



DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA CONTENDO
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COM FILTRO SOLAR

Bárbara da Silva e Souza Lorca

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador(es): José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Elisabete Pereira dos Santos

Rio de Janeiro

Setembro de 2012

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA CONTENDO
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COM FILTRO SOLAR

Bárbara da Silva e Souza Lorca

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM
CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

Prof. José Carlos Costa da Silva Pinto, D.Sc.

Prof. Márcio Nele de Souza, D.Sc.

Prof^a Elisabete Pereira dos Santos, D.Sc.

Prof^a Maria Valéria Robles Velasco, D.Sc.

Prof^a Helen Conceição Ferraz, D.Sc.

Prof^a Zaida Maria Faria de Freitas , D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

SETEMBRO DE 2012

Lorca, Bárbara da Silva e Souza

Desenvolvimento de Formulação Fotoprotetora Contendo Nanopartículas Poliméricas Com Filtro Solar/ Bárbara da Silva e Souza Lorca. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2012.

XVII, 153 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: José Carlos Costa da Silva Pinto

Marcio Nele de Souza

Elisabete Pereira dos Santos

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2012.

Referências Bibliográficas: p. 135-153.

1. Biopolímeros. 2. Fotoproteção. 3. Mini-emulsão. I. Pinto, José Carlos Costa da Silva *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

**Aos meus amores, Pedro e Carlos Eduardo.
Aos meus exemplos de vida, Célia Regina e Heitor.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre no controle das decisões e atitudes a serem tomadas.

Ao meu filho, Pedro, por me fazer uma pessoa mais feliz, totalmente realizada e dona de um amor eterno.

À minha mãe, Célia Regina, pelo amor incondicional, que atualmente entendo melhor. Cheguei até aqui seguindo seu exemplo, obrigada!

Ao meu pai, Heitor, pelas experiências de vida e pelo orgulho que sente de mim.

Ao meu marido e amigo, Carlos Eduardo, por ser exemplo de perseverança e por me presentear com o meu maior sonho, Pedro.

Aos meus “nicos”, Heliodoro e Therezinha, pois de onde estão, abençoam e torcem pela minha vitória.

À amiga e orientadora, Elisabete, que caminhou ao meu lado em mais esta conquista, sem nunca me deixar desanimar.

Aos orientadores, Marcio e José Carlos, por permitirem que eu conhecesse o “mundo polimérico” e acreditem no meu potencial.

À minha família de Niterói, Bianca, Cléber, Joana e Luana, que ajudam e incentivam, mesmo que silenciosamente.

À minha família de Resende, Carlos Alberto, Maria Dolores, Cristina e Gabriel, pela torcida e apoio, apesar da distância.

À minha irmã, por escolha e por merecimento, Laís, pela amizade de sempre, pelos conselhos e “socorros”. Só uma irmã faria tudo isso!

À Gláucia, por ser exemplo de vida, além de conforto e desabafo nas horas de desespero.

À Marina, por me ensinar a ser uma pessoa melhor a cada dia, pelos inúmeros auxílios na elaboração desta tese e pela amizade verdadeira.

À Luiza, pessoa especial e fundamental em todos os dias, de árduo trabalho ou de leve descontração, no LMSCP.

À Tailane, pelas grandes ajudas e pelos momentos divertidos no LMSCP.

À Aline, por me mostrar que tudo sempre é possível.

À Tatiana, Evelin e Ingrid, que auxiliaram, de forma fundamental, na execução desta tese.

Ao Ricardo e Soninha, pelos conselhos sensatos e pelas ajudas nos momentos difíceis.

À Zaida, por ser fundamental nos ensaios de liberação e me proporcionar momentos únicos e muito divertidos.

À Fernanda, que tão bem me recebeu e se tornou uma amiga verdadeira nos momentos de estresse e saudades que passei na UFSC.

À Cláudia Sayer e Pedro Araújo que muito me ensinaram e contribuíram para valer a pena a “longa” estadia de 20 dias em SC.

À Mariana Paixão, pela grande ajuda nas análises de microscopia eletrônica de varredura.

À equipe do CEF (Fiocruz), pelo apoio nas análises por CLAE.

À Spectrum, pela doação dos filtros solares.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D. Sc.)

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO FOTOPROTETORA CONTENDO
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS COM FILTRO SOLAR

Bárbara da Silva e Souza Lorca

Setembro/2012

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Elisabete Pereira dos Santos

Programa: Engenharia Química

Os efeitos danosos causados pela radiação ultravioleta são cumulativos e irreversíveis, levando-se à utilização de formulações fotoprotetoras, de forma freqüente. Objetivando aumentar a eficiência, a segurança e a qualidade destas preparações, foram desenvolvidas formulações cosméticas, com proteção UVA/UVB, contendo nanopartículas de filtros solares (BZ3, AVO e MBC). A técnica utilizada para a obtenção das nanopartículas é caracterizada fundamentalmente pelo encapsulamento *in-situ* dos três diferentes filtros solares, baseado na técnica de polimerização em miniemulsão. Sendo assim, mostrou-se, de forma original, que é possível desenvolver nanopartículas com filtros solares inclusos, apresentando dimensões superiores a 100 nm, e que os ativos incorporados não interagem com o sistema reacional, apresentando-se diluídos na matriz polimérica formada. Também se observou que as preparações contendo nanopartículas podem apresentar valores maiores de FPS, podem ser rotuladas como de amplo espectro, de acordo com o FP-UVA e os ativos encapsulados são menos liberados da preparação, quando comparados às formulações com filtros solares na forma livre.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D. Sc.)

DEVELOPMENT OF A PHOTOPROTECTIVE FORMULATION CONTAINING
POLYMERIC NANOPARTICLES WITH SUNSCREEN

Bárbara da Silva e Souza Lorca

September/2012

Advisors: José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Elisabete Pereira dos Santos

Program: Chemical Engineering

The harmful effects of ultraviolet radiation are cumulative and irreversible, requiring frequent utilization of photoprotective formulation. In order to enhance the efficiency, safety, and quality of these preparations, cosmetic formulation was developed with UVA/UVB protection, containing sunscreen nanoparticles (BZ3, AVO, and MBC). The technique used for obtaining nanoparticles is essentially characterized by in situ encapsulation of the three different sunscreens, based on miniemulsion polymerization. Therefore, it was originally verified that it is possible to develop nanoparticles with sunscreen included, with sizes exceeding 100 nm, and that the active embodied do not interact with the reaction system, being diluted in the polymeric matrix formed. It was also noticed that the preparations containing nanoparticles may present higher SPF values, may be labeled as wide spectrum according to UVA-PF, with less encapsulated actives released from the preparation, when compared to free sunscreen formulations.

Índice

Capítulo 1 - Introdução	1
Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica	5
2.1 - Radiação Solar	5
2.1.1 Radiação Ultravioleta	6
2.1.1.1 Efeitos da Radiação Ultravioleta	7
2.1.1.2 Sistemas Naturais de Proteção à Radiação Ultravioleta	8
2.2 Filtros Solares	10
2.2.1 Classificação dos Filtros Solares	12
2.3 Eficácia dos Filtros Solares	14
2.3.1 Fator de Proteção Solar (FPS)	15
2.4 Benzofenona-3	18
2.5 Metilbenzilideno Cânfora	19
2.6 Avobenzona	20
2.7 Sistemas de Inclusão de Filtros Solares	22
2.8 Nanopartículas Poliméricas de Filtros Solares	24
2.9 Polimerização em Miniemulsão	28
Capítulo 3 - Objetivos	33
3.1 Objetivo Geral	33
3.2 Objetivos Específicos	33
3.3 Justificativa da Tese	34
Capítulo 4 - Materiais e Métodos	36

4.1 Equipamentos e Acessórios	36
4.2 Reagentes	39
4.3 Filtros Solares	40
4.4 Preparo das Nanopartículas de Óleo de Andiroba	41
4.5 Caracterização das Nanopartículas de Óleo de Andiroba	43
4.5.1 Análise Gravimétrica	43
4.5.2 Diâmetro Médio das Partículas (Dp)	44
4.5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão	45
4.6 Caracterização dos Filtros Solares	45
4.6.1 Teste de Estabilidade Térmica	46
4.6.2 Análise do Espectro de Absorção na Região Ultravioleta	46
4.7 Preparo das Nanopartículas Poliméricas Carregadas com Filtro Solar	46
4.8 Caracterização das Nanopartículas de PMMA com Filtro Solar	50
4.8.1 Análise Gravimétrica	50
4.8.2 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)	50
4.8.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	51
4.8.4 Taxa de Encapsulação dos Filtros Solares (Doseamento)	52
4.8.5 Cromatografia Gasosa (CG)	52
4.8.6 Análise Morfológica	53
4.8.7 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	54
4.8.8 Diâmetro Médio de Partículas	54
4.9 Preparo da Formulação Fotoprotetora	55
4.10 Avaliação dos Caracteres Organolépticos	57

4.11 Determinação do pH das Formulações Fotoprotetoras	57
4.12 Análise do Teor dos Filtros Solares nas Formulações Fotoprotetoras	58
4.13 Avaliação da Segurança das Formulações Fotoprotetoras	60
4.14 Testes de Irritação Dérmica das Formulações Fotoprotetoras	63
4.15 Avaliação da Eficácia das Formulações Fotoprotetoras	64
4.15.1 Determinação do FPS <i>in vitro</i>	65
4.15.2 Determinação do FPS <i>in vivo</i> a seco	66
4.15.3 Determinação do FP-UVA <i>in vitro</i>	68
Capítulo 5 - Resultados e Discussão	70
5.1 Estudo de Encapsulamento do Óleo de Andiroba	70
5.1.1 Efeito da Concentração de Iniciador	71
5.1.2 Efeito da Concentração de Agente Reticulate	76
5.1.3 Efeito da Relação Óleo/Monômero	79
5.1.3.1 Reações com 5% de EGDMA em relação ao MMA a 70 °C	79
5.1.3.2 Reações sem EGDMA a 55 °C	82
5.1.4 Efeito da Temperatura de Reação	84
5.1.5 Conclusões Parciais – Nanopartículas de Óleo de Andiroba	90
5.2 Caracterização dos Filtros Solares	91
5.2.1 Teste de Estabilidade Térmica	91
5.2.2 Análise do Espectro de Absorção na Região do Ultravioleta	94
5.3 Obtenção das Nanopartículas de PMMA Carregadas com Filtro Solar	96
5.4 Caracterização das Nanopartículas de PMMA Carregadas com Filtro Solar ...	98
5.4.1 Distribuição do Tamanho de Partícula (DTP)	98

5.4.2	Análise Gravimétrica (Conversão)	103
5.4.3	Efeito do Encapsulamento dos Filtros Solares	105
5.4.4	Monômero Residual	106
5.4.5	Interação Fármaco-Polímero (DSC)	107
5.4.6	Análise Morfológica	108
5.4.7	Cromatografia de Permeação Em Gel (GPC)	111
5.4.8	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier	114
5.4.9	Conclusões Parciais – Nanopartículas de PMMA Carregadas com Filtro Solar	119
5.5	Preparo e Avaliação dos Caracteres Organolépticos das Formulações Fotoprotetoras	120
5.6	Determinação do pH	121
5.7	Quantificação dos Filtros Solares	122
5.8	Avaliação do Perfil de Liberação <i>in vitro</i> das Formulações Fotoprotetoras	125
5.9	Testes de Irritação Dérmica das Formulações Fotoprotetoras	126
5.10	Avaliação da Eficácia	128
5.11	Comentários Finais	131
	Capítulo 6 – Conclusões e Sugestões	132
6.1	Conclusões	132
6.2	Sugestões	133
	Referências Bibliográficas	135

Lista de Tabelas e Quadros

Tabela 4.1: Composição dos experimentos das nanopartículas de óleo de andiroba.....	42
Tabela 4.2: Receita da Polimerização em Miniemulsão com Filtros Solares	47
Tabela 4.3: Fórmula Farmacêutica do Creme Base.....	55
Tabela 4.4: Composição de Filtros Solares nas Formulações Fotoprotetoras	56
Tabela 4.5: Condições Cromatográficas	59
Tabela 4.6: Avaliação do fototipo da pele através do histórico	67
Tabela 4.7: Comparação entre tamanho das gotas e nanopartículas dos experimentos da Tabela 4.1	71
Tabela 5.2: Efeito da Temperatura Reacional nas Massas Molares	88
Tabela 5.3: Reações de Obtenção das Nanopartículas Poliméricas Carregadas com Filtros Solares	97
Tabela 5.4: Distribuição de Tamanho nas Nanopartículas Obtidas nas Diferentes Reações	100
Tabela 5.5: Valores de Conversão das Diferentes Reações de Polimerização	104
Tabela 5.6: Eficiência de Encapsulamento dos Filtros Solares nas Nanopartículas Poliméricas.....	105
Tabela 5.7: Concentração de Monômero Residual nas Nanopartículas Poliméricas	106
Tabela 5.8: Resultados de GPC de Diferentes Reações de Polimerização.....	113
Tabela 5.9: Valores de pH das Formulações Fotoprotetoras.....	121
Tabela 5.10: Proporções de Filtros Solar nas Formulações Fotoprotetoras	122

Tabela 5.11: Concentração de Filtro Solar na Solução Receptora nos Ensaios de Liberação	127
Tabela 5.12: Resultados dos Testes de Irritação Dérmica das Formulações Fotoprotetoras	128
Tabela 5.13: Valores de FPS <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> das Formulações Fotoprotetoras	129
Tabela 5.14: Resultados relacionados à proteção anti-UVA	130

Lista de Figuras

Figura 2.1: Estrutura esquemática da pele	9
Figura 2.2: Função barreira do EC	9
Figura 2.3: Fórmula estrutural da BZ-3	18
Figura 2.4: Fórmula Estrutural do MBC	19
Figura 2.5: Fórmula Estrutural da AVO	21
Figura 2.6: Possível ação das nanopartículas com filtro solar	26
Figura 2.7: Apresentação do equilíbrio dinâmico de uma miniemulsão.....	29
Figura 2.8: Etapas fundamentais da polimerização em miniemulsão	30
Figura 4.1: Homogeneizador de alta pressão	48
Figura 4.2: Unidade experimental	49
Figura 4.3: Ensaio de liberação <i>in vitro</i>	62
Figura 4.4: Aplicação das amostras – teste de irritação dérmica	64
Figura 5.1: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp com diferentes concentrações de iniciador	72
Figura 5.2: Gráfico das evoluções dinâmicas das conversões com diferentes concentrações de iniciador	73
Figura 5.3: Efeito da concentração de AIBN na morfologia das partículas. (sem EGDMA, óleo de andiroba/MMA = 50/50, T=70 °C)	75
Figura 5.4: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp com diferentes concentrações de agente reticulante	76
Figura 5.5: Gráfico das evoluções dinâmicas das conversões em diferentes concentrações de agente reticulante	77

Figura 5.6: Efeito da concentração de EGDMA na morfologia das partículas (AIBN = 0,07g (I _o), óleo de andiroba/MMA = 50/50, T=70 °C)	78
Figura 5.7: Gráfico das evoluções dinâmicas de D _p com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila	80
Figura 5.8: Efeito da relação óleo de andiroba/MMA na morfologia das partículas	81
Figura 5.9: Gráfico das evoluções dinâmicas de D _p com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila, T=55°C	82
Figura 5.10: Gráfico das evoluções dinâmicas das conversões com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila, T=55°C	83
Figura 5.11: Efeito da relação óleo de andiroba/MMA na morfologia das partículas (AIBN = 0,07 g (I _o), 0% EGDMA, T = 55 °C)	85
Figura 5.12: Gráfico das evoluções dinâmicas de D _p em diferentes temperaturas	86
Figura 5.13: Gráfico das evoluções dinâmicas das conversões em diferentes temperaturas (70°C e 55°C)	86
Figura 5.14: Efeito da temperatura reacional na morfologia das partículas.....	87
Figura 5.15: Cromatograma de GPC do experimento 1	88
Figura 5.16: Cromatograma de GPC do experimento 2	89
Figura 5.17: Cromatograma de GPC do experimento 3	89
Figura 5.18: Cromatograma de GPC do experimento 9	89
Figura 5.19: Cromatograma de GPC do experimento 10	90
Figura 5.20: Cromatograma de GPC do experimento 11	90
Figura 5.21: Termograma de TGA da avobenzona	92
Figura 5.22: Termograma de TGA da benzofenona-3	93

Figura 5.23: Termograma de TGA da metilbenzilideno cânfora	93
Figura 5.24: Espectro de absorção da benzofenona-3 na região do UV	94
Figura 5.25: Espectro de absorção da avobenzona na região do UV	95
Figura 5.26: Espectro de absorção da metilbenzilideno cânfora na região do UV	95
Figura 5.27: Espectro de absorção do PMMA na região do UV	96
Figura 5.28: Comparação visual entre (A) PMMA + BZ-3 e (B) PMMA puro após 90 dias	98
Figura 5.29: Distribuição final de diâmetro de partículas reação 7	99
Figura 5.30: Diâmetro de partículas X PMMA em diferentes reações	101
Figura 5.31: Distribuição final de diâmetro de partículas – reação 19	102
Figura 5.32: Gráfico das evoluções de conversão em diferentes reações	104
Figura 5.33: Resultado do DSC – reação 8	109
Figura 5.34: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com avobenzona.....	109
Figura 5.35: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com metilbenzilideno cânfora	110
Figura 5.36: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com benzofenona-3	110
Figura 5.37: Distribuições de massas molares – reações 19, 20 e 21	112
Figura 5.38: Cromatograma de GPC do produto da reação 19	113
Figura 5.39: Cromatograma de GPC do produto da reação 20	114
Figura 5.40: Cromatograma de GPC do produto da reação 21	114
Figura 5.41: FTIR do PMMA puro	116

Figura 5.42: FTIR da benzofenona-3 pura	116
Figura 5.43: FTIR da avobenzona pura	117
Figura 5.44: FTIR da metilenzilideno cânfora pura	117
Figura 5.45: FTIR do produto resultante da reação 19	118
Figura 5.46: FTIR do produto resultante da reação 20	118
Figura 5.47: FTIR do produto resultante da reação 21	119
Figura 5.48: Cromatogramas dos filtros solares puros	123
Figura 5.49: Cromatograma das formulações contendo nanopartículas de PMMA com filtros solares (A = BZ3 e B = MBC)	124
Figura 5.50: Cromatograma das formulações contendo nanopartículas de PMMA com filtros solares (A = BZ3 e B = AVO)	124
Figura 5.51: Ensaio de liberação das formulações 1 e 2	126
Figura 5.52: Ensaio de liberação das formulações 3 e 4	127

Nomenclatura

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AIBN	2,2'-azobis-isobutironitrila
AVO	Avobenzona
BZ-3	Benzofenona-3
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLAE- DAD	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência com Detector de Arranjos de Fotodiodos
DME	Dose Mínima de Eritema
Dp	Diâmetro Médio das Partículas
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
DTP	Distribuição do Tamanho de Partícula
EC	Etrato Córneo
EGDMA	Dimetacrilato de Etilenoglicol
FDA	Food and Drug Administration
FPS	Fator de Proteção Solar
FP-UVA	Fator de Proteção UVA
FS	Filtro(s) Solar(es)
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
LCME	Laboratório Central de Microscopia Eletrônica
LSS	Lauril Sulfato de Sódio

MBC	Metilbenzilideno Cânfora
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMA	Metacrilato de Metila
NP	Nanopartículas
NSL	Nanopartículas Sólidas-Lipídicas
PABA	Ácido p-aminobenzóico
PDI	Índice de Polidispersão
PI	Padrão Interno
PMMA	Poli (metacrilato de metila)
PPM	Parte por milhão
RBCP	Rede Brasileira de Colóides Poliméricos
RIV	Radiação Infravermelha
SEC	Cromatografia por Exclusão de Tamanho
TGA	Termogravimetria
THF	Tetrahidrofurano
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNEP	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
UV	Radiação Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
VIS	Luz Visível

CAPÍTULO 1

Introdução

Os efeitos danosos causados pela radiação ultravioleta emitida pelo Sol são cumulativos e irreversíveis, levando à necessidade de utilização de preparações para uso tópico, contendo filtros solares, também conhecidas como fotoprotetores (MONTEIRO *et al.*, 2012). Como a utilização destes produtos tem se tornado frequente, sua eficiência e segurança são de fundamental importância (SOUZA *et al.*, 2004,).

A necessidade do uso de protetores solares é uma realidade indiscutível. Por este motivo, os números do mercado mostram sempre um crescimento significativo deste segmento, e também sugerem enorme crescimento nos próximos anos (FLOR *et al.*, 2007; MACHADO *et al.*, 2011). Assim, para tornar os filtros solares cada vez melhores e mais aceitos pela população (mais resistentes à água, por exemplo), os fabricantes aumentam sua lipofilicidade. Isso pode ocasionar absorção e presença dos filtros nas camadas mais internas da pele, o que não é desejável por poder acarretar em eventos adversos, tais como reação alérgica grave (PAESE, 2008). Um filtro solar deve cobrir e proteger a pele, desenvolvendo suas atividades nas camadas superiores do tecido cutâneo, evitando, tanto quanto possível, uma absorção sistêmica (PETRAZZUOLI, 2000; SANTOS, 2007; MONTEIRO, 2008).

Diferentes sistemas de liberação têm sido empregados para a inclusão de filtros solares, visando a diminuir a absorção cutânea, aumentar o fator de proteção solar (FPS), controlar a liberação e torná-los mais fotoestáveis e seguros (GARCIA, 1998; PERUGINI, 2002; MILESI e GUTERRES, 2002; YENER *et al.*, 2003; JIMÉNEZ *et al.*, 2004; JAIN & JAIN, 2010; MONTEIRO *et al.*, 2012). Dentre estes, as nanopartículas têm atraído maior

atenção dos grupos de pesquisa, devido às potencialidades terapêuticas e à maior estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; OLIVEIRA e LIMA, 2006). Porém, há a necessidade de controlar o tamanho das partículas produzidas, para que não haja penetração dos ativos, levando à absorção sistêmica. A atuação desses sistemas deve ocorrer preferencialmente nas camadas mais superficiais da pele, uma vez que existe toxicidade relacionada aos ativos antissolares, como a possibilidade de evadirem os mecanismos de defesa imunológicos, de formarem complexos com proteínas e, o mais importante, a possibilidade de induzirem a formação de radicais livres (NEWMAN, 2009; NOHYNEK, 2010; SZIKSZAI, 2010).

As nanopartículas podem ser divididas em nanocápsulas e nanoesferas, sendo que estas últimas são estruturas tipo matriciais nas quais os compostos ativos podem estar adsorvidos na superfície, aprisionados ou dissolvidos na matriz. Já as nanocápsulas, por sua vez, têm uma capa polimérica e um núcleo interno; normalmente, as substâncias ativas ficam dissolvidas no núcleo, mas também podem estar adsorvidas na superfície (CHÁVEZ *et al.*, 2002). Porém, é importante ressaltar que “o desenvolvimento de nanoformulações é um dos trabalhos de formulação mais complexos” (KESISOGLOU *et al.*, 2007).

Inchamento osmótico, encapsulamento de um não solvente, emulsão de água-em-óleo-em-água, inchamento com um solvente, polimerização em miniemulsão e incorporação de um agente expensor são exemplos de técnicas que podem ser empregadas para a produção de nanopartículas (ROMIO *et al.*, 2007). Entretanto, quando comparado a outros métodos, o procedimento de produção de nanopartículas via polimerização em miniemulsão permite, a partir de uma fase heterogênea, obter uma fase mais homogênea e estável, formada por gotículas de monômero. As gotas de monômero originais constituem o *locus* primário da polimerização e cada gota se comporta como um “nanorreator”

(ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002). Como discutido por Tiarks e colaboradores (2001), a síntese de nanopartículas via polimerização em miniemulsão permite a obtenção do produto final em apenas uma única etapa de reação, o que é uma grande vantagem.

A eficácia das formulações contendo nanopartículas poliméricas, obtidas a partir do metacrilato de metila, carregadas com os filtros solares (benzofenona-3, avobenzona e metilbenzilideno cânfora) foi avaliada através da determinação do FPS *in vivo* (BRASIL, 2006) e *in vitro* (MANSUR *et al.*, 1986). O FPS *in vivo* é a medida de absorção de um fotoprotetor frente à radiação UVB e pode ser calculado como a razão entre o tempo de exposição à radiação ultravioleta (UV) necessária para produzir dose mínima de eritema (DME) na pele protegida e o tempo necessário para o aparecimento do mesmo eritema na pele desprotegida.

A segurança das formulações pode ser avaliada por técnicas *in vitro*, empregando pele natural (humana ou animal). No Brasil, a pele de orelha de porco é um modelo de membrana muito utilizado, devido à relativa facilidade de obtenção e ao fato de que a pele de orelha de porco é similar ao tecido humano, no que diz respeito à densidade de folículos pilosos (BABY *et al.*, 2008).

Nesse contexto, o principal objetivo desta tese é propor um processo para produção de nanopartículas poliméricas carregadas com filtros solares, para uso eventual em formulações cosméticas. A apresentação do texto está dividida em oito capítulos, contando com esta Introdução. No Capítulo 2 apresenta-se uma revisão da literatura, abordando a radiação ultravioleta, seus efeitos e sistemas de proteção. São discutidos os sistemas usados para inclusão de filtros solares em material particulado, dando maior ênfase às nanopartículas poliméricas obtidas por polimerização em miniemulsão. No Capítulo 3 estão apresentados o objetivo geral e os objetivos específicos perseguidos, assim como a

relevância do estudo proposto. No Capítulo 4 são apresentados os materiais e as metodologias empregados no desenvolvimento da pesquisa. No Capítulo 5 são descritos e discutidos os resultados. Finalmente, no Capítulo 6 descrevem-se as conclusões e as sugestões para a condução de trabalhos futuros. Posteriormente, são apresentadas as referências bibliográficas citadas ao longo do texto.

Esta tese foi desenvolvida no Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos (LMSCP) do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ e no Laboratório de Desenvolvimento Galênico da Faculdade de Farmácia/UFRJ. O trabalho está inserido na linha de produção de materiais poliméricos para aplicações biomédicas, na área de Engenharia de Polímeros.

CAPÍTULO 2

Revisão Bibliográfica

A natureza das radiações solares, principalmente a radiação ultravioleta, as características dos sistemas fotoprotetores disponíveis, as técnicas relacionadas à obtenção das nanopartículas poliméricas carregadas com filtro solar, assim como os principais ensaios que envolvem a garantia da qualidade, da segurança e da eficácia de um sistema fotoprotetor serão abordados neste Capítulo.

2.1 Radiação Solar

O Sol é a principal fonte de energia de todo o sistema solar. Tal energia é emitida sob a forma de radiações corpusculares (prótons, elétrons e partículas) e eletromagnéticas de diferentes comprimentos de onda, com frequências e níveis de energia associados (FREITAS, 1997; NEVES, 2008; NASCIMENTO, 2011).

A radiação solar incidente que alcança a superfície terrestre se encontra na faixa de comprimentos de onda entre 290 e 3000 nanômetros. Entre as diversas radiações emitidas pelo sol, as radiações não ionizantes merecem destaque por serem formadas pela radiação ultravioleta (UV), pela luz visível (VIS) e pela radiação infravermelha (RIV) (FREITAS, 1997; NEVES, 2008a; NASCIMENTO, 2011).

2.1.1 Radiação Ultravioleta

A radiação UV é uma radiação eletromagnética na faixa característica de comprimento de onda de 200 a 400 nm. A faixa de UV pode ser dividida em três diferentes grupos, de acordo com os comprimentos de onda (λ).

- Ultravioleta A (UVA): comprimento de onda de 320 nm a 400 nm.

Esta faixa de radiação é responsável pelo bronzeamento direto; porém, ao longo dos anos, provoca alterações crônicas das fibras colágenas e elásticas, podendo acarretar no envelhecimento precoce, imunossupressão e carcinogênese (HAYWOOD, 2006).

- Ultravioleta B (UVB): comprimento de onda de 280 nm a 320 nm.

Esta faixa de radiação é causadora de eritema, aumenta a formação de melanina (levando ao bronzeamento da pele), causa inflamação cutânea e possui capacidade carcinogênica (KULLAVANIJAYA e LIM, 2005).

- Ultravioleta C (UVC): comprimento de onda de 200 nm a 280 nm.

Esta faixa de radiação apresenta função germicida e é prejudicial ao tecido cutâneo, embora seja bloqueada pela camada de ozônio, que filtra a radiação UV abaixo de 290 nm (KIRCHOFF, 1995; SHAATH, 2007). Entretanto, a depleção da camada de ozônio tem exercido impacto direto sobre o aumento da exposição da radiação UV na superfície terrestre. Dados estimam que 1% da diminuição da camada de ozônio ocasione um aumento de 1 a 2% dos casos de melanomas malignos (MONTEIRO, 2008).

A radiação ultravioleta solar é reconhecidamente um carcinógeno humano completo, existindo forte associação entre o desenvolvimento de melanoma e a frequência de episódios de queimadura grave induzida pela radiação ultravioleta (SOUZA *et al.*, 2004). Por conta disso, é de fundamental importância avaliar os efeitos benéficos e maléficos causados pela exposição à radiação ultravioleta.

2.1.1.1 Efeitos da Radiação Ultravioleta

A exposição moderada ao sol pode trazer benefícios, como sensação de bem estar físico e mental, estímulo da circulação sanguínea periférica, elevação na capacidade de formação da hemoglobina, prevenção e cura do raquitismo, melhora de certas infecções cutâneas e bronzeamento direto, estimulado pela produção de melanina. Porém, a radiação solar pode causar prejuízos ao organismo, incluindo desde a produção de simples inflamações até graves queimaduras. Também há a possibilidade de ocorrerem mutações genéticas e comportamentos anormais das células, induzidos pela exposição à luz solar (FLOR *et al.*, 2007, BALOGH *et al.*, 2011).

A exposição à radiação solar resulta em inúmeras alterações crônicas na pele, incluindo vários tipos de câncer de pele. O Programa das Nações Unidas para o meio ambiente (UNEP) estima que ocorram anualmente mais de 200 mil casos de melanomas malignos no mundo, tipo mais agressivo de carcinoma de pele. A ocorrência mundial de melanomas malignos está fortemente relacionada à exposição ao sol durante o lazer e ao histórico de queimaduras solares. Existem ainda algumas evidências de que o risco de desenvolvimento desta patologia está relacionado também à exposição intermitente aos raios UV, especialmente durante a infância (SANTOS, 2007). É nessa faixa etária que a proteção deve ser aumentada, pois a exposição cumulativa e excessiva durante os primeiros 10 a 20 anos de vida aumenta muito o risco de câncer de pele, sendo a infância a fase mais vulnerável (ROCA *et al.*, 2011).

Outro efeito causado pelas radiações ultravioleta é a imunossupressão, muitas vezes atribuída à radiação UVB. Porém, estudos recentes indicam que a radiação UVA é muito mais imunossupressora que a UVB, causando, por exemplo, danos ao DNA

(KULLAVANIJAYA e LIM, 2005), além de atingirem de 10 a 100 vezes mais a superfície da Terra do que a radiação ultravioleta B (SASSON, 2006).

2.1.1.2 Sistemas Naturais de Proteção à Radiação Ultravioleta

A radiação solar é atenuada ao atravessar as camadas atmosféricas, que não permite que uma parte substancial da luz do sol atinja a superfície terrestre. Este fenômeno deve-se à absorção, dispersão e reflexão da luz na estratosfera (camada mais externa) e troposfera, onde se formam as nuvens e as principais manifestações climáticas. O maior agente fotoprotetor formado na estratosfera é o ozônio (O₃), que filtra as radiações solares de comprimento de onda inferior a 285 nm. Entretanto, a proteção não é totalmente eficaz, pois a radiação UVA e parte da UVB não são bloqueadas por este composto. Além disso, a destruição da camada de ozônio é responsável pelo aumento da exposição terrestre aos raios ultravioleta (RIBEIRO, 2004; KULLAVANIJAYA e LIM, 2005; BALOGH *et al.*, 2011).

A evolução dos seres humanos também permitiu que se desenvolvessem proteções naturais contra as radiações solares. A pele é um órgão complexo, formado por diferentes estruturas e com diversos tipos celulares (Figura 2.1). A pele atua como uma barreira protetora (GUARATINI *et al.*, 2007), inclusive em relação à penetração dos raios ultravioleta, possuindo sistemas que previnem os danos solares: secreção sudorípara, pigmentação (melanina) e camada córnea.

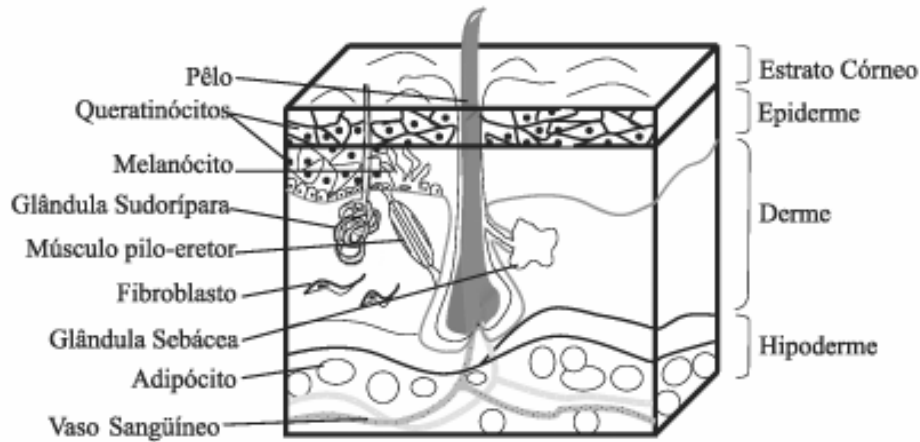


Figura 2.1: Estrutura esquemática da pele (GUARATINI *et al.*, 2007).

A camada córnea, também conhecida como estrato córneo (EC), é a camada mais externa da epiderme, cujas células são envolvidas por uma bicamada lipídica multilamelar (DANGELO e FANTINI, 2005). A barreira formada pelo EC (Figura 2.2) reflete de 5 a 10% da luz incidente e impede a penetração da radiação; porém, nas áreas em que esta camada é mais fina podem ocorrer lesões (SANTOS, 2007).

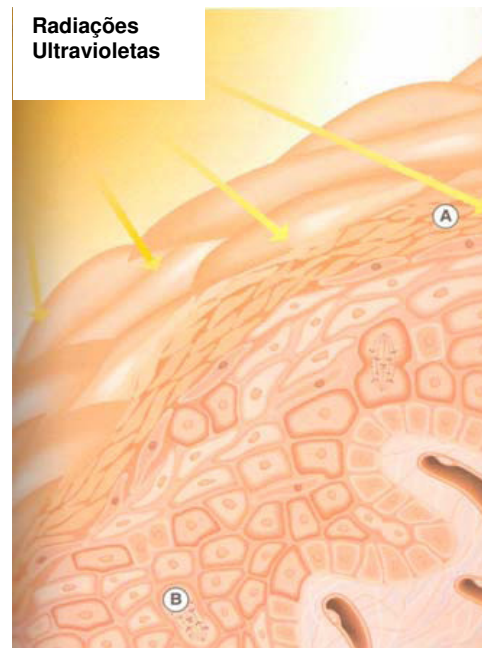


Figura 2.2: Função barreira do EC. A) Estrato Córneo; B) Mitose causada pela radiação UV (LÉPORI, 2002).

A secreção sudorípara possui um componente que também é capaz de proteger o organismo das radiações ultravioleta, por intermédio da absorção de luz, pois: o ácido urocânico (ácido 4-imidazoilacrílico) presente no suor apresenta máxima absorção em 277 nm (BARTH, 2000). A melanina (eumelanina) é um pigmento biológico presente na pele, cabelos e olhos, que também absorve a radiação solar numa extensa faixa de comprimentos de onda, incluindo desde o ultravioleta até as regiões próximas do infravermelho. A melanina ainda é capaz de neutralizar radicais livres presentes nas células, quando se apresenta livre no estrato córneo. Nas células, observa-se que o pigmento tende a cobrir a parte superior do núcleo, protegendo o DNA celular do dano causado pela radiação UV (LÉPORI, 2002). Entretanto, os sistemas naturais disponíveis para a proteção contra as radiações ultravioleta não são suficientes; por isso, os fotoprotetores são cruciais para evitar ou ao menos diminuir os efeitos indesejáveis causados pela exposição à radiação UV, como por exemplo o câncer de pele e o fotoenvelhecimento (SALVADOR-GONZÁLEZ *et al.*, 2008).

2.2 Filtros Solares

Sabe-se que os povos antigos (gregos e egípcios) utilizavam roupas de algodão e tinham o costume de usar chapéus, luvas e sombrinhas, para se protegerem do sol. Os tibetanos cobriam o corpo com uma associação de ervas, numa forma que hoje pode ser considerada a de um filtro solar (URBACH, 2001; SCHALKA e REIS, 2011).

Em torno de 1800, os efeitos da radiação já eram estudados e neste período descreveu-se o eczema solar. Seguiram-se vários estudos, inclusive o que provou que o eritema solar era causado pela radiação ultravioleta. Anos mais tarde, Hammer descreveu

doenças causadas pela fotossensibilização, além de ter sido o primeiro a recomendar o uso de filtros químicos, por meio de “materiais que impedem a radiação UV de atingir a pele, protegendo-a contra os eritemas solares” (SANTOS, 2007). Descobriu-se também que as ondas de menor comprimento (abaixo de 325 nm) são a principal causa do eritema (MILESI e GUTERRES, 2002).

O primeiro uso popular de filtros solares ocorreu em 1928, nos Estados Unidos, com uma emulsão contendo dois compostos capazes de absorver a energia da radiação UV: o salicilato de benzila e o cinamato de benzila (SHAATH, 1997; BALOGH *et al.*, 2011). Durante a Segunda Guerra Mundial foi desenvolvido o composto que trouxe enorme contribuição para a área de fotoproteção: o PABA (ácido *p*-aminobenzóico) e seus derivados, que absorvem na faixa de 260 a 313 nm (SHAATH, 1997; URBACH, 2001; BALOGH *et al.*, 2011). Após o PABA, foram desenvolvidos vários filtros solares mais modernos, como a óxi-benzona (benzofenona-3), o octocrileno, os salicilatos, os antranilatos, os cinamatos, além dos filtros físicos ou inorgânicos, como o dióxido de titânio e o óxido de zinco. Estes filtros são eficazes, mas não são bem aceitos por deixarem a pele esbranquiçada. Os filtros são atualmente encontrados no mercado em grande variedade de formas cosméticas, de forma a satisfazer a todos os consumidores. Porém, as pesquisas prosseguem em busca de produtos ainda mais eficientes (MILESI e GUTERRES, 2002).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na Resolução 47 de 16 de março de 2006, os filtros solares (também denominados de filtros ultravioleta) são substâncias que, quando adicionadas aos produtos para proteção solar, têm a finalidade de filtrar certos raios ultravioletas, visando a proteger a pele dos efeitos

danosos causados por estes raios. Estes podem ser adicionados às formulações de produtos dentro dos limites e condições discriminadas pelo órgão regulador (BRASIL, 2006).

Na maioria dos casos, as formulações podem conter no máximo 10% em massa de filtros solares, valor este que varia de acordo com o composto a ser utilizado e com a determinação da agência reguladora do país de origem (SIQUEIRA, 2008). A ANVISA, dependendo da natureza da substância, permite o uso de alguns filtros químicos em concentrações de 3 a 15% em massa. Já os filtros físicos, como óxido de zinco e dióxido de titânio, são permitidos em concentração de até 25% em massa em produtos com ação fotoprotetora (BRASIL, 2006).

2.2.1 Classificação dos Filtros Solares

Os filtros solares podem ser classificados, de acordo com a faixa de absorção, em filtros UVA e/ou UVB. Os primeiros filtros solares a serem utilizados protegiam a pele somente da radiação UVB, responsável pelos eritemas. Com os avanços nesta área, observou-se a necessidade da utilização de compostos capazes de absorver também na região UVA, para oferecer uma proteção mais completa. Atualmente, as formulações utilizadas contêm diferentes tipos de filtros, visando a aumentar o espectro de absorção; porém, esta combinação pode causar alto grau de irritabilidade quando aplicada à pele (ROSEN, 2003).

Além da divisão pela faixa de absorção, os filtros solares também podem ser classificados em dois grandes grupos: filtros solares orgânicos ou químicos e filtros solares inorgânicos ou físicos. Os filtros físicos são compostos inorgânicos que protegem da radiação UV por reflexão ou absorção. Na categoria de filtros físicos existem dois representantes principais: o dióxido de titânio e o óxido de zinco. Ambos formam uma

barreira opaca e causam oclusividade; por isso, têm sido fabricados como partículas microfinas, para que possam ser mais bem aceitos pelos consumidores (SHAATH, 1997; ROSEN, 2003). Também conhecidos como filtros inorgânicos, os filtros físicos são fotoestáveis, não reagem com os filtros químicos e, devido as suas características de espalhamento de luz, possuem menor variação na fotoproteção (quando comparados aos filtros orgânicos). De uma forma geral, são considerados mais seguros, não sendo facilmente permeados através da pele (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2007; NASCIMENTO, 2011).

Os filtros químicos são formados por moléculas orgânicas e atuam absorvendo a radiação UV e emitindo-a geralmente na região do infravermelho; ou seja, transformando-a em radiações com energias menores e inofensivas ao ser humano (ROSEN, 2003; FLOR *et al.*, 2007). A classe dos filtros químicos é formada por inúmeros compostos, reunidos em famílias de acordo com suas naturezas químicas. O Quadro 2.1 apresenta as famílias de filtros químicos, com seus representantes mais comuns e regiões de absorção correspondentes.

Quadro 2.1: Filtros solares químicos e seus representantes (adaptado de SANTOS, 2007).

<i>Classes de Filtros Solares</i>	<i>Exemplo</i>
Derivados do PABA	Octil dimetil PABA (UVB)
Cinamatos	<i>p</i> -Metoxicinamato de octila (UVB)
	Octocrileno (UVA/UVB)
Salicilatos	Salicilato de octila (UVB)
Antranilatos	Antranilato de Metila (UVA)
Benzofenonas	Benzofenona-3 (UVA/UVB)
Dibenzoilmetanos	Avobenzona (UVA)
Derivados da benzilideno cânfora	3-(4-metil benzilideno) cânfora (UVB)

2.3 Eficácia dos Filtros Solares

Os filtros solares, como mencionado anteriormente, são substâncias capazes de absorver a energia eletromagnética na faixa do ultravioleta e emití-la sob outra forma (geralmente na faixa do infravermelho, gerando sensação de calor). Assim, os filtros evitam a penetração da radiação na pele e, conseqüentemente, os danos causados pela exposição à luz. Os filtros devem apresentar uma grande afinidade pelo EC, permanecendo nas camadas mais externas da pele, com permeação mínima para a corrente sanguínea (JIMÉNEZ *et al.*, 2004).

As formulações fotoprotetoras geralmente são aplicadas em grandes áreas do corpo, dependendo sua eficácia da adesão dos filtros solares à pele (formando um filme protetor) e da quantidade aplicada do produto (recomenda-se a utilização de $2\text{mg}/\text{cm}^2$). Entretanto, estudos mostram que geralmente só se obtém em torno de 25% de proteção, já que a quantidade aplicada é quase sempre bem inferior à estipulada (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2007). Outro fator também muito observado é a ausência de aplicação antes da exposição solar e de reaplicação depois de determinado tempo (KULLAVANIJAYA e LIM, 2005; LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2007). Um modelo matemático sugere que a reaplicação a cada 20 minutos, durante um período de 6 horas de exposição ao sol, resulta em uma exposição menor à radiação do que uma reaplicação a cada 2 ou 4 horas (ROSEN, 2003). A técnica de aplicação das formulações afeta a uniformidade da camada protetora; assim, algumas áreas podem ficar menos protegidas, levando a uma perda de eficácia (SANTOS, 2007).

