

Artigo

Eletroporação e Iontoforese para Liberação de Fármacos Através da Pele

Vianna, D. R.;* Silva, B. V.; Hamerski, L.

Rev. Virtual Quim., 2010, 2 (4), 271-279. Data de publicação na Web: 16 de janeiro de 2011<http://www.uff.br/rvq>**Electroporation and Iontophoretic for Drug Delivery Across the Skin**

Abstract: The development of dermal therapeutic systems, primarily aimed at overcoming skin property problems, has increased in recent years, with the stratum corneum representing the main barrier against drug permeation. The interaction of chemical or physical promoters (such as electroporation and iontophoresis) with the skin can increase the influx of drugs. Mechanical, chemical, and electrical techniques have been reported to improve cutaneous permeation. As such, electroporation and iontophoresis represent commonly used techniques. Electroporation is a transitory structural perturbation of the lipid bilayer membranes through the application of high voltage pulses. Its application can be used alone or in combination with iontophoresis to expand the range of drug permeation. The influence of electrical parameters (frequency of pulse, electric field power, etc.) on the physicochemical properties of the drug and of the formulation on the efficacy transport has been well-described in prior literature. However, studies are still warranted in an attempt to assure effectiveness and security when using these techniques.

Keywords: Skin; electroporation; iontophoresis and drug release.

Resumo

O desenvolvimento de sistemas tópicos de liberação de fármacos tem se intensificado nos últimos anos com o objetivo de superar os problemas associados com as propriedades da pele, sendo o estrato córneo a principal barreira para a permeação de substâncias. A interação de promotores químicos ou físicos (como eletroporação e iontoforese) de permeação potencializa o poder de penetração de fármacos. Técnicas mecânicas, químicas e elétricas estão sendo descritas para promoção da permeação cutânea, e entre as mais empregadas estão a eletroporação e a eletroporação-iontoforese. Eletroporação é uma perturbação estrutural transitória da bicamada lipídica devido à aplicação de pulsos de alta voltagem. Essa técnica pode ser usada isoladamente ou em combinação com a iontoforese a fim de expandir a taxa de permeação das substâncias. Os parâmetros elétricos (frequência de pulso, intensidade do campo elétrico e outros) e as propriedades físico-químicas do fármaco e da formulação na eficácia do transporte estão bem descritos, porém ainda faltam estudos mais profundos visando assegurar a eficácia e a segurança no uso dessas técnicas.

Palavras-chave: Pele; eletroporação; iontoforese e liberação de fármacos.

* Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752 1º andar CEP 90610-000, Porto Alegre - RS.

✉ 00121940@ufrgs.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20100025](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20100025)

Eletroporação e Iontoforese para Liberação de Fármacos Através da Pele

Damiana R. Vianna^{a,*}, Barbara V. Silva^b, Lidilhone Hamerski^b

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752, 1º andar CEP 90610-000, Porto Alegre - RS

^bInstituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, CT, Av. Athos da Silveira Ramos, 149 Bloco A 7º andar, CEP: 21941-909, Rio de Janeiro - RJ

*00121940@ufrgs.br

Recebido em 12 de março de 2010. Aceito para publicação em 16 de janeiro de 2011

1. Introdução
2. Eletroporação
3. Iontoforese e eletroporação
4. Conclusão

1. Introdução

A pele é uma importante via de aplicação de fármacos, e nos últimos anos houve um aumento significativo dos estudos para o desenvolvimento de formulações específicas para esse fim. A aplicação de fármacos através da pele oferece vantagens em relação às demais vias convencionais, pois evita o metabolismo de primeira passagem e a degradação pelo trato gastrointestinal. Porém, poucas moléculas conseguem ultrapassar as barreiras da pele. Os fármacos lipofílicos potentes, por exemplo, ao permearem a pele por difusão passiva, conseguem ter efeito terapêutico. Entretanto, esse tipo de transporte é lento e requer um período de latência de horas.¹

A camada mais externa da pele, o estrato córneo (10 – 20 µm de espessura) é a primeira porção protetora. Sua função é prevenir a perda de água e impedir, até certo ponto, a entrada de corpos estranhos como microrganismos, agentes físicos nocivos e substâncias químicas, incluindo fármacos. Essa camada contém apenas 20 % de água e é,

portanto, uma barreira extremamente lipofílica.^{2,3,4} É constituída por várias camadas de células achatadas, mortas e sem núcleo (corneócitos), intimamente ligadas por uma matriz extracelular composta por uma bicamada lipídica formada por ceramidas, colesterol e ácidos graxos. Além do estrato córneo, a pele, maior órgão do corpo humano atingindo 16 % do peso corporal, é constituída por uma porção epitelial de origem ectodérmica, a epiderme, e uma porção conjuntiva de origem mesodérmica, a derme. Abaixo e em continuidade com a derme encontra-se a hipoderme, que não faz parte da pele² (figura 1).

