

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA**

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS CONTENDO  
FILTROS SOLARES NANOENCAPSULADOS**

**JÚLIA SCHERER SANTOS**

**PORTO ALEGRE, 2014.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA**

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS CONTENDO  
FILTROS SOLARES NANOENCAPSULADOS**

Tese apresentada por **Júlia Scherer Santos** para  
obtenção do **TÍTULO DE DOUTOR** em  
Nanotecnologia Farmacêutica.

Orientadora: Prof. Dr. Silvia Stanisquaski Guterres  
Porto Alegre, 2014.

**Tese** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em **Nanotecnologia Farmacêutica, em nível de Doutorado** da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em **10 de outubro de 2014**, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Cristiane de Bona da Silva  
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Leticia Scherer Koester  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Maria Lionzo Ismenia Zulian Lionzo  
Universidade Fundação de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Prof. Dr. Silvia Stanisquaski Guterres  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Valquiria Linck Bassani  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### CIP - Catalogação na Publicação

Scherer Santos, Júlia  
Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras  
contendo filtros solares nanoencapsulados / Júlia  
Scherer Santos. -- 2014.  
204 f.

Orientadora: Silvia Stanisquaski Guterres.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-  
Graduação em Nanotecnologia Farmacêutica, Porto  
Alegre, BR-RS, 2014.

1. Nanocápsulas. 2. Fotoprotetores. 3. Filtro  
solar. I. Stanisquaski Guterres, Silvia, orient. II.  
Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora Silvia Stanisçuaski Guterres pela confiança em mim depositada e por me mostrar o caminho da ciência.

Agradeço a todos colegas do laboratório 405 e K204, de que alguma forma tenham me auxiliado. A ajuda de todos foi imprescindível para que esse trabalho pudesse ser realizado. Agradeço em especial à minha colega de trabalho, Denise Soledade Jornada, que participou diretamente desse trabalho. A sua experiência em pesquisa veio a contribuir para o aprimoramento dessa tese. Agradeço também aos colegas pelos bons momentos vivenciados durante esses 4 anos.

Agradeço à CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Agradeço aos professores do Programa de Pós graduação em Nanotecnologia Farmacêutica e do Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas pelos ensinamentos.

Agradeço as minhas colegas da primeira turma do Programa de Pós Graduação em Nanotecnologia Farmacêutica Ana Carolina Ashbar, Aline Ourique, Gabriele Dadalt pelo companheirismo.

Agradeço aos meus pais Edison e Eliete por primarem pela educação, me permitindo chegar até a pós-graduação. Obrigada por estarem sempre presentes, pelo incentivo, paciência, apoio e por acreditarem no meu potencial.

Agradeço a minha irmã Isabela, que me recebeu aqui em Porto Alegre, em 2010, me auxiliando a me “virar” na capital. Aos poucos, fomos nos aproximando mais e nos tornando grandes companheiras. Agradeço também ao meu cunhado Douglas, pela companhia e parceria.

Agradeço à minha irmã Andyara, que mais recentemente veio também morar em Porto Alegre, a minha companheira de chimarrão! Dy, obrigada pela companhia e pelas conversas.

Agradeço ao meu namorado Mateus. Durante o período que acompanhou o andamento do meu doutorado, sempre me incentivou, me dando força, apoio e carinho.

## RESUMO

A utilização de nanopartículas poliméricas como carreadores de filtros solares tem sido descrita na literatura, com intuito de possibilitar uma maior retenção desses no estrato córneo. Esse trabalho teve por objetivo desenvolver formulações nanotecnológicas fotoprotetoras a partir de variações na composição do núcleo oleoso e na composição quali-quantitativa dos filtros solares selecionados. Inicialmente, foram preparadas formulações contendo somente metoxicinamato de octila (OMC), afim de determinar a melhor concentração do filtro no núcleo. A análise da estabilidade dessas nanocápsulas mostrou que a menor concentração de OMC foi a ideal para a sua localização preferencial no núcleo. Posteriormente, a essa formulação foi adicionado 16 mg/mL de um óleo adicional, obtendo-se a formulação NC<sub>1</sub>, a qual apresentou tamanho nanométrico e potencial zeta variando entre -9 e -18 mV. Após a secagem das formulações contendo OMC ou OMC associado ao óleo adicional, a retomada do tamanho nanométrico foi obtida em sua totalidade apenas para a formulação contendo OMC e o óleo adicional. No estudo do gradiente de densidade observou-se que essa mesma formulação, apresentou a menor tendência à mistura de partículas. A formulação NC<sub>1</sub> também propiciou maior fotoestabilização do OMC, da mesma forma como a sua respectiva forma pulverulenta. Após incorporação dos nanoingredientes em hidrogéis, os valores de pH, comportamento reológico e características organolépticas obtidas foram adequadas para aplicação tópica. No estudo da capacidade fotoprotetora, a formulação contendo NC<sub>1</sub> apresentou melhor desempenho. O hidrogel contendo NC<sub>1</sub> também apresentou maior retenção no estrato córneo em ambos os tempos de análise (2 h e 6 h) em relação aos demais hidrogéis contendo somente OMC. Em um estudo final, foram adicionados outros dois filtros solares à formulação NC<sub>1</sub>, a octiltriazona e bemotrizinol. As formulações apresentaram tamanho de partícula, bem como pH e potencial zeta, adequados. Na análise da estabilidade física das formulações, observou-se que as mesmas mantiveram-se estáveis durante todo o período de análise. No estudo da capacidade fotoprotetora e da capacidade absorptiva, a formulação contendo um total de 3 mg/mL de filtros solares encapsulado apresentou melhor desempenho. No estudo de penetração cutânea, esse mesmo semissólido apresentou melhor retenção no estrato córneo após 6 horas em relação ao semissólido contendo os três filtros na forma livre. No estudo avaliando as peles suínas tratadas com as formulações seguida da irradiação em lâmpada UVB, os hidrogéis contendo nanocápsulas (gel contendo NC<sub>1</sub> e o gel contendo NC<sub>4</sub>) foram aqueles que mostraram maior capacidade de evitar os danos provocados pela radiação. Em síntese, esse trabalho demonstrou a superioridade das nanocápsulas desenvolvidas em relação aos hidrogéis não-nanotecnológicos. Também foi demonstrado a possibilidade de encapsulação de mais de um filtro solar no núcleo oleoso das nanocápsulas.

**PALAVRAS-CHAVE:** PALAVRAS-CHAVE: nanocápsulas, fotoprotetores, metoxicinamato de octila, octiltriazona, bemotrizinol, filtro solar.

