

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo

Deli Brito de Oliveira

**Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de Minoxidil
para tratamento de Alopecia Androgenética**

**São Paulo
2018**

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo

Deli Brito de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Processos Industriais.

Data da aprovação ____/____/____

Prof. Dr. Adriano Marim de Oliveira
IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do
Estado de São Paulo

Membros da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Adriano Marim de Oliveira (Orientador)
IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo

Profa. Dra. Natália Neto Pereira Cerize (Membro)
IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo

Profa. Dra. Débora Cristina Ramos de Marco (Membro)
UMC - Universidade de Mogi das Cruzes

Deli Brito de Oliveira

Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de Minoxidil para
tratamento de Alopecia Androgenética

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Processos Industriais.

Área de Concentração: Desenvolvimento e Otimização de Processos Industriais.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Marim de Oliveira

São Paulo
Nov./2018

Ficha Catalográfica

Elaborada pelo Departamento de Acervo e Informação Tecnológica – DAIT
do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo - IPT

O48d **Oliveira, Deli Brito de**

Desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de Minoxidil para tratamento de Alopecia Androgenética. / Deli Brito de Oliveira. São Paulo, 2018.
90p.

Dissertação (Mestrado em Processos Industriais) - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. Área de concentração: Desenvolvimento e Otimização de Processos Industriais.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Marim de Oliveira

1. Tratamento de Alopecia androgenética 2. Sistema de liberação controlada de Minoxidil - SLCM 3. Tratamento tópico 4. Permeação cutânea 5. Tese I. Oliveira, Adriano Marim de, orient. II. IPT. Coordenadoria de Ensino Tecnológico III. Título

18-106

CDU 615.2(043)

DEDICATÓRIA

Com imenso orgulho, dedico a concretização desse sonho a uma pessoa muito pessoa muito especial em minha vida; ela que sempre foi um grande motivo de admiração e orgulho: a minha mãe. Uma pessoa que foi e será sempre um grande exemplo. Tive o prazer de tê-la como minha primeira professora. Foi com ela que aprendi que a ler e escrever, foi com ela que aprendi que a educação é a base da formação de um cidadão consciente, bem como é a base de seus valores morais e éticos, deveres e direitos perante a sociedade em que vive. Tenho orgulho de ser o primeiro concluinte de um curso superior da minha família e hoje posso dizer, que sou o primeiro mestre também. Mãe, é principalmente a você que dedico essa conquista! Você sabe o quanto foi difícil chegar aqui e eu sei que sem você, certamente minhas dificuldades teriam sido muito maiores.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por todas as oportunidades que tive durante toda a minha vida e a conclusão desse projeto de mestrado faz parte disso. Sou grato a Deus por ter tido tanta força de vontade nesse percurso, persistência e determinação que mesmo diante de tantas adversidades que enfrentei, não desisti e diferente disso, me fortaleci enquanto profissional e ser humano. Encerro esse ciclo realizado, pois sei que esse projeto é um legado que deixo como contribuição científica ao segmento farmacêutico, especialmente para uma patologia como a Alopecia Androgenética sobre a qual sabemos o quanto afeta a autoestima das pessoas que são acometidas por ela. Os possuidores dessa patologia requerem soluções e tratamento cada vez mais efetivos e os resultados dos ensaios descritos nesse trabalho fazem sinergia com esse anseio e poderão ser um ponto de partida para uma solução inovadora e eficaz.

Agradeço a minha família por ter acreditado em mim, incentivado e entendido a minha ausência em muitos encontros familiares por conta de ter ficado dias e noites, meses e anos dedicado nesse objetivo, assim como os meus amigos que souberam entender os meus motivos de inquietação, que me ouviram muitas vezes e ofereceram ajuda quando precisei.

Um agradecimento especial ao meu orientador Dr. Adriano Marim de Oliveira, professor e pesquisador do Instituto de Pesquisas Tropicais do Estado de São Paulo – IPT que com muita paciência me direcionou durante todo o projeto, me ensinou e também se permitiu aprender comigo ao discutirmos juntos os resultados de cada ensaio realizado.

