



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**CAMPUS I**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO FARMÁCIA**  
**CURSO DE FARMÁCIA**

**LIVIA MARIA COELHO DE CARVALHO MOREIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO  
CONTENDO O FILTRO SOLAR BEMOTRIZINOL**

**CAMPINA GRANDE**

**2019**

LÍVIA MARIA COELHO DE CARVALHO MOREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO  
CONTENDO O FILTRO SOLAR BEMOTRIZINOL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Farmacêutico.

**Orientador:** Prof. Dr. Bolívar P. G. de L. Damasceno

**Coorientadora:** Me. Thayse Silva Medeiros

**CAMPINA GRANDE  
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M838d Moreira, Livia Maria Coelho de Carvalho.  
Desenvolvimento de carreador lipídico nanoestruturado contendo o filtro solar bemotrizinol [manuscrito] / Livia Maria Coelho de Carvalho Moreira. - 2019.  
63 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.  
"Orientação : Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno, Departamento de Farmácia - CCBS."  
"Coorientação: Profa. Ma. Thayse Silva Medeiros, Departamento de Farmácia - CCBS."  
1. Bemotrizinol. 2. Nanopartículas lipídicas. 3. Fotoproteção. 4. Radiação solar ultravioleta. I. Título  
21. ed. CDD 615.1

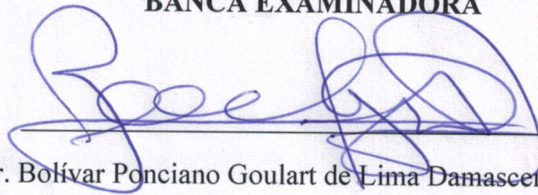
**LÍVIA MARIA COELHO DE CARVALHO MOREIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO  
CONTENDO O FILTRO SOLAR BEMOTRIZINOL**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Farmácia da Universidade Estadual da  
Paraíba, como requisito parcial à  
obtenção do título de Farmacêutico.

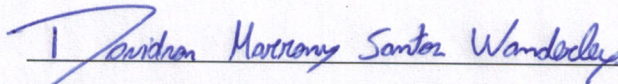
Aprovada em: 05/11/2019.

**BANCA EXAMINADORA**



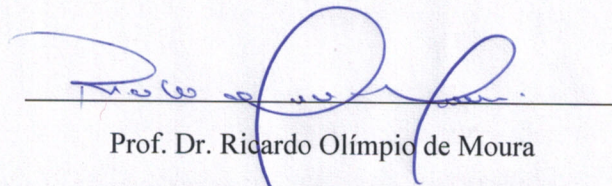
Prof. Dr. Bolívar Ponciano Goulart de Lima Damasceno (Orientador)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Davidson Marrony Santos Wanderley

Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU)



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

## AGRADECIMENTOS

À Deus e a Nossa Senhora, por sempre terem guiado o meu caminho e sempre terem colocado pessoas de luz em minha vida.

Aos meus pais, em especial à minha mãe, por me aconselhar, por sempre me apoiar nos piores momentos e acreditar em mim, quando nem mesmo eu acreditava, e ao meu irmão Lino por sempre esteve disposto a me ajudar quando precisei. À minha Tia Leozita por ser minha segunda mãe, por ter cuidado de mim por anos, por sempre se fazer presente em minha vida

Aos grandes amores da minha vida, minhas avós Francisca e Terezinha (*in memorium*), sou muito grata por todo o carinho e amor que me dedicaram, por me ensinarem mesmo sem saberem a amar e a cuidar do próximo e, por proporcionarem momentos que lembrarei por toda minha vida.

Às minhas primas/ tias Laurita, Berta, Socorro, Margarete, Margarida e Catarina, por me acolherem e por serem minha base quando estive distante da minha família. À minha prima Nathália, por todas as risadas e distrações, por me aliviar nos momentos em que vida pesou, por ser mais que minha prima. Aos meus amigos de turma, Thamyres, Rommel e Kally, ter vocês em minha vida é uma dádiva de Deus.

Ao meu namorado Rafael por todo apoio, amor e dedicação. Por e me ajudar e me incentivar a ser melhor, acreditando sempre na minha capacidade e por vibrar a cada passo meu. À minha sogra, Valdéria, por todo carinho e por me acolher como se fosse sua filha.

Ao meu orientador Bolívar P. G. L Damasceno, pela paciência, dedicação e por todas as oportunidades. À minha coorientadora Thayse, por ter me ensinado o que é fazer pesquisa, mas acima de tudo a me ensinar que sempre devemos acreditar em nós mesmos, e que nunca devemos desistir daquilo que realmente acreditamos. Sendo um exemplo de ser humano, de pesquisadora e de mulher.

Aos incríveis colegas de laboratório, Larissa, Joandra, Amaro, Renaly, João, Kammila e Demis, por todo apoio e ajuda. Muito sucesso na vida de todos! À minha banca Ricardo e Davidson, por se mostrarem disponíveis a contribuir com meu trabalho.

À instituição, UEPB, por ter me acolhido e possibilitado minha formação e a todos os professores, que instigaram por toda minha caminhada acadêmica.

À todos, meu muito obrigada!

“Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes.  
Assim em cada lago a lua toda  
Brilha, porque alta vive”  
(Ricardo Reis)

## RESUMO

O uso de protetores solares pela população tem crescido de forma exponencial, tendo em vista a prevenção do câncer de pele, do envelhecimento precoce, além de minimizar outros efeitos ocasionados pela exposição à radiação UV. No entanto o risco de fotodegradação, permeação cutânea e absorção sistêmica, assim como, o aumento da lipofilia das moléculas dos filtros para garantir uma maior durabilidade na pele, são fatores que reduzem a segurança desses. Conseqüentemente, visando solucionar as dificuldades encontradas tem-se como alternativa a incorporação de filtros solares em carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), que são capazes de agir de forma sinérgica ao filtro, aumentando o fator de proteção solar e a hidratação da pele promovida pelo fator de oclusão, ademais, não permitem a absorção sistêmica ou cutânea, evitando as reações alérgicas, dermatites. O objetivo desse trabalho foi desenvolver CLN contendo um filtro solar orgânico bemotrizinol (BEMT), a partir da cera de carnaúba (lipídio sólido) e do triglicérido do ácido cáprico e caprílico (lipídio líquido). Para a produção de CLN foi utilizada a técnica de ultrassonicação. Onde inicialmente foi realizado um estudo preliminar, obtendo-se uma concentração de lipídio de 5% e razão de lipídio sólido:líquido de 20:80, levando em consideração como parâmetro de escolha o tamanho das partículas. Posteriormente, foi implantado o planejamento experimental do tipo Box-Behnken do tipo  $3^3$ , visando a otimização dos CLN e avaliação das variáveis independentes sendo elas; a concentração do filtro (CF), concentração do tensoativo (CT) e tempo de homogeneização (T), e a influência desses no tamanho de partícula como variável dependente. Permitindo a escolha de apenas um sistema, cuja concentração do filtro encapsulada foi de 0,4 %, a concentração do tensoativo de 4 % e um tempo de homogeneização de 7 minutos, com um tamanho de partícula de 149,90 nm. Além disso, realizou-se um estudo de estabilidade do sistema branco e contendo o filtro solar, durante um período de 30 dias, sendo analisadas o tamanho de partícula através da técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS), o índice de polidispersão e potencial zeta. Onde o tamanho de partícula tanto para o sistema branco quanto para o sistema contendo o filtro não apresentou diferença significativa durante o período de armazenamento,  $122,4 \pm 0,3$  nm e  $117,2 \pm 0,4$  nm, respectivamente. O potencial zeta apresentou-se em  $19,2 \pm 0,17$  mV para o carreador branco (CLNB) e,  $-19,3 \pm 0,42$  mV para o carreador contendo o filtro (CLNF) até o final das análises, sendo considerado estável a longo prazo, já que se tem proteção estérica e, IPD de  $0,13 \pm 0,002$  para CLNF e  $0,16 \pm 0,003$  para o CLNB, demonstrando uma distribuição homogênea de tamanho durante o armazenamento. Deste modo, os resultados obtidos sugerem um sistema inovador, promissor, estável e biocompatível para o uso como fotoprotetor solar.

**Palavras-chave:** Planejamento experimental; Bemotrizinol; Nanopartículas Lipídicas; Fotoproteção.

## ABSTRACT

The use of sunscreens by the population has grown exponentially, with a view to preventing skin cancer, premature aging, and minimizing other effects caused by exposure to UV radiation. However, the risk of photodegradation, skin permeation and systemic absorption, as well as the increase in lipophilia of the filter molecules to ensure longer skin durability, are factors that reduce their safety. Consequently, in order to solve the difficulties encountered, the alternative is the incorporation of sunscreens in nanostructured lipid carriers (CLN), which are able to act synergistically to the filter, increasing the sun protection factor and skin hydration promoted by the factor. occlusion, moreover, do not allow systemic or cutaneous absorption, avoiding allergic reactions, dermatitis. The objective of this work was to develop CLN containing a bemotrizinol organic sunscreen (BEMT) from carnauba wax (solid lipid) and caprylic and caprylic acid triglyceride (liquid lipid). For CLN production, the ultrasound technique was used. Where initially a preliminary study was carried out, obtaining a lipid concentration of 5% and a solid lipid: liquid ratio of 20:80, taking into consideration as a parameter of choice the particle size. Subsequently, the Box-Behnken type 33 experimental planning was implemented, aiming at CLN optimization and independent variables evaluation; filter concentration (CF), surfactant concentration (CT) and homogenization time (T), and their influence on particle size as a dependent variable. Allowing for the choice of only one system whose encapsulated filter concentration was 0.4%, the surfactant concentration of 4% and a homogenization time of 7 minutes with a particle size of 149.90 nm. In addition, a stability study of the white system containing the sunscreen was carried out over a period of 30 days. The particle size was analyzed using the dynamic light scattering technique (DLS), the polydispersion index and the potential. Zeta Where the particle size for both the white system and the filter containing system showed no significant difference during the storage period,  $122.4 \pm 0.3$  nm and  $117.2 \pm 0.4$  nm, respectively. The zeta potential was  $19.2 \pm 0.17$  mV for the white carrier (CLNB) and  $-19.3 \pm 0.42$  mV for the filter-containing carrier (CLNF) until the end of the analyzes. stable in the long run, as it has steric protection and an IPD of  $0.13 \pm 0.002$  for CLNF and  $0.16 \pm 0.003$  for CLNB, demonstrating a homogeneous size distribution during storage. Thus, the results obtained suggest an innovative, promising, stable and biocompatible system for use as a solar photoprotector.

**Keywords:** Experimental planning; Bemotrizinol; Lipid nanoparticles; Photoprotection



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho esquemático contendo a estrutura da pele.....	21
Figura 2 – Camadas da epiderme. ....	22
Figura 3 – Espectro solar e a penetração cutânea.....	24
Figura 4 – Estrutura química do Bemotrizinol. ....	32
Figura 5 – Transição polimórfica NLS de conformação de alta energia ( $\alpha$ ) e conformação de baixa energia ( $\beta_i$ e $\beta$ ), com subsequente expulsão do fármaco .....	35
Figura 6 – Diferentes formas de incorporação de fármacos pelos CLN. ....	36
Figura 7 – Classificação de CLN pela distribuição do fármaco.....	36
Figura 8 – Sistema após agitação .....	45
Figura 9 – Sistema após centrifugação.....	46
Figura 10 – Gráfico de pareto dos efeitos padronizados .....	49
Figura 11 – Superfície de resposta da interação entre CT e CF. Gráfico 3D e contorno	50
Figura 12 – Superfície de resposta da interação entre T e CT. Gráfico 3D e contorno..	51
Figura 13 – Superfície de resposta da interação entre T e CF. Gráfico 3D e contorno..	52
Figura 14 – Valores preditos x valores observados.....	54
Figura 15 – Tamanho médio, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta das partículas e desvio padrão (n=3).....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Região de proteção de filtros solares e a concentração máxima permitida (%) .....	29
Tabela 2 – Fatores e níveis para realização do planejamento Box- Behnken $3^3$ .....	42
Tabela 3 – Tamanho médio das partículas e IPD das partículas dos sistemas A, B e C	46
Tabela 4 – Matriz de planejamento Box-Behnken e a resposta tamanho.....	47
Tabela 5 – Análise de variância (ANOVA) do modelo quadrático para a resposta tamanho. ....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AO	Ácido oléico
A/O/A	Água/ Óleo/ Água
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
BP-3	Benzofenona- 3
BEMT	Bemotrizinol
CAT	Catalase
CF	Concentração de filtro
CT	Concentração de tensoativos
CLN	Carreadores Lipídicos Nanoestruturados
CLNB	Carreador Lipídico Branco
CLNF	Carreador Lipídicos contendo filtro
DHNB	Benzoato de hexilo de benzoilo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DME	Dose mínima de eritema
EC	Estrato córneo
EHL	Equilíbrio hidrofílico- lipofílico
FPS	Fator de Proteção Solar
GL	Graus de liberdade
GPx	Glutathione peroxidase
HOMO	Highest occupied molecular orbital
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IPD	Índice de polidispersão
L	Linear
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
MQ	Média quadrática dos desvios
NE	Nanoemulsão
NL	Nanopartículas Lipídicas
NLS	Nanopartículas Lipídicas Sólidas
PABA	p-amino benzoico
PZ	Potencial zeta
Q	Quadrático

RDC	Resolução da diretoria colegiada
RL	Radicais livres
RSM	Metodologia de superfície de resposta
RUV	Radiação Ultravioleta
RPM	Rotação por minuto
SOP	Superóxido dismutase
SQ	Soma dos quadrados dos desvios
T	Tempo de homogeneização
TACC	Triglicerídeos de ácido cáprico/ caprílico
TCM	Triglicerídeos de Cadeia Média
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de titânio
TOM	Teoria do Orbitais Moleculares
USA	United States of America
UVA	Radiação Ultravioleta A
UVA- I	Radiação Ultravioleta A longa
UVA- II	Radiação Ultravioleta A curta
UVB	Radiação Ultravioleta B
UVC	Radiação Ultravioleta C
UV	Radiação Ultravioleta
ZnO	Óxido de zinco

## LISTA DE SÍMBOLOS

Da	Daltons
$\lambda$	Comprimento de onda
$\mu\text{m}$	Micrômetro
nm	Nanômetro
$\varepsilon$	Absortividade molar
h	Constante de Planck
E	Energia
$\text{cm}^2$	Centímetros ao quadrado
m	Metros
W	Walts
mg	Miligrama
cm	Centímetro
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
%	Porcentagem
®	Marca registrada
mV	Milivolts
N	Número de experimentos
M	Molaridade
Nº	Número
V/V	Volume por volume
Min	Minuto
$\geq$	Maior ou igual que
$\leq$	Menor ou igual que
<	Menor que
$\pm$	Mais ou menos
Hr	Hora
p/p	Peso por peso
$\text{m}^2$	Metro ao quadrado

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	20
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	20
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	20
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Estrutura da pele</b> .....	21
<b>3.2</b>	<b>Radiação solar ultravioleta</b> .....	23
<b>3.2.1</b>	<i>Radiação UVA</i> .....	24
<b>3.2.2</b>	<i>Radiação UVB</i> .....	24
<b>3.2.3</b>	<i>Radiação UVC</i> .....	25
<b>3.3</b>	<b>Mecanismos de defesa de pele contra radiação UV</b> .....	26
<b>3.4</b>	<b>Protetores solares</b> .....	27
<b>3.5</b>	<b>Filtros solares</b> .....	28
<b>3.6</b>	<b>Bemotrizinol</b> .....	31
<b>3.8</b>	<b>Componentes dos CLN</b> .....	37
<b>3.8.1</b>	<i>Lipídios Sólidos</i> .....	37
<b>3.8.2</b>	<i>Lipídios líquidos</i> .....	38
<b>3.9</b>	<b>Planejamento Experimental do tipo Box- Behnken 3<sup>3</sup></b> .....	39
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	41
<b>4.1</b>	<b>Material</b> .....	41
<b>4.2</b>	<b>Métodos</b> .....	41
<b>4.2.1</b>	<i>Estudos preliminares para obtenção dos CLN</i> .....	41
<b>4.2.1.1</b>	<i>Determinação da concentração de fase lipídica e razão de lipídios (sólido:líquido)</i> .....	41
<b>4.2.1.2</b>	<i>Planejamento experimental do tipo Box-Behnken 3<sup>3</sup> para desenvolvimento do CLN contendo BEMT</i> .....	41
<b>4.2.1.3</b>	<i>Estabilidade por centrifugação</i> .....	42
<b>4.2.2</b>	<i>Obtenção dos CLN</i> .....	42
<b>4.2.3</b>	<i>Caracterização dos CLN</i> .....	43
<b>4.2.3.1</b>	<i>Análise do tamanho das partículas e índice de polidispersão (IPD)</i> .....	43
<b>4.2.3.2</b>	<i>Determinação do potencial Zeta</i> .....	43
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	44

<b>5.1</b>	<b>Estudos preliminares para obtenção do CLN</b> .....	44
<b>5.1.2</b>	<i>Determinação da concentração de fase lipídica e razão de lipídios (sólido:líquido)</i> .....	44
<b>5.1.3</b>	<i>Planejamento experimental do tipo Box-Behnken 3<sup>3</sup> para desenvolvimento do CLN contendo BEMT</i> .....	47
<b>5.2</b>	<b>Estabilidade frente à centrifugação</b> .....	56
<b>5.3</b>	<b>Caracterização</b> .....	57
<b>5.3.1</b>	<i>Análise do tamanho das partículas, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta</i> .....	57
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS</b> .....	61
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63

## 1 INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta (RUV) se caracteriza por ser a radiação menos incidente na superfície terrestre, isso se deve ao fato da mesma ser absorvida pelo oxigênio e pela camada de ozônio (MONTEIRO, 2008; COARITI, FERNANDEZ, SPYRIDES et al., 2017). Entretanto é a principal responsável por uma série de reações fotoquímicas, além da promoção de inflamações e queimaduras à pele, mutações gênicas e disfunções celulares, quando em casos de exposição demasiada (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

Sendo assim, o uso de protetor solar é um dos métodos mais populares e utilizados pela população com intuito de minimizar os efeitos maléficos ocasionados pela exposição à radiação ultravioleta. Desta forma, os filtros, principais componentes dessas formulações, agem protegendo a pele através de mecanismos de absorção, espalhamento ou reflexão dos raios (JAIN, RAHI, PANDEY et al., 2017).