Características como espalhabilidade, resistência à água e substantividade também estão diretamente ligadas à eficácia dos filtros, assim como a polaridade e o pH, que podem interferir na capacidade de absorção dos filtros. Portanto, uma seleção criteriosa das

matérias-primas empregadas é fundamental, já que podem interferir no produto final, aumentando ou diminuindo seu fator de proteção solar (MILESI e GUTERRES, 2002; ROSEN, 2003).

É relevante destacar que a eficácia dos produtos que contêm filtros solares não está centrada apenas no desenvolvimento do produto, mas também na utilização correta por parte do consumidor (FERRARI *et al.*, 2007) e no seu controle analítico, visto que o conteúdo de filtros UV no produto final está relacionado à sua eficácia de proteção solar, que é usualmente rotulada pelo FPS (SALVADOR e CHISVERT, 2005).

2.3.1 Fator de Proteção Solar (FPS)

O primeiro relato acerca da avaliação da eficácia dos protetores solares ocorreu em 1934, onde se realizou a determinação da dose eritematosa mínima na pele protegida e não protegida, com a proposta de um coeficiente de proteção que decrescia em valor na medida em que a proteção aumentava. Somente em 1974, o termo Fator de Proteção Solar foi introduzido por Greiter e tornou-se rapidamente popular e passou a ser utilizado mundialmente (SCHALKA e REIS, 2011).

De acordo com a ANVISA, a eficácia de um filtro solar pode ser definida como a capacidade de proteger a pele contra a queimadura causada pela radiação UV. Esta capacidade é expressa em FPS, que é a razão entre o tempo de exposição à radiação ultravioleta necessário para produzir dose mínima de eritema (DME) na pele protegida, e o tempo de aparecimento do mesmo eritema, na pele desprotegida (Equação 2.1). Já a DME é a dose mínima de radiação ultravioleta requerida para produzir a primeira reação eritematosa perceptível com bordas claramente definidas, observadas entre 16 e 24 horas,

após a exposição à radiação ultravioleta (RUVOLO JÚNIOR, 1997; BRASIL, 2006; BALOGH *et al.*, 2011).

$$\text{FPS} = \frac{\text{Tempo mínimo para formação de eritema na pele protegida}}{\text{Tempo mínimo para formação de eritema na pele não protegida}} \quad \text{(Equação 2.1)}$$

A determinação do FPS de formulações é feita por métodos *in vivo*, utilizando 20 indivíduos saudáveis, incluindo homens e mulheres com sensibilidade mediana ao UV. Numa parte das costas de cada indivíduo (0,3 m x 0,3 m), aplica-se o produto (150 ±15 mg/100 cm²) em 4 cm², deixando também uma parte descoberta (superfície teste), separada por uma fita de 1 cm de largura. Irradia-se com lâmpada UV de 300 W por 20 minutos após a aplicação do produto. Observa-se o tempo de formação do eritema e obtém-se o FPS após a realização dos cálculos (RIBEIRO, 2004; SANTOS, 2007). Entretanto, o método *in vivo* não é capaz de mensurar outros efeitos induzidos pela radiação UV, tais como os danos ao DNA, o fotoenvelhecimento, a imunossupressão e a indução de melanoma (PETRAZZUOLI, 2000). Ademais, esse método preconizado pelas agências regulatórias internacionais tem como fundamento a resposta eritematosa, que é um efeito observado na exposição da pele à radiação UVB, não sendo indicado para a avaliação de filtros que absorvem na região UVA. Por isso, visando a diminuir os custos envolvidos nos testes *in vivo*, a aumentar a segurança e a acelerar o processo de medição, hoje em dia são realizados métodos *in vitro* para avaliar o FPS durante o desenvolvimento de novas formulações e para o controle de qualidade de rotina, lote a lote. Os principais métodos empregam soluções diluídas dos produtos testados, que são levadas para leitura por espectrofotometria

no UV. Os métodos podem explorar a absorvância (MANSUR *et al.*, 1986) ou a reflectância (DIFFEY, 1997) dos filtros solares.

O método descrito por Mansur é o mais difundido. É um método simples, em que uma solução é preparada com solvente apropriado para a formulação de filtro solar a ser avaliada. A concentração desta solução é conhecida, para que seja possível avaliar por espectrofotometria no ultravioleta. Mede-se a absorvância em comprimentos de onda definidos e, com auxílio da fórmula matemática desenvolvida (Equação 2.2) e de valores empíricos para correção, torna-se possível relacionar os valores de absorvância obtidos com o FPS da amostra (MANSUR *et al.*, 1986; SANTOS *et al.*, 1999).

$$FPS = FC \cdot \sum_{320}^{290} EE_{\lambda} \cdot I_{\lambda} \cdot Abs_{\lambda} \quad (\text{conc.} = 0,2\mu\text{L/mL ou } 0,2\text{mg/mL}) \quad \text{(Equação 2.2)}$$

Em que FC é o fator de correção (igual a 10), EE_{λ} é o efeito eritematogênico da radiação de comprimento de onda I_{λ} é a intensidade da luz solar no comprimento de onda e Abs_{λ} é a absorvância da solução no comprimento de onda (definidos pelo Quadro 2.2).

Quadro 2.2: Relação entre o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (MANSUR *et al.*, 1986).

λ (nm)	EE (λ) x I (λ)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
1,0000	

2.4 Benzofenona-3

As benzofenonas são a única classe de filtros solares que pertencem à categoria das cetonas aromáticas e começaram a ser utilizadas no final da década de 1950. A benzofenona-3 (BZ-3), também conhecida como oxibenzona, metanona, 2-hidroxi-4-metoxifenil (Figura 2.3), é um composto lipofílico, sendo o mais utilizado dessa categoria nos Estados Unidos (NEDOROST, 2003). Alguns nomes comerciais são: Neo Heliopan BB[®], Eusolex 4360[®], Tinosorb B3[®] (NASCIMENTO, 2011).

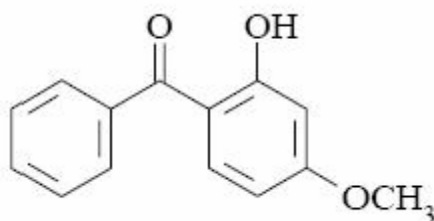


Figura 2.3: Fórmula estrutural da BZ-3 (SHAATH, 1997).

As hidroxibenzofenonas e seus derivados têm a habilidade de absorver e dissipar a radiação UVA, porém em menor intensidade na região UVB (SUZUKI *et al.*, 2005). Estes compostos possuem dois picos de absorção, com comprimentos de onda máximos em 288 nm e 325 nm, são fotolábeis e podem ser oxidadas rapidamente (KULLAVANIJAYA e LIM, 2005). A ANVISA aprova o uso da BZ-3 como filtro solar em produtos para higiene pessoal, cosméticos e perfumes, na concentração máxima de 10% em massa, ressaltando que, para concentrações maiores que 0,5% em massa, deve-se incluir na rotulagem a informação de conter oxibenzona (BRASIL, 2006).

Fernandez e colaboradores (2002) concluíram, após estudo *in vivo*, com a técnica de *tape-stripping*, que cerca de 35% em massa de BZ-3 aplicada sobre a pele pode ser

absorvida. Estudos recentes têm confirmado a presença deste filtro e seus metabólitos na urina de humanos até 48 horas após a aplicação tópica de cosméticos (HAYDEN *et al.*, 1997; GUSTAVSSON-GONZALEZ *et al.*, 2002; SIQUEIRA, 2008). Em um estudo de segurança da BZ-3, sugeriu-se que esta não é tóxica nas condições da pesquisa (OKEREKE *et al.*, 1995). Entretanto, a BZ3 apresenta atividade estrogênica (SCHLUMPF *et al.*, 2004; SUZUKI *et al.*, 2005).

2.5 Metilbenzilideno Cânfora

O 3-(4-metilbenzilideno) cânfora (MBC) pertence ao grupo dos derivados da cânfora, sendo um filtro solar lipofílico (SASSON, 2006). É um composto sólido, cristalino de cor branca e massa molar de 254,37 Da (Figura 2.4). Este composto absorve na região UVB, de 290 nm a 300 nm em etanol, e apresenta uma alta absorvidade molar (SHAATH, 1997).

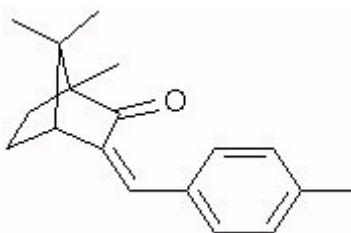


Figura 2.4: Fórmula estrutural do MBC (SHAATH, 1997).

Os derivados da cânfora são aprovados para serem usados na União Européia, assim como no Brasil; entretanto, não estão listados na monografia do FDA de 1999 (KULLAVANIJAYA e LIM, 2005). No Brasil, de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 47 de 2006, a concentração máxima permitida para o MBC é de 4% em massa (BRASIL, 2006). Cabe ainda lembrar que o metilbenzilideno cânfora é descrito

como um filtro que causa média sobrecarga sobre a pele; ou seja, deve ser combinado com outros filtros, a fim de serem obtidas formulações com baixas concentrações de filtros e um alto FPS (BARTH, 2000).

Vários estudos descrevem que o MBC apresenta ação estrogênica, mediada principalmente por receptores estrogênicos (MUELLER *et al.*, 2003; SCHLUMPF *et al.*, 2004). Scidlová-Wuttke e colaboradores (2006) compararam os efeitos promovidos por dois filtros orgânicos, MBC e p-metoxicinamato de octila, com os efeitos do estradiol em alguns órgãos como a vagina, o útero e os ossos. Resultados demonstraram um pequeno efeito estrogênico dos dois filtros no útero e na vagina após três meses de tratamento de ratos ovariectomizados, quando comparados com o efeito do estradiol. Já nos ossos, MBC apresenta um efeito antiosteoporótico igual ao do estradiol, diferentemente do p-metoxicinamato de octila, que não apresenta tal efeito.

2.6 Avobenzona

O butil metóxi-dibenzoilmetano, também conhecido como avobenzona (AVO) (Figura 2.5), é um pó cristalino de cor ligeiramente castanha, com odor aromático fraco, massa molar igual a 310 Da e característica lipofílica (SASSON, 2006). É um filtro orgânico, derivado do dibenzoilmetano, muito utilizado, isolado ou combinado a outros filtros solares, em numerosos produtos para proteção solar e cuidados para a pele (ARAÚJO e SOUZA, 2008). Fornece uma excelente proteção contra a radiação UVA, sendo muito eficiente e aprovado por agências regulatórias da Europa, Austrália, Estados Unidos e Japão (SIMEONI *et al.*, 2004). Em nosso país, de acordo com a RDC nº 47 de 2006, este composto pode ser utilizado até a concentração de 5% em massa (BRASIL, 2006).

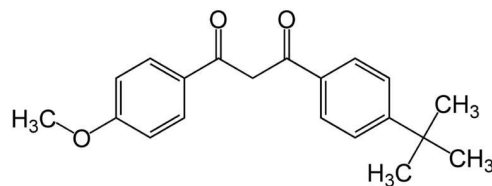


Figura 2.5: Fórmula estrutural da AVO (SHAATH, 1997).

A AVO é utilizada com outros filtros para aumentar a cobertura da formulação na faixa do UVA, assim como o FPS de formulações. Entretanto, este filtro, dependendo da formulação e associação, apresenta fotoinstabilidade, especialmente se associado ao p-metoxicinamato de octila (RIBEIRO, 2006).

Simeoni e colaboradores (2004) investigaram a permeação *in vitro* de AVO livre e complexado com hidroxipropil e sulfabutíler β -ciclodextrina. O estudo de permeação foi realizado em pele de tecido humano da região abdominal e da mama de mulheres em células de Franz. A quantidade de filtro presente no estrato córneo, epiderme viável, derme e fluido receptor, após 6 horas, foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A complexação dessa substância com sulfabutíler β -ciclodextrina foi a que apresentou melhores resultados, visto que houve uma redução marcante da concentração deste filtro nas frações epidérmicas, quando comparado com o AVO livre e em hidroxipropil β -ciclodextrina. Baseado nestes estudos, parece ser recomendável limitar o contato direto do filtro solar e seus derivados com tecidos viáveis da pele com a utilização de sistemas de inclusão, visto que esta é uma forma de minimizar os efeitos tóxicos.

2.7 Sistemas de Inclusão de Filtros Solares

A absorção sistêmica é um fator a ser considerado nos filtros solares, já que estudos *in vitro* e *in vivo* publicados mostraram que certos filtros são absorvidos pela pele humana após aplicação tópica. Janjua e colaboradores (2004) evidenciaram que, quando aplicado 2 mg/cm² de uma formulação creme contendo três filtros solares, (p-metoxicinamato de octila, benzofenona-3 e 3-(4-metilbenzilideno) cânfora) a 10% (p/p) cada na pele de humanos, os três compostos foram absorvidos pela pele e excretados na urina. Desse modo, é necessário o desenvolvimento de sistemas de inclusão que permitam a retenção dos filtros solares nas camadas mais externas da pele, a fim de alcançar o efeito máximo de proteção e minimizar os efeitos toxicológicos. Lipossomas, microesferas, lipoesferas, nanocápsulas e inclusão em complexos são os sistemas mais usados para controlar a liberação de filtros solares da formulação (SCALIA *et al.*, 1999; ALVAREZ-ROMAN *et al.*, 2001).

Yener e colaboradores (2003) demonstraram que as microesferas podem ser sugeridas como carreadores para o p-metoxicinamato de octila, por diminuírem a taxa de liberação e penetração, além de aumentarem a fotoestabilidade desta substância. Segundo Wissing e Muller (2001), as nanopartículas sólidas-lipídicas (NSL) formam um filme após aplicação na pele. A evaporação da água conduz à fusão das partículas e à formação de um filme, fixando as moléculas do filtro solar no filme e mantendo o filtro por mais tempo na superfície da pele, local onde deve atuar. Experimentos de liberação e permeação *in vitro* e *in vivo* mostraram que a penetração de oxibenzona é significativamente diminuída ao incorporá-la em NSL, quando comparado com uma emulsão. Além disso, têm sido estudados métodos que diminuem a possibilidade de fotodegradação, como a inclusão dos filtros solares em nanocápsulas ou ciclodextrinas, que prometem bons resultados (MILESI e GUTERRES, 2002).

Com o intuito de diminuir o grau de decomposição e a formação de radicais livres observados quando a avobenzona é exposta à luz solar simulada, foi realizada a complexação deste composto com a hidroxipropil β -ciclodextrina (SCALIA *et al.*, 1998; 2002). Outro sistema carreador descrito na literatura para promover a estabilidade fotoquímica deste filtro solar foi a lipoesfera, sendo um representante adequado para a redução da fotodecomposição do mesmo (IANNUCCELLI *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, os lipossomas também passaram a assumir um papel importante como sistema de inclusão nas áreas da dermatologia e cosmetologia. Lipossomas têm sido amplamente utilizados como veículo em formulações cosméticas, em razão da sua estrutura, que proporciona a encapsulação de substâncias ativas hidrofílicas e lipofílicas. Os ativos lipofílicos podem ser incorporados na bicamada lipídica, enquanto os ativos hidrofílicos são solubilizados no interior do espaço aquoso (ANSEL *et al.*, 2000; MEHNERT & MADER, 2001). Além disto, a sua estrutura de bicamada é semelhante à estrutura das membranas celulares, o que os torna capazes de interagir com as células do organismo (RAMÓN *et al.*, 2005).

A despeito da discussão prévia, as nanopartículas poliméricas têm atraído maior atenção dos pesquisadores em relação aos lipossomas, devido às potencialidades terapêuticas e à maior estabilidade nos fluidos biológicos e durante o armazenamento (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Além disso, a tecnologia de encapsulação em sistemas poliméricos nanoestruturados também minimiza a degradação dos ativos, tornando-se uma alternativa para a obtenção de maior estabilidade química dos filtros solares (NASCIMENTO, 2011).

2.8 Nanopartículas Poliméricas de Filtros Solares

As nanopartículas poliméricas constituem um potencial sistema de liberação de ativos, podendo ser definidas como sistemas coloidais ou carreadores sólidos de fármacos, com diâmetro inferior a 1 μm , preparadas a partir de polímeros naturais ou sintéticos, biodegradáveis ou não, sendo o produto da biodegradação biocompatível, toxicologicamente seguro e eliminado pelas vias metabólicas normais (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Em se tratando, especificamente, de partículas carregadas com filtros solares, observa-se a indicação de sistemas nanoestruturados na faixa de 100 nm a 1000 nm, para que haja menor risco de permeação cutânea (GARCIA, 1998; SCALIA, 1998; PERUGINI, 2002; SCALIA, 2002; YENER, 2003; JIMÉNEZ, 2004; MOTA, 2005; MONTEIRO, 2008; JAIN e JAIN, 2010, NASCIMENTO, 2011).

Tradicionalmente, as nanopartículas poliméricas são classificadas como nanocápsulas e nanoesferas. As nanoesferas são estruturas tipo matriciais, nas quais os compostos ativos podem estar adsorvidos na superfície, aprisionados ou dissolvidos na matriz. Já as nanocápsulas, por sua vez, têm uma casca polimérica e um núcleo interno; normalmente, as substâncias ativas ficam dissolvidas no núcleo, mas também podem estar adsorvidas na superfície (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003; KESISOGLOU *et al.*, 2007).

A aplicabilidade das nanopartículas para fins biomédicos pode ser aumentada se forem usados materiais biocompatíveis. O mesmo acontece no mercado cosmético, no qual o desenvolvimento de produtos com o maior número de componentes de origem natural, especialmente os de origem vegetal, explorando de forma racional a biodiversidade brasileira, cresce largamente. A incorporação de ativos naturais em produtos cosméticos tem sido uma prática corrente, pois há grande interesse tanto do mercado nacional quanto do internacional, principalmente se existirem estudos científicos comprovando a segurança, eficácia e comprometimento com o desenvolvimento sustentável (FERRARI *et al.*, 2007).

Particularmente, o uso do poli (metacrilato de metila) – PMMA – se destaca nessa área, por ser biocompatível e ser produzido a partir de um monômero (metacrilato de metila – MMA) que apresenta baixa toxicidade. Por essa razão, tanto o MMA como o PMMA são amplamente empregados para preparação de cimentos dentais, cimentos ósseos, próteses ósseas e medicamentos usados para administração oral (FONSECA, 2012). Além disso, essa classe de polímeros pode ser conjugada com proteínas, biomoléculas e ingredientes farmacêuticos ativos, resultando em produtos promissores na área de sistemas de liberação de fármacos, cultura de células, bioprocessos enzimáticos, dentre outros (UCHEGBU e SCHATZLEIN, 2006).

Este sistema carreador, ou de inclusão, apresenta vantagens que o tornam promissores para aplicação em formulações cosméticas (WISSING e MULLER, 2003; MORGANTI, 2010):

- 1) Capacidade de proteção a compostos lábeis contra degradação química;
- 2) Possibilidade de controle da liberação da substância ativa;
- 3) Atuação como agentes oclusivos;
- 4) Apresentação de potencial efeito bloqueador das radiações UV, atuando como filtros físicos, podendo estar combinados com filtros químicos, aumentando o FPS (Figura 2.6).

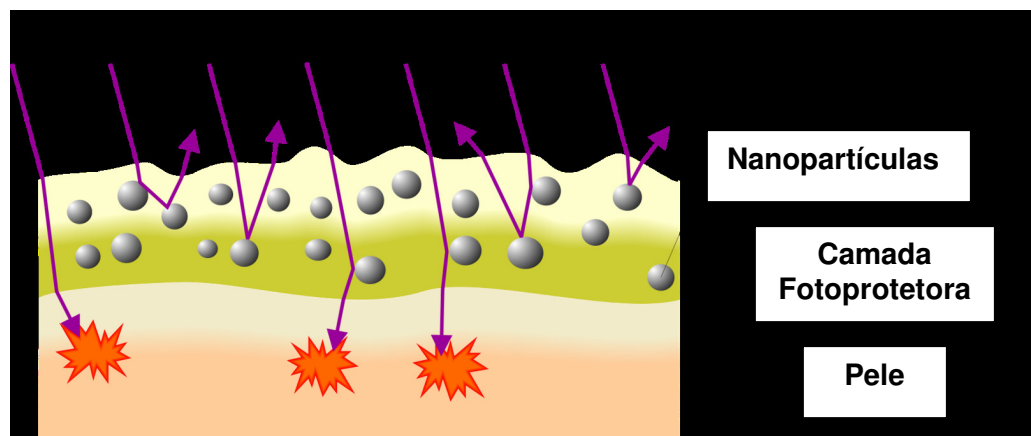


Figura 2.6: Possível ação das nanopartículas com filtro solar (modificado de TERCI, 2008).

Nos últimos anos, estudos têm procurado compreender a influência da nanoencapsulação de fármacos e ativos cosméticos sobre a capacidade destes compostos permearem a pele. No caso específico dos filtros solares, sua função é otimizada se os compostos são mantidos na pele. Logo, a utilização de nanopartículas poliméricas visa a alterar e/ou mascarar as propriedades de permeação de ativos encapsulados (OLVERA-MARTINEZ *et al.*, 2005).

Alvarez-Roman e colaboradores (2001) avaliaram o perfil de liberação de um filtro solar (metoxicinamato de octila) livre e em nanocápsulas incorporados em um gel. As nanocápsulas foram obtidas a partir do polímero pronto e os resultados mostraram que a formulação contendo o sistema de inclusão apresentou perfil de liberação moderado, o que pode ser justificado pela hidrofobicidade do polímero empregado e pela alta lipofilia do ativo, que previnem sua difusão para o meio receptor. Outra característica observada foi que a formulação contendo as nanocápsulas apresentou maior proteção contra a formação de eritemas causados pelos raios UV do que a formulação contendo metoxicinamato de octila não-encapsulado. Outro estudo também encontrou resultados semelhantes, o que

pode ser resultado da formação de um filme de nanocápsulas sobre a pele, impedindo a penetração pelo estrato córneo (JIMÉNEZ et al., 2004).

Com o objetivo de avaliar a influência do tamanho das partículas sobre a penetração do ativo nas camadas mais internas da pele, Verma e colaboradores (2003) prepararam lipossomas de diferentes diâmetros (120 nm, 191 nm, 377 nm e 810 nm) e observaram que os sistemas de inclusão com menor tamanho facilitam a penetração do ativo em teste. Estes dados confirmam a informação de que partículas de maior tamanho não penetram facilmente nas camadas mais profundas da pele, podendo ser carregadas com filtros solares, cujo objetivo principal é a permanência sobre e/ou no estrato córneo.

Em trabalho semelhante, Shim e colaboradores (2004) avaliaram o desempenho de nanopartículas, obtidas a partir de polímero pré-fabricado, carregados com minoxidil e apresentando diâmetros entre 40 nm a 130 nm. Os resultados mostraram que as partículas de menor tamanho facilitaram amplamente a penetração do minoxidil para o compartimento receptor e que a quantidade de fármaco retido na superfície da pele não foi dependente do tamanho da partícula.

Romio e colaboradores (2007) obtiveram nanocápsulas de polimetacrilato de metila (PMMA) por polimerização em miniemulsão, usando como co-estabilizador uma mistura de triglicérides caprílico (50-65%) e cáprico (Neobee M-5[®]) e a lecitina como tensoativo, ambos biocompatíveis. Não foi feita inclusão de nenhum ativo cosmético, mas, a despeito disso, parece óbvio o interesse pelo uso de compostos naturais para formulação de nanocápsulas. Em outro estudo, avaliou-se o efeito da concentração da fase orgânica e de surfactante sobre a cinética de reação, o diâmetro médio das partículas e o número de partículas nas reações de polimerização de MMA em miniemulsão usando uma mistura líquida de triglicerídeos de ácidos graxos saturados de cadeia C8-C12

(Miglyol 812[®]) como co-estabilizador e lecitina como surfactante (BERNARDY et al.; 2007).

Novos produtos fotoprotetores também têm sido desenvolvidos a partir de nanopartículas de filtros físicos ou inorgânicos, como dióxido de titânio (TiO₂) e óxido de zinco (ZnO). Estas nanopartículas insolúveis, com diâmetro entre 50 e 200 nm, são utilizadas em formulações antissolares, levando a uma melhora na aparência esbranquiçada das preparações tradicionais, além de criar um veículo mais transparente, menos viscoso e com melhor espalhabilidade sobre a pele, aumentando a aceitabilidade por parte dos consumidores (BALOGH et al., 2011).

2.9 Polimerização em Miniemulsão

O preparo de nanopartículas poliméricas pode ser realizado de diferentes formas, tais como inchamento osmótico, encapsulamento de um não solvente, emulsão de água-em-óleo-em-água, inchamento com um solvente, polimerização em miniemulsão e incorporação de um agente expensor (ROMIO et al., 2007). Entretanto, a técnica de evaporação por solvente, a partir de polímeros prontos, é a mais conhecida na área farmacêutica e seu processo baseia-se na emulsificação inicial de uma mistura que contém solvente volátil, ingrediente ativo e polímero em uma fase externa, que pode ser água ou um óleo no qual o polímero é insolúvel. Posteriormente, a emulsão é submetida à agitação constante e evaporação do solvente por vácuo, levando à precipitação do polímero e do composto ativo. As nanopartículas formadas são filtradas e secas sob condições apropriadas (JAIN *et al.*, 1998; VAUTHIER e BOUCHEMAL, 2008; WO2009/121997). As desvantagens desta técnica são: possibilidade de coalescência das nanogotículas durante o

processo de evaporação do solvente, restrições relacionadas ao tipo de material orgânico que pode ser encapsulado e tempo prolongado para o preparo das nanopartículas.

Ao ser comparado aos diferentes métodos, a polimerização em miniemulsão permite, a partir de uma fase heterogênea, obter uma emulsão homogênea e estável, formada por partículas de polímero a partir das gotas de monômero originais, que constituem o *locus* primário da polimerização e se comporta como “nanorreator” (ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002).

Miniemulsões são classicamente definidas como dispersões aquosas de uma fase orgânica, relativamente estáveis, com tamanho médio entre 50-500 nm, preparadas por um sistema contendo óleo, água, um tensoativo e um "co-estabilizador" (LANDFESTER *et al.*, 1999).

Na primeira etapa do processo de polimerização em miniemulsão, pequenas gotas estáveis são formadas pela dispersão de um sistema contendo a fase dispersa (gotas líquidas de monômero), a fase contínua (fase aquosa), um surfactante e um co-estabilizador (normalmente um hidrófobo; ou seja, substância que não possui afinidade com a água) (LANDFESTER, 2006). Para que esta dispersão ocorra, é necessário aplicar um mecanismo que promova intensa misturação, como objetivo de obter um estado de equilíbrio entre a taxa de quebramento e de coalescência das gotas (Figura 2.7).

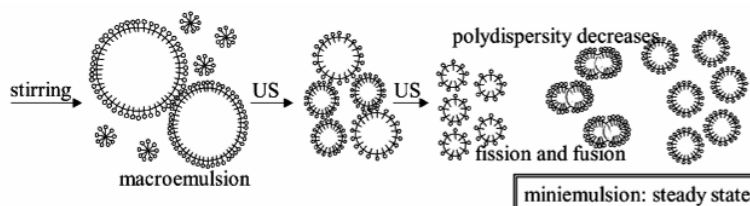


Figura 2.7: Apresentação do equilíbrio dinâmico de uma miniemulsão (ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002).

Na segunda etapa, as gotas emulsificadas são polimerizadas, sem que se modifique idealmente as suas características morfológicas. O tamanho das gotas depende principalmente das quantidades e tipo de surfactante e de co-estabilizador e das condições de dispersão. As etapas fundamentais da polimerização em miniemulsão são representadas na Figura 2.8.

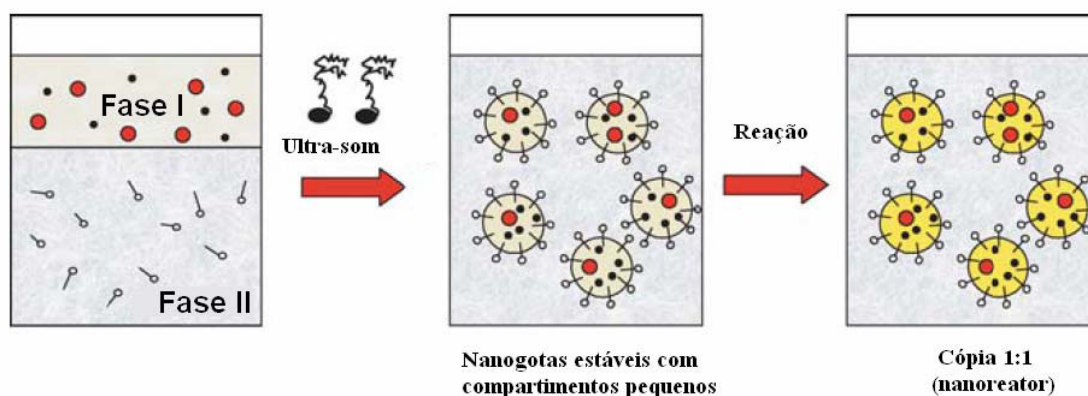


Figura 2.8: Etapas fundamentais da polimerização em miniemulsão (LANDFESTER, 2006).

Em princípio, depois do preparo da miniemulsão, existem dois mecanismos que podem alterar o número e o tamanho das gotículas: a degradação difusional (*Ostwald ripening*) e a coalescência entre as gotas. Estes fenômenos podem levar à desestabilização e subsequente separação das fases da emulsão. Logo, para a obtenção de uma emulsão estável, com gotas relativamente pequenas, ambos os mecanismos devem ser evitados (CORTINA, 2007).

O uso de co-estabilizantes retarda significativamente (ou até mesmo impede) a degradação difusional (transferência de monômero de gotas menores para gotas maiores, para reduzir a energia superficial total do sistema). Assim, a adição de co-estabilizante mantém estáveis as gotas pequenas durante a polimerização. Para evitar a desestabilização

da emulsão, devido ao processo de colisão ou coalescência, adiciona-se o surfactante apropriado, que promove a estabilização eletrostática e/ou estérica das gotas (ROMIO *et al.*, 2009). Desta forma, o efeito principal causado pelo co-estabilizante é o de reduzir o potencial químico do monômero presente nas pequenas gotas, reduzindo a transferência de massa das pequenas para as grandes gotas. Já o efeito principal causado pelo surfactante é a redução de energia interfacial e/ou a proteção mecânica (estérica) ou eletrônica (acúmulo de cargas) de superfície (CHOU *et al.*, 1980; SCHORK *et al.*, 2005).

O processo de polimerização em miniemulsão apresenta inúmeras vantagens sobre o processo de polimerização em emulsão convencional, quando se deseja produzir nanopartículas carregadas com compostos bioativos. Por exemplo, se a encapsulação envolve um composto pouco solúvel em água, é praticamente impossível que este composto passe pela fase aquosa para entrar nas partículas poliméricas, já que as partículas são nucleadas a partir da precipitação de cadeias no meio aquoso e/ou reação nas micelas formadas pelo emulsificante. No processo em miniemulsão, os compostos podem ser adicionados diretamente nas gotas de monômero, que constituem o *locus* de polimerização. O látex oriundo da polimerização por miniemulsão também pode apresentar uma viscosidade e estabilidade coloidal diferente do obtido a partir da polimerização em emulsão convencional (ROMIO, 2007; EL-JABY *et al.*, 2009). Estes fatores, juntamente com o tamanho de partícula que se deseja obter, levam à utilização, cada vez mais freqüente do processo de polimerização via miniemulsão.

É importante salientar que essa técnica de incorporação de compostos ativos *in-situ* e em uma única etapa pela polimerização em miniemulsão não é usual. A revisão da literatura mostra que pouquíssimos trabalhos tratam da incorporação de fármacos *in-situ* por polimerização em miniemulsão, havendo poucas citações a respeito da possibilidade de

aplicar essa técnica para a produção de compostos ativos nanoencapsulados, como na patente US2007/02092524A1. Entretanto, os exemplos apresentados nessa patente utilizam o monômero n-butilcianoacrilato para produção do látex polimérico e o produto final apresenta partículas dispersas com dimensão característica na faixa de micrômetros, caracterizando uma suspensão e não uma emulsão. Nas patentes EP 1661559A1 e WO2006/056362A2, o processo de polimerização por miniemulsão também foi empregado, porém com o objetivo de preparar um sistema de liberação controlada de ativos.

Em se tratando especificamente de filtros solares e sistemas fotoprotetores, a patente EP2311844A1 utiliza ativos semelhantes aos propostos nesta tese, como avobenzona; entretanto, a polimerização não se dá pelo processo de miniemulsão. O processo utilizado é o de polimerização em suspensão e o monômero utilizado não é o metacrilato de metila. A grande maioria das nanopartículas dopadas com filtros UVA e/ou UVB já descritas na literatura é originada da mistura entre uma solução polimérica e substâncias com função fotoprotetora, de maneira que a adição dos filtros solares não se dá antes do início da polimerização (*in situ*) (WO2008/126971A1; WO2010/040194A2).

A incorporação de ativos a sistemas poliméricos por polimerização *in-situ* não constitui matéria trivial, uma vez que os compostos químicos podem interagir fortemente com o meio de reação, tornando a polimerização inviável (ODIAN, 2004). Portanto, não é possível garantir *a priori* com a tecnologia hoje disponível que um ativo particular possa ser incorporado a um látex polimérico *in-situ* por polimerização em miniemulsão sem o desenvolvimento do processo.

CAPÍTULO 3

Objetivos

Neste capítulo, são apresentados os objetivos da tese, tanto geral como específicos, além da justificativa do trabalho, que incluem sua relevância e originalidade.

3.1 Objetivo Geral

O principal objetivo desta tese é o desenvolvimento, baseado na técnica de polimerização via miniemulsão, de nanopartículas poliméricas contendo filtros solares (benzofenona-3, avobenzona e metilbenzilideno cânfora), que possam ser utilizadas como matéria-prima para a manipulação de formulações fotoprotetoras, com qualidade aumentada ou semelhante às formulações já disponíveis no mercado.

3.2 Objetivos Específicos

Dentre os objetivos específicos desta tese, a primeira etapa envolve o encapsulamento de três diferentes filtros solares (benzofenona-3, avobenzona e metilbenzilideno cânfora) por resinas poliméricas obtidas pelo processo de miniemulsão, utilizando como monômero o metacrilato de metila. Estas substâncias químicas antissolares foram selecionadas por apresentarem larga utilização comercial e baixo custo, já o monômero de escolha foi o MMA por ser muito utilizado em aplicações biomédicas, mas principalmente por ser não-imunogênico, biocompatível e de baixo custo. Posteriormente à obtenção das nanopartículas de PMMA contendo filtro solar, a caracterização deste produto tem por função obter informações sobre o impacto que as condições reacionais exercem sobre as nanopartículas. Esta etapa é fundamental já que as propriedades finais destas

partículas influenciam diretamente a qualidade do produto, farmacêutico ou cosmético, desenvolvido a partir destas.

A segunda etapa da tese é o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras contendo as nanopartículas poliméricas de BZ3, MBC e AVO sintetizadas. A forma de apresentação para o produto manipulado é uma emulsão cremosa, por ser uma forma farmacêutica facilmente obtida e por apresentar um alto índice de aceitação pelos consumidores. Finalmente, os ensaios *in vitro* e *in vivo* são uma metodologia específica que caracteriza e avalia a segurança e eficácia dos sistemas obtidos, garantindo a obtenção de um produto final com a qualidade esperada para uma formulação cosmética.

3.3 Justificativa da Tese

A exposição excessiva à luz solar pode causar danos irreparáveis, como por exemplo o câncer de pele, cuja maior incidência ocorre em países tropicais, como o Brasil (SALVIO *et al.*, 2011). Sendo assim, a necessidade do uso de protetor solar é uma realidade indiscutível, tendo sido utilizado regularmente por milhões de pessoas e aplicado em grandes áreas do corpo. Por esta razão o mercado desses produtos apresenta um enorme potencial de crescimento para os próximos anos (MACHADO *et al.*, 2011).

A ampliação das pesquisas para desenvolvimento de novos filtros solares tem por objetivo oferecer preparações com maior eficácia (produtos com maior eficiência de proteção, maior estabilidade química e mais acessível à população). Além disso, os filtros solares devem apresentar baixa toxicidade, já que várias destas substâncias e seus produtos de biotransformação já foram encontrados em camadas mais profundas da pele, urina e leite

materno após uma única aplicação, e podem ser ingeridos após aplicação nos lábios (ARAÚJO e SOUZA, 2008; MOTA *et al.*, 2008).

A inclusão de filtros solares em sistemas de liberação pode diminuir a absorção cutânea, aumentar o fator de proteção solar (FPS) e a fotoestabilidade. Além disso, ainda pode ser responsável pelo aumento no tempo de permanência dos filtros solares no estrato córneo, tornando as preparações solares mais seguras e eficazes (MOTA *et al.*, 2008). Como o sistema de inclusão é constituído por nanopartículas poliméricas, ainda existe a possibilidade de atuarem como agentes oclusivos e potenciais bloqueadores das radiações UV, atuando como filtros físicos, e quando combinados com filtros químicos, aumentarem o FPS do produto final (WISSING e MULLER, 2003; TERCI, 2008).

Desta maneira, desenvolveu-se a partir de nanopartículas poliméricas carregadas com filtros solares formulações fotoprotetoras com a concentração máxima permitida de cada dos filtros solares anti-UVA e anti-UVB. Vale ressaltar que formulações contendo tais partículas já são disponíveis no mercado, como é o caso do Eusolex UV – Pearls[®], destaque da Merck[®] (MACHADO *et al.*, 2011). Entretanto, a técnica de obtenção, em todos os casos, envolve o preparo a partir de polímeros previamente obtidos com posterior adição dos filtros solares de escolha. Na presente tese de doutorado, os filtros solares de escolha (benzofenona-3, avobenzona e metilbenzilideno cânfora) foram incorporados *in situ*; ou seja, durante o processo de polimerização, as substâncias já estão adicionadas ao meio reacional. Esta alteração facilita a técnica de preparo e permite um aumento na taxa de encapsulação, já que as substâncias antissolares são solúveis na fase orgânica (monômero). Além disso, permite a obtenção de menores tamanhos das partículas formadas, favorecendo a manipulação da formulação fotoprotetora e o sensorial do produto obtido.

CAPÍTULO 4

Materiais e Métodos

Neste Capítulo são descritos os equipamentos, os acessórios e as metodologias empregadas para o desenvolvimento do presente estudo.

4.1 Equipamentos e Acessórios

Os equipamentos e acessórios empregados para o desenvolvimento desta tese, assim como suas aplicações, estão apresentados abaixo.

- Ampolas de vidro, com capacidade de 20 ml, usadas para as reações de polimerização para a obtenção de nanocápsulas de óleo de andiroba;
- Analisador de tamanho de partícula (Malvern Instruments Zeta Size-Nano, modelo Nano-ZS), usado para a determinação da distribuição de tamanhos de partícula presentes no sobrenadante de cada polimerização;
- Balanças (Gehaka, modelo BG-400, pesagem máxima de 404 g; Belmark, modelo U210A, pesagem máxima de 210 g), com precisão de 0,001 g, para pesagens dos componentes das polimerizações e das amostras para análise;
- Balões volumétricos, para preparo das soluções a serem analisadas no espectrofotômetro.
- Banho de Ultrassom – T14, Thorton, para acelerar a solubilização das amostras contendo nanopartículas poliméricas.
- Banho termostático (MicroQuímica, modelo MQBTCA-100), para o aquecimento das ampolas durante o preparo das miniemulsões de óleo de andiroba;

- Bastão de vidro para auxiliar na homogeneização das soluções preparadas;
- Béqueres, com capacidades variando de 30 a 1.000 ml, para pesagens dos reagentes e preparo das soluções;
- Calorímetro Diferencial de Varredura (Mettler Toledo, modelo 1822e), para análise da forma de associação das partículas produzidas;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Merck, modelo LachromElite) para quantificação dos filtros solares nas formulações fotoprotetoras e nos ensaios de liberação;
- Calorímetro Diferencial de Varredura (Perkin Elmer, modelo DSC7) para a determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) dos polímeros produzidos;
- Cromatógrafo (Viscotek, modelo VE 2001, com quatro colunas Phenomenex e detector refratométrico Viscotek, modelo VE 3580) para a determinação da distribuição de massas molares dos polímeros produzidos. A calibração do equipamento foi feita com padrões de poliestireno, com massas molares na faixa de 2340 – 1,86×10⁶ Da;
- Cromatógrafo a gás (Agilent, modelo 6890N), para o cálculo de monômero residual presente no produto final;
- Dispersor ultrassônico (Fisher Scientific, Sonic Dismembrator Modelo 500), para o preparo das miniemulsões de óleo de andiroba;
- Espectrômetro (Nicolet 6700 Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA) com detector MCT/B Smart Orbit, resolução 4 e 128 varreduras (64 varreduras de fundo), para a análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier das nanopartículas obtidas;

- Espectrofotômetro (Perkin-Elmer, Fiber Optic – UV/Vis), utilizado para os testes de solubilidade e taxa de encapsulação;
- Estufa de circulação (Marconi, modelo MA 030), para a secagem das amostras;
- Estufa de circulação (Quimis, modelo Q314) para a secagem das amostras;
- Funil de vidro para a alimentação dos componentes das reações no reator;
- Homogeneizador de alta pressão (Artepeças, modelo APLAB-10 - 1.000 Bar), usado para o preparo da miniemulsão;
- Irradiador UV Atlas modelo Suntest CPS+, equipado com filtro UV Special Glass, empregado para análises de FP UVA das formulações fotoprotetoras;
- Liofilizador (CHRIST modelo BETA 1-16), utilizado na secagem das amostras obtidas por miniemulsão;
- Microscópio Eletrônico de Transmissão (JEOL, modelo JEM 2100F, de 100kV), para análise da morfologia das nanopartículas poliméricas;
- Microscópio Eletrônico de Varredura (JEOL, modelo JSM 5300), para análise da morfologia das nanopartículas poliméricas. As fotomicrografias foram processadas em um analisador de imagens (Zeiss);
- Papel alumínio para preparo das cápsulas de acondicionamento das amostras de látex durante os ensaios de gravimetria;
- Papel de filtro (Qualy, gramatura 80, maioria dos poros com diâmetro de 14 μm), utilizado na etapa de filtração;
- Pipeta Pasteur, para preparo das soluções diluídas das amostras contendo nanopartículas;
- Placa de agitação (IKA C-MAG HS 7), para preparo das soluções empregadas;

- Potenciômetro (Analyser, modelo pH300M), para avaliação do pH das formulações fotoprotetoras desenvolvidas;
- Reator de vidro, com capacidade de 1.000 ml, utilizado para as reações de polimerização;
- Tubos de ensaio de vidro com capacidade de 10 ml, utilizados nas reações de polimerização via miniemulsão, para obtenção das nanocápsulas de óleo de andiroba.
- Unidade filtrante descartável Millex™ HV com 0,45 µm, membrana durapore PVDF, para filtração das amostras antes de submetê-las à análise por HPLC.

4.2 Reagentes

Todos os reagentes abaixo discriminados foram utilizados conforme recebidos, não tendo sido feito qualquer preparo prévio ou purificação adicional.