## ABSTRACT

Polymeric nanoparticles containing sunscreens have been developed in several studies mainly to enable greater retention in the stratum corneum. This work aimed to develop photoprotective formulations based on nanotechnology by varying in the oil core composition and qualitative-quantitative composition of selected sunscreens. Initially, only formulations containing ethylhexyl methoxycinnamate (EMC) were prepared, in order to determine the optimal concentration of this filter in the nanoparticles core. The stability analysis of these nanocapsules demonstrated that the lower concentration of EMC was the optimal for its core location. To this formulation 16 mg / mL of an additional oil was added, obtaining the NC<sub>1</sub> formulation, which had nanometer size and zeta potential ranging between -9 and -18 mV. After drying the formulations containing EMC or EMC associated with additional oil, the resumption of nanometric particle size were obtained in its entirety only for the formulation containing EMC and additional oil. In the study of density gradient, this formulation also showed a lower tendency of particle mixture. The NC<sub>1</sub> formulation also provided greater photostabilization of EMC, just as its respective dry form. After incorporation of nanoparticles in hydrogels, the pH values, rheological behavior and organoleptic characteristics were appropriated for topical application. In the study of photoprotective capacity, the formulation containing NC<sub>1</sub> presented the best performance. The hydrogel containing NC<sub>1</sub> showed greater retention in the stratum corneum for 2 and 6 hours, compared to other hydrogels containing only EMC. In a second study, the sunscreens ethylhexyl triazone and bemotrizinol were added to NC<sub>1</sub> formulation. The formulations had suitable particle size as well as pH and zeta potential. In the analysis of physical stability of these formulations, it was observed that they were stable throughout the period of analysis. In the study of photoprotective capacity and absorptive capacity, the formulation containing 3 mg/mL of sunscreens encapsulated showed the best performance. In the study of skin penetration, this semisolid showed better retention in the stratum corneum only after 6 hours compared to semisolid containing three sunscreens in free form. In a study evaluating the porcine skin treated with the formulations and submitted to UVB irradiation, hydrogels containing nanocapsules (hydrogel containing NC<sub>1</sub> and hydrogel containing NC<sub>4</sub>) were those that showed greater capacity to prevent damage caused by radiation. In summary, this study demonstrated the superiority of developed nanocapsules in relation to non-nanotechnology hydrogels. It was also demonstrated the possibility of encapsulation of more than one sunscreen in the oil core of nanocapsules.

**KEY-WORDS:** nanocapsules, sunscreens, ethylhexyl methoxycinnamate, ethylhexyl triazone, bemotrizinol.

## **1. INTRODUÇÃO**

---

A pele constitui o maior órgão do corpo humano (RIBEIRO, 2010; SHAAT, 2005), sendo esse o primeiro contato do nosso organismo com o meio externo. O seu pH ácido, decorrente da presença de aminoácidos e ácido lático, complementa o efeito barreira, auxiliando na proteção contra micro-organismos e agentes químicos (BUTLER, 2000). Adicionalmente, a pele também possui terminações nervosas que convertem o seu contato com o meio externo em sensações de toque, pressão, dor e temperatura (SHAI et al., 2009; RIBEIRO, 2010).

A pele está dividida em epiderme, derme e hipoderme. A epiderme, a camada mais externa da pele, subdivide-se em camada córnea, camada granulosa, camada espinhosa e camada basal (RIBEIRO, 2010). A camada córnea, a mais externa da epiderme, formada por células mortas e queratinizadas denominadas de corneócitos (SHAI et al., 2009), constitui a principal barreira à penetração de substâncias na pele (KALIA; GUY, 2001). Na epiderme, além dos corneócitos, estão também presentes os melanócitos. Esses têm por função produzir a melanina, substância que protege a pele dos danos provocados pela radiação ultravioleta (BUTLER, 2000) através da difração ou reflexão dessas radiações. A derme, por sua vez, é o tecido situado logo abaixo da epiderme, tendo como função fornecer o aporte nutricional. Nessa camada estão presentes as fibras de colágeno e elastina, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas dispersas na substância fundamental. Os fibroblastos, as principais células da derme, são responsáveis pela produção de substância fundamental e de colágeno. Abaixo da derme há ainda a hipoderme, formada por tecido adiposo, atuando como reservatório de energia e como isolante térmico em situações de baixas temperaturas (SHAI et al., 2009).

O envelhecimento cutâneo é um processo complexo, multifatorial, associado tanto a fatores extrínsecos como também a fatores intrínsecos (FARAGE et al., 2010; RIBEIRO, 2010). Dentre os fatores intrínsecos estão as alterações hormonais (BRINCAT et al., 1983; BRINCAT et al., 1987a; BRINCAT et al., 1987b). Dentre os fatores extrínsecos, estão a radiação ultravioleta e o tabagismo (FARAGE et al., 2010; RIBEIRO, 2010). A radiação ultravioleta provoca o fotoenvelhecimento e caracteriza-se por variadas alterações como: redução do número de queratinócitos, fibroblastos e melanócitos; diminuição na biossíntese de colágeno (RIBEIRO, 2010; SHAAT, 2005) e imunossupressão (AUBIN, 2003). Além desses efeitos, a radiação ultravioleta também está relacionada com os carcinomas basocelular, espinocelular (RIBEIRO, 2010) e com o melanoma, câncer de pele mais invasivo e responsável por 90% dos óbitos para pacientes com câncer de pele (GARBE et al., 2010).



Os fotoprotetores passaram a ter papel fundamental na prevenção dos efeitos colaterais causados pela exposição à radiação ultravioleta, sendo o primeiro fotoprotetor comercializado no ano de 1928, contendo salicilato de benzila e cinamato de benzila (LIM; DRAELOS, 2009). Essas preparações de uso tópico têm como objetivo proteger a pele contra a radiação ultravioleta A e B, através da absorção, dispersão ou reflexão da luz. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável por estipular as concentrações máximas de uso, em preparações farmacêuticas, para os diferentes tipos de filtros solares disponíveis no mercado, bem como autorizar e fiscalizar a produção e comercialização destes (BRASIL, 2006).

Entre as aplicações descritas para os sistemas nanoparticulados poliméricos na literatura, está o carregamento de ativos para uso tópico, incluindo os filtros solares (WEISS-ANGELI et al., 2008; JIMÉNEZ et al., 2004; PAESE, 2008, LUPPI et al., 2004; OLVERA-MARTÍNEZ et al., 2005). Esses podem propiciar uma liberação sustentada dos ativos, permitindo que os mesmos permaneçam mais tempo na superfície da pele (JIMÉNEZ et al., 2004). As suspensões aquosas de nanopartículas são sistemas que apresentam poucos fenômenos de instabilidade físico-químicos, sendo considerados na maioria das vezes sistemas altamente estáveis. Por serem sistemas aquosos, contudo, estão sujeitos à contaminação microbiana. Assim, a secagem dessas suspensões permite aumentar a estabilidade (MÜLLER et al., 2000). A técnica de secagem por aspersão tem sido aplicada para suspensões de nanocápsulas, sendo o dióxido de silício coloidal um dos primeiros adjuvantes a ser proposto (MÜLLER *et al.*, 2000, SCHAFFAZICK *et al.*, 2006). Embora esse adjuvante seja hidrofílico, é insolúvel em água, não propiciando características sensoriais agradáveis quando os pós secos com esse adjuvante são incorporados em formas semissólidas (HOFFMEISTER, 2012). Mais recentemente, a utilização dos adjuvantes hidrofílicos, especialmente a lactose, também foi descrita para a secagem de nanopartículas propiciando a obtenção de partículas esféricas com adequada redispersão em água (TEWA-TAGNE et al., 2007).

Diante do exposto, no presente trabalho foram preparadas formulações semissólidas contendo filtros solares encapsulados em nanocápsulas. Como uma primeira estratégia inovadora desse trabalho, foi avaliada a secagem de nanocápsulas com adjuvante hidrofílico, buscando-se obter um pó facilmente incorporável em formulações cosméticas. O metoxicinamato de octila foi empregado como modelo para avaliação do efeito da secagem sobre o comportamento das nanocápsulas como fotoprotetores.

Além disso, outra estratégia consistiu na co-encapsulação dos filtros solares octiltriazona e bemotrizinol juntamente ao metoxicinamato de octila, em nanocápsulas, com intuito de aumentar a capacidade fotoprotetora das formulações desenvolvidas.

