRAZ, H. G. Aspectos farmacotécnicos relacionados à biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos, **Revista de ciências farmacêuticas**, v. 21, n. 1, p. 23-41, 2000.

CORDEIRO, G. A. **Desenvolvimento de metodologias espectroscópicas multivariadas para quantificação de fármacos em formas farmacêuticas**. 118p. Dissertação (Química Analítica). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

CORDEIRO, G. A.; PERALTA-ZAMORA, P.; NAGATA, N.; PONTAROLLO, R. Determinação de misturas de sulfametoxazol e trimetoprima por espectroscopia eletrônica multivariada, **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 254-260, 2008.

CUNHA JÚNIOR, A. S.; FIALHO, S. L.; CARNEIRO, L. B.; ORÉFICE, F. Microemulsões como veículo de drogas para administração ocular tópica, **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, p. 385-91, 2003.

CUNHA, A. R.; SILVA, R. S.; CHORILLI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de formulações de xampu anticaspa acrescidas ou não de extratos aquosos de hipérico, funcho e gengibre. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 3, p. 190-195, 2009.

DAMASCENO, B.P.G.L.; SILVA, J.A.; OLIVEIRA, E.E.; SILVEIRA, W.L.L.; ARAÚJO, I.B.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis, **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 9-18, 2011.

ESCARRONE, A. L. V.; LAPORTA, L. V.; SANTOS, M. R.; FRIEDRICH, M.; BITTENCOURT, C. F. Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica por Difusão em Ágar para Determinação de Ciclopirox olamina em Solução Tópica, **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 755-759, 2007.

ESMERINO, L. A.; PEREIRA, A. V.; ADAMOWICZ, T.; BORGES, D. M.; TALACIMON, E. A.; SCHELESKY, M. E. Método microbiológico para determinação da potência de antimicrobianos, **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 10, n. 1, p. 53-60, 2004.

FARAGO, P. V.; ESMERINO, L. A.; PAULA, J. P.; JACOB, J. S.; SERVAT, L. Método Microbiológico para o Doseamento da Potência da Amoxicilina em Suspensões Orais, **Acta Farmcêutica Bonaerense**, v. 25, n. 1, p. 112-6, 2006.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA – parte 1. 5ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. 4. ed. São Paulo: Pharmabooks Editora, 2010.

FERREIRA, N. P.; SIQUEIRA, A.P. C.; SILVA, M. A.; MESQUITA, M. J.; VILELA, A.; DAMBRÓS, M. Determinação quantitativa da dipirona sódica pelo método de volumetria e espectroscopia de absorção na região uv-vis, **Revista Eletrônica da Univar**, v. 1, n. 9, p. 69 – 76, 2013.

FORMARIZ, T. P. **Incorporação da doxorrubicina em microemulsões lipídicas e estudo da atividade antitumoral.** Disponível em: <

<http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/100233/incorporacao-da-doxorrubicina-em-microemulsoes-lipidicas-e-estudo-da-atividade-antitumoral/> >. Acesso em: 04 Julho 2014.

FORMARIZ, T. P.; SPERA, L. J.; URBAN, M. C. C.; CINTO, P. O.; GREMIÃO, M. P. D. Dermatite seborréica: Causas, Diagnóstico e tratamento. **Infarma**, v.16, n. 13-14, Brasília – DF 2005.

FUJIWARA, G. M.; COSTA, C. K.; ZANIN, S. M.W.; MIGUEL, M. D. Avaliação de diversas formulações de xampus de cetoconazol quanto ao emprego de diferentes antioxidantes e solubilizantes. **Visão Acadêmica**, v.10, n.2, Curitiba, Jul./Dez. 2009.

GRADWOHL, R.B. H.; SONNENWIRTH, A. C.; JARETT, L. **Metodos Y Diagnósticos del Laboratorio Clínico**, V. 2. 8. ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 1983.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. A.; SCHRECKNBERGER, P. C.; WIM, W. C. Jr. **Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas Colorido**. 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

MAGAGNIN, C. M.; STOPIGLIA, C. D. O.; VIEIRA, F. J.; HEIDRICH, D.; MACHADO, M.; VETORATTO, G.; LAMB, F. M.; SCROFERNEKER, M. L. Perfil de suscetibilidade a antifúngicos de dermatófitos isolados de pacientes com insuficiência renal crônica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 694-701, 2011.