O passo determinante da absorção cutânea é a permeação através do estrato córneo,⁵ que devido a suas características é a principal barreira para o transporte molecular, permitindo a passagem de moléculas lipofílicas de baixo peso molecular (< 500 Da) e apenas em pequenas quantidades (< 10 mg/dia).⁶ Devido às limitações impostas pelo estrato córneo, a maior parte das substâncias hidrofílicas e de peso molecular de intermediário a elevado apresentam reduzida permeabilidade através da pele.⁷

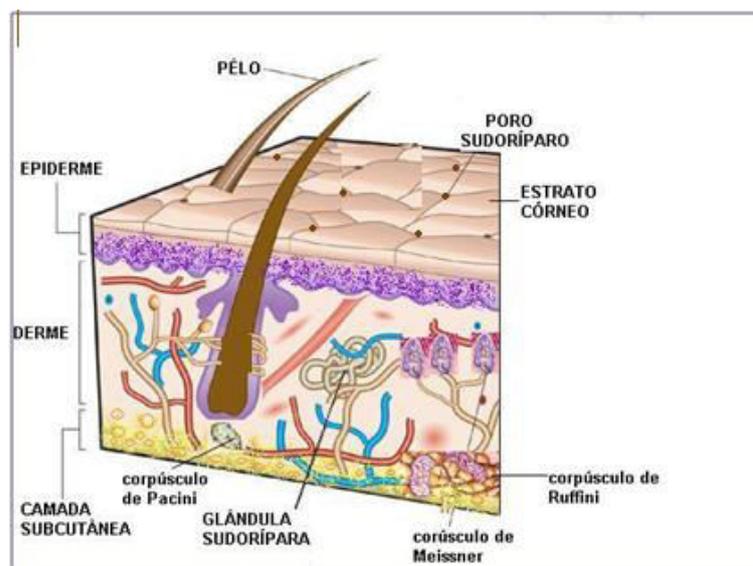


Figura 1. Ilustração das camadas da pele. Adaptado da referência 36

Apesar de todas as barreiras naturais impostas pela pele, essa via tópica de administração de fármacos é útil no tratamento de muitas afecções, como psoríase, leishmaniose cutânea, infecções fúngicas e bacterianas. No caso das infecções, a principal vantagem é a menor suscetibilidade ao desenvolvimento de organismos resistentes, uma vez que a concentração do fármaco no local da infecção, geralmente, excede a concentração mínima inibitória, ocasionando erradicação completa e rápida do patógeno. O resultado clínico depende de uma sequência de processos. Estes envolvem a liberação do fármaco a partir do veículo, a penetração pelas barreiras da pele e a resposta farmacológica. Estes três passos são diretamente afetados pelo fármaco, pelo veículo e pela pele.^{7,8,9}

É difícil estabelecer os princípios gerais que afetam a penetração cutânea, isso porque há diversas possibilidades de combinações entre fármacos, veículos e condições da pele. Todavia alguns fatores têm consenso e são citados na maioria dos trabalhos¹⁰ como a concentração do fármaco, a área de aplicação, o tempo, a intensidade de massagem, a afinidade do fármaco pela pele, a hidratação cutânea e o local de aplicação.¹¹

As vantagens da aplicação tópica, embora há muito conhecidas, ainda não são muito exploradas. A utilização de promotores físicos ou químicos de permeação pode potencializar o poder de penetração cutânea de fármacos. Dentre os promotores químicos se destacam os sulfóxidos e similares químicos,^{7,12} as azonas,¹² os alcoóis,^{12,13} a ureia,¹² os tensoativos,¹² os ácidos graxos^{11,12,14} e as pirrolidonas.¹⁵ Todavia, sua inclusão ou utilização nas formulações ainda é limitada e os mecanismos básicos de sua ação não

estão totalmente elucidados. Além dos promotores físicos ou químicos, sistemas vesiculares^{11,16} como lipossomas,¹⁷ etossomas, microemulsões e nanoemulsões¹⁸ também vêm sendo empregados com tal propósito.