- Acetona P.A., fornecida pela VETEC Química Fina, usada na limpeza dos materiais após o término das reações;
- Água destilada usada no preparo das soluções $K_2S_2O_8$, Lauril Sulfato de Sódio e $NaHCO_3$.
- Bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$), fornecido pela PROQUIMIOS, teor: 97%, usado como tampão na polimerização em emulsão;
- Clorofórmio deuterado ($CDCl_3$), fornecido por Cambridge Isotope Laboratories Inc., utilizado na solubilização das amostras para a análise de RMN;

- Dimetacrilato de Etilenoglicol (EGDMA), fornecido pela Vetec Química Fina, utilizado como agente reticulante nas reações de obtenção das nanocápsulas de óleo de andiroba;
- Etanol P.A., fornecido pela Vetec Química Fina, usado no preparo das soluções de leitura no espectrofotômetro UV-Vis;
- Hidroquinona, fornecida pela Vetec Química Fina, teor: 91%, usado como inibidor da reação de polimerização;
- Lauril sulfato de sódio (LSS), fornecido pela PROQUIMIOS, teor: 100%, usado como emulsificante da polimerização em emulsão;
- Lecitina, fornecida pela Alfa Aesar, utilizada como surfactante no preparo das nanocápsulas de óleo de andiroba;
- Metacrilato de metila (MMA), fornecido pela Aldrich, usado como monômero nas reações de polimerização em miniemulsão;
- Óleo de Andiroba, fornecido pela Beraca, utilizado como co-estabilizador e ativo a ser encapsulado na obtenção das nanocápsulas.
- Persulfato de Potássio ($K_2S_2O_8$), fornecido pela Merck Indústrias Químicas, teor: 94%, usado como iniciador nas reações de polimerização;
- Tetrahidrofurano (THF) grau HPLC/Spectro, fornecido pela Tedia Company Inc., usado na análise de GPC, como fase móvel e na solubilização das amostras;

4.3 Filtros Solares

Os filtros solares selecionadas para o trabalho foram:

- Benzofenona-3 (BZ-3), doado pela Spectrum[®], teor (99,8%);

- Butil metóxi-dibenzoilmetano ou Avobenzona (AVO): doado pela Spectrum[®], teor (99,3%);
- 3-(4-metilbenzilideno) cânfora (MBC): adquirido da Galena[®], teor (100%).

4.4 Preparo das Nanopartículas de Óleo de Andiroba

O estudo de preparação de nanopartículas de óleo de andiroba foi desenvolvido por meio de parceria existente entre a Universidade Federal do Rio de Janeiro e a Universidade Federal de Santa Catarina, juntamente com a Rede Brasileira de Colóides Poliméricos (RBCP). O estudo foi realizado com o objetivo de treinamento e aprimoramento da técnica de polimerização via miniemulsão.

A escolha pelo óleo de andiroba foi devido ao fato de este ser um ativo de origem natural de grande interesse para as indústrias farmacêutica e cosmética, possuir ação antiinflamatória, analgésica, principalmente em dores reumáticas e artrite (PENIDO *et al.*, 2006a) e antialérgica, além de servir como repelente de insetos (MIOT *et al.*, 2004; MENDONÇA *et al.*, 2005), devido aos seus compostos bioativos (PENIDO *et al.*, 2006b). Por ser muito hidrofóbico, o óleo de andiroba é adequado para atuar como co-estabilizador, reduzindo a degradação difusional das gotas de monômero. Por não ser um solvente do polimetacrilato de metila, este óleo também é adequado para a formulação de nanocápsulas.

As reações de polimerização ocorreram em ampolas de vidro, com temperatura controlada por um banho termostático. Inicialmente, pesaram-se os componentes da fase orgânica (MMA, lecitina, 2,2'-azobis-isobutironitrila - AIBN, óleo de andiroba e, em alguns casos, dimetacrilato de etilenoglicol - EGDMA), de acordo com receita adaptada de trabalhos anteriores do mesmo grupo de pesquisa (ROMIO *et al.*, 2007; ROMIO *et al.*,

2009) e descrita na Tabela 4.1. A fase orgânica foi agitada por 20 minutos com agitador magnético. Em seguida, a fase orgânica foi adicionada à fase aquosa (água) e a dispersão foi agitada por mais 15 minutos com agitador magnético. Para o preparo da miniemulsão foi utilizado um dispersor de ultrassom por 4 minutos a 60% de amplitude. Para minimizar o aumento da temperatura durante a dispersão, fato que pode favorecer a decomposição do iniciador e conseqüentemente antecipar o início da reação de polimerização, foi utilizado um banho termostático, na temperatura de 10°C.

Tabela 4.1: Composição dos experimentos das nanopartículas de óleo de andiroba.

Experimentos	1	2	3	4	5	6
Água Destilada (g)	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000
Óleo de Andiroba (g)	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	4,200
MMA (g)	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	1,800
Lecitina (g)	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120
AIBN (g)	0,070	0,210	0,023	0,070	0,070	0,070
EGDMA (g)	0	0	0	0,060	0,150	0,090
Temperatura de Reação (°C)	70	70	70	70	70	70
Experimentos	7	8	9	10	11	
Água Destilada(g)	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000	
Óleo de Andiroba (g)	4,200	1,800	3,000	4,200	1,800	
MMA (g)	1,800	4,200	3,000	1,800	4,200	
Lecitina (g)	0,120	0,120	0,120	0,120	0,120	
AIBN (g)	0,070	0,070	0,070	0,070	0,070	
EGDMA (g)	0,090	0,210	0	0	0	
Temperatura de Reação (°C)	70	70	55	55	55	

MMA – metacrilato de metila; AIBN - 2,2'-azobis-isobutironitrila; EGDMA – dimetacrilato de etilenoglicol.

A dispersão por ultrassom, muito comum em escala laboratorial, produz ondas que causam a oscilação das moléculas situadas ao redor do sonicador. As ondas de choque produzidas e o total colapso das bolhas causam a quebra das gotículas de monômero (ASUA, 2002). Entretanto, como somente as gotas mais próximas do equipamento são diretamente afetadas pelas ondas de ultra-som, é necessário, para que ocorra a quebra,

manter uma agitação adicional, que garanta que todo o fluido passe pela região de sonicação. Porém, se o volume do vaso do processo for suficientemente pequeno, é possível trabalhar sem agitação.

As reações de polimerização foram iniciadas com o enchimento de diferentes ampolas de vidro, com capacidade de 20 ml, com a miniemulsão. Posteriormente, as amostras foram imersas em um banho termostático, a uma temperatura constante de 70 °C. Em intervalos de 10, 15 e 30 minutos, ampolas distintas, previamente identificadas, foram retiradas do banho para avaliação da cinética de reação. A reação de polimerização foi interrompida instantaneamente por meio da adição de 3 a 5 gotas de solução de hidroquinona a 1%.

4.5 Caracterização das Nanopartículas de Óleo de Andiroba

4.5.1 Análise Gravimétrica

A conversão gravimétrica pode ser definida como a razão entre a massa de polímero presente no reator e a massa de monômero alimentada. A massa de polímero foi calculada a partir do resíduo seco, obtido pela evaporação de uma amostra de látex em uma estufa provida de ventilação forçada na temperatura de 60 °C por pelo menos 12 horas. Para calcular a massa de polímero seco, foi necessário subtrair a massa de sólidos não poliméricos (emulsificantes, co-estabilizadores, iniciadores) e a massa de hidroquinona, adicionada para interromper a reação (Equação 4.1).

$$X = \frac{M_f - (M_c - M_h)}{\phi_{\text{org}} \cdot M_a}$$

(Equação 4.1)

sendo que: M_f é massa de polímero seco (contendo as massas da cápsula e de hidroquinona secas), M_c é a massa da cápsula, M_h é a massa de hidroquinona, M_a é a massa da amostra retirada do reator de polimerização e ϕ_{org} é a fração orgânica do sistema (polímero e monômero).

4.5.2 Diâmetro médio das partículas (D_p)

O tamanho médio das partículas foi obtido com auxílio da técnica de espalhamento dinâmico de luz. A amostra é iluminada por um feixe de laser e a luz espalhada pelas partículas é captada por um cabo de fibra ótica colocado sob um ângulo especificado e transmitida para o tubo fotomultiplicador e pulso amplificador/discriminador, onde é transformada em um sinal elétrico. Como as partículas mudam de posição no fluido e em respeito às demais devido ao movimento Browniano, estas interferem na intensidade de luz captada pelo detector. As partículas maiores mudam de posição mais devagar e causam uma lenta flutuação de intensidade, ao contrário das partículas menores, que se movem mais rapidamente e causam rápidas flutuações de intensidade. Estas flutuações na intensidade contêm informações sobre a taxa de difusão das partículas (FLORENCE e ATTWOOD, 2003).

As amostras de látex utilizadas para a análise do diâmetro médio das gotas e das partículas foram diluídas em água saturada de MMA (15 g/L) em uma proporção de 1 ml de látex para 3 ml de água saturada para, desta forma, evitar a difusão do monômero das gotas para o meio.

4.5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Para avaliação da morfologia e do tamanho médio das nanocápsulas sintetizadas, realizaram-se ensaios de microscopia eletrônica de transmissão (MET) em um equipamento pertencente ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – LCME, da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Foram preparadas amostras dos diferentes experimentos para análise por MET, adotando o procedimento padrão. Em uma grade, foi colocada uma gota de látex diluído em água destilada (1 ml de látex para 10 ml de água destilada). Posteriormente, as amostras ficaram secando por 5 minutos. As grades contendo as amostras foram recobertas com fina camada de carbono via “*sputter coating*”, para aumentar a estabilidade do PMMA sob o feixe de elétrons (ROMIO *et al.*, 2009). Em seguida, as amostras foram analisadas no microscópio eletrônico de transmissão.

4.6 Caracterização dos Filtros Solares

Os diferentes filtros solares selecionados para o trabalho passaram por testes de caracterização para garantir suas características originais:

- Benzofenona-3 (BZ3): proteção contra radiações UVA e UVB (SHAATH, 2007);
- 3-(4-metilbenzilideno) cânfora (MBC): proteção contra radiação UVB (SHAATH, 2007);
- Butil metóxi-dibenzoilmetano ou Avobenzona (AVO): proteção contra radiação UVA (SHAATH, 2007).

4.6.1 Teste de Estabilidade Térmica

O teste de estabilidade térmica foi realizado por termogravimetria (TGA). As amostras foram submetidas a uma faixa de temperatura de 25 a 700 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min. Nestas análises foi utilizado nitrogênio como gás de purga na vazão de 50 mL/min.

4.6.2 Análise do espectro de absorção na região ultravioleta

Utilizando o espectrofotômetro (Perkin-Elmer, Fiber Optic – UV/Vis), os espectros no ultravioleta foram obtidos realizando a leitura em triplicata de soluções etanólicas de 0,01 mg/ml de cada um dos filtros estudados, para determinação do comprimento de onda onde a absorção é máxima (λ máx). Os parâmetros utilizados foram: varredura de 400 a 200 nm, fenda com 2,0 cm e intervalo de amostragem 1,0 nm.

4.7 Preparo das Nanopartículas Poliméricas Carregadas com Filtro Solar

Os componentes iniciais e as concentrações empregadas para o preparo das nanopartículas de PMMA carregadas com filtro solar foram baseados em trabalhos anteriores do mesmo grupo de pesquisa (BESTETI, 2011; FONSECA, 2012) e estão descritos na Tabela 4.2. A temperatura reacional variou de 70 °C a 90 °C. A agitação foi de 1000 rotações por minuto e o tempo total de reação ficou entre 2 e 4 horas.

Tabela 4.2: Receita da polimerização em miniemulsão com filtros solares.

Componentes	Função	Massa (g)
Dispersão de lauril sulfato de sódio (LSS)	tensoativo	5,0 de LSS + 50,0 de água destilada
Solução de bicarbonato de sódio	agente tamponante	0,3 de NaHCO ₃ + 31,0 de água destilada
Solução de persulfato de potássio	iniciador	0,3 e 0,6 de K ₂ S ₂ O ₈ + 31,0 de água destilada
Água destilada	solvente	115,0
MMA	monômero	100,0
BZ3, MBC ou AVO	filtro solar	5,0 a 50,0

MMA – metacrilato de metila; BZ3 – benzofenona-3, MBC – metilbenzilideno cânfora; AVO – avobenzona.

O primeiro procedimento a ser realizado foi o preparo das soluções (LSS, NaHCO₃, K₂S₂O₈), agitadas por 20 minutos. A solução de LSS sofreu um ligeiro aquecimento (40 °C) para que o LSS solubilizasse completamente. Posteriormente, solubilizou-se o filtro solar (BZ3, MBC ou AVO) no monômero (MMA) e iniciou-se a dispersão, com adição posterior das soluções de LSS e de NaHCO₃ e da água destilada. Este processo de agitação em placa magnética foi mantido por 30 minutos. Após a etapa de dispersão da mistura, iniciou-se a etapa de preparo da miniemulsão, realizada em homogeneizador de alta pressão APLAB-10 / 1.000 bar da Artepeças. Após verter a mistura para o equipamento (Figura 4.1), procedeu-se a homogeneização por 20 minutos com pressão variável (600 a 100 bar), a uma vazão de 10.000 m³/h. Apenas na última etapa, que é a polimerização propriamente dita, adicionou-se a solução de K₂S₂O₈ (iniciador), para impedir que o processo de formação de polímeros fosse iniciado precocemente. A mistura líquida (miniemulsão) então foi adicionada ao reator (Figura 4.2) por um orifício na tampa, também utilizado para

posicionar a haste do agitador, coletar amostras e alimentar a solução de iniciador, inserir o termômetro, conectar o condensador e retirar alíquotas durante o processo.



Figura 4.1: Homogeneizador de alta pressão.



Figura 4.2: Unidade Experimental.

O controle da agitação foi realizado por meio de um agitador mecânico modelo RW20D2Mn, da marca IKA Labortechnik, alimentado por um motor de corrente contínua com comando digital e operando a 1000 rpm em todas as diferentes reações realizadas. A temperatura do meio reacional foi mantida entre 70 °C e 90 °C, com auxílio de um banho termostático. Com o intuito de evitar liberação do monômero do meio reacional por evaporação e arraste, um condensador resfriado a 10 °C foi conectado ao reator.

Após o preparo do látex final contendo as nanopartículas de filtro solar, o produto formado foi seco por liofilização a uma temperatura de -50 °C e com vácuo de 0,4 mbar, ou com utilização de estufa a 50 °C. Como estas técnicas de secagem geram aglomeração das partículas, que podem interferir no seu desempenho posterior (FONSECA, 2012), decidiu-se por utilizar a própria emulsão formada como matéria-prima para o preparo das formulações fotoprotetoras.

4.8 Caracterização das Nanopartículas de PMMA com Filtro Solar

4.8.1 Análise Gravimétrica

Utilizou-se a mesma técnica já descrita para a caracterização das nanocápsulas de óleo de andiroba. O único diferencial foram os equipamentos, de marcas diferentes, utilizados com os mesmos objetivos já citados anteriormente.

4.8.2 Cromatografia de Permeação em Gel (GPC)

A cromatografia de permeação em gel, também conhecida como cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), é usada para a determinação das massas molares médias e da distribuição de massas molares de polímeros. Esta técnica separa o polímero em frações com diferentes massas molares. À medida que a solução polimérica atravessa uma coluna recheada com gel poroso, as moléculas vão sendo separadas de acordo com o seu volume hidrodinâmico, que é o tamanho efetivo em solução. As moléculas maiores eluem primeiro, já que não conseguem penetrar nos poros do recheio. As partículas menores penetram em diversos poros e demoram mais para sair da coluna (MEEHAN *et al.*, 2003).

É fundamental que o polímero a ser analisado seja completamente solúvel no solvente selecionado (como, por exemplo, o tetrahydrofurano (THF), o tolueno ou a

dimetilformamida). Já a coluna e o seu recheio não devem idealmente interagir com o polímero nem com o solvente empregado, para que a separação ocorra exclusivamente por conta do tamanho da molécula.

Para as análises dos polímeros obtidos, foram pesados 0,15 mg de amostra e dissolvidos em 3 ml de THF. Em seguida, a solução obtida foi microfiltrada, utilizando-se membranas de teflon com 0,45 μm de diâmetro de poro. Após essa etapa, injetaram-se, cerca de 300 μl no cromatógrafo, descrito anteriormente. As análises foram conduzidas a 35 °C, usando-se THF como fase móvel.

4.8.3 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Este método termoanalítico tem sido utilizado por diferentes autores com o objetivo de avaliar a existência de interação entre o polímero e os ativos em teste, nas diferentes formulações de nanopartículas. Com auxílio desta técnica é possível obter informações tanto sobre a morfologia do polímero cristalino como sobre o estado de dispersão sólida ou molecular da substância que está associada ao sistema polimérico (GAMISANS *et al.*, 1999; MAINARDES *et al.*, 2006).

Foram pesados 3,0 mg das diferentes amostras a serem analisadas: filtros solares (BZ-3, MBC e AVO), PMMA, nanopartículas obtidas e misturas físicas, obtidas por meio da trituração em gral de porcelana de cada um dos filtros com o PMMA. Cada uma das amostras pesadas foi acondicionada em cadinhos de alumínio com tampa furada e levadas para análise por DSC em um calorímetro, descrito na Seção 4.1. As amostras foram submetidas a uma faixa de aquecimento de 25 °C a 200 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/min. Nitrogênio foi utilizado como gás de purga numa vazão de 80 ml/min e um cadinho

de alumínio vazio foi empregado como referência. Foi usada a segunda rampa de aquecimento para eliminação de história térmica.

4.8.4 Taxa de Encapsulação dos Filtros Solares (Doseamento)

Este ensaio teve o objetivo de determinar a quantidade de filtro solar que foi realmente encapsulada e foi realizado com auxílio do espectrofotômetro UV-Vis, utilizando soluções preparadas com, aproximadamente, 0.1 g de amostra em balão volumétrico de 100 ml, completados com etanol. Já a solução padrão foi preparada pesando-se, em torno de 0,01 g em balão volumétrico de 100 ml, completados com o mesmo solvente. Posteriormente, retirou-se alíquota de 1 ml da solução padrão para balão volumétrico de 10 ml. Todas as soluções preparadas permaneceram em banho de ultrassom por 20 minutos, antes de serem avolumadas, com o intuito de permitir a completa solubilização. As leituras foram realizadas nos comprimentos de onda máximos de cada um dos filtros utilizados.

4.8.5 Cromatografia Gasosa (CG)

A pesquisa de monômero residual foi realizada por cromatografia a gás de acordo com as condições cromatográficas abaixo:

- Detector: FID a 250 °C;
- Gás de arraste: Hélio;
- Vazão de ar comprimido: 320 mL/min;
- Vazão de hidrogênio: 32 mL/min;
- Split: 30 mL/min;
- Coluna: DB-5, 30 m X 250 µm X 0,25 µm;

- Temperatura da coluna: 300 °C.

Todas as soluções contendo amostra e padrão foram preparadas com adição do padrão interno (PI), preparado pesando-se em torno de 1500 mg de octanol para balão volumétrico de 200 ml, utilizando etanol como diluente. Para as análises, pesa-se, aproximadamente, 1,0 g de amostra em balão volumétrico de 10,0 ml, com adição de 1,0 ml da solução de padrão interno e 5 ml de etanol. Posteriormente, as amostras foram levadas ao ultrassom por 10 minutos, sendo o volume completado com o mesmo solvente.

Para essa análise foi preparada uma curva padrão com seis pontos. Primeiramente, foi feita uma solução-mãe de MMA, pesando-se em torno de 5,0 g para balão volumétrico de 100 ml com etanol. Retirou-se uma alíquota de 5,0 ml para balão volumétrico de 25 ml. A partir desta solução foram feitas as seguintes diluições:

- 1: 1 ml para balão volumétrico de 100 ml com 10 ml da solução do PI;
- 2: 1,5 ml para balão volumétrico de 50 ml com 5 ml da solução do PI;
- 3: 1,25 ml para balão volumétrico de 25 ml com 2,5 ml da solução do PI;
- 4: 1,75 ml para balão volumétrico de 25 mL com 2,5 ml da solução do PI;
- 5: 2,25 ml para balão volumétrico de 25 ml com 2,5 ml da solução do PI;
- 6: 2,75 ml para balão volumétrico de 25 ml com 2,5 ml da solução do PI.

4.8.6 Análise Morfológica

Todas as nanopartículas obtidas foram analisadas no MEV (equipamento descrito na Seção 4.1), para que, dessa forma, fosse possível observar e diferenciar as morfologias e os tamanhos de partículas obtidos. O detector empregado foi de elétrons secundários (ETD). Uma ponta de espátula contendo a amostra foi adicionada a uma fita dupla face

devidamente aderida ao suporte. Antes de expostas ao feixe de elétrons, as amostras foram metalizadas com ouro em atmosfera de argônio e alto vácuo. A espessura final da camada de ouro foi de, aproximadamente 300 μm .

4.8.7 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia de infravermelho geralmente é utilizada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra. A técnica é baseada no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, correspondentes a níveis de energia diferentes, chamados níveis vibracionais. Tais frequências, com comprimentos de onda localizados entre 4000 e 41400 cm^{-1} , dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular e das massas dos átomos. As frequências de ressonância observadas quando amostras são submetidas à incidência da luz infravermelha constituem uma “impressão digital” dos grupamentos químicos constituintes (SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

Foram preparadas amostras das nanopartículas de PMMA carregadas de filtro solar, das nanopartículas sem incorporação de filtro solar, de cada um dos filtros solares (BZ3, AVO e MBC). O preparo destas amostras consistiu na pesagem de, aproximadamente 7 mg, dispersas em 150 mg de KBr. Após o preparo, as amostras foram levadas ao espectrômetro descrito na seção 4.1, onde foi realizada varredura do espectro entre 500 e 4000 cm^{-1} por reflectância difusa.

4.8.8 Diâmetro Médio de Partículas

A técnica de espalhamento de luz também foi utilizada para caracterizar o diâmetro médio das partículas de PMMA contendo os filtros solares, assim como realizado com as

nanopartículas de óleo de andiroba. As amostras foram preparadas introduzindo-se uma gota da emulsão diretamente na cubeta de quartzo. O volume da cubeta foi preenchido com água destilada. As amostras foram cuidadosamente homogeneizadas com uma pipeta Pauster e introduzidas no equipamento para leitura.

4.9 Preparo das Formulações Fotoprotetoras

As formulações fotoprotetoras foram desenvolvidas sob a forma de emulsão, pelo processo tradicional de preparo, por meio do aquecimento da fase oleosa, a 75,0 °C e da fase aquosa, a 80,0 °C (PRISTA *et al.*, 1996). Posteriormente, verteu-se a fase aquosa sobre a oleosa, para evitar a perda causada pela retenção dos componentes no recipiente onde foi realizado o aquecimento e a mistura. A emulsão cremosa foi a forma de apresentação escolhida para as formulações antissolares propostas por ser uma forma farmacêutica cosmética facilmente obtida e por apresentar um alto índice de aceitação pelos consumidores. Na Tabela 4.3 está descrita a composição do creme base e a função de cada um dos componentes da fórmula.

Tabela 4.3: Fórmula farmacêutica do creme base.

<i>FASE OLEOSA</i>	Função	Concentração (% p/v)
Álcool Cetoestearílico Etoxilado	Emulsionante	3
Ácido Esteárico	Agente de Consistência	8
Estearato de Isoctila	Emoliente	7
Monoestearato de Glicerila	Co-emulsionante	3
Solução de Metilisotiazolinona e Fenoxietanol	Conservante	0,3
<i>FASE AQUOSA</i>	Função	Concentração
Aminometilpropanol – 95%	Agente Alcalinizante	0,3
Glicerina	Umectante	5
Fosfato de Hidroxipropilamido	Agente Gelificante	1
Água Purificada	Solvente	qsp 100

Um total de quatro diferentes formulações foram manipuladas, sendo que duas continham as nanopartículas sintetizadas com os filtros solares e as outras duas, com função controle, foram preparadas somente com os mesmos filtros solares sob a forma livre. Todas as formulações manipuladas continham o filtro solar MBC, já que esta é a única das substâncias escolhidas com considerável proteção UVB. Sendo assim, as amostras continham ou MBC livre ou nanopartículas carregadas com MBC em sua composição, cuja principal ação é anti-UVB, além de BZ3 ou AVO.

Na Tabela 4.4, estão apresentadas as 4 diferentes formulações que foram desenvolvidas e, posteriormente, avaliadas, com relação à segurança, qualidade e eficácia. A concentração de cada um dos filtros solares foi a máxima permitida pela legislação em vigor (ANVISA, 2006) – 10% de BZ3; 4% de MBC e 5% de AVO; porém é importante destacar que durante o preparo das amostras 1 e 3, ou seja, as formulações contendo as nanopartículas, realizou-se previamente o cálculo das quantidades a serem pesadas, visto que se decidiu utilizar a suspensão ao invés das partículas secas. Sendo assim, considerou-se para o cálculo a alta concentração de água na preparação.

Tabela 4.4: Composição de filtro solar nas formulações fotoprotetoras.

1	2	3	4
NP BZ3 (10%) + NP MBC (4%)	BZ3 livre (10%) + MBC livre (4%)	NP AVO (5%) + NP MBC (4%)	AVO livre (5%) + MBC livre (4%)

NP = nanopartículas de PMMA; BZ3 = benzofenona-3; AVO = avobenzona; MBC = metilbenzilideno cânfora.

Durante a manipulação das formulações, optou-se por adicionar as nanopartículas carregadas com os filtros solares (amostras 1 e 3) na fase aquosa e não na oleosa, como tradicionalmente é feito nas preparações contendo filtro livre. Este fato se justifica pela alta concentração de água na suspensão de nanopartículas produzidas.

Após a manipulação das formulações antissolares, foram armazenados 50 g de cada uma, a temperatura ambiente (25 °C) em recipientes plásticos e protegidos do calor e da umidade.

4.10 Avaliação dos Caracteres Organolépticos das Formulações Fotoprotetoras

As características organolépticas constituem um indicativo da qualidade de uma preparação semi-sólida, assim como podem detectar possíveis alterações nesta forma farmacêutica. O simples exame visual funciona como um sinalizador, por vezes perfeito, da homogeneidade da preparação. A cor e o aroma geralmente caracterizam o estado de conservação da preparação, já que uma mudança nestes é um possível indício de alteração (OLIVEIRA, 2009). As amostras armazenadas das formulações fotoprotetoras foram visualmente avaliadas no momento logo após o preparo e após 30 dias de produção.

4.11 Determinação do pH das Formulações Fotoprotetoras

Em uma preparação para aplicação cutânea, a determinação do pH constitui um parâmetro extremamente importante, uma vez que cada produto deve apresentar valor de pH compatível à região em que será aplicado. O pH da superfície da pele é em torno de 4,5 e contribui nos mecanismos de defesa. Esse valor pode variar de uma região a outra

podendo chegar a 7,2. Assim, em aplicações tópicas é importante levar em conta as variações do pH da pele, pois pode interferir na boa tolerância dos produtos aplicados sobre esta (CAMPOS e FRASSON, 2011; ANVISA, 2012).

A determinação potenciométrica do pH é feita pela medida da diferença de potencial entre dois eletrodos adequados, imersos na solução em análise. Um destes eletrodos é sensível aos íons hidrogênio e o outro é o eletrodo de referência, de potencial constante (Farm. Bras. IV, 1988).

Antes do início da análise, o aparelho foi aferido com soluções-tampão pH 7,0 e pH 4,0 (Merck), à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$), que permitem linearidade nas respostas em relação às alterações de potencial observadas. As amostras 1, 2, 3 e 4 foram analisadas utilizando potenciômetro descrito na Seção 4.1.

4.12 Análise do Teor dos Filtros Solares nas Formulações Fotoprotetoras

O ensaio de teor é realizado com o objetivo de determinar a quantidade de uma substância numa formulação ou o teor de uma matéria prima. Esta técnica é conhecida como a quantificação da substância presente numa amostra.

A quantificação por CLAE é uma metodologia bastante versátil e prática, podendo ser totalmente automatizada. Além disso, tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (GUIMARÃES *et al.*, 1997). Especificamente, na separação e determinação de filtros solares existem muitos ensaios descritos por CLAE (IKEDA *et al.*, 1989; GAGLIARDI *et al.*, 1989; VANQUERP *et al.*, 1999; RASTOGI *et al.*, 1998; SALVADOR

et al., 2003; CHISVERT e SALVADOR, 2002; DINUNZIO e GADDE, 1990; SCALIA, 2000; SMYRNIOTAKIS e ARCHONTAKI, 2003; RIBEIRO, 2004).

Utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de arranjos de fotodiodos (CLAE-DAD), os filtros solares das formulações foram quantificados com base na determinação da curva padrão e nos sinais obtidos em cada uma das formulações desenvolvidas. O método empregado para esta análise foi baseado em trabalho anterior, do mesmo grupo de pesquisa, e está descrito na Tabela 4.5 abaixo (RIBEIRO, 2004).

Tabela 4.5: Condições cromatográficas.

Fase Estacionária	Coluna de fase reversa Symmetry 3,9 x 150 mm CLC-ODS (Waters) – octadecil silano, granulação de 5 µm.
Fase Móvel	CH ₃ CN:H ₂ O pH=2,70 por H ₃ PO ₄ (93:07)
Vazão	1,0 mL/min
Injeção de Amostra	20 µL
λ de quantificação	304 nm e 330 nm
Temperatura do forno de coluna	30 °C
Tempo de corrida	7 minutos

As amostras foram preparadas pesando-se 40,0 mg das formulações contendo BZ3 e MBC (livres ou em nanopartículas de PMMA) e 50,0 mg das formulações contendo AVO e MBC (livres ou em nanopartículas de PMMA) para balão volumétrico de 50,0 mL. O diluente usado foi a própria fase móvel. As soluções padrão foram preparadas pesando-se

5,0 mg de cada um dos filtros solares (BZ3, AVO, MBC) para balão de 50,0 mL. A partir destas soluções, retiraram-se alíquotas para balões volumétricos de 10 mL com fase móvel, a fim de caracterizar uma curva com 5 pontos nas seguintes concentrações: 0,100; 0,075; 0,050; 0,025; 0,010 mg/ml.

4.13 Avaliação da Segurança das Formulações Fotoprotetoras

A segurança das formulações cosméticas pode ser avaliada baseada nas técnicas *in vitro*, empregando um modelo bicompartimental (conhecido como célula de difusão vertical) e/ou pele natural (humana ou animal) (WISSING e MULLER, 2002; SIMEONI *et al.*, 2004; JIMENEZ *et al.*, 2004; MARTINI e SEILLER, 2006) e técnicas *in vivo*, como a irritação dérmica primária e cumulativa.

O estudo do perfil de liberação *in vitro* das formulações desenvolvidas foi realizado em condições experimentais adaptadas de Alvarez-Román *et al.* (2001), Monteiro (2008), Santis (2008), Soares (2009) e Nascimento (2011), utilizando um sistema de difusão vertical com membrana artificial de acetato de celulose, com poros de 0,2 μm , acoplada a dois compartimentos (doador e receptor). A área de difusão foi de 5,73 cm^2 e o volume do compartimento receptor foi de 10 mL. A solução receptora foi composta por meio aquoso de tampão fosfato salino pH 7,4 (TF) contendo 1,0 % de LSS .

Inicialmente, promoveu-se a hidratação das membranas artificiais, em três recipientes com água destilada a 100 °C, por cinco minutos em cada. O sistema foi constituído de um banho de água termostaticado a 37 °C em recipiente de vidro posicionado sobre uma placa de agitação de 6 pontos. Neste banho, colocaram-se 6 béqueres de 50 mL cada. A seguir, acoplou-se um recipiente com as membranas artificiais, de modo a separar os meios, receptor e doador, observando a ausência de bolhas nas membranas.

Com o auxílio de barras magnéticas, os meios receptores foram mantidos sob agitação constante a 900 rpm, por 30 minutos, com o intuito de estabelecer o equilíbrio entre a membrana e a solução receptora. Posteriormente, as amostras foram aplicadas no compartimento doador (em torno de 500 μL) com o auxílio de pipeta automática para semi-sólidos. A difusão ocorreu sob condição de quantidade infinita de ativo. Em intervalos de tempo pré-estabelecidos, alíquotas de 2 mL foram retiradas do meio receptor, filtradas em filtros cilíndricos de polietileno de 10 μm (membrana Millex[®] de 0,45 μm), conectados à seringa e transferidos diretamente para os *vials*. O passo-a-passo do ensaio de liberação está apresentado na Figura 4.3. Houve então a reposição do volume do meio receptor com tampão fosfato. A quantificação dos filtros solares liberados na solução receptora foi realizada a cada 30 minutos por 3 horas. O fluxo foi definido por avaliação quantitativa de ativo transportado do compartimento doador para o receptor por unidade de área e por unidade de tempo.

Posteriormente, as amostras foram analisadas em cromatografia líquida de alta eficiência, de acordo com as condições estabelecidas na Seção 4.12. A quantidade dos ativos liberada foi dividida pela área de exposição da membrana e esses valores foram representados como uma função do tempo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) para visualização do perfil de liberação do fármaco.

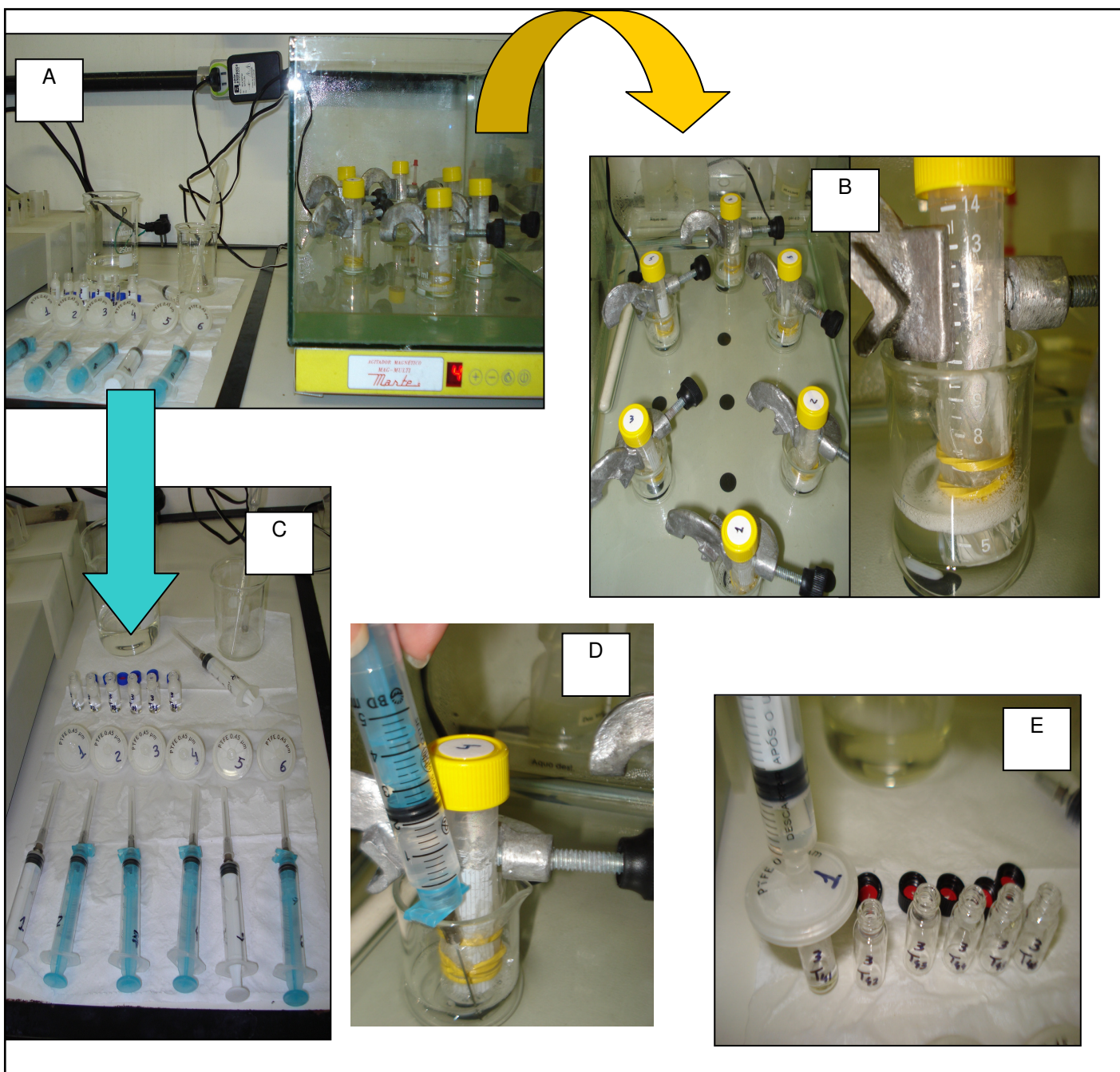


Figura 4.3: Ensaio de Liberação *in vitro*. A – Visão geral do sistema de liberação adaptado. B - Sistema de difusão vertical com membrana artificial. C – Seringas, filtros e vials, devidamente identificados, utilizados na coleta das amostras. D – Coleta de amostra do meio receptor. E – Amostra do meio receptor, filtrada em membrana Millex[®], e transferida diretamente para os vials.

4.14 Testes de Irritação Dérmica das Formulações Fotoprotetoras

Os testes de liberação, descritos na Seção 4.13, assim como os testes de irritação dérmica primária e cumulativa, foram realizados visando à obtenção de formulações fotoprotetoras consideradas seguras. Conforme estabelecido pela ANVISA (2003). Para este, foram selecionados coelhos albinos, de aproximadamente 1,5 kg, que tiveram sua região dorsal dividida em duas diferentes áreas. Cada um dos produtos anti-solares desenvolvidos foi aplicado em uma das áreas, em quatro diferentes animais, previamente depilados, com auxílio de um tampão oclusivo, composto por gaze estéril fixada ao animal com fita adesiva (Figura 4.4). A outra área depilada serviu de controle e também foi coberta com o mesmo material. Após 4 horas de contato, o produto foi retirado, com auxílio de água. Passadas 24 e 72 horas da aplicação, foi avaliada a presença de eritema e/ou edema. No caso do ensaio para irritação dérmica cumulativa, as aplicações foram feitas seguindo a mesma técnica, por um período de 10 dias consecutivos, com frequência diária. A observação da integridade da pele dos animais foi realizada a cada 24 horas e após 72 horas da última aplicação. Ambos os testes são largamente empregados no desenvolvimento de produtos cosméticos e farmacêuticos de uso tópico (LORCA *et al.*, 2008).



Figura 4.4: Aplicação das amostras - teste de irritação dérmica.

4.15 Avaliação da Eficácia das Formulações Fotoprotetoras

A eficácia de uma formulação de filtro solar é comumente determinada *in vivo* por meio da maior ou menor proteção proporcionada contra a queimadura solar (eritema) (MILESE e GUTERRES, 2002).

Cerca de um terço dos consumidores de filtros solares selecionam o produto por causa dos dizeres da embalagem (JOHNSON e LOOKINGBILL, 1984). Sendo assim, é

imprescindível que haja uma uniformização na determinação do FPS, para que se forneça, à classe médica e aos consumidores, informações confiáveis a respeito do verdadeiro nível de proteção solar proporcionado pelo produto que estão prescrevendo ou adquirindo (ALLERGISA, 2012). Sendo assim, com o objetivo de garantir valores confiáveis de FPS, foram realizados testes para determinação de FPS *in vitro* e *in vivo* das quatro formulações desenvolvidas.

4.15.1 Determinação do FPS *in vitro*

Para o desenvolvimento de novas formulações, as metodologias *in vitro* são largamente utilizadas com o intuito de selecionar a que apresenta melhor desempenho. Isto pode ser feito de forma facilitada, com menor custo e apresentando resultados relevantes para a escolha das preparações a serem utilizadas nos estudos *in vivo*. Estes estudos são fundamentais para fins de registro e lançamento do produto no mercado cosmético, objetivando uma eficácia fotoprotetora comprovada (VELASCO *et al.*, 2011).

De acordo com o método de Mansur e colaboradores (1986), cada formulação preparada foi submetida a uma diluição, de modo a obter uma concentração final de 0,2 µl/mL em etanol P.A. Posteriormente, foi realizada a determinação da absorbância desta diluição frente ao solvente, em um espectrofotômetro. Os valores de absorbância destas amostras foram determinados nos comprimentos de onda de 290 a 320 nm, com um intervalo de 5 nm. Para o cálculo do FPS, utilizou-se a Equação 2.1, que relaciona o efeito eritematogênico e a intensidade da radiação em cada comprimento de onda (Tabela 2.2), já citada anteriormente na Seção 2.3.1.

4.15.2 Determinação do FPS *in vivo* a seco

A técnica de determinação do FPS *in vivo* é definida como a razão entre a quantidade de energia necessária para produzir um grau de eritema mínimo na pele protegida com o filtro solar e a quantidade de energia que leva ao mesmo grau de eritema na pele não protegida. A seleção da amostra para testes de FPS é baseada na suscetibilidade da pele ao eritema causado pela radiação UVB. De acordo com esta resposta, os indivíduos podem ser classificados em seis grupos, que são também chamados fototipos. Este é estimado baseado na história pessoal de queimaduras e bronzeamento, após a exposição por 30 a 50 minutos ao sol de meio dia, após um período sem exposição.

Os fototipos têm as seguintes características (PATHAK,1983):

FOTOTIPO I - Sempre se queima, nunca se bronzeia. Em geral, são pessoas de pele branca leitosa, olhos e cabelos claros, com sardas.

FOTOTIPO II - Sempre se queima, com bronzeamento mínimo. Em geral, são pessoas brancas, de cabelos e olhos claros.

FOTOTIPO III - Queima moderadamente e bronzeia-se gradualmente (bronzeado leve). Corresponde ao fototipo mais frequente das pessoas brancas.

FOTOTIPO IV - Queima pouco e bronzeia sempre (bronzeado moderado). Em geral, são pessoas com pele morena clara, cabelos e olhos escuros e orientais.

FOTOTIPO V - Raramente queima, bronzeia sempre e intensamente. Em geral, são pessoas morenas, indígenas e mulatos.

FOTOTIPO VI - Nunca se queimam, porque são profundamente pigmentados.

Para medida do FPS de um produto, determina-se a DME de cada indivíduo da amostra, pela aplicação de radiações de intensidade progressiva em áreas mapeadas do dorso. A DME corresponde ao menor tempo de exposição ou a menor dose de UV capaz de

induzir eritema minimamente perceptível 24 horas depois da aplicação (ALLERGISA, 2012). O teste foi realizado com 10 voluntários, do sexo feminino, com idades entre 31 e 58 anos (média de 41 anos), de fototipos de pele previamente estabelecidos (Tabela 4.6), seguindo o protocolo da associação europeia *The European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association* (COLIPA, 2006).

Tabela 4.6: Avaliação do fototipo da pele através do histórico (adaptado de ALLERGISA, 2012).

Fototipo	Histórico de resposta à exposição solar
I	Sempre queima facilmente, nunca bronzeia
II	Sempre queima facilmente, bronzeia ao mínimo
III	Queima moderadamente, bronzeia gradualmente

Nas costas de cada voluntário, uma determinada área é inicialmente demarcada. Um “quadrado” é então selecionado e utilizado para determinação da DME na pele não tratada. Após 16 a 24 horas, a formulação contendo o filtro solar padrão é aplicada na região previamente estabelecida, enquanto a formulação a ser testada é aplicada no “quadrado” adjacente. Após 20 minutos da aplicação do produto, inicia-se a irradiação com uma lâmpada UV de 300 W. Todos os locais de teste são avaliados depois de determinado período de exposição, para determinar a resposta eritematosa mínima.

Os testes *in vivo* foram conduzidos segundo as Normas de Boas Práticas Clínicas, aplicáveis aos requisitos regulatórios e em conformidade com os Procedimentos Operacionais Padrão da Allergisa, seguindo os princípios da Declaração de Helsinski, e de acordo com as regulamentações aplicáveis, incluindo o ICH E6: *Good Clinical Practice* (ALLERGISA, 2012). A seguir, apresenta-se o cronograma de procedimento para cada voluntário.