Para que um filtro solar possa ser considerado eficaz, deve não só assegurar proteção contra os raios UVA e UVB e ter alto fator de proteção, como também não deve apresentar absorção cutânea e ser fotoinstável para que possa garantir a segurança da formulação (ROMERO; GUERRA; AIELLO et al., 2017; LIMA, 2018; SALOMÃO, 2016). No entanto, diversos filtros são conhecidos por serem responsáveis por reações alérgicas e fotoalérgicas, especialmente os que são comercializados como orgânicos, desencadeando cerca de 55 % a 80 % dos casos, tais reações são ocasionadas devido ao caráter lipofílico dos filtros e por possuírem moléculas pequenas que permitem maior permeação na pele, fator preponderante para a inicialização do processo de alergia e para uma série de reações adversas (ROMERO; GUERRA; AIELLO et al., 2017).

Dentre os mais diversos sistemas alternativos às formulações convencionais, as nanopartículas lipídicas (NL) vêm ganhando destaque e tem sido cada vez mais investigadas como sistemas carreadores de compostos lipofílicos em produtos alimentícios, farmacêuticos e, principalmente, pela indústria cosmética (MAZUR, 2017).

Nos anos 90, surgia a primeira geração de NL, as nanopartículas lipídicas sólidas, tendo como inconveniente a baixa capacidade de encapsulação, por apresentarem alta organização estrutural. Desta forma, no final dos anos 90 tem-se a



segunda geração, denominada de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), com a finalidade de solucionar os inconvenientes ocasionados pelas NLS adicionou-se as formulações lipídios líquidos, o que causou uma inconsistência na matriz lipídica sólida, formando espaçamentos que são capazes de agregar maior quantidade de fármaco ou moléculas, além de manter a estabilidade da formulação por um maior tempo (GARÇÊS, 2016; FOGOLARI, 2017).

Os CLN têm despertado o interesse no desenvolvimento de protetores solares, já que alguns lipídios sólidos utilizados no desenvolvimento destes sistemas permitem que ajam de forma sinérgica ao filtro, decorrente das propriedades físicas das partículas, aumentando assim o fator de proteção solar (FPS). Além de reduzir a permeação cutânea, evitando as reações adversas, devido ao fato de permitirem a formação de um filme oclusivo que também é responsável indiretamente, pela maior hidratação da pele (ROSSAN, 2011; GILBERT, ROUSSEL, SERRE, et al., 2016).

Dentre os lipídios líquidos utilizados nas formulações de CLNs tem-se os triglicerídeos de ácido cáprico/ caprílico são amplamente utilizados e comercializados para a indústria cosmética e farmacêutica, justamente por apresentar baixa viscosidade, não ter cor ou odor e por dispor de uma boa estabilidade e resistência oxidativa (JUNIOR, 2016; CALLEGARI, 2015).

Já a cera de carnaúba, tem sido descrita na literatura por ser rica em cinamatos, constituinte químico que resulta em proteção solar contra radiação solar UVA, além de garantir uma dispersão estável e viscosidade adequada para formulações de filtros solares (NUNES; VIEIRA, QUEIROZ et al., 2018; JUNIOR, 2016). Podendo ser utilizada como lipídio sólido em CLNs que visem uma atividade fotoprotetora, associando-se a um filtro solar como o Bemotrizinol que é bastante fotoestável e capaz de conferir proteção de largo espectro de 280 a 380 nm, além de apresentar alto peso molecular que limita sua permeação cutânea, evitando a absorção sistêmica (OLIVEIRA, 2018).

Deste modo, o trabalho propôs desenvolver um carreador lipídico nanoestruturado contendo o filtro solar bemotrizinol, utilizando um planejamento experimental do tipo Box- Behnken, que se trata de um delineamento fatorial que leva em consideração três níveis e três fatores, tendo como vantagem sua praticidade e capacidade de prever quais parâmetros são significativos na resposta requerida para um sistema ideal (VOZZA, DANISHA, BYRNEB, 2018).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Desenvolver a partir de um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, carreadores lipídicos nanoestruturados contendo o filtro bemotrizinol.

### **2.2. Objetivos Específicos**

A pesquisa visa realizar os seguintes objetivos específicos:

- a)** Realizar estudos preliminares para a escolha da concentração e razão de lipídeos na formulação;
- b)** Aplicar o planejamento experimental do tipo Box- Behnken, para delinear os fatores que interferem na formulação.
- c)** Otimizar a formulações de acordo com as análises do planejamento experimental;
- d)** Analisar a estabilidade frente à centrifugação;
- e)** Avaliar a estabilidade físico-química através das análises de tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.

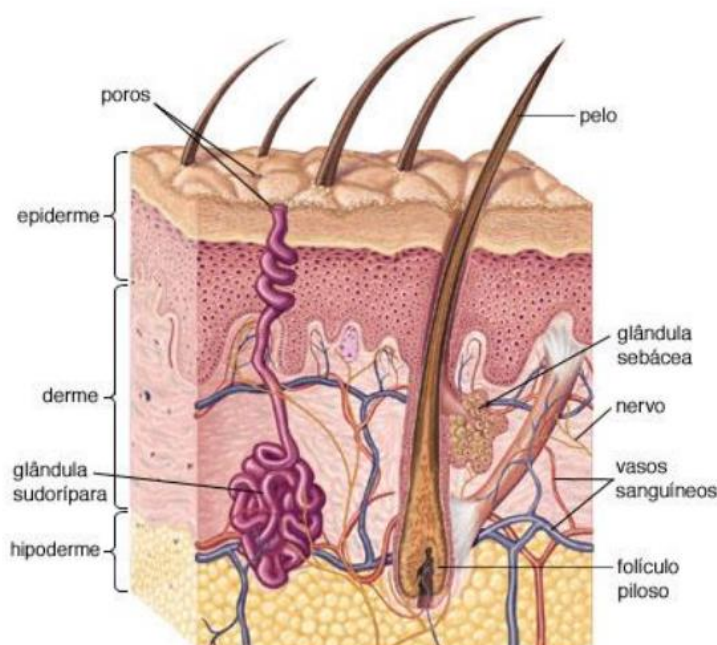
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Estrutura da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, compreendendo cerca de 10% da massa corporal de um indivíduo e, cobrindo uma área de aproximadamente 2 m<sup>2</sup>. Tem como principal função agir como uma barreira de proteção contra organismos externos e contra a perda excessiva de água e outros constituintes, além de regular o balanço hidroeletrolítico e temperatura corporal, desempenhando papel fundamental no metabolismo através da síntese de vitamina D (JUNIOR, 2016; PRADO, 2016; MIRANDA, 2016).

Este órgão é composto por uma tripla camada de tecido denominadas por: epiderme, que é a camada mais superficial; a derme, a camada intermediária e a hipoderme ou tecido celular subcutâneo, que se trata da camada mais profunda (Figura 1) (COSTA, 2015).

**Figura 1** – Desenho esquemático contendo a estrutura da pele.

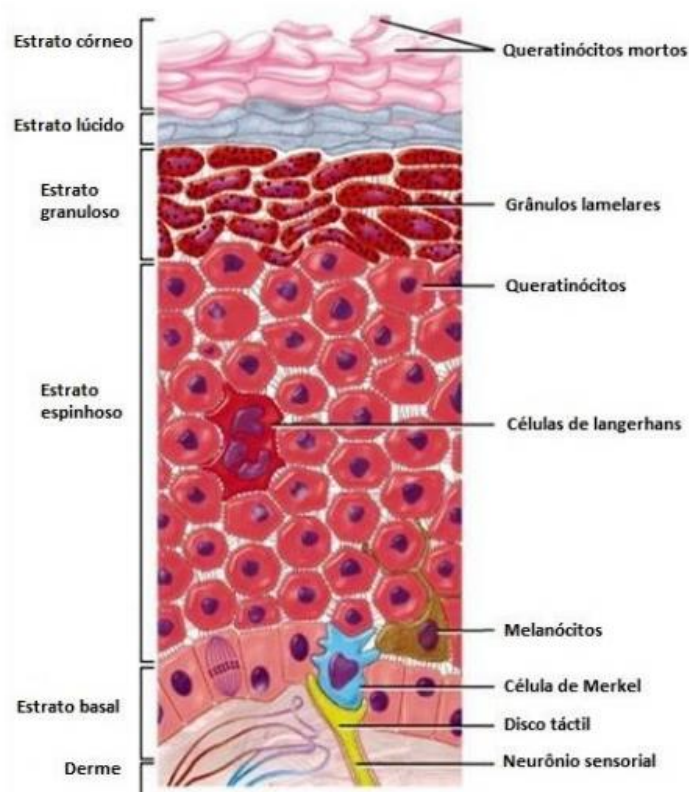


Fonte: adaptado de Miranda (2016)

A epiderme é um tecido epitelial estratificado e avascular, por este motivo recebe os nutrientes por difusão. Acerca desta camada, tem-se o estrato córneo (EC) que faz parte da porção mais externa da epiderme composto por corneócitos. A sua estrutura é composta por uma espessura que varia entre 10-20  $\mu\text{m}$  quando seco e até 40  $\mu\text{m}$  quando hidratado. Sua conformação pode ser comparada a uma parede de tijolos, dificultando desta forma, a entrada de compostos que, por ventura, sejam aplicados por via tópica, o que se torna um desafio tecnológico quanto ao desenvolvimento de medicamentos que fazem uso dessa via de administração tanto para ação local quanto sistêmica (JUNIOR, 2016).

Além do EC a epiderme também é constituída por uma camada granulosa, seguida de uma camada espinhosa e, por fim, a camada basal (Figura 2). Em movimento ascendente as células se proliferam a partir da camada basal, alterando de forma e tornando-se metabolicamente ativas, dividindo-se em quatro tipos celulares: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (MONTEIRO, 2008; MIRANDA, 2016).

**Figura 2** – Camadas da epiderme.



Fonte: adaptado de Miranda (2016)

### 3.2 Radiação solar ultravioleta

O sol é a principal fonte de energia para todo o sistema solar, sendo emitida na forma de radiações corpusculares (prótons, elétrons e partículas) e eletromagnéticas nos mais diversos comprimentos de onda, onde as frequências e níveis de energias estão interligados. Esse conjunto de comprimentos de onda emitidos recebe o nome de espectro eletromagnético (LORCA, 2012).

A radiação não ionizante é subdividida em luz visível (400 – 800 nm), correspondendo aproximadamente a 45 % da energia incidente; radiação infravermelha (acima de 800 nm), que corresponde a cerca de 50 % de energia e a radiação ultravioleta (< 400 nm) (MONTEIRO, 2008; VINHAL, 2012; LORCA, 2012)

A RUV se caracteriza por ser a menos incidente na superfície terrestre, já que a mesma é bastante absorvida pelo oxigênio e pela camada de ozônio (MONTEIRO, 2008). No entanto, é a principal responsável por gerar uma série de reações fotoquímicas, que estimulam a produção de melanina, ocasionando o bronzeamento da pele, assim como pode gerar inflamações, queimaduras, mutações gênicas e disfunções celulares (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). Isto pode ser explicado através da equação de Planck (Equação 1):

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

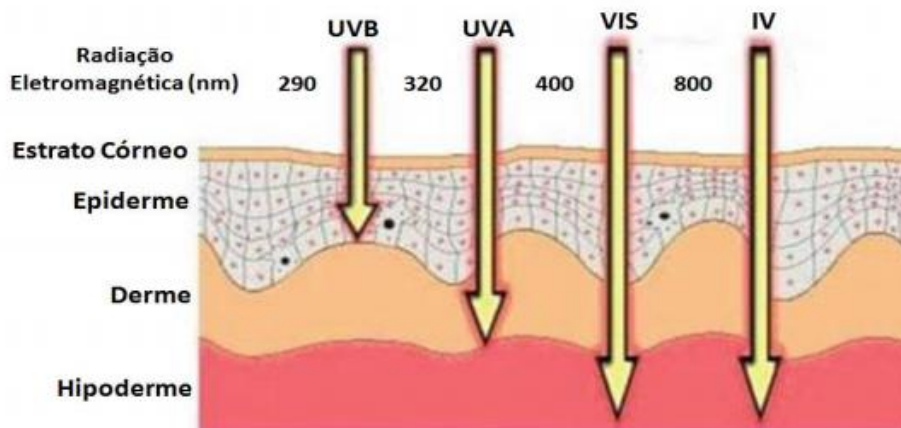
Através da equação 1, verifica-se que quanto menor o comprimento de onda ( $\lambda$ ), maior a energia transportada, por este motivo a radiação UV apresenta tantos malefícios à saúde. Além disso, a mesma se subdivide em radiação UVA (320 – 400 nm) que corresponde de 90 a 95% da radiação UV; em UVB (290 – 320 nm) que é parcialmente absorvida pela camada de ozônio e, a UVC (200 – 290 nm) é totalmente absorvida (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012; VINHAL, 2012).

Ademais, dentro do espectro UVA tem-se dois grupos de radiação com comprimentos de onda distintos, sendo eles: UVA curto ou UVA-II, apresentando comprimento de onda entre 320 e 340 nm, que é responsável pelos efeitos fisiológicos da pele; e o UVA longo ou UVA-I, com comprimento de onda entre 340 a 400 nm, sendo menos energética, no entanto é capaz de causar alterações na derme (TEIXEIRA, 2012).

De acordo com Silva, Machado e Rocha et al. (2015), as radiações que compreendem alta energia são capazes de interagir diretamente com o DNA, causando

alterações genéticas sérias; já as de energia mais baixa provocam reações nas camadas mais profundas da pele, por dispor de um maior potencial de penetração, assim como demonstrado na Figura 3.

**Figura 3** – Espectro solar e a penetração cutânea



Fonte: adaptado de Vinhal (2016)

### 3.2.1 Radiação UVA

A radiação UVA (320 – 400 nm) representa maior parte do espectro ultravioleta, onde sua intensidade mantém-se constante durante todo o dia, apresentando um pequeno aumento de intensidade entre 10 e 16 hr (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

São capazes de penetrar mais profundamente a pele, promovendo a pigmentação através da produção de melanina pelos melanócitos, mas também são capazes de promover o fotoenvelhecimento e fotossensibilidade ocular, que são decorrentes da produção de espécies reativas de oxigênio que gera processos oxidativos. Já inflamação cutânea e eritema que são ocasionados pela exposição à UVA, são geradas por peroxidação das membranas lipídicas, afetando no reparo do DNA, responsáveis por danos celulares irreversíveis e pela redução da eficiência do sistema imunológico, que são fatores preponderantes para o desenvolvimento de câncer de pele (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014; ALFLEN, SOUZA, BELMONTE, 2018).

### 3.2.2 Radiação UVB

A radiação UVB corresponde a cerca de 5 a 10 % da radiação que consegue alcançar a superfície terrestre, a maior parte desta radiação é retida pela camada de ozônio. Além disso, apresenta variação de intensidade no decorrer do ano, tendo maior incidência no verão. E por apresentar menor comprimento de onda em relação à UVA, caracteriza-se por ter maior energia e, desta forma, penetra mais superficialmente na pele, assim como também é mais afetada por alterações de latitude ou condições atmosféricas (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

A UVB dispõe de maior incidência no período entre 10 e 14 hr, afetando essencialmente a camada epidérmica através de uma resposta aguda, gerando eritema (queimadura solar), que se expressa entre 3 a 4 horas após a exposição, se intensificando de 12 a 24 horas, sendo acompanhado por edemas, dores, prurido, formação de bolhas e espessamento de epiderme e da derme. Já como resposta crônica, tem-se o fotoenvelhecimento, a imunossupressão, além da formação de dímeros de timina promovendo o desenvolvimento de catarata, e alterações celulares que levam ao câncer de pele (MONTEIRO, 2008; LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

No entanto, a exposição da pele à radiação UVB estimula a produção de vitamina D, onde o 7-desidrocolesterol ao entrar em contato com a radiação produz a vitamina D<sub>3</sub>, esta por sua vez, será metabolizada pelo fígado através de um processo de hidroxilação, gerando a 25- hidroxivitamina D<sub>3</sub>, que será metabolizada pelo rim em 1-alfa, 25- dihidroxivitamina D, sendo esta última a forma metabolicamente ativa da vitamina D (SILVA; TEIXEIRA; CORREIA, 2017).

### ***3.2.3 Radiação UVC***

A radiação UVC apresenta uma faixa de radiação entre 200 e 290 nm, sendo composta por comprimentos de onda mais curtos. Por este motivo, a mesma trata-se de uma radiação altamente lesiva ao ser humano, tendo efeitos carcinogênicos e mutagênicos, apesar de demonstrar função germicida. No entanto, esta radiação não apresenta capacidade de adentrar na superfície terrestre, já que a mesma é bloqueada pela camada de ozônio que filtra radiação UV abaixo de 290 nm (MONTEIRO, 2008; LORCA, 2012; TEIXEIRA, 2012).