Técnicas mecânicas,¹⁹ químicas²⁰ e elétricas²¹ já foram descritas para promoção da permeação cutânea. A ação imediata obtida com o uso de técnicas elétricas parece ser a maior vantagem em relação a alguns promotores químicos. Além disso, o uso dos promotores químicos é limitado pela incompatibilidade física e química entre fármacos e excipientes. Dentre as técnicas elétricas, as mais empregadas são a eletroporação e a eletroporação-iontoforese. Essas técnicas elétricas estão sendo aplicadas em diferentes áreas como métodos revolucionários a fim de permearem uma variedade de ativos. O objetivo dessa revisão foi realizar uma busca na literatura científica de dados relacionados com o emprego desses métodos elétricos na permeação de substâncias através da pele.

2. Eletroporação

A eletroporação é um tipo de promotor físico de permeação que consiste no uso de pulsos curtos (microsegundos a milissegundos) de alta voltagem 100-1000 V/cm,²² os quais ultrapassam a barreira da membrana celular promovendo um rearranjo estrutural desta membrana, e tornando-a altamente permeável a moléculas exógenas. Esse rearranjo estrutural forma canais aquosos temporários (poros) devido a aplicação do campo elétrico.²³ Esse

fenômeno é um processo não invasivo, reversível e não altera a estrutura biológica ou a função das células alvos.²⁴ Os poros gerados são pequenos (< 10 nm), espaçados (0,1 % da área superficial) e de curta duração (μ s a s).²⁴

Diversas revisões sobre eletroporação foram publicadas recentemente.^{20,21,25} A eletroporação é capaz de carrear uma ampla variedade de íons, fármacos, pigmentos, anticorpos e oligonucleotídeos. A literatura mostra um aumento significativo da

permeação cutânea de substâncias como metotrexato (**1**), insulina,^a aciclovir (**2**), ciclodextrina,^b 8-metoxipsoraleno (**3**), ciprofloxacino (**4**), cloridrato de cálcio, ciclosporina A (**5**), metronidazol (**6**), piroxicam (**7**), naproxeno (**8**), timolol (**9**), nalbufina (**10**), ácido oleico (**11**) e vacina de DNA (Figura 2)²⁶. Uma interessante aplicação da eletroporação é a eletroquimioterapia, que consiste na aplicação de pulsos de alta voltagem para tornar as células tumorais permeáveis aos fármacos citotóxicos.²