Esse sonho não teria se efetivado sem a ajuda da TheraSkin Farmacêutica, empresa que orgulho em fazer parte e que me apoiou desde o início. Minha equipe também teve uma participação especial e, portanto, agradeço a todos que fazem ou fizeram parte da Gerência de Pesquisa, Desenvolvimento & Inovação – PD&I e que me acompanharam nessa trajetória. Almejo muito que essa conclusão de curso seja um exemplo para muitos seguirem seus estudos e entenderem que é possível conciliar a nossa rotina exaustiva com iniciativas que visem a constante atualização científica e acadêmica. É possível sim, eu consegui!

RESUMO

A Alopecia androgenética é classificada clinicamente como Alopecia cicatricial, sendo considerada reversível e caracterizada pela miniaturização dos fios terminais do couro cabeludo, dando origem a cabelos finos e com um padrão de distribuição característico, variável entre homens e mulheres. Soluções farmacoterapêuticas são requeridos para ajudar os pacientes nesta condição. Dentre as opções de farmacoterapias existentes, o Minoxidil é considerado o padrão ouro para o tratamento dessa patologia. As soluções de Minoxidil comercial (SMC) disponíveis no mercado, geralmente são soluções alcoólicas, que por sua vez desestruturam o estrato córneo e melhoram a permeabilidade da pele, no entanto, a exposição prolongada ao álcool pode causar irritação, ressecamento, vermelhidão, reação tipo alérgica na pele. O objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada de Minoxidil (SLCM) do tipo emulsão A/O, almejando resolver limitações específicas do SMC, bem como maximizar a capacidade de permeação do ativo na pele, conferindo maior eficiência no tratamento da Alopecia androgenética. O SLCM desenvolvido e a SMC disponível no mercado foram submetidos ao estudo de estabilidade físico-química por estresse térmico e ambos se mostraram estáveis após 186 dias. O estudo de permeação cutânea *in vitro* mostrou que o SLCM apresentou uma concentração de Minoxidil três vezes maior no estrato córneo e 5 vezes maior na epiderme e derme, se comparado as concentrações advindas do SMC, o que permite afirmar que o Minoxidil encapsulado penetrou na pele de forma mais eficaz, assim como o estudo de oleosidade mostrou que com SLCM apresentou melhor resultado. Considerando esse desempenho e o fato do sistema ter sido desenvolvido visando mitigar efeitos colaterais ao estrato córneo, é possível afirmar que o resultado desse projeto foi atingido. O sistema em questão, ainda na forma de protótipo, apresenta condições de prosseguir para as demais fases regulatórias e que por sua vez não fizeram parte do escopo desse trabalho. Findada todas as fases para a obtenção de um medicamento final aprovado pelo órgão regulador, oportunamente espera-se uma maior aderência dos pacientes, visto que as dificuldades farmacotécnicas e reações provocadas pelas formulações atualmente comercializadas foram resolvido com êxito.

Palavras-chave: Alopecia androgenética, Minoxidil, Sistemas de liberação controlada de fármacos, Tratamento tópico, Permeação cutânea.

ABSTRACT

Development of controlled release systems of Minoxidil for the treatment of Androgenetic Alopecia

Androgenetic Alopecia is classified clinically as cicatricial Alopecia, being considered reversible and characterized by the miniaturization of the terminal hair of the scalp, giving rise to fine hair and with a characteristic distribution pattern, variable between men and women. Pharmacotherapeutic solutions are required to help patients in this condition. Among the options of existing pharmacotherapies, Minoxidil is considered the gold standard for the treatment of this pathology. Commercially available Minoxidil (CAM) solutions are usually alcohol solutions, which in turn destructure the stratum corneum and improve skin permeability, however, prolonged exposure to alcohol can cause irritation, dryness, redness, type reaction allergic reaction to the skin. The objective of this work was the development of a controlled release system of Minoxidil (DCRSM) of the type A/O emulsion, aiming to solve specific limitations of the SMC, as well as to maximize the permeability of the active in the skin, giving greater efficiency in the treatment of androgenetic Alopecia. The developed DCRSM and the commercially available were submitted to thermal-physical-chemical stability study and both were stable after 186 days. The in vitro skin permeation study showed that the DCRSM had a concentration of Minoxidil three times higher in the stratum corneum and 5 times higher in the epidermis and dermis, when compared to the concentrations coming from the CAM, which allows to affirm that the encapsulated Minoxidil penetrated the skin in a more effective way, as well as the study of oiliness showed that with DCRSM presented better result. Considering this performance and the fact that the system was developed to mitigate side effects to the stratum corneum, it is possible to affirm that the result of this project was reached. The system in question, still in the form of a prototype, presents conditions to continue for the other regulatory phases and that were not part of the scope of this work. Once all the phases have been completed to obtain a final drug approved by the regulatory body, patients are expected to be more compliant, as the pharmacotechnical difficulties and reactions caused by the formulations currently marketed have been successfully resolved.