- Dia 1: Obtenção do consentimento; avaliação dermatológica; irradiação da DME na pele não-protegida provisória;
- Dia 2: Avaliação dos eritemas da DME na pele não-protegida provisória (16 a 24 h após a irradiação);
- Dia 3: Aplicação do produto e controle; irradiação do produto, controle e pele desprotegida;
- Dia 4: Avaliação dos eritemas (16 a 24 h após a irradiação).

4.15.3 Determinação de FP UVA *in vitro*

Inicialmente acreditava-se que a radiação UVA não causasse danos à pele. Porém, sabe-se hoje que esta radiação participa nos processos de fotoenvelhecimento cutâneo e promoção de alguns tipos de tumores (CERETTA *et al.*, 2012; CHINEM e MIOT, 2012). Sendo assim, protetores solares que tenham alto FPS, mas baixa proteção UVA, podem prejudicar a saúde dos usuários, na medida em que os encorajam a ficarem expostos por mais tempo ao sol, sem bloquear os raios UVA.

O método publicado em 2007, pela Associação Europeia das Indústrias de Cosméticos, Fragrâncias e Produtos de Higiene (Colipa) e revisado em 2011, foi desenvolvido para reproduzir, o máximo possível, as condições do teste *in vivo* pela metodologia da pigmentação persistente (PPD), de modo a obter um valor de fator de proteção UVA (FP-UVA) consistente com o obtido (ALLERGISA, 2012). O teste foi realizado aplicando cada uma das quatro formulações testadas sobre três placas de PMMA, com superfície texturizada, em quantidade de aproximadamente 1,3 mg/cm², espalhando-os manualmente com a ponta do dedo pré-saturado, até ser obtido um filme visualmente uniforme. A placa com o produto permaneceu em repouso por 15 minutos, ao abrigo da luz.

Posteriormente, três placas de PMMA com a amostra foram expostas a uma dose controlada de radiação UV, de modo a submeter o produto a condições próximas às do uso real. Foi empregado um irradiador UV Atlas modelo Suntest CPS+, equipado com filtro UV Special Glass. A amostra foi exposta a radiação nas faixas do UVA, UVB e visível, sendo a dose calculada de modo a fornecer uma quantidade de energia na faixa UVA. A temperatura da câmara de irradiação foi monitorada durante todo o processo, para garantir que ficasse abaixo de 40°C.

CAPÍTULO 5

Resultados e Discussão

A seguir, são apresentados e discutidos os resultados obtidos nas diferentes etapas desta tese. Em uma etapa inicial, foi realizada a síntese e caracterização de nanopartículas de PMMA carregadas com óleo de andiroba. Na segunda etapa, foi feita a preparação e a caracterização de nanopartículas de PMMA carregadas com filtros solares (BZ3, AVO e MBC). Finalmente, foi feito o desenvolvimento e a avaliação de formulações fotoprotetoras contendo as nanopartículas de PMMA carregadas com filtros solares.

5.1 Estudo do Encapsulamento do Óleo de Andiroba

Baseado nas condições de reação apresentadas na Tabela 4.1, no Capítulo 4, foram feitos ensaios experimentais. Todas as emulsões obtidas apresentaram homogeneidade, não sendo verificada visualmente separação de fases no período de 90 dias posterior à preparação do látex. Os diâmetros médios iniciais e finais encontrados nas nanopartículas foram em geral muito próximos, confirmando a estabilidade das preparações a partir da técnica de polimerização via miniemulsão. Além disso, as faixas de tamanho variaram pouco (entre 192 nm a 321 nm), de acordo com as condições de operação empregadas (concentração de iniciador, temperatura reacional e das proporções entre o óleo de andiroba e o monômero de escolha). Como esperado, as nanopartículas apresentaram tamanhos inferiores aos das gotas e algumas reações por apresentarem alterações nas concentrações de óleo de andiroba e monômero também sofreram alterações nos tamanhos. Nos

experimentos 1 a 5, as condições de preparo são similares e os tamanhos também seguiram este padrão de semelhança. Já os experimentos 8 e 11 resultaram numa maior variação de diâmetro de partículas devido à maior quantidade de MMA e maior contração de volume. Também foi possível observar que o experimento 10 apresentou o maior de todos os tamanhos de partícula, fato que pode ser explicado pela alta concentração de óleo de andiroba empregado e pela temperatura de reação mais baixa, que resultou em menor velocidade de reação e maior viscosidade. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Comparação entre tamanho das gotas e nanopartículas nos experimentos da Tabela 4.1.

Experimentos	Dp inicial – gotas (nm)	Dp final - partículas (nm)
1	220	218
2	227	210
3	218	218
4	221	211
5	225	205
6	267	265
7	266	252
8	249	193
9	256	230
10	342	321
11	249	192

Dp – diâmetro médio de partícula.

5.1.1 Efeito da concentração de iniciador

Nesta etapa, variaram-se as concentrações de iniciador, para avaliar se velocidades muito altas de reação provocariam a separação de fases, a qual dificultaria a encapsulação do óleo e/ou levaria à formação de partículas com morfologias diferenciadas (como, por exemplo, com múltiplos núcleos). Como o iniciador 2,2'-azobis-isobutironitrila (AIBN) é solúvel na fase orgânica, o aumento da concentração de iniciador tende a causar o aumento das velocidades de reação, embora o efeito final dependa das taxas de dessorção, sorção e terminação dos radicais em crescimento.

Comparando-se as evoluções de diâmetro médio de partículas (D_p) dos experimentos 1, 2 e 3, realizados com diferentes concentrações de iniciador, não foi observada qualquer modificação considerável da evolução dos tamanhos (ver Figura 5.1), o que caracteriza que as miniemulsões formadas apresentaram tamanhos de partículas estáveis e que o aumento da concentração de iniciador não levou a um aumento da concentração de partículas pelos mecanismos de nucleação micelar e homogênea. Este comportamento é perfeitamente compatível com a natureza organofílica do iniciador, que se distribui primariamente nas gotas de monômero. Vê-se, portanto, que a distribuição de tamanhos de partículas nas condições avaliadas depende primariamente do sistema de dispersão do monômero (desempenho do sonicador e do sistema de estabilização).

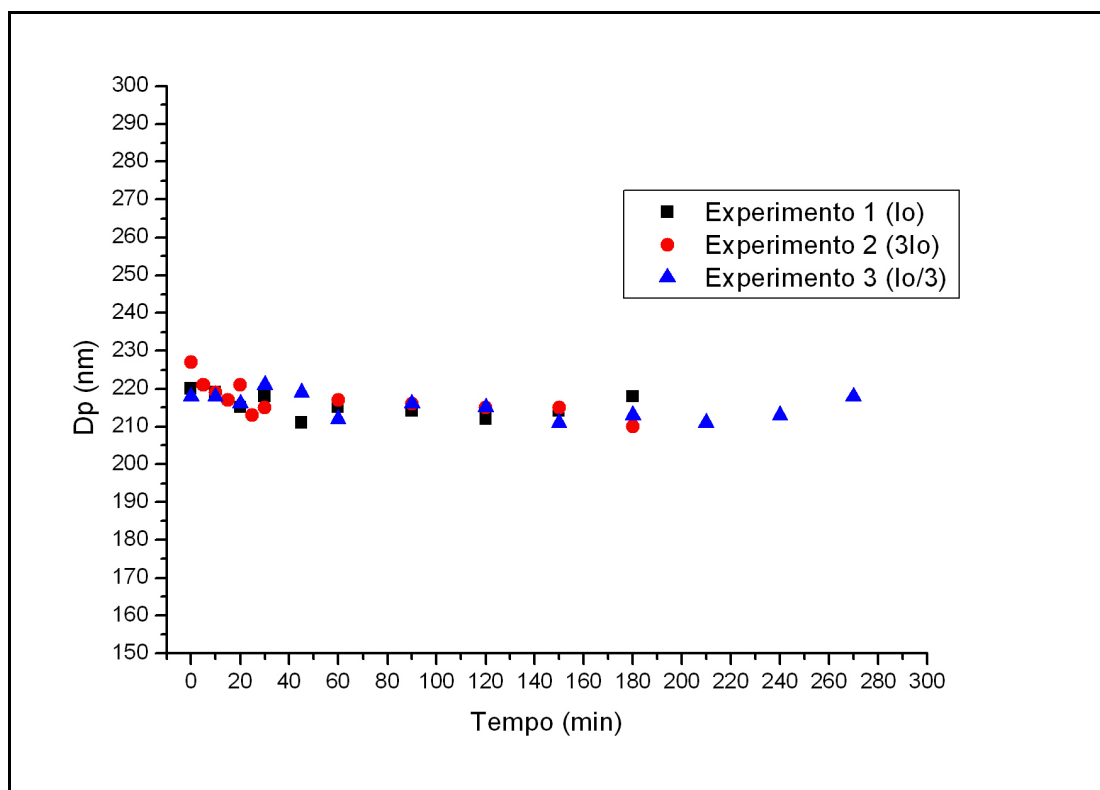


Figura 5.1: Gráfico das evoluções dinâmicas de D_p com diferentes concentrações de iniciador.

A Figura 5.2 mostra a modificação das conversões alcançadas, à medida que se varia a concentração de iniciador utilizada. O experimento 3, com menor concentração de AIBN, apresenta conversões inferiores. Estas observações estão perfeitamente compatíveis com a natureza organofílica do iniciador utilizado. Deve-se salientar que o acúmulo de iniciador nas nanogotas reduz a eficiência deste porque promove aumento das taxas de terminação. Entretanto, numa polimerização em emulsão clássica, a conversão independe das quantidades de iniciador (LOVELL e EL-AASSER, 1997), como mostrado nas reações conduzidas com maiores concentrações de iniciador.

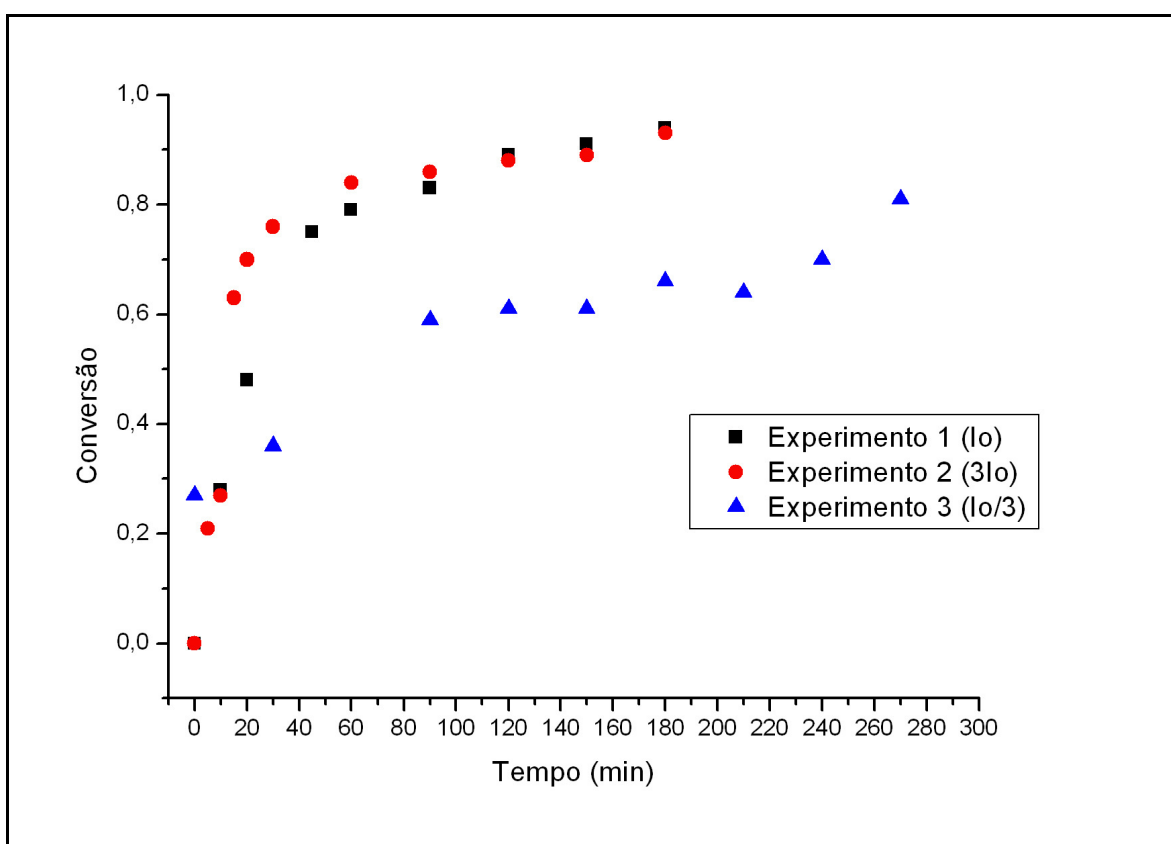


Figura 5.2: Gráfico das evoluções dinâmicas de conversão com diferentes concentrações de iniciador.

Nas reações conduzidas com maior quantidade de iniciador pode ser observada a formação de partículas com múltiplas oclusões, além das partículas com estrutura núcleo-casca mais tradicional (Figura 5.3). Isto provavelmente indica que o sistema evolui em condições distantes do equilíbrio termodinâmico, quando as velocidades de reação são elevadas. É provável que as partículas formadas inicialmente no campo de cisalhamento intenso contenham múltiplas oclusões, que coalescem para formar um único núcleo, à medida que o tempo passa. No entanto, quando a velocidade de reação aumenta, o aumento de viscosidade interna e a modificação das propriedades do meio impedem que a coalescência ocorra.

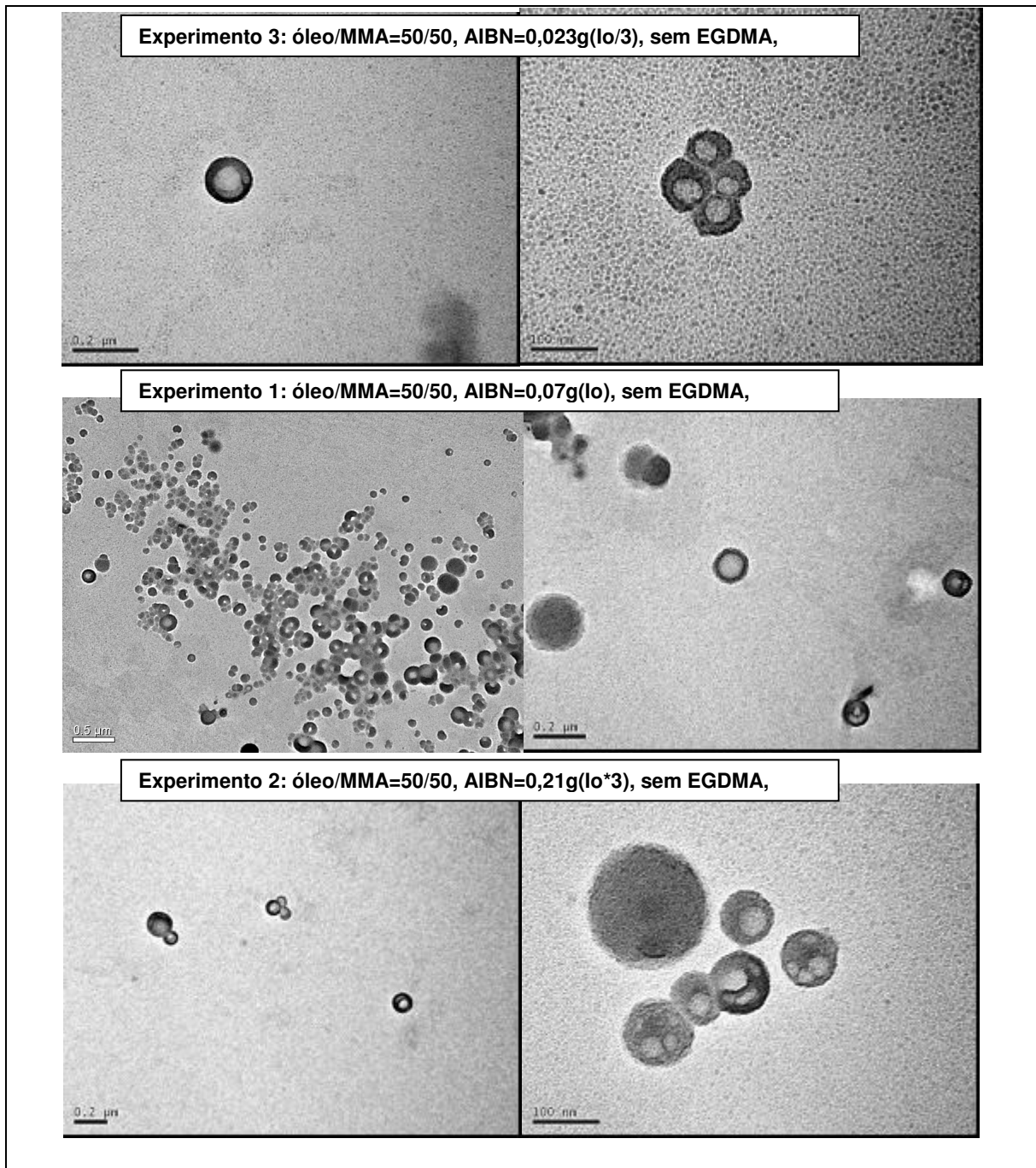


Figura 5.3: Efeito da concentração de AIBN na morfologia das partículas (sem EGDMA, óleo de andiroba/MMA = 50/50, $T=70\text{ }^{\circ}\text{C}$).

5.1.2 Efeito da concentração de agente reticulante

Visando a observar se ocorreria alteração da estabilidade das nanocápsulas formadas, foi usado um agente reticulante, o EGDMA, em concentrações de 2% e 5% em relação à massa de monômero. Comparando-se os experimentos realizados com e sem agente de reticulação (ver Figura 5.4), observou-se que os diâmetros médios das nanocápsulas formadas são essencialmente constantes. A variação está dentro do erro da medida de Dp por esta técnica, confirmando, uma vez mais, que o comportamento cinético e a estrutura interna de partículas influenciam pouco as distribuições de tamanho, que são determinadas pelos sistemas de sonicação e de estabilização do meio.

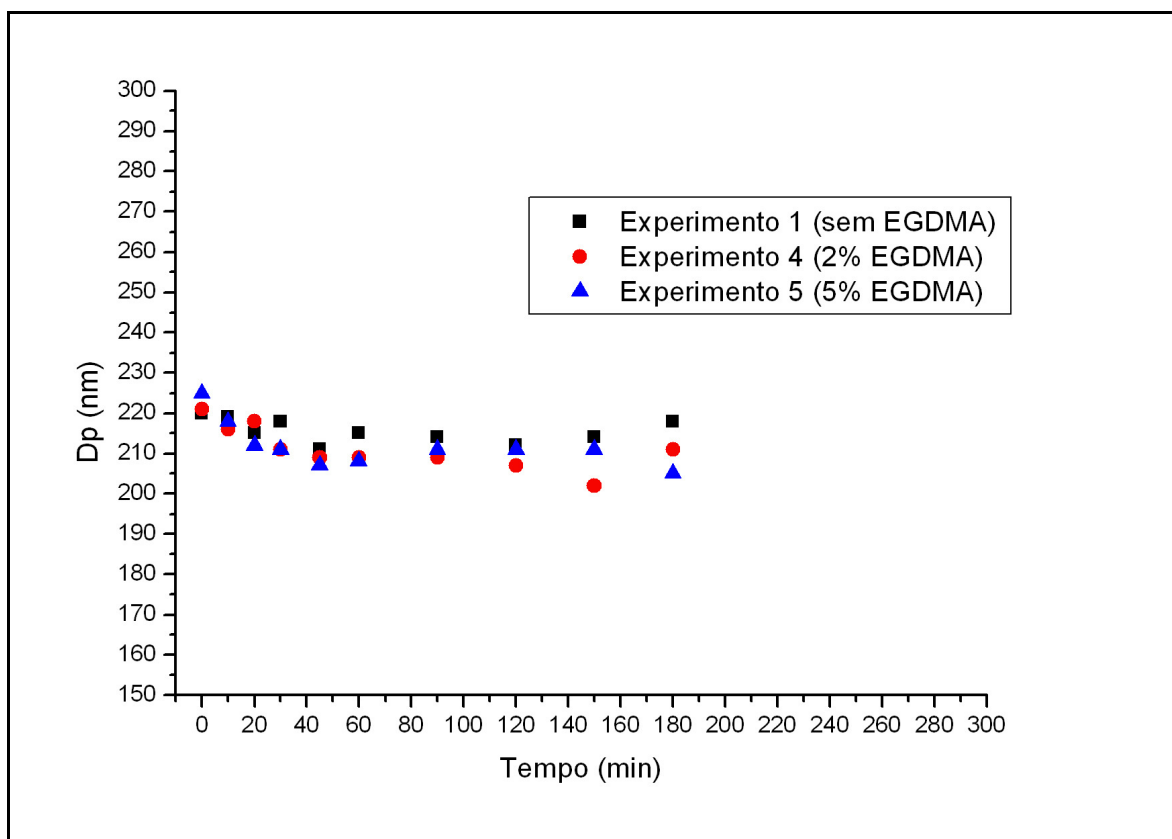


Figura 5.4: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp com diferentes concentrações de agente reticulante.

Com relação às conversões (ver Figura 5.5), observa-se também que a variação de concentração de EGDMA não promove grandes variações das conversões nos experimentos. Isto mostra que o EGDMA pouco afeta a velocidade de polimerização nas condições estudadas. Aparentemente, a morfologia das partículas também não foi afetada pela reticulação com EGDMA, já que em nenhuma destas 3 reações foi observada a formação de partículas com múltiplas oclusões, como mostrado na Figura 5.6. Portanto, a formação de múltiplas oclusões parece estar relacionada com a concentração de iniciador (e as taxas de iniciação e terminação) nas partículas.

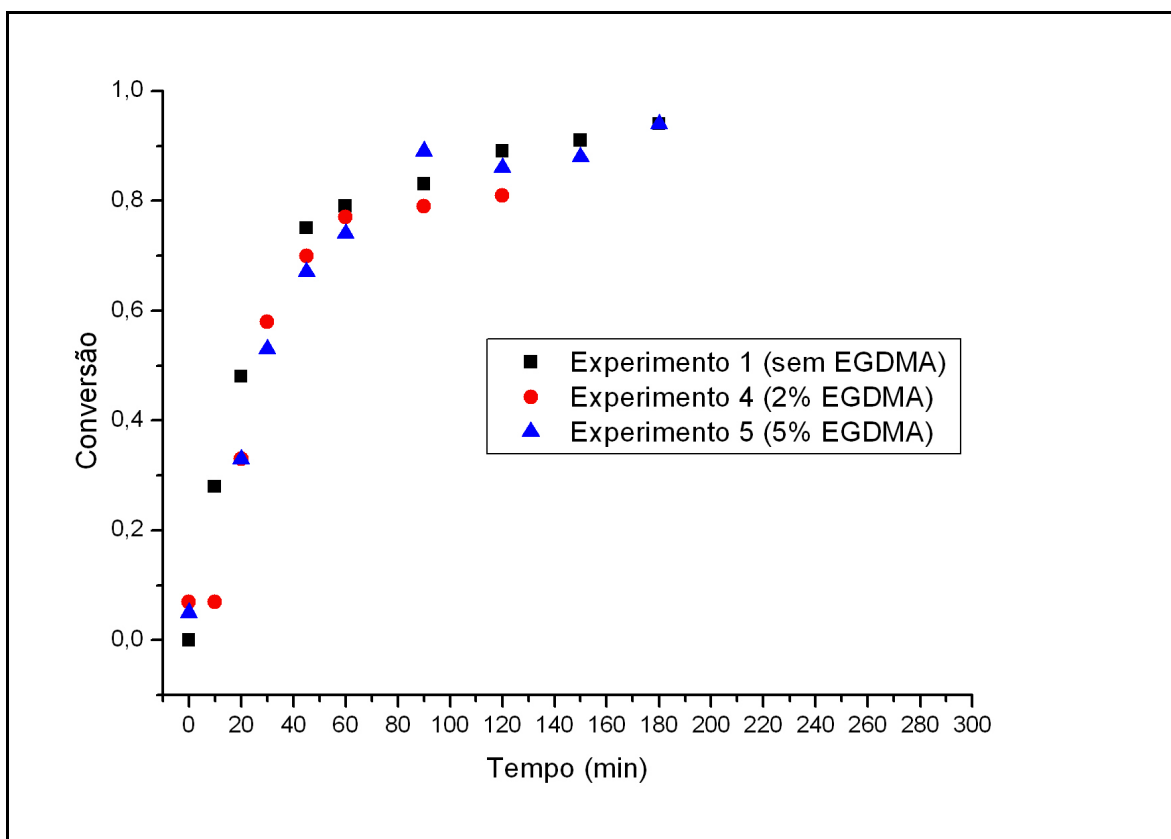


Figura 5.5: Gráfico das evoluções de conversão em diferentes concentrações de agente reticulante.

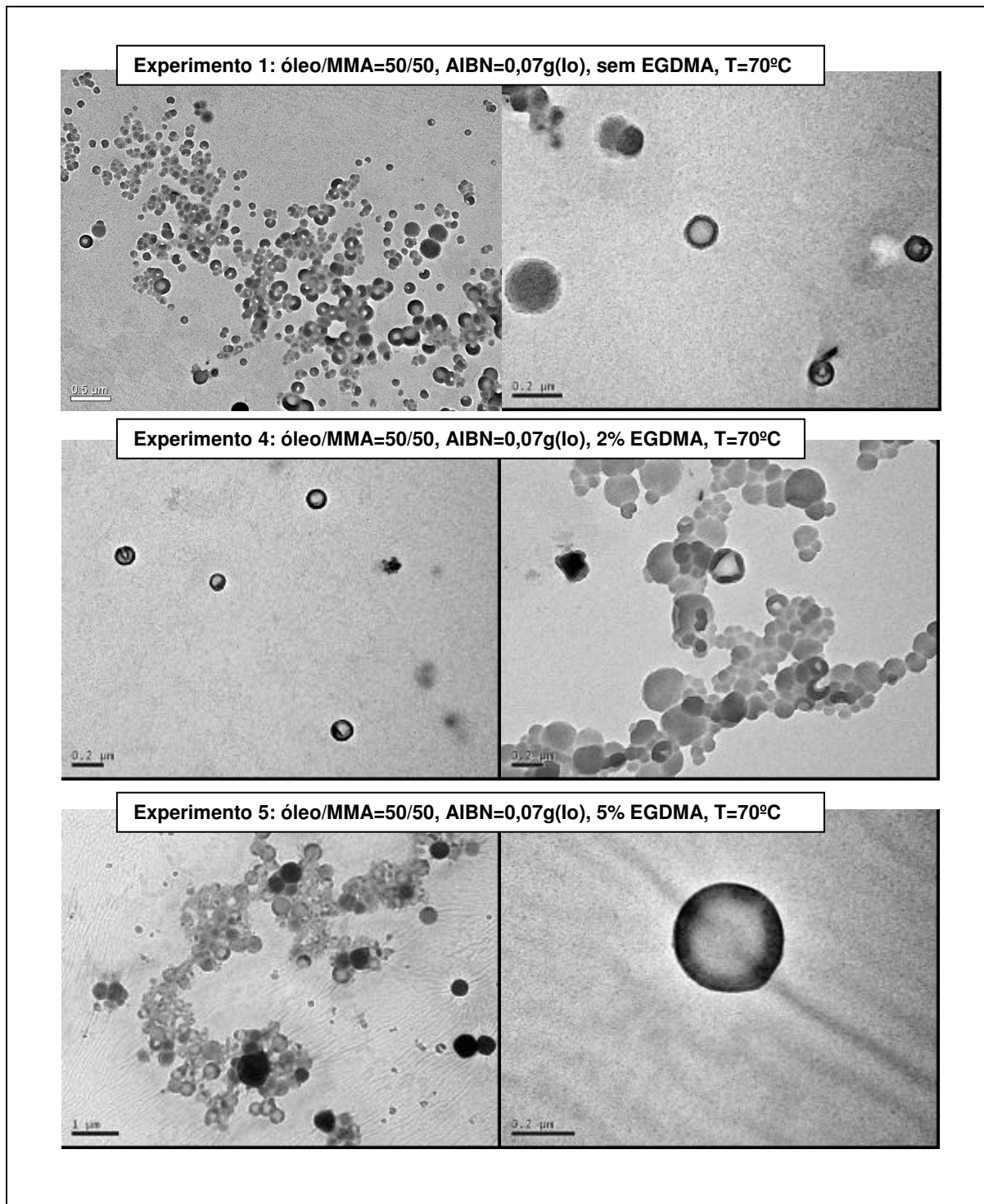


Figura 5.6: Efeito da concentração de EGDMA na morfologia das partículas (AIBN = 0,07g (1o), óleo de andiroba/MMA = 50/50, T=70 °C).

5.1.3 Efeito da relação óleo/monômero

Experimentos foram realizados com e sem adição de agente reticulante (EGDMA) em uma temperatura inferior (55 °C). Em ambas as situações houve modificação da relação óleo de andiroba / monômero (MMA), com o intuito de avaliar se é possível alterar a espessura da casca das partículas por meio da modificação das concentrações de óleo.

5.1.3.1 Reações com 5% de EGDMA em relação ao MMA a 70 °C

Nestas reações, a relação óleo de andiroba / monômero (MMA) foi modificada com o intuito de avaliar se era possível modificar a espessura da casca das cápsulas por meio da modificação das concentrações de óleo. As relações óleo de andiroba / metacrilato de metila avaliadas foram 70/30, 50/50 e 30/70, sempre com adição de 5% de agente reticulante em relação ao monômero, mantendo-se a temperatura reacional em 70 °C. Observou-se na Figura 5.7 que os diâmetros médios de partículas dependem da concentração de óleo, podendo revelar um efeito da viscosidade da fase dispersa. À medida que o teor de óleo aumenta (e a viscosidade também), observou-se o deslocamento dos diâmetros médios para valores mais altos. É interessante, também, ressaltar que a redução do teor de óleo provocou o aparecimento de uma dinâmica de fundo, indicando redução de volume das partículas.

Observando a Figura 5.8, é possível tentar relacionar a proporção de óleo de andiroba / MMA com a espessura da casca de polímero formada com a morfologia obtida. Nas micrografias do experimento 8, com menor relação óleo/monômero, observa-se a presença das mais variadas morfologias, como por exemplo, núcleo-casca, múltiplas oclusões, meia lua, esfera cheia.

Isso provavelmente tem relação com a proporção de óleo/monômero empregada, que permite a formação de casca mais espessa e reduz as taxas de coalescência dos núcleos internos, favorecendo a formação de morfologias mais complexas. Como a quantidade de iniciador utilizada foi a mesma nestas três reações, a reação realizada com mais monômero tem relação Iniciador/Monômero menor, resultando, possivelmente, em massas molares mais altas, o que também aumenta as limitações difusionais. O fato de morfologias complexas serem observadas a taxas de reação menores, mostra que a compreensão do fenômeno requer a modelagem de velocidades de coalescência dos núcleos iniciais, formados durante a dispersão das partículas.

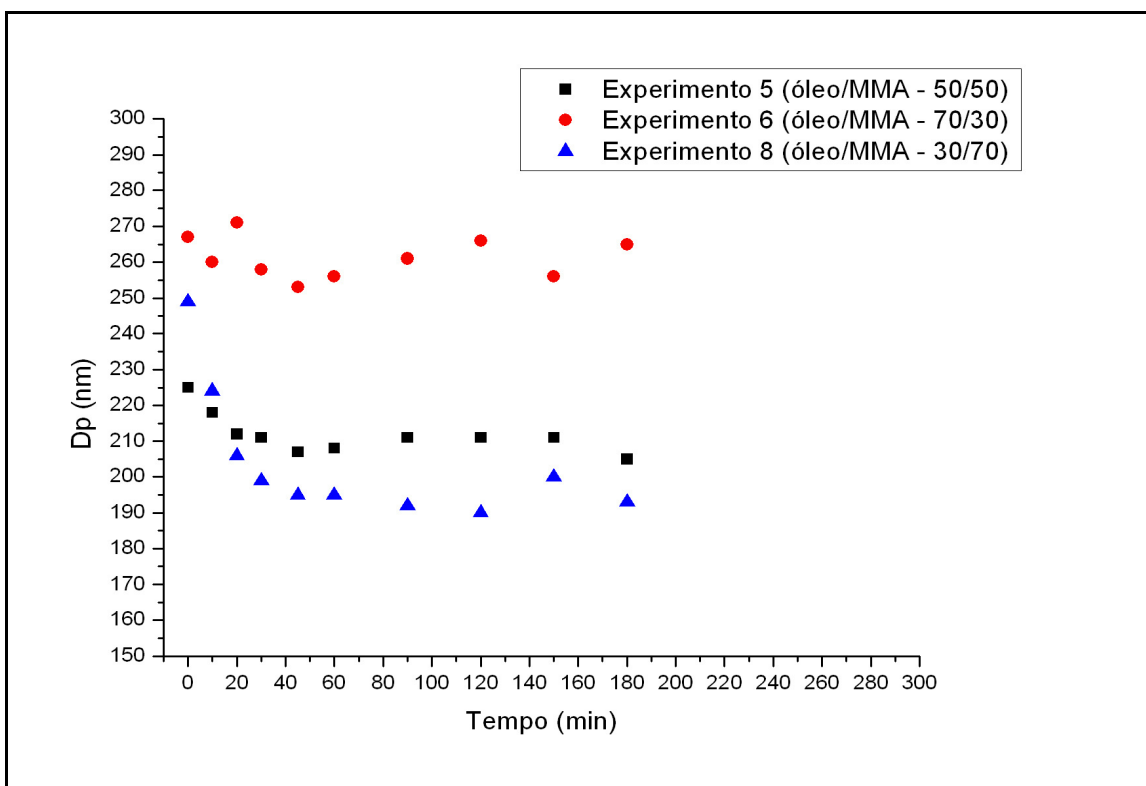


Figura 5.7: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila.

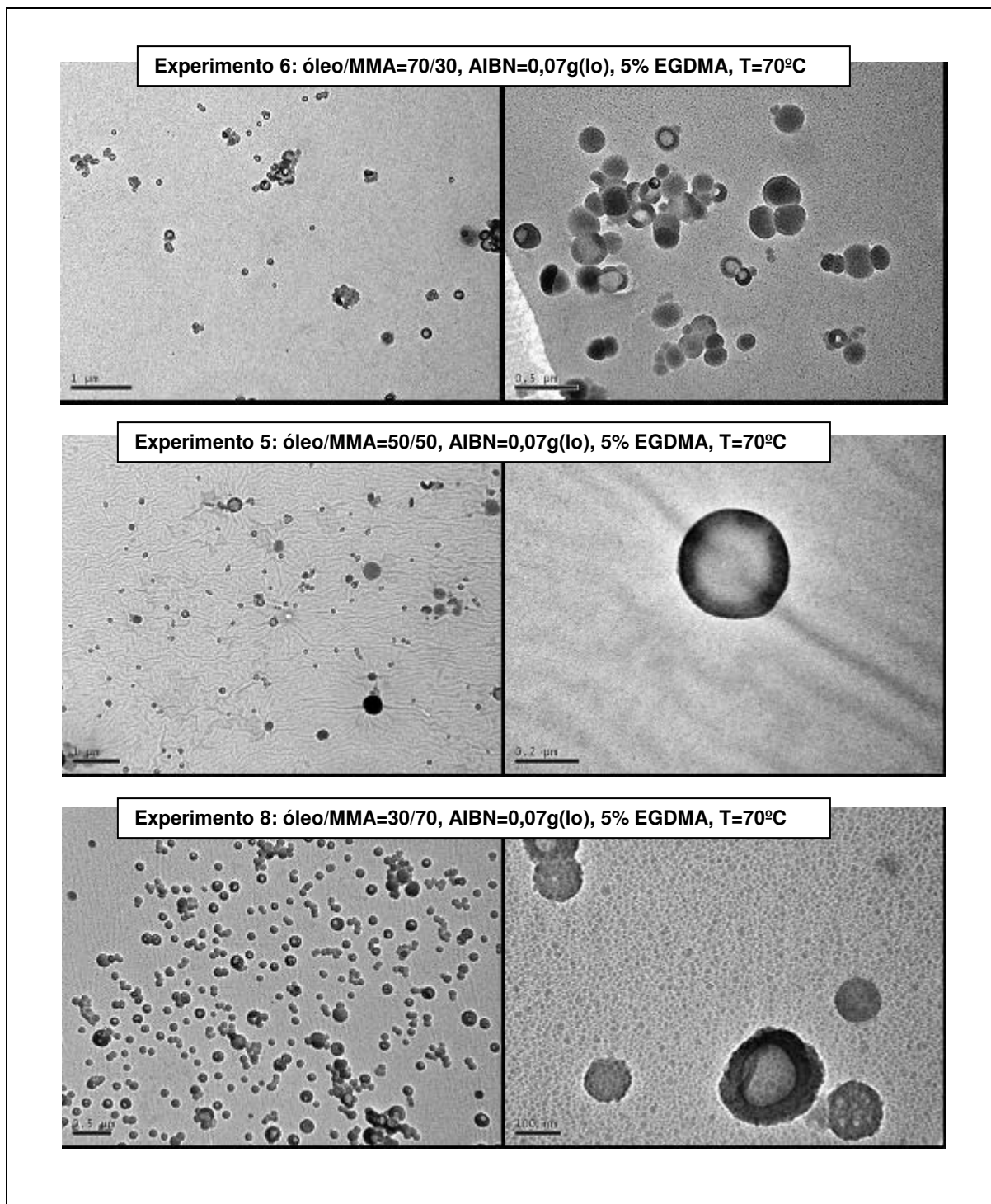


Figura 5.8: Efeito da relação óleo de andiroba/MMA na morfologia das partículas (AIBN = 0,07 g (Io), 5% EGDMA, T = 70 °C).

5.1.3.2 Reações sem EGDMA a 55 °C

Como não foram observadas grandes modificações das propriedades morfológicas nem das curvas de conversão com a adição de EGDMA, a seqüência das 3 últimas reações foi feita a uma temperatura inferior (55 °C) na ausência de agente reticulante. Desta forma, é possível avaliar a influência da conversão e da massa molar sobre as respostas (a presença de EGDMA leva à formação de material insolúvel que não pode ser analisado por GPC).

Os experimentos 9, 10 e 11 (Figura 5.9) foram realizados na mesma temperatura (55 °C), na ausência de agente reticulante, variando-se as relações entre óleo de andiroba e MMA. Comparando-se a evolução dos diâmetros médios, observa-se o mesmo resultado encontrado anteriormente para os experimentos 5, 6 e 8. A diminuição da temperatura resultou em diâmetros mais elevados, o que parece confirmar o efeito preponderante da viscosidade inicial sobre a evolução das distribuições de tamanho de partícula.

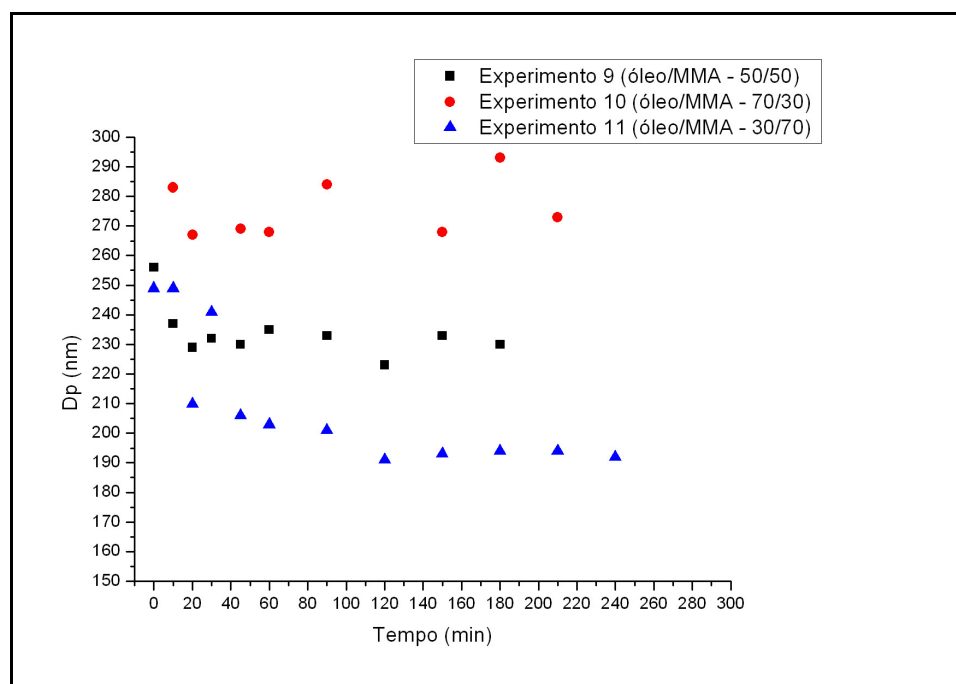


Figura 5.9: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila, T=55 °C.

Com relação à conversão, devido à menor temperatura, estas reações foram mais lentas (ver Figura 5.10). Este resultado também está de acordo com o comportamento esperado para reações realizadas com iniciadores organofílicos. O efeito do teor de óleo sobre a conversão, no entanto, é pouco claro, sugerindo que a velocidade de reação depende fundamentalmente da quantidade de iniciador disponível.

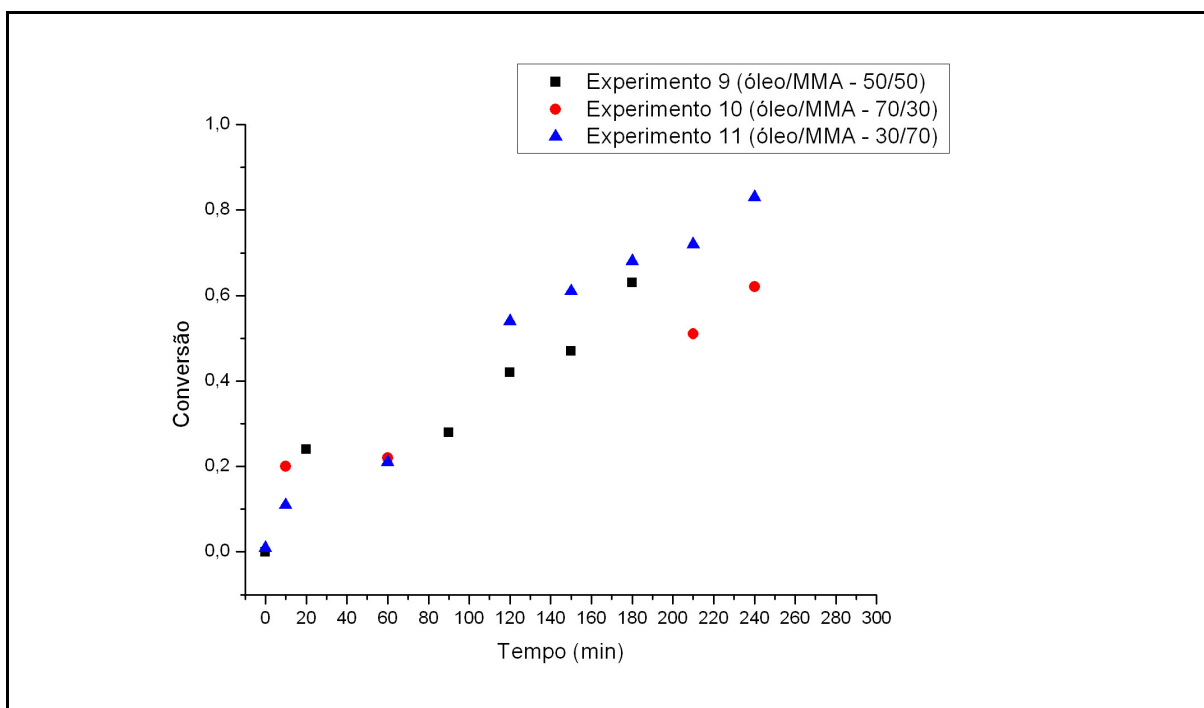


Figura 5.10: Gráfico das evoluções dinâmicas de conversão com diferentes proporções de óleo de andiroba / metacrilato de metila, T=55 °C.