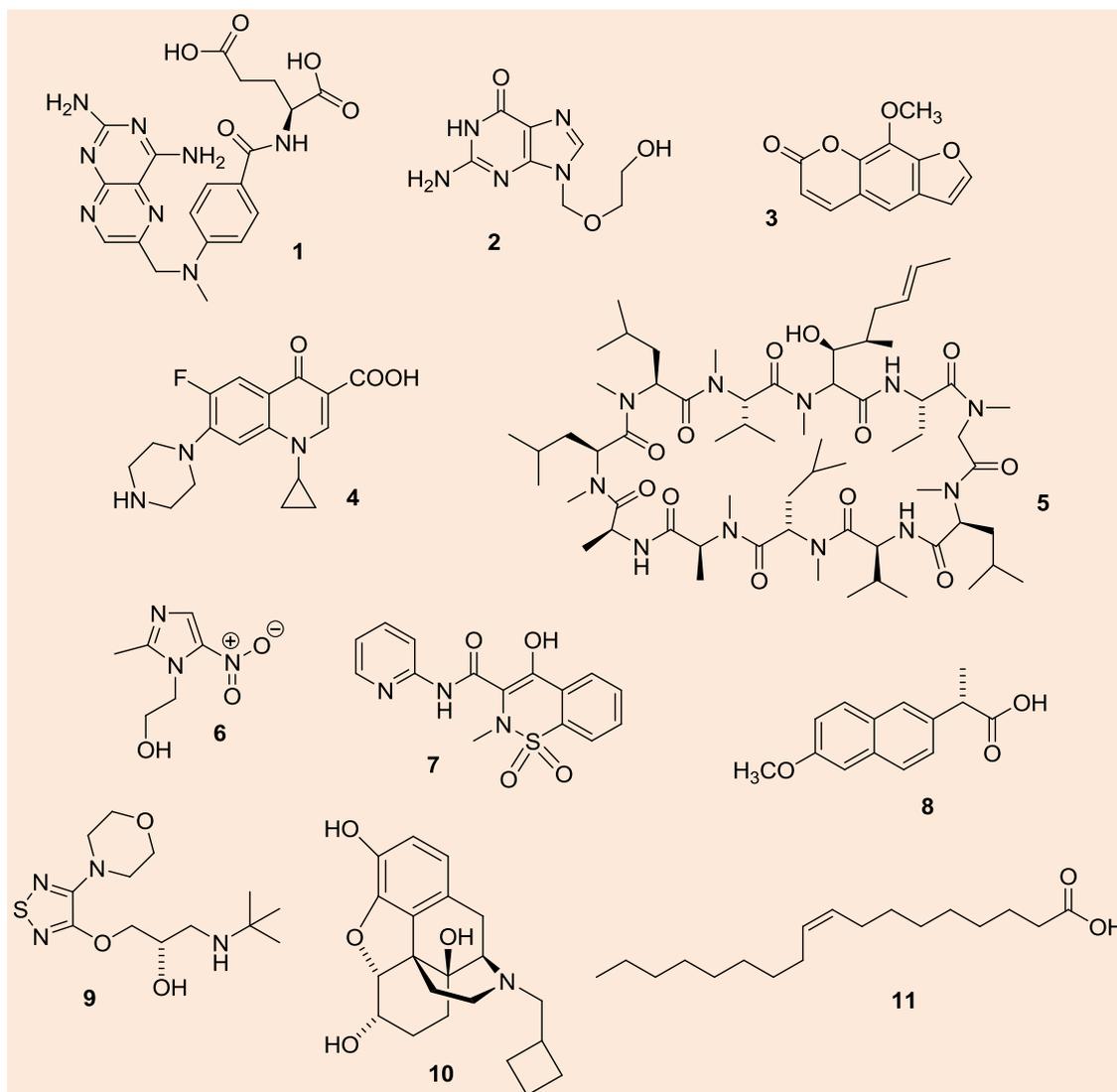


Figura 2. Substâncias testadas com a técnica de eletroporação

^a A estrutura cristalográfica da insulina pode ser encontrada no PDB (*Protein Data Bank*) complexada com cátions e diferentes inibidores com resolução de até 4,0 Å.

^b Ciclodextrinas são uma família de compostos formadas por 6, 7 e 8 unidades de glicose, chamadas de α , β e γ – ciclodextrina, respectivamente.

A eficácia deste transporte depende de parâmetros elétricos, das propriedades físico-químicas dos fármacos e de aspectos relacionados à formulação conforme a tabela 1.²³ Ocorre um favorecimento da permeação cutânea quando um desses parâmetros aumenta: voltagem, número e comprimento do pulso, carga do fármaco e ionização da formulação. Por sua vez, se observa um

decréscimo da permeação quando aumenta a massa molecular, a lipofilicidade do fármaco ou a viscosidade da formulação. Um dos principais ajustes de modulação na eletroporação é a intensidade do campo elétrico, medida em V/cm. O campo elétrico é geralmente criado pela diferença de potencial (voltagem) entre os eletrodos.²⁸

Tabela 1. Parâmetros que afetam o transporte de fármacos através do emprego da eletroporação. Adaptado da referência^{23,36}

Parâmetros	
Propriedades elétricas	Voltagem do pulso Número de pulsos Comprimento do pulso
Propriedades físico-químicas do fármaco	Carga Massa molecular Lipofilicidade
Formulação	Ionização Viscosidade

Há vários fatores que afetam o transporte de fármacos na eletroporação, entre os principais pode-se destacar a voltagem aplicada, o tempo do pulso e a massa molecular. Dependendo da voltagem e do tempo do pulso o transporte do fármaco pode ocorrer via transcelular ou intercelular (figura 3). Na via intercelular o fármaco se difunde ao redor dos corneócitos, já na via transcelular o fármaco passa diretamente através dos corneócitos e da matriz

lipídica.^{7,10,13,28} O transporte molecular intercelular ocorre nos casos de pulsos de alta voltagem, e parece ser transcelular quando diminui a voltagem e a duração do pulso. O peso molecular do fármaco eletroporado é outro fator que influencia, quanto menor for o peso molecular maior será a penetração por via transcelular.¹

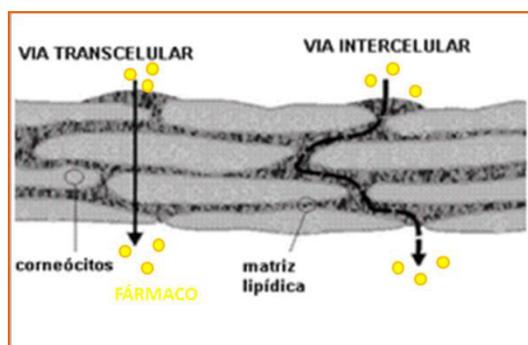


Figura 3. Vias de permeação de fármacos através do estrato córneo. Adaptado da referência 28