## **2. JUSTIFICATIVA**

---

O metoxicinamato de octila é um filtro solar UVB, que apresenta fotoinstabilidade (PATTANAARGSON et al., 2004) quando exposto à luz, perdendo a sua capacidade de proteção frente à luz ultravioleta. Desta forma, a sua nanoencapsulação permite aumentar a sua fotoestabilidade (PERUGINI et al., 2002; WEISS-ANGELI et al., 2008; VETTOR et al., 2008) e garantir retenção no estrato córneo (ALVAREZ-ROMÁN et al., 2004a; OLVEIRA-MARTINEZ et al., 2005; VETTOR et al., 2010).

As suspensões de nanocápsulas, embora apresentem alta estabilidade física, estão suscetíveis à contaminação microbiana por estarem na forma de suspensão aquosa. Além disso, apresentam maior dificuldade de acondicionamento e transporte em relação às formas sólidas (AULTON, 2005). Sendo assim, a secagem de nanocápsulas, obtendo nanocápsulas secas, visa à obtenção de produtos intermediários com maior aplicação industrial (MÜLLER, 2000).

Adicionalmente, como outra estratégia desse trabalho, foi proposto o desenvolvimento de nanocápsulas que apresentassem maior capacidade de proteção frente à radiação ultravioleta. Para isso, uma combinação inédita de filtros solares nanoencapsulados foi adicionada juntamente com o metoxicinamato de octila, no núcleo oleoso das nanocápsulas. Foram empregados como filtros solares adicionais a octiltriazona, um filtro solar UVB, e bemotrizinol, um filtro solar UVB/UVA; sendo ambos apresentando alto coeficiente de extinção molar (SOUZA, 2013).

A distribuição nas camadas da pele de cada um dos filtros solares, a partir de formulações semissólidas contendo os filtros solares nanoencapsulados ou na sua forma livre, será avaliada através do estudo de penetração cutânea *in vitro*. Esse ensaio foi conduzido com intuito de antever à necessidade dos filtros solares ficarem retidos nas camadas mais externas da epiderme a fim de garantir a efetividade dos fotoprotetores desenvolvidos (JIMENEZ et al., 2004).

Subsequentemente, o estudo da capacidade fotoprotetora também foi realizado, mediante avaliação da capacidade dos semissólidos desenvolvidos em evitar a degradação de uma substância fotolábil. Assim, será possível verificar se as novas formulações desenvolvidas apresentam um melhor desempenho frente às formulações contendo os filtros solares na forma livre.

### **3. OBJETIVOS**

---

---

### **3.1. Objetivo Geral**

Desenvolver, caracterizar e comparar nanoinsumos constituídos de suspensões de nanocápsulas contendo filtros solares quanto à sua performance como fotoprotetores.

### **3.2. Objetivos Específicos**

- Obter suspensões de nanocápsulas contendo somente metoxicinamato de octila ou associação de filtros solares (metoxicinamato de octila, octiltriazona e bemotrizinol);
- Desenvolver nanocápsulas secas;
- Obter formas semissólidas contendo suspensão de nanocápsulas ou pós de nanocápsulas;
- Avaliar a capacidade fotoprotetora das formas semissólidas;
- Avaliar a penetração cutânea *in vitro* das formas semissólidas.

#### **4. REVISÃO DE LITERATURA**

---

---

#### 4.1. Biologia da pele

A pele constitui 16% do peso corporal e tem por função a proteção contra torções mecânicas (provocadas por pressão ou fricção), perda de água transepidérmica e os raios ultravioleta. Além disso, ainda possui função de regulação através de participação na manutenção da temperatura corporal e síntese de vitamina D ocorre na pele, através da exposição à radiação UVB, (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A epiderme constitui a camada mais externa da pele, e se subdivide nas camadas córnea, granulosa, espinhosa e basal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A camada basal corresponde a camada mais profunda da epiderme, onde há mitose ativa para gerar queratinócitos. A camada espinhosa está localizada acima da camada basal, na qual os queratinócitos são mantidos coesos devido à presença de desmossomos. A camada granulosa, localizada acima da camada espinhosa, é formada por células achatadas contendo grânulos de querato-hialina. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A camada córnea é formada por corneócitos, células anucleadas e queratinizadas, que estão organizadas entre as bicamadas de lipídios. Adicionalmente, nessa camada também está presente o fator de hidratação natural (NMF, do inglês *Natural Moisturizing Factor*). Tanto os lipídios quanto o NMF têm por função proteger a pele da desidratação (SHAI et al., 2009).

A derme é a camada localizada abaixo da epiderme, sendo formada por fibras proteicas de colágeno, elastina e de matriz extracelular. O colágeno é a principal proteína dessa camada, sendo responsável pela propriedade de resistência da pele. A elastina permite que a pele possa voltar ao seu estado original após ocorrência de deformações provocadas por tensão ou pressão (BUTLER, 2000). A matriz extracelular é formada por glicosaminoglicanos (GAGs), glicoproteínas e proteoglicanos. Os GAGs podem ligar-se covalentemente às proteínas, formando proteoglicanos, que têm alta capacidade de reter água (RIBEIRO, 2010). Além disso, na derme estão presentes também os receptores sensoriais e as glândulas sudoríparas e sebáceas. Os receptores sensoriais permitem captar as sensações enquanto as glândulas sudoríparas e sebáceas têm função de produção de suor e sebo, respectivamente (BUTLER, 2000).



Abaixo da derme está localizada a hipoderme, camada de reserva energética, composta por adipócitos, proporcionando ação isolante contra o frio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

#### **4.2. Efeitos da radiação solar sobre a pele**

O espectro de ondas eletromagnéticas é composto pelos raios gama, raios-X, raios ultravioleta, visível, infravermelho, microondas e ondas de rádio. Essas são definidas como oscilações de campos elétricos e magnéticos que se propagam através do espaço provocando perturbações em um meio, com transporte de energia (HARVEY, 2000). Elas apresentam um comprimento de onda próprio, sendo esse definido como a distância entre dois vales (ponto mais baixo da onda) ou duas cristas (ponto mais alto da onda). A energia que uma determinada onda eletromagnética apresenta está relacionada com o seu comprimento de onda (HARVEY, 2000; HALLIDAY et al., 2006). O espectro solar corresponde às radiações ultravioleta, infravermelho e luz visível. Embora a radiação ultravioleta corresponda a apenas 5% da radiação solar terrestre, essa é a principal responsável por danos ao DNA (YOON et al., 2000), peroxidação lipídica (BOSE et al., 1989) e câncer de pele (URBACH, 1997).

A radiação ultravioleta que se estende de 100 a 400 nm (KALSI, 2004). A sua subdivisão em UVA, UVB e UVC foi proposta pela primeira vez em um congresso Internacional da Luz, em 1932 (COBLENTZ, 1932). A radiação UVA se estende de 320-400 nm, UVB de 290-320 nm e UVC 100-290 nm. Adicionalmente, a radiação UVA foi mais recentemente dividida em UVA-I (340-400 nm) e UVA-II (320-340 nm) (LIM et. al., 2007). A radiação UVC é absorvida pela camada de ozônio (RIBEIRO, 2010; SHAATH, 2005; GILCHREST; KRUTMANN, 2006). Devido ao seu comprimento de onda baixo, essa radiação é altamente genotóxica, mutagênica e carcinogênica (BUTLER, 2000).