### 3.3 Mecanismos de defesa de pele contra radiação UV

A radiação UV é absorvida pelos grupos cromóforos celulares que estão presentes na pele, estes por sua vez, apresentam elétrons que são capazes de absorver energia eletromagnética, sendo denominados de espécies absorvedoras, como os ácidos nucleicos, o ácido urocânico e aminoácidos aromáticos, os quais absorvem em comprimentos de onda abaixo de 300 nm. Já a melanina, absorve desde 300 até 1200 nm, sendo considerada o principal grupo cromóforo da pele (VINHAL, 2016).

Desta forma, durante a exposição à radiação UV ocorre a absorção de fótons por moléculas fotossensíveis levando a formação de espécies reativas de oxigênio, ocorrendo reações de oxidação por fotossensibilização, onde inicialmente a absorção de energia por uma molécula absorvedora promove uma espécie eletronicamente excitada, podendo reagir com outro substrato levando a formação de radicais livres, ou pode ser transferida para o oxigênio molecular produzindo o oxigênio singlete (SILVA, 2007).

Os radicais livres (RL) são espécies altamente reativas que possuem um elétron desemparelhado em sua estrutura, o que lhes confere instabilidade e promove a capacidade de reagirem com outras moléculas retirando os elétrons destas, modificando assim suas estruturas, agindo como principal responsável pela ação mutagênica e desenvolvimento de câncer (CUNHA, MOURA, BARBOSA et al., 2016; ANDRADE, 2017).

No entanto, a pele apresenta uma série de mecanismos antioxidantes que são capazes de inibir ou reduzir o dano oxidativo, sendo eles: 1) sequestro das espécies pro-oxidantes; 2) sequestro de metais de transição, evitando que as reações que produzam RL ocorram, 3) sequestro de radicais secundários, que possam propagar as reações em cadeia ou gerar grupos oxidados; 4) reparo de macromoléculas e renovação celular (SILVA, 2007). Desta forma, tais mecanismos podem se dar através de compostos enzimáticos, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx), ou por compostos não enzimáticos, como as vitaminas C e E, polifenóis e carotenoides. A enzima SOD apresenta mecanismo de defesa a partir da catálise da hidrólise do ânion superóxido, gerando oxigênio e peróxido de hidrogênio, sendo a primeira linha de defesa contra o superóxido mitocondrial. Já a CAT tem como função consumir o peróxido de hidrogênio, decompondo-o em água e oxigênio, assim como as peroxidases (TEIXEIRA; FEIO; FIGUEIRA, 2014).



Ademais, quando a pele é exposta à radiação solar a mesma gera como mecanismo de defesa a secreção sudorípara, que promove a transformação do aminoácido histidina em ácido urocânico ou ácido 4- imidazoilacrílico, substância que apresenta ampla faixa de absorção tendo absorção máxima em 297 nm. Porém, essa proteção não é duradoura, já que se tem a evaporação do suor e a mesma é solubilizada na água (VINHAL, 2016).

### **3.4 Protetores solares**

A RDC nº 30 de 2012, define protetor solar como qualquer preparação cosmética que seja destinada para a administração tópica (pele e lábios), com finalidade exclusiva de protegê-la contra radiação UVA e UVB absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação (ANVISA, 2012).

A eficácia de um filtro solar trata-se pela capacidade que o mesmo apresenta para proteger a pele contra queimaduras que são ocasionadas pela radiação UV. Isso é expresso em FPS, que se trata da razão entre o tempo de exposição à radiação que seja suficientemente capaz de produzir dose mínima de eritema (DME) na pele protegida, e o tempo em que há o surgimento do eritema, na pele desprotegida. Desta forma, a DME é a dose mínima de radiação que produz a primeira reação eritematosa que seja perceptível, através de bordas claramente definidas que são observadas entre 16 e 24 horas após a exposição (LORCA, 2012).

O FPS está diretamente relacionado ao nível de proteção ao eritema, ou seja, quanto maior o FPS maior será a proteção da pele exposta, ou seja, uma pele que apresenta vermelhidão após 10 minutos de exposição, se utilizar um protetor solar com FPS 15, irá desenvolver eritema após 150 minutos, dependendo do tipo de pele e das condições de uso (SOUZA; MALUF, 2014).

Sendo assim, para que um protetor solar apresente eficácia e segurança, o mesmo deve exercer algumas propriedades, como, ser química e fotoquimicamente estável. Caso não sejam, ao entrar em contato com a radiação solar as suas ligações químicas podem sofrer rearranjos, gerando novas moléculas que tanto podem apresentar menor poder de absorção, ou não ter nenhuma atividade, quanto podem apresentar propriedades toxicológicas, reduzindo a segurança do produto (FIGUEIREDO, 2016).

Para garantir a eficácia da atividade fotoprotetora, os filtros devem dispor de uma alta capacidade absorvedora de radiação UV, apresentando valores de

absortividade molar ( $\epsilon$ ) acima de  $10^4 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  (VINHAL, 2016). A absortividade trata-se de uma grandeza que tem a finalidade verificar a quantidade de energia que é absorvida por uma determinada estrutura, em um determinado comprimento de onda (LUZIN, 2011).

Outra característica que deve ser levada em consideração no desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora é o peso molecular das moléculas do filtro solar, que deve ser superior a 500 Da para evitar a penetração cutânea. Sendo, portanto, um aditivo para a eficácia e segurança acerca das reações adversas e absorção sistêmica (LUZIN, 2011).

Já a solubilidade é uma característica física que interfere diretamente na compatibilidade dos filtros solares com os veículos e com a pele, sendo um fator preponderante quanto a sua eficácia e segurança. Sendo assim, protetores solares que sejam mais lipofílicos são capazes de penetrar com maior facilidade a pele, podendo exacerbar os efeitos secundários por uma possível absorção sistêmica, mas tendem a prolongar o tempo de proteção, já que a formulação tem uma maior afinidade pela pele. Já os que são mais solúveis em água, são mais úteis em peles acneicas, pois são menos oleosos (SOUSA, 2015).

O filtro não deve ter seu pico de absorção alterado por solventes, não deve ser tóxico, irritante e sensibilizante. Devendo ter um preço acessível e compatível com o veículo da formulação, assim como não deve descolorir ou manchar roupas, nem cristalizar, ressecar a pele ou ter odor desagradável (LUZIN, 2018).

### 3.5 Filtros solares

Os filtros solares são compostos químicos que inicialmente foram desenvolvidos com o intuito de prevenir apenas as queimaduras solares. No entanto, atualmente, apresentam um maior enfoque na prevenção do fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese, resultando em uma aplicação mais ampla em produtos cosméticos (VINHAL, 2016).

Esses filtros podem ser classificados como orgânicos e inorgânicos. Os filtros inorgânicos atuam por difusão e reflexão da radiação (REIS, 2018). São compostos por óxidos metálicos, tendo como principais representantes desta classe o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e o óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ), que apresentam propriedades óticas diferentes, especialmente quando estão na forma nanoparticulada ou microparticulada. Além disso, os óxidos metálicos demonstram baixo potencial alergênico, baixa capacidade de causar

irritação, não dispõem de absorção percutânea e possuem alta eficácia na proteção contra radiação, já que promovem a formação de uma barreira física, que protege contra a radiação UVA e UVB (VINHAL, 2016; SILVA; MACHADO; ROCHA et al., 2015).

Já os filtros orgânicos ou químicos são moléculas orgânicas em sua maioria, compostos aromáticos conjugados nas posições (orto) e (para), com grupamentos que aumentam (-NH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -OH) e/ou diminuem (-CO<sub>2</sub>R) a densidade eletrônica do sistema conjugado, promovendo o efeito batocrômico ao sistema e sendo responsáveis pela absorção da radiação (PERES, 2015; LUZIN, 2018). Tais compostos possuem a capacidade de absorver a radiação UV incidente e transformá-la em outro tipo de radiação menos nociva, como por exemplo o infravermelho (SILVA; MACHADO; ROCHA et al., 2015; CARVALHO, 2019).

São classificados em filtros UVA (320 a 360 nm) e UVB (290 e 320 nm), de acordo com a região de proteção. Isso deve-se ao fato de que nem sempre tais moléculas apresentam amplo espectro de proteção, como no caso das benzofenonas e as avobenzonas que protegem somente em UVA e, os salicilatos que agem na região UVB. Porém, existem alguns filtros que apresentam amplo espectro, protegendo contra os UVA e UVB, como o bemotrizinol e mexoryl SX (NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014). A região de proteção de alguns filtros orgânicos são descritos na Tabela 1, assim como a concentração máxima permitida de acordo com a resolução 47/2006 (ANVISA, 2006).

**Tabela 1** – Região de proteção de filtros solares e a concentração máxima permitida (%)

<b>Ingrediente</b>	<b>Nomenclatura INCI*</b>	<b>Região de absorção (nm)</b>	<b>Concentração Máxima Permitida (%)</b>
Avobenzona	Butyl Methoxydibenzoylmethane	400 – 320 Proteção UVA	5%
4-Metilbenzilideno	4- Methylbenzylidene	300 – 290 Proteção UVB	4%
Cânfora	Camphor	390 – 250 Proteção UVA	3%

Continua...

Homosalato	Homosalate	330 – 294	15%
		Proteção UVA	
Menthyl Anthanilate	Methyl Anthranilate	380 – 260	5%
		Proteção UVA	
	Terephthalylidene	400 – 290	
Mexoryl SX	Dicamphor Sulfonyl Acid	Proteção UVA e UVB	10%
Octocrileno	Octocrylene	360 – 350	10%
		Proteção UVB	
Octilmetoxicinamat o	Ethylhexyl Methoxycinnamate	320 – 290	10%
		Proteção UVB	
Octilsalicilato	Ethylhexyl Salicylate	320 – 289	5%
		Proteção UVB	
Padimate O	Ethylhexyl Dimethyl PABA	315 – 290	8%
		Proteção UVB	
Ácido p-aminobenzóico	PABA	313 – 260	15%
		Proteção UVB	
Roxadinamato	Ethyl Dihydroxypropyl PABA	330- 289	-
		Proteção UVB	
Fenilbenzimidazol	Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid	340 -290	8%
		Proteção UVB	
Sulisobenzona	Benzophenone – 4	375 – 260	10%
		Proteção UVA	
Bemotrizinol	Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	280 – 380	10%
		Proteção UVA e UVB	
Salicilato de trolamina	Tea – Salicylate	320 – 260	12%
		Proteção UVA	
Dióxido de Titânio	Titanium Dioxide	700 – 290	25%
		Proteção UVA e UVB	
Óxido de Zinco	Zinc Oxide	700 – 200	25%
		Proteção UVA e UVB	

---

**UVB**

---

Fonte: adaptado por Silva, Machado, Rocha et al. (2015); Oliveira (2018) e ANVISA (2006)

\*INCI- International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

A faixa de frequência UV que será absorvida pela molécula do filtro, depende das características dos grupos funcionais presentes no anel aromático, assim como da posição que ocupam no anel, podendo ser doadores ou receptores de elétrons (SILVA; MACHADO; ROCHA et al., 2015).

O que pode ser explicado através da teoria dos orbitais moleculares (TOM), pois, moléculas com grupamentos que aumentam a densidade eletrônica, tendem a aumentar a estabilidade do anel. Sendo mais estável, a energia dos orbitais ligantes é reduzida, aumentando a dos antiligantes, o que gera uma ampliação na diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO, favorecendo a absorção da radiação na faixa do UVB. Já ao se ter grupamentos que reduzem a estabilidade do anel, tem-se uma elevação da energia dos orbitais ligantes e a redução da dos antiligantes, o que promove a diminuição na diferença de energia entre os orbitais, favorecendo a absorção em UVA (VINHAL, 2012).

Em contrapartida, alguns filtros solares orgânicos têm apresentado riscos à saúde, já que se pode ter uma penetração destes para a circulação sistêmica, gerando problemas de toxicidade e reações alérgicas (ARAÚJO; LIMA; VALERIO, 2007). Gonzalez e colaboradores (2006), testaram uma formulação contendo 4% de benzofenona-3 (BP-3), demonstrando que após 10 dias de aplicação o composto foi secretado na urina, permanecendo a secreção 5 dias após a última aplicação. Desta forma, percebeu-se que a BP-3 além de ser extensivamente absorvida pela circulação sistêmica ainda apresenta efeito cumulativo.

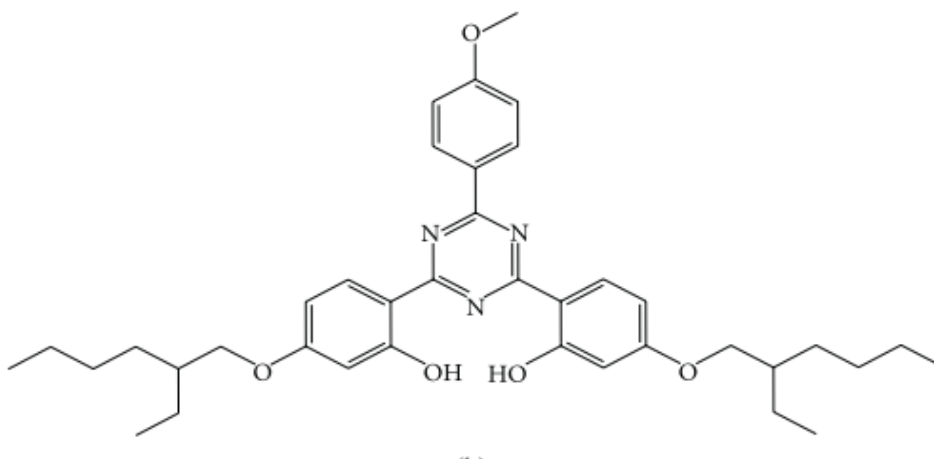
Além disso, de acordo com Balogh, Velasco, Pedriali et al. (2011), as reações alérgicas como dermatites de contato e fotoalergias, em consequência do uso contínuo de filtros solares são raras. No entanto, a presença dos filtros benzofenona-3 foi capaz de provocar fotoalergias por contato. Já o PABA, o amil dimetil PABA e a benzofenona-3, são fotoalergênicos, não sendo mais utilizados, promovendo uma redução do número de casos de irritação de pele pelo uso contínuo de protetores solar.

### **3.6 Bemotrizinol**

O Bemotrizinol (bis-etilexiloxifenol metoxifenil triazina), comercialmente conhecido como Tinosorb<sup>®</sup> S e quimicamente descrito como 2,2' - [6- (4-metoxifenil) - 1,3,5-triazina-2,4-diil] bis {5- [(2-etil-hexil) oxi] fenol} (Figura 4), trata-se de um filtro novo no mercado, demonstrando solubilidade em óleo com ampla faixa de absorção nas regiões UVA e UVB com dois picos de absorção (310 nm e 340 nm), cuja a massa molecular é de 628 Da e coeficiente de absorvidade a 310 nm =  $46.800 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , cuja concentração máxima utilizada é de 10 % (BENEVENUTO; OFFENBECKER; GASPAR, 2015; OLIVEIRA, 2018).

Dispõe de uma excelente eficácia e fotoestabilidade, assim como é compatível com todos os outros filtros e componentes cosméticos. Apresenta uma elevada estabilidade proveniente da sua estrutura molecular, atuando de forma a facilitar a dissipação de energia incidente em transferência de calor e relaxamento vibracional, não havendo a formação de radicais livres ou produtos de decomposição (TEIXEIRA, 2012). Em contrapartida, apresenta um custo elevado quando comparado com outros filtros solares (PUGLIA; DAMIANI; OFFERTA, et al., 2014; KIM; DEBNATH; GECKELER, 2010).

**Figura 4** – Estrutura química do Bemotrizinol.



Fonte: adaptado por Roy e Chakrabarty (2013).

De acordo com Ashby, Tinweel, Plautz et al. (2001), alguns filtros solares mostraram atividade frente à receptores de estrogênio e de androgênios, em especial aos receptores estrogênio, agindo como desreguladores endócrinos. Desta forma, foi testada a atividade do bemotrizinol nesses receptores, demonstrando que o mesmo não apresenta interação, o que pode estar relacionado ao fato de que a molécula dessa

substância apresenta dimensões gerais desfavorável para interagir com receptores hormonais.

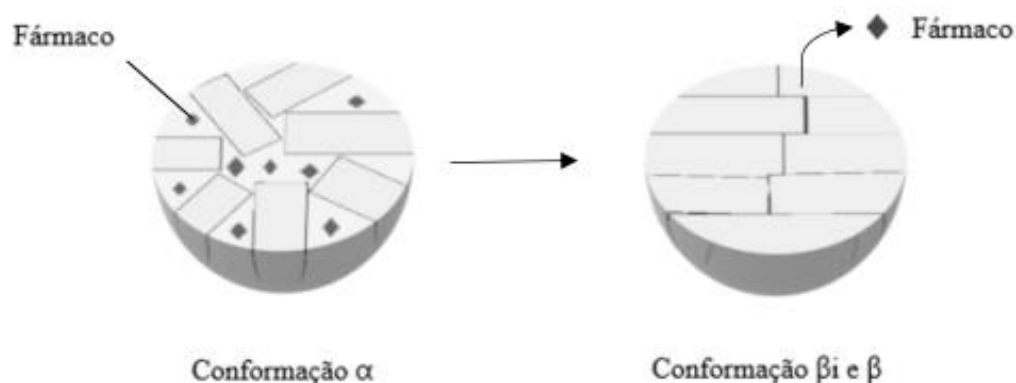
Puglia, Damiani, Offerta et al. (2014) desenvolveram carreadores lipídicos nanoestruturados e nanoemulsões (NE) contendo bemotrizinol, avobenzona e benzoato de hexilo e benzoilo (DHHB), utilizando o triglicerídeo de ácido caprílico – cáprico e o behenato de gliceril. Demonstrando que tanto as CLN e NE se encontraram em dimensões nanométricas e apresentavam a mesma capacidade de proteger os ativos contra a foto-instabilidade. No entanto, apenas o CLN conseguiu reduzir drasticamente a permeação da pele dos filtros solares, demonstrando que este sistema apresenta alto potencial como portador de filtros UV químicos.