Na Figura 5.11, pode ser observado que, enquanto na reação 10, realizada com maior relação óleo/monômero, houve a formação de muitas partículas com a morfologia de nanocápsulas, as micrografias dos experimentos 9 e 11 mostram muitas partículas com morfologia núcleo-casca, algumas com múltiplas oclusões. O mais provável é que a liberação ou extravasamento de óleo tenha ocorrido durante a análise, uma vez que a cobertura da amostra com um filme de carbono diminui, mas não elimina completamente, a

degradação do PMMA sob o feixe de elétrons do MET. A presença de óleo livre pode também estar relacionada aos altos teores de monômero residual das amostras finais. De qualquer forma, vê-se que as baixas velocidades de reação não permitiram obter núcleos simples de óleo, indicando que a cinética de coalescência das gotículas formadas no interior das cápsulas (e, portanto, as propriedades físicas do meio contínuo e disperso) depende bastante das condições de reação e não pode ser interpretada de forma simplista.

5.1.4 Efeito da temperatura de reação

Nos experimentos 1 e 9, usou-se a mesma concentração de reagentes, mas com diferentes temperaturas. Quanto ao diâmetro médio de partículas, observou-se pequena variação (Figura 5.12). A taxa de reação, conforme esperado, foi menor no experimento realizado na menor temperatura (55 °C) (Figura 5.13). Comparando-se experimentos em que foi variada a temperatura reacional (55 °C e 70 °C), com relação à morfologia das cápsulas obtidas, nota-se que a reação na temperatura menor leva à formação de nanocápsulas com multinúcleos. Esta observação pode ser compreendida, se levarmos em conta que durante a polimerização o óleo de andiroba é segregado do polímero formado e que as gotas de óleo coalescem gradativamente. A execução da reação a uma temperatura mais baixa leva à obtenção de um polímero com massa molar mais alta (Tabela 5.2) e uma maior viscosidade da partícula para uma mesma conversão. Esse fenômeno também aumenta a possibilidade de vitrificação da partícula, devido à maior distância da temperatura de transição vítrea do PMMA. Ou seja, estes fatores aumentam a viscosidade das partículas e, conseqüentemente, diminuem a mobilidade das gotas de óleo de andiroba, aumentando o efeito do controle cinético sobre a morfologia das partículas (Figura 5.14).

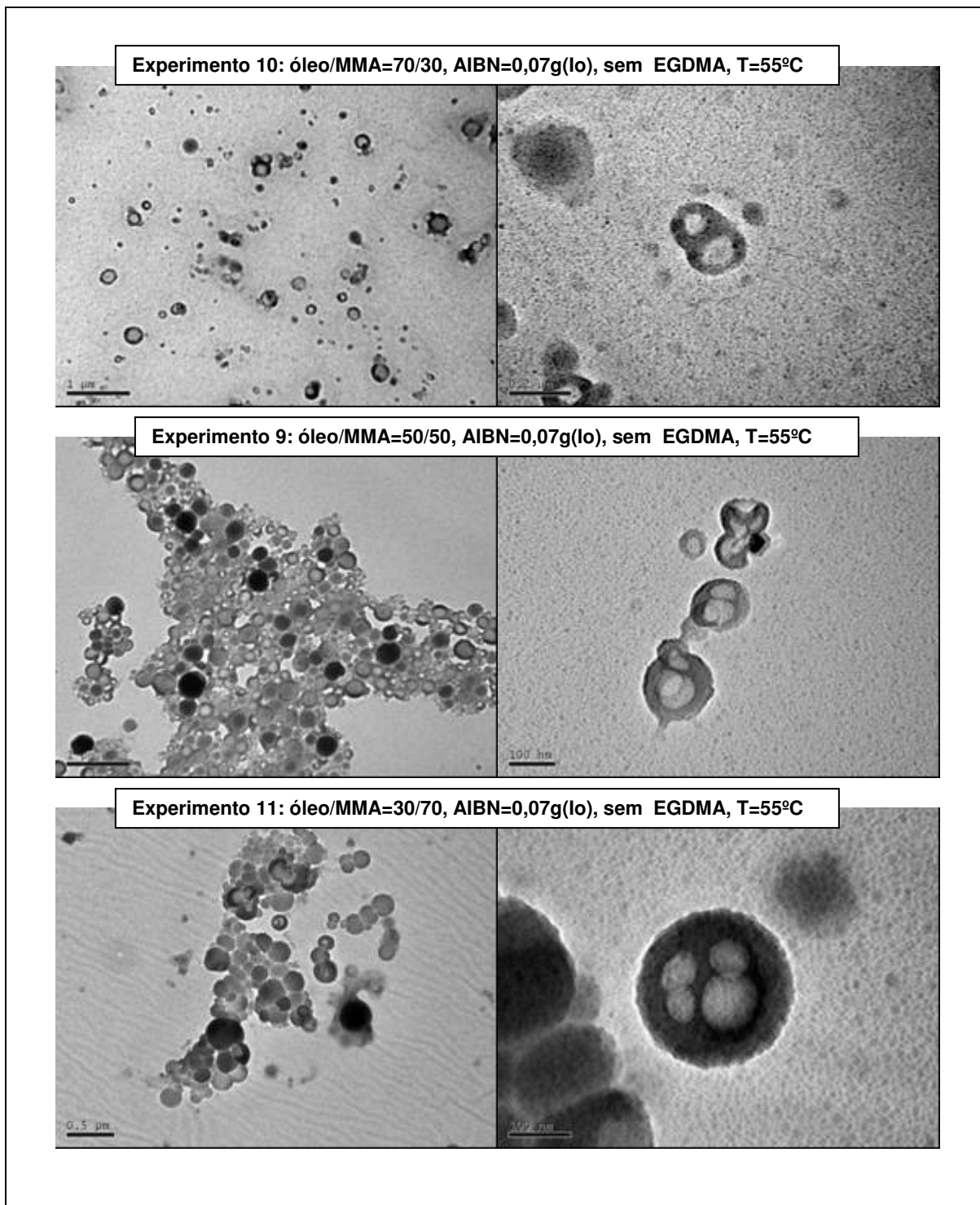


Figura 5.11: Efeito da relação óleo de andiroba/MMA na morfologia das partículas (AIBN = 0,07 g (Io), 0% EGDMA, T = 55 °C).

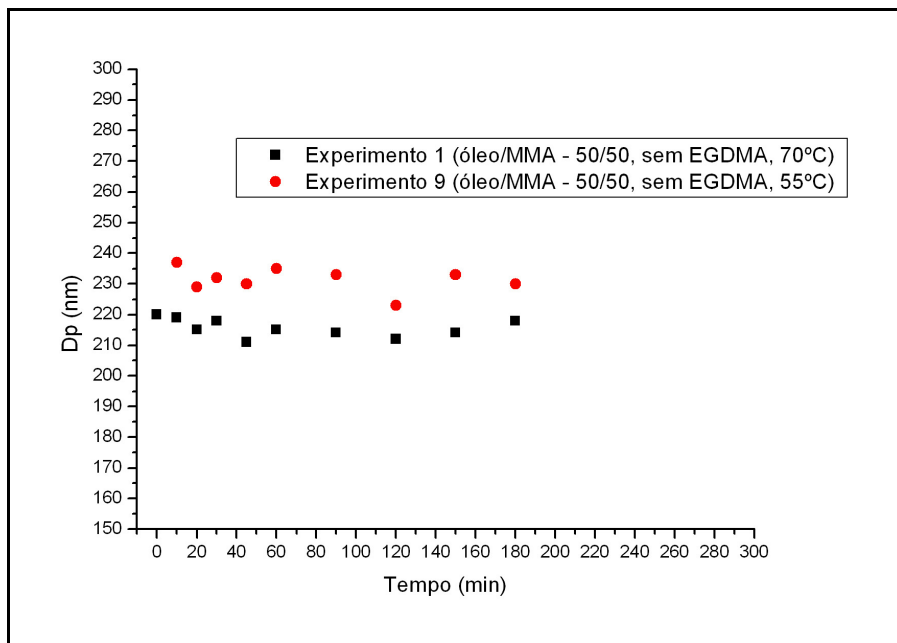


Figura 5.12: Gráfico das evoluções dinâmicas de Dp em diferentes temperaturas (70 °C e 55 °C).

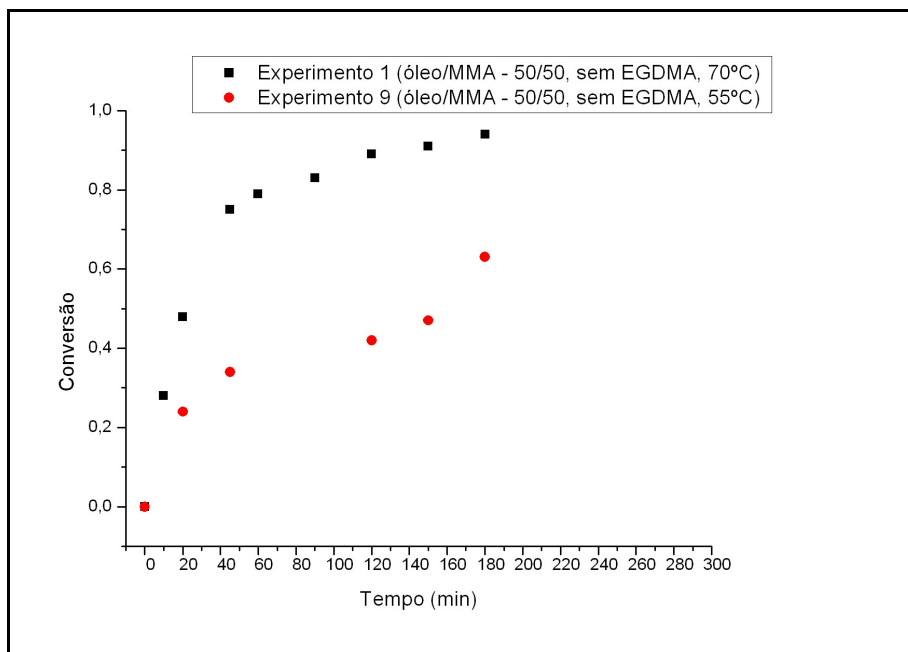


Figura 5.13: Gráfico das evoluções dinâmicas de conversão em diferentes temperaturas (70 °C e 55 °C).

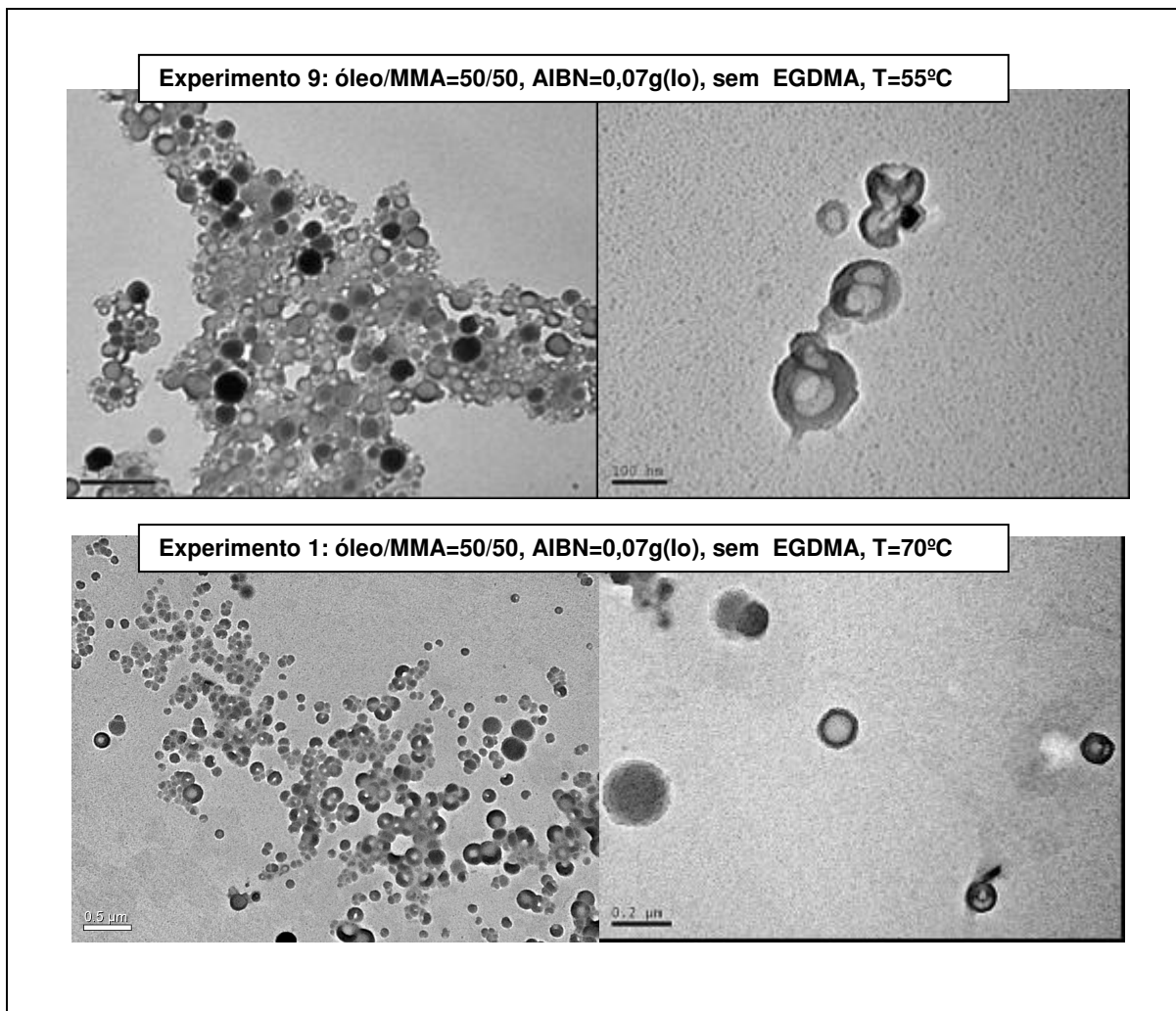


Figura 5.14: Efeito da temperatura reacional na morfologia das partículas (AIBN = 0,07 g (Io), sem EGDMA, óleo de andiroba/MMA = 50/50).

A Tabela 5.2 mostra a variação das massas molares médias para as diferentes reações. As polimerizações realizadas na presença de EGDMA produziram polímero insolúvel, prejudicando a análise de GPC e confirmando o efeito de reticulação. Nas temperaturas mais altas, as massas molares médias aumentam com a redução da concentração de iniciador, como já poderia ser esperado. Os índices de polidispersão se mantiveram próximos de 2, indicando uma cinética trivial do tipo Flory, dominada por efeitos de terminação ou transferência de cadeia para o monômero. Nas temperaturas mais altas, as massas molares aumentaram com o teor de MMA (como já poderia ser esperado,

pelas mais altas taxas de propagação) e são mais altas que nas baixas temperaturas (como já poderia ser esperado, por causa das mais baixas taxas de iniciação). Além disso, observa-se aumento expressivo dos índices de polidispersão nas temperaturas mais baixas e maiores concentrações de monômero, provavelmente por causa do aumento de viscosidade e do efeito gel característico das reações de MMA (LUCAS *et al.*, 2001).

As análises de GPC dos experimentos relacionados na Tabela 5.2 são mostrados nas Figuras 5.15 a 5.20.

Tabela 5.2: Efeito da temperatura reacional nas massas molares.

Experimentos	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	IPD
1	116.154	296.645	2.56
2	100.774	214.616	2.13
3	125.365	303.542	2.42
9	164.368	2.504.000	15.23
10	96.053	229.313	2.39
11	162.058	885.082	5.46

IPD – índice de polidispersão.

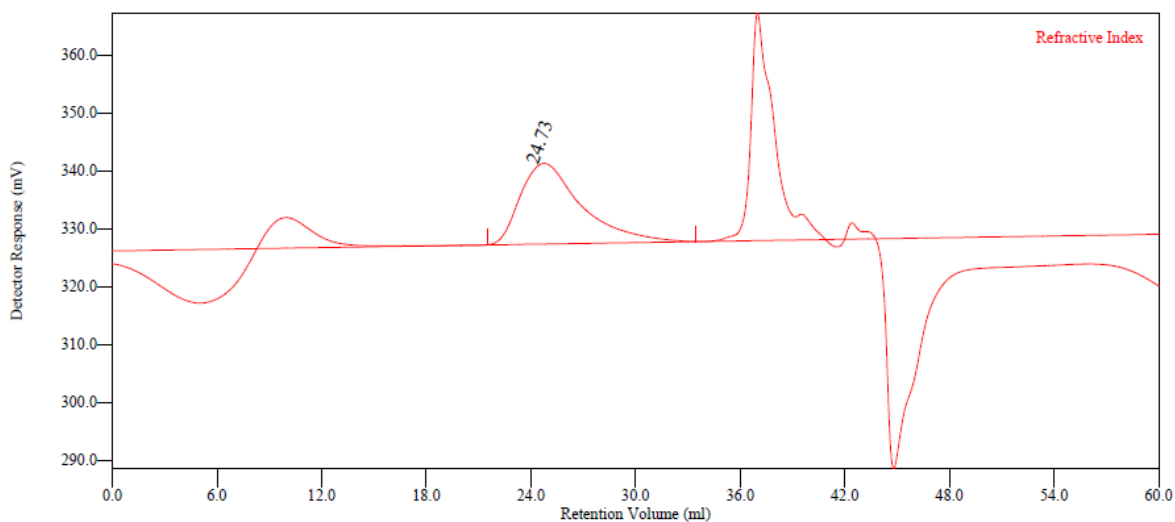


Figura 5.15: Cromatograma de GPC do experimento 1.

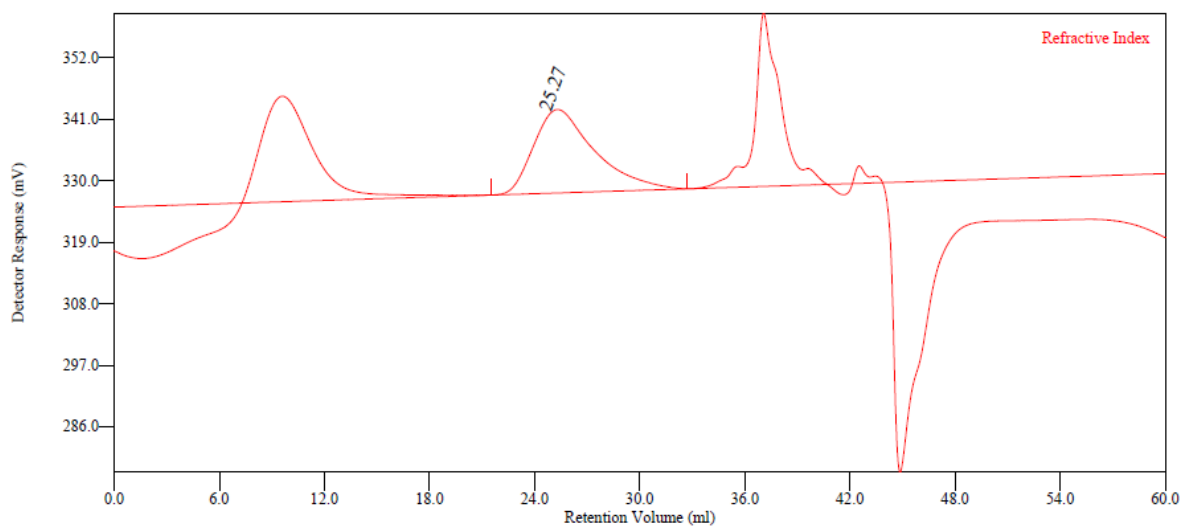


Figura 5.16: Cromatograma de GPC do experimento 2.

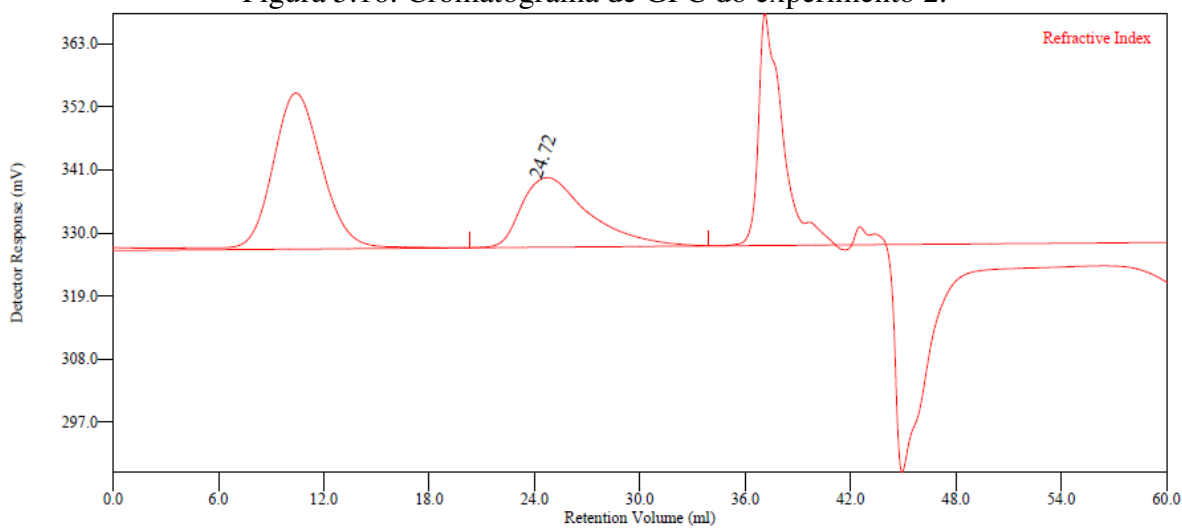


Figura 5.17: Cromatograma de GPC do experimento 3.

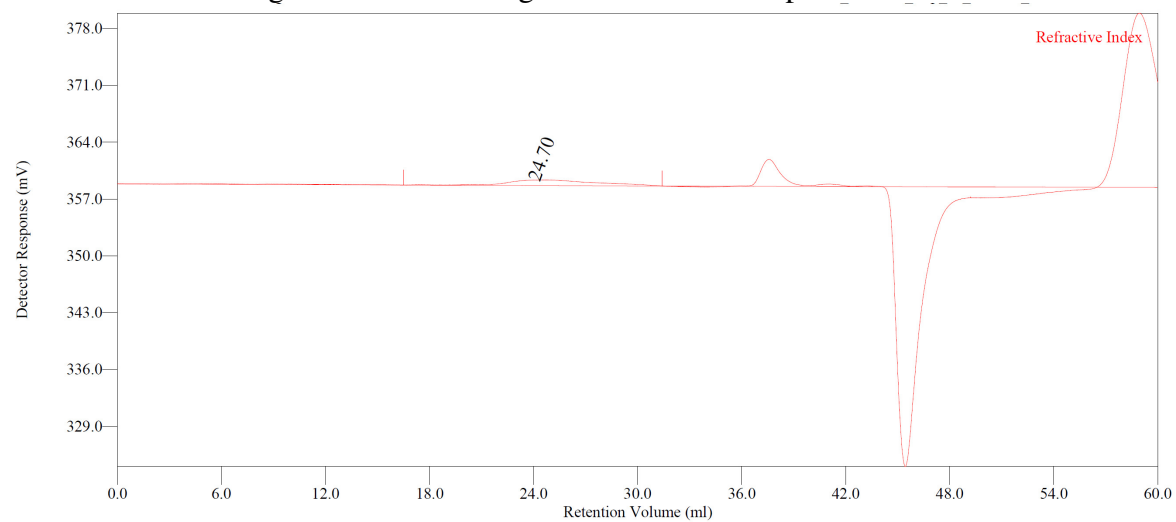


Figura 5.18: Cromatograma de GPC do experimento 9.

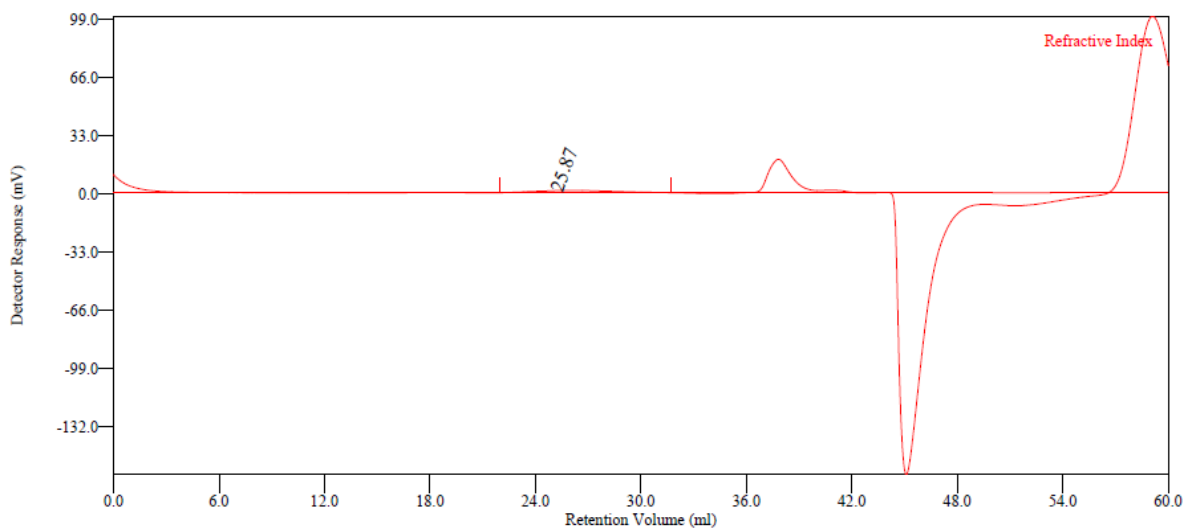


Figura 5.19: Cromatograma de GPC do experimento 10.

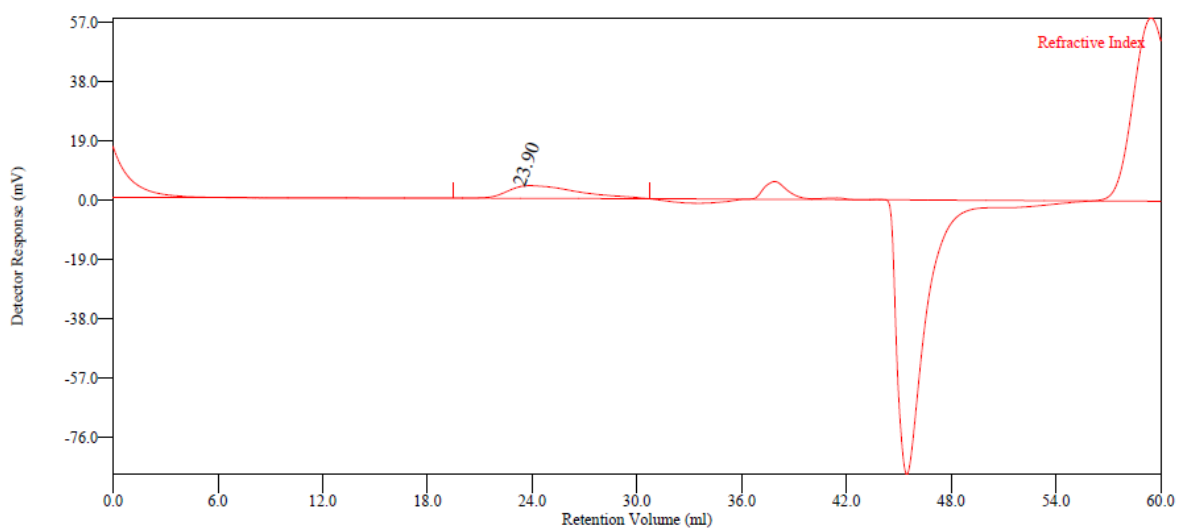


Figura 5.20: Cromatograma de GPC do experimento 11.

5.1.5 – Conclusões Parciais – Nanopartículas de Óleo de Andiroba

Os dados aqui apresentados demonstraram que é possível obter nanocápsulas de PMMA carregadas com óleo de andiroba por intermédio de reações de polimerização em miniemulsão, utilizando o óleo de andiroba como não solvente do polímero. Mostrou-se

que a concentração de iniciador, a relação óleo de andiroba/monômero e a temperatura reacional influenciam significativamente a morfologia final das nanocápsulas. A depender das condições de polimerização, podem ser formadas nanocápsulas com morfologia do tipo casca-núcleo (a morfologia mais estável termodinamicamente) ou com múltiplos núcleos (quando a viscosidade da partícula polimérica impede a coalescência das gotas de óleo de andiroba segregadas durante a polimerização). Esta observação abre oportunidades para o controle da morfologia das nanocápsulas por meio da manipulação das condições de polimerização.

5.2 Caracterização dos Filtros Solares

Na seção 5.1 mostrou-se que a polimerização do MMA em miniemulsão pode ser realizada eficientemente para a produção de nanocápsulas de óleo de andiroba. Com base nestes resultados bem sucedidos, iniciou-se o estudo de encapsulamento de substâncias com função fotoprotetora. Para isso, foi realizado inicialmente o estudo de caracterização dos filtros escolhidos neste trabalho: avobenzona, benzofenona-3 e metilbenzilideno cânfora.

Os filtros solares empregados foram caracterizados quanto à estabilidade térmica e os espectros de absorção na região ultravioleta. Estes testes tiveram como objetivo atestar a qualidade do material empregado, comparando os resultados com aqueles já publicados, e assegurar que as substâncias em questão poderiam ser utilizadas de forma estável nas condições de reação.

5.2.1 Teste de Estabilidade Térmica

Na literatura específica de filtros solares (SHAATH, 2007), consta que os 3 filtros químicos em questão sofrem degradação acima de 100 °C, fato que foi confirmado nas

análises termogravimétricas apresentadas nas Figuras 5.21 a 5.23. Desta forma, é possível afirmar que todos os filtros solares podem ser adicionados nas reações de polimerização sem risco de degradação térmica, já que as temperaturas de reação não ultrapassam 90 °C. Observa-se que o filtro mais sensível dentre aqueles utilizados é a benzofenona-3. Apesar disso, a degradação térmica só parece ser significativa a temperaturas superiores a 150 °C.

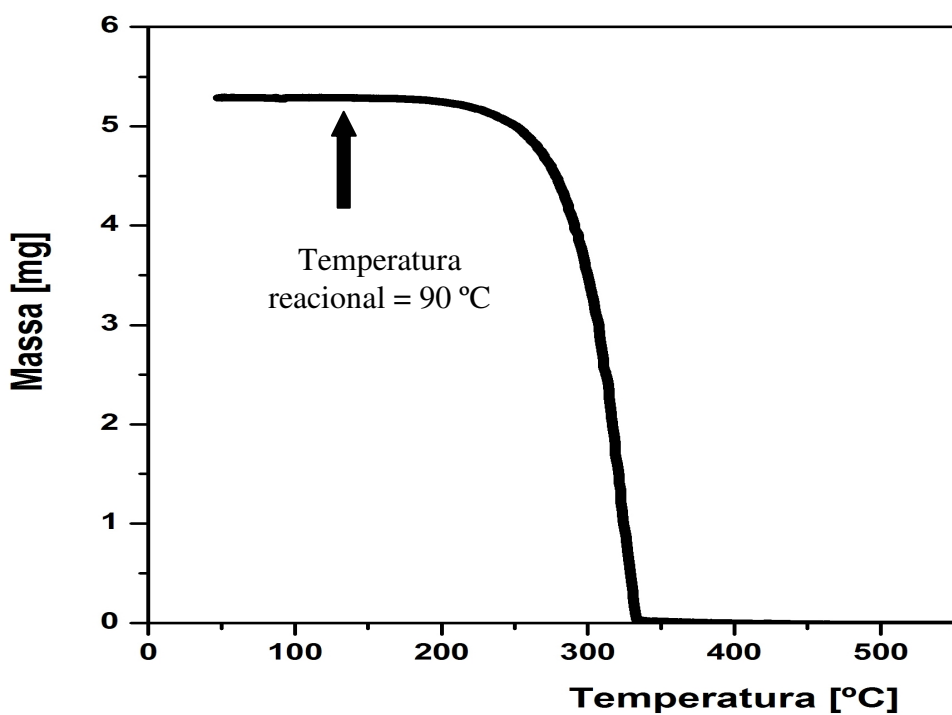


Figura 5.21: Termograma de TGA da Avobenzona.

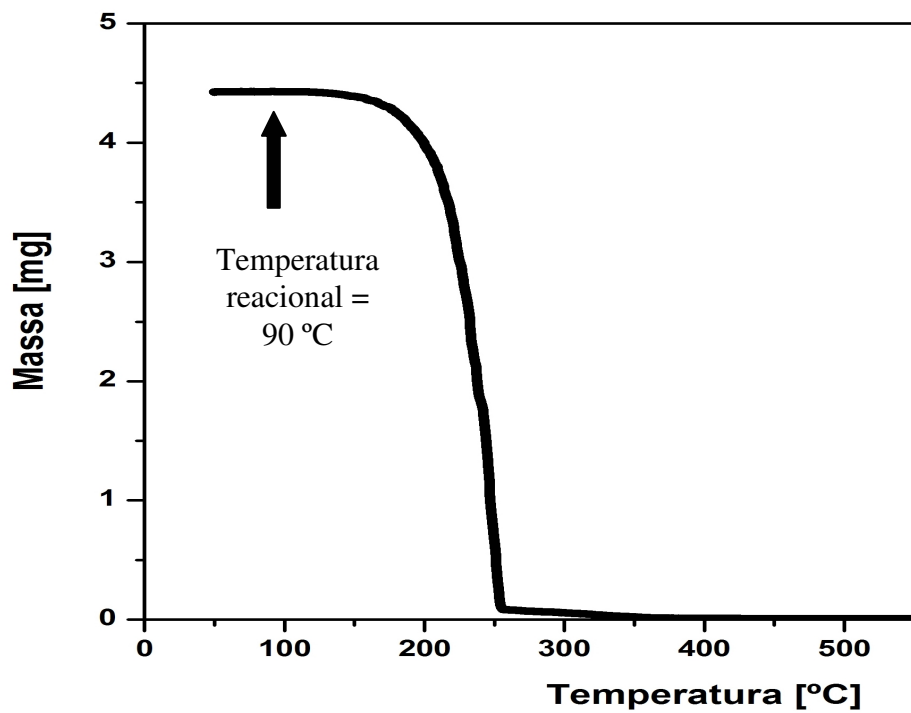


Figura 5.22: Termograma de TGA da Benzofenona-3.

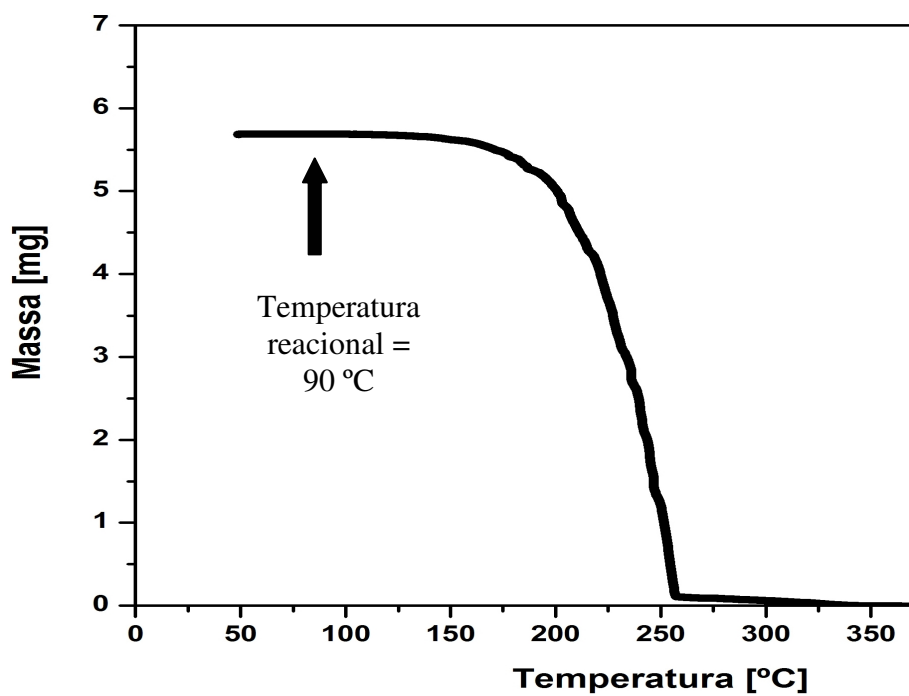


Figura 5.23: Termograma de TGA do Metilbenzilideno Cânfora.

5.2.2 Análise do Espectro de Absorção na Região do Ultravioleta

Na avaliação dos espectros, foi possível determinar a absorção máxima de cada um dos filtros solares (BZ3 – 288 e 325 nm; AVO – 358 nm e MBC – 300 nm) e do polimetacrilato de metila (superior a 380 nm). Estes valores são semelhantes aos relatados na literatura (SHAATH, 2007). Os diferentes picos de máxima absorção tornam a identificação de cada um dos compostos empregados mais fácil, já que nenhum dos materiais utilizados apresenta o mesmo comprimento de onda máximo (Figuras 5.24 a 5.27). Deve-se notar que o PMMA apresenta espectro de absorção de UV muito mais simples que os demais compostos, o que justifica o uso destas cargas para formulação de fotoprotetores. Vê-se que as partículas de PMMA não têm qualquer atividade significativa de absorção de radiação UV.

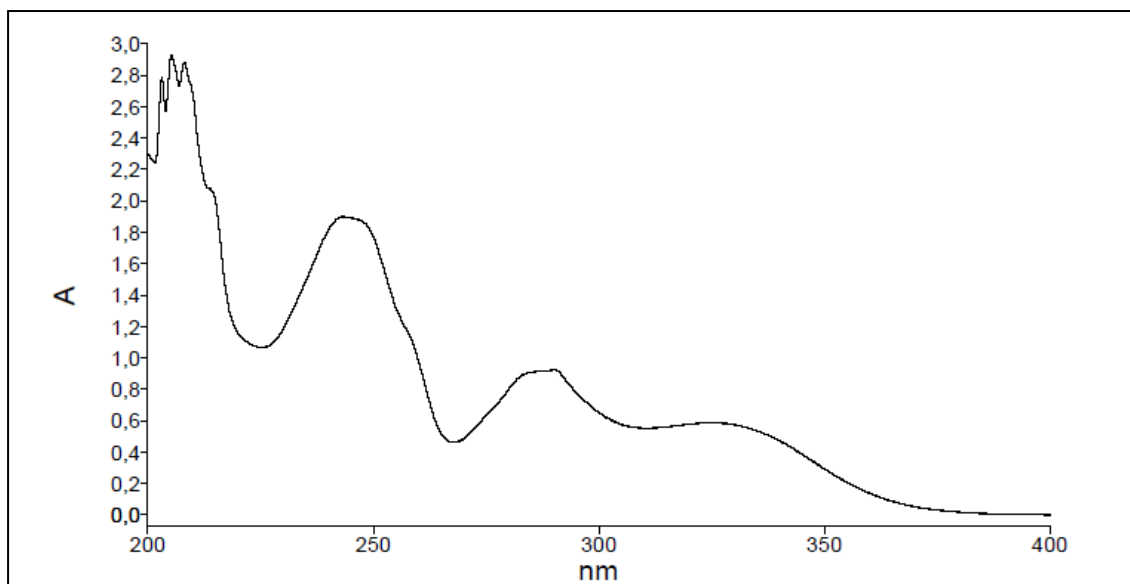


Figura 5.24: Espectro de Absorção da Benzofenona-3 na região do UV.

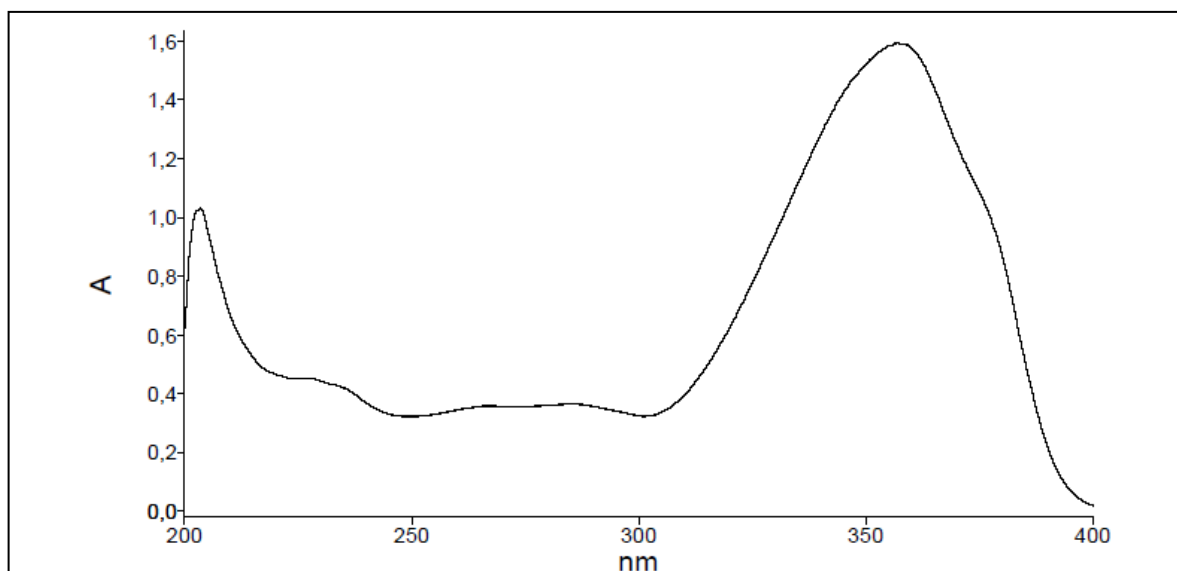


Figura 5.25: Espectro de Absorção da Avobenzona na região do UV.

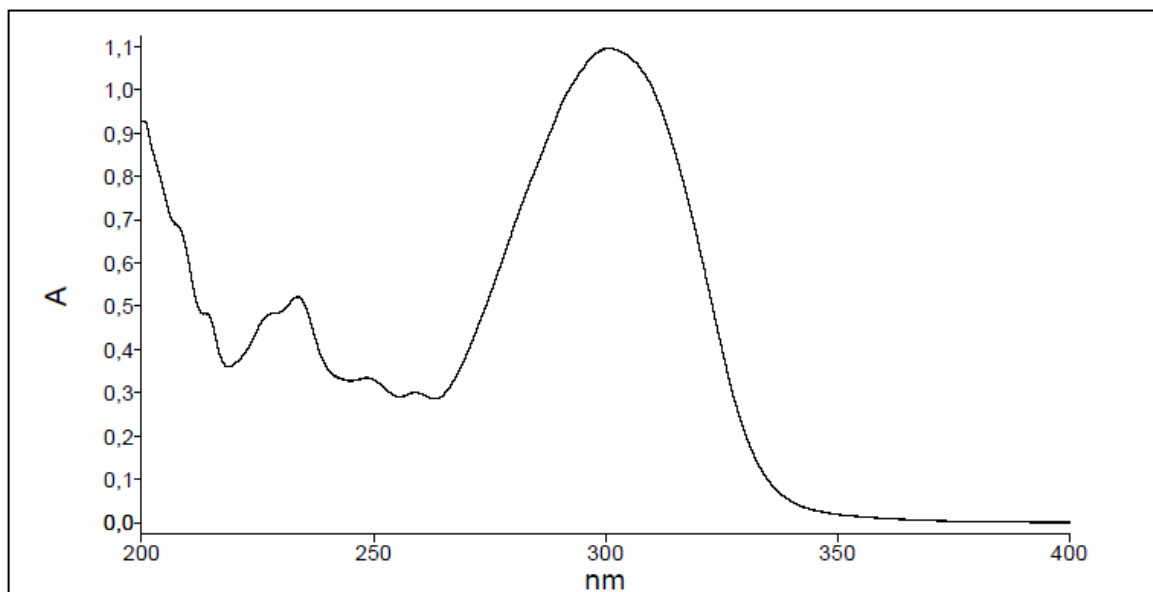


Figura 5.26: Espectro de Absorção do Metilbenzilideno Cânfora na região do UV.