A radiação UVB é responsável pelo desenvolvimento de inflamação, eritema e pigmentação da pele (TAKIWAKI et al., 1994). Além disso, é absorvida pelo DNA, podendo ocasionar o surgimento de células com mutações as quais, posteriormente, podem provocar câncer (ZIEGLER et al., 1993; BRASH et al., 1991). A radiação UVA, diferente da UVB, a qual só penetra até a epiderme, é capaz de uma penetração mais profunda na pele, atingindo a derme (GILCHREST; KRUTMANN, 2006). A radiação UVA curta, assim como a radiação UVB, pode ocasionar o aparecimento de mutações celulares (PERSSON et al., 2002). Por sua

vez, a radiação UVA longa é absorvida por cromóforos endógenos, como o ácido urocânico dando origem a radicais livres (MENON; MORRISON, 2002).

A luz visível compreende o espectro eletromagnético com  $\lambda$  entre 400 e 800 nm (KALSI, 2004). Dentre os efeitos relatados na pele por essa radiação estão: eritema (ROTTIER; VAN DER LEUN, 1960), geração de radicais livres (HAYWOOD, 2006) (que levam a danos ao DNA), além de pigmentação imediata da pele (DARVIN et al., 2010). Em estudo em pele humana irradiada com UVA e visível, verificou-se que a geração de dano no DNA não ocorre por absorção da radiação pelo DNA, mas por agentes fotossensibilizantes, que geram a espécie reativa de oxigênio singlete (KVAM; THYRELL, 1997).

Por sua vez, a radiação infravermelha (IV) possui comprimentos de onda que se estendem de 400 a 4000 nm (PAVIA et al., 2001). Essa se subdivide em: IV-A (760 a 1440 nm), IV-B (1440 a 3000 nm) e IV-C (maior que 3000 nm). A radiação IV-A e IV-B penetram até a derme enquanto que a radiação IV-C é absorvida pela epiderme (GILCHREST; KRUTMANN, 2006). Em estudo com fibroblastos humanos, após irradiação no infravermelho próximo, verificou-se também um aumento na expressão de enzimas metaloproteinases, que provocam degradação das proteínas da matriz extracelular colágeno e elastina (SCHIEKE et al., 2002).

### **4.3. Envelhecimento cutâneo**

O envelhecimento cutâneo é um processo de alterações morfológicas e fisiológicas na pele, sendo afetado por programação genética (fatores intrínsecos) e fatores ambientais (fatores extrínsecos). O envelhecimento intrínseco caracteriza-se pelo envelhecimento genético dependente do encurtamento dos telômeros (GILCHREST; KRUTMANN, 2006; LIM et al., 2007; FARAGE et al., 2010). Os telômeros são definidos como a porção terminal dos cromossomos, que tem por função impedir a perda de seqüências codificantes importantes nos cromossomos. À medida que as divisões celulares vão ocorrendo, ocorre também o encurtamento dos telômeros (LIM et al., 2007; GILCHREST; KRUTMANN, 2006). O encurtamento acaba por provocar a interrupção celular (apoptose), desencadeando uma depleção celular (GILCHREST ; KRUTMANN, 2006). Assim, os telômeros atuam como relógios biológicos, distinguindo células velhas de células jovens (LIM et al., 2007). Além dessa característica, ocorre também a redução da sensibilidade ao toque, pressão, dor, calor e

alteração da função barreira da pele com o envelhecimento (TSUTSUMI ; DENDA, 2007). Adicionalmente, no envelhecimento há redução da capacidade da pele em produzir a vitamina D, a qual protege as células humanas da apoptose ou da morte celular provocada pela radiação UVB (DE HAES et al., 2003).

No envelhecimento extrínseco são gerados radicais livres (YASUI & SAKURAI, 2003) como consequência da exposição à radiação UV. No DNA, as bases pirimidinas são capazes de absorver a radiação UVB, originando dímeros de pirimidina ciclobutano (CPD), que se caracterizam pela presença de uma ligação entre a posição 5 e 6 das pirimidinas (YOON et al., 2000). Por ação da radiação UVA, pode ocorrer oxidação da guanina, formando 8-oxo-guanina (8-oxo) (HATTORI et al., 1996), podendo levar ao desenvolvimento de mutações celulares e câncer (KUNISADA et al., 2005) . Dentre os cânceres de pele, 90% dos carcinomas de células escamosas e mais de 50% dos carcinomas basais ocorrem em decorrência da inativação/mutação de sequência do gene-chave p53 (BRASH et al., 2000).

As radiações UVA e UVB também induzem a ativação de fatores de transcrição que por sua vez induzem um aumento da atividade de metaloproteinases (MMP), enzimas que clivam proteínas da matriz extracelular como o colágeno e elastina, contribuindo para as alterações na derme observadas no fotoenvelhecimento (SCHARFFETTER et al., 1991; PETERSEN et al., 1992; KOIVUKANGAS et al., 1994).

#### **4.4. Fotoprotetores e filtros solares**

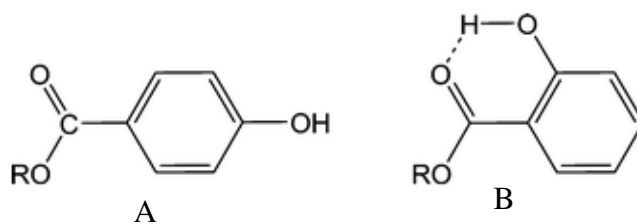
Inicialmente, o desenvolvimento de fotoprotetores tinha por objetivo proteger a pele somente contra a radiação UVB. Contudo, visto que também existe uma alta exposição ao longo do dia à radiação UVA, e conhecidos os seus efeitos no fotoenvelhecimento, tornou-se necessário o desenvolvimento de fotoprotetores com proteção também frente à radiação UVA. Por esta razão, os fotoprotetores passaram a ter ação sobre ambos os tipos de radiação (LIM et al., 2007). Esse tipo de formulação é constituído de agentes tensoativos, emolientes, umectantes, conservantes, antioxidantes, corantes, fragrâncias e filtros solares em um determinado veículo, que pode ser um creme, gel, loção, aerossol (SHAATH, 2005).

Os filtros solares são as substâncias responsáveis pelos efeitos protetores conferidos pelo fotoprotetor. Quando depositados sobre a pele, eles absorvem ou refletem a radiação

incidente (RIBEIRO, 2010). Esses são classificados em filtros inorgânicos e orgânicos e tem sido amplamente utilizados com intuito de prevenir os efeitos prejudiciais da radiação ultravioleta na pele. Entre os filtros inorgânicos estão o dióxido de titânio e óxido de zinco. Esses atuam refletindo ou dispersando a luz que incide sobre eles. Ademais, eles também são capazes de absorver a radiação; o óxido de zinco absorve toda radiação UVB e UVA e o dióxido de zinco absorve a radiação UVB. Esses agentes são apresentados na forma de pigmentos (partículas com aproximadamente 230 nm de diâmetro, capazes de espalhar luz visível) e na forma micronizada (partículas primárias com aproximadamente 60 nm de diâmetro, capazes de espalhar luz ultravioleta). A utilização nesta última forma permite aumentar a área superficial, garantindo maior cobertura e maior eficiência na proteção ultravioleta, além de evitar o branqueamento ocasionado pela dispersão e reflexão da luz (RIBEIRO, 2010).

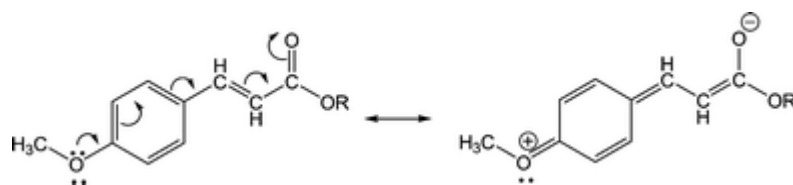
Os filtros orgânicos são agentes que apresentam como estrutura química cromóforos capazes de absorver a radiação UVA e/ou UVB. A efetividade dos filtros orgânicos está relacionada ao coeficiente de extinção molar, o qual se refere à quantidade de radiação que um mol do filtro solar é capaz de absorver em um determinado comprimento de onda. Assim, quanto maior o coeficiente de extinção molar, mais eficiente é o filtro na absorção da radiação UV (SHAATH, 2005).