Keywords: Androgenetic Alopecia, Minoxidil, Controlled drug delivery systems, Topical treatment, Skin permeation.

Lista de Figuras

Figura 1	Mecanismo de crescimento do folículo piloso. Fonte: Ciotti et. al; 2002.	18
Figura 2	Mecanismo da Alopecia androgenética. Fonte: Clinica Transplante Capilar.	18
Figura 3	Fórmula estrutural do Minoxidil. Fonte: REY, M. C. et. al; 2006.	26
Figura 4	Fluxograma do processo A de obtenção de SLCM com fase interna aquosa por HAP, em escala laboratorial.	36
Figura 5	Representação esquemática do processo A de obtenção de SLCM. Fonte: CERIZE, N. N. P, 2012.	37
Figura 6	Fluxograma do processo B de obtenção de SLCM com fase interna hidroalcolica por HAP, por escala laboratorial.	38
Figura 7	Representação esquemática do processo B de obtenção de SLCM. Fonte: CERIZE, 2012.	39
Figura 8	Fluxograma do processo C de obtenção de SLCM com UltraTurrax®, em escala laboratorial.	40
Figura 9	Representação esquemática do processo C de obtenção de SLCM. Fonte: CERIZE, 2012.	41
Figura 10	Preparo das membranas provenientes de orelha de porco.	46
Figura 11	Desenho esquemático de uma Célula Vertical de Difusão (Modelo Hanson – Microette®).	46
Figura 12	Células Verticais de Difusão sem oclusão	47
Figura 13	Demonstração do procedimento de <i>Tape Stripping</i>	48
Figura 14	Peles trituradas e misturadas com metanol para extração do Minoxidil.	49
Figura 15	Aparato para fixação das mechas de cabelos	51
Figura 16	Classificação dos 14 principais titulares em depósito de patentes.	53
Figura 17	Distribuição dos pedidos de patente em função do ano.	53
Figura 18	Classificação dos países que mais depositaram patentes. Fonte: Questel, 2016.	54
Figura 19	Estatística do “status” de todas as patentes encontradas. Fonte: Questel, 2016.	55
Figura 20	Fotomicrografia da F1, obtida empregando microscópio óptico, no aumento de 100x.	56
Figura 21	Fotomicrografia da F9, obtida empregando microscópio óptico, no aumento de 100 x.	58
Figura 22	Curva de calibração para o Minoxidil.	60
Figura 23	Aspecto visual após exposição à -4 °C, 25 °C e 45 °C da formulação F16.	64
Figura 24	Concentração de Minoxidil na F16, em função do tempo de exposição à temperatura de -4 °C, por um período de 186 dias.	66

