

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Desenvolvimento de protótipos de emulsões fotoprotetoras
contendo ou não nanocápsulas de repelente de insetos**

Mestranda: Juliana Lazzari Medeiros

Porto Alegre, 2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Desenvolvimento de protótipos de emulsões fotoprotetoras
contendo ou não nanocápsulas de repelente de insetos**

Dissertação apresentada por **Juliana Lazzari Medeiros**
para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Stanisçuaski Guterres

Porto Alegre, 2016.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 09 de maio de 2016, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof^a. Dr^a. Irene Cledes Kulkamp Guerreiro
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^a. Dr^a. Valquíria Linck Bassani
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof Dr^a Scheila Rezende Schaffazick
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr^a. Renata Vidor Contri (suplente)
Centro Universitário Univates

CIP - Catalogação na Publicação

Lazzari Medeiros, Juliana
Desenvolvimento de protótipos de emulsões
fotoprotetoras contendo ou não nanocápsulas de
repelente de insetos / Juliana Lazzari Medeiros. --
2016.
170 f.

Orientadora: Sílvia Stanisquaski Guterres.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto
Alegre, BR-RS, 2016.

1. Desenvolvimento de protótipos de emulsões
fotoprotetoras e desenvolvimento de nanopartículas
contendo permetrina para incorporação em emulsões
fotoprotetoras . I. Stanisquaski Guterres, Sílvia,
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia da UFRGS, e contou com apoio financeiro do LAFERGS e CNPQ.

Senhor,

No silêncio deste dia que amanhece, venho

Pedir-te a paz, a sabedoria, a força.

Quero olhar hoje o mundo com os olhos cheios

De amor, ser paciente, compreensiva, mansa e prudente, ver

Além das aparências teus filhos como tu mesmo os vê, e, assim, não ver

Senão o bem em cada um.

Cerra meus ouvidos a toda calúnia.

Guarda minha língua de toda maldade.

Que só de bênçãos se encha meu espírito.

Que eu seja tão bondoso e alegre,

Que todos quantos se chegarem a mim, sintam a tua presença.

Reveste-me de tua beleza, Senhor, e que no decurso deste dia,

Eu te revele a todos".

Amém

*“Ando devagar porque já tive pressa,
E levo esse sorriso, porque já chorei de mais,
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe,
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei, ou
Nada sei, conhecer as manhãs e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs.
É preciso amor para poder pulsar, é preciso paz
Para poder sorrir, é preciso a chuva para florir.
Penso que cumprir a vida, seja simplesmente
Compreender a marcha, ir tocando em frente,
Como um velho boiadeiro, levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada, eu vou,
Estrada eu sou, conhecer as manhãs e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor pra poder pulsar, é preciso paz
Pra poder sorrir, é preciso a chuva para florir
Todo mundo ama um dia, todo mundo chora,
Um dia a gente chega, no outro vai embora,
Cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si
Carrega o dom de ser capaz, e ser feliz,
conhecer as manhãs e as manhãs,
O sabor das massas e das maçãs,
É preciso amor para poder pulsar, é preciso paz
Pra poder sorrir, é preciso a chuva para florir
Ando devagar porque já tive pressa,
E levo esse sorriso, porque já chorei de mais,
Cada um de nós compõe a sua história, cada ser em si
Carrega o dom de ser capaz, e ser feliz”*

Amir Sater

Ao meu marido Fábio, sem ele eu não poderia ter realizado o sonho de cursar
mestrado.

AGRADECIMENTOS

À **Professora Dra. Sílvia Stanisçuaski Guterres** pela orientação, paciência, confiança, pelos muitos ensinamentos e oportunidades concedidas.

Ao **Professor Dr. Paulo Mayorga** pelas contribuições, disponibilidade e oportunidades concedidas.

À **Denise Soledade Jornada** pela paciência, contribuição intelectual e ensinamentos.

À **Karina Paese** pela força, contribuição intelectual, orientação, ensinamentos e amizade.

À **Professora Dra. Adriana Raffin Pohlmann** pelos ensinamentos e pela exigência que me fizeram crescer profissionalmente.

À PPGCF-UFRGS e ao LAFERGS pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao **Professor Martin Steppe** pelo empréstimo das estufas do controle de qualidade.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pelas contribuições na minha formação profissional.

Aos queridos colegas do Laboratório 405 e K204 pela amizade, paciência e auxílios prestados: Aline Marques Cardoso, Andréia Garcia Harter, Bibiana Rocha Aldrigui, Bruna Grings, Cecília Michalowski, Denise Soledade Jornada, Edilene Gadêlha, Fernanda Vieira de Ávila, Franciele Bruinsmann, Gabriele Dalt Souto, Jéssica Krai Groehs, Karina Paese, Lali Ransoni, Luiza Abrahão Frank, Manoel Ortiz, João Guilherme de Marchi, Ricardo Lorenzoni, Selma Calgaroto, Simara Trasel, Taíse Ceolin.

Aos queridos amigos Aline Marques Cardoso, Edilene Gadêlha, Fernanda Vieira de Ávila, Franciele Bruinsmann, Gabriele Dalt Souto, Karina Paese, Jéssica Krai Groehs, Lali Ransoni e Taíse Ceolin, pela amizade, companheirismo, paciência e discussões intelectuais.

Ao **Fábio Linck Medeiros**, meu marido, amor da minha vida, pela infinita paciência, pela força, companheirismo, compreensão, amizade, pelo apoio incondicional e muito amor.

À minha família, em especial a minha **mãe Lorena e a minha irmã Luciana** pela força, apoio, confiança, compreensão, paciência e muito amor.

Ao CNPQ, órgão financiador da bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho e a FAUFRGS pelo apoio financeiro recebido durante a realização deste trabalho.

À **Rosana Fogaça** pela paciência e pela ajuda na aquisição das matérias-primas junto a FAUFRGS.

Aos fornecedores: Sarfam, Croda, Embacaps, Dow Corning, Lipo, Vollmens, Lutéce, Technoveda, pelas amostras concedidas, sem elas não poderia ter realizado este trabalho.

À **Deus** que sempre me guia pelo melhor caminho, sempre me ilumina e me ampara.

SUMÁRIO

Apresentação	25
Objetivos	27
Revisão da literatura	29
Introdução (capítulo 1)	67
Objetivos	71
Metodologias	73
Resultados e Discussão	83
Conclusão	99
Introdução (capítulo 2)	103
Objetivos	107
Metodologias	109
Resultados e Discussão	119
Conclusão	129
Perspectivas	133
Referências	135
Apêndices	153
Anexos	163

Lista de Figuras

Figura 1.	Exemplo de roupas utilizadas por mulheres no século 19	29
Figura 2.	Introdução das roupas para banho de mar	30
Figura 3.	Anuncio do bronzeador Coppertone	30
Figura 4.	Diferentes raios ultravioletas e sua incidência na superfície da terra	33
Figura 5.	Esquema da incidência dos raios UV nas diferentes camadas da pele	34
Figura 6.	Estrutura química da avobenzona (butyl methoxydibenzoyl methane)	56
Figura 7.	Estrutura química do octocrileno (ethyl hexyl cyano diphenyl acrylate)	56
Figura 8.	Estrutura química Metil-canfor (4-Methylbenzylidene Camphor)	57
Figura 9.	Estrutura química etilmetoxinamato (Ethylhexyl Methoxycinnamate)	57
Figura 10.	Estrutura química do tinosorb M (Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol)	58
Figura 11.	Estrutura química do uvinul A plus (diethylamino hydroxybenzoyl Hexyl benzoate)	58
Figura 12.	Produção das emulsões fotoprotetoras	75
Figura 13.	Gráfico de radar das formulações	88
Figura 14.	Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Protsol1	89
Figura 15.	Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Protsol2	89
Figura 16.	Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação L'Oreal.	89
Figura 17.	Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Pasteur.	90

Figura 18.	Perfil de distribuição de tamanho da gotícula por volume nos tempos 0 e 90 dias da análise de estabilidade das formulações Protsol1 (A) e Protsol2 (B)	91
Figura 19.	Imagens fotográficas das formulações desenvolvidas	92
Figura 20.	Gráfico radar das formulações	94
Figura 21.	Comparação da degradação do resveratrol, (Protsol1 e Protsol2) <i>versus</i> as formulações comerciais (L'Oreal e Pasteur).	96
Figura 22.	Comparação da capacidade fotoprotetora das formulações Protsol1 <i>versus</i> Protsol1+IR3535 frente a proteção da degradação do resveratrol.	97
Figura 23.	Controles positivos: Coagulação, vasoconstrição, hemorragia	98
Figura 24.	Perfis de distribuição granulométrica das nanocápsulas contendo permetrina	120
Figura 25.	Gráfico radar das formulações	123
Figura 26.	Comparação da capacidade fotoprotetora das formulações (Fotoprot1, Fotoprot1+NanoPCL, Fotoprot1+NanoRS com a formulação comercial L'Oreal)	124
Figura 27.	Perfil de penetração cutânea das suspensões de nanocápsulas (NanoRS e NanoPCL) e da emulsão de permetrina (Livre).	126
Figura 28.	Perfil de penetração cutânea das formulações semissólidas contendo as suspensões de nanocápsulas (Protsol1+NanoRS e Protsol1+NanoPCL) e da emulsão de permetrina (Protsol1+Livre)	127
Figura 29.	Índice de irritabilidade das nanocápsulas de permetrina (NanoPCL e NanoRS) em comparação com a permetrina livre (PermLivre).	128
Figura 30.	Figura representativa da embalagem externa (cartucho) do Fotoprotetor	156
Figura 31.	Figura representativa da embalagem interna (bisnaga do tipo pump) do Fotoprotetor	157

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Radiações que compõe os raios solares	31
Tabela 2.	Classificação dos fototipos de pele proposta por Fitzpatrick	35
Tabela 3.	Alterações morfológicas resultantes do fotoenvelhecimento	40
Tabela 4.	Filtros solares existentes, concentração e regiões permitidas	41
Tabela 5.	Designação de Categoria de Proteção relativa à proteção oferecida pelo produto contra radiação UVB e UVA para a rotulagem dos Protetores Solares.	47
Tabela 6.	Matérias-primas utilizadas para a produção das formulações semissólidas.	73
Tabela 7.	Composição das formulações (Protsol1 e Protsol2) e suas respectivas concentrações	76
Tabela 8.	Pontuação atribuída, em função do tempo de aparecimento, de cada um dos sinais de irritação.	82
Tabela 9.	Classificação do grau de irritação de acordo com a pontuação atribuída para os sinais de irritação.	82
Tabela 10.	Valores de pH para as formulações Protsol1 e Protsol2 frente as diferentes condições de armazenamento.	84
Tabela 11.	Coeficientes de regressão para cada formulação de acordo com os modelos testados.	85
Tabela 12.	Índice de fluxo e valor de consistência das formulações fotoprotetoras.	86
Tabela 13.	Média dos diâmetros obtidos por difratometria a laser para as formulações Protsol1 e Protsol2 em comparação com as formulações comerciais (L'Oreal e Pasteur).	87
Tabela 14.	Formulação fotoprotetora com repelência de insetos (Protsol1+IR3535).	93
Tabela 15.	Coeficientes de regressão encontrados para a formulação Protsol1 em comparação com a formulação Protsol1+IR3535.	94
Tabela 16.	Classificação do teste de irritação Het-cam com base nos efeitos irritantes de acordo com a pontuação obtida.	98
Tabela 17.	Composição das formulações (Protsol1+NanoRS e Protsol1+NanoPCL) e suas respectivas concentrações.	112
Tabela 18.	Pontuação atribuída, em função do tempo de aparecimento, de cada um dos sinais de irritação.	114
Tabela 19.	Classificação do grau de irritação de acordo com a pontuação atribuída para os sinais de irritação.	114
Tabela 20.	Valores D[4,3] (μm), Z-averange (nm), Span e PDI das formulações NanoPCL e NanoRS contendo permetrina	119

Tabela 21.	Resultados da análise de estabilidade no período de 90 dias para teor, pH, diâmetro, potencial zeta e PDI.	120
Tabela 22.	Teor de permetrina nas formulações fotoprotetoras, antes e após o estudo de estabilidade.	122
Tabela 23.	Coeficientes de regressão encontrados para cada formulação de acordo com os modelos testados, após a incorporação das nanocápsulas de permetrina.	122
Tabela 24	Diferentes emulsionantes testados para escolha da combinação mais adequada	153

RESUMO

Objetivos: Demanda do Laboratório Farmacêutico do Estado do Rio Grande do Sul (LAFERGS) para o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras, uma com e a outra sem repelência de insetos. O repelente foi incorporado a partir de nanocápsulas de núcleo lipídico produzidas com dois diferentes polímeros (poli(ϵ -caprolactona) e eudragit RS100) na formulação selecionada, com posterior avaliação da estabilidade, capacidade fotoprotetora, permeação cutânea da permetrina e potencial irritativo das formulações *in vitro*. **Métodos:** Foram preparadas emulsões fotoprotetoras, avaliadas durante 90 dias. Concomitantemente, foram desenvolvidas nanocápsulas de permetrina (NanoPCL e NanoRS), e caracterizadas. Após desenvolvimento e seleção das melhores formulações, as nanocápsulas foram incorporadas na emulsão fotoprotetora escolhida (Fotoprot1), sendo avaliadas (Fotoprot1+PermLivre, Fotoprot1+NanoPCL e Fotoprot1+NanoRS). **Resultados:** Emulsões fotoprotetoras estáveis, com características reológicas adequadas, eficiente capacidade fotoprotetora e irritação *in vitro* leve. As nanocápsulas de permetrina (NanoPCL e NanoRS), foram incorporadas na emulsão fotoprotetora (Fotoprot1) e avaliadas quanto a estabilidade. Não foram observadas mudanças na aparência, coloração, odor, pH e nas características reológicas das formulações. Na avaliação da capacidade fotoprotetora todas foram capazes de proteger igualmente uma solução de resveratrol da sua degradação. Na análise do potencial irritante *in vitro* classificadas como irritantes leves. A permeação mostrou que a permetrina não foi encontrada no compartimento receptor. Ambas as formulações (NanoPCL e NanoRS) incorporadas ou não a emulsão Fotoprot1 proporcionaram uma adesão adequada da permetrina no estrato córneo. Entretanto, as formulações com NanoPCL apresentaram melhor desempenho, pois não foi detectada a presença de permetrina tanto na epiderme quanto na derme. Para as formulações com NanoRS, foi detectada permetrina nas camadas de pele avaliadas. **Conclusão:** Foi possível desenvolver emulsões fotoprotetoras estáveis, com fotoproteção eficiente e com baixa irritação. As nanocápsulas contendo permetrina foram apropriadas para incorporação na emulsão fotoprotetora, não interferiram na eficiência da fotoproteção e nem na irritação.

Palavras-chaves: permetrina, emulsão fotoprotetora, estabilidade, irritação, permeação.

ABSTRACT

Objectives: Demand from the Laboratório Farmacêutico do Rio Grande do Sul (LAFERGS) for the development of a sunscreen formulation with and without insect repellency. Therefore, permethrin was incorporated in lipid core nanocapsules produced with two different polymers (poly(ϵ -caprolactone) and Eudragit RS100) in a selected sunscreen formulation, with subsequent evaluation of the stability, photoprotective capacity, skin permeation and irritation potential *in vitro*. **Methods:** Photoprotective emulsions were prepared and evaluated during 90 days. Permethrin nanocapsules were developed (NanoPCL and NanoRS), and characterized. The nanocapsules were incorporated in the selected sunscreen emulsion (Fotoprot1), and subsequently evaluated in terms of stability, skin permeation and irritation *in vitro* (Fotoprot1 + PermLivre, Fotoprot1 + NanoPCL and Fotoprot1 + NanoRS). **Results:** Stable photoprotective emulsions were produced, presenting appropriate rheological characteristics, efficient photoprotective capacity and mild *in vitro* eye irritation. Nanocapsules of permethrin (NanoPCL and NanoRS) were successfully incorporated in the sunscreen emulsion (Fotoprot1) and evaluated regarding the stability. It was not observed changes in appearance, color, odor, pH and rheological properties of the formulations. Rheograms indicated a pseudoplastic behavior. All formulations presented capacity to protect a resveratrol solution from UV degradation. In the analysis of irritancy, the formulations were classified as mild irritants, except PermLivre (severe irritant). The permeation experiment showed that no permethrin was founded in the receptor compartment. It was observed that both formulations (NanoPCL and NanoRS), incorporated or not in Fotoprot1 emulsion provided adequate adhesion of permethrin in the stratum corneum. However, the results indicated that formulations with NanoPCL showed better results because it was not detected the presence of permethrin in epidermis or dermis. For the formulations with NanoRS, incorporated in the sunscreen emulsion, permethrin was detected in all evaluated skin layers. **Conclusion:** The results shows that it was possible to develop stable photoprotective emulsions with efficient photoprotection and low irritation potencial. The lipid core nanocapsules containing permethrin are suitable for incorporation into the sunscreen emulsion, because they did not affect the efficiency of photoprotection and may reduce irritancy of permetrin.

Key words: permethrin, sunscreen emulsion stability, irritation, permeation.

1. Apresentação

A presente dissertação de mestrado teve por motivação uma demanda específica do Laboratório Farmacêutico do Estado do Rio Grande do Sul (LAFERGS) ao nosso grupo de pesquisa para o desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora para posterior transferência da tecnologia. A parceria entre a Faculdade de Farmácia e o LAFERGS foi formalizada através do Convênio número 23078.002214/13-33 e visa ao desenvolvimento de protótipos de fotoprotetores, entre outras atividades. Especificamente, o objetivo do projeto em parceria foi a proposição de formulações de fotoprotetores que atendam os seguintes requisitos: boa cosmetividade, Fator de Proteção Solar 30 e com amplo espectro de ação (proteção contra radiações UVA e UVB). Adicionalmente, também foi estabelecida a meta de estudar a possibilidade de produzir protótipos multifuncionais, como por exemplo, mediante a incorporação de substâncias repelentes de inseto e substância *anti-aging* como os agentes antioxidantes.

O trabalho encontra-se estruturado em dois capítulos apresentados após as seções **Objetivos** e **Revisão de Literatura**, sendo eles:

Capítulo 1: Desenvolvimento de protótipos de protetores solares de amplo espectro (Fator de proteção solar 30) visando à transferência de tecnologia para o Laboratório Farmacêutico do Estado (LAFERGS);

Capítulo 2: Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina e incorporação das nanocápsulas poliméricas na formulação fotoprotetora selecionada.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver protótipos de protetores solares de amplo espectro visando à transferência da tecnologia ao Laboratório Farmacêutico do Estado (LAFERGS) e estudar a incorporação de nanocápsulas poliméricas de repelente de insetos na formulação fotoprotetora selecionada.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver protótipos de protetor solar de amplo espectro com fator de proteção solar UVA/UVB estimado FPS30;
- Estudar a incorporação de repelente de insetos na formulação selecionada;
- Desenvolver e caracterizar nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina;
- Avaliar a incorporação das nanocápsulas poliméricas na formulação selecionada;
- Avaliar por meio de teste *in vitro* a capacidade fotoprotetora das formulações;
- Avaliar o perfil de permeação cutânea da permetrina em pele suína;
- Avaliar o perfil de irritação (mediante a avaliação do potencial irritativo em modelo de ovos embrionados).

3. Revisão da literatura

3.1 Aspectos históricos da fotoproteção

No século 19 as pessoas evitavam a exposição excessiva ao sol e utilizavam roupas e acessórios que serviam como meios de proteção como exemplificado através da Figura 1. O padrão estético valorizava a pele clara como um indicador de condição socioeconômica mais elevada [1-4]. A partir da segunda década do século 20, o estereótipo mudou com a adoção do bronzeado como um padrão estético desejável, impulsionado pelo advento na Europa da helioterapia, prática terapêutica que prescrevia banhos de sol diários como medida preventiva ou mesmo curativa de determinadas doenças, tais como tuberculose e algumas afecções cutâneas [4, 5] e também pela moda através de centros formadores de opinião como a França [6].



Figura 1. Exemplo de roupas utilizadas por mulheres no século 19 (*Brand X Pictures/Getty Images*).

O comportamento das pessoas em relação ao bronzeado começou a ser alimentado, em parte, por três crenças: a de que a pele bronzeada torna a pessoa mais atraente, de que o bronzeamento traz benefícios à saúde e de que o bronzeamento prévio previne os efeitos indesejáveis de futuras exposições ao sol [7, 8]. A pele bronzeada tornou-se, então, sinal de riqueza, indicativa de abundância de tempo e recursos financeiros para se dedicar ao lazer e estações de veraneio [1-3].

Os banhos de sol tornaram-se mais frequentes e as vestimentas diminuíram, ficando menos volumosas e expondo áreas mais extensas do corpo [6, 9]. Dois grandes impulsionadores desse comportamento foram a difusão do conceito do

bronzeado como “chique” em 1929 e a introdução das roupas para banho de mar em duas peças em 1946 [6] como exemplificado na Figura 2.



Figura 2. Introdução das roupas para banho de mar [10].

Em função disso, os primeiros produtos cosméticos deste segmento foram os óleos bronzadores que potencializavam a ação dos raios solares [1-3]. A Figura 3 mostra um anúncio de propaganda de um óleo bronzador.



Figura 3. Anuncio do bronzeador Coppertone [10].

O primeiro protetor solar foi comercializado em 1928 nos Estados Unidos e consistia numa emulsão empregando salicilato de benzila e cinamato de benzila como agentes fotoprotetores [3]. Através da constatação de que tais produtos prolongavam a exposição ao sol e preveniam queimaduras na pele, os protetores solares foram difundidos, uma vez que em 1930 ocorreram os primeiros relatos correlacionando problemas de pele à exposição solar [1, 3]. O ácido p-aminobenzoico e seus derivados, inseridos em bases para pomadas, foram utilizados como princípios ativos em protetores solares a partir de 1943. As primeiras recomendações pela agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) para o uso de produtos para proteção solar ocorreram em 1972 com a elaboração, pelos militares americanos, de uma lista de substâncias e concentrações que poderiam ser empregadas como filtros solares

[3]. O conceito de fotoprotetores foi reconhecido e adotado a partir de 1978, onde os filtros solares foram reclassificados de cosméticos para medicamentos de fins preventivos [11].

Do início do século 20 até o final dos anos 70 ocorreu uma lenta evolução na área de fotoproteção. A partir da década de 80, com o alerta das consequências da exposição indevida ao sol para a saúde e beleza, o mercado passou a crescer constantemente e se tornando cada vez mais inovador e competitivo [3].

Em 1999 o FDA publicou uma lista contendo 14 filtros solares considerados seguros e eficazes para uso sem prescrição médica. Iniciada em 2007, uma nova regulamentação vem sendo elaborada pela FDA com uma proposta mais abrangente que vai desde as formulações até os ensaios de fotoproteção nos produtos finais [2]. Atualmente, as agências reguladoras mundiais publicam diversas normativas no intuito de uma melhor padronização, segurança e eficácias dos produtos fotoprotetores comercializados [12].

3.2 Radiação solar

Os raios solares que atingem a superfície terrestre são essenciais para que haja vida em nosso planeta e, apesar de toda extensão do espectro eletromagnético, estes raios são compostos por uma pequena faixa predominante como mostrado na Tabela 1 [1, 3, 13].

Tabela 1. Radiações que compõe os raios solares.

Radiação	Comprimento de ondas (nm)	Energia (KJ/mol)	Incidência terrestre (%)
Infravermelho (IV)	800 - 5.000	0,12 - 150	40 - 50
Visível (VIS)	400 - 800	150 - 310	40 - 50
Ultravioleta (UV)	100 - 400	310 - 12.000	05 - 10

O corpo humano detecta as radiações de diferentes formas. Os efeitos da radiação IV são percebidos pelo calor com o aumento da temperatura, a região do VIS é detectada pelas diferentes cores através do sistema ótico e os raios UV, mais energéticos, promovem reações fotoquímicas na pele humana. A radiação UV é menos incidente na superfície terrestre, pois é absorvida pelo oxigênio e pela camada

de ozônio na estratosfera, como exemplificado na Figura 4, onde podemos visualizar os diferentes raios ultravioletas e suas incidências na superfície da terra. Contudo, as ondas eletromagnéticas de menores comprimentos de onda (λ) são as mais energéticas, portanto, a radiação UV é a que possui maior impacto sobre a saúde humana. Todavia, a radiação UV ainda possui subdivisões em função de diferentes comprimentos de ondas como mostrado na tabela 2 [3, 14, 15].

O espectro solar corresponde às radiações ultravioleta, infravermelho e luz visível. Embora a radiação ultravioleta corresponda a apenas 5% da radiação solar terrestre, essa é a principal responsável por danos ao DNA, peroxidação lipídica e câncer de pele [16]. Mais recentemente, a luz infravermelha [17] e visível [18] demonstraram papel importante na indução do envelhecimento cutâneo. A radiação ultravioleta compreende o espectro com comprimento de onda (λ) entre 100 e 400 nanômetros e está subdividida em: UVA, UVB e UVC [3].

Os comprimentos de onda relacionados à radiação UVC compreendem de 90 a 100 nm [3], sendo essa radiação totalmente absorvida pela camada de ozônio [3, 14]. Devido ao seu comprimento de onda baixo, essa radiação é altamente carcinogênica [19]. A radiação UVB possui comprimento de onda variando entre 290 e 320 nm, sendo 90% dessa radiação absorvida pela camada de ozônio [20]. Essa radiação é responsável pelo desenvolvimento de eritema associado às queimaduras de pele [21]. Além disso, é absorvida pelo DNA, podendo ocasionar o surgimento de células com mutações as quais, posteriormente, podem provocar câncer [21].

A radiação UVA compreende o espectro entre 320 e 400 nm, sendo subdividida em UVA-II (curta, $\lambda=320-340\text{nm}$), e UVA-I (longa, $\lambda=340-400\text{nm}$). A radiação UVA, diferentemente da UVB, a qual só penetra até a epiderme, é capaz de uma penetração mais profunda na pele, atingindo a derme [21]. A radiação UVA curta, assim como a radiação UVB, pode ocasionar o aparecimento de mutações celulares. Por sua vez, a radiação UVA longa é absorvida por cromóforos endógenos, dando origem a radicais livres [3].

A energia das radiações UV é inversamente proporcional ao comprimento de onda. Isto quer dizer que esta radiação aumenta seu conteúdo de energia à medida que reduz seu comprimento de onda. A cada 300 m de elevação, ocorre um aumento de 4% da intensidade da radiação. Quanto maior a altitude maior a incidência das radiações [3].

Sabe-se que 80% da luz UV pode passar através da cobertura de nuvens enquanto que 25% é refletida pela areia e 80% pela neve. Quando a radiação atinge a pele, uma parte é refletida e dispersada, outra é absorvida pela camada córnea e outra parte é transmitida para as demais camadas que formam a pele, até a energia incidente ser completamente dissipada. A camada córnea de uma pele caucasiana transmite mais radiação do que a de uma pele pigmentada, como consequência, tem-se um aumento do risco de danos actínicos [1, 3, 15, 22].

Os fatores de risco que contribuem para a gênese das lesões de pele: são fatores genéticos, história familiar de câncer da pele e radiação ultravioleta (UV). Os raios UV, além de facilitarem mutações gênicas, exercem efeito supressor no sistema imune cutâneo [23].

Em estudo com fibroblastos humanos, após irradiação no infravermelho próximo, verificou-se um aumento na expressão de enzimas metaloproteinases, que provocam degradação das proteínas da matriz extracelular, colágeno e elastina componentes associados ao envelhecimento [24].

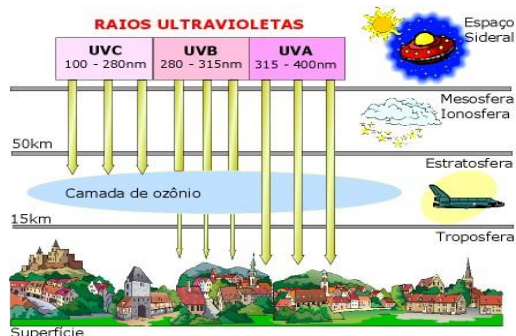


Figura 4. Diferentes raios ultravioletas e sua incidência na superfície da terra [25].

Os raios UVC não chegam a superfície da terra, pois são bloqueados pela camada de ozônio. Atualmente, sabe-se que tanto os raios UVB (mais energéticos), quanto os raios UVA (menos energéticos) são responsáveis por diversos problemas de pele, sendo o tempo para o diagnóstico o fator diferencial entre ambos [3].

Entretanto, os raios UVA penetram mais profundamente na pele, chegando à derme, e promovendo sua pigmentação através da produção de melanina pelos melanócitos e também são responsáveis pelo fotoenvelhecimento cutâneo e pela fotossensibilidade ocular, dentre outros danos à saúde [26] (mostrados na Figura 5). A radiação UVB penetra somente até a epiderme e é responsável pela produção natural da vitamina D3, importante para a absorção de cálcio na estrutura óssea.

Contudo, uma exposição demasiada aos raios UVB podem ocasionar sérios problemas cutâneos que vão desde queimaduras até o câncer de pele [1-3, 27-29].

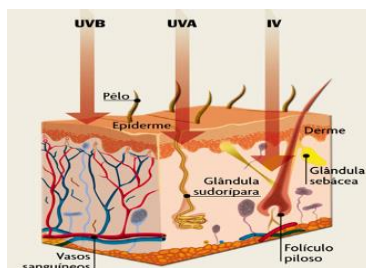


Figura 5. Esquema da incidência dos raios UV nas diferentes camadas da pele

A radiação visível, também denominada luz visível, é componente do espectro solar, em faixa compreendida entre 400 e 700nm [30], cujo principal efeito biológico é estimular a retina humana, sendo percebida sob a forma de cores, variando do violeta ao vermelho. Apesar de representar cerca de 40% do total de energia solar que chega à superfície da Terra, a luz visível não era relacionada a nenhum efeito cutâneo de significância. No entanto, atualmente surgiram as primeiras evidências sobre a participação da luz visível em alguns mecanismos fisiopatológicos na pele, em particular aqueles relacionados aos fenômenos pigmentares e ao dano oxidativo [31].

Estudo realizado por Mahmoud e colaboradores em 2008, mostrou que tanto a radiação UVA longa (340-400nm) quanto a luz visível (400-700nm) são capazes de, separadamente, promover a pigmentação imediata da pele, tendo por cromóforos não somente a melanina, mas também a participação da oxi-hemoglobina [32]. Além disso, a radiação UVA é responsável por cerca de 67% da geração de radicais livres no estrato córneo, enquanto a luz visível participa na produção dos 33% restantes, evidenciando o papel da luz visível na formação dos radicais livres [32].

Os filtros orgânicos disponíveis atualmente oferecem proteção muito limitada contra a luz visível [33]. Por sua vez os filtros inorgânicos, por serem partículas refletivas, podem oferecer proteção contra a luz visível dependendo essencialmente do tamanho da partícula. Assim, observa-se que somente as partículas de grande tamanho e, portanto, visíveis (pigmentares) podem oferecer boa proteção na faixa da luz visível [34]. A eficácia desses fotoprotetores coloridos na faixa da luz visível está ligada à sua capacidade de refletir a luz, relacionada com a reflexão difusa, fazendo-os parecerem brancos quando aplicados em uma superfície [35].

Como os protetores solares formulados com filtros inorgânicos pigmentares têm baixa aceitação cosmética, por provocarem coloração esbranquiçada na pele, uma alternativa a essa questão é a introdução na formulação de partículas pigmentares, como o óxido de ferro, produzindo um efeito de base no produto (protetor solar colorido ou pigmentado), muito bem aceito por usuários, sobretudo do sexo feminino, como tem se observado com o lançamento de inúmeros fotoprotetores contendo pigmentos como o Normaderm Teint® (Vichy Laboratoires), Normalize FT® (Ada Tina), entre outros.

3.3 Câncer de pele

A exposição excessiva aos raios solares pode causar diversos problemas de saúde, tais como sensibilidade à luz, manchas na pele, despigmentação cutânea, queimaduras solares, fotoenvelhecimento e supressão do sistema imunológico e o câncer de pele que é o de maior gravidade [19, 26, 27, 29]. O tipo de pele de cada indivíduo possui uma correlação direta com os fatores externos relacionados à incidência de radiação UV e com o câncer de pele [27, 28]. A escala Fitzpatrick classifica os diversos tipos de pele e suas respectivas sensibilidades à radiação UV. Por exemplo, o Tipo I é para a pele muito clara, que sempre se queima e nunca se bronzeia, enquanto o Tipo VI, corresponde à pele negra, que nunca se queima e sempre se bronzeia [30], como exemplificado na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação dos fototipos de pele proposta por Fitzpatrick.

Tipo de pele	Descrição
Tipo I	Pele muito clara, sempre queima, nunca bronzeia
Tipo II	Pele clara, sempre queima, algumas vezes bronzeia
Tipo III	Pele menos clara, algumas vezes queima, sempre bronzeia
Tipo IV	Pele morena clara, raramente queima, sempre bronzeia
Tipo V	Pele morena escura, nunca queima, sempre bronzeia
Tipo VI	Pele negra, nunca queima, sempre bronzeia

As ocorrências de eritemas e até mesmo o câncer de pele estão associadas à formação das espécies reativas de oxigênio (EROs), como o oxigênio singlete, o peróxido de hidrogênio, o radical ânion superóxido e o radical hidroxila [27, 36]. Estas

espécies são formadas pela ação dos raios UV e implicam na ruptura da cadeia do DNA. A reconexão da cadeia com a ordem de suas bases trocadas é o processo básico da mutação genética [36]. Elas atuam na ativação da cascata intracelular de sinalização do processo de transcrição, expressão dos genes, e na ativação de vários receptores de membrana para mediadores pró-inflamatórios [27]. A carcinogênese cutânea também está associada ao alto nível de produção de dímeros de pirimidina. Quando o DNA absorve as radiações UV, principalmente UVB, este processo pode favorecer os processos mutagênicos [37]. A ação dos raios UVB no DNA provoca uma divisão celular acelerada produzindo novas células tumorigênicas [38].

O câncer de pele pode ser do tipo não melanoma ou melanoma. O não melanoma pode ser ainda classificado de acordo com camada da pele onde ele se desenvolve, sendo o carcinoma basocelular (responsável por 70% dos diagnósticos) e o carcinoma espinocelular (representando 25% dos casos) os tipos mais comuns. O câncer de pele não melanoma é o tipo de câncer mais frequente no Brasil e corresponde a 25% de todos os tumores malignos registrados no país. Apresenta altos percentuais de cura, se for detectado precocemente. Entre os tumores de pele, o tipo não-melanoma é o de maior incidência e mais baixa mortalidade [39, 40]. É interessante ressaltar que de acordo com o INCA até o final de 2016 teremos 175.760 novos casos de não melanoma, sendo 80.850 homens e 94.910 mulheres. Em 2013 ocorreram 1.802 mortes, sendo 1.020 homens e 782 mulheres.

O câncer de pele do tipo melanoma é o que apresenta mais casos de morte, principalmente pela ocorrência de metástase. Este tipo de câncer ocorre nos melanócitos, células onde há produção de melanina, que é uma substância de proteção natural da pele contra os raios UV [40]. O melanoma representa 4% das neoplasias malignas da pele, apesar de ser o mais grave. O prognóstico desse tipo de câncer pode ser considerado bom, se detectado precocemente. Nos últimos anos, houve uma grande melhora na sobrevivência dos pacientes com melanoma, principalmente devido à detecção precoce do tumor [40]. Ainda, de acordo com o INCA, teremos 5.670 novos casos em 2016.

Segundo um estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Dermatologia cidades sem praias têm incidência de câncer de pele 40% maior do que nos municípios que ficam à beira-mar, isso pode ter relação com a associação que algumas pessoas fazem da necessidade do uso do protetor solar somente na praia.