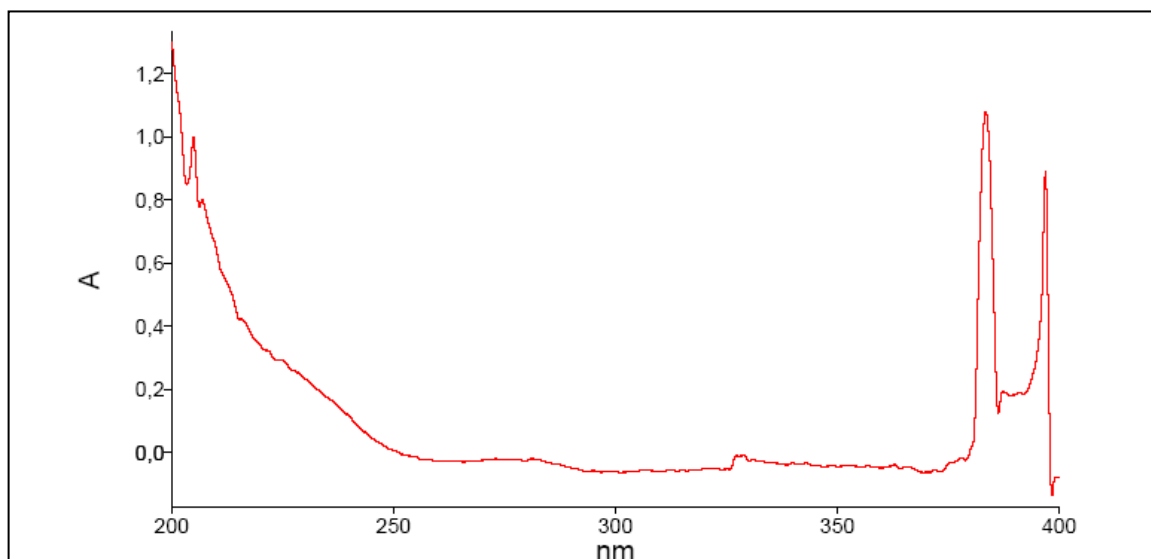


Figura 5.27: Espectro de Absorção do PMMA na região do UV.

5.3 Obtenção das Nanopartículas de PMMA carregadas com Filtro Solar

As reações de polimerização realizadas para produzir as nanopartículas de PMMA carregadas com filtro solar foram conduzidas seguindo os procedimentos descritos no Capítulo 4 e estão apresentadas na Tabela 5.3. Todas as reações foram realizadas em batelada, levando um tempo máximo, englobando preparação e obtenção, de 5 horas. Apesar da variação das condições reacionais, nunca foi observada separação de fases, após um período de 90 dias, à temperatura ambiente, em quaisquer das formulações propostas, conforme ilustrado na Figura 5.28. A única modificação relevante observada visualmente foi a mudança de coloração dos produtos obtidos, fato que pode ser explicado pelas diferentes capacidades de absorção de luz das matérias-primas.

Os experimentos foram realizados de forma evolutiva e não seguiram um plano experimental pré-definido. Em função dos resultados apresentados na Seção 5.1, foi

definido inicialmente o tempo de reação de 4 horas e a temperatura de reação em 70 °C. Em função das baixas conversões obtidas, as temperaturas foram elevadas até 90 °C e a concentração de iniciador foi fixada em 0,2% p/v. Posteriormente, a carga de filtros foi incrementada, para maximizar o efeito fotoprotetor, e as pressões do homogeneizador foram reduzidas, para aumentar o diâmetro médio das partículas. Finalmente, foram introduzidas quantidades crescentes de PMMA (5 g e 10 g) na formulação final, para aumentar o diâmetro final das partículas e reduzir o tempo de reação.

Tabela 5.3: Reações de obtenção das nanopartículas poliméricas carregadas com filtro solar.

Reação	Filtro Solar (g)	PMMA (g)	Pressão Homogeneizador (bar)	K ₂ S ₂ O ₈ (g)	Temperatura reacional (°C)	Tempo reação (h)
1.	BZ3 5	0	600	0,3	70	4
2.	AVO 5	0	600	0,3	70	4
3.	0*	0	600	0,3	80	4
4.	0*	0	600	0,3	80	4
5.	MBC 5	0	400	0,3	90	3
6.	BZ3 5	0	400	0,6	90	3
7.	BZ3 10	0	200	0,6	90	3
8.	AVO 10	0	200	0,6	90	3
9.	MBC 10	0	200	0,6	90	3
10.	0*	0	200	0,6	90	3
11.	0*	0	200	0,6	90	3
12.	MBC 50	0	200	0,6	90	3
13.	BZ3 50	0	100	0,6	90	2
14.	AVO 50	0	100	0,6	90	2
15.	0*	0	100	0,6	90	2
16.	BZ3 50	5	100	0,6	90	2
17.	BZ3 30	5	100	0,6	90	2
18.	BZ3 30	10	100	0,6	90	2
19.	BZ3 30	10	100	0,6	90	2
20.	MBC 30	10	100	0,6	90	2
21.	AVO 30	10	100	0,6	90	2

* Reações, sem adição de filtro solar, posteriormente empregadas como matéria-prima nas reações 16 a 21.

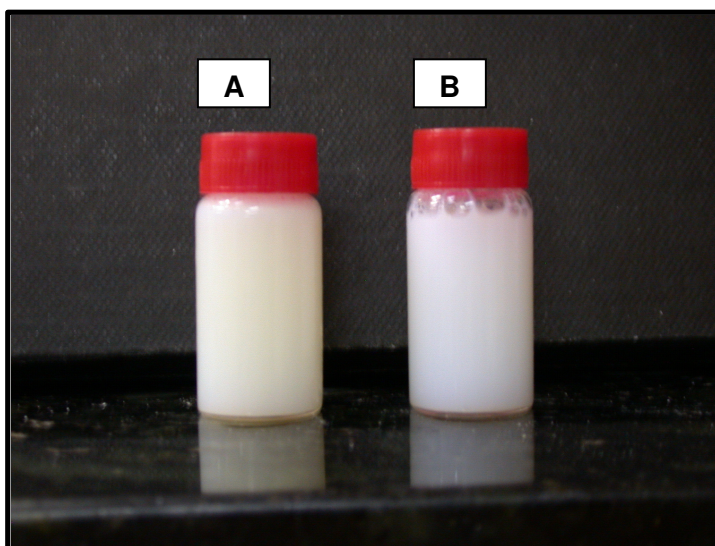


Figura 5.28: Comparação visual entre reações (A) 1 - PMMA + BZ-3 e (B) 3 - PMMA puro após 90 dias.

5.4 Caracterização das Nanopartículas de PMMA carregadas com Filtro Solar

Com objetivo de utilizar as nanopartículas de PMMA carregadas com filtro solar como matéria-prima em formulações cosméticas fotoprotetoras, foram realizados diferentes testes de caracterização e avaliação dos produtos das reações apresentadas na Tabela 5.3. A seguir, são apresentados os resultados destas análises.

5.4.1 Distribuição do Tamanho de Partículas (DTP)

A metodologia aplicada para avaliar a distribuição do tamanho de partícula foi considerada satisfatória, pois todas as réplicas foram reprodutíveis. As amostras apresentaram sempre uma distribuição unimodal de tamanhos com uma estreita faixa de distribuição granulométrica. A análise de tamanhos de partícula também permite avaliar a tendência à agregação das nanopartículas dispersas em uma emulsão em função do tempo, sendo uma ferramenta importante para análise de estabilidade. As análises foram realizadas

após o preparo e depois de 3 meses de armazenamento, sem que nenhuma alteração significativa fosse detectada, indicando a alta estabilidade das formulações propostas.

Apesar disso, os resultados iniciais (Tabela 5.4 e Figura 5.29) não foram considerados satisfatórios, visto que as partículas eram muito pequenas e os diâmetros inferiores a 100 nm podem levar à absorção sistêmica das nanopartículas (e, conseqüentemente, das substâncias químicas nelas incluídas) (GARCIA, 1998; SCALIA, 1998; PERUGINI, 2002; SCALIA, 2002; YENER, 2003; JIMÉNEZ, 2004; MOTA, 2005; MONTEIRO, 2008; JAIN & JAIN, 2010, NASCIMENTO, 2011). Vê-se claramente na Figura 5.30 que o teor inicial de PMMA na mistura controla o tamanho médio final das partículas. Quanto maior o teor de PMMA na mistura inicial, maior a viscosidade da solução de MMA e maior o diâmetro final das partículas, por causa da quebra menos eficiente da fase orgânica no homogeneizador.

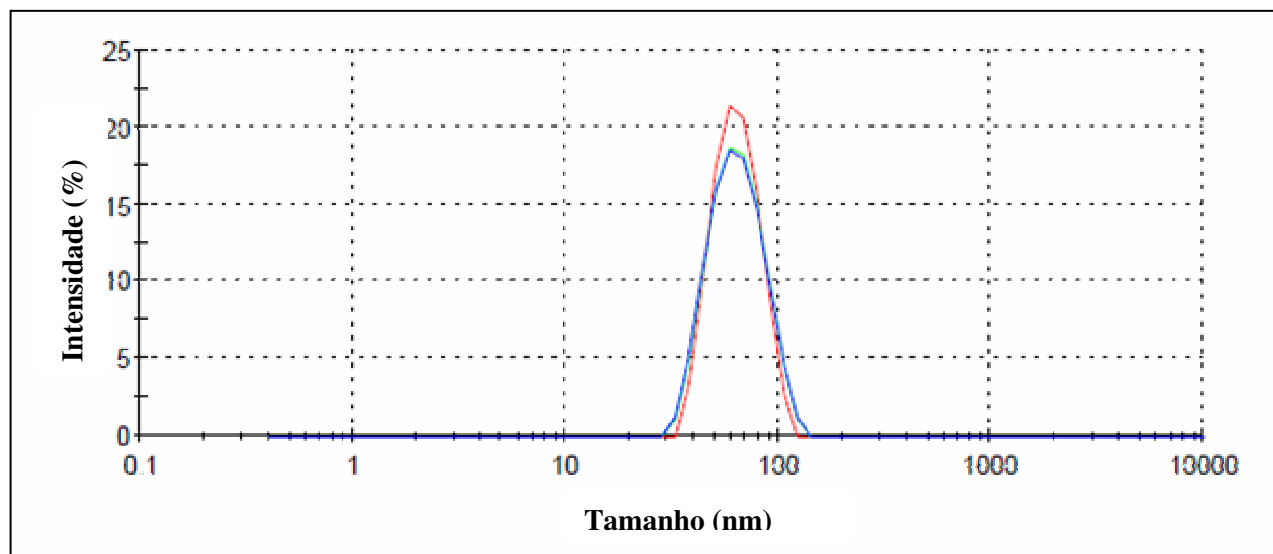


Figura 5.29: Distribuição final de diâmetros de partículas – reação 7.

Tabela 5.4: Distribuição de tamanho das nanopartículas obtidas nas diferentes reações.

Reação	Filtro Solar (g)	PMMA (g)	Pressão Homogeneizador (bar)	Tamanho médio (nm)	PDI *
1.	BZ3 5	0	600	61	0,064
2.	AVO 5	0	600	62	0,084
3.	0	0	600	60	0,049
4.	0	0	600	48	0,095
5.	MBC 5	0	400	48	0,097
6.	BZ3 5	0	400	59	0,113
7.	BZ3 10	0	200	60	0,599
8.	AVO 10	0	200	67	0,213
9.	MBC 10	0	200	69	0,342
10.	0	0	200	58	0,056
11.	0	0	200	61	0,123
12.	MBC 50	0	200	64	0,188
13.	BZ3 50	0	100	49	0,243
14.	AVO 50	0	100	48	0,118
15.	0	0	100	54	0,079
16.	BZ3 50	5	100	88	0,115
17.	BZ3 30	5	100	86	0,098
18.	BZ3 30	10	100	120	0,156
19.	BZ3 30	10	100	116	0,241
20.	MBC 30	10	100	122	0,116
21.	AVO 30	10	100	114	0,068

* PDI - índice de polidispersão.

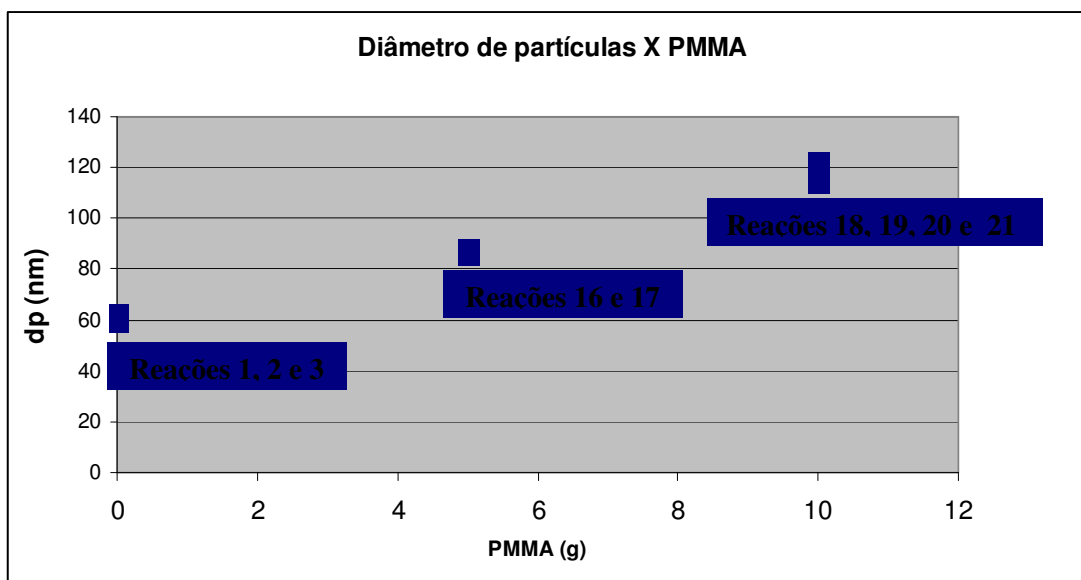


Figura 5.30: Diâmetro de partículas X PMMA em diferentes reações.

Como o modo de preparo das nanopartículas interfere diretamente no diâmetro das mesmas, a primeira medida para solucionar a questão do pequeno tamanho de partícula formado foi diminuir a pressão empregada no homogeneizador. Passou-se a trabalhar com diferentes pressões (400 bar – 100 bar); porém, estas variações também não foram suficientes para atingir tamanhos médios superiores a 100 nm (Tabela 5.4). Como já descrito por LANGER e colaboradores (1996) e observado na Seção 5.1, o aumento de iniciador no meio reacional não deve alterar a distribuição granulométrica. Sendo assim, a utilização de 0,6 g de $K_2S_2O_8$ (reações 6 a 15) também não promoveu alterações significativas no diâmetro médio das partículas. Portanto, pode-se afirmar que as distribuições de tamanho são controladas pela composição da miniemulsão. Por isso, foi necessário definir novas condições de produção das nanopartículas de PMMA carregadas com filtro solar, manipulando-se também a formulação inicial. Optou-se por acrescentar à

mistura inicial quantidades crescentes de PMMA, para manipular o tamanho das gotas. Sabe-se que a adição de PMMA ao meio reacional leva ao aumento da viscosidade do meio e à redução das taxas de quebra no homogeneizador. Com o valor de 10 gramas de PMMA (10% com relação ao MMA), alcançou-se o diâmetro médio pretendido, conforme ilustrado na Figura 5.31. Este resultado mostra que o tamanho das nanopartículas desenvolvidas pode ser facilmente controlado com a adição de PMMA à formulação inicial, o que é bastante interessante e vantajoso industrialmente. A escolha do PMMA para controle e manipulação da viscosidade do meio parece ser bastante natural por causa da facilidade de produção deste polímero pela mesma técnica de miniemulsão.

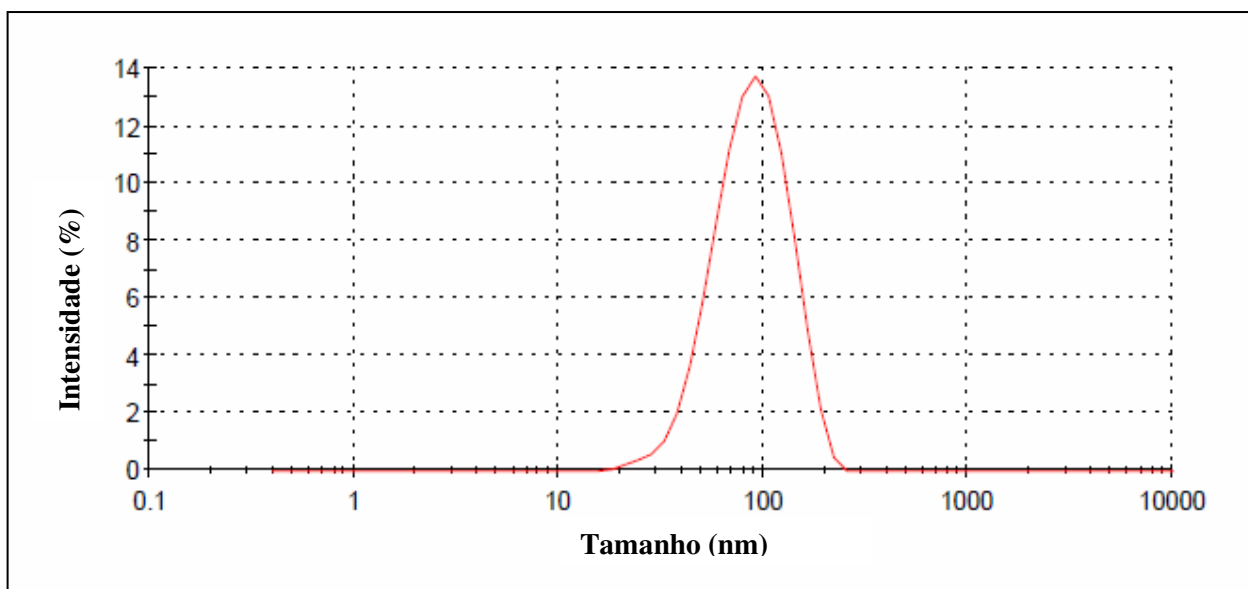


Figura 5.31: Distribuição final de diâmetro de partículas – reação 19.

5.4.2 Análise Gravimétrica (Conversão)

Os resultados de conversão de monômeros nas primeiras reações mostraram que a formação de polímero estava abaixo do esperado (ou seja, esperava-se atingir valores de conversão próximos a 100%). Este fato levou a alterações nas condições reacionais, a começar pelo aumento na concentração de iniciador e, posteriormente, aumento na temperatura reacional (Tabela 5.5). Como observado nas reações 5 e 6, ao se aumentar somente a concentração de iniciador, os valores de conversão não são alterados, fato justificado pela teoria clássica de polimerização em emulsão e mostrado na Seção 5.1, já que o número médio de radicais por partículas permanece essencialmente constante com o aumento da concentração de iniciador no meio (TEO *et al.*, 2011, FONSECA, 2012).

Importante destacar que as polimerizações com MMA são particularmente suscetíveis ao efeito gel (LENZI, 2002; LENZI *et al.*, 2003; BESTETI, 2009, FONSECA, 2012). Na Figura 5.32, a ocorrência do efeito gel pode ser facilmente observada. O efeito gel se caracteriza pelo aumento da viscosidade e conseqüentemente redução da constante cinética de terminação, que pode resultar no aumento até mesmo descontrolado da taxa de polimerização (ARAÚJO, 1999; CHEN E SAJJADI, 2009). Observa-se nas reações 1 a 8 o aumento repentino de conversão em um curto intervalo de tempo.

Quando se adiciona PMMA à formulação inicial, assim como observado com relação aos tamanhos médios de partícula, também ocorre aumento nas taxas de reação por causa do efeito gel, sendo atingidos valores maiores de conversão, como na reação 20. Este fato, mais uma vez, demonstra a conveniência de adicionar PMMA à receita de polimerização. A Tabela 5.5 mostra que, na presença de PMMA, as conversões atingem o valor de 100% em cerca de 2 horas de reação.

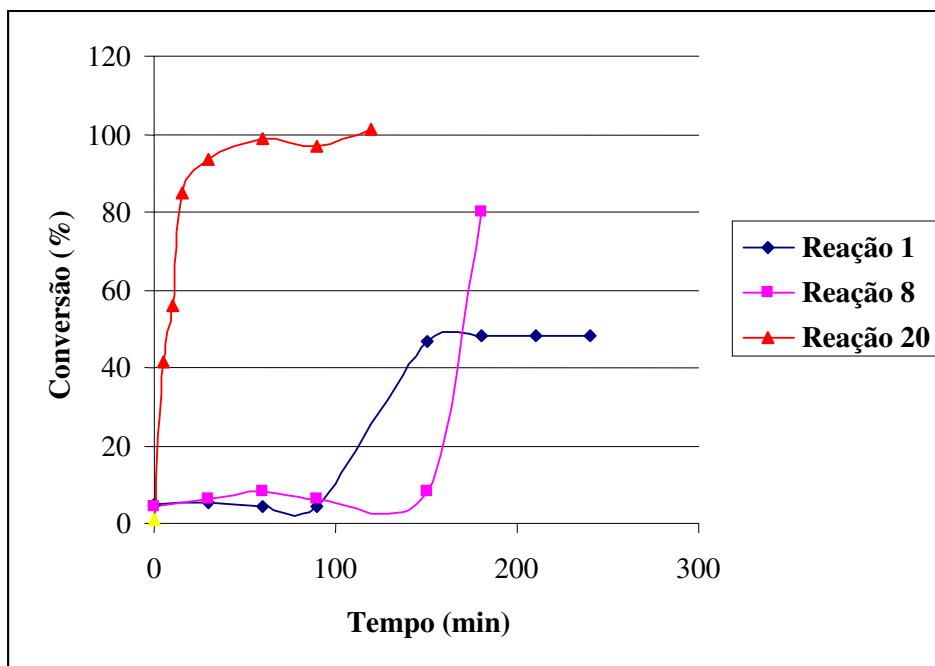


Figura 5.32: Gráfico das evoluções de conversão em diferentes reações.

Tabela 5.5: Valores de conversão das diferentes reações de polimerização.

Reação	Filtro Solar (g)	PMMA (g)	K ₂ S ₂ O ₈ (g)	Temperatura reacional (°C)	Tempo reação (h)	Conversão (%)
1.	BZ3 5	0	0,3	70	4	48
2.	AVO 5	0	0,3	70	4	53
3.	0*	0	0,3	80	4	43
4.	0*	0	0,3	80	4	59
5.	MBC 5	0	0,3	90	3	79
6.	BZ3 5	0	0,6	90	3	79
7.	BZ3 10	0	0,6	90	3	81
8.	AVO 10	0	0,6	90	3	80
9.	MBC 10	0	0,6	90	3	78
10.	0*	0	0,6	90	3	82
11.	0*	0	0,6	90	3	84
12.	MBC 50	0	0,6	90	3	81
13.	BZ3 50	0	0,6	90	2	77
14.	AVO 50	0	0,6	90	2	79
15.	0*	0	0,6	90	2	85
16.	BZ3 50	5	0,6	90	2	97
17.	BZ3 30	5	0,6	90	2	94
18.	BZ3 30	10	0,6	90	2	96
19.	BZ3 30	10	0,6	90	2	98
20.	MBC 30	10	0,6	90	2	100
21.	AVO 30	10	0,6	90	2	100

5.4.3 Eficiência de Encapsulamento dos Filtros Solares

O cálculo do teor de FS encapsulado foi realizado com auxílio de espectrofotometria por UV-Vis, sempre em triplicata, baseado no total de cada um dos ativos adicionados na reação, conforme descrito na Tabela 5.3. A eficiência de encapsulamento encontrada foi sempre próxima a 100%, fato que é facilmente explicado em função das características físico-químicas dos três filtros solares usados como referência, que são insolúveis em água e completamente solúveis no monômero (MMA). Como não existe facilidade na migração dos filtros solares do interior das partículas para a fase aquosa, já que os filtros são completamente dissolvidos na fase orgânica (monômero) durante o preparo das emulsões, os filtros permanecem no interior das nanopartículas. Para leitura no UV-Vis, o solvente empregado (etanol) possibilita a extração dos filtros solares do interior das nanopartículas, favorecendo a análise. Na Tabela 5.6, estão apresentados os resultados, em triplicata, das reações 19, 20 e 21, cujas nanopartículas poliméricas carregadas com BZ3, AVO ou MBC foram empregadas para preparação dos produtos antissolares desta tese.

Tabela 5.6: Eficiência de encapsulamento dos filtros solares nas nanopartículas poliméricas.

Amostras (n=3)	Encapsulamento (%) (valores médios)
Reação 19 (BZ-3)	99,5 ± 2,8
Reação 20 (AVO)	100,2 ± 1,5
Reação 21 (MBC)	98,4 ± 1,6

5.4.4 Monômero Residual

Na Tabela 5.7, são apresentados os resultados de monômero residual encontrados nas nanopartículas poliméricas carregadas com filtros solares empregadas no preparo das formulações fotoprotetoras. Como já apresentado anteriormente (Tabela 5.5), as reações 19, 20 e 21 resultaram em conversões, praticamente totais, o que justifica os baixos teores residuais de monômeros encontrados pela técnica de cromatografia gasosa.

Os compêndios oficiais vigentes no Brasil classificam os solventes em três classes: 1, 2 e 3. A classe 1 é a mais prejudicial à saúde e está relacionada aos solventes de alta toxicidade e com elevado potencial carcinogênico, como o benzeno. Estes solventes podem estar presentes nas preparações em até 2 ppm. A classe 2 contempla solventes de toxicidade média, mas que podem gerar danos irreversíveis ao organismo, como o metanol. Os limites permitidos variam de 50 ppm (metilbutilcetona) a 3880 ppm (ciclohexano). Por fim, a classe 3 é constituída por solventes que apresentam toxicidade baixa, como a acetona (USP 31, 2008).

Tabela 5.7: Concentração de monômero residual nas nanopartículas poliméricas.

Amostras	Monômero Residual (ppm)
Reação 19 (BZ-3)	0,0001
Reação 20 (AVO)	0,0003
Reação 21 (MBC)	0,0000

De acordo com os resultados e com as especificações vigentes, fica evidenciado que as concentrações de monômero residual encontradas são muito baixas, na ordem de ppb, não sendo assim críticas para a aplicação pretendida. Conclui-se, então, que apesar de não existir nada específico na literatura sobre a concentração máxima de MMA permitida em formulações farmacêuticas e cosméticas, que as nanopartículas em questão podem ser empregadas em formulações cosméticas sem afetar sua segurança. Resultados semelhantes também foram obtidos por FONSECA (2012) para partículas de PMMA carregadas com praziquantel.

5.4.5 Interação Ativo-Polímero (DSC)

As amostras de BZ-3, AVO, PMMA, suas misturas físicas e as nanopartículas já carregadas com os filtros solares e liofilizadas (reações 7 e 8), foram analisadas por DSC, conforme técnica descrita na literatura (GAMISANS *et al.*, 1999; MAINARDES *et al.*, 2006). Os resultados estão apresentados na Figura 5.33, em que é possível observar os picos endotérmicos dos filtros solares (1) e (3), assim como nas suas respectivas misturas físicas com PMMA (4) e (5). Porém, não se observou nenhum pico de transição endotérmica nas amostras (6) e (7), referentes às reações de polimerização, que são semelhantes às análises efetuadas com PMMA. Este resultado sugere que não há aparente interação química dos filtros solares com o polímero PMMA, na mistura física. Além disso, como as nanopartículas derivadas das reações em miniemulsão não apresentam a transição endotérmica característica de BZ3 e AVO, é possível afirmar que os filtros não estão presentes como uma fase cristalina distinta, mas sim como uma solução diluída na matriz polimérica. Sendo assim, os filtros parecem estar distribuídos uniformemente nas

nanopartículas, formando nanoesferas unifásicas, sem a presença de cristais no seio da solução polimérica. Desta forma, e por serem muito solúveis em MMA e PMMA, os filtros não geram inclusões como aquelas observadas com o óleo de andiroba na Seção 5.1.

5.4.6 Análise Morfológica

A análise morfológica por micrografia constitui uma técnica importante para confirmar a existência de partículas na escala nanométrica, além de constituir uma valiosa ferramenta para ilustrar a morfologia das estruturas obtidas. Nas análises obtidas pela técnica de MEV, observou-se a formação de estruturas esféricas (Figuras 5.34 a 5.36), com regularidade nos diâmetros, que foram comprovadas pelas análises independentes da distribuição de tamanho de partícula (ver Seção 5.4.1).

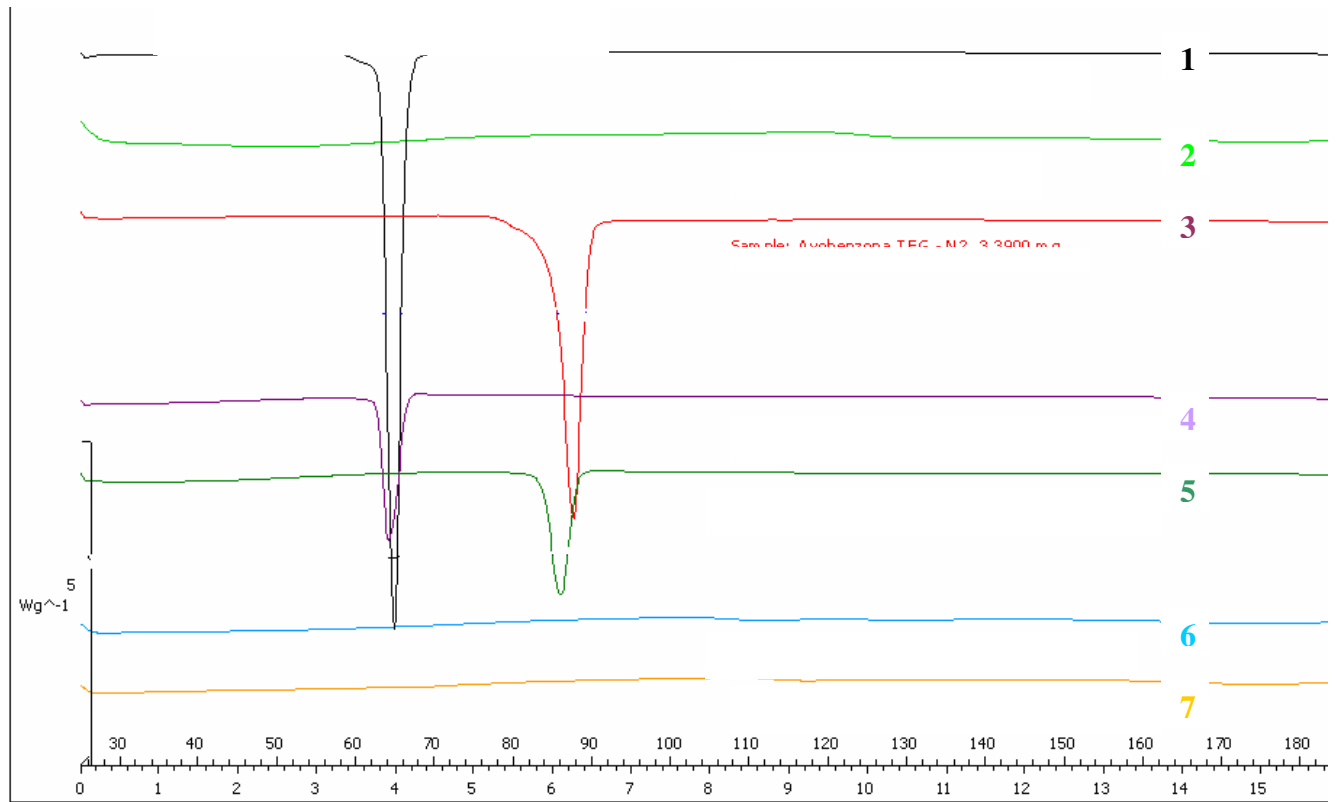


Figura 5.33: Resultado do DSC: (1) BZ-3; (2) PMMA; (3) AVO; (4) mistura física PMMA + BZ-3; (5) mistura física PMMA + AVO; (6) nanopartículas PMMA + BZ-3 - reação 7; (7) nanopartículas PMMA + AVO - reação 8.

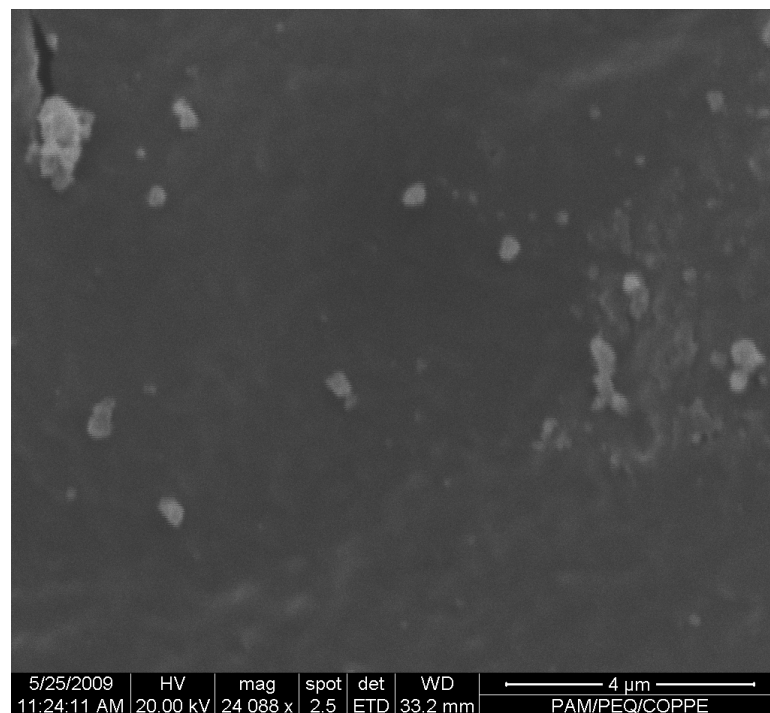


Figura 5.34: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com avobenzona (reação 21).

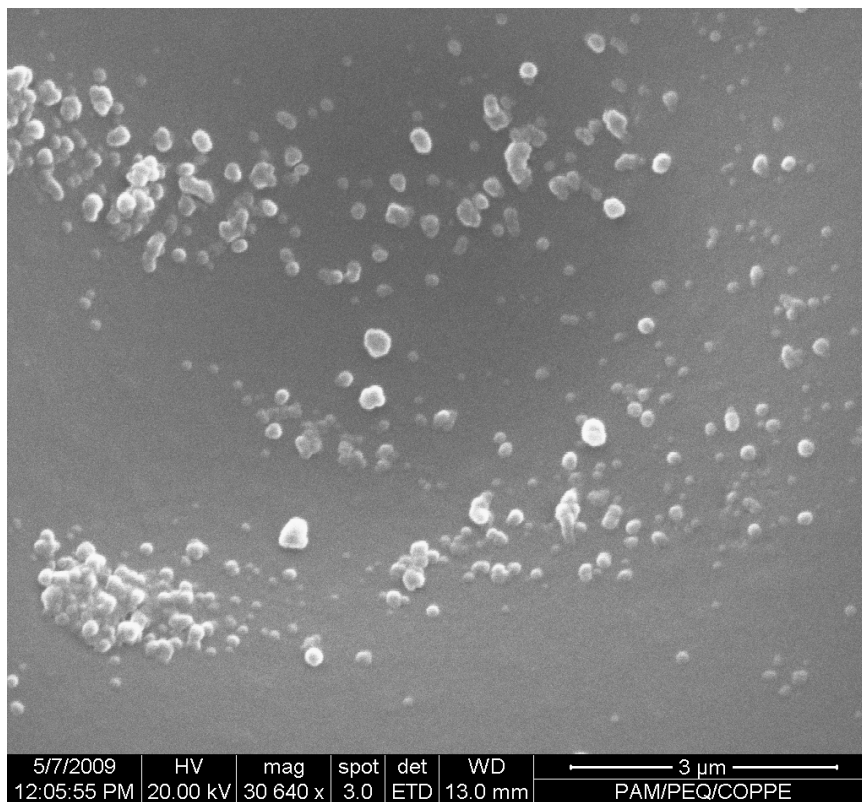


Figura 5.35: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com metil benzilideno cânfora (reação 20).

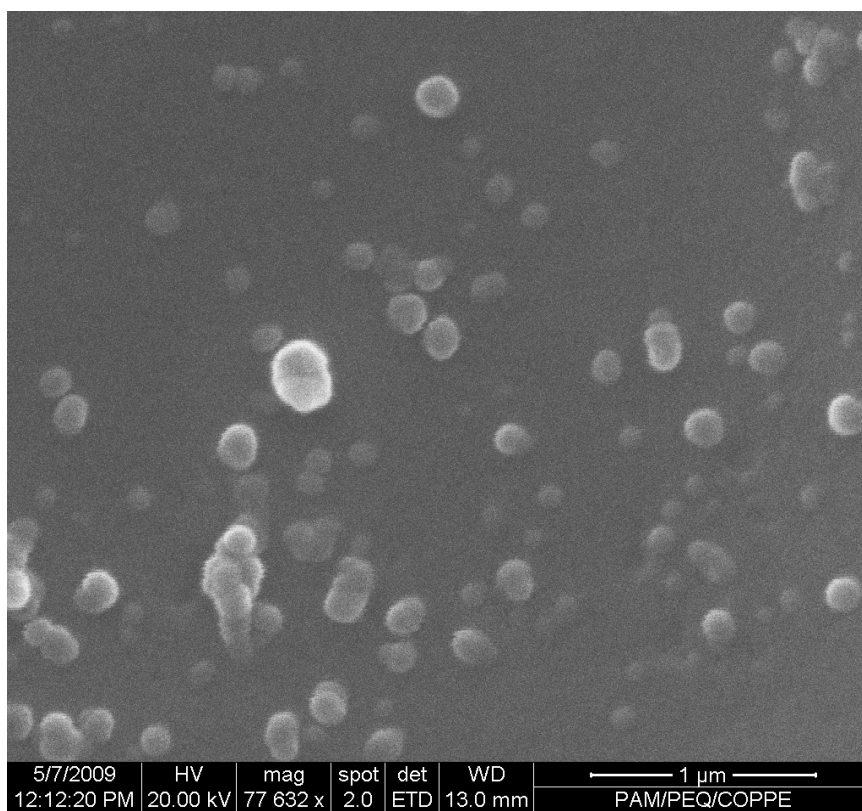


Figura 5.36: Fotomicrografia de nanopartículas de PMMA carregadas com benzofenona-3 (reação 19).

5.4.7 Cromatografia de Permeação Em Gel (GPC)

A análise de GPC permite observar a distribuição das massas molares dos polímeros formados, fornecendo informações sobre o processo de polimerização, a existência de interações entre o polímero e o ativo e a degradação do polímero ao longo do tempo (FRESTA *et al.*, 1995; SEIJO *et al.*, 1990; GUTERRES *et al.*, 1995; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Na Tabela 5.8 estão apresentados os valores de massa molar numérica média (M_n), massa molar ponderal média (M_w) e índice de polidispersão (IPD) dos produtos finais. O IPD está relacionado com a largura (ou variância) da distribuição. O M_n relaciona-se diretamente às propriedades osmóticas do polímero, enquanto o M_w está relacionado principalmente com as propriedades mecânicas. Materiais que apresentam baixo índice de polidispersão apresentam moléculas com massas molares semelhantes (LUCAS *et al.*, 2001).

As reações 3 e 4, usadas para obtenção de PMMA sem filtros solares incorporados e produzidas com 0,3 g de iniciador, apresentaram altas massas molares, conforme demonstrado por LANGER *et al.* (1996) e cooperado pela teoria clássica de sistemas em emulsão. Todos os índices de polidispersão flutuaram em torno do valor teórico de 2,0, indicando que as distribuições de massas molares são do tipo Flory, como esperado pela teoria clássica (LENZI, 2002). Ao analisar as reações contendo filtros solares é possível observar que as massas molares são muito mais altas do que as encontradas nas reações com PMMA puro, o que sugere efeito de reticulação, como observado por OLIVEIRA *et al.* (2012), que pode ser justificado pela natureza multifuncional das moléculas dos ativos empregados (filtros solares). Também é nítido o efeito gel, já que há um aumento pronunciado do M_w , com alargamento das distribuições de massas molares.

Ao comparar as reações com diferentes concentrações de iniciador (reações 4 e 10), observa-se uma redução da massa molar, como esperado na teoria clássica das emulsões. E nas reações realizadas em duplicata (reações 10, 11 e 15) obteve-se uma boa reprodutibilidade, o que garante a manutenção das características quando da produção destas partículas em momentos distintos.

Na Figura 5.37 estão apresentados os resultados encontrados nas reações 19, 20 e 21, onde se observa que os valores de Mw são bastante elevados e há a formação de um ombro nas distribuições de massas molares, comportamento característico do efeito gel, que como já citado anteriormente, é muito comum em reações de polimerização contendo metacrilato de metila. Os cromatogramas encontrados nas reações 19, 20 e 21, que deram origem às nanopartículas empregadas nas formulações fotoprotetoras, estão apresentados nas Figuras 5.38 a 5.40. Todos os resultados aqui apresentados, quando comparados, indicam claramente a influência que os filtros solares exercem sobre as reações de polimerização, provavelmente, atuando como agentes reticulantes e aumentando consideravelmente o peso molecular do polímero formado.

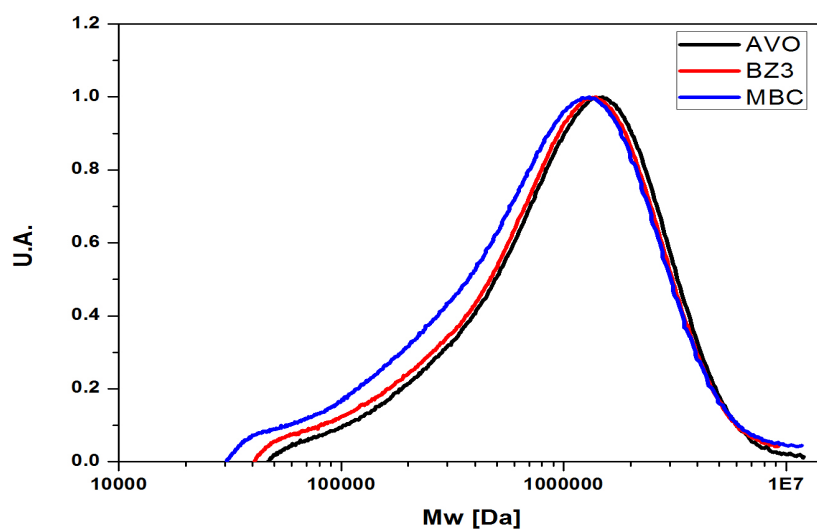


Figura 5.37: Distribuições das massas molares – reações 19 (BZ3), 20 (AVO) e 21(MBC).

Tabela 5.8: Resultados de GPC de diferentes reações de polimerização.