MALUF, D. F.; NAGATA, N.; FARAGO, P. V.; ZAMORA, P. G.P. Determinação simultânea de paracetamol e cafeína por espectrometria UV-Vis associada a ferramentas matemáticas, **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 1, p. 39-43, 2008.

MARTINEZ, R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, Brasília-DF, v. 5, n. 32. p. 449-460, fevereiro 2006.

MENDONÇA, C. C.; SILVA, I. C. L.; RODRIGUES, K. A.; CAMPOS, M. A. L.; MEDEIROS, M. C. M.; CASTELI, V. C.; FERRARI, M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P. Emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de liberação *in vitro*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 1, p. 35-46, 2009.

MENEZES, T. O. A.; ALVES, A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES, S. A. F.; ALVES, B. P.; MENDONÇA, L. C. V. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da Universidade Estadual Paulista**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009.

OLIVEIRA, J. R.; MAZOCCO, V. T.; STEINER, D. Pitiríase Versicolor. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 77, set./out. 2002.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, Abr./Jun, 2008.

PEIXOTO, M. M.; JÚNIOR, A. F. S.; SANTOS, C. A. A.; JÚNIOR, E. C. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana-BA, **Infarma**, v.16, n. 13-14, p. 69-73, 2005.

PEREIRA, A.; SCHESHOWITSCH, K.; CRUZ, A.; SILVA, M. A. S.; STULZER, H. K. Validação de metodologia analítica para quantificação de piroxicam em cápsulas de gelatina por espectrofotometria ultravioleta (UV), **Visão Acadêmica**, v. 8, n. 2, Curitiba, Jul./Dez. 2007.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. P. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2010.

PONS JÚNIOR, F. R. **Suspensões e formulações tópicas contendo nanocápsulas e micropartículas de cetoconazol**: avaliação da estabilidade e atividade antimicrobiana. 100p. Dissertação (Mestrado em Nanociências). Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, 2011.

PROENÇA, K. S.; OLIVEIRA, R. V. M.; GONÇALVES M. M.; VILA, M. M. D. C. Desenvolvimento de método espectrofotométrico para análise quantitativa de cetoconazol em xampus, **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 4, p. 187-190, 2007.

RASTINE, R. C. P. B. **A caspa e a dermatite seborreica do couro cabeludo e seu tratamento tópico**. 2007. 51f. Monografia (Conclusão de curso)- Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, Faculdade de Farmácia, São Paulo.

ROSSI, C. G. F. T.; DANTAS, T. N.C.; NETO, A. A. D.; MACIEL, M. A. M. Microemulsões: uma abordagem básica e perspectivas para aplicabilidade industrial, **Universidade Rural Série Ciências Exatas e da Terra**, v. 26, n. 1-2, Jan./Dez, p. 45-66, 2007.

RUBIM, A. M.; SANTOS, M. R.; LAPORTA, L. V.; RUBENICK, J. B.; SANTOS, T. S. Validação de metodologia por UV/VIS para quantificação de cetoconazol em comprimidos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 510-514, 2012.

SABINO, E. B. **Desenvolvimento de sistema de vetorização a base de novo derivado tiofênico**. 125p. Dissertação (Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2011.

SANTANA, D. P.; RIBEIRO, E. L.; MENEZES, A. C. S.; NAVES, P. L. F. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*, **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador-BA, v. 12, n. 2, p. 229-233, Mai./Ago. 2013.

SANTOS, J.L.; RIBEIRO, Y. A.; SALGADO, H.R.N.; CHUNG, MAN CHIN. Estudo de metodologia analítica para a determinação do cetoconazol em formulações farmacêuticas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 161-165, 2009.

SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2009.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2010.

SILVA, A. J. B.; BARRETO, J. G. Determinação de teor de princípio ativo em comprimidos de ácido acetilsalicílico, **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 1, Julho de 2013.