Os índices, tanto de radiação UVA quanto de radiação UVB, variam muito ao longo das regiões. Enquanto a radiação UVB decresce à medida que se distancia da Linha do Equador, as maiores concentrações de radiação UVA são encontradas entre os paralelos 20° e 40° [35]. Essa variação dos níveis de radiação solar ao longo das cidades pode ter influência na incidência do câncer de pele. Países tropicais e com grande incidência de sol têm taxas maiores de câncer de pele, como é o caso da Austrália, que possui uma das maiores incidências de câncer de pele no mundo [41].

A exposição à radiação UV é o principal fator de risco ambiental para o desenvolvimento do câncer de pele não-melanoma. Exposição excessiva aos raios UV, intermitente e intensiva, na infância e na adolescência levando a queimaduras com bolhas, é um fator de risco para o desenvolvimento de carcinoma basocelular e melanoma maligno, enquanto a excessiva exposição cumulativa crônica é um fator de risco para o carcinoma de células escamosas. Além disso, ambos os tipos de exposição podem levar ao fotoenvelhecimento [42].

A utilização de bloqueadores solares como uma forma efetiva de proteção na redução da formação de lesões pré-cancerígenas e cancerígenas tem sido amplamente discutida na literatura [43]. Um estudo clínico randomizado realizado por Green e colaboradores na Austrália entre 1996-2006, mostrou que o melanoma pode ser evitado com o uso regular de protetor solar [44].

Os protetores solares bloqueiam a interação de radiação UV com a pele e, assim, limitam a quantidade de dano ocasionado pela luz UV. Apesar de não ser aprovado pelo FDA para prevenção de câncer de pele, os dados disponíveis indicam que os protetores solares poderiam reduzir a incidência da queratose actínica, indicadora de dano solar [45, 46].

Embora os protetores solares sejam essenciais na prevenção do câncer de pele, vários fatores podem limitar a sua eficácia. Estes incluem a baixa adesão do paciente, a grande quantidade de filtro solar necessária para se obter o fator de proteção solar adequada, além disso, alguns autores sugerem que a sua utilização pode ser associada com um aumento no risco do desenvolvimento de melanoma [47, 48]. Isto pode ser explicado pelo fato de que algumas pessoas que utilizam protetor solar prolongam a sua exposição ao sol e/ou acabam achando não ser necessário a utilização de outros meios de proteção como chapéus e roupas apropriadas e, se expondo ao sol nos horários de maior risco [47, 48].

O INCA e a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) fazem campanhas contra o câncer de pele onde o foco principal é a prevenção. Dentre as medidas preventivas divulgadas, o uso frequente de protetor solar se destaca por sua eficácia [40]. Estudos recentes apontam que a prevenção destas doenças está ligada a necessidade de proteção contra UV em largo espectro (UVA-UVB) [15] principalmente para as pessoas que exercem atividades frequentemente expostas aos raios solares, como no caso de atividades esportivas, operários da construção civil, carteiros, trabalhadores rurais, guardas de trânsito, varredores de rua, entre outras [49].

3.4 Fotoenvelhecimento

O aumento da expectativa de vida tem estimulado o estudo do processo de envelhecimento. Na pele podemos observar visivelmente a ação e a transformação do tempo com o passar dos anos. Trata-se, então, do envelhecimento intrínseco ou cronológico. No entanto, há ainda, o envelhecimento extrínseco também chamado fotoenvelhecimento, decorrente principalmente da exposição a fatores ambientais e da exposição solar [14]. Desse modo, o envelhecimento cutâneo envolve fatores intrínseco (cronológico) e extrínseco (solar) [2].

A pele é o órgão que espelha os sinais do tempo. O envelhecimento da pele é um processo de deterioração progressiva, tempo-dependente, que é intensificado pela exposição solar ocasionando o fotoenvelhecimento. O fotoenvelhecimento leva a alterações morfológicas de diversas estruturas celulares e cutâneas, levando a modificações biomoleculares. Muitas pesquisas são desenvolvidas com o intuito de combater ou minimizar os efeitos do fotoenvelhecimento, porém a principal estratégia nesse sentido continua sendo a prevenção [24].

Com o passar do tempo, ocorrem alterações moleculares que desencadeiam alterações orgânicas e, em última análise, levam ao envelhecimento. Um exemplo disso é o reparo do DNA telomérico. Telômeros são sequências de repetições nucleopeptídicas presentes no final dos cromossomos [24]. Como a DNA-polimerase não consegue transcrever a sequência final de bases presentes na fita de DNA durante a replicação, o tamanho telomérico se reduz a cada mitose. Essa redução do telômero foi associada ao envelhecimento celular [24].

O envelhecimento da pele, assim como de todo o organismo, também é fruto dessas alterações biomoleculares. O dano às fibras de colágeno está intimamente envolvido nesse contexto. Os fibroblastos são responsáveis pelo metabolismo do colágeno, sintetizando procolágeno I, importante componente da matriz extracelular. Com a idade, ocorre desorganização no metabolismo do colágeno, reduzindo, assim, sua produção e aumentando sua degradação [37].

O fotoenvelhecimento é um processo que depende do grau de exposição solar, a pele envelhecida pelo sol apresenta-se amarelada, com pigmentação irregular, enrugada, atrófica, com telangiectasias e lesões pré-malignas [2].

As alterações histológicas provocadas pelo fotoenvelhecimento são inúmeras. Na epiderme, notam-se o adelgaçamento da camada espinhosa e o achatamento da junção dermoepidérmica. Os queratinócitos envelhecidos, por sua vez, tornam-se resistentes à apoptose, ficando susceptíveis às mutações no DNA, processo implicado na carcinogênese. O número de melanócitos também se reduz, alterando-se a densidade melanocítica. Isso favorece o surgimento de elides, hipomelanose gotada, lentigos e nevos. As células de Langerhans também decrescem em número com a idade, resultando em perda da capacidade antigênica [14].

A exposição solar prolongada e recorrente implica em alterações definitivas na quantidade e distribuição de melanina na pele. Estas alterações morfológicas resultantes do fotoenvelhecimento são, em essência, diferentes das observadas no envelhecimento intrínseco. O paralelo entre tais alterações pode ser visto na Tabela 3 [14, 27].

As mitocôndrias contêm múltiplas cópias de DNA (mitocondrial) e as células contêm inúmeras mitocôndrias, produtoras de adenosina-trifosfato (ATP), que é uma molécula energética. As espécies reativas de oxigênio (Reactive Oxygen Species: ROS) são produtos desse processo e podem danificar lipídeos, proteínas e também o próprio DNA [15]. Foram observadas mutações no DNA mitocondrial com maior ênfase em peles fotoexpostas, quando comparadas às protegidas do sol [15]. A radiação ultravioleta A (UVA) tem sido indiciada como indutora dessa deleção no DNA mitocondrial [19, 29], ainda que essa alteração gênica possa ser detectada em tecidos não susceptíveis aos raios solares [50].

A radiação ultravioleta (UV) penetra a pele e, de acordo com o comprimento de onda, interage com as diferentes células localizadas nas diferentes camadas. A radiação de ondas curtas (UVB: 290-320nm) é mais absorvida na epiderme e afeta predominantemente os queratinócitos, enquanto as ondas mais longas (UVA: 320-400nm) penetram de modo mais profundo e atingem queratinócitos da epiderme e fibroblastos da derme [24]. A UVA age indiretamente através da geração de ROS que atuam na ativação de fatores envolvidos na transcrição do DNA. Esse processo resulta em mutações no DNA mitocondrial [24, 36]. Os raios UVB, por sua vez, também gera espécies de ROS, porém sua principal ação é a indução direta de dano ao DNA [51].

A exposição aos raios UVA desencadeia dois fatores relacionados ao fotoenvelhecimento: indução de metaloproteinases da matriz (MMP) e mutação mitocondrial (já mencionada) [52]. É tamanha a importância da exposição ultravioleta na degradação da pele, que, segundo estudos, o uso tópico de filtro solar fator 15 (FPS) em ratos antes da exposição ao sol reduziu a ativação de elastina (um indicador de dano solar) em 70% dos casos, além de prevenir mutações do gene que codifica a proteína p53, que contribui para o desenvolvimento de câncer de pele [53].

Tabela 3. Alterações morfológicas resultantes do fotoenvelhecimento [2, 14].

Pele não-fotoexposta	Pele fotoexposta
Fina e lisa	Espessa e nodular
Clara	Amarelada (escura)
Rugas finas	Rugas grosseiras
Lisa	Áspera
Menor incidência de telangiectasias	Frequente telangiectasias
Raras lentigens	Lentigens
Rara pigmentação	Altamente pigmentada
Ausência de comedões	Maior número de comedões
Inelástica	Elastose
Desidratada	Desidratada (altamente ressecada)
Sensível e frágil	Extremamente sensível e frágil
Discreta queratose seborréica	Aumento da incidência de queratose seborréica
Ocasionais lesões pré-malignas e malignas	Frequente lesões pré-malignas e malignas

3.5 Fotoprotetores e os filtros solares

Os protetores solares devem conter filtros solares que absorvam a radiação na gama de 290-400 nm. Em filtros solares "físicos", o ingrediente é um composto inorgânico com partículas que bloqueiam fisicamente a radiação UV. Os filtros solares "químicos", são compostos orgânicos que absorvem a radiação ultravioleta. A maioria dos filtros UV orgânicos absorvem a radiação UVB, e alguns atuam também na gama de UVA. Na Tabela 4, adaptada da BASF, encontram-se os filtros solares disponíveis por região no planeta.

Tabela 4. Filtros solares existentes, concentração e regiões permitidas [54].

Filtros (INCI)	Nome usual	Concentração máxima permitida	Região					
			Austrália	Europa	Japão	Mercosul	USA	Global
FILTROS UVA-I								
Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine (Tinosorb S)	Bemotrizinol	10%	X	X	X	X		
Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine (Tinosorb S Aqua, active)	Bemotrizinol	10%	X	X	X	X		
Butyl Methoxydibenzoylmethane	Avobenzona	10%	X	X	X	X	X	X
Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate (Uvinul A Plus)	Uvinul A Plus®	10%	X	X	X	X		
Disodium Phenyl Dibenzenimidazole Tetrasulfonate	Bisdisulizole Disodium	10%	X	X		X		
Drometrisole TriSiloxane	Merxil XL®	15%	X	X		X		
Menthyl Anthranilate	Meradimato	5%	X			X	X	
Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (nano), Tinosorb M, active	Bisotrizole	10%	X	X	X	X		
Terephthalylidene Dicamphor Sulfonic Acid	Ecamsule	10%	X	X	X	X	X	X
Zinc Oxide (nano), Z-Cote (water phase)	Óxido de zinco	100%	X		X	X	X	
Zinc Oxide (nano), Z-Cote HP1 (oil phase)	Óxido de zinco	100%	X		X	X	X	
FILTROS UVB/UVA-II								
4-Methylbenzylidene Camphor	Oxibenzona	4%	X	X		X		
Benzophenone-3 (Uvinul M40)	Sulisobenzona	10%	X	X	X	X	X	X
Benzophenone-4 (Uvinul MS40)	Sulisobenzona	10%	X	X	X	X	X	X
Diethylhexyl Butamido Triazone	Iscotrizinol	10%		X		X		
Ethylhexyl Methoxycinnamate (Uvinul MC80)	Octinoxato	20%	X	X	X	X	X	X
Ethylhexyl Salicylate	Octisalato	10%	X	X	X	X	X	X
Ethylhexyl Triazone (Uvinul T150)	Octiltriazona	5%	X	X	X	X		
Ethylhexyl dimethyl PABA	Padimato O	10%	X	X	X	X	X	X
Homomenthyl Salicylate	Homosalato	15%	X	X	X	X	X	X
Isoamyl p-Methoxycinnamate	Amiloxato	10%	X	X		X		
Octocrylene (Uvinul N539T)	Octocrileno	10%	X	X	X	X	X	X
Phenylbenzimidazol Sulfonic Acid	Ensilizole	8%	X	X	X	X	X	X
Polysilicone-15	Parsol SLX®	10%	X	X	X	X		
Titanium Dioxide (nano) oil phase	Dióxido de titânio	100%	X	X	X	X	X	X
Titanium Dioxide (nano), water phase	Dióxido de titânio	100%	X	X	X	X	X	X
Tris Biphenyl Triazine (nano)	Tinosorb A2B	10%		X				

Um fotoprotetor consiste numa preparação cosmética que contém agentes filtros solares. Tais agentes minimizam os efeitos deletérios dos raios UV através da absorção, da reflexão ou da difusão dos raios incidentes [3]. A classificação

apropriada para estas substâncias é em orgânicas ou inorgânicas, em função da sua respectiva natureza química [3]. Em geral, os compostos orgânicos agem via absorção e os inorgânicos através da reflexão dos raios UV, como representado na classificação inicialmente empregada, “absorvedores” para os orgânicos e “refletores” para os inorgânicos [55].

As principais substâncias inorgânicas empregadas como fotoprotetores são o óxido de zinco e o dióxido de titânio. Estes óxidos apresentam excelente proteção contra os raios UV, além de possuírem baixo potencial de irritação. Contudo, de acordo com o tamanho das partículas sólidas do ZnO e do TiO₂, o produto pode deixar uma película branca sobre a pele o que é esteticamente desfavorável [46].

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 [56-58]. Dentre estes, as nanopartículas têm atraído maior atenção dos grupos de pesquisa, devido às potencialidades terapêuticas e à maior estabilidade durante o armazenamento [59]. 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 filtros solares como a possibilidade de formarem complexos com proteínas e de induzirem a formação de radicais livres [60-62].

Os filtros solares orgânicos são comumente classificados em filtros UVA e UVB, de acordo com a região de proteção UV. Isto ocorre porque estes compostos não possuem um amplo espectro de proteção, como por exemplo, as benzofenonas e as avobenzonas que protegem somente em UVA e os salicilatos e cinamatos que agem exclusivamente contra os raios UVB [14]. Os filtros solares orgânicos UV ideais devem apresentar diversas características entre elas: estabilidade frente à luz, ao calor e a água; não deve ser tóxico, irritante, mutagênico ou teratogênico; absorver a radiação UV em amplo espectro (UVA, UVB e Vis); possuírem um coeficiente de extinção específica ($E_{1\%, 1\text{cm}}$) acima de 1.000 para se ter o máximo de proteção com o mínimo emprego de filtro UV; apresentarem uma massa molecular superior a 500 Daltons (D) para se prevenir a permeação cutânea; possuírem um log P (coeficiente

de partição entre água e octanol) superior a 5, ou seja, devem possuir uma lipofilia específica para uma boa adesão à pele, sem que ocorra a sua retirada pela ação da água e evitando também a permeação cutânea por afinidade ao tecido córneo. Além destas características, não devem apresentar incompatibilidade com outros componentes da formulação, ou mesmo com a embalagem de acondicionamento do produto acabado [1, 13, 14, 63, 64]. Todavia, mesmo não cumprindo exatamente todas estas condições prévias, muitas substâncias orgânicas são empregadas comercialmente como agentes de fotoproteção [13].

Os filtros orgânicos são agentes que apresentam como estrutura química cromóforos capazes de absorver a radiação UVA e/ou UVB. A efetividade dos filtros orgânicos está relacionada ao coeficiente de extinção molar, o qual se refere à quantidade de radiação que um mol do filtro solar é capaz de absorver em um determinado comprimento de onda. Assim, quanto maior o coeficiente de extinção molar, mais eficiente é o filtro na absorção da radiação UV [65].

O mecanismo de ação dessas moléculas se baseia na absorção da radiação UV pelos filtros solares, através de um mecanismo de deslocalização de elétrons. A estrutura química dessas moléculas é constituída de um composto aromático conjugado a uma ligação dupla ou a um grupamento aceptor de elétrons e, ainda um grupo doador de elétrons (amina, metoxila ou hidroxila) [65]. Em filtros solares apresentando grupamentos *para*-substituídos ocorre ligação dupla conjugada ao grupamento aromático, enquanto que em filtros solares *orto*-substituídos tem um grupo aceptor de elétrons conjugado ao grupamento aromático [64, 65]. Com a absorção de energia o filtro passa para um estado excitado, havendo deslocamento de elétrons do orbital HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) para orbital LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia). Com o retorno para o estado fundamental a energia é liberada na forma de radiação infravermelha ou calor, que apresenta energia menor que a inicial, fazendo com que haja retorno dos elétrons para o orbital HOMO [46].

A presença de grupamentos *orto* ou *para*-substituídos também influencia no comprimento de onda máximo de absorção do filtro solar. Moléculas com grupamentos *orto* permitem a formação de pontes de hidrogênio dentro da própria molécula, reduzindo a energia requerida para a deslocalização dos elétrons. Uma vez

que o comprimento de onda é inversamente proporcional à energia, é possível o aumento no comprimento de onda de absorção do filtro. Os salicilatos, benzofenonas, antranilatos, bemotrizinol se enquadram nesta situação. Por sua vez, em filtros solares *para*-substituídos, como metoxinamato de octila, não é possível a formação interna de pontes de hidrogênio, o que acaba acarretando em uma maior energia para a deslocalização de elétrons e menor comprimento de onda de absorção, em relação a filtros solares *orto*-substituídos [14].

Os filtros solares são classificados de acordo com a sua estrutura química em: PABA e derivados, cinamatos, salicilatos, benzimidazóis, derivados do benzidileno cânfora, benzofenonas, derivados do benzitriazolil, derivados da triazona, derivados do dibenzoilmetano [3, 14].

A associação de diferentes filtros solares, sejam eles inorgânicos ou orgânicos, é realizada com intuito de aumentar o fator de proteção solar (FPS) de um produto final [3]. No entanto, no desenvolvimento é necessário conhecer as incompatibilidades que existem entre filtros solares. Vários filtros podem ser combinados para alcançar um nível elevado de FPS, para proporcionar um largo espectro de proteção UVA e UVB e evitar a fotodegradação. Por exemplo, o octocrileno evita a degradação da avobenzona (filtro solar fotossensível), enquanto que o ecamsule foi combinado com avobenzona e octocrileno para proporcionar um vasto espectro de proteção UVA e UVB. O ecamsule está protegido por patente pela L'Oreal e é encontrado apenas em produtos por eles produzidos [66]. Por sua vez, o diethylamino hidroxibenzoil hexil benzoate, conhecido como Uvinul A Plus, fabricado pela BASF é um candidato a substituto da avobenzona visto que ele protege no mesmo espectro de ação porém ele é fotoestável por isso tem um maior tempo de ação, sendo um filtro de boa escolha para a garantia de formulações fotoestáveis e proteção UVA [67].

Em 2003, Baron e colaboradores publicaram um estudo randomizado avaliando os efeitos benéficos de dois protetores solares um UVB (FPS15) e um UVA/UVB (FPS 15), em 211 voluntários com idades entre 18 e 59 anos usando a hipersensibilidade de contato como um modelo para a imunossupressão. Eles relataram que o grupo do protetor solar UVA/UVB tiveram um fator de proteção imunológica maior do que o protetor solar UVB [68].

O uso consistente de um protetor solar de amplo espectro protege contra o fotoenvelhecimento e danos actínicos, mesmo em doses que não causam eritema [2, 3]. Diversos estudos fornecem evidências significativas de que filtros solares são eficazes na prevenção de danos que poderiam levar ao desenvolvimento de carcinoma de células escamosas. A Academia Americana de Dermatologia recomenda o uso diário, durante todo o ano, de um protetor solar de amplo espectro, resistente à água com um FPS de pelo menos 30, independentemente da idade ou tipo de pele.

3.5.1 Determinação do Fator de Proteção Solar (FPS)

O Fator de Proteção Solar pode ser definido, conforme proposto pelo FDA em 1978, como sendo a razão numérica entre a Dose Eritematosa Mínima (DEM), da pele protegida pelo fotoprotetor em estudo, quando aplicado na quantidade de 2 mg/cm², e a Dose Eritematosa Mínima da pele não protegida [69].

Para a determinação do valor do FPS, um grupo de 10 a 20 voluntários (conforme o método de referência), de fototipos I a III (classificação de Fitzpatrick Tabela 2), são selecionados e submetidos a doses progressivas de radiação ultravioleta emitidas por uma fonte artificial de luz, denominada simulador solar, em áreas de pele não protegida e pele protegida pelo protetor solar em estudo, aplicado na quantidade de 2 mg/cm². Após cerca de 16 a 24 horas da exposição, é realizada a leitura da Dose Eritematosa Mínima nas duas áreas e calculada a sua razão. A média dos valores encontrados no grupo de voluntários é o Fator de Proteção Solar do produto [70].

Além da ação do FDA, outras instituições e agências regulatórias internacionais produziram monografias técnicas descrevendo os procedimentos necessários para a realização do estudo clínico para avaliação de eficácia fotoprotetora por meio da determinação do Fator de Proteção Solar. A comunidade europeia, por meio da Associação Europeia da Indústria de Cosméticos, Higiene Pessoal e Perfumaria (Comité de Liason des Associations Européennes de Industrie et de la Parfumerie-COLIPA) desenvolveu sua primeira versão de monografia em 1994. Em 2003, o método denominado International Sun Protection Factor Test Method (ISPF) foi apresentado conjuntamente pelas associações Europeia (COLIPA), Japonesa (JCIA)

e Sul Africana (CTFA-SA), seguido posteriormente por uma revisão em 2006 [71], com a introdução da Associação da Indústria Cosmética Norte-Americana (CTFA-USA). As metodologias norte-americana (FDA) e europeia (COLIPA ou Internacional) tornaram-se referência para a determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) em diferentes países, dentre os quais o Brasil, que, por meio da resolução RDC 30 de 2012, que aprova o regulamento técnico Mercosul sobre protetores solares em cosméticos, a determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) deve ser realizada seguindo unicamente métodos *in vivo*, aplicando estritamente uma destas referências ou suas atualizações [69]:

- FDA, Department of Health and Human Services, Sunscreen drug products for over-the-counter human use. Final Monograph: Proposed Rule, 21 CFR Part 352 *et al*, 1999.
- COLIPA/JCIA/CTFA-SA. International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.

Os orçamentos realizados para a futura determinação do FPS do protetor solar desenvolvido nesta dissertação encontram-se no Anexo 3.

3.5.2 Rotulagem para fotoprotetor solar

Na rotulagem principal (primária e secundária) do produto para proteção solar é obrigatório indicar de forma destacada o número inteiro de proteção solar precedido da sigla "FPS", ou das palavras "Fator de Proteção Solar". O número correspondente ao FPS deve ser determinado de acordo com uma das metodologias estabelecidas, conforme descrito acima. Deve constar da embalagem a Denominação de Categoria de Proteção (DCP) conforme mostrado na Tabela 5, os protetores solares devem ainda cumprir com os seguintes requisitos [69]:

- FPS de no mínimo 6;
- FPUVA cujo valor corresponda a, no mínimo, 1/3 do valor do FPS declarado na rotulagem;
- Comprimento de onda crítico mínimo de 370 nm.

Os protetores solares poderão ainda indicar em seu rótulo "Resistente à água"; "Muito Resistente à água", "Resistente à Água/suor" ou "Resistente à Água/transpiração", sempre e quando tais alegações tenham sido adequadamente comprovadas conforme a metodologia indicada [69-71].

No Apêndice 2 desta dissertação encontra-se uma proposta de rótulo e embalagem para a formulação desenvolvida.

Tabela 5. Designação de Categoria de Proteção (DCP) relativa à proteção oferecida pelo produto contra radiação UVB e UVA para a rotulagem dos Protetores Solares. Adaptado da RDC 30 de 2012 [69].

Categoria indicada no rótulo (DCP)	Fator de proteção solar medido (FPS)	Fator mínimo de proteção UVA (FPUVA)	Comprimento de onda crítico mínimo
Baixa proteção	6,0 - 14,9	1/3 do fator de proteção solar indicado na rotulagem	370 nm
Média proteção	15,0 - 29,9		
Alta proteção	30,0 – 50,0		
Proteção muito alta	Maior que 50,0 e menor que 100		

3.5.2.1 Algumas definições importantes [69]:

Dose Mínima Eritematosa (DME): 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, de acordo com a metodologia adotada.

Dose Mínima Pigmentária (DMP): dose mínima de radiação UVA requerida para produzir um escurecimento pigmentário persistente da pele com bordas claramente definidas, observado entre 2 e 4 horas após a exposição à radiação UVA. 3.6.

Fator de Proteção Solar (FPS): valor obtido pela razão entre a dose mínima eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar (DME_p) e a dose mínima eritematosa na mesma pele quando desprotegida (DME_{np}).

Fator de Proteção UVA (FPUVA): valor obtido pela razão entre a dose mínima pigmentária em uma pele protegida por um protetor solar (DMPp) e a dose mínima pigmentária na mesma pele, quando desprotegida (DMPnp).

Comprimento de onda crítico: o comprimento de onda para o qual a área sob a curva integrada de densidade ótica que começa em 290 nanômetros é igual a 90% da área integrada entre 290 e 400 nanômetros.

3.5.3 Formulando fotoprotetores

A preocupação de um formulador não está somente ligada às interações desfavoráveis que podem ocorrer entre determinados componentes da formulação, mas também ao fator de proteção que o filtro ou associação desses, vai fornecer ao produto acabado. Como existem diversas bases cosméticas comerciais para a incorporação dos filtros solares, deve-se considerar a capacidade de proteção nas diferentes bases e se essas permanecerão estáveis frente aos testes físico-químicos [3, 46, 56, 63, 72]. Para desenvolvimento de um protetor solar é necessária a presença de dois componentes básicos: os ingredientes ativos (filtros orgânicos e/ ou inorgânicos) e os diversos veículos existentes como as emulsões [56, 64, 73].

Nas soluções hidroalcolicas, compostas principalmente de água e etanol, apesar de apresentarem boa espalhabilidade, a evaporação do álcool pode resultar em falhas no filme formado, interferindo na qualidade da proteção [46]. Por sua vez, os óleos apresentam maior proteção do que as anteriores, mas pela qualidade do filme não proporcionam elevados FPS [3, 56, 64].

Os géis são os veículos que independentemente da origem do espessante, sejam eles naturais (gomas, alginatos) ou sintéticos (polímeros e copolímeros de acrilamida), os géis resultantes geralmente não oferecem os mesmos níveis de proteção que as emulsões [64]. Além disso, para manter a transparência requerida deste grupo de preparações existe a necessidade de os filtros solares serem hidrossolúveis. Como somente se conseguem altos níveis de proteção através da mistura de filtros solares e sendo estes, em sua grande maioria, lipossolúveis, a obtenção de géis transparentes é uma tarefa técnica extremamente delicada e pode

envolver a inclusão de solventes nem sempre desejados, como é o caso do álcool etílico. Na preparação de géis fotoprotetores também se deve evitar a presença de filtros inorgânicos. Mesmo sendo microparticulados, os filtros inorgânicos oferecem ao gel, na melhor das hipóteses, aspecto opaco e, na maioria das vezes, resultam em aglomerados visíveis aos olhos do consumidor, e muitas vezes resultam na coalescência da dispersão coloidal. O problema destas preparações não se resume apenas ao aspecto estético, mas, fundamentalmente, aos baixos níveis de proteção oferecidos. A presença de aglomerados no protetor levará à formação de uma película não homogênea em toda a extensão da pele, fato este que comprometerá sensivelmente o nível da proteção [3, 46, 56, 73].

As emulsões são o melhor veículo para os filtros solares [63, 64]. Sendo constituídas de componentes tanto apolares (lipossolúveis) quanto polares (hidrossolúveis), podem carregar em sua estrutura tanto filtros hidrossolúveis quanto lipossolúveis, fato bastante proveitoso do ponto de vista da proteção. Tais sistemas podem ser O/A (óleo em água) ou A/O (água em óleo), características que também podem conduzir a preparações mais ou menos protetoras. As emulsões A/O são as mais adequadas para as formulações fotoprotetoras, porém apresentam elevado caráter graxo ou gorduroso, com conseqüente desconforto para o usuário. Em razão ao exposto, as emulsões O/A constituem os sistemas mais empregados e garantem adequada proteção com um sensorial mais adequado ao usuário [46, 56, 64, 73].

Algumas matérias-primas podem alterar o espectro de absorção dos filtros solares. O resultado tanto pode ser benéfico (aumento do FPS) quanto prejudicial (redução do FPS) ao protetor solar [64]. Diversos ésteres graxos podem aumentar o FPS, principalmente ao solubilizar adequadamente alguns filtros químicos que apresentam problemas de cristalização no produto final devido à baixa solubilidade [3, 73, 74].

Existem vários tipos de emolientes usados em protetores solares entre eles: ésteres, ceras, ácidos e álcoois graxos, óleos minerais, silicones, entre outros. Para os ésteres existem algumas características importantes a serem consideradas pelo formulador: quanto maior a cadeia oleosa, maior a viscosidade, mais difícil a emulsificação e maior oleosidade ao tato. Quanto mais ramificações na cadeia maior a sensação de toque seco é proporcionada a emulsão [64, 73, 75].

De modo geral os emolientes podem atuar de maneiras diferentes, dependendo do tamanho de sua molécula e da concentração usada na formulação. Seu uso em fotoprotetores é importante, pois estão diretamente ligados ao grau de espalhabilidade do produto na pele e a solubilização dos filtros solares [64]. A performance do protetor solar depende da forma como é aplicado, devendo ser espalhado adequadamente e na quantidade preconizada. Por isso, o emprego do emoliente deve facilitar a aplicação. Outro fator importante para a escolha dos emolientes é a influência que pode exercer na estabilidade do fotoprotetor. Se a composição de filtros solares, presentes na formulação, estiver precariamente solubilizada, com o passar do tempo e sob condições normais de estocagem, estes filtros solares podem precipitar no interior da emulsão formando cristais e provocando a redução do FPS do produto. Alguns emolientes como: dicaprilil carbonato, triglicerídeos do ácido cáprico, neopentil glicol diptanoato, podem facilitar a solubilização de alguns filtros solares aumentando sua estabilidade e incrementando sua performance devido à boa distribuição das partículas dos filtros solares sobre a pele [64, 73-75].

Outras substâncias que podem influenciar na espalhabilidade do fotoprotetor são os silicones. Estes formam um grande grupo de polímeros com características diversas devido à heterogeneidade de tamanho e formato das cadeias. Podem aumentar a espalhabilidade, reduzir a oleosidade e aumentar a resistência à água dos fotoprotetores, além de serem excelentes modificadores sensoriais. O ciclopentasiloxano (DC245) é um exemplo de um silicone volátil de peso molecular em torno de 371 empregado para implementar a espalhabilidade sem aumentar a oleosidade da formulação [3, 64, 73, 74].

Os emulsionantes influenciam tanto na performance quando aplicado sobre a pele como na estabilidade da formulação no interior da embalagem. São responsáveis pela formação da emulsão e pela estabilidade. Podem contribuir para uma boa distribuição das fases da emulsão formando micelas regulares que assegurem a estabilidade ao sistema e distribuição homogênea para as partículas dos filtros solares [64]. Um fato que deve ser considerado para a escolha do sistema emulsionante é que a maioria dos filtros solares apresentam valores de tensão superficial mais altos que os emolientes geralmente usados neste tipo de formulação. A energia requerida para estabilizar o sistema é maior, conduzindo ao formulador a necessidade de empregar maiores concentrações de emulsionantes de alto EHL [64, 74, 75].

Porém, para garantir uma adequada compatibilidade cutânea, sem prejudicar a estabilidade da formulação se faz necessário o uso de aditivos reológicos: carbômeros, crospolimero de acrilato e acrilato de alquila C10-30, hidroxietilceluloses, gomas naturais: xantana, guar (*Cyamopsis tetragonoloba*), glucomananas, gelas ou os amidos de batata e milho modificados minimizam a necessidade dos emulsionantes tradicionais, permitindo variar a viscosidade e incrementar a estabilidade destas emulsões [64]. Muitos deles conferem vantagens adicionais ao produto, pois também atuam como reguladores da evaporação da água da formulação e em alguns casos como formadores de filme, reduzindo a penetração cutânea [64, 73, 75, 76].

Outro atributo que os emulsionantes podem conferir é a resistência à água, garantido a aderência do produto sobre a pele por algum tempo quando em contato com a água ou mesmo durante a transpiração. É desejável que o filme formado sobre a pele não volte a emulsionar com facilidade, para isso utilizam-se emulsionantes lipídicos e/ou polímeros emulsionantes que após a sua deposição sobre a pele se tornam resistentes a formação de uma nova emulsão [56, 64, 74, 76].

A escolha correta dos componentes da formulação é, portanto, de fundamental importância para o sucesso do produto. O veículo influencia determinantemente no fator de proteção, uma vez que a formação de um filme uniforme e homogêneo sobre a pele é fundamental para a eficácia do produto [64]. Além disso, o veículo pode interagir com os filtros orgânicos e/ou inorgânicos escolhidos na formulação e também determinar o tipo de filme formado, proporcionando a maior eficiência na proteção, maior resistência a água e ao suor ou mesmo baixa absorção dos ativos, uma vez que os filtros solares devem ficar na superfície da pele [3, 64, 73, 76, 77].

3.5.4 Características das matérias-primas escolhidas

Existem inúmeros emulsionantes, polímeros, emolientes, silicones e umectantes com diferentes características e de diferentes fornecedores no mercado. Por isso, no presente trabalho, as matérias-primas foram selecionadas com base nas formulações comerciais existentes, realizando-se análise da composição de diversas formulações comerciais, procurando-se as matérias-primas mais utilizadas e com preços mais acessíveis. Abaixo estão descritas as características e funções de cada uma das matérias-primas selecionadas.

O álcool cetoestearílico 30/70 (*Cetearyl Alcohol*) possui propriedades emolientes, emulsificantes, principalmente de consistência em produtos cosméticos. (EHL: 16) [64, 76, 78].

O álcool ceto-estearílico-etoxilado 20EO ou Emulgim B2® (*Ceteareth-20*) é um emulsionante clássico para emulsões. É produzido a partir da mistura de 70% de álcool estearílico e 30% de álcool cetílico e etoxilado com oxido de etileno para produzir um emulsionante não iônico. Pertence a uma classe de compostos químicos chamado álcool graxo, onde possui uma cadeia graxa lipofílica com 16 a 18 carbonos. Apresenta-se em forma de flocos ou em pó de cor branca e odor característico podendo ser natural ou de origem sintética. A compatibilidade deste emulsionante com os álcoois graxos utilizados como agentes de consistência, sua forma sólida e seu alto EHL garantem a obtenção de emulsões óleo/água (cremes e loções) com alta estabilidade (EHL: 10) [64, 76, 78].

A goma xantana (*xanthan gum*) é caracterizada como agente suspensor, formador de gel aniônico, estabilizante e agente de consistência para emulsões [76, 78]. Apresenta boa estabilidade em meios ácidos e na presença de sais, assim como grande resistência ao aquecimento e cisalhamento, importantes para adequação do processo de preparo das formulações, além de proporcionar estabilidade do sistema emulsionante e sustentabilidade da formulação garantindo a homogeneidade do lote [64, 73].

O Pemulen TR-1 (*Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross-polymer*) é um emulsionante polimérico de ácido poliacrílico predominantemente de alta massa molecular. Suas moléculas possuem uma pequena porção lipofílica e uma grande porção hidrofílica. Essa estrutura química permite que funcione como um emulsionante primário em emulsões do tipo óleo-água [74, 76, 79].

O ciclopentasiloxane (*Dow Corning 245*) é um polidimetilciclosiloxano volátil composto principalmente de ciclopentasiloxano. É transparente, inodoro e sem oleosidade. Caracteriza-se por boa solubilidade na maioria dos álcoois anídricos e em muitos solventes cosméticos. Concede sensação sedosa suave à pele, não deixa resíduo ou acúmulo oleoso e não é gorduroso (EHL: 8) [64, 74, 80]. É usado para incrementar a espalhabilidade e diminuir a oleosidade da formulação.

O elastômero de silicone (DC 9040) é um polímero de silicone, que promove toque seco à formulação e uma leve sensação de pele aveludada sem ser gorduroso, além disso, reduz a pegajosidade das formulações e possui rápida absorção [64, 76, 80].

O óleo de arroz (*Oriza sativa*) é extraído do farelo de arroz, da espécie *Oryza sativa* é considerado superior a outros óleos vegetais, por possuir fotoquímicos, como Y-orizanol, tocoferóis e tocotrienóis (Vitamina E), que se encontram na fração da matéria- insaponificável, estes desempenham um fator importante na estabilidade oxidativa. Devido ao expressivo teor destes fotoquímicos o óleo de arroz possui potente propriedade antioxidante (EHL: 7) [81].