Reação	Filtro Solar	PMMA	K ₂ S ₂ O ₈	Mn x 10 ³	Mw x 10 ³	IPD
	(g)	(g)	(g)	(g/mol)	(g/mol)	
1.	BZ3 5	0	0,3	344	924	2,68
2.	AVO 5	0	0,3	362	985	2,72
3.	0*	0	0,3	220	510	2,32
4.	0*	0	0,3	218	504	2,31
10.	0*	0	0,6	160	456	2,85
11.	0*	0	0,6	164	435	2,65
12.	MBC 50	0	0,6	432	945	2,19
13.	BZ3 50	0	0,6	387	909	2,35
14.	AVO 50	0	0,6	430	897	2,09
15.	0*	0	0,6	168	453	2,69
16.	BZ3 50	5	0,6	445	1.289	2,87
17.	BZ3 30	5	0,6	452	1.123	2,48
18.	BZ3 30	10	0,6	442	1.305	2,95
19.	BZ3 30	10	0,6	436	1.206	2,77
20.	MBC 30	10	0,6	463	1.290	2,79
21.	AVO 30	10	0,6	359	1.096	3,06

IPD – índice de polidispersão.

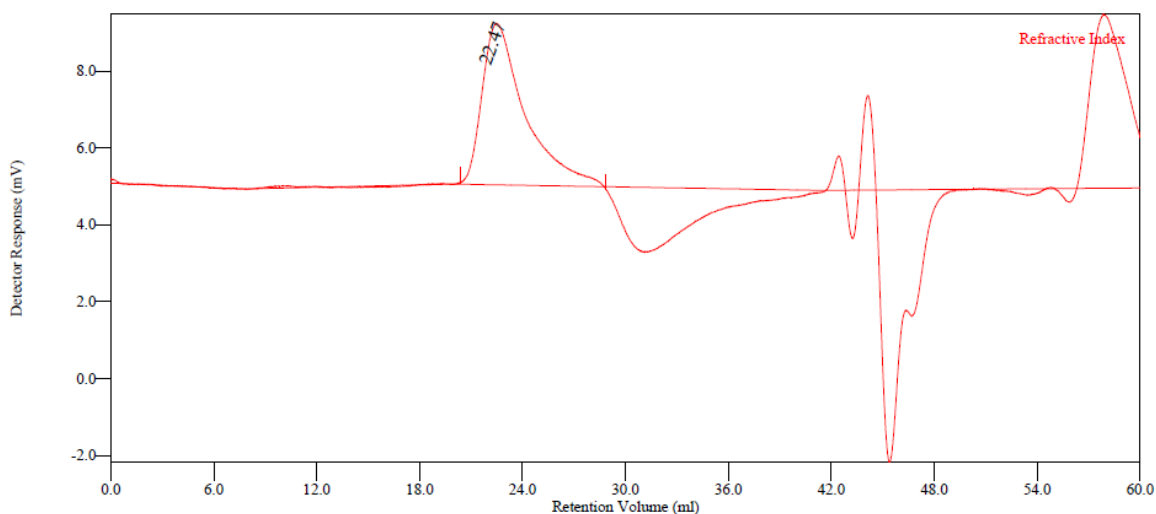


Figura 5.38: Cromatograma de GPC do produto da reação 19 - PMMA + BZ-3.

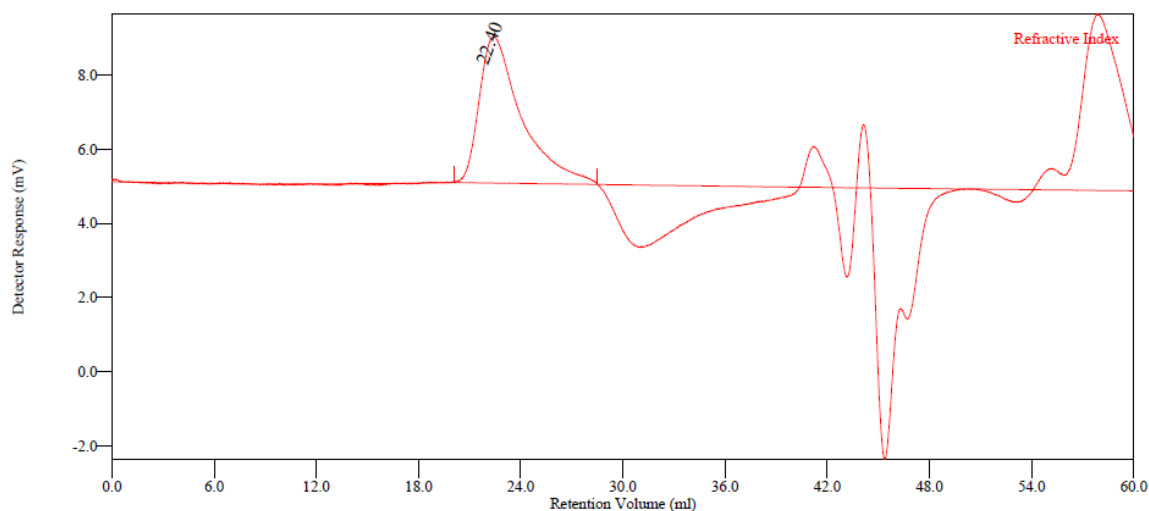


Figura 5.39: Cromatograma de GPC do produto da reação 20 - PMMA + AVO.

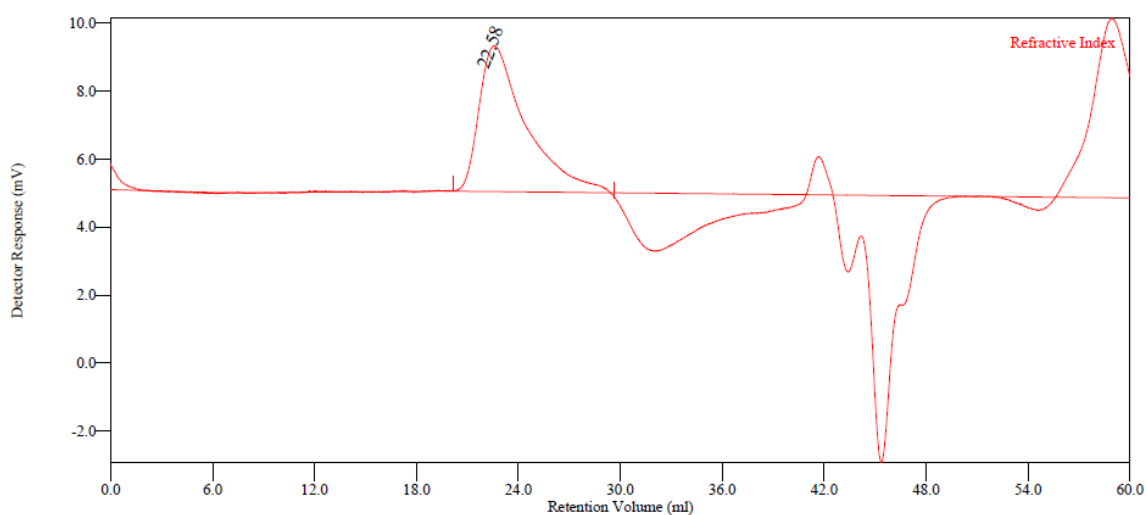


Figura 5.40: Cromatograma de GPC do produto da reação 21 - PMMA + MBC.

5.4.8 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Nas Figuras 5.41 a 5.47 são apresentados os espectros de FTIR do polímero empregado em todas as reações (PMMA), dos filtros solares de escolha (benzofenona-3, avobenzona e metil benzilidenocânfora) e das nanopartículas poliméricas carregadas com filtro solar obtidos nas reações 19, 20 e 21 (preparadas com 30 g de filtro solar cada). No

espectro do PMMA são observadas duas bandas características de metila e deformação axial de C = O de ésteres (geralmente, aparecem em 1740 cm^{-1}). Já no espectro da benzofenona-3 pura e no espectro do produto de PMMA com BZ3 (Figuras 5.42 e 5.45) são identificadas deformação axial da dupla C = O (banda característica de cetonas deslocada dependendo do ambiente químico) em 1600 cm^{-1} e deformação axial simétrica C-O-C em 1247 cm^{-1} , além de, sem muita precisão, picos entre 900 cm^{-1} e 675 cm^{-1} , que são característicos de compostos aromáticos. Nas Figuras 5.43 e 5.46, referentes à avobenzona pura e ao produto de PMMA com AVO, são observados, mesmo que sem muita precisão, picos entre 900 cm^{-1} e 675 cm^{-1} , que são característicos de compostos aromáticos. Já no espectro referente ao produto de PMMA com MBC (Figura 5.47) e a metilbenzilideno pura (Figura 5.44), são encontradas duas bandas características de metilas, em 2962 cm^{-1} e 2872 cm^{-1} e deformação axial da dupla C = O (banda evidente de cetonas), em 1717 cm^{-1} .

Os resultados de FTIR das nanopartículas de PMMA carregadas com os filtros solares demonstram claramente os picos característicos dos filtros solares (BZ3, AVO e MBC); porém não são observados nitidamente os picos característicos do PMMA. Este fato comprova a presença dos filtros solares nas amostras e a interação mais intensa destes produtos com a radiação eletromagnética. Por estarem numa concentração alta e serem moléculas muito complexas, se sobressaem ao polímero (PMMA) em que estão inclusos. Estes resultados permitem prever a eficiência dos filtros para a absorção da radiação UV.

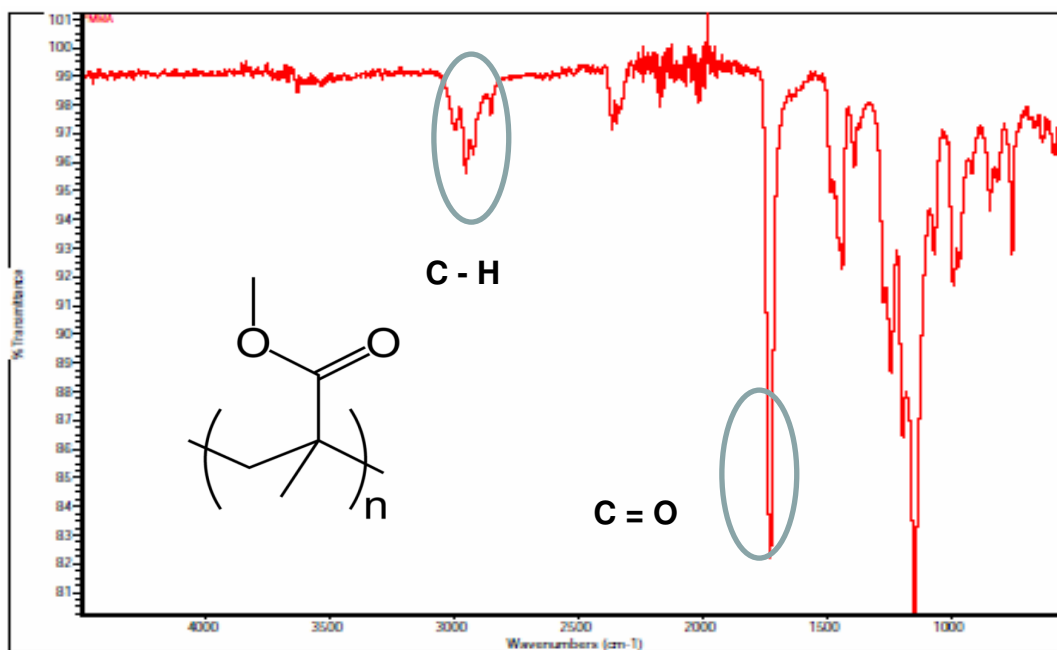


Figura 5.41: FTIR do PMMA puro.

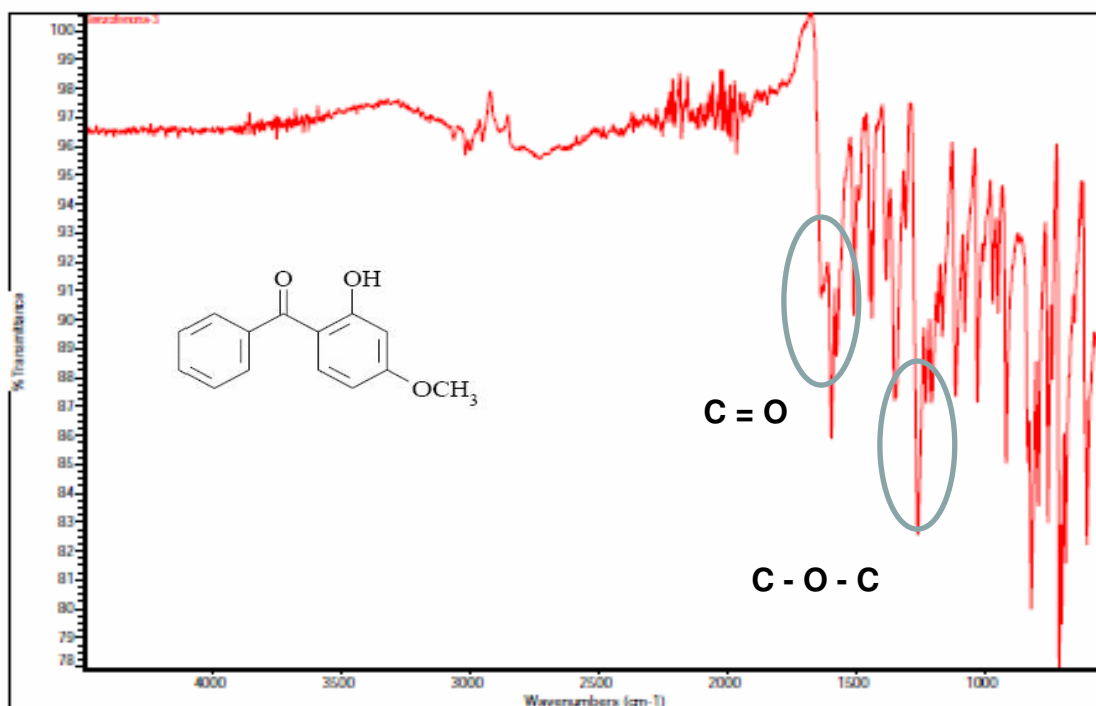


Figura 5.42: FTIR da benzofenona-3 pura.

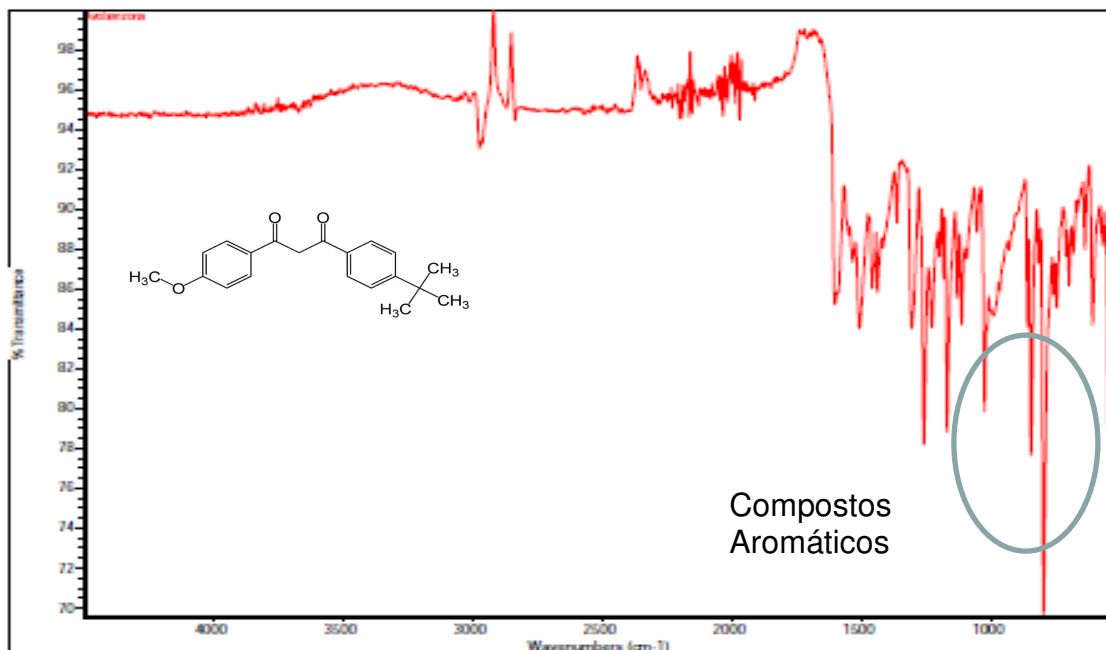


Figura 5.43: FTIR da avobenzona pura.

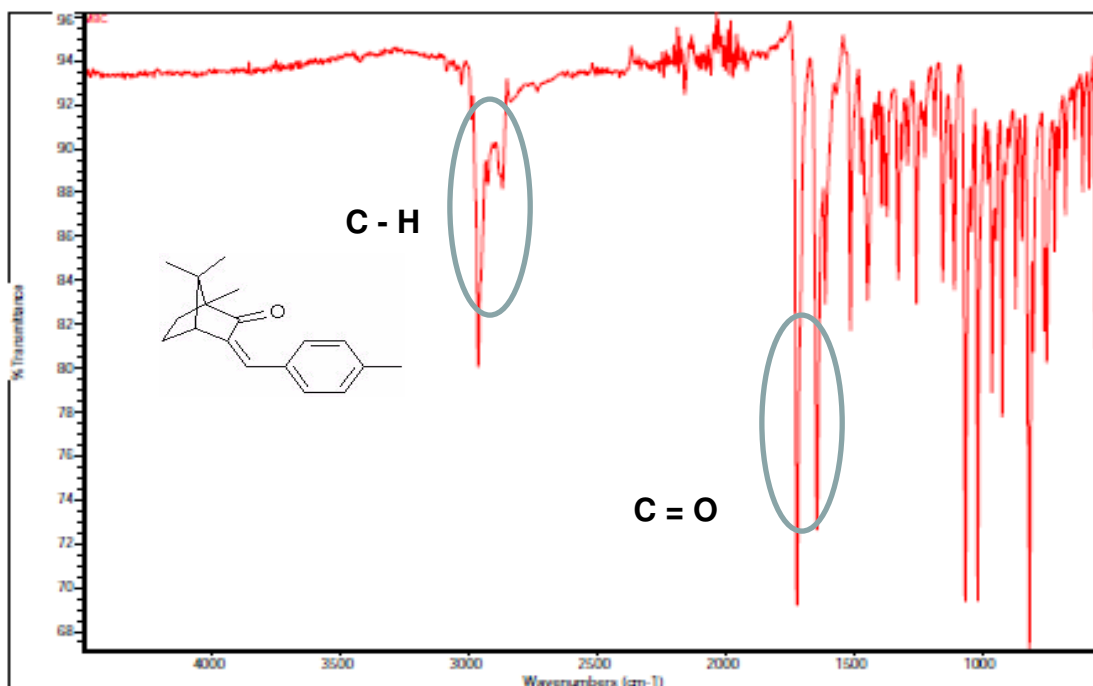


Figura 5.44: FTIR da metilbenzilideno cânfora pura.

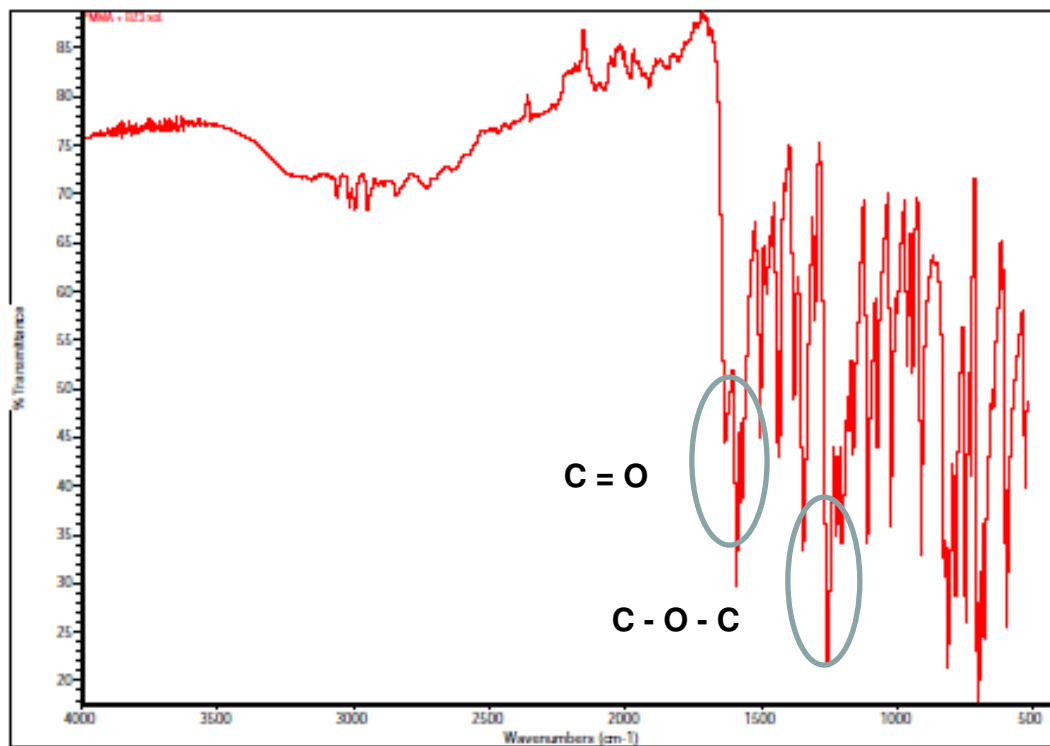


Figura 5.45: FTIR do produto resultante da reação 19 (PMMA + BZ3).

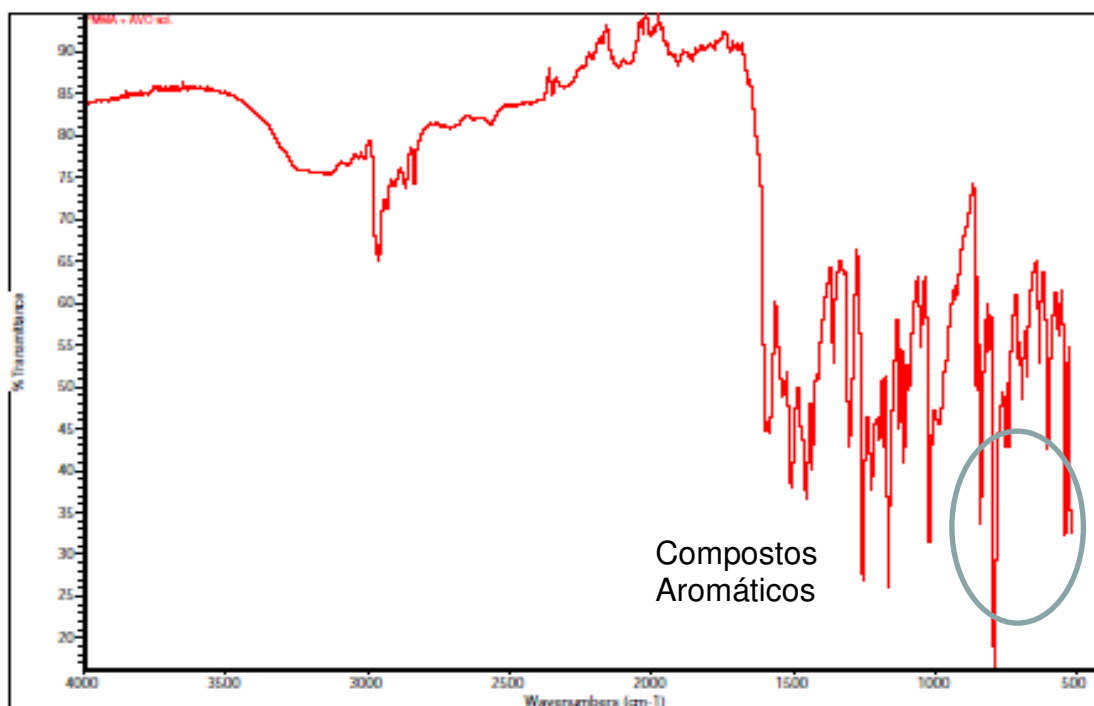


Figura 5.46: FTIR do produto resultante da reação 20 (PMMA + AVO).

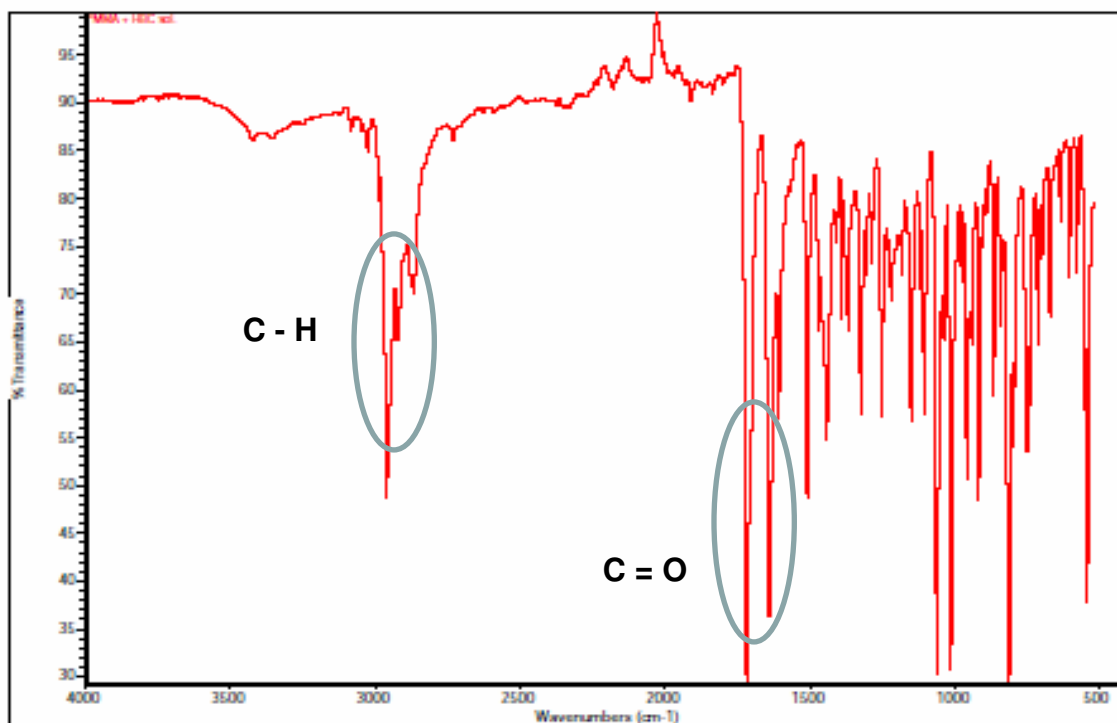


Figura 5.47: FTIR do produto resultante da reação 21 (PMMA + MBC).

5.4.9 Conclusões Parciais – Nanopartículas de PMMA carregadas com filtro solar

Mostrou-se até aqui que é possível obter, de forma simples e eficiente, nanopartículas de PMMA carregadas com filtros solares, com as características desejadas, como diâmetro médio variando entre 100 nm e 300 nm (dificultando a absorção sistêmica e facilitando a aplicação e o espalhamento de um fotoprotetor desenvolvido a partir desta matéria-prima) e concentração elevada de filtro solar. Vale ressaltar que uma pequena alteração na receita inicial (adição de PMMA) garantiu um incremento na conversão, além de aumentar de forma muito satisfatória, os diâmetros médios das partículas desenvolvidas.

Também é possível concluir que a adição dos filtros solares interfere diretamente no andamento da reação de polimerização, aumentando as massas molares médias das nanopartículas poliméricas geradas, como mostrado na Seção 5.4.7. Entretanto, estas

moléculas antissolares não podem ser consideradas fotoiniciadores, já que as taxas de reação não parecem ser influenciadas significativamente pela presença, ou aumento, da concentração dos filtros solares empregados. Em contrapartida, a temperatura exerce influência muito significativa sobre a conversão, como já esperado, pelo aumento das constantes cinéticas da reação.

5.6 Preparo e Avaliação dos Caracteres Organolépticos das Formulações Fotoprotetoras

Todas as formulações foram preparadas a partir do creme base, descrito na Tabela 4.3 e foram identificadas como 1 (creme base + nanopartículas de PMMA com BZ3 + nanopartículas de PMMA com MBC), 2 (creme base + BZ3 livre + MBC livre), 3 (creme base + nanopartículas de PMMA com AVO + nanopartículas de PMMA com MBC) e 4 (creme base + AVO livre + MBC livre). Todas as amostras ficaram armazenadas, à temperatura ambiente, durante tempo superior a 6 meses, já que este foi o tempo necessário para realização dos testes que garantem qualidade, segurança e eficácia do produto gerado. Durante este tempo, baseado em análise visual, não se observou coalescência e/ou separação de fases, o que leva a acreditar que o produto apresenta estabilidade física. Quanto à estabilidade farmacêutica, esta foi avaliada posteriormente, como apresentado na Seção 5.7. A coloração amarelada, característica da benzofenona-3, foi observada nas preparações em que esta foi adicionada (amostras 1 e 2). Já naquelas em que não houve adição deste filtro solar, a coloração observada foi branco leitosa, tal qual a grande maioria das emulsões fotoprotetoras, que não recebem adição de corantes à fórmula.

5.7 Determinação do pH

De acordo com o Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2008), se o produto a ser analisado é um sólido ou semi-sólido, deve-se realizar a medição do pH em uma solução, dispersão ou suspensão aquosa da amostra em uma concentração preestabelecida. Posteriormente, deve-se determinar o pH da mistura com o eletrodo apropriado. Entretanto, como também é permitido pelo mesmo órgão fiscalizador (ANVISA, 2008) que a medição seja feita diretamente na amostra, no caso de dispersões em meios aquosos, esta foi a técnica escolhida, já que o eletrodo empregado foi o próprio para emulsões. Foram realizadas medidas de pH, em triplicata, para cada uma das formulações desenvolvidas e os valores encontrados estão apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9: Valores de pH das formulações fotoprotetoras.

Formulação	pH (n=3)
1 (NP BZ3 e NP MBC)	6,72 ± 0,10
2 (BZ3 e MBC livres)	6,94 ± 0,05
3 (NP AVO e NP MBC)	6,24 ± 0,20
4 (AVO e MBC livres)	6,65 ± 0,10

NP = nanopartículas de PMMA; BZ3 = benzofenona-3, AVO = avobenzona; MBC = metilbenzilideno cânfora.

Os valores médios encontrados são similares e ligeiramente ácidos, estando dentro dos valores aceitáveis para produtos cosméticos e farmacêuticos de uso tópico, já que é conhecido que produtos com pH abaixo de 4,0 causam irritação dérmica, assim como geralmente, valores acima de 7,0. A comprovação da não-irritação causada pelos produtos desenvolvidos foi confirmada na seção 5.10 – irritação dérmica primária e cumulativa. Vale destacar que os valores de pH das suspensões preparadas com nanopartículas são

ligeiramente inferiores e uma possível explicação é a hidrólise parcial do grupo metacrilato, gerando grupamentos ácidos (FONSECA, 2012).

5.8 Quantificação dos Filtros Solares

As concentrações utilizadas no preparo das formulações antissolares foram as máximas permitidas (ANVISA, 2006), ou seja, 10% p/p de benzofenona-3, 5% p/p de avobenzona e 4% p/p de metilbenzilideno cânfora. Seguindo o conceito inicial de obter proteção contra os raios ultravioleta A e B, não foi necessário utilizar benzofenona-3 e avobenzona na mesma formulação. Os teores (em % p/p) encontrados em cada uma das formulações desenvolvidas estão apresentados na Tabela 5.10. Como observado, os valores encontrados são compatíveis com os valores esperados, confirmando a presença dos filtros solares nas nanopartículas desenvolvidas.

Tabela 5.10: Proporções de filtro solar nas formulações fotoprotetoras.

Formulação	Amostras	Teor BZ3 (% p/p)	Teor AVO (% p/p)	Teor MBC (% p/p)
1 (NP FS)	1	10,52	0	4,86
	2	10,99	0	5,07
	3	10,65	0	4,92
	Média	10,72	0	4,95
2 (FS livres)	1	10,07	0	4,43
	2	10,82	0	4,83
	3	10,74	0	4,79
	Média	10,54	0	4,69
3 (NP FS)	1	0	5,20	3,65
	2	0	5,10	3,42
	3	0	5,24	3,48
	Média	0	5,18	3,52
4 (FS livres)	1	0	5,37	4,60
	2	0	4,97	4,47
	3	0	5,24	4,55
	Média	0	5,19	4,54

NP = nanopartículas de PMMA; FS = filtro solar.

As Figuras 5.48 a 5.50 mostram os cromatogramas dos ativos puros (filtros solares – BZ3, AVO e MBC) dosados a partir das nanopartículas e o espectro de absorção dos ativos nas nanopartículas frente ao padrão de cada um. Como pode ser observado, BZ3, AVO e MBC apresentam o mesmo pico do padrão e o mesmo espectro de absorção, não havendo indicações de alteração do tempo de retenção nem o aparecimento de outros picos, que caracterizariam possíveis produtos de degradação. Esses resultados garantem que as substâncias ativas continuam íntegras no interior das partículas poliméricas.

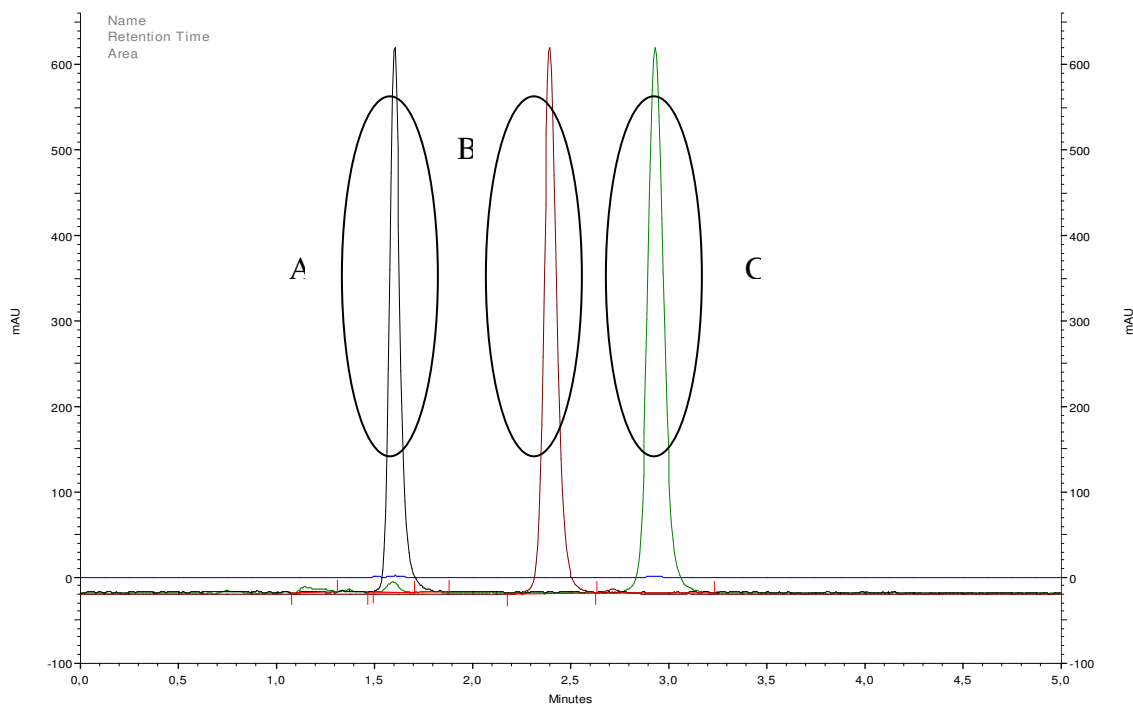


Figura 5.48: Cromatograma dos filtros solares puros (A = BZ3, B = MBC, C= AVO).

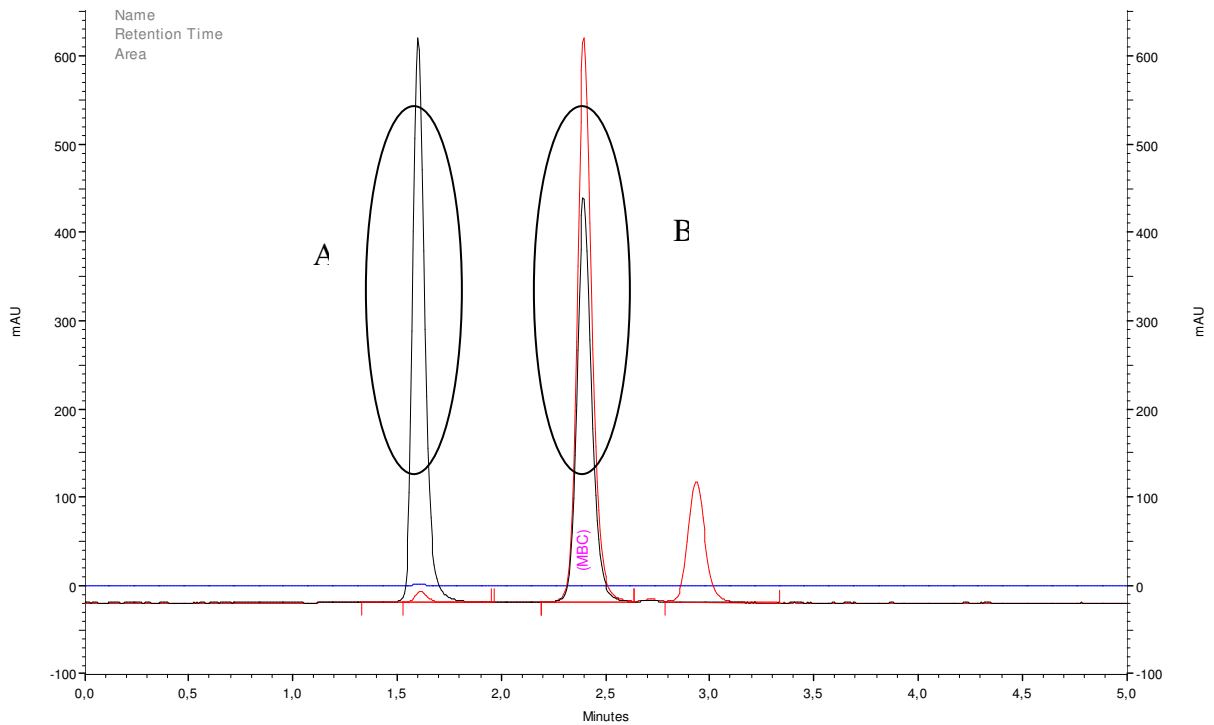


Figura 5.49: Cromatograma das formulações contendo nanopartículas de PMMA com filtros solares (A = BZ3 e B = MBC).

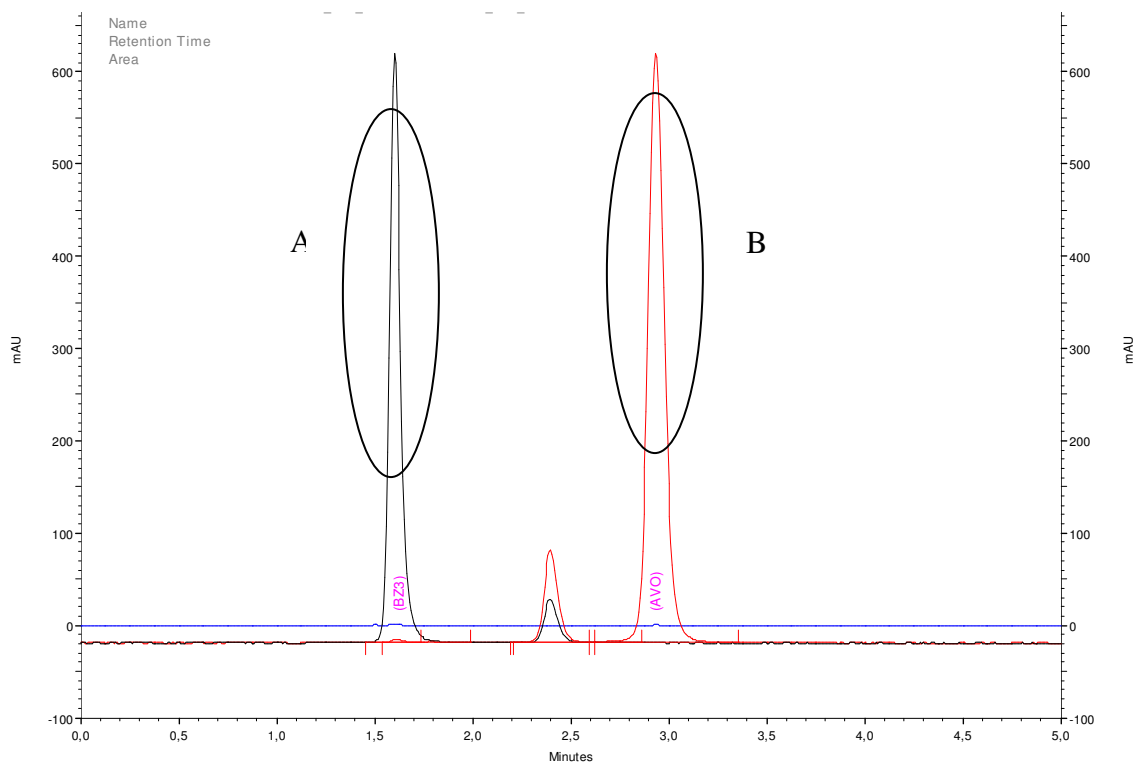


Figura 5.50: Cromatograma das formulações contendo nanopartículas de PMMA com filtros solares (A = BZ3 e B = AVO).

5.9 Avaliação do Perfil de Liberação *in vitro* das Formulações Fotoprotetoras

Os ensaios de liberação *in vitro* para produtos semi-sólidos devem ser realizados empregando células de difusão, membrana sintética e solução receptora (SR) adequados. A membrana sintética serve como suporte para separar a formulação da SR. É fundamental que a membrana utilizada seja quimicamente inerte, não reagindo com a formulação ou com a SR, além de não ser limitante da velocidade nos processos de liberação do ativo (U.S.FDA/CDER, 1997).

Ao analisar os resultados apresentados na Tabela 5.11, é possível observar que os ativos são liberados tanto nas formulações contendo os filtros solares livres, como nas formulações que contêm os filtros solares inclusos nas nanopartículas poliméricas. Entretanto, quando há o emprego das nanopartículas, a quantidade liberada de ativos (BZ3, AVO e MBC) é visivelmente menor (formulações 1 e 3) e o início de liberação não se dá de forma imediata, como ocorre com a formulação fotoprotetora tradicional, podendo significar menor exposição dos consumidores do produto aos filtros solares. Nas Figuras 5.51 e 5.52 é possível observar que gráficos que representam as formulações contendo as nanopartículas (1 e 3) são características de um processo de segunda ordem (difusão), o que pode ser referente à “resistência” que o filtro solar sofre até que seja liberado na solução receptora. Este fato parece ser explicado pela função de barreira desempenhada pelas nanopartículas poliméricas. A exceção diz respeito ao ativo MBC, nas formulações 3 e 4, onde a liberação final é praticamente a mesma em ambas as formulações, porém o início de liberação continua sendo mais rápido na formulação contendo MBC na forma livre. Pode-se prever que, na pele humana, a eficácia e a segurança sejam aumentadas, pois os ativos poderão sofrer menor absorção sistêmica e poderão ficar mais disponíveis no local de ação desejado, exercendo a função de proteção da pele humana frente à radiação ultravioleta.

Sendo assim, objetivando aumentar o caráter de segurança das formulações desenvolvidas, é aconselhável a execução de ensaios futuros para avaliar a penetração e/ou permeação em membrana natural.

5.10 Testes de Irritação Dérmica das Formulações Fotoprotetoras

Nos testes de irritação dérmica primária e cumulativa, tanto nas formulações contendo filtros solares livres como nas amostras adicionadas de nanopartículas dopadas com BZ3, AVO e MBC, não foi observado potencial irritante nas primeiras 24 horas (irritação dérmica primária) e nem ao final dos 10 dias de análise (irritação dérmica cumulativa) (Tabela 5.12). Este resultado demonstra, de forma muito satisfatória, que o sistema nanoestruturado empregado é seguro e não causa nenhum tipo de incompatibilidade com a pele e nem possíveis eritemas e/ou edemas ao ser aplicado.