### **3.7 Carreadores Lipídicos Nanoestruturados**

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) se caracterizam por serem um sistema inovador, desenvolvido no final da década de 1990, cujo tamanho de partícula se encontra entre 150 e 300 nm (FOGOLARI, 2017). Esse sistema foi desenvolvido com o objetivo de ser uma alternativa aos veículos tradicionais, tais como emulsões, lipossomas e nanopartículas poliméricas, sendo constituídos por lipídios sólidos a temperatura ambiente e corporal (37 °C) e estabilizados por tensoativos, que através de agitação apropriada dá origem a partículas esféricas e de escala nanométrica (DAMASIO, 2017; CASTRO, 2016; JUNIOR, 2016).

As nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) se caracterizam por serem a primeira geração de nanopartículas lipídicas, sendo produzidas a partir de lipídios sólidos, cuja estrutura é cristalina e bem organizada. Os fármacos são inseridos entre as cadeias de ácidos graxos, entre as camadas lipídicas e as imperfeições existentes. No entanto, a sua estrutura não é capaz de acomodar grande concentração de fármacos, podendo ocorrer a expulsão do fármaco durante seu armazenamento. Quando esses sistemas são formulados, os lipídios se organizam em um estado de alta energia apresentando diversas imperfeições (conformação  $\alpha$ ), quando se encontram no período de armazenamento, esses lipídios tendem a se organizar em um estado de baixa energia, formando uma estrutura cristalina quase perfeita, o que torna o espaço ínfimo para a acomodação do fármaco no interior da partícula, denominada de conformação  $\beta$  (Figura 5) (ARAUJO, 2019; COELHO, 2017; FOGOLARI, 2017; DAS; NG; TAN, 2012).

**Figura 5** – Transição polimórfica NLS de conformação de alta energia ( $\alpha$ ) e conformação de baixa energia ( $\beta i$  e  $\beta$ ), com subsequente expulsão do fármaco



Fonte: adaptado de Araújo (2019).

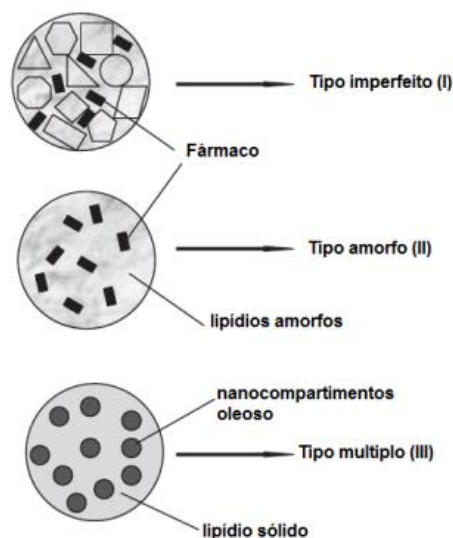
Tendo em vista, as limitações de estabilidade e eficiência de encapsulação apresentadas pelas NLS, desenvolveu-se a segunda geração de nanopartículas, os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) (ARAÚJO, 2019). Estas são obtidas através da mistura de lipídios líquidos e sólidos. Devido a inclusão do lipídio líquido, a estrutura da matriz tende a apresentar algumas imperfeições, por se ter uma maior distância entre as cadeias de ácidos graxos, o que facilita a acomodação dos fármacos e uma liberação mais controlada, comparando-se com os NLS. Dessa forma, os CLN conseguem otimizar a estabilidade físico-química, além de aumentar a capacidade de carregamento, evitando assim, a expulsão do ativo (COELHO, 2017; ARAUJO, 2019; COLA, 2016).

Levando-se em consideração que a organização matricial exerce ampla influência acerca da capacidade de incorporação e na manutenção do aprisionamento de moléculas na matriz, pode-se classificar os CLN em três tipos: Tipo I ou imperfeita; tipo II ou amorfa e tipo III ou múltipla, sendo obtidas a partir da combinação de diferentes compostos e do método de preparação. O tipo I apresenta uma matriz lipídica com lacunas entre os triacilgliceróis cristalizados, aumentando o encapsulamento de fármacos, o mesmo é produzido pela baixa concentração de óleo. No tipo II não se tem a formação de cristais, evitando a expulsão de fármacos durante o arrefecimento do sistema. O tipo III se caracteriza por ser um sistema semelhante a uma emulsão A/O/A, já que alguns princípios ativos são mais solúveis no lipídio líquido do que no sólido, formando nanopartículas do tipo óleo/ lipídio sólido/ água, havendo a formação de



nanocompartimentos na matriz do lipídio sólido (Figura 6) (DAMASIO, 2017; ARAÚJO, 2019).

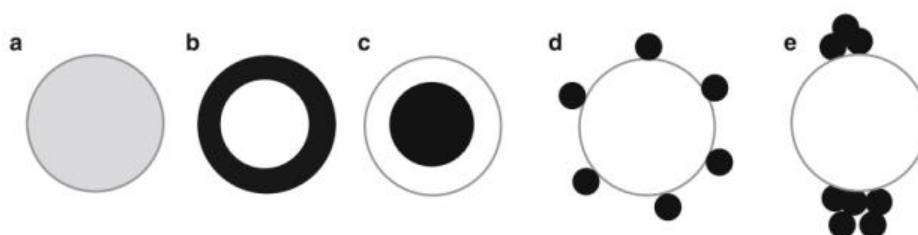
**Figura 6** – Diferentes formas de incorporação de fármacos pelos CLN.



Fonte: adaptado por Damasio (2017).

Os CLN também podem ser classificadas em cinco modelos, que se diferem considerando a forma como o fármaco está disperso (Figura 7): (a) Matriz homogênea, onde o fármaco está disperso completamente na matriz, sendo liberado por difusão; (b) modelo de concentração em invólucro, o fármaco está concentrado na camada mais externa da estrutura, havendo a liberação de forma abrupta; (c) modelo de concentração em núcleo, o fármaco se concentra no centro, tendo uma liberação sustentada por um longo período de tempo, já que este apresenta solubilidade no lipídeo; (d) monocamada adsorvida de fármaco na superfície, pode ocorrer a adsorção dos fármacos na superfície da estrutura, assim como ocorre (e) em aglomeração (ARAÚJO, 2019; DRAGICEVIC; MAIBACH, 2016).

**Figura 7**– Classificação de CLN pela distribuição do fármaco.



Fonte: adaptado por Araújo (2019) apud Dragicevic e Maibach (2016).

Os CLN's são mais biocompatível que os sistemas convencionais, visto que são formulados a partir de componentes mais biocompatíveis (DOKTOROVOVA; SOUTO; SILVA, 2014).

Além disso os CLN's apresentam a capacidade de prevenir a absorção sistêmica e de provocar a formação de um filme oclusivo que aumenta a hidratação da pele, por esse motivo estes sistemas tem sido amplamente estudados e utilizados em formulações cosméticas, principalmente no desenvolvimento de protetores solares (ROSSAN, 2011; GILBERT, ROUSSEL, SERRE, et al., 2016; COSTA, 2018).

De acordo com Negretto (2014) ao se aplicar um CLN em forma de gel ou creme na superfície da pele, a mesma induz o sistema a sofrer algumas alterações estruturais. Pois a evaporação da água leva a transição do lipídio para sua forma mais organizada, levando a expulsão do composto ativo. Por se tratar de uma solução supersaturada tem-se uma abertura da camada córnea, promovendo um aumento da permeabilidade, melhorando, portanto, a hidratação da pele.

### **3.8 Componentes dos CLN**

#### ***3.8.1 Lipídios Sólidos***

Dentre os lipídios sólidos mais utilizados no desenvolvimento de CLN tem-se o ácido palmítico, monoestearato de glicerila, behenato de glicerila (Compritol 888 ATO®) e o ácido esteárico, assim como a aplicação de ceras naturais, como a cera de abelha e a de carnaúba (TAMJIDI; SHAHEDI; VARSHOSAZ et al., 2013; SANTOS, 2017).

De acordo com Gandra (2006) e Junior (2016), as ceras naturais são bem toleradas na produção de CLN de administração tópica, pois apresentam matrizes lipídicas de baixa toxicidade e alta biocompatibilidade, assim como dispõem da capacidade de melhorar a aparência da pele, aumentando a elasticidade e agindo como uma barreira física, sendo uma alternativa para formulações de uso farmacêutico ou cosmético. São produtos do metabolismo de plantas ou animais, produzidas a partir de

processos bioquímicos, tendo função protetora contra danos gerados por microorganismos, insetos e outros elementos. Os autores relatam que a produção em plantas se dá por processos de redução e carboxilação de lipídios simples, que serão posteriormente convertidos em álcoois, ácidos e hidrocarbonetos de alto peso molecular. Essas vias são ativadas por mudanças metabólicas que ocorrem diariamente, de acordo com a presença ou a ausência de luz, calor, períodos secos, chuvas abundantes, umidade e, principalmente, com a espécie (GANDRA, 2006; JUNIOR, 2016).

A cera de carnaúba é um exemplo de cera de origem natural, que é extraída a partir das folhas da palma pertencente à palmeira *Palmífera cerifera* martiusg, e geralmente se desenvolve nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. Sendo assim, durante o processo de extração, as folhas (pó cerífero) são colhidas, secas e prensadas para possibilitar a liberação da cera. Posteriormente, promove-se a realização de processos como destilação, filtração e branqueamento químico com auxílio de peróxido de hidrogênio, para a finalização do ciclo de produção. Ao ser obtida trata-se de um material cujo o ponto de fusão varia entre 81 a 86 °C (LACERDA, 2009; SANTOS, 2017).

Os principais componentes químicos encontrados na cera são ésteres alifáticos, álcoois livres, ésteres  $\omega$ -hidroxilados, diésteres alifáticos p- metoxicinâmicos e diésteres alifáticos p-hidroxicinâmicos, onde tais compostos apresentam cadeias de diversos tamanhos, predominando os ácidos com 26 carbonos e álcoois com 32 carbonos (ROSSAN, 2011). Considerando as propriedades apresentadas pela cera de carnaúba o seu uso no campo da cosmetologia seria uma estratégia promissora, principalmente em seu uso em formulações fotoprotetoras (JUNIOR, 2016). Lacerda (2009) desenvolveu CLN à base de cera de carnaúba para incorporação de benzofenona-3 (BP-3), onde o desenvolvimento de CLN deu-se de forma estável, assim como permitiu a retenção de cerca de 4-5% de BP-3 em massa de nanopartícula.

Em contrapartida Balogh, Velasco, Pedriali et al. (2011) relatou que a cera de carnaúba é rica em cinamato, composto que detém uma potente atividade absorvedora de UVB podendo, portanto, ser utilizada para a incorporação de filtros inorgânicos, como o dióxido de titânio para ampliar o espectro de proteção. O que gera a formação de uma dispersão estável, cuja viscosidade é ideal e, principalmente, com fator de proteção solar e proteção contra os raios UVA.

### **3.8.2 Lipídios líquidos**

Um dos fatores que irá determinar a capacidade de incorporação da fase lipídica é a solubilidade do composto ativo no lipídio líquido, onde os mais utilizados na produção dos CLNs são os triglicerídeos de cadeia média (TCM) e o ácido oleico (AO). O TCM se trata de uma classe de lipídios mistos com cadeia saturada, cujo comprimento varia de 6 a 12 carbonos. São compostos principalmente por ácidos graxos caprílico e cáprico e, em menor concentração de ácidos graxos capróicos, láurico e mirístico. Ademais, esses lipídios apresentam baixa viscosidade e se solidificam a uma temperatura de aproximadamente 0 °C (SANTOS, 2017).

O triglicerídeo de ácido cáprico/ caprílico (TACC) é um triéster misto advindo do óleo de coco e glicerina. Encontra-se na forma de um líquido oleoso, funcionando como um emoliente, agente de dispersão e solvente. Apresenta algumas vantagens que são importantes para formulações cosméticas como o fato de não apresentar cor ou odor, além de dispor de uma boa estabilidade e resistência à oxidação (CALLEGARI, 2015).

### **3.9 Planejamento Experimental do tipo Box- Behnken 3<sup>3</sup>**

As propriedades físico-químicas de uma formulação podem ser alteradas por diversas variáveis, a exemplo do tamanho das partículas do composto em estudo Bemotrizinol. Sendo assim, a utilização dessa técnica possibilita identificar quais as interações entre uma determinada resposta e uma variável independente (fatores), visando otimizar a metodologia de superfície de resposta (RSM). O RSM pode ser otimizado com auxílio delineamento matemático do tipo Box- Behnken, que é uma técnica de segunda ordem baseada em um planejamento fatorial em três fatores e três níveis, sendo eles -1 (inferior), 0 (médio) e +1 (superior). Visto que o número de experimentos (N), necessários para sua execução é calculado e estimado por  $N = k^2 + k + pc$  (BA- ABBAD, CHAI, TAKRIFF et al., 2015; VOZZA DANISHA, BYRNEB et al. 2018; NOVAES, YAMAKI, DE PAULA et al., 2017).

Por conseguinte, o RSM juntamente como o design matemático, trata-se de uma abordagem eficiente para a identificação das possíveis variáveis de forma isolada. Visto que, esse método computacional possibilita (VOZZA, DANISHA, BYRNEB et al., 2018):

- 1) Diminui a quantidade de execuções experimentais que são necessárias para identificar os fatores significativos, reduzindo os recursos necessários;
- 2) Apresenta a capacidade de detectar interdependências de variáveis, o que geralmente não ocorre na avaliação dos fatores individualmente.
- 3) Amplifica a previsão de uma resposta através do uso de informações coletadas.

O Box- Behnken trata-se de um método que geralmente é utilizado após uma triagem preliminar, para que então se faça uso de um desenho fatorial considerando quais fatores poderiam afetar significativamente a resposta (RAGONESE, MACKA; HUGHES et al., 2002). Já que durante o processo de otimização tem-se o método envolvendo uma variável de cada vez, o que se trata de uma técnica demorada e desconsidera a interação entre as variáveis, o que não garante a obtenção de um sistema ideal. Onde a otimização por Box-Behnken elimina estas desvantagens, além de correlacionar as variáveis e as resposta (s) (ABDEL- FATTAH, 2002).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Os materiais utilizados na obtenção dos carreadores lipídicos nanoestruturados são: Cera de Carnaúba (All Chemistry, São Paulo, Brasil), Bemotrizinol (Tinosorb<sup>®</sup> S) (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Alemanha), Polissorbato 80 (All Chemistry, São Paulo, Brasil), Triglicerídeos do ácido cáprico e caprílico (All Chemistry, São Paulo, Brasil), Span<sup>®</sup> 80 (Sorbitane monooleate, Sigma-Aldrich, Alemanha) e Água destilada (Destilador de água Pilsen, modelo SP5L, Presidente Prudente, Brasil)

### 4.2 Métodos

O desenvolvimento dos CLNs, incorporação do filtro solar e caracterizações desses compostos, foi baseada nos estudos realizados por Medeiros (2019).

#### 4.2.1 Estudos *preliminares para obtenção dos CLN*

##### 4.2.1.1 *Determinação da concentração de fase lipídica e razão de lipídios (sólido:líquido)*

Para a determinação da concentração e razão de lipídios, foram desenvolvidas inicialmente três formulações contendo concentrações lipídicas distintas (5, 10 e 20%). Estes sistemas foram submetidos à centrifugação durante 10 minutos à 5.000 rpm (rotações por minuto), tendo como finalidade escolher a concentração que apresentasse CLN estáveis macroscopicamente.

Após a escolha da formulação, desenvolveu-se mais três sistemas, variando desta vez, a razão de lipídios sólido: líquido (70:30, 50:50, 20:80). Avaliando o tamanho e IPD (índice de polidispersão) das partículas. O sistema que apresentou tamanho na faixa almejada, em aproximadamente 200 nm, e menor IPD foi escolhido para as etapas posteriores.

##### 4.2.1.2 *Planejamento experimental do tipo Box-Behnken 3<sup>3</sup> para desenvolvimento do CLN contendo BEMT*

Para o desenvolvimento do planejamento experimental foram escolhidos três fatores principais, como variáveis independentes: concentração de filtro solar (X1), concentração do tensoativo (X2) e tempo de homogeneização em sonicador (X3), tendo como finalidade avaliar a interação e o efeito destes parâmetros nas formulações, como representado na Tabela 2. Onde, o tamanho de partícula foi a variável dependente (Y), escolhida como resposta.

Sendo assim, foi utilizado o planejamento Box-Behnken com 3 fatores e 3 níveis para otimizar o desenvolvimento do sistema, tendo um total de 16 corridas experimentais geradas utilizando o software Statistica 10 (StatSoft).

**Tabela 2** – Fatores e níveis para realização do planejamento Box- Behnken 3<sup>3</sup>

Fatores	Faixas e Níveis		
	-1	0	1
<b>X1</b>	0,3	0,4	0,5
<b>X2</b>	2	3	4
<b>X3</b>	3	5	7

Fonte: dados da pesquisa.

#### 4.2.1.3 Estabilidade por centrifugação

Após a determinação dos parâmetros para a obtenção dos nanocarreadores, o sistema branco e contendo BEMT foram submetidos à centrifugação em microcentrífuga modelo NI1801 (Nova Instruments<sup>®</sup>, Piracicaba, São Paulo, Brasil), a uma velocidade de 5000 rpm por dez minutos, no intervalo de 1, 7, 15, 30 e 60 dias após preparação.