Figura 25	Concentração de Minoxidil na F16, em função do tempo de exposição à temperatura de 25 °C, por um período de 186 dias.	66
Figura 26	Concentração de Minoxidil na F16, em função do tempo de exposição à temperatura de 45 °C, por um período de 186 dias.	66
Figura 27	Aspecto visual após exposição à -4 °C, 25 °C e 45 °C da SMC.	67
Figura 28	Concentração de Minoxidil na SMC, em função do tempo de exposição à temperatura de - 4 °C, por um período de 186 dias.	69
Figura 29	Concentração de Minoxidil na SMC, em função do tempo de exposição à temperatura de 25 °C, por um período de 186 dias.	69
Figura 30	Concentração de Minoxidil na SMC, em função do tempo de exposição à temperatura de 45 °C, por um período de 186 dias.	69
Figura 31	Sobreposição dos cromatogramas referentes ao “padrão de trabalho” de Minoxidil e da solução tampão de fosfato de sódio monobásico pH 7,2 (Tampão Fosfato).	70
Figura 32	Sobreposição dos cromatogramas referentes ao “padrão de trabalho” de Minoxidil e metanol utilizado na lavagem das fitas para extração de fármaco do estrato córneo.	71
Figura 33	Sobreposição dos cromatogramas referentes ao “padrão de trabalho” de Minoxidil e metanol utilizado na lavagem da pele triturada para extração de fármaco da epiderme e derme.	72
Figura 34	Efeitos das formulações F16 e SMC sobre a oleosidade em fragmento de pele humana. Os dados representam a média ± desvio padrão de 3 réplicas (ANOVA, Tukey).	74
Figura 35	Efeitos das formulações F16 e SMC sobre a oleosidade de mechas de cabelos. Os dados representam a média ± desvio padrão de 3 réplicas (ANOVA, Tukey).	76
Figura 36	Fluxograma macro das etapas do desenvolvimento de um medicamento no Brasil.	83

Lista de tabelas

Tabela 1	Detalhamento das palavras-chaves correlacionadas ao tema do projeto utilizadas na busca de anterioridades.	34
Tabela 2	Composição de todos SLCM desenvolvidos.	35
Tabela 3	Resultados da busca de anterioridades em função de diferentes combinações de palavras chaves correlacionadas ao tema do trabalho.	52
Tabela 4	Resultados do tamanho médio de partículas e índice de polidispersão (P.I) dos SLCM, desenvolvidos pelo processo A.	56
Tabela 5	Resultados do tamanho médio de partículas e índice de polidispersão (P.I) dos SLCM, desenvolvidos pelo processo B.	57
Tabela 6	Avaliação da repetibilidade do método por CLAE empregado para quantificação do Minoxidil.	61
Tabela 7	Avaliação da precisão intermediária do método por CLAE empregado para quantificação do Minoxidil.	62
Tabela 8	Concentração de Minoxidil nas formulações farmacêuticas analisadas – F16 e SMC.	72
Tabela 9	Resultado de permeação cutânea de Minoxidil a partir das formulações avaliadas – F16 e SMC	73
Tabela 10	Concentrações de Minoxidil analisadas na solução extratora do estrato córneo.	73
Tabela 11	Concentrações de Minoxidil analisadas na solução extratora da epiderme e derme.	73
Tabela 12	Resultado da análise estatística comparativa entre os tempos de medida de oleosidade da pele, para os tratamentos F16 e SMC, IC de 95%.	75
Tabela 13	Resultado da análise estatística comparativa entre os tempos de medida de oleosidade dos cabelos, para os tratamentos F16 e SMC, IC de 95%.	76

Lista de abreviaturas e siglas

CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMS	Commercial Minoxidil Solution
DPR	Desvio Padrão Relativo
DRX	Difração de Raio-X
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
FDA	Food and Drug Administration
HAP	Homogeneizador de alta pressão
IC	Intervalo de Confiança
IP	Índice de Polidispersidade
LLLLT	Low-Level Laser Light Therapy
MCDD	Minoxidil-Controlled Drug Delivery
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PBS	Phosphate Buffered Saline
RESS	Rápida Expansão de uma Solução Supercrítica
SLCM	Sistema de Liberação Controlada de Minoxidil
SMC	Solução de Minoxidil Comercial
TGA	Termogravimetria