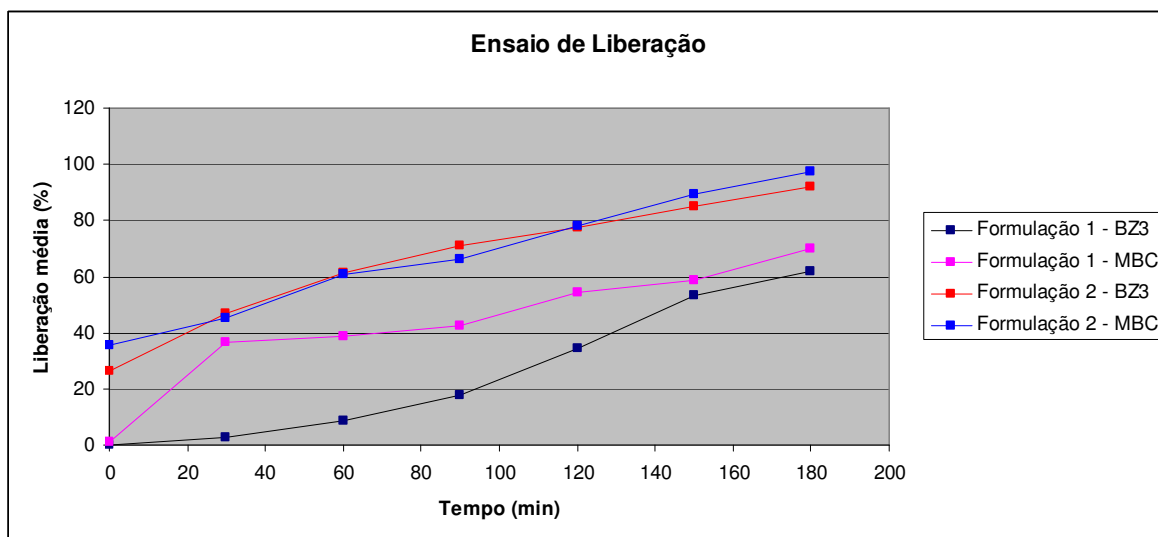


Figura 5.51: Ensaios de liberação das formulações 1 (nanopartículas de PMMA com filtro solar) e 2 (filtros solares livres).

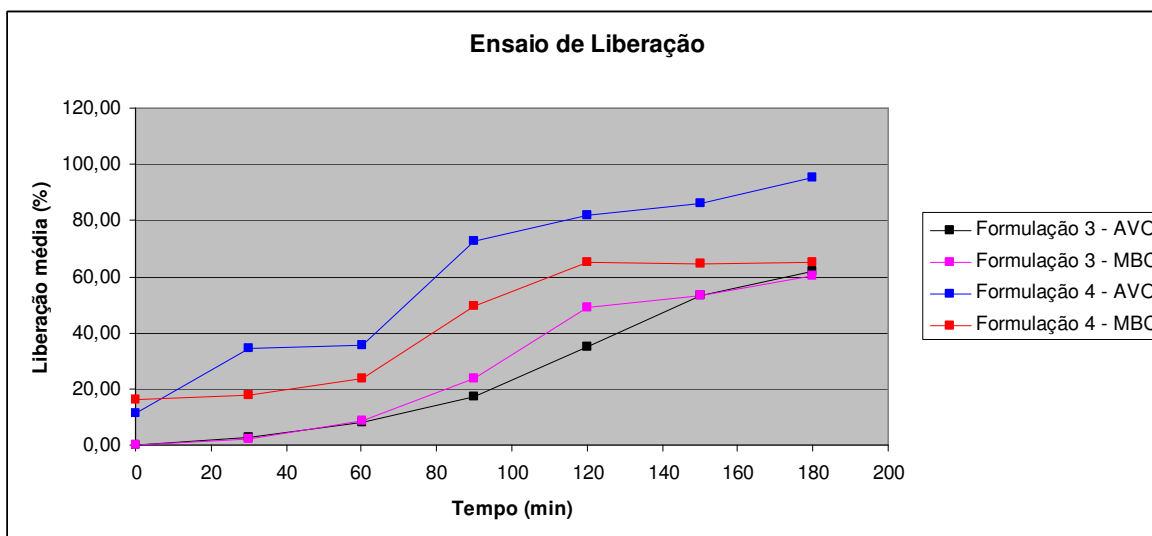


Figura 5.52: Ensaio de liberação das formulações 3 (nanopartículas de PMMA com avobenzona e metilbenzilideno cânfora) e 4 (avobenzona e metilbenzilideno cânfora livres).

Tabela 5.11: Concentração de filtro solar na solução receptora nos ensaios de liberação.

Formulação 1 (NP BZ3 e NP MBC)		BZ3	MBC	Formulação 2 (BZ3 e MBC livres)		BZ3	MBC
		%	%			%	%
	liberação média	liberação média	liberação média	tempo (min)	liberação média	liberação média	liberação média
tempo (min)							
0	0,00	1,24		0	26,53	35,52	
30	2,91	36,54		30	46,57	45,23	
60	8,43	38,95		60	61,56	60,54	
90	17,57	42,56		90	71,11	66,35	
120	34,69	54,36		120	77,65	78,23	
150	53,31	58,57		150	84,83	89,54	
180	61,80	70,12		180	92,16	97,52	
Formulação 3 (NP AVO e NP MBC)		AVO	MBC	Formulação 4 (AVO e MBC livres)		AVO	MBC
		%	%			%	%
	liberação média	liberação média	liberação média	tempo (min)	liberação média	liberação média	liberação média
tempo (min)							
0	0,00	0,00		0	11,27	16,35	
30	2,60	2,25		30	34,53	17,65	
60	8,18	8,69		60	35,69	23,56	
90	17,41	23,56		90	72,75	49,61	
120	34,72	48,72		120	81,58	65,23	
150	53,54	53,32		150	86,06	64,43	
180	62,12	60,53		180	95,36	65,32	

NP = nanopartículas de PMMA; BZ3 = benzofenona-3; AVO = avobenzona; MBC = metilbenzilideno cânfora.

Tabela 5.12: Resultados dos testes de irritação dérmica das formulações fotoprotetoras.

Formulação	Irritação Dérmica	
	Primária	Cumulativa
1 (NP BZ3 e NP MBC)	não-irritante	não-irritante
2 (BZ3 e MBC livres)	não-irritante	não-irritante
3 (NP AVO e NP MBC)	não-irritante	não-irritante
4 (AVO e MBC livres)	não-irritante	não-irritante

NP = nanopartículas de PMMA; BZ3 = benzofenona-3; AVO = avobenzona; MBC = metilbenzilideno cânfora.

5.11 Avaliação da Eficácia

Os testes de FPS *in vitro* foram realizados no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG) - UFRJ, baseado em método já largamente conhecido e aplicado (MANSUR *et al.*, 1986) e os ensaios *in vivo* foram realizados por empresa especializada usando o protocolo COLIPA, CTFA SA, JCIA, CTFA, *International Sun Protection Factor Test Method*, 2006. Importante destacar que os teste *in vivo* foram conduzidos segundo as Normas de Boas Práticas Clínicas, aplicáveis aos requisitos regulatórios e em conformidade com os Procedimentos Operacionais Padrão da Allergisa, seguindo os princípios da Declaração de Helsinski, e de acordo com as regulamentações aplicáveis, incluindo o ICH E6: *Good Clinical Practice* (ALLERGISA, 2012).

Na Tabela 5.13 são apresentados resultados de FPS *in vitro* e *in vivo* de formulações contendo as NP carregadas com filtros solares em questão e formulações adicionadas dos mesmos filtros solares sob a forma livre.

A diferença de valores de FPS encontrados nos testes *in vitro* e *in vivo* pode ser explicada pelo fato do método de Mansur (1986) só poder ser empregado para filtros solares solúveis. Isto levou à utilização deste ensaio somente como análise preliminar para os ensaios da eficácia *in vivo*. Provavelmente, o método *in vitro* não foi capaz de avaliar a presença de sistemas protetores solares não-solúveis, determinando apenas o conteúdo livre contido na formulação.

Ao comparar formulações contendo nanopartículas de PMMA com AVO e nanopartículas de PMMA com MBC (3) com os mesmos filtros solares livres (4), observa-se que o resultado *in vitro* é praticamente igual (FPS = 11), enquanto o FPS *in vivo* (ensaio obrigatório e aceito pela ANVISA) apresentou valores ligeiramente superiores na formulação contendo as nanopartículas, caracterizando superior eficácia da formulação desenvolvida. Na formulação contendo nanopartículas de PMMA com BZ3 e nanopartículas de PMMA com MBC (1), apesar dos valores de FPS *in vivo* e *in vitro* terem sido ligeiramente menores, quando comparados ao da formulação contendo os filtros solares na forma livre (4), observa-se eficácia fotoprotetora. Vale ressaltar que os valores de FPS ainda podem ser aumentados alterando-se a manipulação da formulação fotoprotetora final.

Tabela 5.13: Valores de FPS *in vitro* e *in vivo* das formulações fotoprotetoras.

Formulação	FPS <i>in vitro</i>	FPS <i>in vivo</i>
1 (NP BZ3 e NP MBC)	16,5	13,8
2 (BZ3 e MBC livres)	19,3	16,2
3 (NP AVO e NP MBC)	11,7	13,8
4 (AVO e MBC livres)	11,1	12,7

NP = nanopartículas de PMMA; BZ3 = benzofenona-3; AVO = avobenzona; MBC = metilbenzilideno cânfora.

De acordo com uma recomendação feita pela Comissão da Comunidade Européia, em 22 de setembro de 2006 (ALLERGISA, 2012), estabeleceu-se que os protetores solares devem apresentar um fator de proteção UVA de, no mínimo, 1/3 do FPS rotulado e um comprimento de onda crítico superior a 370 nm, a fim de caracterizar o produto como um protetor solar de amplo espectro (UVB/UVA). Ao avaliar os dados contidos na Tabela 5.14, observa-se que as formulações contendo BZ3 e MBC não atingem o 1/3 do FPS *in vivo*, nem o mínimo de comprimento de onda preconizado; sendo assim, não poderiam ser consideradas como protetores solares de amplo espectro. Porém, é importante destacar que os valores de FP-UVA e comprimento de onda (λ) crítico da formulação contendo as nanopartículas são superiores, se comparados à mesma formulação com os filtros solares livres. Já nas formulações contendo avobenzona e metilbenzilideno cânfora (3 e 4), os resultados confirmam a possibilidade de identificar as 2 preparações como sendo protetores solares de amplo espectro (UVB/UVA). O produto contendo as nanopartículas (3) apresentou um valor médio de FP-UVA maior do que o encontrado na formulação com os mesmos filtros solares, nas mesmas concentrações, sob a forma livre, o que caracteriza que a formulação proposta apresenta maior eficácia, em se tratando de proteção UVA do que a formulação-padrão (4).

Tabela 5.14: Resultados relacionados à proteção anti-UVA.

Formulação	FP-UVA	FPS <i>in vivo</i>	λ crítico (nm)
1 (NP FS)	3,11	13,8	359
2 (FS livres)	2,08	16,2	349
3 (NP FS)	17,43	13,8	378
4 (FS livres)	9,76	12,7	378

NP = nanopartículas de PMMA; FS = filtro solar.

5.12 Comentários Finais

A partir dos resultados expostos neste Capítulo, fica claro que é possível obter formulações cosméticas utilizando nanopartículas de PMMA carregadas com filtros solares adicionados *in situ* durante o processo de polimerização. Este fato é interessante, principalmente porque muitas outras preparações cosméticas e farmacêuticas podem ser desenvolvidas utilizando como matéria-prima nanopartículas de diferentes substâncias ativas. Sabendo-se que cada molécula apresenta diferentes características físico-químicas, as análises aqui descritas precisam ser realizadas a cada novo processo de desenvolvimento de nanopartículas poliméricas carregadas com ativos.

CAPÍTULO 6

Conclusões e Sugestões

Neste capítulo são apresentadas as conclusões obtidas e as sugestões para trabalhos futuros.

6.1 Conclusões

Diante de todos os resultados expostos, pode-se concluir que é possível a obtenção de nanopartículas poliméricas com os diferentes filtros solares inclusos, utilizando a técnica *in situ* de polimerização por miniemulsão, mesmo após os processos de secagem empregados (liofilização e estufa). Apesar dos filtros solares utilizados como referência interferirem nas reações de polimerização, alterando, principalmente, as massas molares médias dos polímeros formados, as suspensões contendo as nanopartículas são estáveis e podem ser utilizadas, de forma simples e rápida na obtenção de formulações fotoprotetoras.

A adição de polímero pré-formado, devidamente dissolvido no monômero, antes do início da polimerização permitiu que fossem alcançados os diâmetros médios pretendidos, entre 100 nm e 300 nm. Valores superiores a 300 nm podem acarretar em dificuldade de manipulação, aplicação e espalhabilidade das formulações fotoprotetoras desenvolvidas a partir destas nanopartículas. As conversões nas reações de polimerização alcançaram os valores esperados (100%) por meio da adição de PMMA à formulação inicial e aumento da temperatura reacional (90°C). Estas alterações são simples e podem ser realizadas em uma planta industrial, objetivando produção em maior escala (semi-industrial ou industrial).

As concentrações dos filtros solares adicionadas *in situ*, para obtenção das nanopartículas poliméricas, foram suficientes para o preparo, de forma adequada, das

formulações fotoprotetoras desenvolvidas, que apresentaram estabilidade física e farmacêutica, de acordo com os testes realizados.

Os testes de eficácia realizados com as formulações fotoprotetoras propostas apresentaram-se satisfatórios, de acordo com as concentrações adicionadas de cada matéria-prima. A formulação 3 (nanopartículas de PMMA com AVO e nanopartículas de PMMA com MBC) apresentou valores de FPS *in vivo* superiores aos encontrados na formulação 4 (AVO e MBC sob a forma livre), o que garante que a proteção contra os raios ultravioleta é superior no produto contendo as nanopartículas poliméricas sintetizadas. Além disso, a mesma formulação 3 foi considerada de amplo espectro (UVB/UVA), nos testes FP-UVA, cumprindo os requisitos estabelecidos pelos órgãos oficiais e podendo ser rotulada com esta informação, no caso de uma futura comercialização.

As formulações com adição de nanopartículas dos três diferentes filtros solares (BZ3, AVO e MBC) (1 e 3) são consideradas não-irritantes, de acordo com os resultados obtidos nos testes preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, assim como todas as formulações disponíveis, atualmente, no mercado brasileiro. Ainda objetivando uma maior segurança das formulações testadas, os ensaios de liberação *in vitro*, provavelmente indicam que as mesmas formulações (1 e 3) são mais seguras do que as convencionais (formulações 2 e 4), pois liberaram uma concentração menor dos filtros solares para o meio receptor.

6.2 Sugestões

Baseado nas conclusões obtidas nesta tese e sabendo-se que as técnicas utilizadas já são conhecidas por este grupo de pesquisa, outros estudos podem ser realizados, buscando a produção de produtos cosméticos e farmacêuticos.

Durante a produção das nanopartículas poliméricas, a adição de mais de um filtro solar (anti-UVA e anti-UVB) durante a reação de polimerização, facilitaria a manipulação e diminuiria a quantidade de material com função fotoprotetora que precisa ser adicionado à formulação. Também podem ser adicionados outros filtros solares, mais complexos e com maior proteção UVA e UVB, para avaliar a possível ocorrência de interação e aumento de FPS.

Apesar de ser possível a utilização da suspensão contendo as nanopartículas poliméricas com filtro solar, avaliar um processo de secagem mais eficiente para as nanopartículas é interessante, visto que os empregados nesta tese (liofilização e secagem em estufa) aumentam a agregação das partículas e dificultam a manipulação desta matéria-prima.

Outras formulações antissolares também podem ser pesquisadas, tais como maquiagens, hidratantes. Além disso, a incorporação de outros ativos com função fotoprotetora pode incrementar o fator de proteção solar. Até mesmo, outras formas farmacêuticas, tais como loção cremosa e gel-creme, podem ser desenvolvidas, sempre visando a um aumento da qualidade, segurança e eficácia, além da aceitação do produto por um futuro consumidor.

O desenvolvimento de produtos que alcancem uma produção em larga escala é muito interessante, principalmente, se este mantiver as características já encontradas nas formulações propostas nesta tese. Lembrando que para produção e comercialização, a nível industrial, são necessárias outras análises, tais como os ensaios de permeação e penetração cutânea que, entre outros, garantem uma maior segurança das preparações cosméticas de uso tópico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL de VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/index.htm>. Acesso em: 09 de janeiro de 2012.

AGÊNCIA NACIONAL de VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos: uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/material/guia_cosmetico.pdf. Acesso em: 18 de março de 2012.

ALLERGISA. “Relatório final do estudo-clínico, monocego, aleatorizado, com controle paralelo, do fator de proteção solar de um produto de uso tópico”.

ALVAREZ-ROMAN, R. *et al.* “Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection”. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 52, p. 191-195, 2001.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. A. “Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos”. 6. ed. São Paulo: Ed. Premier, 2000. p. 244-245; 398-400.

ANTONIETTI, M., LANDFESTER, K. “Polyreactions in Miniemulsion”. *Prog. Polym. Sci*, v.27, p. 689-757, 2002.

ARAUJO, L. *et al.* “Uptake of PMMA nanoparticles from the gastrointestinal tract after oral administration to rats: modification of the body distribution after suspension in surfactant solutions and in oil vehicles”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 176, p. 209-224, 1999.

ARAÚJO, T. S.; SOUZA, S. O. “Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta”. *Scientia Plena*, v. 4 (11), p. 1-7, 2008.

ASUA, J. M. “Miniemulsion polymerization”. *Prog. Polym. Sci.*, v. 27: p. 1283, 2002.

BABY, A. R. *et al.* “Estabilidade e Estudo de Penetração Cutânea *in vitro* da Rutina Veiculada em uma Emulsão Cosmética através de um Modelo de Biomembrana Alternativo”. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44 (2), p. 233-248, 2008.

BALOGH, T. S. *et al.* “Proteção a radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção”. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86 (4), p. 732-742, 2011.

BARTH, A. L. “Fator de proteção solar versus coeficiente de carga de filtros solares químicos: avaliação fotobiológica de uma mistura de filtros solares químicos”. 2000. 90f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000.

BERNARDY, N. *et al.* “Comparação entre as Reações de Produção de Nanoesferas e Nanocápsulas Poliméricas Biocompatíveis”. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007, Campina Grande - PB. *Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros*, 2007.

BESTETI, M. D. Produção e caracterização de partículas casca-núcleo obtidas pela polimerização simultânea em suspensão e emulsão. Rio de Janeiro, 2009. 159 f. Dissertação (Mestrado – Engenharia Química) – Programa de Engenharia Química – COPPE – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

BRASIL. Resolução - RDC n^o 47, de 16 de março de 2006. Lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Disponível em

<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=21264&word=>. Acesso em 10 jul. de 2009.

CAMPOS, J. S.; FRASSON, A. P. Z. “Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Lafoensia pacari* A. ST-HIL. Em emulsão não-iônica”. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 32 (3), p. 363-368, 2011.

CERETTA, R. S. R. *et al.* “Câncer de pele: incidência na população residente na região noroeste do rio grande do sul no ano de 2009”. Vivencias: Revista Eletrônica de Extensão da URI, v. 8 (14), p. 86-91, 2012.

CHÁVEZ, F. *et al.* “Liberación de Sustancias Lipofílicas a partir de Nanocápsulas Poliméricas”. Journal of the Mexican Chemical Society, v. 46 (4), p. 349-356, 2002.

CHEN, Y.; SAJJADI, S. “Particle formation and growth in a initio emulsifier-free emulsion polymerization under monomer-starved conditions”. Polymer, v. 50, p. 357-365, 2009.

CHINEM, V. P., MIOT, H. A. “Prevalência de lesões cutâneas actínicas em pacientes com carcinoma basocelular do segmento cefálico: um estudo caso-controle”. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 58 (2), p. 188-196, 2012.

CHISVERT, A.; SALVADOR, A. “Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography”. *J. Chromatogr. A*, v.977, p. 277 – 280, 2002.

CHOU Y.J. *et al.* “Mechanism of emulsification of styrene using hexadecyltrimethylammonium bromide-cetyl alcohol mixture” *J. Dispers. Sci. Technol.*, v. 1, p. 129-150, 1980.

COLIPA – “The European Cosmetic, Toiletry and perfumary Association – International Sun Protection Factor (SPF) Test Method”- www.colipa.com, 2006.

CORTINA, F.V. “Modelagem Matemática da Polimerização em Emulsão Utilizando Iniciador Hidrossolúvel e Organo-solúvel”. 2007. 84p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Engenharia Química – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina – PR.

DANGELO, J. G.; FANTINI, C. A. “Anatomia humana sistêmica e segmentar”. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

DIFFEY, B. L. “Indices of protection from *in vitro* assay of sunscreens”. In: LOWE, N.J.; SHAATH, M.A.; PATHAK, M.A. Sunscreens Development, Evaluation, and Regulatory Aspects. New York: Marcel Dekker, p. 589-600, 1997.

DIFFEY, B. L. “Sunscreens and melanoma: the future looks bright”. *Br. J. Dermatol.*, v. 153, p.378-381, 2005.

DINUNZIO, J.E.; GADDE, R.R, “Determination of sunscreen compounds in topical sunscreen products”. *J. Chromatogr.*, v. 519, p. 117 – 124, 1990.

EL-JABY *et al.* “Emulsification for latex production using static mixers”. *Macromol. Symp.*, v. 281, p. 77-84, 2009.

EP 1661559 A1. “Delivery vehicle manufactured by the miniemulsion method”.

EP 2311844 A1. “Silyl polymeric benzoic acid ester compounds, uses, and compositions thereof”.

Farmacopéia Brasileira, 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1996.

F.D.A. United States of America Department of Health and Human Services. In: Guidance Documents, Guidance for Industry: SUPAC-SS Nonsterile Semisolid Dosage Forms. Scale-up and Postapproval Changes: Chemistry, manufacturing, and controls; In vitro Release Testing and In vivo Bioequivalence Documentation, 1997. Disponível em: <http://www.fda.gov>. Acesso em: 09 de novembro de 2011.

FERNANDEZ, C. *et al.* “Benzophenone-3: rapid prediction and evaluation using non-invasive methods of in vivo human penetration”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 28, p. 57-63, 2002.

FERRARI, M. *et al.* “Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vivo* e *in vitro* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*)”. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17 (4), p. 626-630, 2007.

FLOR, J., DAVOLOS, M. R., CORREA, M. A. “Protetores Solares”. *Química Nova*, v. 30 (1), p. 153-158, 2007.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. *Princípios físico-químicos em Farmácia*. 3ª edição, São Paulo: EDUSP, 2003.

FONSECA, L. B. Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo praziquantel para o tratamento da esquistossomose. Rio de Janeiro, 2012. 208f. Tese (Doutorado – Engenharia Química) - Programa de Engenharia Química – COPPE – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

FREITAS, Z. M. F. Síntese e avaliação das propriedades fotoprotetoras de ésteres glicéricos do ácido p-metoxicinâmico. 1997, p. 159. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1997.

FRESTA, M.; GIAMMONA, G.; CAVALLARO, G.; MICALI, N.; FURNERI, P. M. “Pefloxacin mesilate- and ofloxacin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: Characterization of the colloidal drug carrier formulation”. *J. Pharm. Sci.*, v. 84, p. 895-902, 1995.

GAGLIARDI, L. *et al.* “Determination of sunscreens agents in cosmetic product by reversed-phase high-performance liquid chromatography, part II”. *J. Chromatogr.*, v. 464, p. 428-433, 1989.

GAMISANS, F. *et al.* “Flurbiprofen-loaded nanospheres: analysis of the matrix structures by thermal methods”. *International Journal of Pharmaceutics*, v.179, p 37-48, 1999.

GARCIA, S. “Liposomas com Filtro Solar: preparação e controle de qualidade”. 1998. 161f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, 1998.

GUARATINI, T., MEDEIROS, M. H. G., COLEPICCOLO, P. “Antioxidantes na Manutenção do Equilíbrio Redox Cutâneo: Uso e Avaliação da sua Eficácia”. *Química Nova*, v. 30, p. 206-213, 2007.

GUIMARÃES, L. F. L., COLLINS, C. H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. *Introdução a métodos cromatográficos*. São Paulo: Unicamp, p. 183-195. 1997.

GUSTAVSSON-GONZALEZ, H., FARBROT, A., LARKO, O. “Percutaneous absorption of benzophenone-3, a common component of topical sunscreens”. *Clinical & Experimental Dermatology*, v. 27 (8), p. 691-694, 2002.

GUTERRES, S. S. *et al.* “Poly(DL-lactide) nanocapsules containing diclofenac: Formulation and stability study”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 113, p. 57-63, 1995.

HAIGH, J. M.; SMITH, E. W. “The selection and use of natural and synthetic membranes for *in vitro* diffusion experiments”. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v.2, p.311-330, 1994.

HAYDEN, C.G.J. *et al.* “Systemic absorption of sunscreen after topical administration”. *Lancet*. v. 350, p. 863-864, 1997.

HAYWOOD, R. “Relevance of Sunscreen Application Method, Visible Light and Sunlight Intensity to Free-radical Protection: A Study of *ex vivo* Human Skin”. *Photochem. Photobiol.*, v. 82, p. 1123-1131, 2006.

IANNUCELLI, V. *et al.* “Influence of liposphere preparation on butyl-methoxydibenzoylmethane photostability”. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 63, p. 140-145, 2006.

IKEDA, K.; SUZUKI, S.; WATANABE, Y. “Determination of sunscreens agents in cosmetic product by reversed-phase high-performance liquid chromatography”. *J. Chromatogr.*, v. 482, p. 240 – 245, 1989.

JAIN, R. *et al.* “Controlled drug delivery by biodegradable poly(ester) devices: different preparatives approach”. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.24, p. 703-727, 1998.

JAIN, S. K.; JAIN, N. K. Multiparticulate carriers for sun-screening agents. *Int. J. Of Cosm. Science*, v.32, p. 89-98, 2010.

JANJUA, R. N. *et al.* “Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3-octyl-methoxycinnamate, and 3-(4-methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans”. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 123, p. 57-61, 2004.

JIMÉNEZ, M. M. *et al.* “Influence of encapsulation on the *in vitro* percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate”. *Int. J. Pharm.*, v. 272, p. 45-55, 2004.

JOHNSON, E.Y.; LOOKINGBILL, D.P. “Sunscreen use and sun exposure:trends in a white population”. *Arch. Dermatol.*, p. 120:727-731, 1984.

KESISOGLOU, F.; PANMAI, S.; WU, Y. “Nanosizing – Oral formulation development and biopharmaceutical evaluation”. *Advanced Drug Delivery Reviews* v. 59, p. 631-644, 2007.

KIRCHOFF, V. W. J. H. “Ozônio e radiação UVB”. São José dos Campos, São Paulo: Transtec, 1995.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H.W. “Photoprotection”. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 52, p. 937-958, 2005.

LANDFESTER, K. “Synthesis of colloidal particles in miniemulsions”. *Annu. Rev. Mater. Res.*, v. 36, p. 231-79, 2006.

LANDFESTER, K. *et al.* “Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions”. *Macromolecules*, v. 32, p. 5222-5228, 1999.

LANGER, K.; MARBURGER, C.; BERTHOLD, A.; KREUTER, J.; STIENEKER, F. “Methylmethacrylate sulfopropylmethacrylate copolymer nanoparticles for drug delivery. Part I: Preparation and physicochemical characterization”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 137, p. 67-74, 1996.

LAUTENSCHLAGER, S., WULF, H., PITTELKOW, M. “Photoprotection”. *The Lancet*, v. 370 (9586), p. 528-537, 2007.

LENZI, M. K.; SILVA, F. M.; LIMA, E. L.; PINTO, J. C. “Semibatch styrene suspension polymerization process”. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 89, p. 3021-3038, 2003.

LENZI, M. K. Modelagem da polimerização simultânea de estireno em suspensão e emulsão. Rio de Janeiro, 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado – Engenharia Química) – Programa de Engenharia Química – COPPE – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

- LÉPORI, L. R. “Miniatlas: a pele”. 1 ed., São Paulo: Soriak, 2002.
- LORCA, B. S. S. *et al.* “Análise in vitro e in vivo do potencial irritante de tensoativos derivados de aminoácidos”. *Revista Analytica*. v.32, p. 80-83, 2008.
- LOVELL, P. A.; EL-AASSER, M. S. “Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers”. Inglaterra, 1997.
- LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros. 1 ed. Ed. E-papers, p. 57-207, 2001.
- MACHADO, J. K. F. B. *et al.* “Materiais híbridos orgânicos-inorgânicos (ormosil) obtidos por sol-gel com potencial uso como filtro solar”. *Química Nova*. v. 34 (6), p. 945-949, 2011.
- MANSUR, J. S. *et al.* “Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria”. *Anal. Bras. Dermatol.* v. 61, p. 121-124, 1986.
- MAINARDES, R. M.; GREMIÃO, M. P. D.; EVANGELISTA, R. C. “Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles”. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42 (4), p. 523-530, 2006.
- MARTINI, M. C.; SEILLER, M. “Actifs et additifs en Cosmetologie”. Paris, *Technique & Documentation*, 2006.
- MEEHAN, E.; SAUNDERS, G.; TRIBE, K. “High performance GPC analysis for reliable polymer characterization”. *The Applications Books*, p. 1-2, 2003.
- MEHNERT, W.; MÄDER, K. “Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.47, p.165-196, 2001.
- MENDONÇA, F. A. C. *et al.* “Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*”. *Fitoterapia*, v. 76, p. 629-636, 2005.

MILESI, S. S., GUTERRES, S. S. “Fatores Determinantes da Eficácia de Filtros Solares”. *Caderno de Farmácia*, v. 18 (2), p. 81-87, 2002.

MIOT, H. A. *et al.* “Comparative study of the topical effectiveness of the andiroba oil (*Carapa guianensis*) and DEET 50% as repellent for *Aedes* sp”. *Rev Inst Med Trop.*, v. 46, p. 253-256, 2004.

MONTEIRO, M. S. S. B. “Filtros Solares em Nanocosméticos: Desenvolvimento e Avaliação da Segurança e Eficácia”. 2008. 164f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MORGANTI, P. “Use and potential of nanotechnology in cosmetic dermatology”. *Clin Cosmet Investig Dermatol.*, v. 3, p. 5 – 13, 2010.

MOTA, A. C. V. *et al.* “Estudo de liberação in vitro do filtro solar p-metoxicinamato de octila incluso em lipossoma e β -cilcodextrina”. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29 (3), p. 285-289, 2008.

MUELLER, S. O. *et al.* “Activation of estrogen receptor α and ER β by 4-methylbenzylidene-camphor in human and rat cells: comparison with phyto- and xenoestrogens”. *Toxicology Letters*, v. 142, p. 89-101, 2003.

NASCIMENTO, D. F. “Nanocosméticos em Fotoproteção: Desenvolvimento e Avaliação de Nanopartículas Poliméricas com Filtros Solares”, 2011, 152f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

NEDOROST, S. T. “Facial erythema as a result of benzophenone allergy”. *J. Am. Acad. Dermatol.* v. 49, p. 259-261, 2003.

NEVES, K. “Espectro Solar, Sol e origem da radiação eletromagnética”. Tecnopress – *Edição Temática: Proteção Solar*, nº7, Ano 3, p.10-13. Março, 2008.

NEWMAN, M. D.; STOTLAND, M.; ELLIS, J. I. “The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens”. *J Am Acad Dermatol*, v.61, p.685-692, 2009.

NOHYNEK, G. J.; ANTIGNAC, E.; RE, T.; TOUTAIN, H. “Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients”. *Toxicol. And Applied Pharm.* v.243, p.239-259, 2010.

ODIAN, G., “Principles of Polymerization”. 4° ed., New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 2004.

OKEREKE, C. S. *et al.* “Safety evaluation of benzophenone-3 after dermal administration in rats”. *Toxicol. Lett.* v. 80, p. 61-67, 1995.

OLIVEIRA, A. Z. M. “Desenvolvimento de Formulações Cosméticas com Ácido Hialurônico”. 2009, 100f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2009.

OLIVEIRA, M. A. M. *et al.* “Suspension copolymerization of vinyl acetate and methyl methacrylate in presence of amoxicillin. *Macromolecular Reaction Engineering*, 2012.

OLIVEIRA, R. B., LIMA, E. M. “Polímeros na Obtenção de Sistemas de Liberação de Fármacos”. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 3 (1), p. 29-35, 2006.

OLVERA-MARTINEZ, B. I. *et al.* “Preparation of polymeric nanocapsules containing octyl methoxycinnamate by the emulsification-diffusion technique: Penetration across the stratum corneum”. *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 94, p. 1552-1559, 2005.

PAESE, K. Desenvolvimento tecnológico, estudo da fotoestabilidade e avaliação da permeação cutânea *in vitro* da benzofenona-3 a partir de nanocápsulas poliméricas

incorporadas em diferentes veículos semi-sólidos. Porto Alegre, 2008. 185f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

PATHAK, MA. “Photobiology of melanin pigmentations”. *J. Am. Acad. Dermatol.* v. 9, p. 724-33, 1983.

PENIDO, C. *et al.* “Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia”. *Inflamm Res.*, v. 55, p. 457-464, 2006^a.

PENIDO, C. *et al.* “Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia”. *Inflamm Res.*, v. 54, p. 295-303, 2006^b.

PERUGINI, P. *et al.* “ Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate” . *Int. J. Pharm.*, v.246, p. 37-46, 2002.

PETRAZZUOLI, M. “Advances in sunscreens”. *Curr. Probl. Dermatol*, v.12 (6), p. 287-290, 2000.

PRISTA, N. *et al.* “*Tecnologia Farmacêutica*”. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. v. 1, 1996.

RAMÓN, E. *et al.* “Liposomes as alternative vehicles for sun filter formulations”. *Drug Delivery*, v. 12, p. 83-88, 2005.

RASTOGI, S. C.; JENSEN, G. H. “Identification of UV filters in sunscreen products by high-performance liquid chromatography – diode-array detection”. *J. Chromatogr.*, v. 828, p. 311 – 316, 1998.

RIBEIRO, R. P. “Desenvolvimento de validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS *in vitro* em formulações fotoprotetoras comerciais”.

2004. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

ROCA, L. M.; MOREIRA, S. C.; MOREIRA, L. M. A. “Avaliação laboratorial do fator de proteção solar (FPS) em protetores utilizados por portadores de albinismo na Bahia”. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 10 (2), p. 136-139, 2011.

ROMIO, A. P. “Obtenção de Nanocápsulas via Polimerização em Miniemulsão”. 2007. 97f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Engenharia Química – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina – PR.

ROMIO, A. P. *et al.* “Nanocápsulas Biocompatíveis via Polimerização em Miniemulsão Usando Surfactante e Hidrófobo Biodegradáveis”. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007, Campina Grande - PB. *Anais do 9º Congresso Brasileiro de Polímeros*, 2007.

ROMIO, A. P. *et al.* “Polymeric nanocapsules via miniemulsion polymerization using redox initiation”. *Materials Science and Engineering C*, v.29 (2), p. 514-518, 2009.

ROSEN, C. F.; “Topical and systemic photoprotection”. *Dermatol. Ther.*, v. 16, p. 8-15, 2003.

RUVOLO JÚNIOR, E. C. “Proteção solar: comparação dos métodos de determinação por testes em humanos (*in vivo*), FDA, COLIPA, SAA”. *Cosmetics on line*, v. 19 (105), p. 37-46, 1997.

SALVADOR, A.; DE LA OSSA, M.D.; CHISVERT, A. “Determination of butyl methoxydibenzoylmethane, benzophenona-3, octyl dimethyl PABA and octyl methoxycinnamate in lipsticks”. *Int. J. Cosmetic Science*, v. 25, p. 97 – 102. 2003.

SALVADOR G., FERNANDÉZ-LORENTE, M., GILABERTE-CALZADA Y. “The Latest on Skin Photoprotection”. *Clinics in Dermatology*, v. 26, p. 614-626, 2008.

SALVADOR, A., CHISVERT, A. “Sunscreen analysis. A critical survey on UV filters determination”. *Analytica Chimica Acta*, v. 537, p. 1-14, 2005.

SALVIO, A. G. *et al.* “Experiência de um ano de modelo de programa de prevenção contínua do melanoma na cidade de Jaú – SP, Brasil”. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86(4), p. 669-674, 2011.

SANTOS, E. P. *et al.* “In vitro and *in vivo* determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate”. *Int J of Cosmetics Sci.*, v.21, p. 1-5, 1999.

SANTOS, V. M. “Preparação de Filtros Solares em Nanosistema Visando a Ação Prolongada”. 2007. 124 f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

SANTIS, A. K. Formas Farmacêuticas semi-sólidas de uso tópico contendo nifedipina: desenvolvimento galênico e avaliação biofarmacotécnica, 2008, 157p. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

SASSON, C. S. “Influência dos veículos cosméticos na permeação cutânea da associação de filtros solares e acetato de tocoferol”. 2006. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SCALIA, S. “Determination of sunscreen agents in cosmetic products by supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography”. *J. Chromatogr. A*, v. 870, p. 199-205, 2000.

SCALIA, S *et al.* “Influence of hydroxypropyl betacyclodextrin photo-induced free radical production by the sunscreen agent, butylmethoxydibenzoylmethane”. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 54, p. 1553-1558, 2002.

SCALIA, S. *et al.* “Complexation of the sunscreen agent, butyl methoxydibenzoylmethane with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 175, p. 205-213, 1998.

SCALIA, S.; VILLANI, S.; CASOLARI, A. “Inclusion complexation of the sunscreen agent 2- ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: effect on photostability”. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 51 (12), p. 1367-1374, 1999.

SCHAFFAZICK, S. R. *et al.* “Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos”. *Química Nova*, v. 26 (5), p. 726-737, 2003.

SCHALKA, S.; REIS, V. M. S. “Fator de Proteção Solar – Significado e Controvérsias”. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86 (3), p. 507-515, 2011.

SCHLUMPF, M. *et al.* “Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters – an update”. *Toxicology*. v. 205, p. 113-122, 2004.

SCHORK, F. J. *et al.* “Miniemulsion Polymerization”. *Adv. Polym. Sci.* v. 175, p. 129-255, 2005.

SCIDLOVÁ-WUTTKE, D. *et al.* “Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxycinamate (OMC) and 4- methylbenzylidene camphor (4MBC) – 2 filters of UV light- on several uterine, vaginal and bone parameters”. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 210, p. 246-254, 2006.

SEIJO, B.; FATTAL, E.; TREUPEL, L. R.; COUVREUR, P. “Desing of nanoparticles of less than 50 nm diameter: preparation characterization and loading”. *Int. J. Pharm.*, n. 62, p. 1-7, 1990.

SHAATH, N. A. “The Encyclopedia of Ultraviolet Filters”. Ed: Allured Publishing Corporation, New York, U.S., 2007.

SHAATH, N. A. “Evolution of modern sunscreen Chemicals”. In: Lowe, N.J.; SHAATH, M. A.; PATHAK, M. A. Sunscreens Development, Evaluation, and Regulatory Aspects. New York: Marcel Dekker, p. 589-600, 1997.

SHIM, J. *et al.* “Transdermal delivery of mixnoxidil with block copolymer nanoparticles”. *Journal of Controlled Release*, v. 97 (3), p. 477-484, 2004.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., KIEMLE, D. J., *Spectrometric Identification of Organic Compound*. 7^o ed., New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 2005.

SIMEONI, S., SCALIA, S., BENSON, H. A. E. “Influence of cyclodextrins on *in vitro* human skin absorption of the sunscreen, butyl-methoxydibenzoylmethane. *International Journal of Pharmaceutics*”, v. 280, p. 163-171, 2004.

SIQUEIRA, N. M. “Desenvolvimento Tecnológico e Avaliação da Penetração Cutânea de Benzofenona-3 a partir de Nanocápsulas Revestidas de Quitosana”. 2008. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SMYRNIOTAKIS, C. G.; ARCHONTAKI, H. A. “Development and validation of a non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of four chemical UV filters in care formulations”. *J. Chromatogr. A*, v. 1031 (1/2), p. 319-324, 2003.

SOARES, M. V. Desenvolvimento e Avaliação de Nanopartículas de Poli-ε-caprolactona contendo Zinco(II)ftalocianina para-Uso na Terapia Fotodinâmica do Câncer, 2009, 142 p. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2009.

SOUZA, S. R. P., FISCHER, F. M., SOUZA, J. M. P. “Bronzeamento e Risco de Melanoma Cutâneo: Revisão da Literatura”. *Revista de Saúde Pública*, v. 38 (4), p. 588-598, 2004.

SUZUKI, T. *et al.* “Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens”. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 203 (1), p. 9-17, 2005.

SZIKSZAI, Z.; KERTÉSZ, Z.; BODNÁR, E.; MAJOR, I.; KISS, Á.; HUNYADI, J. “Nuclear microprobe investigation of the penetration of ultrafine zinc oxide into intact and tape-stripped human skin”. *Nucl. Instr. And Meth. B*, 2010.

TEO, B. M.; ASHOKKUMAR, M.; GRIESER, F. “Sonochemical polymerization of miniemulsion in organic liquids/water mixtures”. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 13, p. 4095-4102, 2011.

TERCI, D. B. L. “A Química dos Protetores Solares”. VIII Simpeq, 2008.

TIARKS, F., LANDFESTER, K., ANTONIETTI, M.. “Preparation of Polymeric Nanocapsules by Miniemulsion Polymerization”. *Langmuir*, v. 17, p. 908-918, 2001.

UCHEGBU, I. F.; SCHATZLEIN, A. G. “Polymers in Drug Delivery”. *Polymeric nanoparticles as Drug Carriers*. 1 ed. Ed. CRC Taylor E Francis Group, 2006.

URBACH, F. “The historical aspects of sunscreen”. *J. Photochem. and Photobiol. B*, v. 64, p. 99-104, 2001.

US2007/0292524 A1. “Delivery vehicle containing nanoparticles”.

U.S. FDA/CDER. Nonsterile Semisolid Dosage Forms – Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation. 1997.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. General Chapters, Residual Solvents. 31. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2008. Cap. 467, p. 170- 175.

VAUTHIER, C.; BOUCHEMAL, K. “Methods for the 1 preparation and manufacture of polymeric nanoparticles”. *Pharmaceutical Research*, v. 26 (5), p. 1025-1058, 2008.

VANQUERP, V. *et al.* “High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents”. *J. Chromatogr. A*, n.832, p.273 –277, 1999.

VELASCO, M. V. R. *et al.* “Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro) – revisão”. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 32(1), p. 27-34, 2011.

VERMA, D. D. *et al.* “Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 258, p. 141-151, 2003.

WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H. “A novel sunscreen system based on tocopherol acetate incorporated into solid lipid nanoparticles”. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 23, p. 233-243, 2001.

WISSING, S. A.; MÜLLER, R. H. “Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration”. *Journal of Controlled Release*, v. 81, p. 225-233, 2003.

WO2006/056362 A2. “Delivery vehicle manufactured by the miniemulsion method”.

WO2008/126971 A1. “Polymer nano particle containing UV blocking material and method for preparing the same”.

WO2009/121997 A2. “Pegylated nanoparticles containing a biologically active molecule and use thereof”.

WO2010/040194 A2. “Nanoparticulated system, process for the preparation of the same, use of the same, photoprotection composition, process for the preparation of the same, method of prevention of diseases of the skin”.

YENER, G., INCEGÜL, T., YENER, N. “Importance of using solid lipid microspheres as carriers for UV filters on the example octyl methoxy cinnamate”. *Int J of Pharm*, v.258, p. 203-207, 2003.