#### 4.2.2 Obtenção dos CLN

Após a finalização da primeira etapa de desenvolvimento, foram determinados parâmetros ideais para a obtenção dos CLN, estabelecendo um protocolo de desenvolvimento.

Onde, lipídios foram aquecidos a uma temperatura superior ao ponto de fusão do lipídio sólido (aproximadamente a 80 °C). Os tensoativos e o filtro solar foram aquecidos juntamente com a fase lipídica. A fase aquosa contendo apenas água destilada

foi aquecida à mesma temperatura. Em seguida, a porção aquosa foi vertida na fase lipídica, onde a mistura foi submetida à agitação mecânica em desruptor de célula ultrassônico (Unique, Indaiatuba, SP, Brasil) por dois ciclos de sete minutos cada um, para fragmentação das partículas a potência de 200 W. Por fim, os frascos foram levados a resfriamento em banho de gelo para solidificação dos nanocarreadores.

### ***4.2.3 Caracterização dos CLN***

#### *4.2.3.1 Análise do tamanho das partículas e índice de polidispersão (IPD)*

Os tamanhos de partículas e o IPD foram realizados utilizando a técnica do espalhamento de luz do raio hidrodinâmico ou dynamics light scattering (DLS) das partículas em suspensão utilizando o equipamento Zetasizer Nano<sup>®</sup> (Malvern Montgomeryville, USA).

As amostras foram diluídas em água destilada na proporção de 1:100 (v/v) e as leituras realizadas 1, 7, 15 e 30 dias após desenvolvimento dos sistemas.

#### *4.2.3.2 Determinação do potencial Zeta*

A análise do potencial zeta foi realizada através da medição da mobilidade eletroforética das partículas em suspensão utilizando o equipamento Zetasizer Nano<sup>®</sup> (Malvern, Montgomeryville, USA). As análises foram realizadas em triplicata, sob temperatura de 25 °C e com força de campo de 20 V/cm.

As amostras foram diluídas em água destilada na proporção de 1:100 (v/v) e as leituras realizadas 1, 7, 15 e 30 dias após desenvolvimento dos sistemas.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Estudos preliminares para obtenção do CLN

Para determinar os parâmetros ideais e otimizar o tempo de desenvolvimento dos carreadores lipídicos nanoestruturados, foi realizado um estudo prévio.

#### 5.1.2 Determinação da concentração de fase lipídica e razão de lipídios (sólido:líquido)

O estudo de pré-formulação tem como intuito investigar o papel desempenhado pelos componentes nas características do sistema, assim como avaliar as características da formulação verificando algum indicativo de instabilidade.

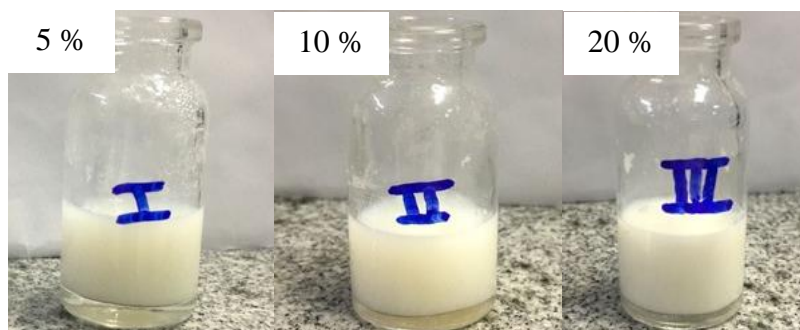
Sendo assim, na primeira fase do estudo de pré-formulação se verificou a determinação da concentração de lipídios e, a resposta macroscópica do sistema diante da alteração deste parâmetro. Para isto, desenvolveu-se três formulações com razão de lipídios em 50:50 e a concentração do tensoativo em 3%, variando-se apenas a concentração de lipídios em 5 % (I), 10 % (II) e 20 % (III), como visualizado na Tabela 3. Tais formulações foram submetidas a dois ciclos de cinco minutos com potência a 200 W e, em seguida ao resfriamento. Nesta etapa, não houve a incorporação do filtro solar.

**Tabela 3** – Concentração de lipídios dos sistemas formulados

Sistema	Concentração de lipídios
<b>I</b>	5 %
<b>II</b>	10 %
<b>III</b>	20 %

Fonte: dados da pesquisa.

Ambos os sistemas, apresentaram aspecto homogêneo como observado na Figura 8. No entanto, percebe-se que com o aumento da concentração dos lipídios os sistemas apresentam-se mais leitosos. Desta forma, com a finalidade de verificar a estabilidade destes sistemas, submeteu-se à centrifugação a 5000 rpm, por 10 minutos.

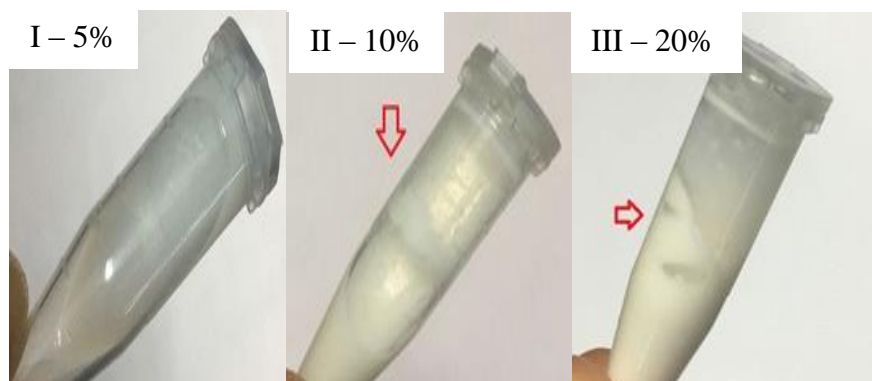
**Figura 8** – Sistema após agitação

Fonte: dados da pesquisa.

Segundo a ANVISA a centrifugação se caracteriza como um teste de triagem, sendo utilizada de forma apropriada apenas para a pré-seleção das formulações, que posteriormente serão submetidas à estabilidade acelerada. Deste modo, essa análise não indica assertivamente a estabilidade real das formulações, porém trata-se de uma análise rápida e que é capaz de avaliar a coalescência ou cremação do sistema (ANVISA, 2004).

Sendo assim, ao ser submetido à centrifugação, apenas o sistema I que apresenta 5% de concentração lipídica, manteve-se homogêneo. Já os sistemas II e III, demonstraram a formação de precipitados, havendo também a separação de fases, demonstrando que ambos são instáveis. Sendo, portanto, descartados para seguir às próximas fases do estudo. Resultados esses, semelhantes ao de Angelieri (2013), onde formulações que continham grandes quantidades de fosfolipídios foram capazes de aumentar o movimento browniano das partículas, promovendo uma interação as camadas de lipídios, promovendo assim a agregação através do fenômeno de coalescência, assim como o aumento da viscosidade como foi observado na Figura 9.

Esse processo de separação de fases ou de formação de espumas também é decorrente da diferença de densidades entre as gotículas ou partículas do sistema, onde aquelas que são menos densas tendem a migrar e se agrupar na superfície, resultando em uma formulação com duas fases, como verificado na Figura 9 (II e III). Esse fenômeno de agrupamento de gotículas na porção superior é denominado de cremação. (MEYAGUSKU, 2014).

**Figura 9** – Sistema após centrifugação

Fonte: dados da pesquisa.

Segundo Santos (2018) pode-se obter sistemas compostos com mais de 95% (p/p) de lipídios na obtenção dos CLN. Havendo a estabilização através da concentração de tensoativo entre 0,5 e 5%. No entanto, a concentração de fase lipídica acima de 10% promove um aumento do tamanho de partícula e distribuição mais heterogênea, tornando a emulsificação mais difícil.

Após a escolha da concentração de lipídios da formulação, deu-se início a segunda fase do estudo, onde foram desenvolvidos mais três sistemas, variando desta vez, a razão de lipídios sólido: líquido em 70:30 (Sistema A), 50:50 (Sistema B), 20:80 (Sistema C). Analisando o tamanho e IPD (índice de polidispersão) das partículas, escolhendo o sistema que apresente o tamanho de partícula menor que 200 nm e IPD inferior a 0,3 para estudos posteriores. Desta forma, verificou-se que o sistema A ao conter uma maior razão de lipídio líquido, apresentou maior tamanho de partícula (349,5 nm), assim como um índice de polidispersão acima de 0,4 (Tabela 2). Caracterizando-se como um sistema com distribuição de tamanho mais heterogênea.

**Tabela 3** – Tamanho médio das partículas e IPD das partículas dos sistemas A, B e C

SISTEMA	TAMANHO (nm)	IPD
A	349,5	0,41
B	273,9	0,38
C	166,4	0,26

Fonte: dados da pesquisa.

No caso do sistema B, tem-se um aumento da razão de lipídio líquido para uma razão de 50:50, a formulação permaneceu com um IPD semelhante ao sistema A, no entanto houve uma redução do tamanho de partícula (273,9 nm). Já o sistema C com razão de 20:80 demonstrou tamanho de partícula dentro da faixa desejada, além de um IPD de 0,26, havendo a formação de um sistema com partículas mais homogêneas. Desta forma, percebe-se que quanto maior a razão de lipídio líquido, menor o tamanho de partícula.

Resultado semelhante foi obtido por Lacerda (2009), já que ao aumentar a concentração de lipídio líquido tem-se uma redução da viscosidade da matriz fundida, melhorando as características da pré-emulsão durante a agitação mecânica.

### **5.1.3 Planejamento experimental do tipo Box-Behnken 3<sup>3</sup> para desenvolvimento do CLN contendo BEMT**

Os planejamentos experimentais de bancada consistem na realização de ensaios considerando diversos parâmetros, para que assim alcance uma região próxima à desejada, aplicando posteriormente o planejamento experimental (SOUSA, 2013). Desta forma, no estudo de pré-formulação anterior obteve-se uma formulação branca cujos parâmetros fixos determinados, possibilitaram o alcance de um tamanho de partícula inferior à 200 nm e um IPD menor que 0,3.

Na realização do planejamento experimental do tipo Box- Behnken para a escolha da formulação contendo o ativo bemotrizinol foram determinadas três variáveis independentes, sendo elas a concentração do filtro (X1), a concentração de tensoativos (X2) e o tempo de homogeneização (X3); e três níveis para cada variável, sendo eles: alto, médio e baixo. A partir disso, obteve-se um delineamento e desenvolvimento de 16 formulações, sendo três repetições do ponto central, tendo como resposta e variável dependente o tamanho de partícula (Tabela 4).

**Tabela 4** – Matriz de planejamento Box-Behnken e a resposta tamanho.

<b>Formulação</b>	<b>X1</b>	<b>X2</b>	<b>X3</b>	<b>Resposta</b>
	<b>CF (%)</b>	<b>CT (%)</b>	<b>T (min)</b>	<b>Tamanho (nm)</b>
<b>1</b>	0,3	2	5	429,90

<b>2</b>	0,5	2	5	419,50
Continuação				
<b>3</b>	0,3	4	5	196,50
<b>4</b>	0,5	4	5	149,00
<b>5</b>	0,3	3	3	214,40
<b>6</b>	0,5	3	3	384,20
<b>7</b>	0,3	3	7	282,10
<b>8</b>	0,5	3	7	338,40
<b>9</b>	0,4	2	3	470,00
<b>10</b>	0,4	4	3	308,00
<b>11</b>	0,4	2	7	335,10
<b>12</b>	0,4	4	7	149,90
<b>13</b>	0,4	3	5	170,40
<b>14</b>	0,4	3	5	204,10
<b>15</b>	0,4	3	5	164,70
<b>16</b>	0,4	3	5	236,20

Fonte: dados da pesquisa.

\*CF – Concentração de filtro; CT – Concentração de tensoativo e T – tempo de homogeneização.

Os parâmetros analisados para as 16 formulações desenvolvidas de CLN foram apresentados na Tabela 4, onde, pôde-se ser verificado, que o tamanho de partícula variou entre 149,00 nm (CLN 4) e 470 nm (CLN 9).

Foram gerados o Gráfico de Pareto e de superfície de resposta, com a finalidade de analisar quais as variáveis ou interações significativas que possam ter influenciado na resposta do tamanho de partícula.

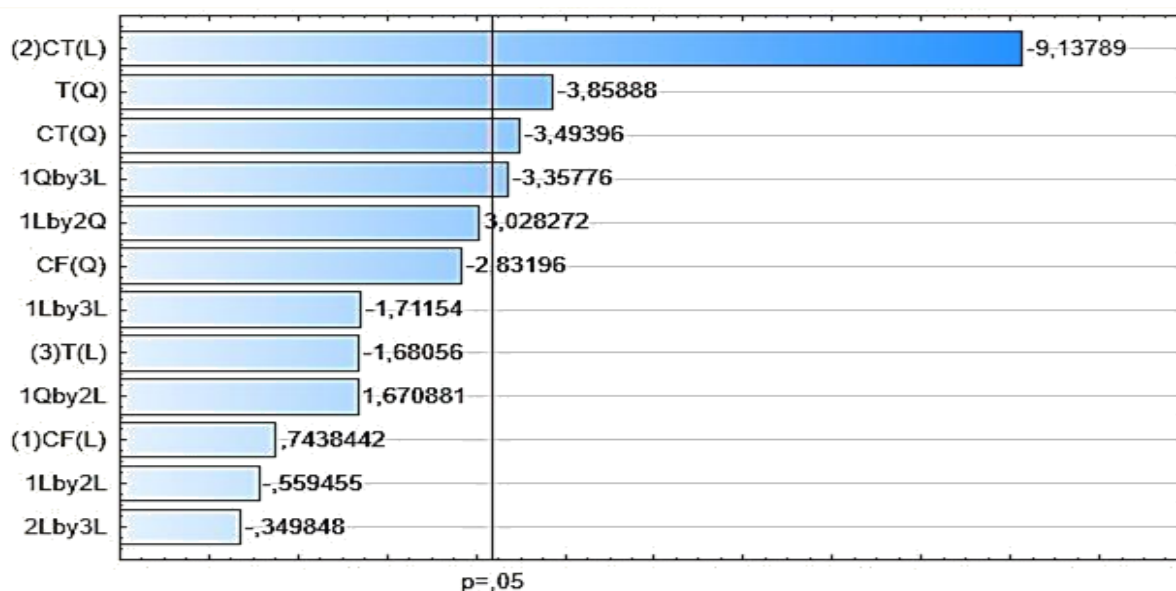
Os valores dos efeitos estimados que são apresentados no Gráfico de Pareto possibilita analisar se os mesmos são estatisticamente significativos. A linha na vertical é indicadora do valor mínimo para que isso ocorra, onde quanto mais à direita dessa linha mais significativo é o efeito (LACERDA, 2009).

De acordo com o gráfico exposto na Figura 10, percebe-se que, nas faixas testadas para as três variáveis independentes (Concentração do filtro, concentração do tensoativo e tempo de homogeneização), a variável que mais influenciou nos valores do tamanho da partícula foi a concentração de tensoativo ( $p < 0,5$ ), estando portanto, mais à

direita da linha horizontal. Corroborando com os dados encontrados por Junior (2016), onde ao se ter um aumento da concentração de tensoativo tem-se uma diminuição do tamanho das gotículas de fase interna, relacionadas com uma redução da tensão superficial.

Desta forma, a concentração de tensoativo influencia de forma expressiva no tamanho das partículas, assim como na estabilidade do sistema. Apresentando um mecanismo que é decorrente da existência de forças repulsivas que sejam capazes de impedir a coalescência ou floculação. No caso das nanopartículas lipídicas, os tensoativos também atuam controlando o processo de cristalização da fase lipídica (SANTOS, 2018).

**Figura 10** – Gráfico de pareto dos efeitos padronizados



Fonte: dados da pesquisa

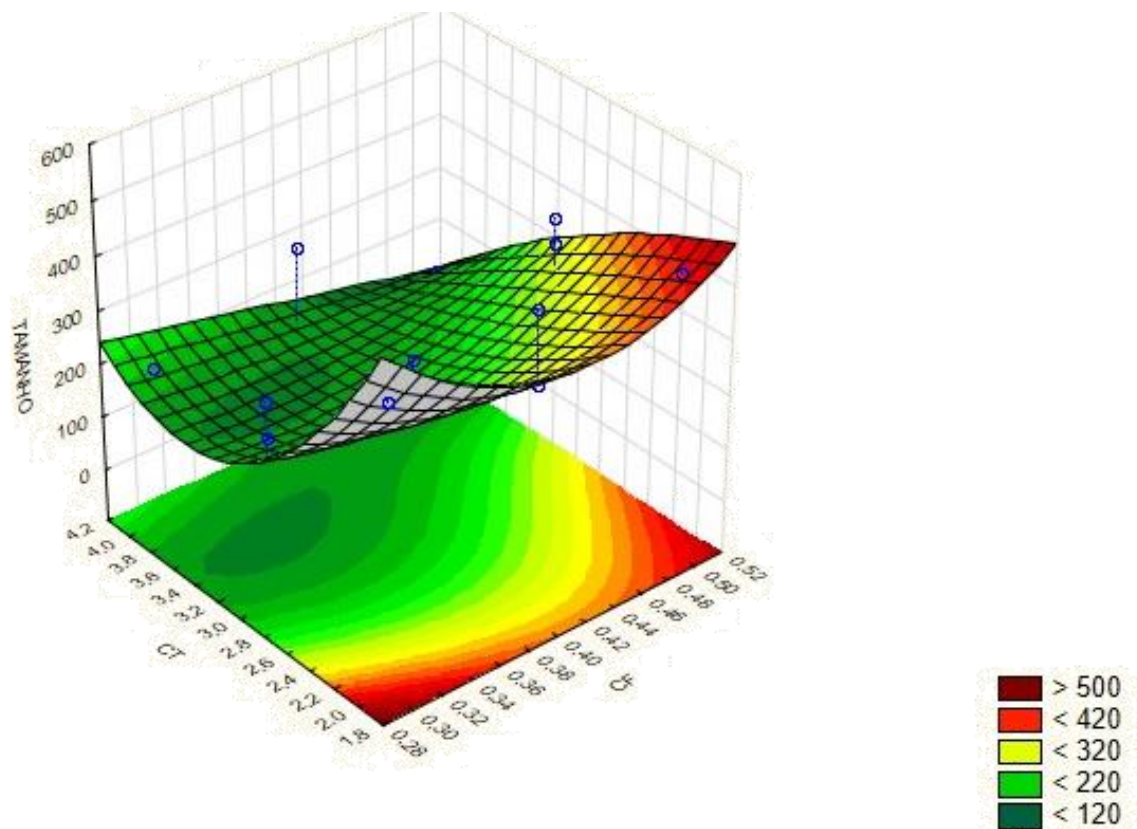
\*CT – Concentração de tensoativo; T- Tempo de homogeneização; CT- Concentração de tensoativo; Q- quadrático; L- Linear.