Durante a eletroporação ocorre a infiltração de macrófagos e de neutrófilos no estrato córneo. Esse processo costuma ser doloroso e geralmente ocasiona eritema e edema transitório o que caracteriza o início de um processo inflamatório. Quanto maior for a

voltagem, mais pronunciado é esse processo inflamatório.²⁹ Essa técnica também pode causar irritação local, reações alérgicas e contrações musculares. As mudanças celulares induzidas são revertidas em um período de aproximadamente uma

semana, na qual se observa uma desordem temporária das camadas da epiderme o que indica a capacidade do método de perturbar reversivelmente a barreira do estrato córneo.³⁰

3. Eletroporação e Iontoforese

A iontoforese é outra técnica de promoção de permeação muito utilizada. Ela consiste na associação de uma corrente elétrica contínua ou alternada a fármacos com aplicação tópica, que potencializa sua liberação transdérmica através do estrato córneo, aumentando a eficácia terapêutica de diversos tratamentos. Um fármaco de polaridade positiva, por exemplo, deve ser colocado num eletrodo positivo e quando a corrente elétrica é acionada, as cargas iguais ao se repelirem fazem com que o fármaco permeie a pele em direção ao local desejado.³¹ Várias são as aplicações clínicas da iontoforese como o transporte transdérmico de anestésicos locais,³²

antibióticos³³ e antivirais³⁴.

Combinações de diferentes métodos para aumentar o transporte de fármacos transdérmicos são mais efetivas, se comparadas ao uso de uma técnica isolada. A associação da iontoforese com a eletroporação já mostrou resultados promissores, uma vez que a eletroporação atua desorganizando a camada lipídica da pele criando novos caminhos de transporte, o que facilita a passagem subsequente da corrente da iontoforese, resultando em aumento do transporte transdérmico.¹ Essas técnicas físicas de penetração de fármacos via tópica, quando comparadas as vias de administração parenteral, estão associadas à maior adesão ao tratamento e também a um reduzido risco de infecção. Em relação à administração oral, ocorre uma diminuição da decomposição metabólica. Pesquisas envolvendo eletroporação e iontoforese mostraram sinergismo entre as técnicas, como é o caso da permeação de 5-fluoruracila (**12**), calcitonina,^c manitol (**13**), dextran (**14**), meloxicam (**15**), cafeína (**16**), indometacina (**17**), insulina^a, timolol (**9**) e atenolol (**18**) (Figuras 2 e 4)^{23,35}.

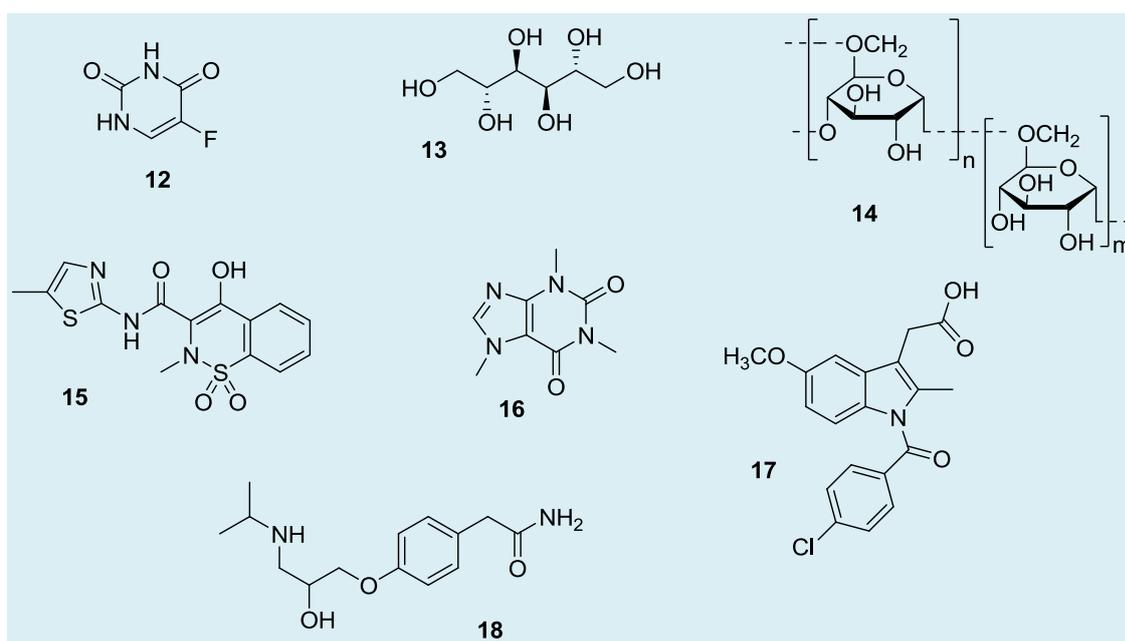


Figura 4. Substâncias testadas com as técnicas de eletroporação e de iontoforese combinadas

^c A estrutura cristalográfica da calcitonina pode ser encontrada no PDB com resolução de até 2,90 Å.