O butil hidroxi tolueno-BHT (2,6 di-tercio-butil-4-metil fenol) é utilizado para proteger óleos, gorduras, ceras e princípios ativos lipossolúveis contra oxidação. Os melhores resultados são obtidos quando se utilizam misturas sinérgicas de antioxidantes, um sinergista e um sequestrante de metais como o EDTA [64].

O disodium EDTA (ácido etilenodiaminatetracético- sal dissódico [EDTA-Na₂]) é um agente quelante de metais, potencializa o sistema conservante da formulação, previne a oxidação lipídica em produtos emulsionados. Considerando que os íons metálicos podem entrar em uma formulação dermocosmética de diversas formas (pela água, pelas matérias-primas, por embalagens, etc), e que é impossível evitar completamente a sua presença, a solução para minimizar os problemas causados por eles é a adição de agentes quelantes à formulação. O uso do EDTA previne a rancificação, age como um potencializador do sistema conservante. Além disso, protege a fragrância contra a auto-oxidação catalisada por metais e estabiliza doadores de viscosidade [64].

A glicerina (*glycerin*) de origem vegetal é considerada um dos melhores agentes umectantes, podendo ser empregada em formulações cosméticas destinadas a promover hidratação, através da retenção da umidade sobre a pele [64].

O Dry-flo™ Pure (*aluminium starch octenylsuccinate*) é um polímero natural, hidrofobicamente modificado. Normalmente é utilizado como um modificador de sensorial em emulsões e formulações à base de água, bem como unguentos, pomadas e formulações anidras. Possui propriedades de maciez e toque aveludado.

Pode ser utilizado em formulações líquidas ou em pós, melhorando a aparência das formulações e adsorvendo a oleosidade excessiva da pele. Dry-Flo™ Pure quando formulado em protetores e bloqueadores solares, melhora as propriedades tácticas, reduz espalhabilidade e aumenta o FPS, sem promover resíduo branco [82].

O amphisol K (*potassium cetyl phosphate*) é um emulsionante O/A de caráter aniônico, éster de cadeia longa. Análogo aos fosfolipídios naturais da pele, adequado para formulações que requerem resistência à água. Auxilia a estabilizar a emulsão (EHL: 10) [83, 84].

O Lexefeel Natural (*heptyl undecylenate*) é um emoliente derivado do óleo de rícino, com sensorial leve e seco. Ajuda na solubilização dos filtros solares da formulação, além de ser um modificador de sensorial, auxiliando na redução da oleosidade [85].

O Lexefel 7 (*neopentyl glycol diheptanoate*) é um éster claro e seco utilizado em formulações fotoprotetoras, em cremes hidratantes suaves, em loções para o rosto. É ideal para solubilizar filtros orgânicos [86].

3.5.4.1 Características dos filtros solares escolhidos

As exigências das agências reguladoras para que as formulações fotoprotetoras tenham amplo espectro de proteção ou seja proteção contra a radiação UVA e UVB tem estimulado o uso associado de filtros solares orgânicos e orgânicos e inorgânicos, além do uso simultâneo de ativos antirradicais livres e do uso de ingredientes que contribuam para o aumento do FPS e estabilização da formulação e dos filtros solares [64, 73].

É comum a associação de dois ou mais filtros orgânicos em formulações fotoprotetoras, pois um filtro orgânico utilizado isoladamente dificilmente irá proporcionar altos valores de FPS e um amplo espectro de ação. Desta forma, associar dois ou mais filtros orgânicos permite que se obtenha altos valores de FPS e um amplo espectro de proteção, além disso, pode-se utilizá-los em quantidades

menores que as máximas permitidas, reduzindo assim efeitos tóxicos e alergênicos inerentes aos diversos filtros disponíveis [64].

Além disso, a associação dos filtros orgânicos com os filtros inorgânicos proporciona formulações com potenciais alergênicos menores e maior segurança, permitindo o desenvolvimento de formulações que atendam a grupos específicos como idosos, gestantes e crianças [73].

Uma ferramenta muito útil na elaboração de perfis de absorção e para a triagem e desenvolvimento de formulações fotoprotetoras é o BASF *Sunscreen Simulator*, que é uma ferramenta disponibilizada pela BASF- The Chemical Company para o uso de desenvolvedores de fotoprotetores. É um programa de cálculo que estima fatores de proteção UVA e UVB para modelos teóricos de formulações fotoprotetoras atuando como um teste *in silico* na prototipagem de formulações, reduzindo o custo e o tempo de avaliação de formulações candidatas a fotoprotetores, assim como a melhor associação de filtros para fatores de proteção mais eficientes [54].

Os filtros solares escolhidos para a elaboração das formulações desenvolvidas foram: avobenzona, metilbenzilideno-cânfora, etilmetoxinamato, octocrileno, Tinosorb M, dióxido de titânio, Uvinul A plus, descritos separadamente abaixo.

Avobenzona (butyl methoxydibenzoyl methane) é um filtro UVA, amplamente utilizado na União Europeia, Austrália, Japão e EUA [64]. É muito fotoestável, mas, pode ser fotoestabilizado com a associação de outros filtros solares como o metilbenzilideno-cânfora e o octocrileno. Atua entre 320 a 400 nm, é lipossolúvel e associado a filtros UVB, alcança um FPS mais amplo. Esta associação permite o desenvolvimento de protetores solares com um largo espectro de absorção. Este filtro tende a formar complexo com metais pesados, isto pode ser evitado pela adição de EDTA, durante a preparação dos produtos [64, 73]. Sua estrutura química encontra-se abaixo na Figura 6.

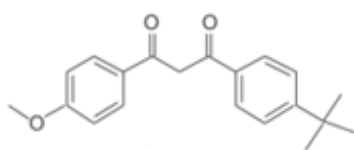


Figura 6. Estrutura química da avobenzona (butyl methoxydibenzoyl methane) [87].

Octocrileno (ethyl hexyl cyano diphenyl acrylate) começou a ser amplamente utilizado após as publicações da L'Oreal mostrarem que ele aumenta a fotoestabilidade de formulações contendo avobenzona [64]. É um filtro UVB com comprimento máximo de 303 nm e um coeficiente de extinção molar de 12.600. Pode auxiliar na resistência a água da formulação [64]. Sua estrutura química encontra-se na Figura 7.

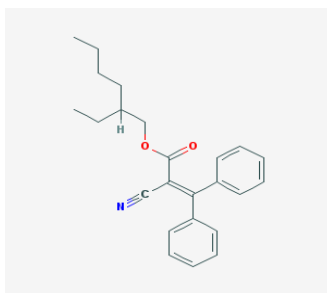


Figura 7. Estrutura química do octocrileno (ethyl hexyl cyano diphenyl acrylate) [87].

Metilbenzilideno-cânfora (4-methylbenzylidene camphor) é um filtro solar com alto grau de absorção da radiação ultravioleta B, com pico de absorção em 300 nm. É utilizado para estabilizar a Avobenzona [64]. Tem sido amplamente estudado devido a sua permeação cutânea, porém de acordo com a COLIPA ele é seguro quando usado em uma concentração máxima de 4% na formulação [88]. Sua estrutura química encontra-se na Figura 8.

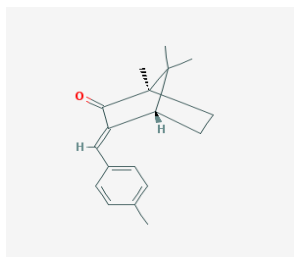


Figura 8. Estrutura química Metil-canfor (4-Methylbenzylidene Camphor) [87].

Etilmetoxinamato (ethylhexyl methoxycinnamate) é o filtro UVB mais frequentemente utilizado, possui pico de absorção em 308 nm [73], sendo facilmente incorporável em formulações fotoprotetoras. É um líquido de cor transparente à cor amarela clara, com odor característico [64]. Sua estrutura química encontra-se na Figura 9.

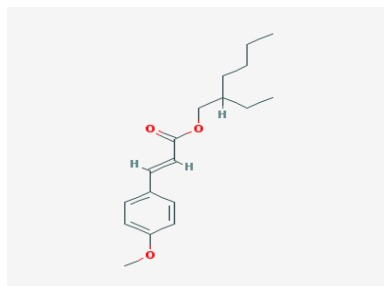


Figura 9. Estrutura química etilmetoxinamato (Ethylhexyl Methoxycinnamate) [87].

Tinosorb M (methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol) é uma nova classe de absorvedores UV (340 a 400 nm) da família dos benzotriazóis, fotoestáveis e com alto peso molecular, o que impede sua penetração na pele, algo importante no desenvolvimento de fotoprotetores, pois deseja-se que formem uma barreira sobre pele. Apresenta a capacidade de reflexão e dispersão da radiação, além da capacidade de absorção das radiações UV e visível, comportando-se, desta forma, como um filtro também de efeito físico. Por se tratar de uma dispersão aquosa, deve ser adicionado na fase aquosa ou após a emulsificação porém, como ele está em dispersão com cerca de 50% é preciso aplicar fator de correção [64]. Sua estrutura química encontra-se na Figura 10.

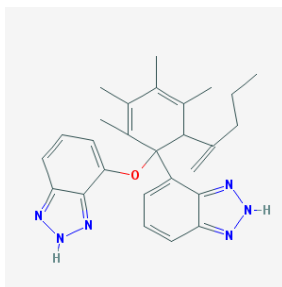


Figura 10. Estrutura química do tinosorb M (Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol) [87].

Uvinul A plus (diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate) é um filtro orgânico UVA de longo espectro, fotoestável, com pico de absorção máxima em 354 nm. Foi introduzido no mercado com o objetivo de substituir a avobenzona, mas apresenta o inconveniente de possuir coloração amarela o que não é muito bem aceito pelos usuários [64]. De acordo com a COLIPA ele não é tóxico quando usado em concentração de até 10% [89]. Sua estrutura química encontra-se na Figura 11.

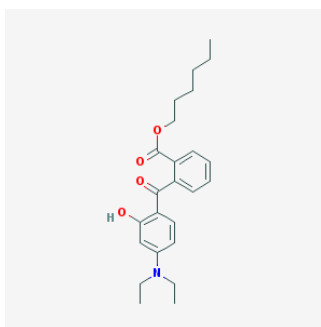


Figura 11. Estrutura química do uvinul A plus (diethylamino hydroxybenzoyl Hexyl benzoate) [87].

Dióxido de titânio micronizado (titanium dioxide) é insolúvel em água e em óleo, sendo apenas dispersível nestes meios ou em silicone. Para contornar esse problema, novas tecnologias tem surgido com sucesso, como a micronização/nanomização das partículas. É frequentemente revestido com outros materiais, tais como silicones, ácidos graxos, ou óxidos de alumínio, para auxiliar na dispersão. Estes revestimentos foram desenvolvidas para reduzir a aglomeração das partículas, facilitando sua dispersão na formulação e melhorando sua distribuição

quando aplicado sobre a pele. Pode ser utilizado para aumentar fator de proteção solar de um produto cosmético, atingindo um espectro entre a radiação UVB e UVA. Para tamanhos de partículas abaixo de 300 nm o produto não proporciona efeito esbranquiçado na pele [64].

3.6 Repelentes contra insetos

Mais de 200 municípios do Rio Grande do Sul são atingidos por espécies de *Simulium sp* (das 30 espécies descritas, algumas são inofensivas). A que mais ataca o homem é a *Simulium pertinax* (borrachudo), caracterizado por sua habilidade em sugar o sangue humano. A secretaria estadual de saúde desenvolveu um programa de controle que utiliza larvicida biológico como estratégia para controlar a proliferação do mosquito, entretanto, em virtude da poluição e do desmatamento, a incidência do borrachudo vem crescendo [90]. Em muitas circunstâncias a aplicação de repelentes na pele, pode ser a única alternativa para evitar picadas de inseto [91].

Uma única picada de inseto pode ser suficiente para a transmissão de diversas enfermidades [91]. Estas enfermidades acometem milhões de pessoas a cada ano, tendo sua maior incidência em países tropicais e subtropicais, onde os vetores possuem maior facilidade de proliferação [91]. Além disso, uma única picada é capaz de causar desde um simples desconforto, severas alergias, microcefalia, hemorragia até a morte por malária ou dengue [92]. As picadas também podem causar efeitos locais, tais como, irritações e infecção secundárias, dor, pápulas, vesículas, estrófilos, prurido, entre outros [91].

Alguns fatores intrínsecos do organismo podem aumentar a predisposição a picadas de insetos entre eles a presença de eczema, idade, sexo (sendo que o sexo masculino possui mais predisposição a picadas), utilização de roupas escuras, calor, umidade e também alguns odores como perfumes, suor, ácido láctico e CO² que são exalados pela pele [91].

Dentre as doenças vetorizadas por insetos, podemos citar dengue, malária, febre amarela, zica e chikungunya, entre outras [92]. Dentre as medidas que podem diminuir significativamente a incidência de doenças causadas por vetores estão a utilização de roupas apropriadas e repelentes que agem como uma barreira química contra os insetos. Outro método de prevenção às doenças transmitidas por vetores é a utilização de medicamentos profiláticos e vacinas, sendo estas recomendadas principalmente para turistas que viajam para lugares de risco [93]. Entretanto, essa alternativa é eficaz apenas para uma minoria de doenças vetorizadas por insetos e

não sendo totalmente eficaz [93]. Desse modo, medidas de prevenção às picadas de insetos são importantes para evitar a difusão dessas doenças [91].

Os repelentes tópicos são uma das maneiras mais eficazes e simples de se prevenir as picadas. Em alguns casos, o uso de repelentes tópicos torna-se a única alternativa contra os insetos [91]. Esses produtos estão presentes no mercado nas formas de spray, creme, loção, roll-on, bastão, protetor solar, entre outros [93]. No entanto, para o repelente tópico ser considerado eficaz, deve-se estar atento a alguns parâmetros como frequência e uniformidade de aplicação, grau de volatilidade do ativo da substância, absorção pela pele, lavagem da substância pelo suor e espécie do inseto [93].

O repelente sintético mais conhecido e utilizado é o N,N-dietil-3-metilbenzamida (DEET). Esta substância tem eficácia comprovada em formulações comerciais em concentrações que variam de 7,0 a 50%. Embora esteja presente no mercado há mais de 40 anos, o DEET, pode causar efeitos tóxicos, principalmente em crianças e gestantes entre elas, irritação dérmica, dermatite de contato, entre outras [91]. O DEET possui também o inconveniente de causar danos às roupas sintéticas e a plásticos, devendo-se evitar o contato do produto com acessórios como óculos, relógios e pulseiras. Além disso, existem relatos de interação do DEET com filtro solar, levando a diminuição do fator de proteção, e aumentando em até seis vezes a absorção cutânea de DEET [94].

O repelente Merck IR 3535®, etil-butil-aminopropionato pode ser uma alternativa aos demais repelentes existentes. Utilizado em mais de 150 produtos de consumo em todo o mundo, encontra-se disponível na Europa há mais de 20 anos, e desde 1999 nos EUA [95]. É ativo contra mosquitos, moscas, carrapatos, piolhos, vespas e abelhas. Sua estrutura química é baseada em uma substância natural (beta-alanina). Sua eficácia é totalmente comparável à do DEET, mas ele tem um perfil toxicológico muito mais interessante e boas propriedades cosméticas. É efetivo contra diversos tipos de mosquitos entre eles, o *Aedes aegypti*, e o *Simulidae sp* [91].

Existem também substâncias que, além de repelir, matam os insetos como os derivados piretroides. Nesta classe está incluída a permetrina. A permetrina é amplamente utilizada para a impregnação de roupas, mosquiteiros e telas [96, 97]. É

uma forma sintética do composto inseticida que ocorre naturalmente em crisântemos. É usada em concentrações variadas para tratamento de piolho e carrapatos [96].

Existe no mercado uma grande quantidade de repelentes químicos e naturais, também denominados sintéticos e derivados de plantas. Os repelentes sintéticos tendem a ser mais efetivos do que os naturais, que geralmente requerem reaplicação frequente por possuírem um menor tempo de duração e um alto grau de volatilização [93]. Os repelentes naturais são classificados como substâncias com um leve odor, que tem a capacidade de repelir os insetos, quando aplicados sobre a pele, evitando as picadas [98]. Os repelentes químicos, por sua vez, são classificados como substâncias mais eficazes e duradouras [93], e que não possuem odor muito pronunciado. A eficácia e tempo de duração da proteção do repelente variam de acordo com o produto utilizado e a espécie do mosquito. Em termos gerais, uma alta concentração do ativo produz uma proteção prolongada. Alguns produtos, como formulações microencapsuladas, tem a capacidade de produzir uma liberação sustentada do ativo, promovendo um longo tempo de proteção [99].

Além disso, para aumentar a eficácia dos ativos repelentes se faz necessário a adição de agentes formadores de filmes na formulação como crospolimero de acrilato e acrilato de alquila C10-30. Também é necessário escolher corretamente os emulsionantes pois muitos são incompatíveis com os repelentes. E ainda, alguns polímeros como a goma xantana auxiliam na estabilização das emulsões repelentes [91].

Há vários anos, pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de encontrar repelente ideal, que possua características como, tempo prolongado de ação, eficácia frente a diversas espécies de artrópodes, volatilidade suficiente para manter a concentração no ar próximo à pele, não permitindo que a substância se dissipe em pouco tempo, possuir odor agradável e/ou ser inodoro, não causar danos às roupas e não ser irritante a pele, mucosas ou apresentar toxicidade sistêmica [91]. Até o momento, no entanto, esse objetivo não foi alcançado. Cabe ainda salientar que o uso excessivo desses produtos e sem orientação, principalmente aqueles em forma de aerossol, pode causar diversos danos à saúde e até casos de intoxicação, como confusão mental, ataxia, insônia, urticária, tremores, hipotensão e até coma [98]. Com os inúmeros casos de doenças transmitidas por insetos entre eles o *Aedes aegypti*

mosquito que transmite a dengue, chikugunya e zika faz-se necessário estudos que visam melhorar as características dos repelentes, como eficácia e segurança garantindo proteção contra estas doenças.

Capítulo 1: Desenvolvimento de protótipos de protetores solares de amplo espectro (Fator de proteção solar 30) visando à transferência de tecnologia ao Laboratório Farmacêutico do Estado (LAFERGS).

4.Introdução

A questão do câncer de pele é multifacetada. Em um primeiro momento, é necessário dar ênfase aos efeitos negativos que os raios solares podem ter sobre o corpo humano. Num país tropical como o nosso, a exposição demasiada ao sol não acontece apenas em momentos de lazer, como na praia, na piscina ou parques, mas também no dia-a-dia de milhões de trabalhadores que são obrigados, pelas características de suas funções, a trabalhar se expondo ao sol diariamente, aumentando o risco de desenvolverem câncer de pele, como ocorre em algumas profissões entre elas: operários da construção civil, carteiros, trabalhadores rurais, guardas de trânsito, varredores de rua, entre outras [49].

O câncer de pele é uma doença frequente, sendo o mais incidente no Brasil. Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), o carcinoma basocelular e epidermóide são os mais comuns e correspondem a 70% e 25%, respectivamente, dos casos totais de câncer de pele. O câncer de pele não melanoma é mais frequente em adultos, com picos de incidência por volta dos 40 anos. Segundo um estudo realizado pela Sociedade Brasileira de Dermatologia cidades sem praias têm incidência de câncer de pele 40% maior do que nos municípios que ficam à beira-mar. Este fato pode ter relação com a associação que as pessoas fazem da necessidade do uso do protetor solar somente na praia [100].

A utilização de bloqueadores solares como uma forma efetiva de proteção na redução da formação de lesões pré-cancerígenas e cancerígenas tem sido amplamente discutida na literatura [15]. Mas, o papel dos protetores solares, na prevenção do câncer de pele, ainda não foi claramente definido. Um estudo clínico randomizado realizado por Green e colaboradores na Austrália, com 1621 pacientes, entre 1996-2006, mostrou que o melanoma pode ser evitado com o uso regular de protetor solar [101].

Os protetores solares bloqueiam a interação da radiação UV com a pele e, assim, limitam a quantidade de dano ocasionado pela luz UV. Apesar de não ser aprovado pelo FDA para prevenção de câncer de pele, os dados disponíveis sugerem que os

filtros solares poderiam reduzir a incidência da queratose actínica, indicadora de dano solar [45]. Embora os protetores solares possam ser essenciais na prevenção do câncer de pele, vários fatores podem limitar a sua eficácia. Estes incluem a baixa adesão do paciente, a grande quantidade de filtro solar necessária para se obter o fator de proteção solar adequada. Além disso, alguns autores, sugerem que a sua utilização pode ser associada com um aumento no risco do desenvolvimento de melanoma [49]. Isto pode ser explicado pelo fato de que algumas pessoas que utilizam protetor solar prolongam a sua exposição ao sol e/ou acabam achando não ser necessária a utilização de outros meios de proteção como chapéus e roupas apropriadas, além de se exporem ao sol nos horários de maior risco [102].

Apenas alertar sobre os riscos do câncer de pele, contudo, não é suficiente. É essencial que se apontem as formas de prevenção, entre elas, a mais simples é o uso de protetores solares, que pode reduzir as chances de desenvolvimento de câncer de pele. [22, 103] Além de incentivar o uso também é necessário facilitar o acesso aos fotoprotetores, pelo barateamento dos preços e pela distribuição ampla.

O fornecimento de protetores solares no Rio Grande do Sul faz parte de um conjunto de medidas definidas pelo Decreto N° 50.776, de 23 de outubro de 2013, que dispõe sobre a prevenção e o combate às doenças associadas à exposição solar. Seguindo critérios técnicos, a distribuição dos protetores deve ser realizada em 129 municípios que são considerados prioritários por apresentarem maior mortalidade por melanoma, de acordo com os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), bem como cidades que contam com populações de pescadores e aquicultores. No Rio Grande do Sul, segundo o INCA, a incidência de melanomas malignos está acima da média nacional. Estão sendo, disponibilizadas três unidades com Fator de Proteção Solar igual ou superior a 30, sendo uma a cada quatro meses [39, 104].

A presente dissertação de mestrado teve por motivação uma demanda específica do Laboratório Farmacêutico do Estado do Rio Grande do Sul (LAFERGS) ao nosso grupo de pesquisa para o desenvolvimento de uma formulação fotoprotetora para posterior transferência da tecnologia. A parceria entre a Faculdade de Farmácia e o LAFERGS foi formalizada através do Convênio número 23078.002214/13-33 e visa o desenvolvimento de protótipos de fotoprotetores, entre outras atividades. Especificamente, o objetivo do projeto em parceria foi a proposição de formulações

de fotoprotetores que atendam os seguintes requisitos: boa cosmetividade, Fator de Proteção Solar 30 e com amplo espectro de ação (proteção contra radiações UVA e UVB). Adicionalmente, também foi estabelecida a meta de estudar a possibilidade de produzir protótipos multifuncionais, como por exemplo, mediante a incorporação de substâncias repelentes de insetos (Capítulo 1 da presente dissertação).

Após o desenvolvimento em escala de bancada a ser realizado no presente trabalho, a segunda etapa do projeto consistirá na transferência da tecnologia para o LAFERGS, que prosseguirá com o escalonamento do processo produtivo e ensaios clínicos visando o seu registro na Anvisa. Após esta etapa, o objetivo final é que o LAFERGS passe a produzi-lo em escala industrial e o distribua, atendendo o Decreto N° 50.776, de 23 de outubro de 2013.

A seleção da matéria-prima antioxidante para incorporação nas formulações foi direcionada aos ingredientes da economia local, buscando a valorização de produtos inseridos nos arranjos produtivos do Estado do Rio Grande do Sul. Assim, utilizou-se como diferencial da formulação o óleo de arroz que é extraído do farelo de arroz, que é um subproduto do processo de moagem do arroz e é muito conhecido por seus potenciais benefícios da pele como elevada atividade antioxidante e hidratante [105]. Ele contém alta concentração de compostos bioativos importantes especialmente aqueles com propriedades antienvhecimento, tais como a vitamina E, γ -oryzanol e ácido ferúlico [106]. A escolha deste ativo teve como objetivo valorizar o plantio do arroz pelos agricultores do Rio Grande do Sul, estado de maior produção de arroz do Brasil [107]. Futuramente, os agricultores serão os maiores contemplados com a distribuição gratuita dos fotoprotetores.

Além de agregar ao protetor solar produzido os benefícios do óleo de arroz verificou-se a necessidade de vincular ao produto repelência contra insetos. No Rio Grande do Sul os insetos hematófagos da família Simuliidae (*Diptera nematocera*) geram extremo desconforto e agravos à saúde decorrentes das suas picadas, muitas vezes exigindo atendimento médico por dermatite e febre, havendo até casos de internação hospitalar. Esta situação é conhecida há muitas décadas em especial nas áreas rurais onde sua presença interfere nas atividades e na qualidade de vida dos moradores [108].

Face ao exposto, o primeiro capítulo visa desenvolver emulsões fotoprotetoras e emulsões fotoprotetoras contendo repelente de insetos, e estudar suas estabilidades, parâmetros como propriedades físico-químicas, perfis reológicos, capacidades fotoprotetoras e perfis de irritação.

5. Objetivos

5.1 Objetivo Geral

Desenvolver protótipos de protetores solares de amplo espectro, contendo ou não repelência de insetos, visando à transferência de tecnologia ao Laboratório Farmacêutico do Estado (LAFERGS).

5.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver protótipos de protetor solar de amplo espectro com fator de proteção solar UVA/UVB estimado FPS30;
- Avaliar por meio de teste *in vitro* a capacidade fotoprotetora das formulações;
- Avaliar a influência do repelente de insetos na capacidade fotoprotetora;
- Avaliar o perfil de segurança (mediante a avaliação do potencial irritativo em modelo de ovos embrionados).

6. Metodologias

6.1- Matérias-primas e equipamentos

6.1.2 Matérias-primas

As matérias-primas utilizadas para o desenvolvimento das formulações semissólidas encontram-se relacionadas na Tabela 6.

Tabela 6. Matérias-primas utilizadas para a produção das formulações semissólidas.

Nome comercial	INCI	Fornecedor
Alcool cetosteárico 30/70	<i>Cetearyl Alcohol</i>	Fagron
Alcool cetosteárico-etoxilado	<i>Ceteareth - 20</i>	Fagron
Ampisol K	<i>Potassium Cetyl Phosphate</i>	Sarfam
Avobenzona	<i>Avobenzone</i>	Biovital
BHT	<i>Hidroxitolueno butilado</i>	Lab Sul
Ciclometicone DC 245	<i>Cyclomethicone</i>	Embrafarma
Dióxido de titânio T-lite	<i>Titanium Dioxide</i>	Biovital
Dow Corning 9040	<i>Cyclomethicone (and) Dimethicone Crosspolymer</i>	Embrafarma
Dry-flo-pure	<i>Aluminium Starch Octenylsuccinate</i>	Sarfam
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>	Lab Sul
Essência	<i>Perfum</i>	Inst Pasteur
Etilmetoxinamato	<i>Octilmetoxinamato</i>	Biovital
Glicerina	<i>Propano-1,2,3-triol</i>	Mapric
Goma xantana	<i>Xanthan Gum</i>	Mapric
Hidróxido de sódio	<i>Sodium hydroxide</i>	Lab Sul
IR3535	<i>Ethyl butylacetylaminopropionate</i>	Fagron
Lexfel 7	<i>Neopentyl Glycol Diheptanoate</i>	Sarfam
Lexfel natural	<i>Heptyl Undecylenate</i>	Sarfam
Metilbenzilideno canfor	<i>4-Methylbenzylidene Camphor</i>	Lab Sul
Metilparabeno	<i>Methylparaben</i>	Fagron
Óleo de arroz	<i>Rice oil</i>	Mundo óleos
Pemulen TR1	<i>Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross-polymer</i>	Sarfam
Propilparabeno	<i>Propylparaben</i>	Fagron
Tinosorb M (50%)	<i>Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol</i>	Biovital
Uvinul A plus	<i>Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate</i>	Embrafarma
Uvinul N 539-T	<i>Octocrylene</i>	Embrafarma

6.1.3 Reagentes e solventes

- Acetonitrila grau CLAE - Merck;
- Ácido acético (Synth, Brasil);
- Hidróxido de sódio 0,1 M (Synth Brasil);
- Ovos de galinha embrionados (10^o dia de incubação), Novagro, Montenegro-RS;
- Perclorato de tetrabutilamonio (TBA) (Sigma Aldrich);
- Resveratrol (PharmaNostra);
- Fotoprotetor L'Oreal FPS 30 e Fotoprotetor Instituto Pasteur FPS 30.

6.1.4 Equipamentos

- Agitador de hélice – RW 20, Ika, São Paulo - SP, Brasil
- Balança analítica – Denver APX200
- Centrífuga MTDIIIPLUS (Servilab)
- CLAE- Perkin Elmer, São Paulo - SP, Brasil
- Coluna LiCrospher®100 RP-18 (250 mm X 4,0 mm x 5 µm) - Merck
- Mastersizer ® 2000, Malvern
- Viscosímetro rotacional- LVDV-II+Pro Brookfield
- Potenciômetro- Ultra Basic, Denver Instrument

6.2 Métodos

6.2.1 Preparação das formas farmacêuticas semissólidas

Os componentes da fase A foram transferidos para um béquer (250 mL) e levados a aquecimento até fusão completa de todos os componentes. Em outro béquer pesou-se os componentes da fase B e colocou-se em aquecimento com agitação até completa homogeneização dos componentes, à temperatura de 75 °C.

Verteu-se a fase A sobre a fase B sob constante agitação, mantendo-se a temperatura em 75 °C, por aproximadamente 5 minutos. Transcorrido este período (emulsificação) adicionou-se a fase C à mistura, sempre com agitação. Esperou-se atingir a temperatura de aproximadamente 35 °C e adicionou-se as fases D, E, F e G, nesta sequência, com 5 minutos de agitação entre a adição de cada uma como mostrado na Figura 12. Esperou-se o resfriamento da formulação até temperatura ambiente e acondicionou-se na embalagem apropriada. A composição das formulações está descrita na Tabela 7.

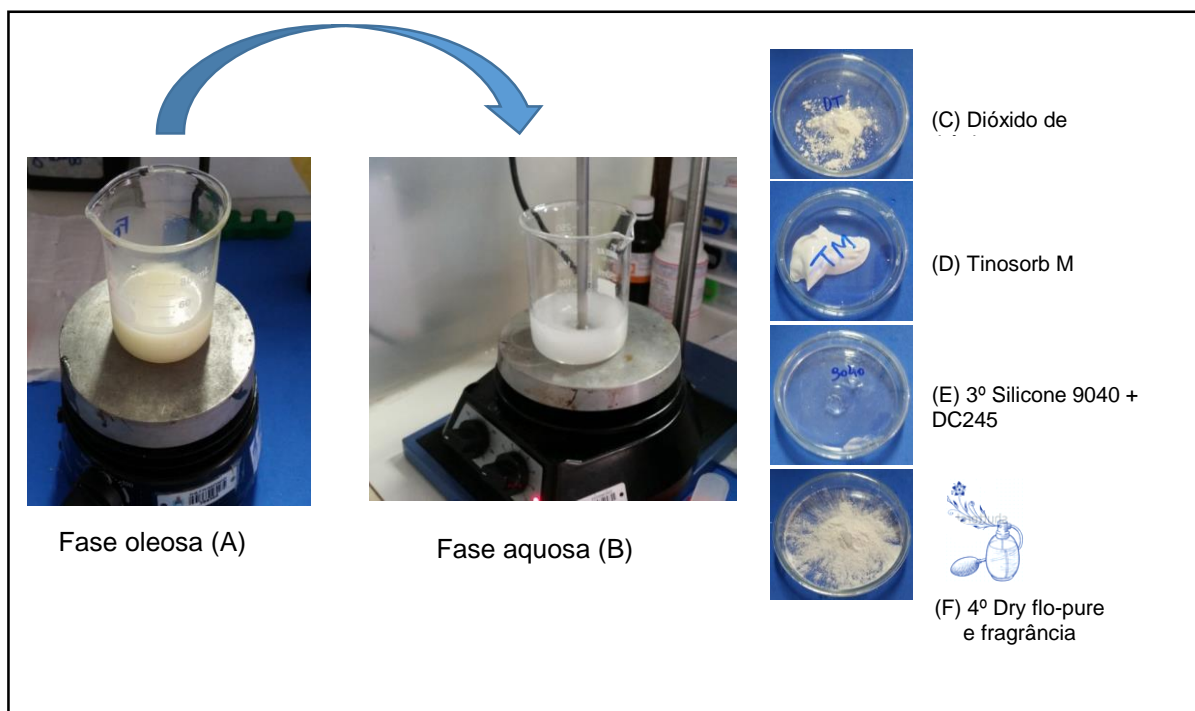


Figura 12. Produção das emulsões fotoprotetoras.

Tabela 7. Composição das formulações (Protsol1 e Protsol2) e suas respectivas concentrações.

Fase	Componente	FOTOPROT 1 FOTOPROT2	
		(%)	
A	Glicerina	1,00	1,00
	Goma xantana	0,30	0,30
	Hidróxido de sódio	0,20	0,20
	EDTA	0,10	0,10
	Pemulen TR1	0,30	0,30
	Nipazol	0,10	0,10
	Água	qsp 100	
B	Alcool cetosteárico 30/70	1,80	1,80
	Alcool etoxilado 20OE	0,50	0,50
	Ampisol K	2,00	2,00
	BHT	0,05	0,05
	Nipagim	0,20	0,20
	Lexfel 7	3,00	3,00
	Lexfel natural	3,00	3,00
	Óleo de arroz	0,50	0,50
	Avobenzona	4,00	
	Uvinul A plus		3,00
	Metil-canfor	4,00	3,00
	Etilmetoxinamato	4,00	4,00
Octocrileno	5,00	5,00	
C	TCM	1,00	1,00
	Dióxido de titânio	1,00	1,00
D	Tinosorb M	1,00	1,00
E	Phenova(ACNIBIO AP)	0,15	0,15
F	DC245	1,00	1,00
	DC9040	0,50	0,50
G	Dry-flopure	1,00	1,00
	Fragrância	0,20	0,20

6.2.2 Estimativa do Fator de Fotoproteção Solar (FPS)

O FPS das emulsões fotoprotetoras foi estimado através do dispositivo eletrônico BASF Protetor solar Simulator (www.sunscreensimulator.basf.com), o qual faz cálculos preditivos do FPS, bem como os indicadores de proteção UVA, com base nas matérias-primas e suas devidas proporções.

6.2.3 Determinação da estabilidade preliminar das formulações semissólidas

Antes de iniciar os estudos de estabilidade as formulações foram submetidas ao teste de centrifugação e a determinação da estabilidade preliminar. Para isso centrifugou-se uma alíquota (10 g) de cada formulação desenvolvida a 3.000 rpm durante 30 minutos. As formulações que permaneceram estáveis foram então submetidas aos testes de estabilidade preliminar (Guia 2004 ANVISA).

O estudo da estabilidade preliminar foi realizado durante quinze dias sendo importante na triagem das formulações. As formulações em teste foram submetidas a condições de estresse visando acelerar o surgimento de possíveis sinais de instabilidade. As amostras foram submetidas a aquecimento em estufa ($45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), resfriamento em refrigerador ($-10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e a ciclos alternados de resfriamento e aquecimento durante 15 dias.

6.2.4 Determinação da estabilidade das formulações semissólidas

As amostras para teste de estabilidade foram acondicionadas em bisnagas plásticas, opacas, de parede simples, com tampa. A cada embalagem foi adicionada a quantidade de 100 gramas para cada formulação, sendo todas devidamente identificadas.