Lista de Símbolos

<i>mL</i>	:	Mililitros
<i>s</i>	:	Segundos
<i>m/m</i>	:	massa/massa
<i>mm</i>	:	Milímetros
μL	:	Microlitros
$^{\circ}\text{C}$:	graus Celsius
rpm	:	rotações por minuto
mbar	:	Milibar
mmHg:		milímetros de mercúrio
mA	:	Miliampere
kV	:	kilo volts
$^{\circ}\text{C}/\text{min}$:		graus Celsius por minuto
mL/min:		mililitros por minuto
mg	:	Miligramas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2. Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. Alopecia Androgenética	16
3.2. Permeação cutânea	23
3.3. Minoxidil	25
3.4. Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos	26
4 METODOLOGIA	32
4.1 Materiais	32
4.2 Equipamentos	32
4.3. Busca de Anterioridade	33
4.4. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada	33
4.4.1. Processo A	35
4.5.2. Processo B	36
4.4.3. Processo C	38
4.5. Caracterização Físico-Química do Sistema de Liberação	40
4.5.1. Determinação do Tamanho de Partícula e do Índice de IP	40
4.5.2. Avaliação Microscópica – Microscopia Óptica	41
4.6. Validação da Metodologia de Quantificação de Minoxidil	42
4.7. Avaliação da Estabilidade Física por Estresse Térmico	43
4.8. Estudo de Permeação e Retenção Cutânea <i>in vitro</i>	43
4.8.1. Membrana	44
4.8.2. Célula Vertical de Difusão	45
4.8.3. Estudo da Retenção Cutânea <i>in vitro</i>	46
4.8.3.1. Retenção no Estrato Córneo (<i>Tape Stripping</i>)	46
4.8.3.2. Retenção na Epiderme e Derme	47

4.8.3.3. Quantificação do Minoxidil - Estudos de Permeação e Retenção Cutânea	48
4.9. Avaliação do Controle de Oleosidade da Pele	48
4.10. Avaliação do Controle de Oleosidade dos Cabelos	50
5 RESULTADOS	52
5.1. Busca de Anterioridade	52
5.2. Desenvolvimento e Caracterização Físico-Química de SLCM	55
5.2.1 Processo A	55
5.2.2 Processo B	56
5.2.3. Processo C	58
5.3. Validação da Metodologia de Quantificação de Minoxidil	59
5.4. Avaliação da Estabilidade Física por Estresse Térmico	63
5.5. Estudo de Permeação e Retenção Cutânea <i>in vitro</i>	69
5.6. Avaliação do Controle de Oleosidade da Pele	74
5.7. Avaliação do Controle de Oleosidade dos Cabelos	75
6 DISCUSSÃO	78
7 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	82
REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

Alopécia é uma patogênese de fisiologia desconhecida, a qual acomete, indistintamente, indivíduos de todas as raças e de ambos os sexos, promovendo a queda brusca de pelos, sem qualquer sintoma associado (Lourenço, 2013).

Alguns fatores como genética, imunidade baixa, emocional, traumas, podem desencadear a doença, e embora não traga consequências sérias à saúde física, compromete o psicológico de forma acentuada (Lourenço, 2013).

O tratamento tem como objetivo aumentar a cobertura do couro cabeludo e retardar a queda dos cabelos. Desta forma, o Minoxidil vem sendo um forte aliado para esse efeito, pois é um ativo vasodilatador e atua aumentando a fase anágena de crescimento dos cabelos, contribuindo para o aumento da densidade capilar. Todavia, o mecanismo de ação tópica deste fármaco ainda não está totalmente elucidado. As formulações tópicos disponíveis no mercado contendo Minoxidil apresentam concentrações na faixa de 2,5% a 5% de ativo, mas existem limitações quanto à biodisponibilidade do ativo e sua posologia, de aplicação duas vezes ao dia, para assegurar seu efeito, o que ocasiona o comprometimento da adesão ao tratamento pelos pacientes (Balakrishnan et al., 2009).

Além disso, as formulações de Minoxidil comercialmente disponíveis geralmente contém alto percentual de agentes alcoólicos ou são baseadas em álcool para promover a solubilização de Minoxidil, o qual apresenta log P: 1,2, e alcançar maior permeabilidade da pele ao fármaco, sendo que a exposição prolongada de álcool e Minoxidil podem causar vários problemas de toxicidade na pele, tais como, irritação, ressecamento, vermelhidão, reação tipo alérgica (O'Neil, 2001; Friedman et al., 2002; Jacob et al. 2017; Maitra et al., 2017).