4. Conclusão

A eletroporação mostrou ser um método promissor para transporte de fármacos através da pele. A técnica permite o carregamento de macromoléculas com diferentes polaridades (lipofílicas ou hidrofílicas) e também possibilita combinações sinérgicas com outras técnicas como a iontoforese. A revisão, mostra que apesar dos avanços na compreensão do comportamento elétrico, do tipo de transporte celular, da influência das características físico-químicas das substâncias e da formulação, ainda faltam estudos conclusivos sobre o comportamento mecânico das membranas (recuperação ou ruptura), o destino final celular (sobrevivência ou morte), a permeação/retenção cutânea, o tempo necessário para o fármaco permear, a possibilidade de toxicidade e as concentrações obtidas nas camadas da pele e nos tecidos subjacentes. O desconhecimento de alguns aspectos das técnicas impõe uma necessidade de estudos mais profundos a fim de assegurar a eficácia e a segurança. Dessa forma, os profissionais deveriam questionar e alertar a população sobre o uso dessas técnicas, porque devido ao potencial de irritação, reações alérgicas e inflamatórias elas não deveriam ser empregadas sem adequada orientação e acompanhamento médico. Por outro lado, os dados científicos disponíveis para permeação de alguns fármacos apontam seu potencial para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos através da pele.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro e pela bolsa, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (UFRGS e UFRJ), aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais (UFRJ) e de Farmacognosia (UFRGS), aos orientadores Profa. Gilsane Lino von Poser, Prof. Helder Ferreira Teixeira da Faculdade de Farmácia da UFRGS, e Prof. Angelo da Cunha Pinto do Instituto de Química da UFRJ.