6.2.4.1 Teste de estabilidade acelerada

As amostras foram submetidas a estudos de estabilidade acelerada de acordo com os procedimentos descritos no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA, 2004). Para isso foram submetidas às condições de temperatura ambiente ($20\text{-}25^{\circ}\text{C}$), geladeira ($-10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e estufa ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) sendo posteriormente (1, 30 e 90 dias) avaliados os seguintes fatores: separação de fases, aparência, cor, odor e pH. Em cada condição testada, utilizaram-se 3 amostras extraídas de cada frasco (de 100 g) de formulação.

6.2.4.2 Aparência, cor e odor

Essa avaliação foi feita de forma subjetiva, por comparação entre todas as amostras produzidas submetidas às diferentes condições. Para a avaliação da aparência, observaram-se níveis de alteração que foram classificados em (I) normal, sem alteração, (II) levemente separado, levemente precipitado ou levemente turvo e (III) separado, precipitado ou turvo. A graduação dos níveis de alteração de cor e odor observada na formulação foi classificada de acordo com os seguintes critérios: (I) normal sem alteração; (II) levemente modificada; (III) modificada e (IV) intensamente modificada (ANVISA, 2004).

6.2.4.3 Teste de ciclo gelo-de-gelo

Amostras foram colocadas em estufa a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e em freezer $-5 \pm 2^\circ\text{C}$, alternando-se entre o *freezer* e a estufa a cada 24 horas, por um período de 7 dias. Ao final desse ciclo, as amostras foram submetidas à ação de centrifuga a 3000 rpm durante 45 minutos e avaliadas de acordo com os seguintes critérios: (1) sem separação de fases; (2) leve separação de fases; (3) notável separação de fases [109].

6.2.4.4 Teste de estufa e centrifuga combinados

As amostras foram colocadas em estufa a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e após 24 e 168 horas (7 dias) alíquotas foram submetidas a ação da centrifuga durante 1 hora a 3000 rpm, sendo então avaliadas macroscopicamente de acordo com os critérios: (1) sem separação de fases; (2) leve separação de fases e (3) separação de fases [109].

6.2.5 Determinação do pH das formulações semissólidas

As formas farmacêuticas semissólidas foram diluídas a 10% (m/v) em água ultrapura, e as determinações do pH foram efetuadas utilizando-se potenciômetro

calibrado com solução tampão pH 4,0 e 7,0. Os resultados representam a média de três determinações.

6.2.6 Análise reológica das formulações semissólidas

As características reológicas das formulações foram avaliadas com o auxílio de viscosímetro rotacional Brookfield modelo LVDV-II+ provido de *spindle* SC4-25 e adaptador SSA. Para as determinações, as amostras foram acondicionadas em dispositivo Brookfield para avaliação de pequenas quantidades de amostra, acoplado a um banho de água termostaticado circulante a $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

As velocidades de rotação do *spindle* foram selecionadas com base em determinações preliminares, respeitando os limites nos valores de torque (superiores a 10% e inferiores a 100%). Um minuto após o ajuste de cada velocidade de rotação do *spindle* foi efetuada a leitura da viscosidade e das tensões de cisalhamento. A partir desses valores, obtidos no software do equipamento (Rheocalc[®]), construíram-se os reogramas através da representação gráfica das velocidades de cisalhamento em função das tensões de cisalhamento. Os comportamentos reológicos foram determinados testando-se os quatro modelos matemáticos propostos para fluídos não-newtonianos: Bingham, Casson, Ostwald e Herschel-Bulkley e o modelo de maior coeficiente de correlação foi considerado o de escolha para descrever o comportamento das formulações semissólidas.

6.2.7 Determinação do perfil de distribuição de diâmetro de partícula

A análise do perfil de distribuição de diâmetro das partículas foi realizada pela técnica de difração de laser (Mastersizer 2000 – Malvern - Worcestershire, Reino Unido). A análise foi realizada em triplicata de lote e a diluição foi a realizada no equipamento. Para isso, uma quantidade suficiente de amostra (para atingir uma obscuração entre 2 e 8%) foi adicionada ao compartimento de dispersão (o qual continha aproximadamente 100 mL de água destilada). Anteriormente a cada análise, foi procedida uma medida de *background* para eliminação de interferentes na análise.

Foram realizadas análises no início e no final do teste de estabilidade para todas as formulações desenvolvidas.

6.2.8 Avaliação da capacidade fotoprotetora

A avaliação da capacidade fotoprotetora foi determinada através da capacidade que as formulações semissólidas demonstraram para evitar a fotodegradação de uma solução de resveratrol em presença de radiação UVA [110]. Para isso foram utilizadas placas de petri devidamente protegidas da luz, com apenas a parte superior sem proteção. Nessa região sem proteção, 300 mg das formulações foram adicionadas (n=3).

No interior do conjunto das placas de petri foi adicionada a solução de resveratrol (com concentração de 50 µg/mL). Após os tempos de 0,10, 30, 60, 90, 120, 240 e 360 minutos de exposição à radiação UVB, foram retiradas alíquotas de 1 mL da solução de resveratrol para doseamentos por CLAE a partir de metodologia previamente validada em 2012 no nosso grupo de pesquisa [111]. Para isso, utilizou-se fase móvel isocrática de acetonitrila e água (50:50) contendo TBA (50 mg/100 mL) e ácido acético em quantidade suficiente para pH aparente 3,0, e as leituras foram realizadas em 305 nm.

6.2.9 Ensaio de irritação em modelo organotípico- Het-Cam

O objetivo desse ensaio é utilizar a membrana cório-alantóide de ovos de galinha [Hen's Egg Test Chorioallantoic Membrane, HET-CAM] para avaliar semi-quantitativamente o potencial irritante das emulsões. O ensaio é baseado na observação dos efeitos irritantes (hiperemia, hemorragia e coagulação), nos primeiros 5 minutos após a aplicação das emulsões diretamente sobre a membrana. A partir dessa observação são obtidos os dados que podem ser convertidos em uma escala a qual expressa o grau dos fenômenos observados.

Para a realização de cada ensaio foram utilizados 4 ovos (décimo dia de embriogênese) por produto testado. De cada ovo foi removida a casca ao redor da câmara de ar, evidenciando, assim, a membrana da casca. Esta foi removida

cuidadosamente e a membrana cório-alantoide foi exposta. Nessa membrana foram aplicados aproximadamente 300 µL da formulação semissólida. Depois de 20 segundos de contato, a formulação foi removida, e a membrana cório-alantoide lavada com solução fisiológica a 37,0°C. Durante 5 minutos, a membrana cório-alantoide foi avaliada visualmente e as reações fisiológicas observadas foram graduadas em função de seu tempo de aparecimento, conforme indicado na Tabela 8. Este ensaio foi realizado conforme a metodologia descrita no *Journal Officiel de la République Française* (1996). A classificação final dos produtos, de acordo com seu potencial de irritabilidade foi atribuída de acordo com as pontuações descritas na Tabela 9 e resultado do cálculo feito através da Equação 1.

Para determinação visual comparativa dos eventos vasculares foram utilizados dois controles positivos (hidróxido de sódio 0,1 M, padrão para verificação dos fenômenos de hemorragia e coagulação e laurilsulfato de sódio 1%, padrão para verificação do fenômeno de vasoconstrição). Este teste ainda foi utilizado para análise de protetores solares comerciais para fins de comparação.

Equação 1

$$\text{Potencial irritante} = \left(\left(\frac{301-H}{300} \right) \times 5 \right) + \left(\left(\frac{301-V}{300} \right) \times 7 \right) + \left(\left(\frac{301-C}{300} \right) \times 9 \right)$$

Onde:

H = tempo para hemorragia

V = tempo para vasoconstrição

C = tempo para coagulação

Tabela 8. Pontuação atribuída, em função do tempo de aparecimento, de cada um dos sinais de irritação.

Fenômeno	Tempo (t)		
	t < 30 s	30 ≤ t ≤ 2 min	2 min < t ≤ 5 min
Vasoconstrição	5	3	1
Hemorragia	7	5	3
Coagulação	9	7	5

Tabela 9. Classificação do grau de irritação de acordo com a pontuação atribuída para os sinais de irritação.

Potencial irritante	Classificação quanto ao grau de irritação
0 – 0,9	Não irritante
1 – 4,9	Irritação fraca
5 – 8,9	Irritação moderada
9 – 21	Irritação severa

7- Resultados e Discussão

7.1- Desenvolvimento e estabilidade das emulsões fotoprotetoras

7.1.2- Desenvolvimento das formulações

A proposição das formulações fotoprotetoras desenvolvidas baseou-se em um estudo preliminar de pré-formulação que se encontra descrito no Apêndice 1. Foram desenvolvidos vários protótipos, empregando-se matérias-primas amplamente utilizadas em formulações comerciais e cujos os atributos sensoriais foram avaliados de forma subjetiva em conjunto com os pesquisadores do LAFERGS, para seleção dos melhores protótipos, aqui designados como Protsol1 e Protsol2, cuja composição quali-quantitativa encontra-se descrita na Tabela 7. As formulações Protsol1 e Protsol2 apresentam composições bastante semelhantes, à exceção da combinação de filtros solares: avobenzona, metilbenzilideno-cânfora, etilmetoxinamato, octocrileno para Protsol1 e Uvinul A plus, metilbenzilideno-cânfora, etilmetoxinamato e octocrileno para Protsol2.

As formulações Protsol1 e Protsol2 foram submetidas aos estudos de estabilidade (com duração de 90 dias), em 3 condições experimentais diferentes: temperatura ambiente ($25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$), temperatura de $40 \pm 2\text{ °C}$ e temperatura de $-5 \pm 2\text{ °C}$. Foram realizadas medidas de pH, viscosidade e de diâmetro de partículas das emulsões fotoprotetoras (Protsol1 e Protsol2) antes e depois do estudo de estabilidade. As informações obtidas no estudo de estabilidade são particularmente importantes, pois quando emulsões ficam armazenadas por um determinado tempo podem ocorrer fenômenos de desestabilização como: cremação, sedimentação, floculação, coalescência e, por fim, separação das fases e a inativação de substâncias ativas levando à ineficácia do sistema [112].

Quanto à aparência, as formulações (Protsol1 e Protsol2) apresentaram-se estáveis nas três condições experimentais avaliadas, sem presença de grumos e separação de fases. Ambas apresentaram aspecto visual adequado. Quanto à coloração, odor e pH, também não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial.

Os resultados demonstram também que após armazenadas em condições diversas de temperatura (ambiente, geladeira e estufa) as emulsões fotoprotetoras (Protsol1 e Protsol2) não apresentam variação significativa ($P < 0,05$) de pH, quando comparadas com os valores iniciais (Tabela 10). O pH das emulsões em estudo foi inicialmente ajustado, com hidróxido de sódio 20% (p/v), para uma faixa entre 6-7, visando adequar o produto à via de administração tópica, bem como otimizar a viscosidade do polímero utilizado. O pH de uma formulação fotoprotetora é importante para a estabilidade dos filtros orgânicos e deve situar-se entre 6,0 e 7,0. Valores de pH ácidos podem acarretar o deslocamento dos elétrons na molécula dos filtros solares, passando o produto a absorver radiação solar em um comprimento de onda diferente do desejado, o que pode prejudicar a sua eficácia [56, 63, 75, 113, 114].

Tabela 10. Valores de pH para as formulações Protsol1 e Protsol2 frente as diferentes condições de armazenamento.

Tempo	Protsol1			Protsol2		
	Ambiente	Geladeira	Estufa	Ambiente	Geladeira	Estufa
Início	6,63 ± 0,16	6,05 ± 0,04	6,83 ± 0,16	6,55 ± 0,04	6,05 ± 0,04	6,62 ± 0,08
15 dias	6,53 ± 0,01	6,14 ± 0,03	6,75 ± 0,01	6,49 ± 0,46	6,14 ± 0,03	6,75 ± 0,01
30 dias	6,12 ± 0,16	6,14 ± 0,04	6,12 ± 0,16	6,92 ± 0,01	6,14 ± 0,04	6,94 ± 0,16
60 dias	6,94 ± 0,05	6,45 ± 0,04	6,63 ± 0,16	6,70 ± 0,02	6,45 ± 0,04	6,83 ± 0,16
90 dias	6,94 ± 0,02	6,58 ± 0,06	6,94 ± 0,01	6,59 ± 0,06	6,58 ± 0,06	6,94 ± 0,01

Ambiente (20-25°C), geladeira (-10°C ± 2°C) e estufa (40 ± 2°C)

A avaliação das características reológicas de formulações semissólidas para uso tópico, tanto cosmético quanto dermatológico, também é de fundamental importância para estimar a estabilidade de emulsões fotoprotetoras ao longo de determinado tempo e condição de temperatura [72, 115]. As características reológicas das formulações (Protsol1 e Protsol2) foram avaliadas antes e depois dos períodos de estudo de estabilidade. Além disso, ainda foram comparadas às com duas formulações comerciais (L'Oreal e Pasteur) objetivando avaliar se as características eram similares com as apresentadas por estas formulações, visto que possuem alta aceitação no mercado.

Os reogramas de todas formulações avaliadas demonstraram não existir relação linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento aplicadas,

denotando o caráter não-newtoniano [116]. Na Tabela 11 são apresentados os coeficientes de regressão e os respectivos desvios-padrões para cada modelo matemático, que pode descrever os comportamentos não-newtonianos plástico perfeito, plástico e pseudoplástico. Para todas as formulações o modelo que melhor se adequou foi o modelo de *Ostwald* tendo em vista que foram os resultados com maiores valores coeficiente de determinação (R^2). Esse modelo descreve o comportamento pseudoplástico de um material, confirmado pelos baixos valores de índice de comportamento de fluxo ou índice de fluxo ($n < 1$) [117] como mostrado na Tabela 12.

A principal característica do fluxo pseudoplástico é a diminuição da viscosidade com o aumento da velocidade de cisalhamento. Esse tipo de comportamento para um produto de uso tópico é desejável, pois permite o fácil espalhamento da formulação sobre a pele, formando um filme contínuo e protetor sobre a superfície aplicada [117, 118]. Este mesmo comportamento foi encontrado por outros autores para formulações fotoprotetoras [115, 119] e muitos autores sugerem que uma viscosidade adequada proporciona melhor filme formado sobre a pele para formulações fotoprotetoras [119, 120].

Tabela 11. Coeficientes de regressão para cada formulação de acordo com os modelos testados.

Formulação	Bingham	Casson	Herchel-Bulkley	Ostwald
Protsol1	0,981 ± 0,035	0,995 ± 0,004	0,991 ± 0,009	0,994 ± 0,012
Protsol2	0,980 ± 0,035	0,992 ± 0,008	0,991 ± 0,009	0,999 ± 0,010
Pateur	0,984 ± 0,020	0,995 ± 0,030	0,997 ± 0,020	0,994 ± 0,040
L'Oreal	0,985 ± 0,040	0,995 ± 0,040	0,995 ± 0,020	0,994 ± 0,020

Tabela 12. Índice de fluxo e valor de consistência das formulações fotoprotetoras.

Formulação	Consistência (mPa.s)	Índice de fluxo
Protsol1	46453,2 ± 93,0	0,20 ± 0,01
Protsol2	62452,2 ± 83,4	0,20 ± 0,01
L'Oreal	38294,30 ± 97,2	0,16 ± 0,01
Pasteur	62451,30 ± 83,4	0,20 ± 0,02

Em relação à consistência (Tabela 12), pode-se observar que a formulação Protsol1 apresentou um valor intermediário (46453 mPa) em comparação aqueles verificados para os dois produtos comerciais avaliados (38294 mPa para o fotoprotetor da L'Oreal e 62451 mPa para o produto da empresa Pasteur). Por sua vez, Protsol2 apresentou consistência similar aquela observada para a formulação Pasteur (62452 e 62451 mPa, respectivamente). Os índices de fluxo das formulações desenvolvidas foram idênticos ao apresentado pelo fotoprotetor da empresa Pasteur (0,20). Em síntese, a análise reológica evidenciou grande similaridade entre as formulações desenvolvidas e os produtos comerciais empregados como referências comparativas.

As formulações (Protsol1 e Protsol2) foram submetidas à análise do tamanho das gotículas da emulsão. A caracterização do tamanho das gotículas de uma emulsão é importante, pois está relacionada com consistência e estabilidade [118]. Além da microscopia óptica, uma das possíveis técnicas utilizadas para avaliar o tamanho da gotícula é a difratometria de laser. A superfície de uma partícula pode ocasionar uma difração de um feixe de luz que incide tangencialmente. O modo (ângulo e intensidade) pelo qual a luz é difratada irá depender do tamanho da partícula. Portanto, ao se conhecer o ângulo e a intensidade pela qual a luz foi difratada é possível se obter o tamanho da partícula [121]. Esta técnica não só fornece o diâmetro médio das gotículas, mas também fornece um perfil de distribuição de tamanho [121].

Em nosso grupo de pesquisa foi desenvolvida uma forma de apresentação que permite observar vários dados da difração de laser ao mesmo tempo, proporcionando informações das impressões digitais das formulações [122]. Essa análise permite verificar quais emulsões possuem diâmetros mais adequados. Este sistema utiliza os

valores de diâmetro médio ponderado por volume e por número de partícula ($d[4,3]_v$ e $d[4,3]_n$) e, ainda, os diâmetros ponderados em porcentagem da distribuição de volume e de número das partículas onde $d(0,1)$ corresponde a 10%, $d(0,5)$ correspondentes a 50% e $d(0,9)$ a 90% da curva de distribuição de tamanho das partículas respectivamente [122]. Os eixos do gráfico do tipo radar são mostrados por volume e por número, sendo que os eixos de 1 a 4 correspondem aos dados com base no volume de partículas [$d[4,3]_v$, $d(0,1)_v$, $d(0,5)_v$ e $d(0,9)_v$], enquanto que os eixos de 5 a 8 correspondem aos dados com base no número de partículas [$d[4,3]_n$, $d(0,1)_n$, $d(0,5)_n$ e $d(0,9)_n$].

Os resultados obtidos correspondem a média de três análises de cada lote das formulações Protsol1 e Protsol2, e das formulações comerciais, L'Oreal e Pasteur (Tabela 13), sendo utilizados para a construção dos gráficos-radar, conforme estabelecido pelo estudo de Bianchini e colaboradores (2015) (Figura 14). Para todas as formulações o índice de refração usado para calcular o tamanho das partículas foi 1,59, dado similar ao referenciado por Schlossman e Shao (2005) que citam que os valores médios de índice de refração para fotoprotetores variam entre 1,33-1,60 [123]. Os resultados da análise de difratometria de laser estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Média dos diâmetros obtidos por difratometria a laser para as formulações Protsol1 e Protsol2 em comparação com as formulações comerciais (L'Oreal e Pasteur).

(μm)	Protsol1	Protsol2	L'Oreal	Pasteur
$D[4,3]_v$	$19,30 \pm 0,400$	$22,26 \pm 0,87$	$2,13 \pm 0,32$	$10,49 \pm 0,02$
$d(0,1)_v$	$8,84 \pm 1,38$	$8,81 \pm 1,20$	$0,09 \pm 0,00$	$3,35 \pm 0,04$
$d(0,5)_v$	$16,99 \pm 1,94$	$19,03 \pm 0,52$	$0,24 \pm 0,00$	$7,74 \pm 0,04$
$d(0,9)_v$	$33,20 \pm 2,03$	$41,01 \pm 4,54$	$6,03 \pm 0,00$	$22,20 \pm 0,02$
$D[4,3]_n$	$19,61 \pm 2,23$	$19,30 \pm 0,50$	$0,22 \pm 0,00$	$10,20 \pm 0,04$
$d(0,1)_n$	$1,33 \pm 0,04$	$5,30 \pm 0,10$	$0,04 \pm 0,03$	$1,67 \pm 0,00$
$d(0,5)_n$	$1,81 \pm 0,06$	$8,45 \pm 0,50$	$0,07 \pm 0,00$	$2,80 \pm 0,00$
$d(0,9)_n$	$8,62 \pm 0,90$	$15,31 \pm 0,43$	$0,13 \pm 0,00$	$5,35 \pm 0,04$

Onde: **v**: porcentagem de distribuição de diâmetros por volume e **n**: porcentagem de distribuição de diâmetros por número e os valores são dados em μm .

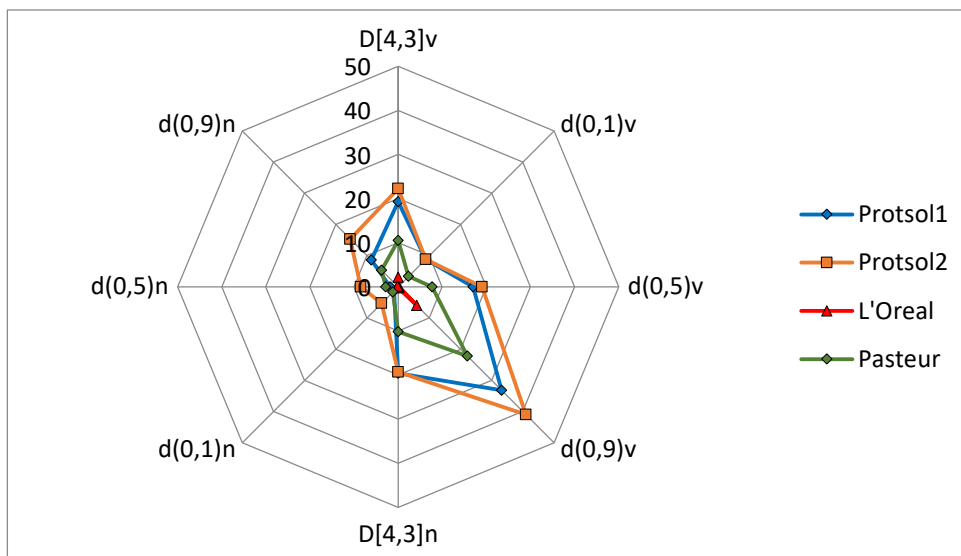


Figura 13. Gráfico de radar das formulações em μm , onde: $D[4,3]_v$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d[0,1]_v$ corresponde a 10%, $d[0,5]_v$ correspondentes a 50% e $d[0,9]_v$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição de volume. E $D[4,3]_n$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d[0,1]_n$ corresponde a 10%, $d[0,5]_n$ correspondentes a 50% e $d[0,9]_n$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição por número de partícula.

Conforme pode ser observado no gráfico radar (Figura 13) quanto menores e mais homogêneos forem os diâmetros da formulação mais próxima ela ficará do eixo central do gráfico, desta maneira podemos visualizar, que as formulações comerciais analisadas apresentaram perfis de diâmetros menores do que as formulações desenvolvidas. Isto pode ter relação com o método de produção das formulações onde o tamanho das partículas pode ter sido reduzido pelo tempo e intensidade de agitação e por altas forças de cisalhamento fornecidas por moinhos coloidais ou homogeneizadores [72].

Tamanhos de partículas menores podem garantir uma maior estabilidade do sistema visto que haverá menor probabilidade de coalescência entre as partículas [124]. Contudo, uma distribuição uniforme do tamanho das partículas também pode influenciar na estabilidade, fato que pode ter contribuído com a estabilidade das formulações desenvolvidas no presente trabalho. Conforme pode ser verificado nas Figuras 14, 15, 16 e 17 os resultados evidenciam que as formulações Protsol1, Protsol2 apresentam perfis mais estreitos e homogêneos do que aqueles apresentados pelos produtos comerciais. De fato, alguns autores sugerem que a

uniformidade de tamanho entre as partículas pode ser mais importante do que a redução do tamanho da partícula, pois se o intervalo de tamanho das partículas for bastante estreito, haverá menor probabilidade de coalescência, assim, as emulsões podem apresentar uma melhor estabilidade [72, 118].

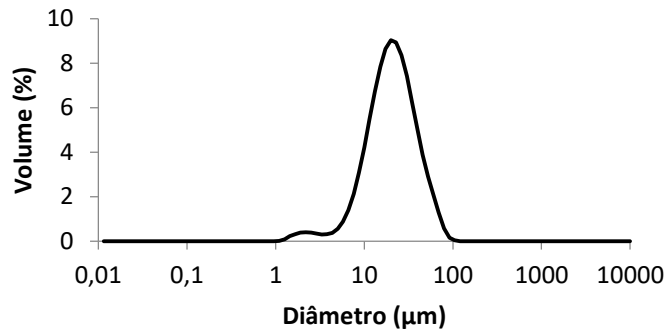


Figura 14. Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Protsol1.

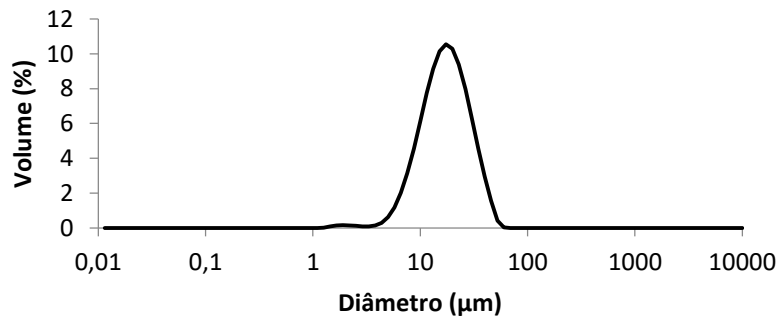


Figura 15. Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Protsol2.

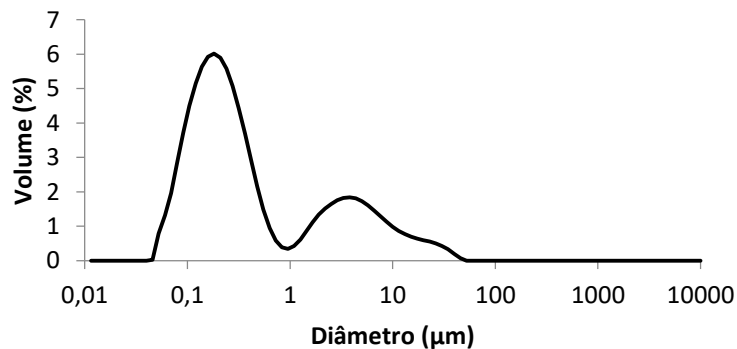


Figura 16. Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação L'Oreal.

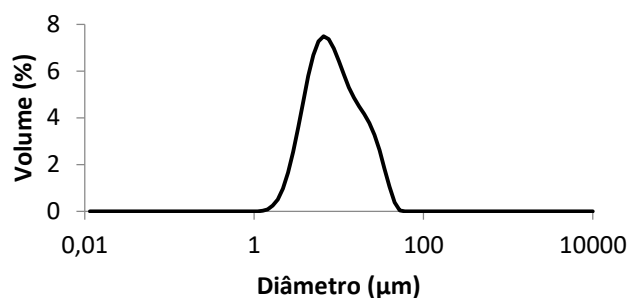


Figura 17. Distribuição do tamanho das partículas por volume para a formulação Pasteur.

Em relação ao estudo de estabilidade das formulações, os resultados obtidos indicam que os diâmetros de partícula correspondentes a 90% da distribuição acumulada (por volume) não apresentaram alterações para ambas as formulações antes (33,20 µm para Protsol1 e 41,01 µm para Protsol2) e após o armazenamento (31,47µm para Protsol1 e 39,46µm para Protsol2). Além disso, valores de $d_{4,3}$, que representam o diâmetro médio em volume e número, também foram similares para as duas formulações antes e depois do estudo de estabilidade (19,30 e 19,83 para Protsol1 e 22,26 e 20,75 para Protsol2). A Figura 18 apresenta as curvas de distribuição de tamanho da gotícula por volume antes e depois de transcorridos 90 dias de avaliação de estabilidade das formulações Protsol1 e Protsol2.

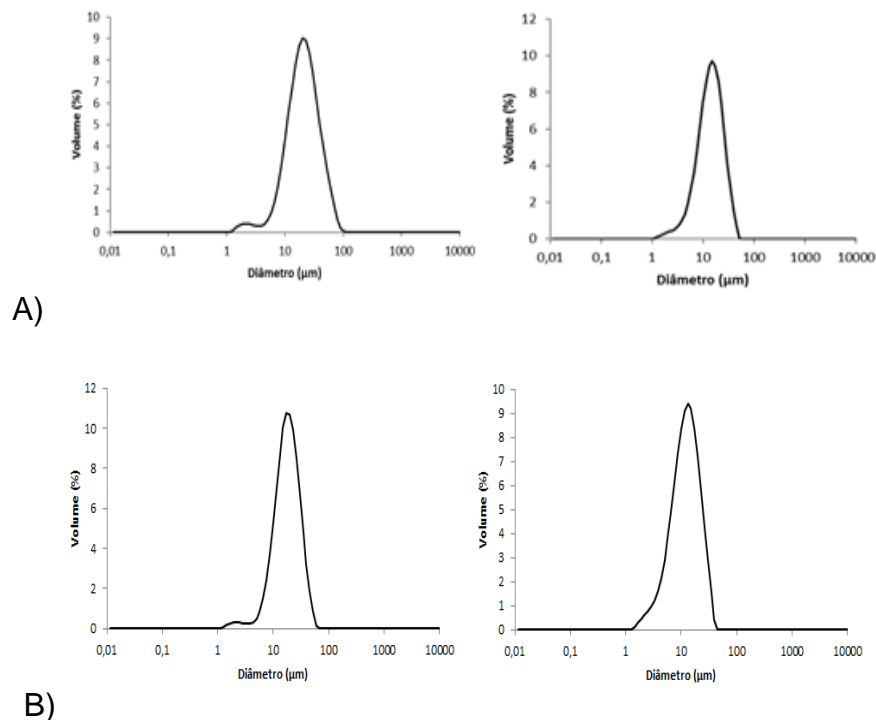


Figura 18. Perfil de distribuição de tamanho da gotícula por volume nos tempos 0 e 90 dias da análise de estabilidade das formulações Protsol1 (A) e Protsol2 (B) respectivamente.

As formulações fotoprotetoras, desenvolvidas anteriormente (Protsol1 e Protsol2) foram avaliadas quanto as suas características organolépticas. Essa avaliação é relevante uma vez que o aspecto de um cosmético pode resultar na sua rejeição por parte do consumidor. Nessa avaliação a formulação Protsol1 foi selecionada por apresentar um aspecto visual mais agradável. Muitas vezes formulações com colorações amareladas transmitem uma imagem de produto desestabilizado ou “vencido”, apresentando um maior índice de rejeição do que aqueles com coloração branca. A formulação Protsol2 apesar de possuir filtros solares teoricamente mais fotoestáveis que a Protsol1 apresentou coloração amarelada, ocasionada pelo filtro solar Uvinul A plus, como mostrado na Figura 19. Conseqüentemente, não foi bem aceita pelos pesquisadores do LAFERGS, que selecionaram a formulação Protsol1 como mais adequada. Desta forma, Protsol1 foi selecionada para a incorporação do repelente de insetos IR3535, um dos objetivos do presente capítulo da dissertação.

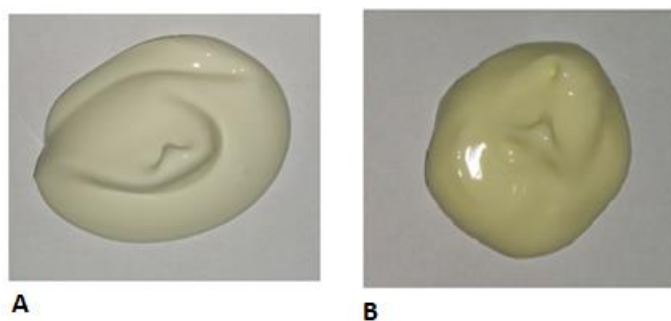


Figura 19. Imagens fotográficas das formulações desenvolvidas: A) Formulação Protsol1; B) Formulação Protsol2.

Foi desenvolvida uma emulsão fotoprotetora, com FPS 30 estimado, contendo o repelente de insetos IR3535 (designada por Protsol1+IR3535). O IR3535 (ethyl butylacetylaminopropionate) é um repelente sintético ativo contra mosquitos, moscas, carrapatos, piolhos, vespas e abelhas com eficácia comprovada [125, 126]. Dessa forma, a formulação contendo esse agente teve por objetivo agregar repelência contra insetos ao fotoprotetor desenvolvido (Protsol1). Adicionalmente, visou-se também avaliar a estabilidade, a influência do repelente na capacidade fotoprotetora de Protsol1, assim como sobre o seu, potencial irritativo. Nesta formulação foram empregados os mesmos filtros solares e emulsionantes da formulação Protsol1, porém, foi necessário aumentar as concentrações dos emulsionantes para garantir a estabilidade, visto que o IR3535 é um líquido. A formulação com as alterações encontra-se na Tabela 14.

Tabela 14. Formulação fotoprotetora com repelência de insetos (Protsol1+IR3535).

Componente/ Formulação	Peso (g)
Glicerina	1
Goma xantana	0,4
Hidróxido de sódio	0,2
EDTA	0,1
Pemulen TR1	0,3
Nipazol	0,1
Água	qsp 100 g
Alcool cetoestearílico 30/70	2,8
Alcool etoxilado 20OE	1
Ampisol K	2,5
BHT	0,05
Nipagim	0,2
Lexfel 7	3
Lexfel natural	3
Óleo de arroz	0,5
Avobenzona	4
Metil-canfor	4
Etilmetoxinamato	4
Octocrileno	5
IR3535	5
Dióxido de titânio	1
TINOSORB M	2
Phenova(ACNIBIO AP)	0,15
DC245	1
DC9040	0,5
Dry-flopure	1
Fragrância	0,2

No estudo de estabilidade (90 dias em 3 condições experimentais: temperatura ambiente, temperatura de $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e temperatura de $-5 \pm 2^{\circ}\text{C}$) não se observou mudanças visuais na formulação avaliada (Protsol1+IR3535). Mesmo após os 90 dias não se observou a presença de grumos ou separação de fases. Quanto à coloração, odor e pH, também não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial. Demonstrando que a formulação permaneceu estável após a incorporação do repelente de insetos IR3535 e que os ajustes realizados foram eficazes na garantia da estabilidade.

A formulação (Protsol1+IR3535) manteve o comportamento pseudoplástico ao longo de todo estudo de estabilidade, sendo melhor descrito pelo modelo *Ostwald*, apresentando o mesmo perfil reológico da formulação Protsol1 como mostrado na Tabela 15.

Tabela 15. Coeficientes de regressão encontrados para a formulação Protsol1 em comparação com a formulação Protsol1+IR3535 de acordo com os modelos testados.

Formulação	Bingham	Casson	Herchel-Bulkley	Ostwald
Protsol1	0,98 ± 0,3	0,99 ± 0,4	0,99 ± 0,9	0,99 ± 0,1
Protsol1+IR3535	0,98 ± 0,3	0,99 ± 0,4	0,98 ± 0,8	0,99 ± 0,1

Os diâmetros das gotículas também foram avaliados antes e após o estudo de estabilidade. Observou-se que a introdução do IR3535 ocasionou aumento no diâmetro médio das gotículas ($D[4,3]$) da emulsão que era de $19,3 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (Protsol1) e passou para $D[4,3] = 31,8 \pm 2,0 \mu\text{m}$ (Protsol1+IR3535). A Figura 20 mostra a comparação dos diâmetros obtidos para as duas formulações.

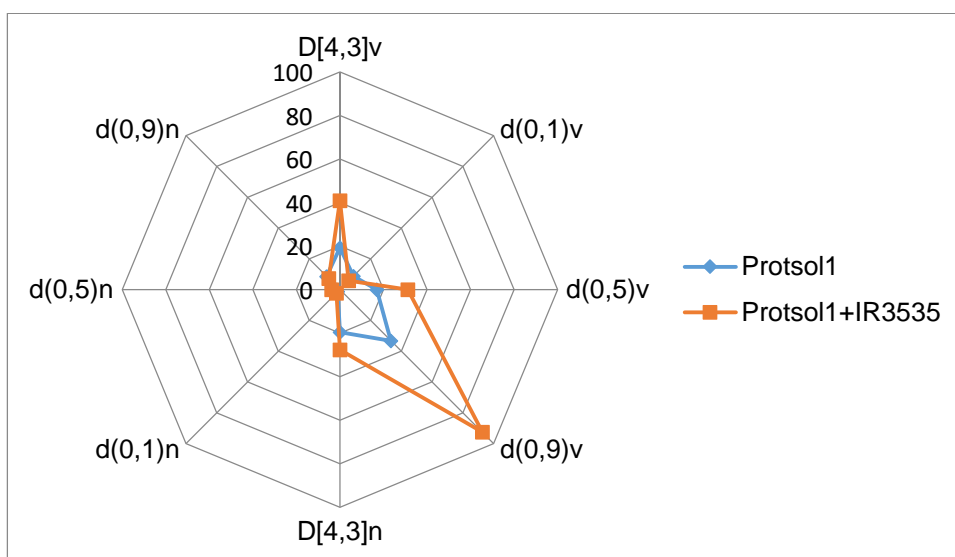


Figura 20. Gráfico radar das formulações em μm , onde: $D[4,3]v$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d(0,1)v$ corresponde a 10%, $d(0,5)v$ correspondentes a 50% e $d(0,9)v$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição de volume. E $D[4,3]n$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d(0,1)n$ corresponde a 10%, $d(0,5)n$ correspondentes a 50% e $d(0,9)n$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição por número de partícula.