O mecanismo de ação dessas moléculas se baseia na absorção da radiação UV pelos filtros solares, através de um mecanismo de deslocalização de elétrons. A estrutura química dessas moléculas é constituída de um composto aromático conjugado a uma ligação dupla ou a um grupo aceptor de elétrons e, ainda, um grupo doador de elétrons (amina, metoxila ou hidroxila) (SHAATH, 2005). Em filtros solares apresentando grupamentos para-substituídos (Figura 1), há ligação dupla conjugada ao grupamento aromático, enquanto que em filtros solares orto-substituídos (Figura 1), há um grupo aceptor de elétrons conjugado ao grupamento aromático (SHAATH, 2005). Com a absorção de energia, o filtro passa para um estado excitado, havendo passagem dos elétrons do orbital HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) para o orbital LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia). Com o retorno para o estado fundamental, a energia é liberada na forma de radiação infravermelha ou calor, que apresenta energia menor que a inicial, fazendo com que haja retorno dos elétrons para o orbital HOMO (FLOR et al.,2007).



**Figura 1.** Moléculas com substituição para (A) e orto (B). Fonte: SHAATH, 2010.

No exemplo da Figura 2 está demonstrada a deslocalização de elétrons nos cinamatos, os quais apresentam na sua estrutura química um grupo aromático conjugado a uma ligação dupla e uma metoxila como doador de elétrons (SHAATH, 2005).



**Figura 2.** Deslocalização de elétrons nos cinamatos. Fonte: SAATH, 2010.

Além disso, a presença de grupamentos orto ou para-substituídos também influencia no comprimento de onda máximo de absorção do filtro solar (Figura 1). Moléculas com grupamentos orto permitem a formação de pontes de hidrogênio dentro da própria molécula, reduzindo a energia requerida para a delocalização dos elétrons. Uma vez que o comprimento de onda é inversamente proporcional à energia, é possível o aumento no comprimento de onda de absorção do filtro. Os salicilatos, benzofenonas, antranilato, bemotrizinol se enquadram nessa situação. Por sua vez, em filtros solares para-substituídos, como o metoxicinamato de octila, não é possível a formação interna de pontes de hidrogênio, o que acaba acarretando em uma maior energia para a delocalização de elétrons e menor comprimento de onda de absorção, em relação à filtros solares orto-substituídos (SHAATH, 2005).

Os filtros orgânicos são classificados de acordo com a sua estrutura química em: PABA e derivados, cinamatos, salicilatos, benzimidazóis, derivados do benzidileno cânfora, benzofenonas, derivados do benzotriazolil, derivados da triazona, derivados de dibenzoilmetano. A Tabela 1 apresenta esses filtros, seus espectros de ação e principais representantes (RIBEIRO, 2010; SHAATH, 2005).

**Tabela 1.** Classificação dos filtros solares orgânicos, espectro de ação e representante (RIBEIRO, 2010; SHAATH, 2005).

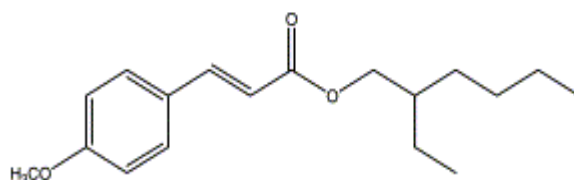
Classe	Espectro de ação	Representante
PABA e derivados	UVB	Ácido para-aminobenzóico (PABA)
Cinamatos	UVB	Metoxicinamato de octila
Salicilatos	UVB	Salicilato de octila
Benzimidazóis	UVB	Ácido fenil benzimidazol sulfônico
Derivados do benzidileno cânfora	UVA	Mexoryl SX <sup>®</sup> (ecamsule)
Benzofenonas	UVB/UVA-II	Benzofenona-3
Derivados do benzotriazolil	UVA	Tinosorb M <sup>®</sup> (bizoctrizole)
Derivados da triazina	UVA/UVB	Tinosorb S <sup>®</sup> (bemotrizinol)
Derivados de dibenzoilmetano	UVA-I	Avobenzona

A associação de diferentes filtros solares, sejam eles inorgânicos ou orgânicos, é realizada com intuito de aumentar o fator de proteção solar (FPS) de um produto final (RIBEIRO, 2010). No entanto, no desenvolvimento é necessário que o formulador conheça as incompatibilidades que existem entre filtros solares (SHAATH, 2005).

A fotoestabilidade é um fator importante em filtros solares, pois se refere à capacidade que um filtro tem de resistir à degradação provocada pela radiação ultravioleta, luz visível e calor. O desenvolvimento de filtros solares estáveis é importante, pois preserva a capacidade de proteção ultravioleta que apresentam. Quando o filtro é fotoinstável ocorre uma modificação estrutural e ele perde a sua capacidade de absorver a radiação ultravioleta (SHAATH, 2005; LIM et al., 2007). Ainda, durante a produção de uma formulação fotoprotetora, é necessário evitar que o filtro solar, quando na sua forma excitada, interaja com outras moléculas provenientes da pele ou da formulação, evitando, assim, a ocorrência de fotoreatividade (LIM et al., 2007). O teste de fotoestabilidade de filtros solares é realizado mediante irradiação da formulação com uma fonte de energia (simulador solar, lâmpadas ultravioleta ou de arco de xenônio). A dose de energia é expressa na forma de dose eritematosa mínima, ou seja, aquela dose mínima de energia capaz de provocar a formação de eritema quando incidente sobre a pele humana. A quantidade de filtro solar remanescente na formulação após a irradiação é determinada por métodos como cromatografia líquida, cromatografia gasosa acoplado a detector de espectrometria de massas e cromatografia com fluido supercrítico (SALVADOR; CHISVERT, 2007).

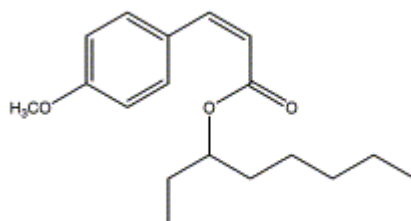
#### 4.4.1. Filtro solar fotoinstável: metoxicinamato de octila

O metoxicinamato de octila (OMC) (Figura 3), pertencente à classe dos cinamatos, é um filtro solar orgânico UVB, com espectro de ação entre 280-320 nm (PATTANAARGSON et al., 2004). É um líquido amarelo claro ou incolor, insolúvel em água, com peso molecular de 290,40 g mol<sup>-1</sup> e fórmula química C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub> (SWEETMAN, 2009). A sua nomenclatura, de acordo com o INCI (Nomenclatura Internacional de Cosméticos) é *Ethylexyl Methoxycinnamate* e de acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) é *p-methoxycinnamic acid 2-2-ethylhexyl-ester* (SWEETMAN, 2009). Esse filtro apresenta alto coeficiente de extinção molar (24.000 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), com absorção máxima em 310 nm (PATTANAARGSON et al., 2004).



**Figura 3.** Estrutura química do octil- para-metoxi-trans-cinamato. Fonte: PATTANAARGSON et al., 2004.

O metoxicinamato de octila, na forma trans (E-OMC) apresenta fotodegradação em presença de luz solar, formando o isômero cis (Z-OMC) (Figura 4). Esta isomerização leva à perda de atividade fotoprotetora, com redução do coeficiente de extinção molar para 12.600 mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> e redução do comprimento de onda de absorção máxima para 301 nm (PATTANAARGSON et al., 2004).