STAUB, I.; ADAMS, A. I. H.; BERGOLD, A. M.; FRÖEHLICH, P. Avaliação da integridade da fórmula do xampu de cetoconazol. **Infarma**, v. 14, p.74-76, 2002.

STAUB, I.; **Avaliação da fotoestabilidade do cetoconazol e determinação da atividade antifúngica e da segurança biológica in vivo e in vitro do xampu de cetoconazol**. 2005. 224f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de farmácia programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas, Porto Alegre.

STAUB, I.; CRUZ, Á. S.; PINTO, T. J. A.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BERGOLD, A. M. Determinação da segurança biológica do xampu de cetoconazol: teste de irritação ocular e avaliação do potencial de citotoxicidade *in vitro*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, abr./jun., 2007.

THOMPSON, C. **Microbiological assay of antibiotics in pharmaceutical preparations**. In: Handbook of microbiological quality control – pharmaceutical and medical devices. CRC Press. Boca Raton-Flórida. 2000.

USP 28. THE UNITED STATES Pharmacopeia. 28.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2005.

USP 31. THE UNITED STATES Pharmacopeia. 31 ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2008.

VANDRESEN, D. S.; SVIDZINSKI, A. E.; CAMPANHA, A. M.; SVIDZINSKI, T. I. E.; SHINOBU, C. S.; NEGRI, M. F. N.; SANTOS, S. S. Pitiríase versicolor: epidemiologia, diagnóstico e tratamento. In: I CONGRESSO DE FARMÁCIA DE MARINGÁ. Maringá-PR, 2006.

VIEIRA, T. C.; MACHADO, C. M.; MOSER, D. K. **Disfunções do couro cabeludo: Uma abordagem sobre caspa e dermatite seborreica.** Disponível em:

<<http://siaibib01.univali.br/pdf/Threicy%20Vieira%20e%20Camila%20Machado.pdf>>.

Acesso em: 15 Abril 2014.

WATSON, D.G. **High pressure liquid chromatography.** In: Pharmaceutical analysis. A textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists. 2 ed. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone, 2005. cap. 12. p. 237-274.

WEBER, T. M. **Estudo e comparação de métodos de análise de comprimidos de atenolol utilizando espectroscopia ultravioleta de titulação potenciométrica.** 2011. 54 f. Trabalho de conclusão de curso (Química Industrial). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Tabela 4 - Composição do xampu convencional de cetoconazol.

Matérias-primas	Função	% (p/v)
Lauril Éter sulfato de Sódio (LESS)	Tensoativo aniônico	20
Dietanolamida de Ác. Graxo de Coco	Sobreengordurante	3
Cocoamidopropil betaína	Tensoativo anfótero	5
Metil parabeno	Conservante	0,15
Metabissulfito de sódio	Antioxidante	0,10
Ácido Cítrico	Corretor de pH	0,06
Cetoconazol	Ativo	2
Sepigel®	Espessante	qs
Água destilada	Veículo	qsp 100 mL

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

Tabela 5 - Composição do xampu microemulsionado de cetoconazol.

Matérias-primas	Função	% (p/v)
Lauril Éter sulfato de Sódio (LESS)	Tensoativo aniônico	17
Dietanolamida de Ác. Graxo de Coco	Sobreengordurante	2,5
Cocoamidopropil betaína	Tensoativo anfótero	4
Metil parabeno	Conservante	0,15
Metabissulfito de sódio	Antioxidante	0,10
Ácido Cítrico	Corretor de pH	0,06
Cetoconazol	Ativo	1,5
Sepigel®	Espessante	qs
Microemulsão	Veículo	qsp 100 mL

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.

Tabela 6 - Composição da microemulsão utilizada no xampu de cetoconazol.

Matérias-primas	Função	% (p/v)
Polietilenoglicol 400 (PEG 400)	Tensoativo	68,9
Álcool etílico	cotensoativo	21,1
Óleo de soja	Fase oleosa	4
Água destilada	Fase aquosa	6

Fonte: Dados da pesquisa, 2014.