As nanoemulsões têm sido consideradas uma potencial e eficaz estratégia de sistema de entrega de ativos lipofílicos e hidrofílicos na pele, apresentando melhor performance em relação aos veículos ou coloides convencionais (Montenegro et al., 2016). Sendo assim, a possibilidade de encapsular o ativo Minoxidil empregando nanopartículas trata-se de uma estratégia viável de desenvolvimento de um sistema de liberação controlada, permitindo ao paciente apenas uma aplicação diária do

produto e a liberação controlada do ativo, mantendo a concentração terapêutica por um período maior de tempo, mitigando possíveis efeitos colaterais do ativo (alergias e irritações da pele), além disso, a dimensão nanométrica da estrutura em que o ativo se encontra, maximiza a capacidade de permeação do produto no folículo capilar, conferindo maior eficiência do tratamento da Alopecia androgenética (Balakrishman et al., 2009).

2 REFERÊNCIAS

- ADIL, A. & GODWIN, M. The effectiveness of treatments for androgenetic Alopecia: A systematic review and meta-analysis. *J AM ACAD DERMATOL*, v. 77, n. 1, p. 136 – 141, 2017.
- ABD, E. et al. Follicular Penetration of Caffeine from Topically Applied Nanoemulsion Formulations Containing Penetration Enhancers: In vitro Human Skin Studies, *Skin Pharmacology and Physiology*, v. 31, p. 252–260, 2018.
- ALONSO, B. et al. Alopecias. *Medicine*, v.11, n.48, p. 2840-2851, 2014.
- BALAKRISHNAN, P., et al. Formulation and *in vitro* assessment of Minoxidil niosomes for enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 377, p. 1–8, 2009.
- BARRY, B.W. *Dermatological Formulations, Percutaneous Absorption*. Marcel Dekker, New York, p.95-213, 1987.
- BLANK, I.H. Factors which influence the water content of the stratum corneum, *The Journal of Investigative Dermatology*, v.18, n.6, p. 433-440, 1952.
- BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, 24/07/2017.
- BRENNER, F.M. et al. Entendendo a Alopecia androgenética. *Surgical & Comestic Dermatology*, v. 3, n. 4, p.329-337, 2011.
- CEVC, G. & VIERL, U. Nanotechnology and the transdermal route A state of the art review and critical appraisal, *Journal of Controlled Release*, v. 141, p. 277–299, 2010.
- CIOTT, S.N. & WEINER, N. Follicular liposomal delivery systems. *Journal of Liposome Research*, v. 12, p. 143-148, 2002.
- CERIZE, N. N. P. Estudo de sistemas nanocarreadores para o ácido 5-aminolevulínico com aplicação na terapia fotodinâmica. 2012. 174 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto, Universidade De São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.
- CHAUDHARY, A., et al. Enhancement of solubilization and bioavailability of poorly soluble drugs by physical and chemical modifications: A recent review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, v.2, n.1, p. 32-67, 2012.
- ELLIS, J. A., et al. 2002. Androgenetic Alopecia: pathogenesis and potential for therapy. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, v.19 november, p. 1-11, 2002.

FAHIM, T.K., et al. Particle formation and micronization using non-conventional techniques- review. *Chemical Engineering and Processing*, v. 86, p. 47–52, 2014.

FLORENCE, A.T.; ATWOOD, D. Solubility and partitioning of drugs. In: *Physicochemical principles of pharmacy*. 2.ed. London:MacMillan Press, Cap.5, p.132-171, 1988.

FRIEDMAN, E.S., et al. Allergic contact dermatitis to topical Minoxidil solution: Etiology and treatment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 46, n. 2, p. 309-311, 2002.

GELFUSO, G.M. et al. Iontophoresis-Targeted, Follicular Delivery of Minoxidil Sulfate for the Treatment of Alopecia. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 102, n. 5, 2013.

GUIA PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E BIOANALÍTICOS. Brasília: ANVISA. Resolução - RE nº 899, 2003.

HORITA, D. et al. Analysis of hair follicle penetration of lidocaine and fluorescein isothiocyanate dextran 4 kDa using hair follicle-plugging method, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 40, n.3, p. 345–351, 2014.