Referências Bibliográficas

- ¹ Guy, R. H. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1765. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ² Junqueira, L. C.; Carneiro, J.; *Histologia Básica*, 11a. ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2008.
- ³ Ross, M. H.; Rowrell, L. J.; *Histologia: texto e atlas*, 2a.ed., Médica Panamericana: Rio de Janeiro, 1993.
- ⁴ Elias, P. M. *J. Invest. Dermatol.* **1983**, *80*, S444. [[PubMed](#)]
- ⁵ Wang, Y.; Thakur, R.; Fan, Q.; Michniak, B. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, *60*, 179. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶ Nanda, A.; Nanda, S.; Ghilzai, N. M. *Curr. Drug. Deliv.* **2006**, *3*, 233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ a) Hadgraft, J.; Lane, M. E. *Int. J. Pharm.* **2005**, *305*, 2; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Hadgraft, J. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2004**, *58*, 291; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] c) Barry, B. W. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2001**, *14*, 101; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] d) Hadgraft, J. *Int. J. Pharm.* **2001**, *224*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ Aulton, M. E.; *Delineamento de Formas Farmacêuticas*, 2a. ed., Artmed: Porto Alegre, 2005.
- ⁹ Degim, I. T. *Drug Discov. Today* **2006**, *11*, 517. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ a) Paparella, S. *J. Emerg. Nurs.* **2005**, *31*, 278; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Simonsen, L.; Petersen, M. B.; Groth, L. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2002**, *17*, 95; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] c) Ansel, H. C.; Popovich, N. G.; Allen Jr., L. V. *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*, 6a. ed., Premier: São Paulo, 2000; d) Haigh, J. M.; Beyssac, E.; Chanut, L.; Aiache, J. -M. *Int. J. Pharm.* **1998**, *170*, 151. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Chorilli, M.; Brizante, A. C.; Rodrigues, C. A.; Salgado, H. R. N. *Rev. Bras. Farm.* **2007**, *88*, 7. [[Link](#)]
- ¹² Williams, A. C.; Barry, B. W. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, *56*, 603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Marjukka Suhonen, T.; Bouwstra, J. A.; Urtti, A. *J. Control. Release* **1999**, *59*, 149. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴ a) Fitzpatrick, D.; Corish, J. *Int. J. Pharm.* **2006**, *325*, 90; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Cornwell, P. A.; Barry, B. W.; Stoddart, C. P.; Bouwstra, J. A. *J. Pharm. Pharmacol.* **1994**, *46*, 938. [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Lee, P. J.; Ahmad, N.; Langer, R.; Mitragotri, S.; Prasad Shastri, V. *Int. J. Pharm.* **2006**, *308*, 33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ a) Elsayed, M. M. A.; Abdallah, O. Y.; Naggar, V. F.; Khalafallah, N. M. *Int. J. Pharm.* **2006**, *322*, 60; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Sintov, A. C.; Botner, S. *Int. J. Pharm.* **2006**, *311*, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ¹⁷ El Maghraby, G. M.; Barry, B. W.; Williams, A. C. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2008**, *34*, 203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ a) Washington, C. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1996**, *20*, 131; [[CrossRef](#)] b) Trotta, M.; Pattarino, F.; Ignoni, T. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2002**, *53*, 203; [[CrossRef](#)] c) Sonnevile-Aubrun, O.; Simonnet, J. -T.; L' Alloret, F. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2004**, *108*, 145; [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] d) Bouchemal, K.; Briançon, S.; Perrier, E.; Fessi, H. *Int. J. Pharm.* **2004**, *280*, 241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ a) Lee, S.; McAuliffe, D. J.; Flotte, T. J.; Kollias, N.; Doukas, A. G. *J. Invest Dermatol.* **1998**, *111*, 925; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Inoue, N.; Kobayashi, D.; Kimura, M.; Toyama, M. Sugawara, I.; Itoyama, S.; Ogihara, M.; Sugibayashi, K.; Morimoto, Y. *Int. J. Pharm.* **1996**, *137*, 75; [[CrossRef](#)] c) McAllister, D. V.; Wang, P. M.; Davis, S. P.; Park, J. H.; Canatella, P. J.; Allen, M. G.; Prausnitz, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 13755; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] d) Doukas, A. G.; Kollias, N. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2004**, *56*, 559. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Prausnitz, M. R.; Lau, B. S.; Milano, C. D.; Conner, S.; Langer, R.; Weaver, J. C. *Biophys. J* **1993**, *65*, 414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²¹ a) Meyer, B. R.; Kreis, W.; Eschbach, J.; O'Mara, V.; Rosen, S.; Sibalis, D. *Clin. Pharmacol. Ther.* **1988**, *44*, 607; [[CrossRef](#)] b) Ogura, M.; Paliwal, S.; Mitragotri, S. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2008**, *60*, 1218. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Bronaugh, R. L.; Maibach, H. I.; *Percutaneous Absorption*, 2a. ed., Marcel Dekker: New York, 1989.
- ²³ a) Prausnitz, M. R., Bose, V. G.; Langer, R.; Weaver, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10504; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Gehl, J. *Acta Physiol. Scand.* **2003**, *177*, 437; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] c) Denet, A. -R.; Vanbever, R.; Pr eat, V. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2004**, *56*, 659. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ a) Weaver, J. C.; Vaughan, T. E.; Chizmadzhev, Y. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *35*, 21; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Medi, B. M.; Singh, J. *Int. J. Pharm.* **2006**, *308*, 61. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁵ a) Brown, M. B.; Traynor, M. J.; Martin, G. P.; Akomeah, F. K. *Methods Mol. Biol.* **2008**, *437*, 119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]; b) Wong, T. W.; Ko, S. F.; Hui, S. W. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* **2008**, *2*, 51. [[CrossRef](#)]
- ²⁶ a) Murthy, S. N.; Zhao, Y. L.; Marlan, K.; Hui, S. W.; Kazim, A. L.; Sen, A. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95*, 2041; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Murthy, S. N.; Zhang, S. J. *Dermatol. Sci.* **2008**, *49*, 249; [[CrossRef](#)] c) Murthy, S. N.; Zhao, Y. L.; Sen, A.; Hui, S. W. *J. Control. Release* **2004**, *99*, 393; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] d) Sammeta, S. M.; Vaka, S. R. K.; Murthy, S. N. *Int. J. Pharm.* **2009**, *369*, 24; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] e) Tokudome, Y.; Sugibayashi, K. *J. Control. Release* **2004**, *95*, 267; [[CrossRef](#)] f) Medi, B. M.; Hoselton, S.; Marepalli, R. B. Singh, J. *Int. J. Pharm.* **2005**, *294*, 53; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] g) Liu, H.-Z.; Xu, L.; He, Y.; Yang, T. -Y.; Li, H. -J.; Li, S. -M. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao* **2007**, *24*, 389; h) Hu, Q.; Jiang, H.; Xu, D.; Yang, H. *Yiyao Daobao* **2006**, *25*, 740; i) Zan, J.; Jiang, G.; Lin, Y.; Tan, F.; Ding, F. *Tsinghua Sci. Technol.* **2005**, *10*, 542; [[CrossRef](#)] j) Jiang, G.; Zan, J.; Chen, J.; Zhu, D.; Ding, F. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* **2004**, *39*, 117; l) Hu, Q. H.; Liang, W. Q. *Pharmazie* **2003**, *58*, 192; [[PubMed](#)] [[Link](#)] m) Denet, A.-R.; Ucar, B.; Pr eat, V. *Pharm. Res.* **2003**, *20*, 1946; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] n) Sung, K. C.; Fang, J. -Y.; Wang, J. - J.; Hu, O. Y. -P. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2003**, *18*, 63; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] o) Takeuchi, Y.; Miyawaki, K.; Kamiyabu, S.; Fukushima, S.; Yamaoka, Y.; Kishimoto, S.; Taguchi, K.; Masai, H.; Kamata, Y. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, *23*, 850; [[PubMed](#)] p) Tokumoto, S.; Mori, K.; Higo, N.; Sugibayashi, K. *J. Control. Release* **2005**, *105*, 296. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ a) Sersa, G.; Cemazar, M. Rudolf, Z. *Cancer Ther.* **2003**, *1*, 133; [[Link](#)] b) Heller, R.; Gilbert, R.; Jaroszeski, M. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *35*, 119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ a) Moser, K.; Kriwet, K.; Naik, A.; Kalia, Y. N.; Guy, R. H. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2001**, *52*, 103; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Kitson, N.; Thewalt, J. L. *Acta Derm. Venereol. Suppl.* **2000**, *208*, 12; [[PubMed](#)] c) Gratieri, T.; Gelfuso, G. M.; Lopez, R. F. V. *Quim. Nova* **2008**, *31*, 1490; [[CrossRef](#)] d) Wong, T. -W.; Zhao, Y. -L.; Sen, A.; Hui, S. W. *Br. J. Dermatol.* **2005**, *152*, 524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Nickoloff, J. A.; *Animal Cell Electroporation and Electrofusion Protocols*, Totowa: New Jersey, 1995.
- ³⁰ Babiuk, S.; Baca-Estrada, M.E.; Foldvari, M.; Baizer, L.; Stout, R.; Storms, M.; Rabussay, D.; Widera, G.; Babiuk, L. *Mol. Ther.* **2003**, *8*, 992. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Simon, L.; Weltner, A. N.; Wang, Y.; Michniak, B. J. *Membr. Sci.* **2006**, *278*, 124. [[CrossRef](#)]
- ³² Maloney, J. M.; Bezzant, J. L.; Stephen, R. L.; Petelenz, T. J. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* **1992**, *18*, 937. [[PubMed](#)]
- ³³ Rigano, W.; Yanik, M.; Barone, F. A.; Baibak, G.; Cislo, C. *J. Burn Care Rehabil.* **1992**, *13*, 407. [[CrossRef](#)]