7.3 Avaliação da capacidade fotoprotetora

O presente trabalho visou ao desenvolvimento de formulações com capacidades fotoprotetoras similares aos produtos já disponíveis no mercado que apresentam um FPS 30. Para tanto, a elaboração da composição quali-quantitativa de cada formulação foi planejada para garantir uma adequada estabilidade do sistema, bem como uma adequada eficácia. No resultado inicial da caracterização desses fotoprotetores as formulações Protsol1 e Protsol2 se destacaram quanto a sua estabilidade, ficando ainda necessária a análise dos seus desempenhos frente à radiação UVA/UVB.

Uma forma de avaliar *in vitro* a efetividade de fotoprotetores consiste na avaliação da sua capacidade fotoprotetora sobre uma substância fotoinstável em função do tempo (Hommos, 2008). Dessa forma foram avaliadas as formulações Protsol1 e Protsol2 em comparação com as formulações comerciais obtidas de duas diferentes indústrias: L'Oreal e Instituto Pasteur. Observou-se que durante as 6 horas (360 minutos) de estudo todas as formulações foram capazes de proteger igualmente a solução de resveratrol da sua degradação como mostrado na Figura 21. Este resultado demonstra que, embora apresentem composições diferentes, as formulações apresentaram um desempenho adequado quanto às suas capacidades de fotoproteção da degradação do resveratrol.

É importante ressaltar que, embora a formulação Protsol1 contenha avobenzona, um filtro solar UVA fotoinstável [127, 128], esta apresentou um desempenho estatisticamente igual às demais. Esse resultado era esperado, uma vez que essa formulação teve sua composição elaborada buscando uma maior estabilização desse componente. Para isso os filtros metil-benzilideno canfor e octocrileno, foram incluídos na formulação, com o intuito de atuarem como agentes de estabilização da avobenzona, sendo esses eficazes em impedirem a sua fotodegradação. A ação conjunta dos filtros já havia sido relatada em estudo sobre a fotoinstabilidade da avobenzona (2012), no qual foram avaliadas formulações contendo apenas a avobenzona e em outras empregando a sua combinação com 6 diferentes filtros, entre os quais estavam: etilmetoxinamato, metilene bis-benzotriazolil e octocrileno; os mesmos filtros utilizados na formulação Protsol1. As formulações

foram comparadas antes e após sua exposição em um simulador de radiação solar por um período de 2 horas. Os resultados demonstraram que a combinação dos filtros foi eficaz na estabilização da avobenzona [129], dados esses que corroboram o resultado obtido no presente estudo.

Ainda é possível destacar que ambas as formulações (Protsol1 e Protsol2) possuem óleo de farelo de arroz na sua composição. Esse componente também tem a capacidade de contribuir na fotoproteção observada, visto que muitos autores ressaltam o seu elevado efeito antioxidante [130]. Muitos autores sugerem a importância de agregar antioxidantes nas formulações fotoprotetoras [129], para prevenir oxidação das matérias-primas [72] e também para retardar os efeitos dos radicais livres ocasionados pela exposição a luz UV formados na pele que são responsáveis pelo fotoenvelhecimento e pelo câncer [131].

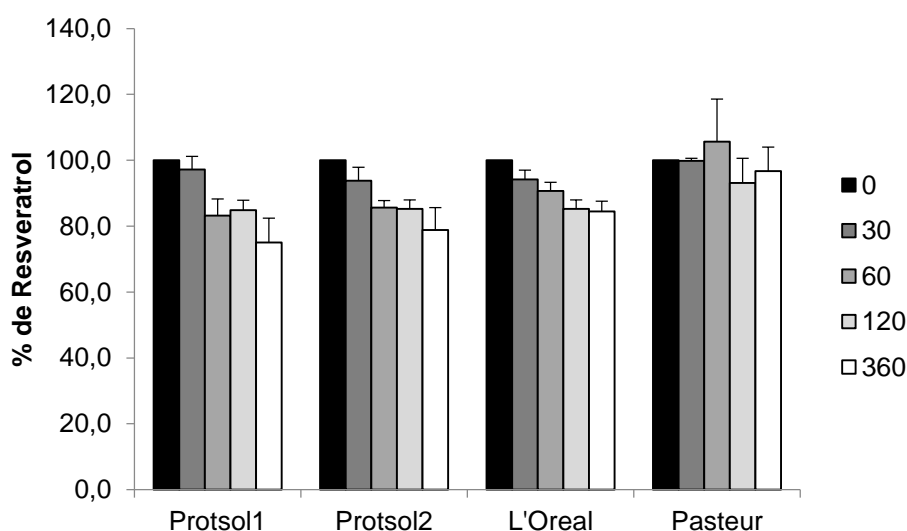


Figura 21. Comparação da degradação do resveratrol, nos diferentes tempos do estudo (tempos em minutos na legenda) quando protegido pelas formulações fotoprotetoras desenvolvidas (Protsol1 e Protsol2) *versus* as formulações comerciais (L'Oreal e Pasteur).

A capacidade fotoprotetora da formulação (Protsol1+IR3535) foi avaliada para verificar se a presença de IR3535 poderia ou não interferir na eficácia final do produto. A partir do resultado apresentado na Figura 22 é possível observar perfis de degradação do resveratrol similares para as 2 formulações. Ao analisar as formulações tempo-a-tempo de forma comparativa, não se observaram diferenças significativas entre seus valores. Esse resultado indica que a introdução do IR3535 não interferiu positivamente ou negativamente na eficácia do produto para proteção

contra radiação. Dessa forma, o produto manteve sua capacidade fotoprotetora, sendo acrescido possivelmente de uma nova funcionalidade, a repelência de insetos.

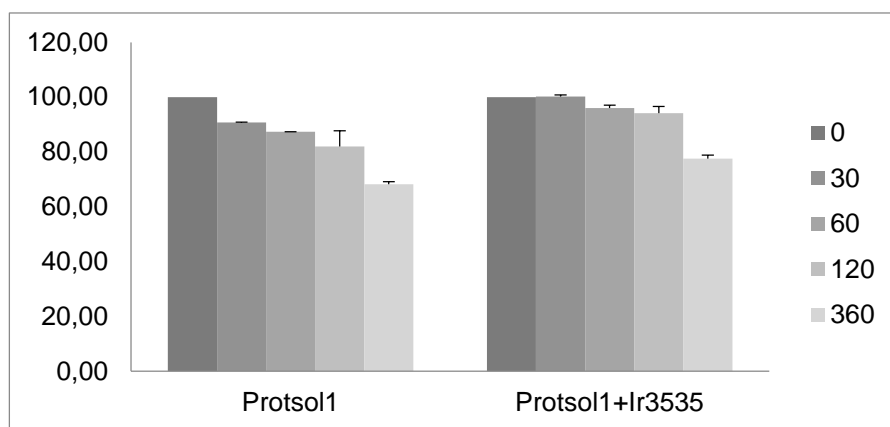


Figura 22. Comparação da capacidade fotoprotetora das formulações Protsol1 *versus* Protsol1+IR3535 frente a proteção da degradação do resveratrol.

7.4 Avaliação do potencial irritativo por meio de teste em membrana corioalantóide (Het-cam)

O ensaio realizado com as formulações (Protsol1 e Protsol2, Pasteur, L'Oreal e Protsol1+IR3535) evidenciou resultados similares. O fenômeno de vasoconstrição foi observado na análise de todas as amostras, sendo que esse fenômeno ocorreu em média depois de 135 segundos de exposição da membrana à formulação, já para o ensaio realizado com o padrão positivo esse tempo foi de 30 segundos. A Figura 23 ilustra os fenômenos observados nos controles positivos. Segundo a classificação preconizada na literatura e de acordo com os dados obtidos verificou-se que todas as formulações foram classificadas como irritantes leves conforme apresentado na Tabela 13.

Este resultado foi semelhante ao já encontrado por outros autores para formulações fotoprotetoras como apresentado por Mansur e colaboradores em 2001 e por Santos e colaboradores em 2005 que obtiveram valores médios de graduação de 1,92 e 1,93 respectivamente para formulação fotoprotetora [132, 133]. Essa irritação leve encontrada pode ter relação com a quantidade elevada de tensoativos presentes neste tipo de formulação, a qual pode acarretar o aparecimento do fenômeno de vasoconstrição. Sabe-se que os tensoativos têm a capacidade de induzir

a emulsificação de fosfolipídios, podendo ocasionar danos celulares que resultem na liberação de mediadores inflamatórios [134]. Como a membrana alantoide responde a uma lesão com um processo inflamatório semelhante ao que se observa no tecido conjuntival do olho de coelho, a sua vascularização bem desenvolvida fornece um modelo ideal de estudos para a irritação. Dessa forma, torna-se um ensaio relevante para as presentes formulações cuja indicação de uso é também para o rosto [135].

A formulação contendo repelente de insetos IR3535 (Protsol1+IR3535) também apresentou índice médio de irritação leve (4,3), ocasionado pelo aparecimento de vasoconstrição após 40 segundos de contato da formulação com a membrana. Este tempo foi muito similar ao apresentado pelas formulações fotoprotetoras. O que demonstra que esta formulação pode ser adequada e que o acréscimo do repelente IR3535 não ocasionou aumento no índice de irritação desta formulação, como mostrado na Tabela 16.

Tabela 16. Classificação do teste de irritação Het-cam com base nos efeitos irritantes de acordo com a pontuação obtida.

Formulação	Pontuação	Classificação
Protsol1	4,3 ± 2,4	Irritante fraco
Protsol2	4,5 ± 1,0	Irritante fraco
Pasteur	4,3 ± 2,4	Irritante fraco
L´Oreal	2,8 ± 1,3	Irritante fraco
Protsol1+IR3535	4,3 ± 1,3	Irritante fraco

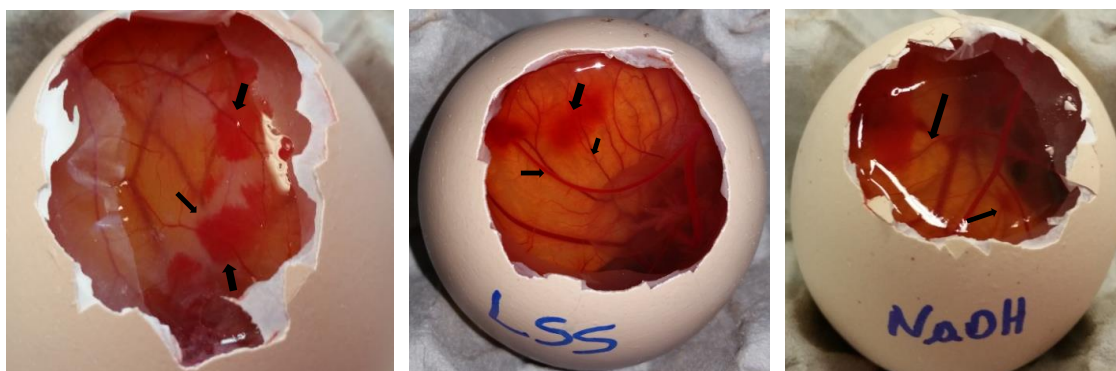


Figura 23: Controles positivos: Coagulação, vasoconstrição, hemorragia.

8. Conclusões

As formulações fotoprotetoras desenvolvidas (Protsol1 e Protsol2) apresentaram-se estáveis nas três condições experimentais avaliadas, sem a presença de grumos ou separação de fases. Ambas apresentaram aspecto visual adequado. Quanto à coloração, odor e pH, também não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial.

Quanto as características reológicas as formulações (Protsol1 e Protsol2), apresentam comportamento pseudoplástico, de consistência e de fluxo similar ao das amostras comerciais analisadas.

Através da análise de diâmetro verificou-se que as emulsões fotoprotetoras desenvolvidas apresentaram perfis de diâmetros maiores do que as formulações comerciais, porém, mais estreitos e homogêneos. Isto pode ter contribuído para boa estabilidade das emulsões desenvolvidas, visto que os diâmetros não apresentaram alterações para ambas as formulações antes e após os estudos de estabilidade.

Quanto a capacidade de fotoproteção frente a degradação do resveratrol as formulações analisadas foram capazes de proteger igualmente a solução de resveratrol da sua degradação. Este resultado demonstra que, embora possuam composições diferentes, as formulações apresentaram um desempenho adequado quanto às suas capacidades de fotoproteção do resveratrol. Além disso, os resultados demonstraram de forma indireta que a combinação dos filtros, das emulsões fotoprotetoras desenvolvidas, foi eficaz na estabilização da avobenzona.

Quanto ao potencial irritativo as formulações apresentaram irritação leve, resultados similares ao encontrados para as formulações comerciais e corroborando com dados da literatura.

Foi desenvolvida ainda uma formulação contendo repelente de insetos IR3535, denominada Protsol1+IR3535, a qual apresentou-se estável durante o tempo de estudo e com o mesmo perfil reológico das outras formulações desenvolvidas. Os diâmetros das gotículas também foram avaliados antes e após a estabilidade das formulações. Observou-se que a introdução do IR3535 ocasionou aumento no

diâmetro médio das gotículas, o que pode ocasionar aumento da sensação de oleosidade da formulação.

O ensaio da capacidade fotoprotetora da formulação (Protsol1+IR3535) mostrou que a introdução do repelente IR3535 não interferiu na eficácia do produto para proteção contra radiação. Dessa forma, o produto manteve sua capacidade fotoprotetora sendo acrescido possivelmente de uma nova funcionalidade, a repelência de insetos.

A formulação contendo repelente de insetos IR3535 (Protsol1+IR3535) também apresentou índice médio de irritação leve o que demonstra que esta formulação pode ser adequada e que o acréscimo do repelente IR3535 não ocasionou aumento no índice de irritação desta formulação.

Portanto, a avaliação do conjunto dos resultados obtidos demonstra que as formulações desenvolvidas possuem características reológicas e de consistência adequadas, boa capacidade fotoprotetora e perfil de irritação leve, mostrando serem formulações promissoras para dar seguimento aos testes in vivo necessários para a comprovação do FPS e da repelência de insetos, mostrados no anexo 3 desta dissertação, para prosseguir com a transferência da tecnologia para posterior escalonamento industrial e ensaios clínicos visando o seu registro na Anvisa pelo LAFERGS.

Capítulo 2: Desenvolvimento, caracterização de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina e incorporação das nanocápsulas na formulação fotoprotetora selecionada.

9. Introdução

Novas tecnologias vêm sendo propostas para melhorar o desempenho dos produtos cosméticos e sua aceitação pelo consumidor. Muitos ativos cosméticos são compostos instáveis, podendo sofrer reações que levam à diminuição ou perda de eficácia ou até mesmo à degradação do produto. Por isso uma alternativa para aumentar a estabilidade e, ainda, permitir a liberação controlada é o encapsulamento das substâncias ativas através de técnicas que envolvem a nanotecnologia. A nanoencapsulação consiste na compartimentalização de substâncias em carreadores, cujo tamanho situa-se na faixa nanométrica, tipicamente entre 50 e 300 nm [136].

Os princípios da nanotecnologia foram introduzidos na área cosmética há alguns anos. No período entre 1994 e 2005, a L'Oreal foi classificada como a quinta empresa no mundo com base no número de patentes relacionadas à nanotecnologia depositadas [137]. Outras grandes empresas já utilizam a técnica de nanoencapsulamento em seus produtos, como, por exemplo, Lancôme, Givenchy e Dior [138]. No Brasil, por exemplo, a empresa O Boticário apresenta uma linha de tratamento antienvhecimento composta por diferentes produtos utilizando a nanotecnologia.

A nanotecnologia pode ser empregada também para aumentar a ação dos repelentes de insetos pois, estes geralmente são substâncias muito voláteis e por isso perdem a ação rapidamente. Uma forma de contornar essa situação é introduzir o produto em nanocápsulas para controlar a sua liberação e, assim, ter uma maior durabilidade e também para que não estejam tão expostos a fatores que possam diminuir o seu desempenho [139]. A nanoencapsulação aumenta também a resistência à água e reduz a absorção do repelente pela pele, isso é muito importante, visto que alguns autores mostram a permeação transdérmica de repelentes de inseto [140].

Há vários anos, pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de encontrar o repelente ideal, que possua características como, tempo prolongado de ação, eficácia frente a diversas espécies de artrópodes, volatilidade suficiente para manter a concentração no ar próximo à pele, não permitindo que a substância se dissipe em pouco tempo, possuir odor agradável e/ou ser inodoro, não causar danos às roupas e

não ser irritante a pele, mucosas e não apresentar toxicidade sistêmica [141]. Até o momento, no entanto, esse objetivo não foi alcançado. Diante disso, estudos que visam melhorar as características dos repelentes, como segurança e eficácia, são assuntos de grande interesse para a sociedade científica.

Deste modo, as nanopartículas poliméricas podem ser uma estratégia por serem capazes de modificar a atividade do repelente, além de retardar e controlar sua liberação. Os nanocarreadores rígidos, como as nanocápsulas de núcleo lipídico, geralmente, retêm os ativos nas camadas superiores da pele, limitando a sua permeação até as camadas mais profundas, o que os torna particularmente importantes para os filtros solares orgânicos e outros ativos em que os riscos de absorção sistêmica devem ser fortemente evitados [142] como os repelentes.

Dois trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa foram focados na nanoencapsulação de repelentes de inseto, porém visando uma aplicação diferente, a impregnação das nanocápsulas em tecidos e superfícies. Assumpção (2010) desenvolveu nanopartículas lipídicas contendo permetrina e um óleo com ação repelente (citronela) e estudou sua impregnação em diferentes tecidos, avaliando o tempo de liberação e permanência do ativo nos tecidos após várias lavagens [143]. Os resultados demonstraram que os nanocarreadores lipídicos contendo repelente de insetos foram impregnados com sucesso em diferentes tecidos e apresentaram um excelente poder de permanência após várias lavagens, demonstrando possuir potencial como uma nova estratégia para ação de repelente de insetos. Mais recentemente, Forgearini e colaboradores (2016) desenvolveram nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina para obtenção de um repelente de insetos para roupas [97]. Os resultados mostraram que as nanocápsulas apresentaram boa adesão aos tecidos, principalmente ao algodão, sendo uma estratégia bastante promissora para a proteção individual contra insetos.

Com base no exposto, este segundo Capítulo da presente dissertação visa estudar a incorporação de permetrina nanoencapsulada na formulação fotoprotetora desenvolvida e estudar parâmetros como propriedades físico-químicas da formulação, capacidade fotoprotetora, perfil de permeação cutânea da permetrina em pele suína e de segurança (mediante a avaliação do potencial irritativo em modelo de ovos embrionados).

Os produtos repelentes são muito voláteis e por isso perdem a ação rapidamente. Uma forma de contornar essa situação é introduzir o produto em nanocápsulas para controlar a sua liberação e assim ter uma maior durabilidade e também para que não estejam tão expostos a fatores que possam diminuir o seu desempenho [140, 144]. Este método tem grandes vantagens no que diz respeito à capacidade de retenção da substância por um período mais longo de tempo, controlando a sua liberação [140, 144]. Este mecanismo aumenta também a resistência à água e reduz a absorção do repelente pela pele; isso é muito importante, visto que alguns estudos mostram a absorção dos produtos repelentes pela pele [145].

Em nosso grupo de pesquisa foram desenvolvidas nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina para impregnação em tecidos [97]. Os repelentes de piretróides, tais como permetrina possuem baixa toxicidade em seres humanos e amplo espectro de ação, garantindo proteção contra mais de sessenta doenças causadas por vetores [146]. A permetrina é uma substância utilizada em seres humanos, em animais e na agricultura para controlar mosquitos, carrapatos, formigas, atuando como um inseticida e, como repelente [146].

Com relação aos ativos nanoencapsulados, estes tendem a apresentar maior grau de penetração quando os seus nanocarreadores apresentam maior capacidade de interação com os lipídios do estrato córneo, tais como as nanopartículas lipídicas sólidas e os lipossomas [144]. Por outro lado, os nanocarreadores rígidos, como as nanocápsulas de núcleo lipídico, geralmente, retêm os ativos nas camadas superiores da pele, limitando a sua permeação até as camadas mais profundas, o que os torna particularmente importantes para os filtros solares orgânicos e outros ativos em que os riscos de absorção sistêmica devem ser fortemente evitados [58], como os repelentes de insetos.

Os efeitos reservatórios e de barreira possibilitam a administração de substâncias de maneira direcionada, com localização planejada e com modulação de entrega nas camadas precisas da pele. Tanto a liberação imediata como a liberação sustentada de ativos vem sendo estudadas para aplicação cutânea dos sistemas nanoestruturados, sendo ambas as características bastante interessantes [144, 147].

Deste modo, as nanopartículas poliméricas são capazes de modificar a atividade do fármaco, além de retardar e controlar sua liberação. Podem ainda, ser

úteis como reservatórios de fármacos lipofílicos, se tornando uma estratégia para a permeação na pele e podem também aumentar a adesividade do fármaco e seu tempo de permanência na pele, diminuindo a absorção sistêmica quando desejável [144].

10. Objetivos

10.1 Objetivo Geral

Estudar a incorporação de nanocápsulas poliméricas de repelente de insetos na formulação fotoprotetora selecionada.

10.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver e caracterizar nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina;
- Avaliar a incorporação das nanocápsulas poliméricas na formulação selecionada;
- Avaliar por meio de teste *in vitro* a capacidade fotoprotetora das formulações;
- Avaliar o perfil de permeação cutânea da permetrina em pele suína;
- Avaliar o perfil de segurança (mediante a avaliação do potencial irritativo em modelo de ovos embrionados).

11. Metodologias

11.1 Matérias-primas e Equipamentos

11.1.2 Matérias-primas

- Eudragit RS100 (Sigma);
- IR3535 (ethyl butylacetylaminopropionate) (Fagron);
- Monoestearato de sorbitano (Sigma);
- Permetrina (Delaware);
- Poli(ϵ -caprolactona) (Sigma);
- Polissorbato 80 (Henrifarma);
- Triglicérideo de ácido cáprico e caprílico (Brasquim).

11.1.3 Reagentes e solventes

- Acetona (Nuclear);
- Etanol (Nuclear);
- Metanol (Merck).

11.1.4 Equipamentos

- CLAE- Perkin Elmer, São Paulo - SP, Brasil
- Coluna LiCrospher®100 RP-18 (250 mm X 4,0 mm x 5 μ m) – Merck
- Célula de difusão vertical de Franz modificadas (modelo MicroettePlus/ Hanson Research)

11.2 Métodos

11.2.1 Preparação das suspensões de nanocápsulas poliméricas contendo permetrina

As nanocápsulas poliméricas de permetrina foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado [148]. Para produção das nanocápsulas de núcleo lipídico, a fase orgânica foi composta por 1000 mg de poli(ϵ -caprolactona), 766 mg de monoestearato de sorbitano, 1,6 mL de triglicerídeo de ácido capríco e caprílico, 500 mg de permetrina e 270 mL de acetona. Essa foi então injetada na fase aquosa composta por 766 mg de polissorbato 80 e 530 mL de água ultrapura, sob agitação. Para as nanocápsulas de polímero acrílico, a fase orgânica foi composta por 1000 mg de Eudragit RS100, 1,6 mL de triglicerídeo de ácido capríco e caprílico, 500 mg de permetrina e 270 mL de acetona. Essa fase foi então injetada na fase aquosa composta por 766 mg de polissorbato 80 e 530 mL de água ultrapura, sob agitação. Após a formação das nanocápsulas ambas as suspensões foram mantidas sob agitação moderada durante 10 min e, então, a acetona e parte excedente da água foram eliminadas em rotaevaporador para ajuste final da concentração de permetrina (5 mg/mL) em 100 mL de suspensão.

11.2.2 Determinação do diâmetro de partícula e índice polidispersão

As determinações do diâmetro de partícula e do índice de polidispersão das nanocápsulas em suspensão foram realizadas por meio de espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer®, Nano-ZS, Modelo ZEN 3600, Malvern, Inglaterra). As amostras foram diluídas 500 vezes (v:v) em água ultra pura previamente filtrada através de membrana 0,45 μm à temperatura ambiente e os resultados foram determinados através de média de três repetições.

11.2.3 Potencial zeta

O potencial zeta das suspensões de nanocápsulas foi obtido através da metodologia de mobilidade eletroforética (Zetasizer®, Nano-ZS, Modelo ZEN 3600, Malvern, Inglaterra). Essa determinação foi realizada após diluição de 500 vezes (v:v) das suspensões de nanocápsulas em solução de NaCl 10 mM previamente filtrada

através de membrana 0,45 µm. Os resultados foram obtidos através da média de três repetições.

11.2.4 Determinação do pH das nanocápsulas

A determinação do pH foi realizada em potenciômetro calibrado com solução tampão pH 4,0 e 7,0, diretamente nas suspensões colidais, após a preparação. Os resultados representam a média de três determinações providas de 3 lotes diferentes.

11.2.5 Preparação das formas farmacêuticas semissólidas para posterior incorporação das nanocápsulas

Os componentes da fase A foram transferidos para um béquer (250 mL) e levados a aquecimento até fusão completa de todos os componentes. Em outro béquer pesou-se os componentes da fase B e colocou-se em aquecimento com agitação até completa homogeneização dos componentes, à temperatura de 65 °C. Verteu-se a fase A sobre a fase B sob constante agitação, mantendo-se a temperatura em 65 °C, por aproximadamente 5 minutos. Transcorrido este período (emulsificação) adicionou-se a fase C à mistura, sempre com agitação. Esperou-se atingir a temperatura de aproximadamente 35 °C e adicionou-se as fases D, E, F e G, nesta sequência, com 5 minutos de agitação entre a adição de cada uma. Esperou-se o resfriamento da formulação até temperatura ambiente e acondicionou-se na embalagem apropriada. A composição das formulações está descrita na Tabela 17.

Tabela 17. Composição das formulações (Protsol1+NanoRS e Protsol1+NanoPCL) e suas respectivas concentrações.

Fase	Componente	(%)	
		Protsol1+NanoRS	Protsol1+NanoPCL
A	Glicerina	1,00	1,00
	Goma xantana	0,30	0,30
	Hidróxido de sódio	0,20	0,20
	EDTA	0,10	0,10
	Pemulen TR1	0,30	0,30
	Nipazol	0,10	0,10
	Nanocápsulas		qsp 100
B	Alcool cetosteárico 30/70	1,80	1,80
	Alcool etoxilado 20OE	0,50	0,50
	Ampisol K	2,00	2,00
	BHT	0,05	0,05
	Nipagim	0,20	0,20
	Lexfel 7	3,00	3,00
	Lexfel natural	3,00	3,00
	Óleo de arroz	0,50	0,50
	Avobenzona	4,00	4,00
	Metil-canfor	4,00	3,00
	Etilmetoxinamato	4,00	4,00
	Octocrileno	5,00	5,00
C	TCM	1,00	1,00
	Dióxido de titânio	1,00	1,00
D	Tinosorb M	1,00	1,00
E	Phenova(ACNIBIO AP)	0,15	0,15
F	DC245	1,00	1,00
	DC9040	0,50	0,50
G	Dry-flopure	1,00	1,00
	Fragrância	0,20	0,20

11.2.5 Avaliação da capacidade fotoprotetora

A avaliação da capacidade fotoprotetora foi determinada através da capacidade que as formulações semissólidas demonstraram para evitar a fotodegradação de uma solução de resveratrol em presença de radiação UVA [110]. Para isso foram utilizadas placas de petri devidamente protegidas da luz, com apenas a parte superior sem proteção. Nessa região sem proteção, 300 mg das formulações foram adicionadas (n=3).

No interior do conjunto das placas de petri foi adicionada a solução de resveratrol (com concentração de 50 µg/mL). Após os tempos de 0,10, 30, 60, 90, 120, 240 e 360 minutos de exposição à radiação UVB, foram retiradas alíquotas de 1 mL da solução de resveratrol para doseamentos por CLAE a partir de metodologia previamente validada em 2012 no nosso grupo de pesquisa [111]. Para isso, utilizou-se fase móvel isocrática de acetonitrila e água (50:50) contendo TBA (50 mg/100 mL) e ácido acético em quantidade suficiente para pH aparente 3,0, e as leituras foram realizadas em 305 nm.

11.2.6 Ensaio de irritação em modelo organotípico- Het-Cam

Este ensaio foi baseado na observação dos efeitos irritantes (hiperemia, hemorragia e coagulação), nos primeiros 5 minutos após a aplicação das emulsões diretamente sobre a membrana. A partir dessa observação foram obtidos os dados que podem ser convertidos em uma escala a qual expressa o grau dos fenômenos observados.

Para a realização de cada ensaio foram utilizados 4 ovos (décimo dia de embriogênese) por produto testado. De cada ovo foi removida a casca ao redor da câmara de ar, evidenciando, assim, a membrana da casca. Esta foi removida cuidadosamente e a membrana cório-alantoide foi exposta. Nessa membrana foram aplicados aproximadamente 300 µL da formulação semissólida. Depois de 20 segundos de contato, a formulação foi removida, e a membrana cório-alantoide lavada com solução fisiológica a 37,0°C. Durante 5 minutos, a membrana cório-alantoide foi avaliada visualmente e as reações fisiológicas observadas foram graduadas em função de seu tempo de aparecimento, conforme indicado na Tabela 18. Este ensaio foi realizado conforme a metodologia descrita no *Journal Officiel de la République Française* (1996). A classificação final dos produtos, de acordo com seu potencial de irritabilidade foi atribuída de acordo com as pontuações descritas na Tabela 19 e resultado do cálculo feito através da Equação 1.

Para determinação visual comparativa dos eventos vasculares foram utilizados dois controles positivos (hidróxido de sódio 0,1 M, padrão para verificação dos

fenômenos de hemorragia e coagulação e laurilsulfato de sódio 1%, padrão para verificação do fenômeno de vasoconstrição). Este teste ainda foi utilizado para análise de protetores solares comerciais para fins de comparação.

Equação 1

$$\text{Potencial irritante} = \left(\left(\frac{301-H}{300} \right) \times 5 \right) + \left(\left(\frac{301-V}{300} \right) \times 7 \right) + \left(\left(\frac{301-C}{300} \right) \times 9 \right)$$

Onde:

H = tempo para hemorragia

V = tempo para vasoconstrição

C = tempo para coagulação

Tabela 18. Pontuação atribuída, em função do tempo de aparecimento, de cada um dos sinais de irritação.

Fenômeno	Tempo (t)		
	t < 30 s	30 ≤ t ≤ 2 min	2 min < t ≤ 5 min
Vasoconstrição	5	3	1
Hemorragia	7	5	3
Coagulação	9	7	5

Tabela 19. Classificação do grau de irritação de acordo com a pontuação atribuída para os sinais de irritação.

Potencial irritante	Classificação quanto ao grau de irritação
0 – 0,9	Não irritante
1 – 4,9	Irritação fraca
5 – 8,9	Irritação moderada
9 – 21	Irritação severa

11.2.7 Ensaio de permeação e retenção cutâneas

11.2.7.1 Preparação das membranas de pele suína

Para esse teste foram utilizadas orelhas suínas as quais não receberam nenhum tratamento prévio. Antes dos experimentos as orelhas foram lavadas em água corrente utilizando-se lauril sulfato de sódio a 2% para limpeza adequada. Logo após a retirada de sujidades foram tirados os pelos e tecido adiposo com o auxílio de bisturi e tesoura. Foram então cortados segmentos circulares de aproximadamente 3 cm de diâmetro e realizada a determinação da espessura individual de cada disco (Mitotoyo No 2046S/ Shockproof). Foram selecionadas as membranas que apresentaram espessuras entre 1-2 mm. Os discos foram embalados individualmente em papel alumínio e congelados à -4°C até o momento da utilização.

11.2.7.2 Estudo de permeação *in vitro*

Os estudos de permeação *in vitro* foram conduzidos em célula de difusão vertical de Franz modificadas (modelo MicroettePlus/ Hanson Research), possuindo um compartimento receptor com capacidade de aproximadamente 7,0 mL e uma área de difusão de 2,0 cm² (Franz, 1975; Venter et al., 2001).

As membranas foram mantidas em contato com uma solução receptora de etanol 70% a temperatura de 37±1°C, sendo o compartimento receptor mantido sob agitação constante com uma barra magnética. A solução receptora foi selecionada através da determinação da concentração de saturação da permetrina em diferentes meios (Tween 80 1%, Tween 80 2%, Etanol 30%, Etanol 20% e Etanol 10%).

As formulações testadas foram: nanocápsulas de permetrina produzidas com o polímero Eudragit RS100 (NanoRS), nanocápsulas de permetrina produzidas com a poli(ε-caprolactona) (NanoPCL), formulação permetrina livre (PermLivre), nanocápsulas de permetrina produzidas com o polímero Eudragit RS100 incorporadas em emulsão fotoprotetora (Fotoprot1+RS), nanocápsulas de permetrina produzidas com a poli(ε-caprolactona) incorporadas em emulsão fotoprotetora (Fotoprot1+PCL) e

formulação contendo permetrina livre incorporadas em emulsão fotoprotetora (Fotoprot1+livre).

As coletas das amostras foram realizadas após um período de contato de 2 horas das formulações com a pele, pois esse é o tempo preconizado pela ANVISA para a reaplicação de emulsões fotoprotetoras. As amostras foram analisadas quanto ao conteúdo de permetrina retido no estrato córneo, na epiderme, na derme e na solução receptora. Todos os doseamentos foram realizados por CLAE em cromatógrafo Perkin Elmer Series 200, utilizando-se detector ultravioleta visível 272 nm, coluna LiChrospher 100 RP-18 (5 µm, 250 x 4 mm), pré-coluna do mesmo material (5 µm) e fase móvel isocrática de metanol e água em uma proporção 90:10 (v/v), fluxo de 0,8 mL por minuto [97]. As determinações foram realizadas utilizando-se 6 repetições para cada formulação avaliada. A taxa de recuperação e a especificidade do método analítico foram previamente determinadas.

11.2.7.3 Técnica de *tape stripping*

Esta técnica foi empregada com o objetivo de retirar o estrato córneo das membranas possibilitando o doseamento da permetrina. Para isso, 18 pedaços de fita adesiva Schoth 3M medindo 25 x 25 mm para extração do estrato córneo foram aplicadas e removidas na área previamente exposta às amostras. As fitas foram acondicionadas em tubos falcon contendo 8 mL de metanol como solvente extrator. Após o término do experimento as fitas foram submetidas ao seguinte processo de extração da permetrina: agitação em vortex durante 8 minutos, sonicação por 120 minutos a 30°C e nova agitação no vortex por 8 minutos. Após o procedimento de extração as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm e submetidas a doseamento por CLAE. A especificidade do método analítico foi previamente determinada. As determinações foram realizadas utilizando-se 6 repetições utilizadas no teste de permeação cutânea.

11.2.7.4 Técnica de retenção cutânea

Após a retirada do estrato córneo, a epiderme foi separada da derme, submergindo o restante do tecido em água ultrapura a 65 °C por 45 segundos. Após este procedimento a epiderme foi retirada com o auxílio de um bisturi e acondicionada em tubo falcon para posterior processo de extração, utilizando-se 4 mL de solvente extrator, metanol.