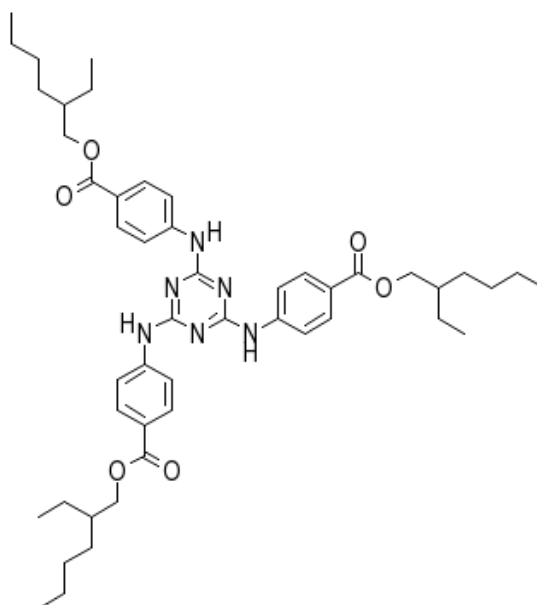


**Figura 4.** Estrutura química do octil- para-metoxi-cis-cinamato. Fonte: PATTANAARGSON et al., 2004).

#### 4.4.2. Filtros solares orgânicos fotoestáveis: octiltriazone e bemotrizinol

A octiltriazone (OCT) (Figura 5) é um filtro solar UVB (SOUZA & JUNIOR, 2013), apresentando massa molar de  $823,09 \text{ g mol}^{-1}$  com estrutura química de  $\text{C}_{48} \text{H}_{66} \text{N}_6\text{O}_6$  (BASF, 2001). A absorção máxima está em 314 nm e coeficiente de extinção molar de  $119.500 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Apresenta efeitos sinérgicos com outros filtros solares, especialmente aqueles com ação UVA (SOUZA; JUNIOR, 2013).

No estudo desenvolvido por Herzog e colaboradores (2009), foi avaliada a fotoestabilidade da octiltriazone em simulador solar, a partir de uma solução de triglicerídeos de cadeia média contendo 4% de octiltriazone. Após aplicação de 5 e 10 doses eritematosas mínimas (MED) em estudo *in vitro*, obteve-se recuperação próxima a 100%, indicando a sua fotoestabilidade.



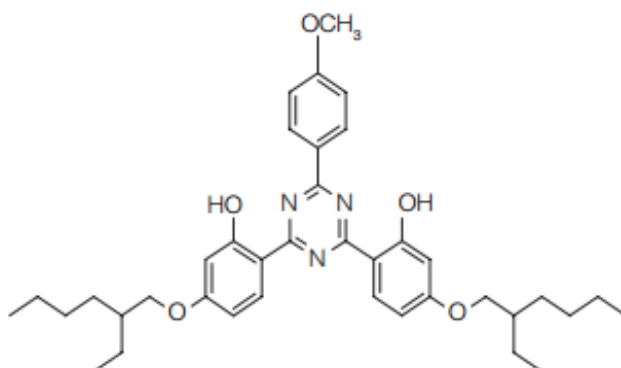
**Figura 5.** Estrutura química da octiltriazone. Fonte: BASF, 2001.

O bemotrizinol (BMT) (Figura 6) é um filtro solar de amplo espectro UVA/UVB, com massa molar de  $627,8 \text{ g mol}^{-1}$  e estrutura química  $\text{C}_{38} \text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_5$  (BASF, 2011). Apresenta absorção máxima nos comprimentos de onda de 310 e 343 nm, com coeficientes de extinção



molar de  $46.800 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e  $51.900 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Possui efeito sinérgico com outros filtros, estabilizando aqueles que agem sobre a radiação UVB e propicia a obtenção de formulações com alto FPS (SOUZA & JUNIOR, 2013). Em estudos que avaliaram seu desempenho, após aplicação de diferentes doses de radiação (após 50 MED), obteve-se recuperação desse filtro solar maior que 98%, indicando que o filtro solar é muito fotoestável (RUIZ, 2000).

No estudo de Chatelain e Gabard (2001) foram preparadas formulações diferentes contendo os filtros solares OMC, avobenzona e BMT. Essas formulações foram submetidas a um estudo de fotoestabilidade em simulador ultravioleta com irradiação equivalente a 30 MED. Nas formulações que continham BMT, observou-se prevenção da fotodegradação dos filtros solares avobenzona e OMC. Na avaliação da formulação contendo os três filtros solares, o efeito fotoprotetor do BMT foi concentração dependente. O emprego de maior concentração de BMT mostrou maior efetividade em evitar a degradação do OMC e avobenzona. Portanto, esses dados demonstram que o BMT pode ser empregado para evitar a degradação do OMC e avobenzona, possibilitando a obtenção de formulações mais eficazes.



**Figura 6.** Estrutura química do bemotrizinol. Fonte: BASF, 2011.

#### 4.5. Sistemas nanoestruturados

A nanotecnologia é definida como a caracterização, o desenvolvimento, a produção e a aplicação de estruturas ou dispositivos na escala nanométrica (PCAST, 2005). Na cosmetologia, diferentes sistemas nanométricos são utilizados para veiculação de ativos, como: sistemas vesiculares, emulsões e sistemas particulados (PATRAVALE; MADAWGADE, 2008). Os sistemas vesiculares incluem os lipossomas e os niossomas; as emulsões incluem as microemulsões e as nanoemulsões; por sua vez os sistemas particulados

incluem as micropartículas, as nanopartículas e as ciclodextrinas (PATRAVALE; MADAWGADE, 2008).

As nanopartículas poliméricas são definidas como sistemas coloidais que incluem nanoesferas e nanocápsulas. As nanocápsulas são estruturas do tipo parede-núcleo, sendo que a substância ativa, na forma líquida, sólida ou na forma de dispersão molecular, pode estar dispersa no núcleo, na parede ou em ambos (MORA-HUERTAS, et al.; 2010 OLIVEIRA et al., 2012). Estes sistemas de liberação têm sido aplicados em cosméticos com intuito de, aumentar a fotoestabilidade (PERUGINI et al. 2002; WEISS-ANGELI et al., 2008; HANNO et al., 2012), aumentar a efetividade de filtros solares (ALVAREZ-ROMÁN et al., 2004a, ALVAREZ-ROMÁN et al., 2004b; WEISS-ANGELI et al., 2010; PAESE, 2008; VETTOR et al., 2010) e permitir a liberação controlada e prolongada do ativo (SCHAFFAZICK et al., 2006; HOFFMEISTER et al., 2012).

#### **4.5.1 Avaliação da eficácia de sistemas nanoestruturados contendo filtros solares**

##### **4.5.1.1 Aumento da fotoestabilidade de filtros solares**

A fotoestabilização dos filtros solares constitui um assunto relevante no desenvolvimento de fotoprotetores (LIM et al., 2007). Nesse contexto, estudos têm demonstrado que o emprego da nanotecnologia em formulações fotoprotetoras é capaz de aumentar a estabilidade dos filtros solares mais fotoinstáveis e assim obter formulações mais efetivas (PERUGINI et al., 2002; WEISS-ANGELI et al., 2008; HANNO et al., 2012; NICULAE et a., 2012; NICULAE et a., 2013;).