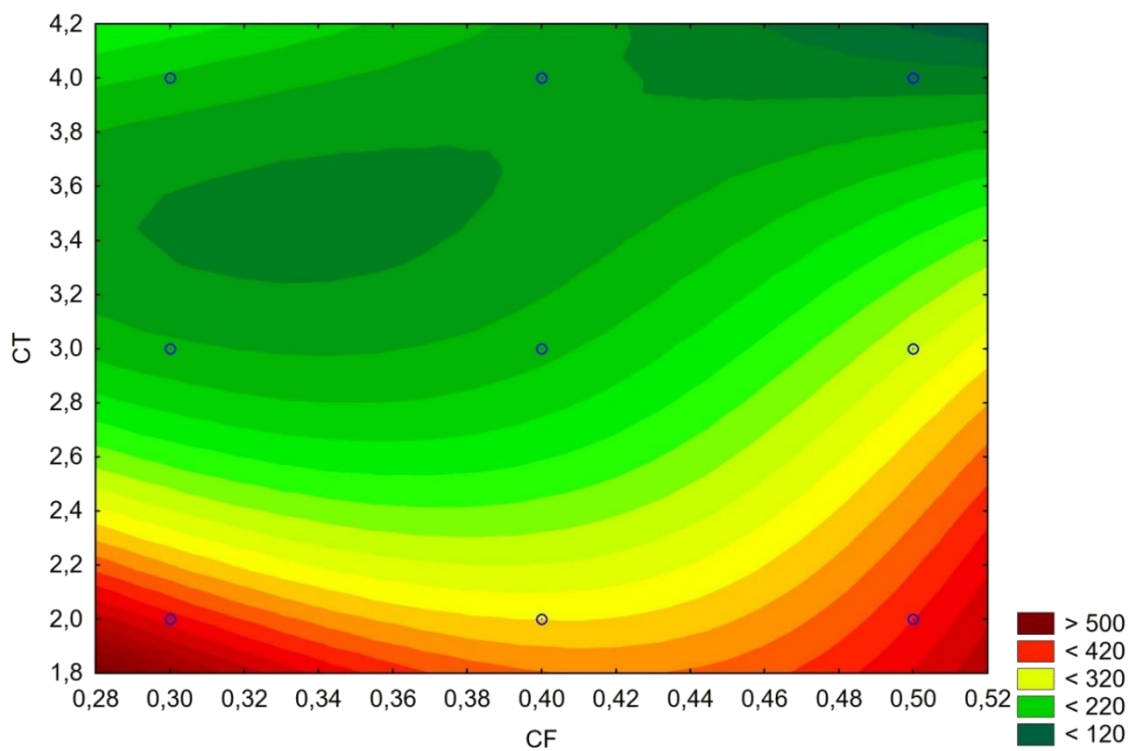
Os gráficos de superfície resposta são responsáveis por fornecer uma interpretação visual da relação entre respostas e níveis experimentais de cada variável e o tipo de interação entre duas variáveis de teste. Sendo assim, as formas de plotagem de contornos, sejam eles circulares ou elípticas, indicando se as interações recíprocas entre as variáveis são significativas ou não (LACERDA, 2009; AHMAD, ALKHARFY, WANI et al., 2015).

Ademais, os gráficos de superfície de resposta corroboram com os resultados apresentados pelo gráfico de Pareto. Como demonstrado na Figura 11, pois ao se ter um

aumento da concentração de Bemotrizinol, não se tem uma alteração significativa no tamanho de partícula. Em contrapartida, o aumento da concentração de tensoativo gera partículas com tamanho menores.

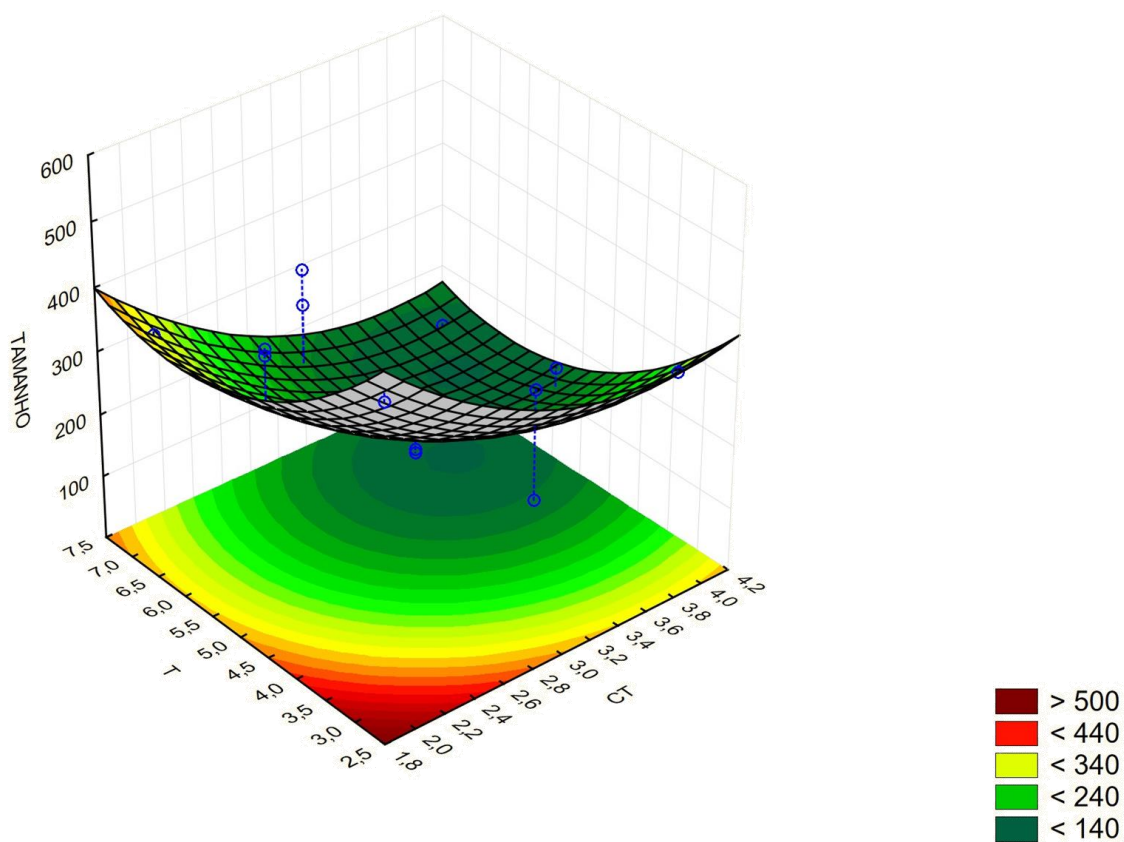
**Figura 11** – Superfície de resposta da interação entre a concentração de tensoativo (CT) e concentração do filtro (CF). Gráfico 3D e contorno.



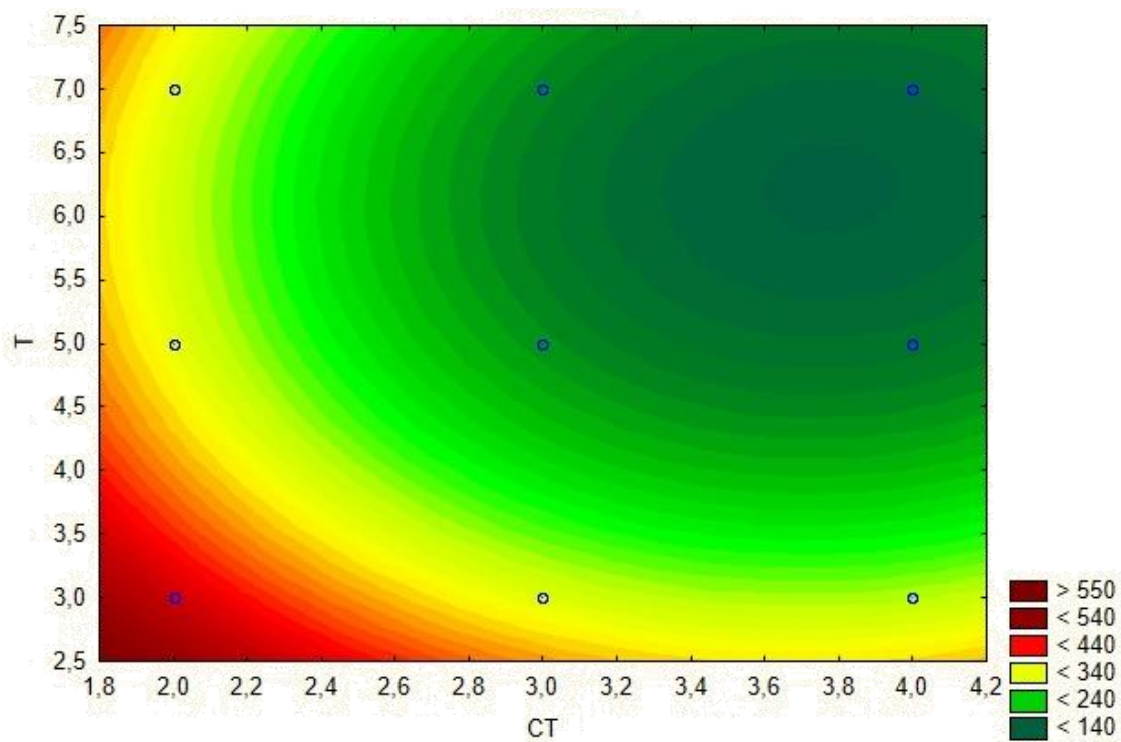


Fonte: dados da pesquisa.

**Figura 12** – Superfície de resposta da interação entre tempo de homogeneização (T) e concentração do tensoativo (CT). Gráfico 3D e contorno

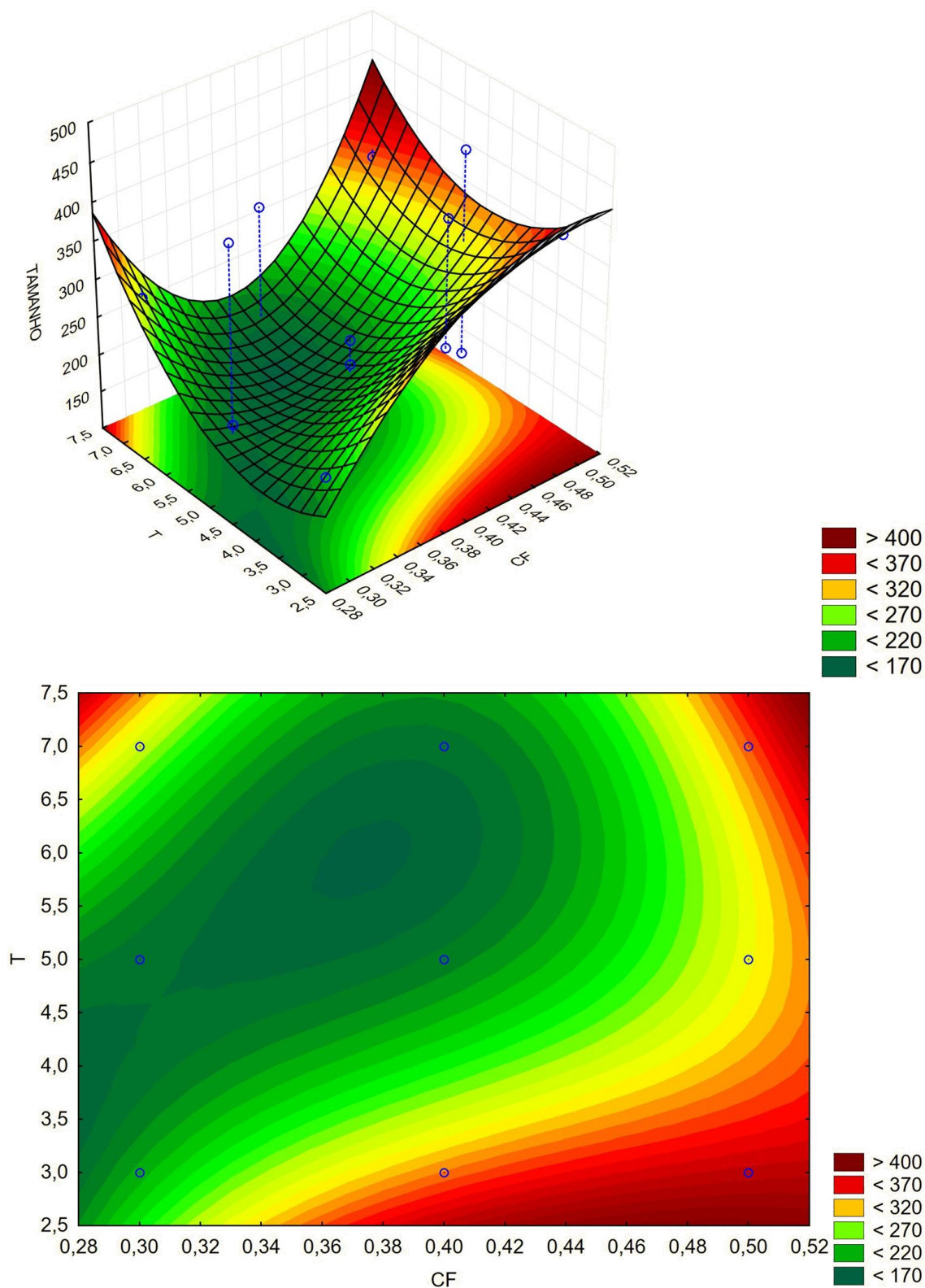






Fonte: dados da pesquisa

**Figura 13** – Superfície de resposta da interação entre tempo de homogeneização (T) e concentração do filtro (CF). Gráfico 3D e contorno



Fonte: dados da pesquisa

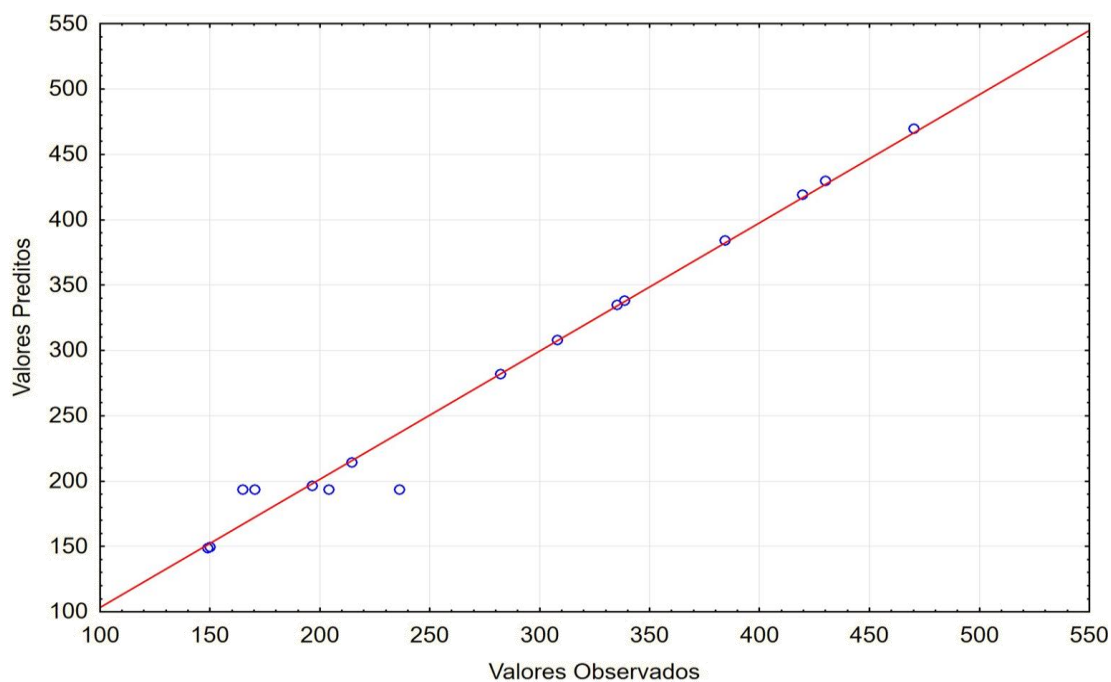
Na Figura 12, percebe-se que a interação entre as variáveis independentes de CT e T são significativas na resposta. Já que a região em que se tem um menor tamanho de

partícula é aquela que se tem uma maior concentração de tensoativo e um maior tempo de agitação, obtendo partículas com tamanhos requeridos.