A derme remanescente foi fragmentada em pequenos pedaços e acondicionada em tubo falcon com 6 mL de metanol. As amostras de epiderme e derme foram submetidas ao processo de extração anteriormente citado. Após o procedimento de extração as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm e submetidas a doseamento por CLAE.

11.2.8 Descarte de resíduos

Todos os resíduos químicos gerados durante a preparação e caracterização de nanocápsulas, foram acondicionados e identificados segundo normas do Plano de Gerenciamento de Resíduos implementado pela Resolução COSAT 01/01, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

11.2.9 Análise estatística

Os dados foram avaliados utilizando a versão GraphPad Prism 5.0 software. Os testes utilizados foram a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, foram consideradas diferenças significativas quando $p < 0,05$.

12. Resultados e discussão

12.1 Preparação e caracterização físico-química das nanocápsulas poliméricas contendo permetrina

As nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado, como descrito anteriormente por Forgearini (2016). Foram preparadas duas suspensões, uma produzida com polímero poli(ϵ -caprolactona), denominada de NanoPCL e outra preparada com polímero Eudragit RS100, denominada de NanoRS. As suspensões apresentaram aspecto branco leitoso com um reflexo azulado, resultado do efeito Tyndal devido ao movimento browniano das partículas em suspensão, sem formação de precipitado ou separação de fases.

Os perfis de distribuição granulométrica (medidas realizadas por volume) utilizando difração de laser apresentaram-se unimodais para as duas formulações, sem a presença de populações micrométricas (Figura 24). Os diâmetros médios por volume (D[4,3]) foram próximos (237 nm para NanoPCL e 137 nm para NanoRS) àqueles observados nos resultados da análise por espalhamento de luz dinâmico (145 nm para NanoRS e 185 nm para NanoPCL). Comparativamente, a formulação NanoRS apresentou diâmetro médio menor do que a formulação NanoPCL. Os resultados de PDI e span indicam perfis de distribuição homogêneos para ambas as formulações (Tabela 20). Os valores de potencial zeta das suspensões foram de $-8,2 \pm 1,5$ mV para NanoPCL e $+11,6 \pm 0,6$ mV para NanoRS. A suspensão NanoRS apresentou um valor de potencial zeta positivo devido ao fato de ser produzida com o Eudragit RS100, um polímero catiônico [149]. Os valores de pH das suspensões foram $5,81 \pm 0,05$ para NanoPCL e $5,58 \pm 0,01$ para NanoRS. Os teores de permetrina foram de $5,17 \pm 0,06$ mg para NanoPCL e $5,01 \pm 0,25$ mg para NanoRS.

Tabela 20. Valores D[4,3] (μm), Z-averange (nm), Span e PDI das formulações NanoPCL e NanoRS contendo permetrina

Formulação	D[4,3] (μm)	Z-averange (nm)	Span	PDI
NanoPCL	$0,223 \pm 0,01$	$185,8 \pm 2,6$	$1,56 \pm 0,04$	$0,094 \pm 0,05$
NanoRS	$0,137 \pm 0,01$	$145,7 \pm 0,8$	$0,94 \pm 0,08$	$0,084 \pm 0,01$

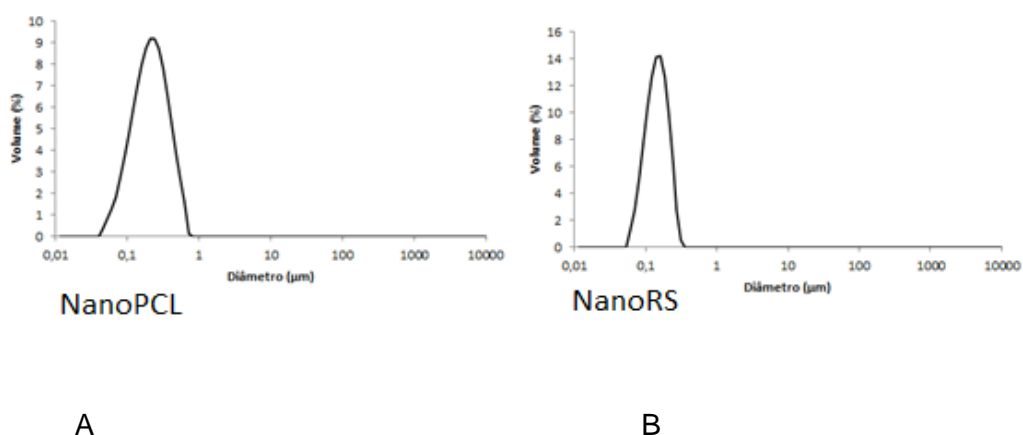


Figura 24. Perfis de distribuição granulométrica das nanocápsulas contendo permetrina: A) NanoPCL e B) NanoRS.

Os resultados do estudo estabilidade após armazenamento de três lotes de cada formulação à temperatura ambiente encontram-se descritos na Tabela 21. Como pode-se observar as formulações NanoPCL e NanoRS não apresentaram diferenças significativas nos valores de teor e pH durante o tempo de estudo. Os valores de diâmetro, PDI e potencial zeta também não apresentaram diferenças significativas o que demonstra que ambas as formulações (NanoPCL e NanoRS) são estáveis, dados confirmados pela ausência de populações micrométricas durante o tempo de estudo.

Tabela 21. Resultados da análise de estabilidade no período de 90 dias para teor, pH, diâmetro, potencial zeta e PDI.

Teor de permetrina (mg)				
Formulação	Tempo zero	30 dias	60 dias	90 dias
NanoPCL	5,38 ± 0,28	5,32 ± 0,17	5,45 ± 0,10	5,13 ± 0,15
NanoRS	5,25 ± 0,16	5,32 ± 0,10	5,26 ± 0,16	4,98 ± 0,14
pH				
NanoPCL	5,58 ± 0,17	5,70 ± 0,04	6,29 ± 0,05	6,33 ± 0,04
NanoRS	5,82 ± 0,05	6,14 ± 0,19	6,43 ± 0,04	6,84 ± 0,02
Diâmetro (nm)				
NanoPCL	188,8 ± 1,1	185,8 ± 2,64	187,1 ± 2,87	189,1 ± 1,89
NanoRS	145,4 ± 2,43	144,5 ± 2,8	150,3 ± 2,3	148,9 ± 2,3
PDI				
NanoPCL	0,163 ± 0,018	0,094 ± 0,05	0,091 ± 0,05	0,094 ± 0,04
NanoRS	0,082 ± 0,022	0,084 ± 0,014	0,089 ± 0,04	0,082 ± 0,12
Potencial Zeta (mV)				
NanoPCL	-10,1 ± 1,9	-10,1 ± 2,1	-8,19 ± 1,48	-8,55 ± 1,86
NanoRS	11,6 ± 0,68	9,68 ± 0,96	9,68 ± 0,864	8,43 ± 0,44

12.2 Caracterização e avaliação da estabilidade das emulsões fotoprotetoras contendo nanocápsulas de permetrina

As formulações fotoprotetoras, desenvolvidas anteriormente (Protsol1 e Protsol2) (Capítulo 1) foram avaliadas quanto as suas características organolépticas. Essa avaliação é relevante uma vez que o aspecto de um cosmético pode resultar na sua rejeição por parte do consumidor. Nessa avaliação a formulação Protsol1 foi selecionada por apresentar um aspecto visual mais agradável. Muitas vezes formulações com colorações amareladas transmitem uma imagem de produto desestabilizado ou “vencido”, apresentando um maior índice de rejeição do que aqueles com coloração branca. A formulação Protsol2 apesar de possuir filtros solares mais fotoestáveis que a Protsol1 apresentou coloração amarelada, ocasionada pelo filtro solar Uvinul A plus. Conseqüentemente, não foi bem aceita pelos pesquisadores do LAFERGS, que selecionaram a formulação Protsol1 como mais adequada. Desta forma, Protsol1 foi selecionada para a incorporação das nanocápsulas de permetrina, um dos objetivos do presente capítulo da dissertação.

No estudo de estabilidade (90 dias em 3 condições experimentais: temperatura ambiente, temperatura de $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e temperatura de $-5 \pm 2^{\circ}\text{C}$) não se observou mudanças visuais nas formulações avaliadas (Protsol1+NanoPCL, Protsol1+NanoRS, Protsol1+Livre). Mesmo após os 90 dias não se observou a presença de grumos ou separação de fases. Quanto à coloração, odor e pH, também não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial.

Os teores de permetrina encontrados, antes e após o estudo da estabilidade, encontram-se na Tabela 22. Nessa análise pode-se observar que o método de extração da permetrina foi eficiente, pois foi possível uma recuperação de aproximadamente 100% da quantidade de permetrina adicionada à emulsão fotoprotetora. Após 90 dias de armazenamento a 25°C , as três formulações estudadas contendo permetrina (Protsol1+PermLivre, Protsol1+NanoPCL e Protsol1+NanoRS) não apresentaram alterações significativas nos teores de permetrina, que se mantiveram estáveis.

Tabela 22. Teor de permetrina nas formulações fotoprotetoras, antes e após o estudo de estabilidade.

Teor de Permetrina Emulsões Fotoprotetoras (mg)				
	Início	30 dias	60 dias	90 dias
Protsol1+NanoPCL	3,11 ± 0,02	3,00 ± 0,09	3,16 ± 0,17	3,11 ± 0,04
Protsol1+NanoRS	3,09 ± 0,10	3,11 ± 0,11	2,94 ± 0,13	2,99 ± 0,15
Protsol1+Livre	3,05 ± 0,07	3,06 ± 0,07	3,08 ± 0,02	3,05 ± 0,06

Parâmetros reológicos são utilizados para avaliar o desenvolvimento físico e estabilidade das formulações uma vez que estudos reológicos podem fornecer informações sobre a estabilidade física durante o tempo de prateleira e desempenho do produto no momento da utilização [150]. Na análise reológica das formulações, os coeficientes de regressão encontrados encontram-se descritos na Tabela 23. Não foram encontradas diferenças significativas nos perfis reológicos das formulações, antes e após a incorporação das nanocápsulas. Essas formulações mantiveram o comportamento pseudoplástico ao longo de todo estudo de estabilidade, sendo melhor descrito pelo modelo *Ostwald*.

Tabela 23. Coeficientes de regressão encontrados para cada formulação de acordo com os modelos testados, após a incorporação das nanocápsulas de permetrina.

Formulação	Bingham	Casson	Herchel-Bulkley	Ostwald
Protsol1	0,98 ± 0,3	0,99 ± 0,4	0,99 ± 0,9	0,99 ± 0,1
Protsol1+NanoPCL	0,98 ± 0,4	0,99 ± 0,2	0,99 ± 0,5	0,99 ± 0,9
Protsol1+NanoRS	0,96 ± 0,2	0,98 ± 0,8	0,98 ± 0,2	0,99 ± 0,4

Os diâmetros das gotículas também foram avaliados antes e após o estudo de estabilidade. Observou-se, interessante, que nanocápsulas (Protsol1+NanoPCL, Protsol1+NanoRS) não ocasionaram alterações na impressão digital dos parâmetros descritivos medidos por difração de laser em comparação com a formulação original, como pode ser observado na Figura 25.

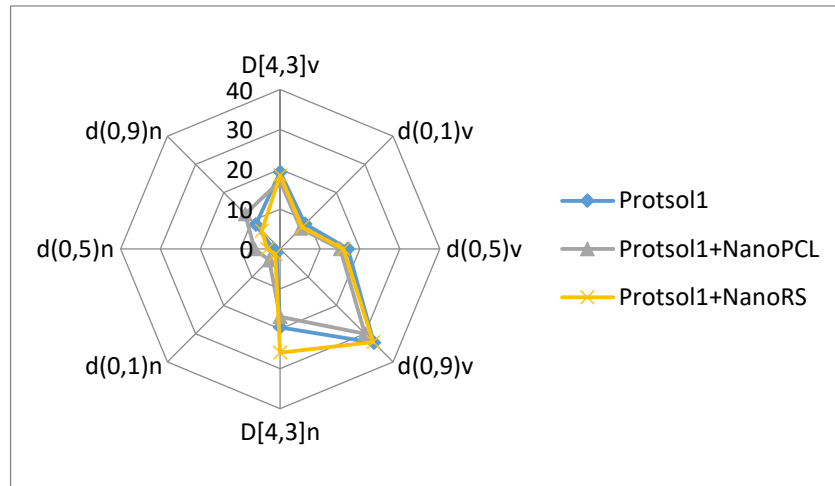


Figura 25. Gráfico radar das formulações em μm , onde: $D[4,3]v$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d(0,1)v$ corresponde a 10%, $d(0,5)v$ correspondentes a 50% e $d(0,9)v$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição de volume. E $D[4,3]n$ corresponde aos valores médios de diâmetros, $d(0,1)n$ corresponde a 10%, $d(0,5)n$ correspondentes a 50% e $d(0,9)n$ a 90% ponderados em porcentagem da distribuição por número de partícula.

12.3 Avaliação da capacidade fotoprotetora

A capacidade fotoprotetora das formulações (Protsol1+NanoPCL, Protsol1+NanoRS, Protsol1+Livre) foi avaliada para verificar se as nanocápsulas de permetrina poderiam ou não interferir na eficácia final do produto. A partir do resultado apresentado na Figura 26 é possível observar perfis de degradação do resveratrol similares para as 4 formulações. Ao analisar as formulações tempo-a-tempo de forma comparativa, não se observaram diferenças significativas entre seus valores. Esse resultado indica que a introdução das nanocápsulas de permetrina não interferiu positivamente ou negativamente na eficácia do produto para proteção contra radiação. Dessa forma, o produto manteve sua capacidade fotoprotetora.

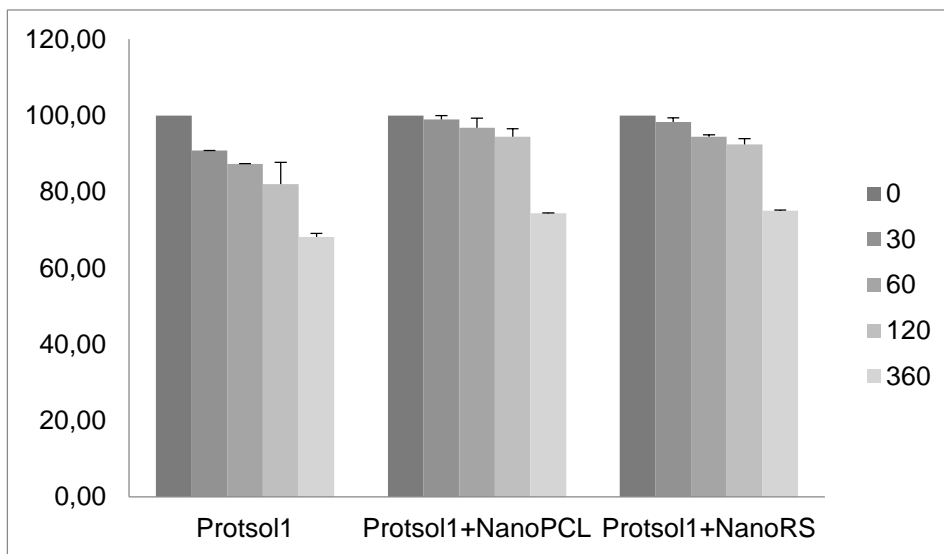


Figura 26. Comparação da capacidade fotoprotetora das formulações (Fotoprot1, Fotoprot1+NanoPCL, Fotoprot1+NanoRS com a formulação comercial L'Oreal) frente a proteção da degradação do resveratrol.

12.4 Permeação cutânea das nanocápsulas de permetrina

A presente pesquisa foi desenhada com o intuito de avaliar o comportamento tópico da permetrina livre (PermLivre) e nanoencapsulada a partir de duas estruturas compostas por diferentes polímeros: poli(ϵ -caprolactona) (NanoPCL) e eudragit RS100 (NanoRS). Essas duas suspensões nanotecnológicas foram avaliadas tanto na forma de suspensão, quanto quando incorporadas em emulsões fotoprotetoras (Protsol1+NanoPCL e Protsol1+NanoRS). Ainda, para fins de avaliação do efeito das nanocápsulas sobre os perfis de permeação cutânea da permetrina, os produtos foram comparados a uma formulação onde a permetrina na forma livre foi incorporada a emulsão fotoprotetora (Protsol1+PermLivre).

Os experimentos de penetração cutânea *in vitro* mostraram que a permetrina não foi encontrada no compartimento receptor após 2 horas de experimento para todas as formulações, sugerindo que essa substância não tenha uma tendência a atingir a circulação sistêmica, portanto sem possíveis efeitos tóxicos.

A Figura 27 apresenta o perfil de penetração das suspensões de nanocápsulas (NanoPCL e NanoRS), bem como da emulsão de permetrina (Livre). Por sua vez, a Figura 28 apresenta os perfis de penetração dessas mesmas formulações quando

incorporadas na emulsão fotoprotetora (Protsol1). A partir desses resultados foi possível observar que ambas as formulações nanotecnológicas (NanoPCL e NanoRS) incorporadas ou não ao semissólido Fotoprot1 proporcionaram uma adequada adesão da permetrina no estrato córneo, pois obtiveram resultados similares ou superiores à formulação sem nanotecnologia (a qual demonstra o perfil intrínseco ao fármaco). Entretanto, quando analisadas as camadas mais internas da pele, nas quais não é de interesse que a permetrina se localize, foi possível constatar que as formulações com NanoPCL tiveram melhor desempenho, pois não foi detectada a presença de permetrina tanto na epiderme quanto na derme. Já para as formulações com NanoRS, incorporada ou não à emulsão fotoprotetora, foi detectada permetrina em todas as camadas. Embora essa quantidade possa não ser significativa para causar um efeito tóxico do fármaco, as formulações contendo NanoPCL foram aquelas que demonstraram um melhor efeito da aplicação da nanotecnologia, sendo teoricamente mais seguras e possivelmente mais eficazes, uma vez que concentram toda a carga de permetrina da formulação no estrato córneo.

A influência do polímero poli(ϵ -caprolactona) na liberação de fármacos de sistemas nanoestruturados através da pele já havia sido investigada por Alves e colaboradores (2007), através de um estudo *in vitro* com nimesulida. Nesse estudo, os autores relatam que as moléculas de fármaco nanoencapsulado com este polímero não tendem a atravessar a pele, pois o polímero aumenta sua aderência no estrato córneo sem aumentar o transporte transdérmico e a absorção. Os autores também verificaram que a poli(ϵ -caprolactona) apresenta alta afinidade pela camada córnea [151].

Estudos anteriores demonstraram que a composição do núcleo das nanocápsulas está diretamente ligada à flexibilidade das partículas, além disso, essa flexibilidade ou rigidez pode determinar o grau de penetração dessas estruturas [152, 153]. Dependendo do composto ativo, as nanocápsulas podem melhorar a permeação [154, 155], ou melhorar a penetração nas diferentes camadas da pele, limitando a permeação e evitando a absorção sistêmica de fármacos [151, 156-159]. Conforme observado para as formulações Protsol1+NanoPCL e NanoPCL, as quais possuíam um núcleo composto de triglicerídeos e monoestearato de sorbitano, a permeação não ocorreu e o fármaco ficou mais aderido ao estrato córneo. Este dado corrobora com o

estudo anterior [8] que comprovou que as nanocápsulas com esta composição são menos flexíveis do que as produzidas com composição similar, porém sem o monoestearato de sorbitano, sendo mais flexíveis e se distribuindo mais extensamente na pele, alcançando a epiderme viável. Ao contrário, as produzidas com monoestearato de sorbitano, menos flexíveis e semelhantes às do presente trabalho, ficam restritas ao estrato córneo.

Na comparação dos perfis de penetração das suspensões *versus* os perfis de penetração das formulações semissólidas pode-se observar a influência que o veículo semissólido apresenta. Para a formulação livre, a incorporação no semissólido ocasionou a penetração de altas quantidades da permetrina para a epiderme e derme ($107,67 \pm 31,53 \mu\text{g/mL}$ e $27,77 \pm 22,55 \mu\text{g/mL}$ respectivamente). Entretanto, comparando-se as formulações contendo NanoRS esse aumento foi mais sutil sendo de $5,62 \pm 3,59 \mu\text{g/mL}$ para $12,09 \pm 6,64 \mu\text{g/mL}$ na epiderme e $11,48 \pm 3,76 \mu\text{g/mL}$ para $20,38 \pm 14,01 \mu\text{g/mL}$ na derme. Além disso, a incorporação da NanoPCL no semissólido não implicou em modificações no perfil de penetração. Esse resultado demonstra a capacidade das nanocápsulas em reter o ativo nas camadas mais superiores da pele, mesmo quando incorporadas em veículos que promovam a penetração cutânea e novamente demonstrou a superioridade das nanocápsulas de PCL para essa aplicação.

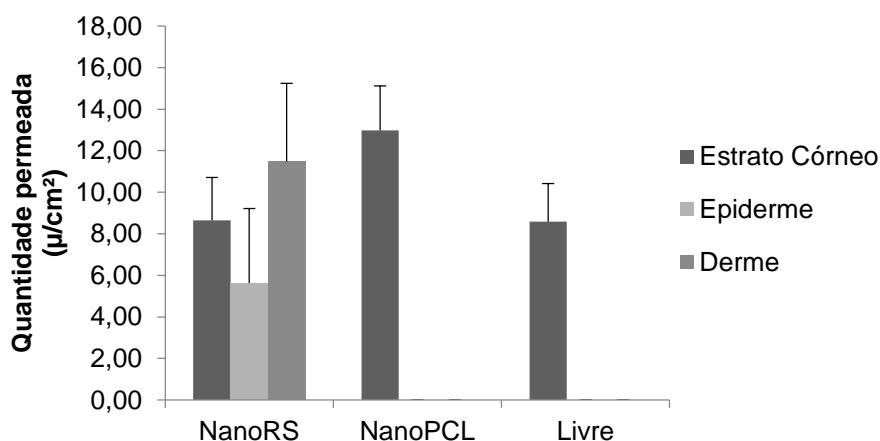


Figura 27. Perfil de penetração cutânea das suspensões de nanocápsulas (NanoRS e NanoPCL) e da emulsão de permetrina (Livre), após duas horas.

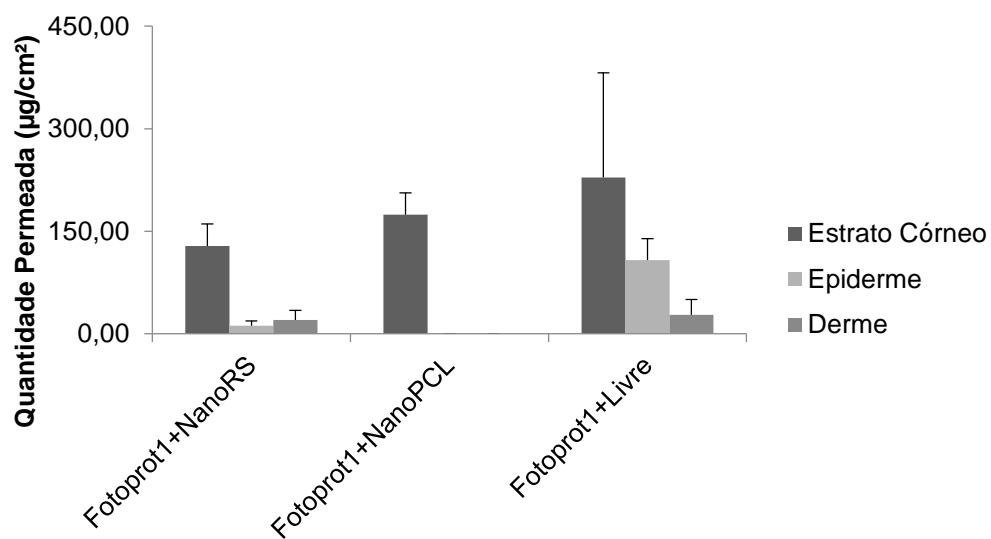


Figura 28. Perfil de penetração cutânea das formulações semissólidas contendo as suspensões de nanocápsulas (Protsol1+NanoRS e Protsol1+NanoPCL) e da emulsão de permetrina (Protsol1+Livre), após duas horas.

12.5 Irritação das formulações (Het-cam)

O ensaio realizado com as formulações (PermLivre, NanoPCL e NanoRS) evidenciou o alto potencial irritante da permetrina na forma livre. Os resultados médios encontrados, em relação a pontuação do grau de irritação, foram para PermLivre 15 (irritante forte), NanoPCL 4,5 (Irritante fraco) e NanoRS 4,3 (Irritante fraco), como mostrado na Figura 29. Estes resultados demonstram a importância da nanoencapsulação da permetrina na redução do potencial irritativo por contato direto. A permetrina é muito utilizada em tratamentos para escabiose em crianças [160] e muitos destes produtos, entre eles o Nedax® Plus, trazem na bula a advertência para evitar o contato com os olhos sugerindo sua irritação.

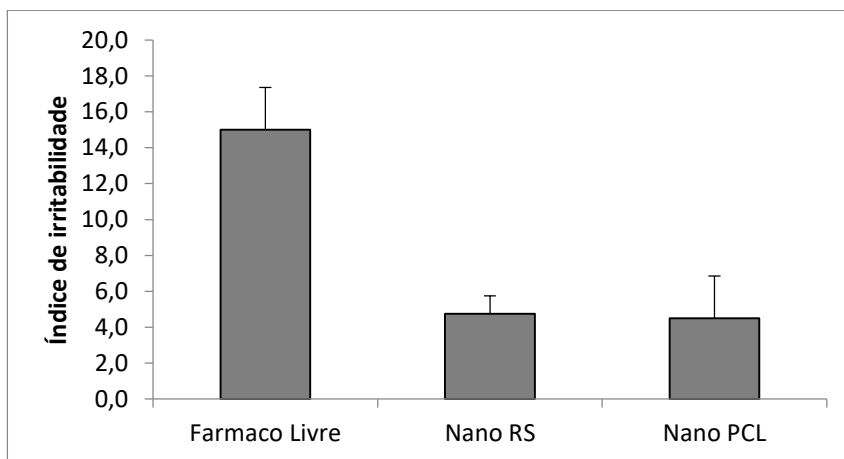


Figura 29. Índice de irritabilidade das nanocápsulas de permetrina (NanoPCL e NanoRS) em comparação com a permetrina livre (PermLivre).

As formulações fotoprotetoras contendo as nanocápsulas de permetrina Fotoprot+NanoPCL e Fotoprot+NanoRS (índice de irritação 4,3) apresentaram irritação leve, com resultado médio igual ao encontrado para a formulação Fotoprot1 (índice de irritação 4,3). Porém, para a formulação contendo permetrina livre (PermLivre) o índice de irritação médio encontrado foi severo (12,5). Este resultado evidencia o papel positivo da nanocompartimentalização da permetrina, evitando o contato direto de grande quantidade da substância com os vasos sanguíneos (modelo do ovo embrionado), reduzindo o efeito tóxico, provavelmente por permitir a difusão controlada de pequenas quantidades da substância a partir das nanocápsulas ao longo do tempo.

13. Conclusões

As nanocápsulas poliméricas contendo permetrina (NanoPCL e NanoRS) foram preparadas pelo método de deposição interfacial do polímero pré-formado. As análises de distribuição granulométrica utilizando difração de laser demonstraram que ambas apresentam perfis unimodais. As medidas por espalhamento de luz dinâmico mostram diâmetros médios entre 185 nm (NanoPCL) e 145 nm (NanoRS), coerentes para nanocápsulas poliméricas produzidas por este método. Os resultados de PDI e span indicam perfis de distribuição homogêneos para ambas as formulações, não apresentando diferenças significativas, durante os 90 dias de armazenamento. Estes resultados indicam que ambas as formulações são estáveis, dados confirmados pela ausência de populações micrométricas durante o tempo de estudo.

As nanocápsulas foram incorporadas na formulação Protsol1, e denominadas Protsol1+NanoPCL e Protsol1+NanoRS, e avaliadas quanto à estabilidade, durante 90 dias em 3 condições experimentais: temperatura ambiente, temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ e temperatura de $-5 \pm 2^\circ\text{C}$. Não foram observadas mudanças na aparência, todas as formulações apresentaram aspecto visual adequado. Quanto à coloração, odor e pH, também não foram detectadas alterações perceptíveis ao sistema sensorial. Após 90 dias de armazenamento a 25°C , as Protsol1+NanoPCL e Protsol1+NanoRS não apresentaram alterações significativas nos teores de permetrina, que se mantiveram estáveis. Na análise reológica das formulações não foram encontradas diferenças significativas, no perfil reológico, entre as formulações, antes e após a incorporação das nanocápsulas. Essas formulações permaneceram com o mesmo comportamento ao longo de todo estudo de estabilidade, sendo esse pseudoplástico, o qual foi melhor descrito pelo modelo Ostwald.

Os ensaios da capacidade fotoprotetora de todas as formulações mostraram (Protsol1+NanoPCL, Protsol1+NanoRS) que a introdução das nanocápsulas não interferiu na eficácia do produto para proteção contra radiação. Dessa forma, o produto manteve sua capacidade fotoprotetora sendo acrescido possivelmente de uma nova funcionalidade, a repelência de insetos nanoencapsulado.

Os experimentos de penetração cutânea *in vitro* evidenciaram que a permetrina não foi quantificada no compartimento receptor após 2 horas de experimento para todas as formulações. Esses resultados indicam que a permetrina não apresenta

tendência para atingir a circulação sistêmica (na forma livre ou nanoencapsulada), portanto sem possíveis efeitos tóxicos. É importante ressaltar que para formulações contendo inseticidas ou repelentes de insetos é desejável que os ativos permaneçam no estrato córneo, a fim de promover uma adequada repelência e atoxicidade.

Ambas as formulações nanotecnológicas (NanoPCL e NanoRS) incorporadas ou não ao semissólido Fotoprot1 proporcionaram uma adequada adesão da permetrina no estrato córneo. Entretanto, quando analisadas as camadas mais internas da pele, nas quais não é interesse que a permetrina se localize, foi possível constatar que as formulações com NanoPCL tiveram melhor desempenho, pois não foi detectada a presença de permetrina tanto na epiderme quanto na derme. Por sua vez, para as formulações com NanoRS, incorporada ou não à emulsão fotoprotetora, foi detectada permetrina em todas as camadas. Embora essa quantidade possa não ser significativa para causar um efeito tóxico do fármaco, as formulações contendo NanoPCL foram aquelas que demonstraram um melhor efeito da aplicação da nanotecnologia, sendo teoricamente mais seguras e, possivelmente, mais eficazes, uma vez que concentram toda a carga de fármaco da formulação no estrato córneo.

Na comparação dos perfis de penetração das suspensões *versus* os perfis de penetração das formulações semissólidas pode-se observar a influência que o veículo semissólido apresenta. Para a formulação livre, a incorporação no semissólido ocasionou a penetração de altas quantidades da permetrina para a epiderme e derme. Entretanto, comparando-se as formulações contendo NanoRS esse aumento foi mais sutil. Além disso, a incorporação da NanoPCL no semissólido não implicou em modificações no perfil de penetração. Esse resultado demonstra a capacidade das nanocápsulas em reter o ativo nas camadas mais superiores da pele, mesmo quando incorporadas em veículos que promovam a penetração cutânea, novamente demonstrando a superioridade das nanocápsulas de PCL para essa aplicação.

O ensaio de irritação realizado com as formulações (PermLivre, NanoPCL e NanoRS) evidenciou o alto potencial irritante da permetrina na forma livre. Estes resultados demonstram a importância da nanoencapsulação da permetrina na redução da irritação. A permetrina é muito utilizada em tratamentos para escabiose em crianças e muitos destes produtos trazem na bula a advertência para evitar o contato com os olhos sugerindo sua irritação.

Deste modo, a avaliação dos resultados obtidos demonstra que as nanocápsulas de núcleo lipídico contendo permetrina desenvolvidas foram apropriadas para incorporação na emulsão fotoprotetora, apresentando boa estabilidade, capacidade fotoprotetora, índice de irritação leve e adequada permeação e, ainda, apresentando sensorial mais adequado quando comparadas a emulsão fotoprotetora contendo repelente sem nanotecnologia. Além disso, as nanocápsulas de poli(ϵ -caprolactona) apresentaram vantagem em relação as nanocápsulas de Eudragit RS por ficarem mais aderidas no estrato córneo. Os resultados sugerem que estas formulações são promissoras para dar seguimento aos testes *in vivos* necessários, para comprovação da atividade de repelente de insetos e do FPS.

14. Perspectivas

Após a transferência da tecnologia para o LAFERGS, as etapas para a conclusão do desenvolvimento a serem consideradas pelo Laboratório são as seguintes:

- Realizar doseamento dos filtros solares presentes na formulação Protsol1;
- Determinar a eficácia do fator de proteção solar com resistência à água e ao suor das formulações (com um dos laboratórios orçados, orçamentos em anexo, Anexo 6);
- Determinar a repelência contra insetos das formulações;
- Determinar perfil de irritação dérmica com voluntários saudáveis;
- Realizar o escalonamento industrial da emulsão fotoprotetora. No Apêndice 2, desta dissertação, encontra-se uma sugestão de rótulo e de embalagem para a formulação fotoprotetora desenvolvida;

Referências bibliográficas

1. Utumi, M.G.C. and S. Borelli, *Cosmiatria Em Dermatologia - Usos e Aplicações*. Roca ed. Vol. 1. 2007, São Paulo.
2. Glaser, D.A.P. and Z.D. Draelos, *Cosmecêuticos*, ed. Elsevier. Vol. 1. 2009, Rio de Janeiro.
3. Ribeiro, C., *Cosmetologia Aplicada a Dermatoestética*, ed. P. ed. 2012, São Paulo.
4. Keesling, B. and H.S. Friedman, *Psychosocial Factors in Sunbathing and Sunscreen Use* Health Psychol 1987. **6**: p. 477-93.
5. Sonia R P de Souza, F.M.F. e, and J.M.P.d. Souza, *Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura*. Revista de Saúde Pública, 2004. **38(4)**: p. 588-598.
6. HW., R. and M.C. Proc, *Suntanning: differences in perceptions throughout History*. 1997. **72**: p. 461-6.
7. Hillhouse, J.J. and A. Stair, & Adler, C. M, *Predictors of sunbathing and sunscreen use in college undergraduates*. Journal of Behavioural Medicine, 1996. **19**: p. 543-561.
8. Robinson JK, R.D., Amonette RA, *Trends in sun exposure knowledge, attitudes, and behaviors: 1986-1996*. J Am Acad Dermatol 1997. **37**(Issue 2): p. 179-186.
9. S, A. and C. VA, *Suntanning and sun protection: a review of the psychological literature*. Soc Sci Med, 1995. **40(2)**(2): p. 265-74.
10. Brand, J.B. *Bronzeador Coppertone - 1959*. 1959 [cited 2016 04 de janeiro de 2016]; Anuncio do bronzeador Coppertone, cena, desenhada pela americana Joyce Ballantine Brand em 1959]. Available from: <http://www.propagandashistoricas.com.br/2014/05/bronzeador-coppertone-1959.html>.
11. Sônia Ribeiro DORIA, et al., *Proteção solar, uma questão de saúde pública: avaliação das informações contidas nos rótulos dos protetores solares mais comercializados no Brasil*. Journal of the National Cancer Institute, 2009. **97. No. 24**: p. 482-7.
12. BARBANO, D.B.A., *Resolução - RDC Nº 30 de 1º de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências*. 2012.
13. Nascimento, L.F.S., E. P.; Aguiar, A. P., *Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica* Rev. Virtual Quim., 2014. **6 (2)**: p. 190-223.
14. Shaath, N.A., *The encyclopedia of ultraviolet filters*. 2007: New York.
15. Lucas, R., et al., *Solar Ultraviolet Radiation - Global burden of disease from solar ultraviolet radiation*. World Health Organisation (WHO), 2006. **13**.
16. Lima, L.C.d.A., *Resposta a danos no DNA após exposição à luz ultravioleta: apagando o fogo antes do incêndio celular*. Revista da Biologia 2015. **(2015) 14(1)**: p. 6-16.
17. Soyun Cho, M.H.S., Yeon Kyung Kim, Jo-Eun Seo, Young Mee Lee, Chi-Hyun Park and Jin Ho Chung, *Effects of Infrared Radiation and Heat on Human Skin Aging in vivo*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, 2009 **14**: p. 15-19.
18. Schalka, S.S.A.A., Flávia Alvim; Monteiro Agelune, Christiane; de Melo C. Pereira, Vanessa, *Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível – uma proposta de avaliação* Sociedade Brasileira de Dermatologia Brasil, 2012. **vol. 4, núm. 1**: p. 45-52.
19. Afaq, F.A., V.M; Mukhtar, H, *Photochemoprevention of ultravioleta B signaling and photocarcinogenesis*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms, 2005. **571(1-2)**: p. 153-173.
20. RAGEL, V.L.B.I.C., M. A., *Fotoproteção*. Cosmetics & Toiletries (Edição em Português), 2002 **v. 14**: p. 88-95.
21. FARAGE, M.A., E.P. Miller KW, and M. HI., *Intrinsic and extrinsic factors in skin aging: a review*. Internacional. Journal of Cosmectic Science, 2008. **v. 30**: p. 87-95.
22. Williams, A.C.G.a.G.M., *Regular Use of Sunscreen Can Reduce Melanoma Risk*. The Melanoma Letter, A Publication of The Skin Cancer Foundation 2012. **Vol. 30, No. 2**: p. 1-3.