³⁴ Gangarosa, L. P.; Payne, L. J.; Hayakawa, K.; McDaniel, W. J.; Davis, R. E.; Thompson, B. M. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **1989**, *70*, 336. [[PubMed](#)] [[Link](#)]

³⁵ a) Mir, L. M.; Orlowski, S. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1999**, *35*, 107; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] b) Vanbever, R.; Le Boulengé, E.; Préat, V. *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 559; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] c) Wang, R. -J.; Wu, P. -C.; Huang, Y. -B.; Tsai, Y. -H. *Yaowu Shipin Fenxi* **2008**, *16*, 41.; d) Hu, Q.; Ying, M.; Li, X.; Guo, B. *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao* **2006**, *22*, 115; e) Wang, R.-J.; Hung, Y. -B.; Wu, P. -C.; Fang, J. -Y.; Tsai, Y. -H. *Yaowu Shipin Fenxi* **2007**, *15*, 126; f) Tokumoto, S.; Higo, N.; Sugibayashi, K. *Int. J. Pharm.* **2006**, *326*, 13; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] g) Denet, A. -R.; Préat, V. *J. Control. Release* **2003**, *88*, 253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

³⁶ a) Shier, D.; Butler, J.; Lewis, R. *Hole`s Human Anatomy and Physiology*, 8a. ed., McGraw-Hill: Boston, 1999; b) MacNeil, S. *Nature* **2007**, *445*, 874; [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] c) Guy, R. H.; Hadgraft, J. *Transdermal Drug Delivery*, 2^a. Ed , Marcel Dekker: New York, 2003; d) Bear, M. F.; Connors, B. W.; Paradiso, M. A. *Neurociências: Desvendando o sistema nervoso*, 2^a. Ed., Artmed Editora: Porto Alegre, 2002.