A concentração de filtro não havia demonstrado uma interação significativa frente a variável dependente. No entanto, a associação entre as variáveis CF e T é significativa ( $p < 0,05$ ). Sendo assim, a concentração do filtro exerce uma influência sobre o tempo de agitação, pois ao se ter uma maior concentração do filtro mesmo tendo um maior tempo de agitação, se tem um tamanho de partícula maior. Desta forma, o nível médio da variável T demonstrou-se o mais satisfatório, obtendo-se partículas menores.

Na Figura 14, podemos observar uma relação entre os valores preditos e os valores observados, que tem como finalidade visualizar a adequação do modelo estudado. A linha vermelha se caracteriza por ser a representação do modelo matemático, e os pontos azuis são os valores obtidos em resposta ao planejamento. Desta forma, quanto mais próximo da reta, mais aceitável estará o modelo experimental.

**Figura 14** – Valores preditos x valores observados.



Fonte: dados da pesquisa

Os resultados apresentados demonstraram que praticamente todos os experimentos estavam próximos da linha contínua, com exceção de quatro respostas dentre as 16 analisadas. Expressando que o modelo foi satisfatório.

A Tabela 5 apresenta os dados obtidos na análise de variância (ANOVA), gerados a partir da análise de três variáveis na resposta, considerando a soma dos

quadrados dos desvios, a média quadrática dos desvios, os graus de liberdades dos fatores (linear ou quadrático), os valores de F e os valores de  $p$ , além do erro puro e a falta de ajuste.

Por conseguinte, percebe-se que os fatores que se revelaram estatisticamente significativos foram a concentração de lipídio e o tempo de agitação (valor de  $p < 0,05$ ). A outra variável, isto é, a concentração do filtro não demonstrou interação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). No entanto no gráfico de superfície de resposta (Figura 13), percebeu-se que a interação entre a CF e o tempo de agitação apresenta interação na resposta estatisticamente significativa quando associados.

Outro fator a ser analisado é a falta de ajustes, estando diretamente relacionado à adequação do modelo ao comportamento do experimento, não devendo ser significativo (CARDOSO, 2015). Verificando que o método não apresenta falta de ajuste ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 5** – Análise de variância (ANOVA) do modelo quadrático para a resposta tamanho.

<b>FATOR</b>	<b>SQ</b>	<b>GL</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>CF (L)</b>	3536,6	1	3536,4	3,21666	0,1701788
<b>CF (Q)</b>	8817,2	1	8817,21	8,02000	0,066083
<b>CT (L)</b>	90546,4	1	90546,4	82,35958	0,002826
<b>CT (Q)</b>	13421,2	1	13421,22	12,20773	0,039653
<b>T (L)</b>	9186,9	1	9186,9	8,35626	0,062976
<b>T (Q)</b>	16371,2	1	16371,2	14,89099	0,030756
<b>Falta de Ajuste</b>	29245,8	6	4874,31	4,43359	0,124607
<b>Erro Puro</b>	3298,2	3	1099,4		
<b>Total</b>	174423,4	15			

Fonte: dados da pesquisa.

\*CF(L) – Concentração do filtro; CF(Q) – Concentração do filtro; CT(L) – Concentração de tensoativo; CT(Q) – Concentração de tensoativo; T(L) – Tempo de homogeneização; T(Q) – Tempo de homogeneização; SQ- Soma dos quadrados dos desvios; GL – Grau de liberdade dos fatores; MQ – Média quadrática dos desvios.

Tendo em vista, que o tamanho de partícula é um fator limitante para o desenvolvimento das CLN, o desenho fatorial proporcionou a determinação dos parâmetros ideais para uma formulação adequada. Sendo os sistemas 4 e 12, os que apresentaram menor tamanho de partícula em relação aos demais, 149 e 149,9 nm, respectivamente. Mas, ao se analisar o índice de polidispersão, o sistema 12 apresentou um tamanho de partícula mais homogêneo, sendo assim, o sistema selecionado.

A partir dos parâmetros analisados, fixou-se as concentrações e os parâmetros físico químicos para o desenvolvimento dos CLN. Sendo, a concentração de fase lipídica 5%, proporção de lipídios 80:20, tempo de agitação dois ciclos de 7,0 min cada, com potência a 40%, concentração de filtro de 0,4% e 4% de polissorbato 80.

## **5.2 Estabilidade frente à centrifugação**

O teste de centrifugação visa analisar, em um curto espaço de tempo, as variações físicas ou químicas que podem atingir o sistema. Gerando um estresse na amostra, através do aumento da força de gravidade e, conseqüentemente da mobilidade das partículas, permitindo antecipar os sinais de instabilidade, como precipitação, separação de fases, coalescência ou cremação, sendo esses fatores um indicativo de reformulação (ANVISA, 2004; LARENTES, 2009).

As amostras desenvolvidas foram analisadas no primeiro e no sétimo dia, demonstrando-se homogêneos e estáveis. No entanto, ao serem analisados no décimo quinto dia verificou-se o fenômeno de separação de fases em ambos os sistemas, demonstrando instabilidade após quinze dias.

Tendo como finalidade solucionar este inconveniente, foi calculado o EHL (equilíbrio hidrofílico-lipofílico) da formulação, havendo a necessidade de ser adicionado outro tensoativo ao nanocarreadores. Optou-se pelo Span<sup>®</sup> 80 (Monooleato de sorbitano), por ser um surfactante não iônico assim como, o polissorbato 80, além de ser barato e molecularmente heterogêneo é amplamente aplicado em cosméticos. Diante do exposto, para as formulações manteve-se a concentração total de tensoativos em 4 %, na proporção de 80:20 de polissorbato 80 e Span<sup>®</sup> 80, respectivamente.

Esses sistemas reformulados foram submetidos à centrifugação nos dias 1, 7, 15, 30 e 60 após o preparo, permanecendo com aspecto homogêneo e, portanto, estáveis durante esse período. Desta forma, a adição do Span<sup>®</sup> 80 foi de grande relevância para manter a estabilidade físico-química do sistema por um maior período de tempo.

### 5.3 Caracterização

#### 5.3.1 *Análise do tamanho das partículas, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta*

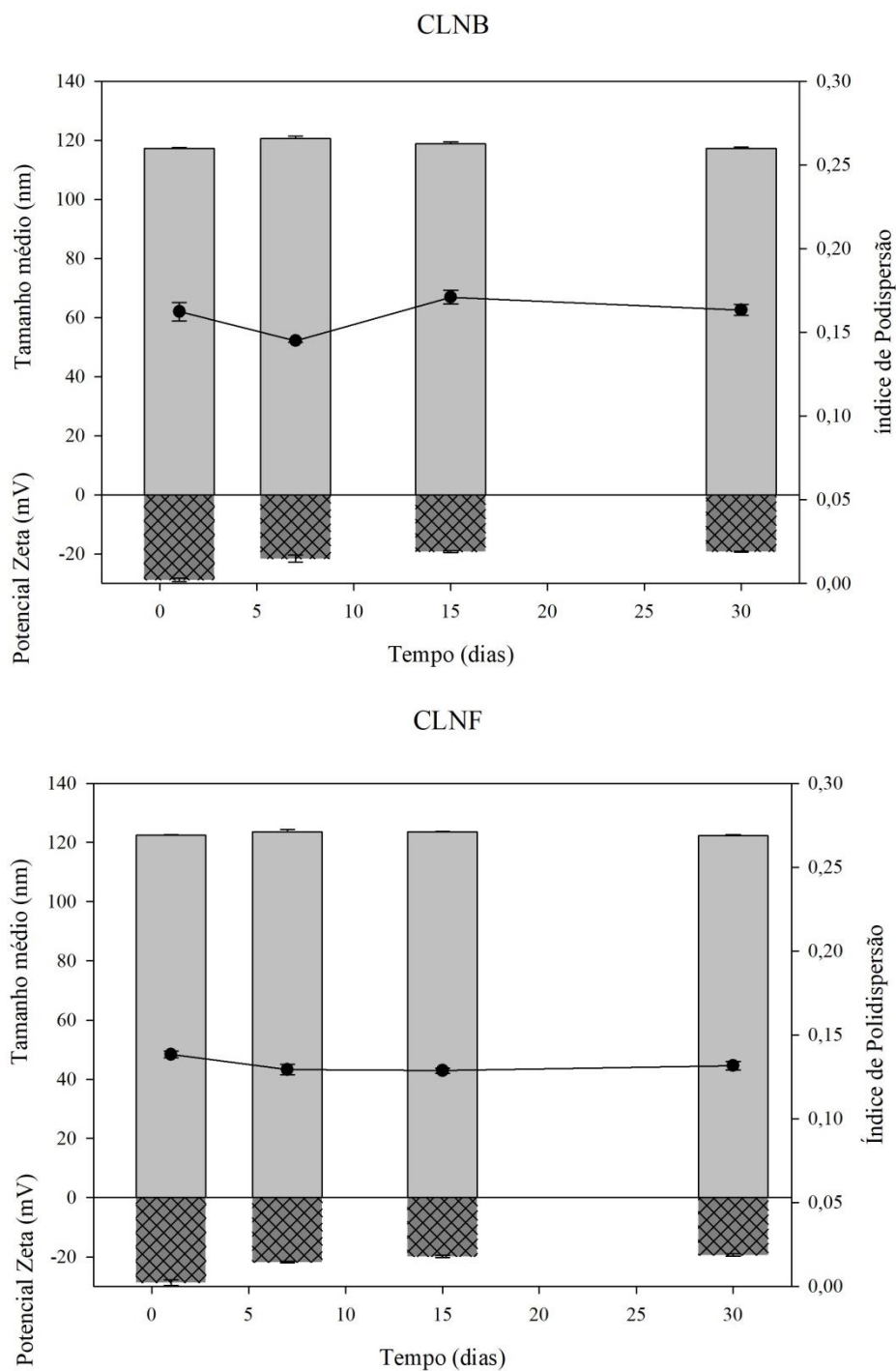
A incorporação de ativos que apresentem uma solubilidade limitada depende das características da matriz sólida, assim como dos surfactantes incorporados. Dessa maneira, tanto a escolha dos lipídeos e surfactantes, assim como o tipo e a concentração influenciam diretamente no tamanho de partícula, na estabilidade da molécula e no perfil de liberação desta (MAZUR, 2017).

A partir do planejamento experimental, foi possível escolher a formulação CLN12 para a incorporação do filtro solar e avaliação da estabilidade físico-química durante o armazenamento, analisando-se o tamanho médio das partículas, IPD e potencial zeta. Os resultados estão expostos na Figura 15.

No CLN branco (CLNB) percebe-se que o tamanho de partícula analisado 24 horas após o período de seu desenvolvimento foi de  $117,2 \pm 0,2$  nm, e após 30 dias  $122,4 \pm 0,3$  nm, já durante os dias 7 e 15 não houveram mudanças estatisticamente significativas, indicando que não houve sinal de agregação. O mesmo pode ser percebido nos CLN contendo o bemotrizinol (CLNF), onde após 24 h o tamanho foi de  $117,2 \pm 0,2$  nm e, após 30 dias  $117,2 \pm 0,4$  nm.

Os tamanhos obtidos nas formulações expostas (CLNB e CLNF) são resultantes principalmente da escolha da matriz lipídica, pois a mesma exerce ampla influência sobre o tamanho das partículas. Desta forma, em seu estudo, Marques (2017) desenvolveu nanopartículas lipídicas contendo apenas a cera de carnaúba, observando que nessas amostras os tamanhos de partículas eram maiores, e que havia uma relação de proporcionalidade, pois a medida em que se tinha uma maior concentração de cera obtinha-se partículas com diâmetros superiores. Ao passo que ao adicionar o lipídio líquido (Compratol), pôde-se obter tamanhos de partículas menores e menor IPD, tendo uma formulação mais homogênea. Essa diferença do diâmetro devido à adição do lipídio líquido é justificada pelo fato do mesmo ser capaz de reduzir a viscosidade resultando, portanto, em uma menor resistência à quebra das partículas durante o processo de agitação e sonicação (MOURA, 2017).

**Figura 15** – Tamanho médio, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta das partículas e desvio padrão (n=3).



Fonte: dados da pesquisa.

Segundo Conceição (2014), os carreadores lipídicos nanoestruturados devem conter um tamanho de partícula inferior ao comprimento de onda da radiação visível, ou seja, deve apresentar diâmetro abaixo de 400 nm. Caso tal especificação não seja

cumprida, existe a possibilidade de ocorrer durante a aplicação do produto, a formação de uma película branca, reduzindo assim a adesão popular.

Além disso, os filtros solares orgânicos quando incorporados na matriz lipídica, reduzem a penetração da pele, além de dispersar a radiação que atinge a pele, exercendo o efeito sinérgico (TEIXEIRA, 2012). Esses sistemas são responsáveis por formarem um filme oclusivo dificultando a perda de água, melhorando a hidratação da pele. Esse fator de oclusão é devido ao seu tamanho de partícula, onde quanto menor o diâmetro médio, maior o efeito oclusivo. As moléculas do filtro são fixadas nos filmes, permanecendo mais tempo na superfície da pele, sem apresentar permeação, assim como tem-se uma redução da concentração do filtro solar, mantendo o fator de proteção solar (FREITAS, 2015; CONCEIÇÃO, 2014).

O índice de polidispersão (IPD) trata-se de um parâmetro que determina o grau de homogeneidade nos tamanhos das partículas. Estando relacionado com a largura da curva de distribuição de tamanhos, variando entre 0 e 1. Ao se ter populações perfeitamente homogêneas tem-se um IPD igual a 0, sendo que sistemas que apresem  $IPD < 0,2$  são sistemas pouco polidispersos, com uma distribuição de tamanho estreita, sendo, portanto, formulações homogêneas. Além disso, ao se ter uma alta polidispersidade conseqüentemente, tem-se uma baixa estabilidade dos sistemas coloidais, já que as partículas tendem a sofrer aumento do tamanho em relação ao tempo, advindo da dissolução de partículas menores e da deposição do material dissolvido na superfície das maiores, causando um aumento no geral (GALVÃO, 2015; LIMA, 2018).

Desta forma, ao analisar a Figura 15, percebe-se que ao fim do estudo o IPD encontrava-se em  $0,16 \pm 0,003$  e  $0,13 \pm 0,002$  para o CLNB e CLNF, respectivamente. Verificando que não houve variação significativa durante o armazenamento, demonstrando a estabilidade do sistema.

O potencial zeta (PZ) analisa a estabilidade dos sistemas, quando as partículas se encontram em suspensão. Quando os valores são muito elevados, sejam eles positivos ou negativos, as partículas tenderão a se repelir mutuamente, o que não gera o fenômeno de agregação. Em contrapartida, se as partículas apresentarem valores de PZ muito baixos, as forças repulsivas não serão fortes o suficiente para evitar a agregação, havendo uma sobreposição das forças atrativas. Portanto é necessário que o PZ seja  $\geq 30$  mV ou  $\leq -30$  mV, para que então se tenha uma estabilização eletrostática do sistema. Além disso, um potencial zeta negativo demonstra que o tensoativo, através de sua



porção polar carregada negativamente, estabiliza o lipídeo através da adsorção na superfície (MOURA, 2017).

No entanto Lima (2018) e Mitri; Shegokar, Gohla et al. (2011), relataram que partículas com potencial zeta com valores em cerca de 20 mV, são consideradas estáveis por um curto período de tempo. No entanto, quando as partículas são estabilizadas por um fator estérico, como o recobrimento por tensoativos, tais valores de potencial zeta são considerados estáveis a longo prazo. Visto que, a camada provocada pelo tensoativo reduz o contato entre as partículas durante as colisões, evitando a agregação.

Diante do exposto, ao analisarmos a Figura 15, percebe-se que ao longo dos 30 dias de armazenamento, houve uma queda do valor da carga, estabilizando-se em  $-19,2 \pm 0,17$  mV para o CLNB e  $-19,3 \pm 0,42$  mV para CLNF, observando-se que não há diferença significativa do valor de potencial zeta entre os sistemas com e sem o filtro. Resultados semelhantes foram encontrados por Prado (2016), ao desenvolver CLN para incorporação de filtro solar p- metoxicinamato de octila, utilizando como lipídio líquido o triglicérides de ácido cáprico e caprílico e Tween 80, obtendo-se valores próximos à -20 mV. Onde, nos estudos de pré-formulação à medida que se aumentou a concentração do Tween 80, obteve-se menores valores de potencial zeta.

As formulações contendo o filtro solar após o sétimo dia, não apresentaram diferenças significativas nos valores de potencial zeta, se estabilizando, demonstrando que esses sistemas são capazes de manter-se estável durante esses 30 dias. Além disso, percebe-se que tanto para o CLNB quanto para o CLNF os valores de potencial zeta foram praticamente os mesmos, indicando que a carga sofreu influencia apenas dos constituintes do carreador e não do filtro solar.

## 6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Ao fim deste trabalho, pode-se afirmar que todos os objetivos foram alcançados e que os resultados obtidos foram satisfatórios. Já que primeiramente na realização do estudo preliminar houve a possibilidade de se obter uma concentração e razão de lipídio sólido:líquido ideal, sendo respectivamente de 5 % e 20:80, considerando o menor tamanho de partícula observado. Assim como, solucionar os inconvenientes ocasionados durante o estudo de estabilidade, havendo a necessidade de se adicionar o Span®80.

Desta forma, o desenvolvimento dos carreadores lipídicos nanoestruturados utilizando cera de carnaúba como lipídio sólido, o triglicérides do ácido cáprico e caprílico como lipídio líquido e, a incorporação do filtro solar bemotrizinol tornou-se possível. Assim como, a incorporação do bemotrizinol através de um planejamento experimental Box-Behnken do tipo 3<sup>3</sup> permitiu a escolha de apenas um sistema, sendo este o sistema 12, levando em consideração as variáveis independentes como a concentração do filtro solar de 0,4 %, a concentração do tensoativo de 4 % e o tempo de homogeneização de 7 minutos, obtendo-se um tamanho de partícula de 149,90 nm. Fato que contribui positivamente para o desenvolvimento de formulações, com redução de custos e otimização no tempo do processo.