23. Szklo, A.S., et al., *Comportamento relativo à exposição e proteção solar na população de 15 anos ou mais de 15 capitais brasileiras e Distrito Federal, 2002-2003*. Cad. Saúde Pública, 2007. **23(4)**: p. 823-834.
24. Montagner, S. and A. Costa, *Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento*. An Bras Dermatol, 2009. **84(3)**: p. 263-9.
25. Silva, G.D.d., M.M. Ogawa, and P.C.d. Souza. *Esquema da absorção da radiação ultravioleta*. 2016 [cited 2016 04 de janeiro de 2016]; *Esquema da absorção da radiação ultravioleta*. Available from: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAEiqAAJ/ultravioleta>.
26. Fourtanier A1, M.D., Seite S., *UVA filters in sun-protection products: regulatory and biological aspects*. Photochem Photobiol Sci., 2012. **11(1)**: p. 81-9.
27. Wlaschek, M.T.-P., I.; Naderi, L.; Ma, W.; Schneider, L. A.; Razi-Wolf, Z.; Schüller, J.; Scharffetter-Kochanek, K. , *Solar UV irradiation and dermal photoaging*. . Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001. **63**: p. 41.
28. Ivry, G.B.O., C. A.; Shim, E. K., *Role of Sun Exposure in Melanoma*. Dermatologic Surgery, 2006. **32**: p. 481.
29. Volkovova K, B.D., Bartonova A, Letašiová S, Dusinska M., *Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma. Review*. Environ Health, 2012. **28**: p. 11 Suppl 1:S12.
30. Kochevar IE, T.C.I.F., IM et al, *Photophysics, photochemistry and Photobiology*. Fitzpatrick's dermatology in general medicine., 2003: p. 1267-1283.
31. Mahmoud BH, H.C., Hamzavi IL, Lym HW, *Effects of visible light on the skin*. . Photoch Photobiol, 2008. **84(2)**: p. 450-62.
32. Bassel H. Mahmoud, et al., *Impact of Long-Wavelength UVA and Visible Light on Melanocompetent Skin*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, 2010. **130**: p. 2092-2097.
33. Tuchinda C, L.H., Osterwalder U, Rougier A, *Novel emerging sunscreen technologies*. Dermatol Clin, 2006. **24(1)**: p. 105-17.
34. Fairhurst D, M.M., *Particulate Sun Blocks: General Principles In: Shaath NA. Sunscreens: Regulation and commercial development*, 2005: p. 325.
35. Diffey BL, F.P., *Sunscreen protection against UVB, UVA and blue light: an in vivo and in vitro comparison*. Br J Dermatol, 1991. **124(3)**: p. 258-63.
36. Barreiros, A.L.B.S. and J.M. David, *ESTRESSE OXIDATIVO: RELAÇÃO ENTRE GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA DO ORGANISMO*. Quimica Nova, 2006. **29, No. 1**: p. 113-123.
37. Rajesh P. Rastogi, et al., *Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair*. Journal of Nucleic Acids, 2010. **2010**.
38. Jodi Yanagida, et al., *Accelerated elimination of ultraviolet-induced DNA damage through apoptosis in CDC25A-deficient skin*. Carcinogenesis, 2012. **33(9)**: p. 1754-1761.
39. INCA, I.N.d.C., *Situação do câncer no Brasil*, C.d.P.e.V.C.M.d. Saúde), Editor. 2006: Brasil.
40. –INCA, I.N.d.C. *Melanoma*. 2016 [cited 2016 15 de janeiro].
41. Crocetti E, D.A.R., Buzzoni C, Mariotto A, Storm H, Colonna M, Zanetti R, Serraino D, Michiara M, Cirilli C, Iannelli A, Mazzoleni G, Sechi O, Sanoja Gonzalez ME, Guzzinati S, Capocaccia R, Dal Maso L; AIRTUM Working group., *Cancer prevalence in United States, Nordic Countries, Italy, Australia, and France: an analysis of geographic variability*. British Journal of Cancer, 2013. **109(1)**: p. 219-228.
42. Bakos, L., et al., *A melanoma risk score in a Brazilian population*. Anais Brasileiros de Dermatologia, 2013. **88(2)**: p. 226-232.
43. Iannaccone, M.R., M.C.B.H. &, and A.C. Green, *Effects of sunscreen on skin cancer and photoaging*. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2014. **30**: p. 55-61.
44. Green AC, W.G., Logan V, Strutton GM *Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up*. J Clin Oncol, 2011. **29(3)**: p. 257-263.

45. Foley P, et al., *The frequency of reactions to sunscreens: results of a longitudinal population-based study on the regular use of sunscreens in Australia*. Br J Dermatol, 1993. **128(5)**: p. 512-518.
46. Flor, J., M.R. Davolos, and M.A. Correa, *PROTETORES SOLARES*. Quim. Nova 2007. **30(1)**: p. 153-158.
47. Leslie K. Dennis; Laura E. Beane Freeman, a.M.J.V., *Sunscreen Use and the Risk for Melanoma: A Quantitative Review*. Annals of Internal Medicine- Melanoma and Sunscreen Use, 2003. **139(12)**: p. 966-981.
48. Jennifer S. Mulliken, et al., *The Effect of Sunscreen on Melanoma Risk*. Dermatol Clin, 2012. **30**: p. 369-376.
49. Paolo Vecchia, et al., *PROTECTING WORKERS FROM ULTRAVIOLET RADIATION in Cataloguing International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection: In Collaboration with: International Labour Organization* W.H. Organization, Editor. 2007.
50. Lund, L.P.T., G. S., *Melanoma, long wavelength ultraviolet and sunscreens: Controversies and potential resolutions*. Pharmacology & Therapeutics, 2007. **114**.
51. Said, T., et al., *Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007. **30**.
52. Afaq, F.M., H., *Effects os solar radiation on cutaneous detoxication pathways*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001. **63**: p. 61-69.
53. E., N., et al., *Associations of cumulative sun exposure and phenotypic characteristics with histologic solar elastosis*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010. **19(11)**: p. 2932-2941.
54. Company, B.-T.C. *Sunscreen Simulator- BASF*
[cited 2016 28 de março]; Available from: https://www.sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/Login_show.action.
55. Gasparro, F.P., *Sunscreens, Skin Photobiology, and Skin Cancer: The Need for UVA Protection and Evaluation of Efficacy*. Environmental Health Perspectives, 2000. **108(1)**.
56. Milesi, S.S. and S.S. Guterres, *Fatores determinantes na eficácia de fotoprotetores*. Caderno de Farmácia da UFRGS, 2002. **18(2)**: p. 81-87.
57. Santos, J.S. and S.S. Guterres, *Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras contendo filtros solares nanoencapsulados*. 2014: Porto Alegre- RS.
58. Paese, K. and S.S. Guterres, *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*. 2008.
59. Schaffazick, S.R., S.S. Guterres, and A.R. Pohlmann, *Desenvolvimento tecnológico e avaliação da atividade antioxidante de sistemas nano e microparticulados contendo melatonina*. 2006: Porto Alegre- RS.
60. NEWMAN, M.D.S., M.; ELLIS, J, *The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens*. J Am Acad Dermatol, 2009. **61**: p. 685-692.
61. NOHYNEK, G.J.A., E.; RE, T.; TOUTAIN, H., *Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients*. Toxicol. And Applied Pharm, 2010. **243**: p. 239-259.
62. Szikszai, Z., et al., *Nuclear microprobe investigation of the penetration of ultrafine zinc oxide into intact and tape-stripped human skin*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 2010. **268(B)**: p. 2160-2163.
63. Emiro Khury, T.A.N., Ana Maria da Silva, *Fotoprotetores de alta eficiência*. Cosmetics&Toiletries, 1995. **7(4)**: p. 41-46.
64. Shaath, N., *Suncreens: Regulations and Commercial Development*. Third Edition ed, ed. C.S.A. TECHNOLOGY. Vol. 28. 2005.
65. Shaath, N.A., *SPF Boosters & Photostability Of Ultraviolet Filters*. 2007 p. 77-83.
66. James E. Hanson and C. Antonacci, *Natural sunscreen composition* FDA, Editor. 2015: USA.

67. Werner Goedel, B.B., Helmut Auweter, Valerie Andre, Michael Schaper, Andreas Habich, *Powdery preparations containing diethylamino-hydroxybenzoyl-hexyl-benzoate* BASF, Editor. 2007: USA.
68. Baron, E.D., et al., *High Ultraviolet A Protection Affects Greater Immune Protection Confirming that Ultraviolet A Contributes to Photoimmunosuppression in Humans*. THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 2003. **121**(4): p. 869-875.
69. Brasil (2012) *Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências*. **RDC N° 30**.
70. FDA (2011) *SPF test procedure de acordo com FDA*. **76**.
71. COLIPA (2011) *Method for the Determination of the Protection Factor of Sunscreen Products in vivo*. COLIPA/JCIA/CTFA-SA. International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.
72. Palefsky, K.K.a.l., *Formulating Sunscreen Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **28**: p. 354-374.
73. Ananthaswamy, H.N., et al., *Sunscreens -Handbooks of cancer prevention*, ed. I.A.F.R.O. Cancer. Vol. 5. 2001, France.
74. Pupo, M., *Tratado de Fotoproteção*. Vol. 1. 2012, Campina- São Paulo.
75. Emiro Khury and Edna Borges, *Protetores solares*. RBM Revista Brasileira de Medicina-Editora Moreira Jr 2015. **V 68** (Especial Dermatologia e Cosmiatria 4): p. 4 -18.
76. Schneider, L., *DESENVOLVIMENTO AVANÇADO DE PRODUTOS DE HIGIENE, COSMÉTICOS E PERFUMES I*. Magistral, Editor. 2011: Porto Alegre-RS.
77. Matheus LGM, K.A., *Fotoproteção: a radiação ultravioleta e sua influência na pele e cabelos*. ABC - Associação Brasileira de Cosmetologia, 2002.
78. EXCIPIENTS, H.O.F. and A.P.A.a.P. Press, *HANDBOOK OF FARMACEUTICAL EXCIPIENTS*. 3°ed ed. 2000, U.S.A.
79. Gruber, J.V., *Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care*. Cosmetic science and technology ed. E.D. Goddard. Vol. 22. 1999, NEW YORK
80. Emiro Khury, *Curso de desenvolvimento de emulsões fotoprotetoras*, A.B.d.C.-. ABC, Editor. 2015: Porto Alegre- RS.
81. Lucas Almeida Rigo , A.R.P., Silvia Stanisçuaski Guterres, Ruy Carlos Ruver Beck, *Rice Bran Oil: Benefits to Health and Applications in Pharmaceutical Formulations*. POTENTIAL BIOMEDICAL APPLICATIONS OF RICE BRAN OIL, 2014. **CHAPTER 23**: p. 311-322.
82. Care, A.S.C.P. *DRY-FLO® PC*. 2009 [cited 2016 30/03].
83. Toiletries, C.a. *Amphisol K (Potassium Cetyl Phosphate)*. 2016 [cited 2016 14 de março de 2016]; Available from: <http://dir.cosmeticsandtoiletries.com/detail/tradeName.html?id=18493>.
84. Products, D.N. *AMPHISOL® K INCI Name: Potassium Cetyl Phosphate*. AMPHISOL® K INCI Name: Potassium Cetyl Phosphate 2016 [cited 2016 14 de março de 2016]; Available from: <https://www.ulprospector.com/pt/na/PersonalCare/Detail/473/317120/AMPHISOL-K>.
85. INOLEX. *LexFeel® Natural (INCI Name: Heptyl Undecylenate)*. 2015; Available from: <https://www.ulprospector.com/en/na/PersonalCare/Detail/353/86959/LexFeel-Natural>.
86. INOLEX. *LexFeel® 7 (INCI Name: Neopentyl Glycol Diheptanoate)*. 2015; Available from: <https://www.ulprospector.com/pt/la/PersonalCare/Detail/1884/10327/LexFeel-7>.
87. BASE, P.C.D. *Chemical Structure*. 2016 [cited 2016 29 de março]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Avobenzone#section=Top>.
88. COLIPA (2006) *SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS SCCP Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor* EUROPEAN COMMISSION **COLIPA N° S60**
89. Commission, E. (2008) *Scientific Committee on Consumer Products: OPINION ON Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate* **COLIPA n° S83**
90. Saúde, S.E.d., *Guia para orientação aos municípios sobre manejo integrado, controle e gestão de insetos da família simuliidae (Diptera, Nematocera) no Rio Grande do Sul*. , C.E.d.V.e. Saúde, Editor. 2006.

91. Mustapha Debboun, S.P.F., Daniel Strickman, *Insect Repellents: principles, methods and uses*. 2006.
92. Saúde, B.M.d. *Dengue, Chikungunya e Zika: Prevenção e combate*. 2016 [cited 2016 15/junho]; Available from: <http://combateaedes.saude.gov.br/>.
93. MOORE, S.J.M., A.J.; LOGAN, J.G. , *Insect Bite Prevention*. . Infectious Disease clinics of North America, 2012. **26**: p. 637-654.
94. Tao Wang, X.G., *In Vitro Percutaneous Permeation of the Repellent DEET and the Sunscreen Oxybenzone across Human Skin* Pharm Pharmaceut Sci, 2007. **10**(1): p. 17-25.
95. GERMAIN, P., *IR3535 (Ethyl Butylacetylaminopropionate)*. *Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses*, 2006. **Chapter 21** p. 353-359.
96. M. Khoobdel, M.S., H. Ladonni, Y. Rassi, H. Vatandoost, H. Kasheffi Alipour *The efficacy of permethrin-treated military uniforms as a personal protection against Culex pipiens (Diptera: Culicidae) and its environmental consequences*. Int. J. Environ. Sci. Tech., 2005. **2**(2): p. 161-167.
97. Joana C. Forgearini, C.B.M., Evelise Assumpção, Adriana R. Pohlmann and Silvia S. Guterres, *Development of an Insect Repellent Spray for Textile Based on Permethrin-Loaded Lipid-Core Nanocapsules*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2015. **15**: p. 1-9.
98. CAMARGO, A.X.T.d.c.d.c., *Uso de repelentes no meio military como prevenção de doenças causadas por vetores: Os benefícios vencendo os riscos*. 2008: Rio de Janeiro.
99. GUTIERRES, E.Z.W., R.A.; NASCI, R.S.; BROGDON, W.G. (2011) *Protection against mosquitoes, tick and others insects and arthropods*.
100. SBD, S.B.d.D.-. *Câncer de pele*. 2016 [cited 2016 18 de Março]; Available from: <http://www.sbd.org.br/doencas/cancer-da-pele/>.
101. Schalka, S. and V.M.S.d. Reis, *Fator de proteção solar: significado e controvérsias*. An Bras Dermatol, 2011. **86**(3): p. 507-15.
102. Paul, S.P., *Melanoma Arising after Imiquimod Use*. Case Reports in Medicine, 2014. **2014**: p. 4.
103. Adèle C.Green , G.M.W., Valerie Logan, and Geoffrey M. Strutton, *Reduced Melanoma After Regular Sunscreen Use: Randomized Trial Follow-Up*. JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2011. **29 NUMBER 3**.
104. Sul, R.G.d., *DECRETO Nº 50.776- Dispõe sobre a prevenção e o combate às doenças associadas à exposição solar*. 2013.
105. Bernadi, D.S. and P.A.d.R. filho (2011) *Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento de dermatite atópica e psoríase*. Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo.
106. Bancha Yingngam, et al., *Encapsulation of Rice Bran Oil in Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Skin Hydration and Viscoelasticity* IJPS, 2008. **3**(2): p. 88-22.
107. AGRICULTURA, M.D. *Arroz*. 2016 [cited 2016 27 de março]; Available from: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>.
108. Sul, C.E.d.V.e.S.S.P.E.-R.G.d., *Guia para orientação aos municípios sobre manejo integrado, controle e gestão de insetos da família simuliidae (Diptera, Nematocera) no Rio Grande do Sul*, S.E.d. Saúde, Editor. 2006.
109. Brasil, *Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos*. ANVISA, 2004. **1** (Série Qualidade em Cosméticos): p. 52.
110. Hommoss, A., *NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS (NLC) IN DERMAL AND PERSONAL CARE FORMULATIONS* 2008: Syria, Berlin
111. Cassia Britto Detoni, G.D.S., Ana Luiza Maurer da Silva, Adriana Raffin Pohlmann and Silvia Staniswaski Guterres, *Photostability and Skin Penetration of Different E-Resveratrol-Loaded Supramolecular Structures*. Photochemistry and Photobiology, 2012. **88**: p. 913-921.
112. BABY, A.R.e.a., *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, 2008. **44**: p. 233-248.

113. RIBEIRO, C., *Fotoproteção e fotoprotetores*. Pharmabooks ed. Cosmetologia aplicada à Dermoestética. 2006, São Paulo.
114. RIBEIRO, C.O., M. T, *Entendendo Fotoproteção e Fotoprotetores*. Revista Racine, 2003. **13**(75): p. 34-46.
115. Chi H. Lee, V.M., Yugyung Lee, *Thixotropic property in pharmaceutical formulations*. Journal of Controlled Release, 2009. **136**: p. 88-98.
116. LAHOUD, M.H.C., Ranieri, *ASPECTOS TEÓRICOS RELACIONADOS À REOLOGIA FARMACÊUTICA* Visão Acadêmica, 2010. **11**(1).
117. Annika Björn, P.S.d.L.M., Anna Karlsson, Jörgen Ejlertsson and Bo H. Svensson *Rheological Characterization* Biogas, 2012.
118. Rezende, A.F.e.M.C., *Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico*. Polímeros, 2015. **25**(número especial): p. 1-9.
119. Kalinoski, H.T., *Quality Control of Finished Sunscreen Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **3**: p. 719-731.
120. Uli Osterwalder, M.S.B.H., *REVIEW ARTICLE Global state of sunscreens*. Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine, 2014. **30**: p. 62-80.
121. Instruments, M., *BASIC PRINCIPLES OF PARTICLE SIZE ANALYSIS*, in *Technical Paper*. 2000.
122. Mariana D. Bianchin, I.C.K.-G., Catuscia P. de Oliveira, Renata Vidor Contri, Sílvia S. Guterres, Adriana R. Pohlmann, *Radar charts based on particle sizing as an approach to establish the fingerprints of polymeric nanoparticles in aqueous formulations*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **30**: p. 180-189.
123. Shao, D.S.a.Y., *Inorganic Ultraviolet Filters*. Sunscreens Regulations and Commercial Development 2005. **28**(Third Edition): p. 240-279.
124. Christopher G. Nelson, J., *Photoprotection*. Sunscreens Regulations and Commercial Development 2005. **28**(Third Edition): p. 19-39.
125. USAVADEE THAVARA, A.T., JAKKRAWARN CHOMPOOSRI, WANNAPA SUWONKERD, U-RUYAKRON CHANSANGI ENO PREECHA ASAVADACHANUKORN, *LABORATORY AND FIELD EVALUATIONS OF THE INSECT REPELLENT 3535 GTHYL BUTYLACETYLAMINOPROPIONATE) AND DEET AGAINST MOSQUITO VECTORS IN THAILAND*. Journal of the American Mosquito Control Association, 2001. **17**(3): p. 190-195.
126. DONALD R. BARNARD, U.R.B., KENNETH H. POSEY, AND RUI-DE XUE, *Repellency of IR3535, KBR3023, para-menthane-3,8-diol, and Deet to Black Salt Marsh Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Everglades National Park*. JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY, 2002. **39**(6): p. 895-899.
127. Georges J. Mturi, B.S.M., *Photostability of the suncreening agent 4-tert-butyl-4-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry and Physics of Lipids, 2008.
128. Srei Pisei Huong, E.R., Jean-Dominique Fourneron, Laurence Charles, Valérie Monnier, Hot Bun, V´eronique Andrie, *Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2008. **196**: p. 106-112.
129. Jutta Kockler, M.O., Sherryl Robertson, Beverley D. Glass, *Photostability of sunscreens*. Journal of Photochemistry and Photobiology Biology C:Photochemistry Reviews 2012. **13**: p. 91-110.
130. Thitinan Kitisin, P.K.N.L., *Potential Anti-oxidative Activity of Crude Rice Oil Extracted from Cadmium-contaminated Rice as Determined Using an In Vitro Primary Human Fibroblast Cell Model* Journal of Agricultural Science, 2013 **5**(1).
131. Chaudhuri, R.K., *Role of Antioxidants in Sun Care Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **Third Edition**: p. 604-619.
132. Maria Cristina, R.M., Suzana Guimarães Leitão, Cristal Cerqueira-Coutinho, Alane Beatriz Vermelho, Ronald S. Silvac, Octávio A.F. Presgravec, Álvaro A.C. Leitão, Gilda G. Leitão, Eduardo Ricci-Júnior, Elisabete P. Santos, *In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of*

- photoprotective formulations containing antioxidant extracts*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2016. **26**: p. 251-258.
133. MANSUR, M.C.P.P.R., *Estudo preliminar das atividades fotoprotetora e antioxidante dos extratos das folhas de Bauhinia microstachya var.massambabensis Vaz numa formulação antissolar* 2011 Rio de Janeiro
 134. JONG KWON LEE, D.B.K., JONG IL KIM and PU YOUNG KIM, *In vitro cytotoxicity tests on cultured human skin fibroblasts to predict skin irritation potential of surfactants*. Toxicology in Vitro, 2000. **14** p. 345-349.
 135. Samantha L. Wilson, M.A.a.A.H., *An overview of current techniques for ocular toxicity testing*. Toxicology, 2015. **327**: p. 32-46.
 136. Scheila Rezende Schaffazick, S.S.G., Liane de Lucca Freitas, Adriana Raffin Pohlmann, *CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE SISTEMAS POLIMÉRICOS NANOPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS*. Quim. Nova, 2003. **26**(5): p. 726-737.
 137. Mhrianyan, A.F., N.; Strømme, M., *Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics* Progress in Materials Science, 2012. **57**(875).
 138. Alka Lohani, A.V., Himanshi Joshi, Niti Yadav and Neha Karki, *Nanotechnology-Based Cosmeceuticals*. Hindawi Publishing Corporation ISRN Dermatology, 2014. **2014**: p. 1-14.
 139. Bruno Perlatti, P.L.d.S.B., Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, João Batista Fernandes and Moacir Rossi Forim, *Polymeric Nanoparticle-Based Insecticides: A Controlled Release Purpose for Agrochemicals*, in *Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies*. 2013.
 140. Gerald B. Kasting, V.D.B., Tycho J. Speaker, *Microencapsulation decreases the skin absorption of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET)*. Toxicology in Vitro, 2008. **22**: p. 548-552.
 141. Brooke W. Bissinger, R.M.R., *Tick repellents: Past, present, and future- Review*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010. **96**: p. 63-79.
 142. Siqueira NM, C.R., Paese K, Beck RC, Pohlmann AR, Guterres SS., *Innovative sunscreen formulation based on benzophenone-3-loaded chitosan-coated polymeric nanocapsules*. Skin Pharmacol Physiol, 2011. **24**(3): p. 166-74.
 143. ASSUMPCAO, E.R.P., Adriana Raffin ; GUTERRES, S. S, *Development and impregnation of lipid nanoparticles containing insect repellent in different types of fabric for clothing*, in *In: Mostra do Centro de Nanociência e Nanotecnologia (CNANO), 2010, . Livro de Resumos, . p. 7-8*. 2010: Porto Alegre.
 144. Sílvia S. Guterres, Marta P. Alves and Adriana R. Pohlmann, *Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications*. Drug Target Insights, 2007. **2**: p. 147-157.
 145. Carmelo Pugliaa, F.B., Francesco Castelli, Dorotea Micielib and Maria Grazia Sarpietro, *Evaluation of percutaneous absorption of the repellent diethyltoluamide and the sunscreen ethylhexyl p-methoxycinnamate-loaded solid lipid nanoparticles: an in-vitro study*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009. **61**: p. 1013-1019.
 146. Organization, W.H., *PERMETHRIN (40:60 cis:trans isomer ratio) WHO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR PUBLIC HEALTH PESTICIDES 2008*: p. 1-22.
 147. Lucia Montenegro, F.L., Alessia Offerta, Maria Grazia Sarpietro, Lucia Micicch, Anna Maria Maccioni, Donatella Valenti, Anna Maria Fadda, *From nanoemulsions to nanostructured lipid carriers: A relevant development in dermal delivery of drugs and cosmetics*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **32**(2016): p. 100-112.
 148. VENTURINI, C.G.J., E.; OLIVEIRA, C.P.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A.M.O.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R, *Formulation of lipid core nanocapsules*. *Colloids and Surfaces. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2011. **375**(1-3): p. 200-208.

149. Renata V. Contri, M.K., Fernanda S. Poletto, Adriana R. Pohlmann and Silvia S. Guterres, *Simultaneous Control of Capsaicinoids Release from Polymeric Nanocapsules*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2011. **11**: p. 2398-2406.
 150. Tereza Moravkova, P.F., *The Influence of Thickeners on the Rheological and Sensory Properties of Cosmetic Lotions* Acta Polytechnica Hungarica 2014. **11**(6): p. 173-186.
 151. Marta P. Alves, A.L.S., Marcos Santos, Adriana R. Pohlmann, Sílvia S. Guterres, *Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers*. International Journal of Pharmaceutics, 2007. **341**: p. 215-220.
 152. De Brum, T.L., Fiel, Luana A. ; Contri, Renata V. ; Guterres, Sílvia S. ; Pohlmann, Adriana R., *Polymeric Nanocapsules and Lipid-Core Nanocapsules Have Diverse Skin Penetration*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 2015. **15**: p. 773-780.
 153. Bahamonde-Norambuena, D.M.-P., A.; Mario Cantin; Muñoz, M; Katherine Zepeda & Cristian Vilos, *Polymeric Nanoparticles in Dermocosmetic*. Int. J. Morphol, 2015. **33**(4): p. 1563-1568.
 154. Hyang Hee Joo, J.C.K., Hyeon Yong Leea & Seung Rok Hwangb, *Characterization and in vitro Permeation Study of Poly(ϵ -caprolactone) Nanocapsules Containing Hinokitiol*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2008. **29**(4): p. 492-495.
 155. Hyang Hee Joo, H.Y.L., You Sang Guan, Jin-Chul Kim, *Colloidal stability and in vitro permeation study of poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules containing hinokitiol*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2008. **14**: p. 608-613.
 156. Rocio Alvarez-Roma, A.N., Yogeshvar N. Kalia, Richard H. Guy, and Hatem Fessi, *Enhancement of Topical Delivery from Biodegradable Nanoparticles*. Pharmaceutical Research, 2004. **21**(10): p. 1818-1825.
 157. Ana Luiza M. da Silva, R.V.C., Denise S. Jornada, Adriana R. Pohlmann and Silvia S. Guterres, *Vitamin K1-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and in vitro skin permeation*. Skin Research and Technology, 2013. **19**: p. 223-230.
 158. M.M. Jiménez, J.P., M.F. Bobin, M.C. Martini, *Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate*. International Journal of Pharmaceutics, 2004. **272** p. 45-55
 159. Aline Ferreira Ourique, A.M., Cristiane de Bona da Silva, Ulrich F. Schaefer, Adriana Raffin Pohlmann, Silvia Stanisçuaski Guterres, Claus-Michael Lehr, Karl-Heinz Kostka and Ruy Carlos Ruver Beck, *Improved photostability and reduced skin permeation of tretinoin: Development of a semisolid nanomedicine*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2011. **79** p. 95-101.
 160. Lina Albakri, R.D.G., *Permethrin for scabies in children*. Child Health Update (Canadian Family Physician- Le Médecin de famille canadien), 2010. **56**.
1. Utumi, M.G.C. and S. Borelli, *Cosmiatria Em Dermatologia - Usos e Aplicações*. Roca ed. Vol. 1. 2007, São Paulo.
 2. Glaser, D.A.P. and Z.D. Draelos, *Cosmecêuticos*, ed. Elsevier. Vol. 1. 2009, Rio de Janeiro.
 3. Ribeiro, C., *Cosmetologia Aplicada a Dermatoestética*, ed. P. ed. 2012, São Paulo.
 4. Keesling, B. and H.S. Friedman, *Psychosocial Factors in Sunbathing and Sunscreen Use* Health Psychol 1987. **6**: p. 477-93.
 5. Sonia R P de Souza, F.M.F. e, and J.M.P.d. Souza, *Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura*. Revista de Saúde Pública, 2004. **38**(4): p. 588-598.
 6. HW., R. and M.C. Proc, *Suntanning: differences in perceptions throughout History*. 1997. **72**: p. 461-6.
 7. Hillhouse, J.J. and A. Stair, & Adler, C. M, *Predictors of sunbathing and sunscreen use in college undergraduates*. Journal of Behavioural Medicine, 1996. **19**: p. 543-561.
 8. Robinson JK, R.D., Amonette RA, *Trends in sun exposure knowledge, attitudes, and behaviors: 1986-1996*. J Am Acad Dermatol 1997. **37**(Issue 2): p. 179-186.
 9. S, A. and C. VA, *Suntanning and sun protection: a review of the psychological literature*. Soc Sci Med, 1995. **40**(2)(2): p. 265-74.

10. Q, A.C. *A história do biquíni*. 2012 09/01/2012 [cited 2016 04 de janeiro de 2016]; Available from: <https://thehypecollective.wordpress.com/category/historia/>.
11. Brand, J.B. *Bronzeador Coppertone - 1959*. 1959 [cited 2016 04 de janeiro de 2016]; Anuncio do bronzeador Coppertone, cena, desenhada pela americana Joyce Ballantine Brand em 1959]. Available from: <http://www.propagandashistoricas.com.br/2014/05/bronzeador-coppertone-1959.html>.
12. Sônia Ribeiro DORIA, et al., *Proteção solar, uma questão de saúde pública: avaliação das informações contidas nos rótulos dos protetores solares mais comercializados no Brasil*. Journal of the National Cancer Institute, 2009. **97. No. 24**: p. 482-7.
13. BARBANO, D.B.A., *Resolução - RDC Nº 30 de 1º de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências*. 2012.
14. Nascimento, L.F.S., E. P.; Aguiar, A. P., *Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica* Rev. Virtual Quim., 2014. **6 (2)**: p. 190-223.
15. Shaath, N.A., *The encyclopedia of ultraviolet filters*. 2007: New York.
16. Lucas, R., et al., *Solar Ultraviolet Radiation - Global burden of disease from solar ultraviolet radiation*. World Health Organisation (WHO), 2006. **13**.
17. Lima, L.C.d.A., *Resposta a danos no DNA após exposição à luz ultravioleta: apagando o fogo antes do incêndio celular*. Revista da Biologia 2015. **(2015) 14(1)**: p. 6-16.
18. Soyun Cho, M.H.S., Yeon Kyung Kim, Jo-Eun Seo, Young Mee Lee, Chi-Hyun Park and Jin Ho Chung, *Effects of Infrared Radiation and Heat on Human Skin Aging in vivo*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, 2009 **14**: p. 15-19.
19. Schalka, S.S.A.A., Flávia Alvim; Monteiro Agelune, Christiane; de Melo C. Pereira, Vanessa, *Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível – uma proposta de avaliação* Sociedade Brasileira de Dermatologia Brasil, 2012. **vol. 4, núm. 1**: p. 45-52.
20. Afaq, F.A., V.M; Mukhtar, H, *Photochemoprevention of ultravioleta B signaling and photocarcinogenesis*. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms, 2005. **571(1-2)**: p. 153-173.
21. RAGEL, V.L.B.I.C., M. A., *Fotoproteção*. Cosmetics & Toiletries (Edição em Português), 2002 **v. 14**: p. 88-95.
22. FARAGE, M.A., E.P. Miller KW, and M. Hl., *Intrinsic and extrinsic factors in skin aging: a review*. Internacional. Journal of Cosmectic Science, 2008. **v. 30**: p. 87-95.
23. Williams, A.C.G.a.G.M., *Regular Use of Sunscreen Can Reduce Melanoma Risk*. The Melanoma Letter, A Publication of The Skin Cancer Foundation 2012. **Vol. 30, No. 2**: p. 1-3.
24. Szklo, A.S., et al., *Comportamento relativo à exposição e proteção solar na população de 15 anos ou mais de 15 capitais brasileiras e Distrito Federal, 2002-2003*. Cad. Saúde Pública, 2007. **23(4)**: p. 823-834.
25. Montagner, S. and A. Costa, *Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento*. An Bras Dermatol, 2009. **84(3)**: p. 263-9.
26. Silva, G.D.d., M.M. Ogawa, and P.C.d. Souza. *Esquema da absorção da radiação ultravioleta*. 2016 [cited 2016 04 de janeiro de 2016]; Esquema da absorção da radiação ultravioleta]. Available from: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAEiqAAJ/ultravioleta>.
27. Fourtanier A1, M.D., Seite S., *UVA filters in sun-protection products: regulatory and biological aspects*. Photochem Photobiol Sci., 2012. **11(1)**: p. 81-9.
28. Wlaschek, M.T.-P., I.; Naderi, L.; Ma, W.; Schneider, L. A.; Razi-Wolf, Z.; Schüller, J.; Scharffetter-Kochanek, K. , *Solar UV irradiation and dermal photoaging*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001. **63**: p. 41.
29. Ivry, G.B.O., C. A.; Shim, E. K., *Role of Sun Exposure in Melanoma*. Dermatologic Surgery, 2006. **32**: p. 481.
30. Volkovova K, B.D., Bartonova A, Letašiová S, Dusinska M., *Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma. Review*. Environ Health, 2012. **28**: p. 11 Suppl 1:S12.
31. Kochevar IE, T.C.I.F., IM et al, *Photophysiscs, photochemistry and Photobiology*. Fitzpatrick's dermatology in general medicine., 2003: p. 1267-1283.
32. Mahmoud BH, H.C., Hamzavi IL, Lym HW, *Effects of visible light on the skin*. . Photoch Photobiol, 2008. **84(2)**: p. 450-62.
33. Bassel H. Mahmoud, et al., *Impact of Long-Wavelength UVA and Visible Light on Melanocompetent Skin*. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, 2010. **130**: p. 2092-2097.
34. Tuchinda C, L.H., Osterwalder U, Rougier A, *Novel emerging sunscreen technologies*. Dermatol Clin, 2006. **24(1)**: p. 105-17.