HEZAVE & ESMAEILZADEH. Micronization of drug particles via RESS process. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 52, p. 84–98, 2010.

JACOB, S.E. et al. Allergen of the Year: Propylene Glycol. *Dermatitis*, v. 9, n. 1, p. 3-5, 2017.

KUMAR, A. Review on solubility enhancement techniques for hydrophobic drugs. *Pharmacie Globale International Journal of Comprehensive Pharmacy*, v. 3, n. 3, p. 1-7, 2011.

LADEMANN, J., et al. In vivo methods for the analysis of the penetration of topically applied substances in and through the skin barrier, *International Journal of Cosmetic Science*, v. 2012, p. 1–9, 2012.

LIE, C., et al. Alopecia and the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology*, v. 36, p. 54-61, 2018.

LOURENÇO, A.R.N. Administração tópica de fármacos - Das restrições aos desafios. *Dissertação de Mestrado*, Lisboa, 2013.

MAITRA, M., et al. A novel approach for follicular delivery of Minoxidil for treatment of Alopecia. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 41 p. 113-123, 2017.

MONTENEGO, L., et al. From nanoparticle to nanostructure lipid carriers. A relevant development in dermal delivery of drugs and cosmetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 32, p. 100-112, 2016.

MURA, S. et al. Liposomes and niosomes as potential carriers for dermal delivery of Minoxidil. *Journal of Drug Targeting*, v. 15, p. 101–108, 2007.

NASTITI, C. M. R. R., et al. Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery. *Pharmaceutics*, v. 9, n. 37, p. 1-25, 2017.

OLSEN, E.A., et al. Evaluation and treatment of male and female pattern hair loss. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 52, p. 301-11, 2005.

O'NEIL, M.J. (ed.). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., 2001., p. 1107.

OSSADNIK, M., et al. Differential stripping: introduction of a method to show the penetration of topically applied antifungal substances into the hair follicles, *Mycoses*, v. 50, p. 457–462, 2007.

PADOIS, K., et al. Solid lipid nanoparticles suspension versus commercial solutions for dermal delivery of Minoxidil. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 416 p. 300– 304, 2011.

PANDE, S.Y. & MISRI, R. Sebumeter. *Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, v. 71, p. 444-446, 2005.

Rey, M. C. W; Bonamigo, R. R. Tratamento de Alopecia Areata. *Revista Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana*, v. 34, n, 2, p. 49-52, 2006.

SHIM, J., et al. Transdermal delivery of mixnoxidil with block copolymer nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, v. 97, p. 477– 484, 2004.

SILVA, L.R.; FERREIRA, M.M. Estudo do coeficiente de partição octanol-água de bifenilas policloradas (pcbs) utilizando parâmetros topológicos. *Quimica Nova*, v. 26, n. 3, p.312-318, 2003.

SUNITHA, S. et al, Design and Evaluation of Hydrogel-Thickened Microemulsion for Topical Delivery of Minoxidil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 9, n. 4, p. 1- 14, 2013.

TEICHMANN, A., et al. Differential Stripping: Determination of the Amount of Topically Applied Substances Penetrated into the Hair Follicles, *Journal of Investigative Dermatology*, v. 269, p. 125:264, 2005.

TOJO, K., et al. Percutaneous penetration of drugs: a quantitative structure-permeability relationship study. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.76, n.2, p. 123-126, 1987.

USMANI & MAHESH. Formulation and Evaluation of Minoxidil Emulgel for Androgenic Alopecia, *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 3 n. 12, p. 1593-1610, 2016.

VANDANA, K.R. et al. An overview on in situ micronization technique – An emerging novel concept in advanced drug delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 22, p. 283–289, 2014.

YAN, H., et al. Solubility of Minoxidil in Methanol, Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol, 1-Butanol, and Water from (278.15 to 333.15) K, *Journal of Chemical & Engineering Data*, v. 56, p. 2720–2722, 2011.

ZHAO, Y. et al. The effects of particle properties on nanoparticle drug retention and release in dynamic Minoxidil foams. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 383, is. 1–2, p. 277-284 2010.