Em estudo realizado por Perugini e colaboradores (2002), verificou-se que carreadores poliméricos diferentes podem influenciar na fotoestabilidade do filtro solar encapsulado. Neste trabalho, loções contendo nanopartículas de OMC foram preparadas a partir dos polímeros etilcelulose ou poli (ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA). Os semissólidos contendo as nanopartículas de PLGA foram capazes de reduzir a degradação em 38,3% do filtro em comparação com a loção contendo OMC livre ou a emulsão contendo nanopartículas brancas. No entanto, a loção contendo nanopartículas de etilcelulose não foi capaz de reduzir

significativamente a degradação do OMC em comparação com loção contendo OMC livre. Os autores atribuíram este resultado à baixa eficiência de encapsulação encontrada para essas nanopartículas.

Em outro estudo desenvolvido por Hanno e colaboradores (2012) foram desenvolvidas nanocápsulas, nanoemulsões e emulsões contendo os filtros solares OMC e avobenzona isolados, associados ou combinados com  $\alpha$ -tocoferol. No estudo de fotoestabilidade, verificou-se que quando os filtros solares foram encapsulados isolados (contendo somente OMC ou avobenzona) ou associados (contendo ambos os filtros), a fotodegradação foi 50% menor para nanocápsulas em relação às nanoemulsões e às emulsões (contendo os filtros na forma livre). O tocoferol, o qual tem sido descrito por aumentar a fotoestabilidade de filtros solares, somente propiciou aumento da estabilidade em formulações de nanoemulsões. Tanto para nanoemulsões contendo os filtros isoladamente ou associados, a degradação foi 10% menor em relação àquelas nanoemulsões que não continham esse componente. Para nanocápsulas, a adição de tocoferol não possibilitou observar nenhum efeito adicional na estabilização dos filtros, pois a degradação dos filtros quando esses foram encapsulados em nanocápsulas já foi baixa.

Nanopartículas lipídicas contendo butil metoxidibenzoilmetano foram incorporadas em cremes e foi avaliada a capacidade das formulações em absorver a radiação ultravioleta e o fator de proteção UVA, após irradiação. As formulações contendo o filtro solar em nanopartículas sólidas (NLS) apresentaram menor capacidade de absorver a radiação UV em comparação com as formulações contendo o mesmo filtro solar em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN). Esse efeito deve-se à estrutura destas partículas. As NLS apresentam uma estrutura mais organizada, o que favorece a expulsão do filtro solar da matriz lipídica, contribuindo para a redução do fator de proteção UVA. Por sua vez, os CLN, têm uma estrutura menos organizada, o que favorece a acomodação do filtro solar na matriz lipídica. Essa formulação desenvolvida foi capaz de absorver mais de 96% da radiação, mostrando que a nanoencapsulação aumentou a absorção da radiação UV em comparação com a emulsão contendo o filtro na forma livre (NICULAE et al., 2012). Em estudo subsequente deste mesmo grupo de pesquisa, foi avaliada a co-encapsulação de octocrileno e butil metoxidibenzoilmetano em nanopartículas. A fotoestabilidade das formulações em comparação com o creme contendo os filtros na forma livre foi avaliada através da determinação do FPS e no fator de proteção UVA, após irradiação em simulador solar. Os cremes contendo os filtros solares na forma livre tiveram modificação no fator de proteção

solar e fator de proteção UVA. Por sua vez, as formulações contendo nanopartículas mantiveram o efeito protetor, especialmente a formulação de carreadores lipídicos nanoestruturados. Essa formulação também apresentou melhor fotoestabilidade que cremes contendo nanopartículas lipídicas sólidas (com os filtros solares encapsulados, na mesma concentração), pela mesma razão descrita acima, relacionada à estrutura menos organizada dos CLN. Este trabalho demonstra que a co-encapsulação de mais de um filtro solar em nanopartículas é interessante, pois possibilita o aumento da proteção ultravioleta (NICULAE et al., 2013).

#### **4.5.1.2 Estudos de penetração/permeação cutânea e capacidade fotoprotetora**

A penetração cutânea pode ocorrer através da difusão pelo estrato córneo ou através de apêndices (folículos pilosos) (ROSEN, 2005). Alvarez-Román e colaboradores (2004b) avaliaram a penetração de nanopartículas de poliestireno através da pele por microscopia confocal. As nanopartículas com menor tamanho de partícula apresentaram acumulação nas aberturas dos folículos pilosos, resultado este relacionado à maior área superficial das partículas.

A influência do grau de substituição do polímero utilizado para a produção das nanopartículas, também já foi relacionado à permeação cutânea. Em um estudo, para a preparação das nanopartículas, foram feitas modificações do álcool polivinílico com ácidos graxos, objetivando desenvolver um polímero lipofílico que fosse capaz de reduzir a permeação do filtro solar benzofenona-3. O álcool polivinílico foi substituído em grau de 40% e 80% com os ácidos graxos ácido palmítico, mirístico, behênico e esteárico. Os autores verificaram que houve maior influência do grau de substituição do polímero do que do substituinte, na absorção percutânea da benzofenona. Nanopartículas preparadas a partir do polímero com menor substituição favoreceram maior permeação cutânea da benzofenona. Por sua vez, aquelas nanopartículas com maior grau de substituição reduziram a absorção percutânea, efeito desejável para fotoprotetores, já que a absorção dos mesmos ocasiona redução da efetividade dos filtros solares (LUPPI et al., 2004).

Alvarez-Román e colaboradores (2004a) verificaram que OMC proveniente de nanopartículas apresentou 3,4 vezes maior retenção no estrato córneo que a emulsão contendo o filtro solar livre. Para explicar o mecanismo desse aumento, foi avaliada a distribuição

cutânea de nanopartículas contendo vermelho do Nilo encapsulado, por microscopia confocal. As nanopartículas apresentaram maior penetração nas camadas mais superficiais da pele em comparação com a solução de vermelho do Nilo na forma livre. Esta distribuição alterada para o vermelho do Nilo encapsulado pode ser devido ao fato de que quando moléculas são encapsuladas em nanopartículas, há aumento da sua atividade termodinâmica, favorecendo o particionamento no estrato córneo. Além disso, em nanopartículas há também aumento da área superficial, que aumenta o contato do ativo encapsulado com essa camada da pele.

A estrutura dos nanocarreadores também tem demonstrado influência na liberação de fármacos através da pele. Alves e colaboradores (2005) verificaram perfis de penetração cutânea diferenciados entre hidrogéis contendo nanocápsulas, hidrogéis contendo nanoesferas e hidrogéis contendo nanoemulsão. Este resultado indicou a influência do polímero e do tipo de carreador na penetração cutânea. Calderilla-Fajardo e colaboradores (2006) prepararam nanocápsulas, nanoemulsões e emulsões contendo metoxicinamato de octila. Nestas formulações, um agente promotor de absorção foi adicionado, o laurato de sacarose. A adição de laurato de sacarose em nanoemulsão aumentou a penetração cutânea, em comparação com nanocápsulas. Esse efeito pode ser explicado pela combinação de dois fatores: o primeiro deve-se ao próprio laurato de sacarose que interage com os lipídios intercelulares facilitando a permeação. O segundo deve-se à nanoemulsão, que por sofrer deformação de seus glóbulos, permite maior penetração. Essa penetração aumentada também foi observada pelo trabalho de Oliveira-Martinez e colaboradores (2005), onde as nanoemulsões possivelmente por apresentarem estrutura menos rígida que as nanocápsulas, ocasionaram uma maior penetração cutânea.