No estudo de estabilidade o sistema foi avaliado por um período de 30 dias, onde não se obteve diferenças significativas no tamanho de partícula durante a análise, tanto para o sistema branco quanto para o sistema contendo o filtro,  $122,4 \pm 0,3$  nm e  $117,2 \pm 0,4$  nm, respectivamente. Já o IPD encontrou-se valor de  $0,16 \pm 0,003$  para o CLNB e  $0,13 \pm 0,002$  para o CLNF, não havendo diferença significativa durante o período de 30 dias, fato que também foi observado nos valores de potencial zeta que estabilizou-se em  $-19,2 \pm 0,17$  mV para o sistema branco e,  $-19,3 \pm 0,42$  mV para o sistema contendo o filtro até o final das análises. Indicando assim, que as formulações apresentaram-se estável e homogênea durante o período de armazenamento, não havendo nenhum indicativo de instabilidade, como coalescência, separação de fases ou agregação das partículas.

Outros estudos de caracterização estão sendo realizados pelo grupo de pesquisa, bem como avaliação da eficácia fotoprotetora dos CLN.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, Y. R. Optimization of thermostable lipase production from a thermophilic *Geobacillus* sp. using Box-Behnken experimental design. **Biotechnology Letters**, vol. 24, p. 1217–1222, 2002.
- AFLEN, A. H.; SOUZA, C. A.; BELMONTE, L. A. O. **Nível de conhecimento dos acadêmicos da área de saúde sobre os danos causados pela exposição solar**. 2018. 17 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Sul de Santa Catarina. Palhoça, 2018.
- ANDRADE, R. S. **Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora de espécies da família *Annonaceae***. 2017. 73 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2017.
- ANGELIERI, N. F. **Obtenção de nanopartículas lipídicas sólidas contendo (-)-Terpinen-4-Ol**. 2013. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2013.
- AHMAD, A.; ALKHARFY, K. M.; WANI, T. A.; RAISH, M. Application of Box-Behnken design for ultrasonic- assisted extraction of polysaccharides from *Paeonia emodi*. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 72, p. 990- 997, 2015.
- ARAUJO, T. S.; LIMA, T. A. R. M.; VALERIO, M. E. G. Estudo Espectroscópico de Fe<sup>3+</sup> em Hidroxiapatita para Aplicações como Filtros Solares. **Scientia Plena**, vol. 3, n. 7, p. 285- 291, 2007.
- ARAUJO, V. H. S. **Desenvolvimento e caracterização de carreador lipídico nanoestruturado contendo curcumina**. 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado em nanociência e nanobiotecnologia) – Universidade de Brasília. Brasília, 2019.
- ASHBY, J.; TINWEEL, H.; PLAUTZ, J.; TWOMEY, K.; LEFEVRE, P. A. Lack of Binding to Isolated Estrogen or Androgen Receptors, and Inactivity in the Immature Rat Uterotrophic Assay, of the Ultraviolet Sunscreen Filters Tinosorb M-Active and Tinosorb S. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, vol. 34, p. 287–291, 2001.
- BA- ABBD, M. M.; CHAI, P. V.; TAKRIFF, M. S.; BENAMOR, A.; MOHAMMAD, A. W. Optimization of nickel oxide nanoparticle synthesis through the sol–gel method using Box–Behnken design. **Materials and Design**, vol. 86, p. 948–956, 2015.
- BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M. Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. **Anais Brasileiro Dermatologia**, vol. 86, n. 4, p. 732-42, 2011.
- BENEVENUTO, C. G.; GUERRA, L. G.; GASPAR, L. R. Combination of retinyl palmitate and UV-filters: Phototoxic risk assessment based on photostability and *in vitro* and *in vivo* phototoxicity assays. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 68, p. 127-136, 2015.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos**. 2004. 52 f. Diário oficial da República federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF.

BRASIL. Resolução RDC nº 47, de 16 de março de 2006. Aprova o **Regulamento Técnico Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes**. Diário oficial da República federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF.

BRASIL. Resolução RDC nº 30, de 1 de junho de 2012. Aprova o **Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências**. 2012. Diário oficial da República federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF.

CALLEGARI, F. C. **Desenvolvimento e avaliação físico- química e microbiológica de cosméticos para a pele humana contendo óleos de Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex. Mart)**. 2015. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

CARDOSO, A. C. A. **Desenvolvimento de nanopartículas lipídicas sólidas contendo óleo de copaíba (*Copaifera spp.*) e avaliação da atividade cicatrizante in vivo**. 2015. 86 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2015.

CARVALHO, D. S. **A química dos protetores solares: Uma proposta de texto de divulgação científica**. 2019. 29 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade de Brasília. Brasília, 2019.

CASTRO, S. R. **Preparo e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados dispersos em hidrogéis termorreversíveis para liberação tópica do anestésico local tretacaína**. 2016. 126 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2016.

COARITI, J. R., FERNANDEZ, J. H., SPYRIDES, M. H. C. et al. Radiação solar ultravioleta e fotodermatoses em La Paz- Bolívia. **Revista Brasileira de Geografia Física**, vol. 10, n. 2, p. 371-380, 2017.

COELHO, S. M. T. C. D. **Rational Design de nanopartículas lipídicas como estratégia de Drug Delivery anti-HIV pediátrica**. 2017. 226 f. Tese (Doutorado em inovação terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2017.

COLA, D. F. **Nanopartículas lipídicas como sistemas carreadores para ivermectina e metopreno visando aplicações em veterinária**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Sorocaba, 2016.

CONCEIÇÃO, R. R. **Avaliação da incorporação de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) contendo hidroxiapatita em formulação creme**. 2014. 36 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2014.

COSTA, S. C. C. **Avaliação da atividade fotoprotetora in vitro de extratos etanólicos de três espécies de *Marcelia* e suas formulações**. 2015. 294 f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana, 2015.

COSTA, R. M. **Novos avanços tecnológicos na fotoproteção**. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa, 2018.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Fundamentos químicos da ação dos radicais no organismo. **Diversitas Journal**, vol 1,n.1, p. 08- 13, 2016.

DAMASIO, V. A. G. **Naproxeno encapsulado em carreadores lipídicos nanoestruturados para administração parenteral: Do preparo aos testes farmacológicos**. 2017. 107 f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2017.

DOKTOROVOVA, S.; SOUTO, E. B.; SILVA, A. M. Nanotoxicology applied to solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers - A systematic review of in vitro data. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 87, n. 1, p. 1–18, 2014.

DRAGICEVIC, N.; MAIBACH, H. I. **Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement Modification of the Stratum Corneum**. [s.l: s.n., 2016.

DAS, S.; NG, W. K.; TAN, R. B. H. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): Development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs?. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 47, p. 139–151, 2012.

FIGUEIREDO, S. A. **Desenvolvimento e validação de ensaios in vitro usando culturas de células imortalizadas e primárias para avaliação da eficácia fotoprotetora de protetores solares empregando como parâmetros de medida as alterações induzidas na pele pelas radiações UVA e UVB**. 2016. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2016.

FOGOLARI, O. **Sistemas nanoestruturados para liberação de progesterona: Nanopartículas poliméricas, microemulsão e nanopartículas lipídicas sólidas**. 2017. 224 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

FREITAS, G. M. **Desenvolvimento, caracterização físico-química, estudo da liberação in vitro e avaliação da fotoestabilidade de nanopartículas contendo dapsona e óleo de arroz bruto**”. 2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pampa. Uruguaiana, 2015.

GALVÃO, J. G. **Desenvolvimento de formulação cosmética contendo carreadores lipídicos nanoestruturados à base de manteiga de *Ouratea* sp.: Uma estratégia nanotecnológica para o alimento da hidratação cutânea**. 2015. 95 f. Dissertação – Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2015.

GANDRA, K. M. **Obtenção e Caracterização de cera de cana-de-açúcar e suas frações**. 2006. 168 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2006.

GARÇÊS, A.L.P. **Sistemas semissólidos à base de nanopartículas lipídicas**. Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa Porto, 2016.

GILBERT, E.; ROSSEL, L.; SERRE, C., et al. Percutaneous absorption of benzophenone-3 loaded lipid nanoparticles and polymeric nanocapsules: A comparative study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 504, n. 1–2, p. 48–58, 2016.

GONZALEZ, H.; FARBROT, A.; LARKO, O.; WENNERBERG, A. M. Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone-3 after repeated whole-body applications, with and without ultraviolet irradiation. **British Journal of Dermatology**, vol. 154, n. 2, p. 337–340, 2006.

JAIN, P.; RAHI, P., PANDEY, V. et al. Nanostructure lipid carriers: A modish contrivance to overcome the ultraviolet effects. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 2, p. 89–100, 2017.

JUNIOR, A. P. D. **Preparação de carreadores lipídicos nanoestruturados a partir de cera de carnaúba e óleo de pracaxi contendo dexametasona para tratamento tópico de inflamações cutâneas**. 2016. 190 f. Tese (Doutorado em nanotecnologia farmacêutica)- Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016.

KIM, S. H.; DEBNATH, D.; GECKELER, K. E. Nanopumpkins and a sunscreen agent: the inclusion complex of cucurbituril and Tinosorb S. **Supramolecular Chemistry**, vol.23, n. 5, p. 337- 341, 2011.

LACERDA, S. P. **Carreador lipídico nanoestruturado à base de cera de carnaúba: Desenvolvimento, caracterização e uso na encapsulação de benzofenona-3**. 2009. 189f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2009.

LARENTES, I. A. **Avaliação preliminar da estabilidade de cremes fotoprotetores de farmácias magistrais**. 2009. 36 f. Dissertação (Grau licenciado) – Faculdade Integrada da Grande Fortaleza. Maringá, 2009.

LIMA, P. A. **Carreadores lipídicos nanoestruturados produzidos a partir de lipídios naturais para o encapsulamento do filtro solar benzofenona-3**. 2018. 132 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2018.

LOPES, M. F; CRUZ, R. O.; BATISTA, K. A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, vol. 6, n. 4, p. 183-199, 2012.

LORCA, B. S. S. **Desenvolvimento de formulação fotoprotetora contendo nanopartículas poliméricas com filtro solar**. 2012. 153 f. Tese (Doutorado em engenharia química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2012.

LUZIN, R. M. **Metodologias para verificação da estabilidade térmica e fotoelétrica de estruturas absorvedoras de radiação UV**. 2011. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011.

LUZIN, R. M. **Síntese e avaliação de novos candidatos a fotoprotetores absorvedores de radiações UVA e UVB, desenhados a partir de compostos análogos a produtos naturais**. 2018. 115 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2018.

MARQUES, E. B. P. **Nanoencapsulação de óleo essencial de cravo em matrizes lipídicas**. 2017. 62 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

MAZUR, K. L. **Encapsulação do dietilditiocarbamato de sódio em nanopartículas lipídicas sólidas via dupla emulsão**. 2017. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

MEDEIROS, T. S. **Carreadores Lipídicos Nanoestruturados como estratégia para incorporação do filtro solar Bemotrizinol**. 2019. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2019.

MEYAGUSKU, V. M. **Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ciprofloxacino**. 2014. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2014.

MIRANDA, J. T. **Influência do enxerto de pele humana irradiada na regeneração tecidual de camundongos Nude**. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) – Autarquia associada à Universidade de São Paulo. 2016.

MITRI, K.; SHEGOKAR, R.; GOHLA, S.; ANSEMI, C.; MÜLLER, R. H. Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: Preparation, characterization, stability and performance. **International Journal of Pharmaceutics**, New York, v. 414, n. 1-2, p. 267-275, 2011.

MONTEIRO, M. S. S. B. **Filtros solares em nanocosméticos: Desenvolvimento e avaliação da segurança e eficácia**. 2008. 164 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

MOURA, C. L. **Nanopartículas lipídicas sólidas magnéticas multifuncionais à base de cera de carnaúba com potencial aplicação terapêutica**. 2017. 112 f. Tese (Doutorado em química) – Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2017.

NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Revista Virtual de Química**, vol.6, n. 2, p. 190-223, 2014.

NEGRETTO, C. M. U. **Transportadores lipídicos nanoestruturados contendo vitamina E: Validação de métodos analíticos e avaliação in vitro da capacidade antioxidante**. 2014. 61 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência) – Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, 2014.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; DE PAULA, V. F.; et al. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Revista Virtual Quim.**, vol. 9, n. 3, p. 1184-1215, 2017.

NUNES, A. R.; VIEIRA, Í. G. P.; QUEIROZ, D. B. Use of Flavonoids and Cinnamates, the main photoprotectors with natural origin. **Advances in Pharmacological Sciences**, 2018.

OLIVEIRA, M. A. M. P. **Desenvolvimento de protetores solares bioativos**. 2018. 76 f. Dissertação – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Lisboa, 2018.

PERES, D. A. **Ácido ferúlico em protetores solares: Desenvolvimento e eficácia multifuncional in vitro, ex vivo e in vivo**. 2015. 109 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

PRADO, A. H. **Carreadores lipídicos nanoestruturados como potencial estratégia para incorporação do p-metoxicinamato de octila: desenvolvimento, caracterização físico-química e ensaios biológicos in vitro**. 2016. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Araraquara, 2016.

PUGLIA, C.; DAMIANI, E.; OFFERTA, A., et al. Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV-filters: Characterization, in vitro penetration and photostability studies. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 1, p. 211–217, 2014.

RAGONESE, R.; MACKA, M.; HUGHES, J.; PETOCZ, P. The use of the Box–Behnken experimental design in the optimisation and robustness testing of a capillary electrophoresis method for the analysis of ethambutol hydrochloride in a pharmaceutical formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol, 27, n. 6, p. 995- 1007, 2002.

REIS, J. S. **Planejamento, síntese e avaliação in vitro de derivados triazínicos úteis como filtros solares**. 2018. 56 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2018.

ROMERO, V.; GUERRA, L. O.; AIELLO, L.; LEONARDI, G. R. Reações adversas ocasionadas por uso de protetores solares. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, vol. 9, n.1, p. 41-45, 2017.

ROSSAN, M. R. **Preparação e caracterização de micro e nanopartículas lipídicas sólidas para aplicação em cosméticos**. 2011. 215 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011.

ROY, C.; CHAKRABARTY, J. Development and Validation of a Stability Indicating RP-HPLC Method for the Determination of Two Sun Protection Factors (Koptrizon and Tinosorb S) in Topical Pharmaceutical Formulations Using Experimental Designs. **International Scholarly Research Notices Chromatography**, vol. 2013, p.12. 2013.

SALOMÃO, B. R. **Preparação de nanopartículas de Poli (Metacrilato de metila) carregadas com filtros solares por processo mediado por membrana de vidro (SPG)**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2016.

SANTOS, V. S. **Development of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers with phytosterols for food applications**. 2018. 263 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2018.

SANTOS, R. L. **Avaliação da influência da composição dos carreadores lipídicos nanoestruturados sobre o tamanho de partícula e eficiência de encapsulação para a liberação controlada de carvacrol**. 2017. 67 f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso)- Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2017.

SILVA, V. V. **Emprego do extrato da raiz de Pothomorphe umbellata na prevenção das alterações precoces da fotocarcinogênese induzidas pela radiação ultravioleta B na pele de camundongos sem pêlo**. 2007. 138 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2007.



SILVA, R. R.; MACHADO, P. F. L.; ROCHA, R. J.; SILVA, S C. F. A Luz e os Filtros Solares: Uma Temática Sociocientífica. **Revista Virtual de Química**, vol. 7, n. 1, 218-241, 2015.

SILVA, J. M.; TEIXEIRA, C. S.; CORREIA, M. Artigo de revisão: Vitamina D e melanoma. **Revista Sociedade Portuguesa de Dermatologia e Venereologia**, vol. 75, n. 1, p. 37- 41, 2017.

SOUSA, M. **Preparação de nanopartículas lipídicas sólidas NLS para liberação modificada/ prolongada de fármacos antirretrovirais (Nevirapina, saquinavir e efavirenz)**. 2013. 152 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.

SOUSA, A. F. A. **Regulamentação da nanotecnologia aplicada aos protetores solares: segurança do consumidor**. 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade De Lisboa. Lisboa, 2015.

SOUZA, A. B.; MALUF, D. F. O uso do L2- oxothiazoline- 4- ácido carboxílico (OTZ 10) em formulações fotoprotetoras. **Biociências, Biotecnologia e Saúde**, n. 10, 2014.

TAMJIDI, F.; SHAHEDI, M.; VARSHOSAZ, J. et al., A. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, vol. 19, p. 29–43, 2013.

TEIXEIRA, S. M. M. C. G. **Veiculação de filtros solares utilizados na fotoproteção**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2012.

TEIXEIRA, J.; FEIO, M.; FIGUEIRA, M. L. O papel do Stress oxidativo no envelhecimento e na demência. **PsiLogosp**, vol.12, n.1, p 43-57, 2014.

VINHAL, D. C. **Planejamento, síntese, caracterização e avaliação de um novo composto candidato a protótipo de fotoprotetor**. 2012. 133 f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2012.

VINHAL, D. C. **Planejamento, síntese, caracterização e avaliação toxicológica de um novo composto candidato a protótipo de fotoprotetor orgânico – LQFM184**. 2016. 143 f. Tese (Doutorado em Inovação Farmacêutica) – Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2016.

VOZZA, G.; DANISHA, M.; BYRNEB, et al. Application of Box-Behnken experimental design for the formulation and optimisation of selenomethionine-loaded chitosan nanoparticles coated with zein for oral delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 551, p. 257–269, 2018.