A encapsulação da benzofenona-3 em nanopartículas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) também demonstrou a vantagem da nanoencapsulação de filtro solar (PAESE, 2008; MARCATO et al., 2011). As formulações semissólidas contendo nanocápsulas propiciaram maior retenção no estrato córneo em comparação com os semissólidos contendo benzofenona-3 na forma livre (PAESE, 2008). Marcato e colaboradores verificaram que houve redução da penetração do filtro solar proveniente de nanocápsulas em 70% e 80%, na epiderme e no meio receptor, respectivamente, em comparação com gel contendo benzofenona-3 na forma livre. Por sua vez, neste mesmo estudo também foi avaliada a penetração cutânea de nanopartículas lipídicas contendo este mesmo filtro solar, não se observando diferença em relação ao filtro solar livre. O FPS apresentado pelas formulações contendo nanopartículas foi maior que aquele obtido para hidrogel contendo benzofenona-3, o que está relacionado à cristalinidade

das partículas, as quais podem espalhar/refletir a radiação UV. Adicionalmente, como é relatada a ocorrência de reações alérgicas à benzofenona-3, a análise da sua alergenicidade é importante. No teste do inchamento de orelha de camundongos, verificou-se que não houve sensibilização cutânea para nenhuma das formulações analisadas (nem mesmo para o gel contendo benzofenona-3 livre) (MARCATO et al., 2011).

Gulbake e colaboradores (2011) prepararam géis contendo oxibenzona nanoencapsulada em nanopartículas lipídicas sólidas. A microscopia confocal foi utilizada para avaliar a localização das formulações na pele. Para isso, foram preparadas duas formulações: creme contendo sonda fluorescente e creme contendo sonda fluorescente encapsulada em nanopartículas. Ambas as formulações foram então aplicadas na pele do dorso de ratos albinos, em quantidade de  $2 \text{ mg/cm}^2$ , de forma não-oclusiva. Após 8 horas de contato com a formulação, os animais foram sacrificados. Para a formulação contendo nanopartículas observou-se intensidade de fluorescência no estrato córneo. A formulação contendo a sonda na forma livre mostrou intensidade de fluorescência na epiderme viável. Esse resultado demonstra que estas reduziram a penetração do filtro solar.

Outra maneira de avaliação da efetividade dos fotoprotetores consiste no teste da capacidade fotoprotetora. Em seu trabalho pioneiro, Hommoss (2008) verificou a capacidade fotoprotetora de formulações contendo carreadores lipídicos nanoestruturados, através da determinação da quantidade de beta-caroteno degradada em função do tempo. O creme contendo nanopartículas de avobenzona foi capaz de retardar a degradação do beta-caroteno em 4 vezes em relação ao creme contendo o filtro solar na forma livre, no fim do teste. Nesse mesmo estudo também foi avaliada a fotoproteção conferida por filtros inorgânicos encapsulados em carreadores lipídicos nanoestruturados. Cremes contendo dióxido de titânio nanoencapsulado foram capazes de evitar a degradação do beta-caroteno em três vezes em relação à um creme contendo o filtro na forma livre. Dessa forma, o autor verificou que pelo fato da formulação contendo filtros solares nanoencapsulados reduzir a fotodegradação do beta-caroteno em relação à uma formulação contendo filtro solar na forma livre, a primeira formulação apresentou melhor capacidade fotoprotetora.

#### 4.6. Secagem de nanocápsulas por aspersão

O processo de secagem por aspersão (*spray-drying*) consiste na remoção da água para obtenção de formulações pulverulentas., apresentando como vantagem a facilidade de transposição para escala industrial e aplicação a substâncias termolábeis (AULTON, 2005).

A secagem de nanocápsulas por aspersão foi primeiramente descrita por MÜLLER e colaboradores (2000), com intuito de aumentar a estabilidade dos pós obtidos. Nesse trabalho, suspensões de nanocápsulas preparadas com poli( $\epsilon$ -caprolactona) ou Eudragit S90<sup>®</sup> foram secas com o adjuvante dióxido de silício coloidal. A visualização das partículas obtidas por MEV demonstrou que o adjuvante de secagem foi revestido pelas nanocápsulas desenvolvidas, originando agregados micrométricos nanorrevestidos. Em um estudo posterior, a avaliação da tolerância gastrointestinal dos nebulizados de nanocápsulas de diclofenaco em comparação com diclofenaco de sódio livre demonstrou uma maior tolerância para o nebulizado de nanopartículas (GUTERRES et al., 2001).

Em outro estudo, uma formulação de nanocápsulas de dexametasona (polímero Eudragit S 100<sup>®</sup>), seca com dióxido de silício coloidal, foi capaz de controlar a liberação do fármaco em células Caco-2. Dessa forma, essas partículas desenvolvidas tornam-se sistemas interessantes para o tratamento de doenças intestinais, pois devido ao controle da liberação do fármaco, é possível um controle da sua absorção, sendo possível aumentar o intervalo de administrações de doses (BECK et al., 2007).

A secagem por aspersão de nanocápsulas contendo melatonina propiciou estabilidade física de 12 meses, maior que aquela apresentada pelas suspensões de nanocápsulas. No estudo de liberação *in vitro* realizado para o fármaco livre e nanocápsulas secas por aspersão, se observou liberação de 96% para o fármaco livre e 71% para o fármaco contido nas nanocápsulas secas, demonstrando a liberação prolongada propiciada pelas nanocápsulas (SCHAFFAZICK et al., 2006).

Tewa- Tagne e colaboradores (2007) desenvolveram nanocápsulas secas por aspersão utilizando adjuvantes hidrofílicos. As nanocápsulas preparadas com o polímero poli( $\epsilon$ -caprolactona), foram secas com açúcares (lactose, manitol e maltodextrina em concentrações de 10%) ou polímeros (polivinilpirrolidona-K30 e polivinilpirrolidona K-90 em concentrações de 5% e 10%, hidroxipropilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose em

concentrações de 2% e 5%). A análise morfológica mostrou que a secagem com lactose propiciou a obtenção de micropartículas esféricas. Por sua vez, para a secagem com manitol e polímeros, foram obtidas micropartículas com formato irregular. A redispersão após secagem realizada em água demonstrou que as formulações secas com açúcares apresentaram partículas com distribuição de partícula bimodal, sendo encontrado maior tamanho de partícula para nanocápsulas secas com maltodextrina. A redispersão das nanocápsulas secas com polímeros apresentou uma melhor reconstituição em água para as partículas secas com PVP K-30, em concentração de 10%. Para as formulações secas com hidroxipropilcelulose e hidroxipropilmetilcelulose, a melhor reconstituição foi obtida quando se utilizou concentração de 5% desses. Com base nos resultados, os autores observaram que a lactose foi o adjuvante de secagem mais favorável, pois propiciou a obtenção de micropartículas com uma melhor morfologia e uma melhor reconstituição de diâmetro na dispersão em água (somente 2% das partículas apresentaram tamanho micrométrico).

No trabalho de Hoffmeister e colaboradores (2012), suspensões de nanocápsulas contendo melatonina foram secas com lactose ou maltodextrina em concentração de 10%. A formulação seca com lactose apresentou melhor perfil de desaglomeração em água, após 1 hora de análise. Ambas as formulações secas mostraram maior controle da liberação do fármaco quando comparadas com a suspensão de nanocápsulas. O estudo de permeação cutânea demonstrou que as formas pulverulentas, incorporadas em hidrogéis, foram capazes de reduzir a quantidade permeada em comparação com suspensões de nanocápsulas contidas em hidrogéis ou melatonina livre contida em hidrogel. Este trabalho demonstrou a potencialidade da aplicação de nanocápsulas secas por aspensão em sistemas semissólidos com aplicação cutânea.