35. Fairhurst D, M.M., *Particulate Sun Blocks: General Principles In: Shaath NA. Sunscreens: Regulation and commercial development*, 2005: p. 325.
36. Diffey BL, F.P., *Sunscreen protection against UVB, UVA and blue light: an in vivo and in vitro comparison*. Br J Dermatol, 1991. **124(3)**: p. 258-63.
37. Barreiros, A.L.B.S. and J.M. David, *ESTRESSE OXIDATIVO: RELAÇÃO ENTRE GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DEFESA DO ORGANISMO*. Quimica Nova, 2006. **29, No. 1**: p. 113-123.
38. Rajesh P. Rastogi, et al., *Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair*. Journal of Nucleic Acids, 2010. **2010**.
39. Jodi Yanagida, et al., *Accelerated elimination of ultraviolet-induced DNA damage through apoptosis in CDC25A-deficient skin*. Carcinogenesis, 2012. **33(9)**: p. 1754-1761.
40. INCA, I.N.d.C., *Situação do câncer no Brasil*, C.d.P.e.V.C.M.d. Saúde), Editor. 2006: Brasil.
41. –INCA, I.N.d.C. *Melanoma*. 2016 [cited 2016 15 de janeiro].
42. Crocetti E, D.A.R., Buzzoni C, Mariotto A, Storm H, Colonna M, Zanetti R, Serraino D, Michiara M, Cirilli C, Iannelli A, Mazzoleni G, Sechi O, Sanoja Gonzalez ME, Guzzinati S, Capocaccia R, Dal Maso L; AIRTUM Working group., *Cancer prevalence in United States, Nordic Countries, Italy, Australia, and France: an analysis of geographic variability*. British Journal of Cancer, 2013. **109(1)**: p. 219-228.
43. Bakos, L., et al., *A melanoma risk score in a Brazilian population*. Anais Brasileiros de Dermatologia, 2013. **88(2)**: p. 226-232.
44. Iannaccone, M.R., M.C.B.H. &, and A.C. Green, *Effects of sunscreen on skin cancer and photoaging*. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2014. **30**: p. 55-61.
45. Green AC, W.G., Logan V, Strutton GM *Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up*. J Clin Oncol, 2011. **29(3)**: p. 257-263.
46. Foley P, et al., *The frequency of reactions to sunscreens: results of a longitudinal population-based study on the regular use of sunscreens in Australia*. Br J Dermatol, 1993. **128(5)**: p. 512-518.
47. Flor, J., M.R. Davolos, and M.A. Correa, *PROTETORES SOLARES*. Quim. Nova 2007. **30(1)**: p. 153-158.
48. Leslie K. Dennis; Laura E. Beane Freeman, a.M.J.V., *Sunscreen Use and the Risk for Melanoma: A Quantitative Review*. Annals of Internal Medicine- Melanoma and Sunscreen Use, 2003. **139(12)**: p. 966-981.
49. Jennifer S. Mulliken, et al., *The Effect of Sunscreen on Melanoma Risk*. Dermatol Clin, 2012. **30**: p. 369-376.
50. Paolo Vecchia, et al., *PROTECTING WORKERS FROM ULTRAVIOLET RADIATION in Cataloguing International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection: In Collaboration with: International Labour Organization W.H. Organization*, Editor. 2007.
51. Lund, L.P.T., G. S., *Melanoma, long wavelength ultraviolet and sunscreens: Controversies and potential resolutions*. Pharmacology & Therapeutics, 2007. **114**.
52. Said, T., et al., *Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2007. **30**.
53. Afaq, F.M., H., *Effects os solar radiation on cutaneous detoxication pathways*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2001. **63**: p. 61-69.
54. E., N., et al., *Associations of cumulative sun exposure and phenotypic characteristics with histologic solar elastosis*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010. **19(11)**: p. 2932-2941.
55. Company, B.-T.C. *Sunscreen Simulator- BASF* [cited 2016 28 de março]; Available from: https://www.sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator/Login_show.action.
56. Gasparro, F.P., *Sunscreens, Skin Photobiology, and Skin Cancer: The Need for UVA Protection and Evaluation of Efficacy*. Environmental Health Perspectives, 2000. **108(l)**.
57. Milesi, S.S. and S.S. Guterres, *Fatores determinantes na eficácia de fotoprotetores*. Caderno de Farmácia da UFRGS, 2002. **18(2)**: p. 81-87.
58. Santos, J.S. and S.S. Guterres, *Desenvolvimento de formulações fotoprotetoras contendo filtros solares nanoencapsulados*. 2014: Porto Alegre- RS.
59. Paese, K. and S.S. Guterres, *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*. 2008.
60. Schaffazick, S.R., S.S. Guterres, and A.R. Pohlmann, *Desenvolvimento tecnológico e avaliação da atividade antioxidante de sistemas nano e microparticulados contendo melatonina*. 2006: Porto Alegre- RS.

61. NEWMAN, M.D.S., M.; ELLIS, J, *The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens*. J Am Acad Dermatol, 2009. **61**: p. 685-692.
62. NOHYNEK, G.J.A., E.; RE, T.; TOUTAIN, H., *Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients*. Toxicol. And Applied Pharm, 2010. **243**: p. 239-259.
63. Szikszai, Z., et al., *Nuclear microprobe investigation of the penetration of ultrafine zinc oxide into intact and tape-stripped human skin*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 2010. **268**(B): p. 2160-2163.
64. Emiro Khury, T.A.N., Ana Maria da Silva, *Fotoprotetores de alta eficiência*. Cosmetics&Toiletries, 1995. **7**(4): p. 41-46.
65. Shaath, N., *Suncreens: Regulations and Commercial Development*. Third Edition ed, ed. C.S.A. TECHNOLOGY. Vol. 28. 2005.
66. Shaath, N.A., *SPF Boosters & Photostability Of Ultraviolet Filters*. 2007 p. 77-83.
67. James E. Hanson and C. Antonacci, *Natural sunscreen composition* FDA, Editor. 2015: USA.
68. Werner Goedel, B.B., Helmut Auweter, Valerie Andre, Michael Schaper, Andreas Habich, *Powdery preparations containing diethylamino-hydroxybenzoyl-hexyl-benzoate* BASF, Editor. 2007: USA.
69. Baron, E.D., et al., *High Ultraviolet A Protection Aajords Greater Immune Protection Conçrming that Ultraviolet A Contributes to Photoimmunosuppression in Humans*. THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 2003. **121**(4): p. 869-875.
70. Brasil (2012) *Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências*. **RDC N° 30**.
71. FDA (2011) *SPF test procedure de acordo com FDA*. **76**.
72. COLIPA (2011) *Method for the Determination of the Protection Factor of Sunscreen Products in vivo*. COLIPA/JCIA/CTFA-SA. International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.
73. Palefsky, K.K.a.I., *Formulating Sunscreen Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **28**: p. 354-374.
74. Ananthaswamy, H.N., et al., *Suncreens -Handbooks of cancer prevention*, ed. I.A.F.R.O. Cancer. Vol. 5. 2001, France.
75. Pupo, M., *Tratado de Fotoproteção*. Vol. 1. 2012, Campina- São Paulo.
76. Emiro Khury and Edna Borges, *Protetores solares*. RBM Revista Brasileira de Medicina-Editora Moreira Jr 2015. **V 68** (Especial Dermatologia e Cosmiatria 4): p. 4 -18.
77. Schneider, L., *DESENVOLVIMENTO AVANÇADO DE PRODUTOS DE HIGIENE, COSMÉTICOS E PERFUMES I*. Magistral, Editor. 2011: Porto Alegre-RS.
78. Matheus LGM, K.A., *Fotoproteção: a radiação ultravioleta e sua influência na pele e cabelos*. ABC - Associação Brasileira de Cosmetologia, 2002.
79. EXCIPIENTS, H.O.F. and A.P.A.a.P. Press, *HANDBOOK OF FARMACEUTICAL EXCIPIENTS*. 3°ed ed. 2000, U.S.A.
80. Gruber, J.V., *Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care*. Cosmetic science and technology ed. E.D. Goddard. Vol. 22. 1999, NEW YORK
81. Emiro Khury, *Curso de desenvolvimento de emulsões fotoprotetoras*, A.B.d.C.-. ABC, Editor. 2015: Porto Alegre- RS.
82. Lucas Almeida Rigo , A.R.P., Silvia Stanisçuaski Guterres, Ruy Carlos Ruver Beck, *Rice Bran Oil: Benefits to Health and Applications in Pharmaceutical Formulations*. POTENTIAL BIOMEDICAL APPLICATIONS OF RICE BRAN OIL, 2014. **CHAPTER 23**: p. 311-322.
83. Care, A.S.C.P. *DRY-FLO® PC*. 2009 [cited 2016 30/03].
84. Toiletries, C.a. *Amphisol K (Potassium Cetyl Phosphate)*. 2016 [cited 2016 14 de março de 2016]; Available from: <http://dir.cosmeticsandtoiletries.com/detail/tradeName.html?id=18493>.
85. Products, D.N. *AMPHISOL® K INCI Name: Potassium Cetyl Phosphate*. AMPHISOL® K INCI Name: Potassium Cetyl Phosphate 2016 [cited 2016 14 de março de 2016]; Available from: <https://www.ulprospector.com/pt/na/PersonalCare/Detail/473/317120/AMPHISOL-K>.
86. INOLEX. *LexFeel® Natural (INCI Name: Heptyl Undecylenate)*. 2015; Available from: <https://www.ulprospector.com/en/na/PersonalCare/Detail/353/86959/LexFeel-Natural>.
87. INOLEX. *LexFeel® 7 (INCI Name: Neopentyl Glycol Diheptanoate)*. 2015; Available from: <https://www.ulprospector.com/pt/la/PersonalCare/Detail/1884/10327/LexFeel-7>.
88. BASE, P.C.D. *Chemical Structure*. 2016 [cited 2016 29 de março]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Avobenzone#section=Top>.
89. COLIPA (2006) *SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS SCCP Opinion on 4-Methylbenzylidene Camphor* EUROPEAN COMMISSION **COLIPA N° S60**

90. Commission, E. (2008) *Scientific Committee on Consumer Products: OPINION ON Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate COLIPA n° S83*
91. Saúde, S.E.d., *Guia para orientação aos municípios sobre manejo integrado, controle e gestão de insetos da família simuliidae (Diptera, Nematocera) no Rio Grande do Sul.*, C.E.d.V.e. Saúde, Editor. 2006.
92. Mustapha Debboun, S.P.F., Daniel Strickman, *Insect Repellents: principles, methods and uses.* 2006.
93. Saúde, B.M.d. *Dengue, Chikungunya e Zika: Prevenção e combate.* 2016 [cited 2016 15/junho]; Available from: <http://combateaedes.saude.gov.br/>.
94. MOORE, S.J.M., A.J.; LOGAN, J.G., *Insect Bite Prevention.* Infectious Disease clinics of North America, 2012. **26**: p. 637-654.
95. Tao Wang, X.G., *In Vitro Percutaneous Permeation of the Repellent DEET and the Sunscreen Oxybenzone across Human Skin* Pharm Pharmaceut Sci, 2007. **10**(1): p. 17-25.
96. GERMAIN, P., *IR3535 (Ethyl Butylacetylaminopropionate).* Insect Repellents: Principles, Methods, and Uses, 2006. **Chapter 21** p. 353-359.
97. M. Khoobdel, M.S., H. Ladonni, Y. Rassi, H. Vatandoost, H. Kasheffi Alipour *The efficacy of permethrin-treated military uniforms as a personal protection against Culex pipiens (Diptera: Culicidae) and its environmental consequences.* Int. J. Environ. Sci. Tech., 2005. **2**(2): p. 161-167.
98. Joana C. Forgearini, C.B.M., Evelise Assumpção, Adriana R. Pohlmann and Silvia S. Guterres, *Development of an Insect Repellent Spray for Textile Based on Permethrin-Loaded Lipid-Core Nanocapsules.* Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2015. **15**: p. 1-9.
99. CAMARGO, A.X.T.d.c.d.c., *Uso de repelentes no meio military como prevenção de doenças causadas por vetores: Os benefícios vencendo os riscos.* 2008: Rio de Janeiro.
100. GUTIERRES, E.Z.W., R.A.; NASCI, R.S.; BROGDON, W.G. (2011) *Protection against mosquitoes, tick and others insects and arthropods.*
101. SBD, S.B.d.D.-. *Câncer de pele.* 2016 [cited 2016 18 de Março]; Available from: <http://www.sbd.org.br/doencas/cancer-da-pele/>.
102. Schalka, S. and V.M.S.d. Reis, *Fator de proteção solar: significado e controvérsias.* An Bras Dermatol, 2011. **86**(3): p. 507-15.
103. Paul, S.P., *Melanoma Arising after Imiquimod Use.* Case Reports in Medicine, 2014. **2014**: p. 4.
104. Adèle C.Green, G.M.W., Valerie Logan, and Geoffrey M. Strutton, *Reduced Melanoma After Regular Sunscreen Use: Randomized Trial Follow-Up.* JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2011. **29** NUMBER 3.
105. Sul, R.G.d., *DECRETO Nº 50.776- Dispõe sobre a prevenção e o combate às doenças associadas à exposição solar.* 2013.
106. Bernadi, D.S. and P.A.d.R. filho (2011) *Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento de dermatite atópica e psoríase.* Dissertação de mestrado Universidade de São Paulo.
107. Bancha Yingngam, et al., *Encapsulation of Rice Bran Oil in Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Skin Hydration and Viscoelasticity* IJPS, 2008. **3**(2): p. 88-22.
108. AGRICULTURA, M.D. *Arroz.* 2016 [cited 2016 27 de março]; Available from: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>.
109. Sul, C.E.d.V.e.S.S.P.E.-R.G.d., *Guia para orientação aos municípios sobre manejo integrado, controle e gestão de insetos da família simuliidae (Diptera, Nematocera) no Rio Grande do Sul,* S.E.d. Saúde, Editor. 2006.
110. Brasil, *Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos.* ANVISA, 2004. **1** (Série Qualidade em Cosméticos): p. 52.
111. Hommoss, A., *NANOSTRUCTURED LIPID CARRIERS (NLC) IN DERMAL AND PERSONAL CARE FORMULATIONS* 2008: Syria, Berlin
112. Cassia Britto Detoni, G.D.S., Ana Luiza Maurer da Silva, Adriana Raffin Pohlmann and Silvia Stanisuaski Guterres, *Photostability and Skin Penetration of Different E-Resveratrol-Loaded Supramolecular Structures.* Photochemistry and Photobiology, 2012. **88**: p. 913-921.
113. BABY, A.R.e.a., *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, 2008. **44**: p. 233-248.
114. RIBEIRO, C., *Fotoproteção e fotoprotetores.* Pharmabooks ed. Cosmetologia aplicada à Dermoestética. 2006, São Paulo.

115. RIBEIRO, C.O., M. T., *Entendendo Fotoproteção e Fotoprotetores*. Revista Racine, 2003. **13**(75): p. 34-46.
116. Chi H. Lee, V.M., Yugyung Lee, *Thixotropic property in pharmaceutical formulations*. Journal of Controlled Release, 2009. **136**: p. 88-98.
117. LAHOUD, M.H.C., Ranieri, *ASPECTOS TEÓRICOS RELACIONADOS À REOLOGIA FARMACÊUTICA* Visão Acadêmica, 2010. **11**(1).
118. Annika Björn, P.S.d.L.M., Anna Karlsson, Jörgen Ejlertsson and Bo H. Svensson *Rheological Characterization* Biogas, 2012.
119. Rezende, A.F.e.M.C., *Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico*. Polímeros, 2015. **25**(número especial): p. 1-9.
120. Kalinoski, H.T., *Quality Control of Finished Sunscreen Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **3**: p. 719-731.
121. Uli Osterwalder, M.S.B.H., *REVIEW ARTICLE Global state of sunscreens*. Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine, 2014. **30**: p. 62-80.
122. Instruments, M., *BASIC PRINCIPLES OF PARTICLE SIZE ANALYSIS*, in *Technical Paper*. 2000.
123. Mariana D. Bianchin, I.C.K.-G., Catiuscia P. de Oliveira, Renata Vidor Contri, Sílvia S. Guterres, Adriana R. Pohlmann, *Radar charts based on particle sizing as an approach to establish the fingerprints of polymeric nanoparticles in aqueous formulations*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **30**: p. 180-189.
124. Shao, D.S.a.Y., *Inorganic Ultraviolet Filters*. Sunscreens Regulations and Commercial Development 2005. **28**(Third Edition): p. 240-279.
125. Christopher G. Nelson, J., *Photoprotection*. Sunscreens Regulations and Commercial Development 2005. **28**(Third Edition): p. 19-39.
126. USAVADEE THAVARA, A.T., JAKKRAWARN CHOMPOOSRI, WANNAPA SUWONKRD, U-RUYAKRON CHANSANGI ENO PREECHA ASAVADACHANUKORN, *LABORATORY AND FIELD EVALUATIONS OF THE INSECT REPELLENT 3535 GTHYL BUTYLACETYLAMINOPROPIONATE) AND DEET AGAINST MOSQUITO VECTORS IN THAILAND*. Journal of the American Mosquito Control Association, 2001. **17**(3): p. 190-195.
127. DONALD R. BARNARD, U.R.B., KENNETH H. POSEY, AND RUI-DE XUE, *Repellency of IR3535, KBR3023, para-menthane-3,8-diol, and Deet to Black Salt Marsh Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Everglades National Park*. JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY, 2002. **39**(6): p. 895-899.
128. Georges J. Mturi, B.S.M., *Photostability of the suncreening agent 4-tert-butyl-4-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry and Physics of Lipids, 2008.
129. Srei Pisei Huong, E.R., Jean-Dominique Fourneron, Laurence Charles, Val´erie Monnier, Hot Bun, V´eronique Andrie, *Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 2008. **196**: p. 106-112.
130. Jutta Kockler, M.O., Sherryl Robertson, Beverley D. Glass, *Photostability of sunscreens*. Journal of Photochemistry and Photobiology Biology C:Photochemistry Reviews 2012. **13**: p. 91-110.
131. Thitinan Kitisin, P.K.N.L., *Potential Anti-oxidative Activity of Crude Rice Oil Extracted from Cadmium-contaminated Rice as Determined Using an In Vitro Primary Human Fibroblast Cell Model* Journal of Agricultural Science, 2013 **5**(1).
132. Chaudhuri, R.K., *Role of Antioxidants in Sun Care Products*. Sunscreens Regulations and Commercial Development, 2005. **Third Edition**: p. 604-619.
133. Maria Cristina, R.M., Suzana Guimarães Leitão, Cristal Cerqueira-Coutinho, Alane Beatriz Vermelho, Ronald S. Silvac, Octávio A.F. Presgravec, Álvaro A.C. Leitão, Gilda G. Leitão, Eduardo Ricci-Júnior, Elisabete P. Santos, *In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts*. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2016. **26**: p. 251-258.
134. MANSUR, M.C.P.P.R., *Estudo preliminar das atividades fotoprotetora e antioxidante dos extratos das folhas de Bauhinia microstachya var.massambabensis Vaz numa formulação antissolar* 2011 Rio de Janeiro
135. JONG KWON LEE, D.B.K., JONG IL KIM and PU YOUNG KIM, *In vitro cytotoxicity tests on cultured human skin @broblasts to predict skin irritation potential of surfactants*. Toxicology in Vitro, 2000. **14** p. 345-349.
136. Samantha L. Wilson, M.A.a.A.H., *An overview of current techniques for ocular toxicity testing*. Toxicology, 2015. **327**: p. 32-46.

137. Scheila Rezende Schaffazick, S.S.G., Liane de Lucca Freitas, Adriana Raffin Pohlmann, *CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE SISTEMAS POLIMÉRICOS NANOPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO DE FÁRMACOS*. Quim. Nova, 2003. **26**(5): p. 726-737.
138. Mihranyan, A.F., N.; Strømme, M., *Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics* Progress in Materials Science, 2012. **57**(875).
139. Alka Lohani, A.V., Himanshi Joshi, Niti Yadav and Neha Karki, *Nanotechnology-Based Cosmeceuticals*. Hindawi Publishing Corporation ISRN Dermatology, 2014. **2014**: p. 1-14.
140. Bruno Perlatti, P.L.d.S.B., Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, João Batista Fernandes and Moacir Rossi Forim, *Polymeric Nanoparticle-Based Insecticides: A Controlled Release Purpose for Agrochemicals*, in *Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies*. 2013.
141. Gerald B. Kasting, V.D.B., Tycho J. Speaker, *Microencapsulation decreases the skin absorption of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET)*. Toxicology in Vitro, 2008. **22**: p. 548-552.
142. Brooke W. Bissinger, R.M.R., *Tick repellents: Past, present, and future- Review*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010. **96**: p. 63-79.
143. Siqueira NM, C.R., Paese K, Beck RC, Pohlmann AR, Guterres SS., *Innovative sunscreen formulation based on benzophenone-3-loaded chitosan-coated polymeric nanocapsules*. Skin Pharmacol Physiol, 2011. **24**(3): p. 166-74.
144. ASSUMPCAO, E.R.P., Adriana Raffin ; GUTERRES, S. S, *Devepolment and impregnation of lipid nanoparticles containing insect repellent in different types of fabric for clothing*, in *In: Mostra do Centro de Nanociência e Nanotecnologia (CNANO), 2010, . Livro de Resumos, . p. 7-8. 2010: Porto Alegre.*
145. Sílvia S. Guterres, Marta P. Alves and Adriana R. Pohlmann, *Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications*. Drug Target Insights, 2007. **2**: p. 147-157.
146. Carmelo Pugliaa, F.B., Francesco Castelli, Dorotea Micielib and Maria Grazia Sarpietro, *Evaluation of percutaneous absorption of the repellent diethyltoluamide and the sunscreen ethylhexyl p-methoxycinnamate-loaded solid lipid nanoparticles: an in-vitro study*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2009. **61**: p. 1013-1019.
147. Organization, W.H., *PERMETHRIN (40:60 cis:trans isomer ratio) WHO SPECIFICATIONS AND EVALUATIONS FOR PUBLIC HEALTH PESTICIDES 2008*: p. 1-22.
148. Lucia Montenegro, F.L., Alessia Offerta, Maria Grazia Sarpietro, Lucia Micicch, Anna Maria Maccioni, Donatella Valenti, Anna Maria Fadda, *From nanoemulsions to nanostructured lipid carriers: A relevant development in dermal delivery of drugs and cosmetics*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2015. **32**(2016): p. 100-112.
149. VENTURINI, C.G.J., E.; OLIVEIRA, C.P.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A.M.O.; GUTERRES, S.S.; POHLMANN, A.R, *Formulation of lipid core nanocapsules*. *Colloids and Surfaces*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2011. **375**(1-3): p. 200-208.
150. Renata V. Contri, M.K., Fernanda S. Poletto, Adriana R. Pohlmann and Sílvia S. Guterres, *Simultaneous Control of Capsaicinoids Release from Polymeric Nanocapsules*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2011. **11**: p. 2398-2406.
151. Tereza Moravkova, P.F., *The Influence of Thickeners on the Rheological and Sensory Properties of Cosmetic Lotions* Acta Polytechnica Hungarica 2014. **11**(6): p. 173-186.
152. Marta P. Alves, A.L.S., Marcos Santos, Adriana R. Pohlmann, Sílvia S. Guterres, *Human skin penetration and distribution of nimesulide from hydrophilic gels containing nanocarriers*. International Journal of Pharmaceutics, 2007. **341**: p. 215-220.
153. De Brum, T.L., Fiel, Luana A. ; Contri, Renata V. ; Guterres, Sílvia S. ; Pohlmann, Adriana R., *Polymeric Nanocapsules and Lipid-Core Nanocapsules Have Diverse Skin Penetration*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology 2015. **15**: p. 773-780.
154. Bahamonde-Norambuena, D.M.-P., A.; Mario Cantin; Muñoz, M; Katherine Zepeda & Cristian Vilos, *Polymeric Nanoparticles in Dermocosmetic*. Int. J. Morphol, 2015. **33**(4): p. 1563-1568.
155. Hyang Hee Jooa, J.C.K., Hyeon Yong Leea & Seung Rok Hwangb, *Characterization and in vitro Permeation Study of Poly(ϵ -caprolactone) Nanocapsules Containing Hinokitiol*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2008. **29**(4): p. 492-495.
156. Hyang Hee Joo, H.Y.L., You Sang Guan, Jin-Chul Kim, *Colloidal stability and in vitro permeation study of poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules containing hinokitiol*. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2008. **14**: p. 608-613.

157. Rocio Alvarez-Roma, A.N., Yogeshvar N. Kalia, Richard H. Guy, and Hatem Fessi, *Enhancement of Topical Delivery from Biodegradable Nanoparticles*. *Pharmaceutical Research*, 2004. **21**(10): p. 1818-1825.
158. Ana Luiza M. da Silva, R.V.C., Denise S. Jornada, Adriana R. Pohlmann and Silvia S. Guterres, *Vitamin K1-loaded lipid-core nanocapsules: physicochemical characterization and in vitro skin permeation*. *Skin Research and Technology*, 2013. **19**: p. 223-230.
159. M.M. Jiménez, J.P., M.F. Bobin, M.C. Martini, *Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2004. **272** p. 45-55
160. Aline Ferreira Ourique, A.M., Cristiane de Bona da Silva, Ulrich F. Schaefer, Adriana Raffin Pohlmann, Silvia Stanisçuaski Guterres, Claus-Michael Lehr, Karl-Heinz Kostka and Ruy Carlos Ruver Beck, *Improved photostability and reduced skin permeation of tretinoin: Development of a semisolid nanomedicine*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2011. **79** p. 95-101.
161. Lina Albakri, R.D.G., *Permethrin for scabies in children*. *Child Health Update (Canadian Family Physician- Le Médecin de famille canadien)*, 2010. **56**.

Apêndices

Apêndice 1.

1. Estudo de pré-formulação

1.1 Desenvolvimento das formulações

O desenvolvimento das formulações abrangeu a elaboração de 9 preparações em veículos emulsionados do tipo O/A, com finalidade de obtenção de emulsões macroscopicamente estáveis, com consistência aparente variada e de características organolépticas (aspecto, cor e odor) aceitáveis, segundo critérios do formulador.

Para isso, foram selecionadas matérias-primas a partir daquelas já tradicionalmente empregadas em formulações comerciais. Para tal, foram escolhidos alguns protetores solares para serem utilizados como referências no desenvolvimento dos protótipos do presente trabalho, como: Protetor solar FPS 30 L'Oreal, Protetor solar FPS30 Pasteur e Protetor solar FPS30 Neutrogena (a composição destes protetores solares encontra-se no Anexo 2).

1.2 Preparo e estabilidade das formulações

As formulações da etapa de desenvolvimento foram nomeadas como F1 e F2. O objetivo desta etapa foi selecionar a base emulsionada mais adequada para estabilidade e sensorial das formulações.

Primeiramente foram desenvolvidas 2 emulsões fotoprotetoras, com FPS 30 estimado, contendo combinação de emulsionantes diferentes para avaliação sensorial do LAFERGS, composição Tabela 19. Para uma avaliação inicial, estas formulações foram submetidas ao teste de centrifugação, e sendo eliminadas caso houvesse separação de fases.

Tabela 24: Diferentes emulsionantes testados para escolha da combinação mais adequada.

Ingrediente (nome comercial)	F1	F2
Álcool cetosteárico 30/70	2	2
Álcool etoxilado 20OE	4,2	4,2
Ampisol K		2
Ácido esteárico	1,5	
Monoestearato de glicerila	1,5	

Apêndice 2.

2.1 Sugestão de rótulo e de embalagem para a formulação fotoprotetora desenvolvida

FOTOPROTETOR FPS 30 UVA/UVB (destinado a distribuição gratuita)

2.1.1 Embalagem externa: Cartucho unitário

Lado 1 (parte de trás do cartucho):

INGREDIENTES: Water, Octocrylene, Octilmetoxinamato, Methybenzylidene Camphor, Butyl methoxydibenzoyl methane, Ethyl butylacetylaminopropionate, Neopentyl Glycol Diheptanoate, Potassium Cetyl Phosphate, Cetearyl Alcohol, Caprylic/ Capric Triglyceride, Propano-1,2,3-triol, Titanium Dioxide, Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylpheno, Cyclomethicone, Aluminium Starch Octenylsuccinate, Ceteareth-20, Cyclomethicone (and) Dimethicone Crosspolymer, Rice Bran Oil, Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross-polymer, Xanthan Gum, Sodium hydroxide, Ethylenediamine tetraacetic acid, Propylparaben, Methylparaben, Parfum, Hidroxitolueno butilado.

Fabricante: LAFERGS - Laboratório Farmacêutico do RS. Indústria Brasileira XXX

Lado 2 (lateral do cartucho):

Fotoprotetor FPS 30 UVA/UVB proporciona a sua pele alta proteção UVA/UVB, prevenindo o envelhecimento da pele. Possui filtros fotoestáveis, ação antioxidante que combate os radicais livres, promove hidratação a sua pele mantendo-a jovem, saudável e bonita. Possui textura leve e não oleosa.

MODO DE USAR: Aplique generosamente sobre o rosto e pescoço seco, 20 minutos antes da exposição ao sol e para manter a efetividade do produto, reaplique sempre, após nadar, banhar-se, secar-se com a toalha, durante tempo de exposição prolongada ao sol, transpiração excessiva ou sempre que necessário. Se a quantidade aplicada não for adequada, o nível de proteção será significativamente reduzido.

ORIENTAÇÕES AO CONSUMIDOR: Uso externo. Ajuda a prevenir queimaduras solares e não oferece proteção contra a insolação. Descontinue o uso em caso de sensibilização. Evite o contato com os olhos. Produto para uso adulto. Não aplique em crianças. Evite o contato do produto com tecidos. Mantenha fora do alcance de crianças.

Dermatologicamente testado.

Lado 3 (frente do cartucho):

Fotoprotetor FPS 30 UVA/UVB
Alta proteção UVA/UVB

Textura leve e não oleosa

Previne sinais de envelhecimento

XXX

120 g

Lado 4 (lateral do cartucho):

LAFERGS - Laboratório Farmacêutico do RS. Indústria Brasileira XXX

Av. Ipiranga, 5.400 - Jardim Botânico - Porto Alegre - CEP: 90610-000

Telefone: (51) 3288.4000

E-mail: lafergs@fepps.rs.gov.br

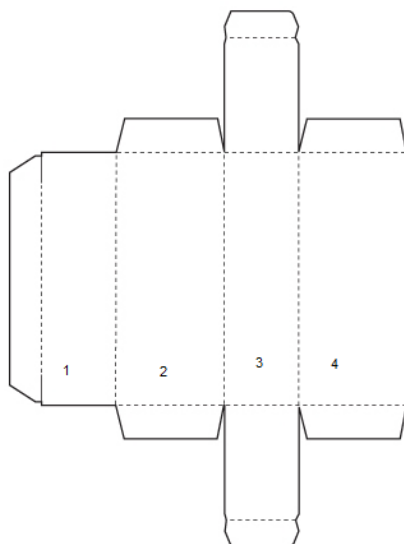


Figura 30. Figura representativa da embalagem externa (cartucho) do Fotoprotetor

2.1.2 Embalagem interna: Bisnaga do tipo “pump”

Parte da frente da bisnaga:

FOTOPROTETOR FPS 30 UVA/UVB

Alta proteção UVA/UVB

Textura leve e não-oleosa

Previne sinais de envelhecimento

LAFERGS - Laboratório Farmacêutico do RS. Indústria Brasileira XXX

Parte de trás da bisnaga:

MODO DE USAR: Aplique generosamente sobre o rosto e pescoço seco, 20 minutos antes da exposição ao sol e para manter a efetividade do produto, reaplique sempre, após nadar, banhar-se, secar-se com a toalha, durante tempo de exposição prolongada ao sol, transpiração excessiva ou sempre que necessário. Se a quantidade aplicada não for adequada, o nível de proteção será significativamente reduzido.

ORIENTAÇÕES AO CONSUMIDOR: Uso externo. Ajuda a prevenir queimaduras solares e não oferece proteção contra a insolação. Descontinue o uso em caso de sensibilização. Evite o contato com os olhos. Produto para uso adulto. Não aplique em crianças. Evite o contato do produto com tecidos. Mantenha fora do alcance de crianças.

Dermatologicamente testado. Resistente à água e ao suor.

Para maiores informações consulte o cartucho deste produto.

120 g



Figura 31. Figura representativa da embalagem interna (bisnaga do tipo pump) do Fotoprotetor

Apêndice 3.

3.1 Preços das matérias-primas utilizadas para o desenvolvimento das emulsões fotoprotetoras.

Matérias-primas	INCI	Preço médio/Kg
Alcool cetoestearílico 30/70	Cetearyl Alcohol	5,85
Alcool cetoestearílico-etoxilado	Ceteareth - 20	5,34
Ácido esteárico	Stearic Acid	11,00
Amphisol K	Potassium Cetyl Phosphate	107,86
Avobenzona	Avobenzone	58,17
BHT	hidroxitolueno butilado	34,26
Ciclometicone DC 245	Cyclomethicone	26,39
Dioxido de titânio T-lite	Titanium Dioxide	108,16
Dow Corning 9040	Cyclomethicone (and) Dimethicone Crosspolymer	150,00
Dry-flo-pure	Aluminium Starch Octenylsuccinate	14,09
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>	9,20
Essência	Fragrance	25,99
Glicerina	Propano-1,2,3-triol	4,35
Goma xantana	Xanthan Gum	13,90
Hidróxido de sódio	Sodium hydroxide	16,00
IR3535	3-[N-n-butyl-N-acetyl] aminopropionic acid ethylester	280,00
Lexfel 7	Neopentyl Glycol Diheptanoate	19,44
Lexfel natural	Heptyl Undecylenate	53,03
Metilparabeno	Methylparaben	50,00
Monoestearato de glicerila	Glyceryl Stearate	9,07
Metilbenzilideno canfor	4-Methylbenzylidene Camphor	55,00
Octocrileno	Octocrylene	46,00
Oleo de arroz	rice oil	38,00
Propilparabeno	Propylparaben	80,00
Pemulen TR1	Acrylates/C10-30 alkyl acrylate cross-polymer	320,00
TCM	Caprylic/Capric Triglyceride	21,00
Tinosorb M (50%)	Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (nano)	448,00
Uvinul A plus	Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	400,00
Uvinul MC80	Ethylhexyl Methoxycinnamate	14,00
Uvinul N 539-T	Octocrylene	103,00

3.2 Preços das formulações desenvolvidas

Preço médio formulações	
Protsol1+IR3535	R\$ 3,70
Protsol1	R\$ 2,26
Protsol2	R\$ 3,17

Anexos

Anexo 1.

1.1 Composição das formulações comerciais

1.1.1 Composição do Fotoprotetor FPS30 Neutrogena®

Neutrogena®Sun Fresh Protetor Solar FPS 30: Água, Etilhexil Metoxicinamato, Homosalato, Etilhexil Salicilato, Silica, Benzophenona-3, Dimeticone, Butil Metoxidibenzoilmetano, Ácido Adípico /Dietilenoglicol/Glicerina Crosspolimero, Copolimero VP/Hexadeceno, Hydroxietyl Acrilato/ Copolimero Acriloildimetil Taurato de Sódio, Alcohol Benzílico, Glicerina, Squaleno, Estearato de Glicerila, PEG-100 Estearato, Fenoxietanol, Acetato de Tocoferila, Cetil Dimeticone, Bisabolol, Extrato de miolo de Avena sativa (aveia), Butilenoglicol, Isobutilparaben, Polisorbato 60, Isopropilparaben, Butilparaben, Glicirrinato Dipotássio, EDTA Tetrasodium, Perfume/Fragrância, BHT, Palmitato de Ascorbila, Palmitato de Retinila, Trimetilsiloxisilicato.

1.1.2 Composição do Fotoprotetor FPS30 Med Protection (instituto Pasteur®)

Med Protection Protetor solar FPS30: Aqua, Propylene Glycol, Carbomer, Disodium EDTA, Glycerin, Xanthan Gum, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylates Crosspolymer, Methylparaben, Propylparaben, Pvp/Eicosene Copolymer, BHT, Sorbitan Oleate, Ethylhexyl Methoxycinnamate, Ethylhexyl Salicylate, 4-Methylbenzylidene Camphor, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Ethylhexyl Palmitate, Sodium Hydroxide, Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol, Octocrylene, Phenoxyethanol, Ethylparaben, Buthylparaben, Cyclomethicone, Parfum


1.1.3 Composição do Fotoprotetor FPS30 L'Oreal Expertise

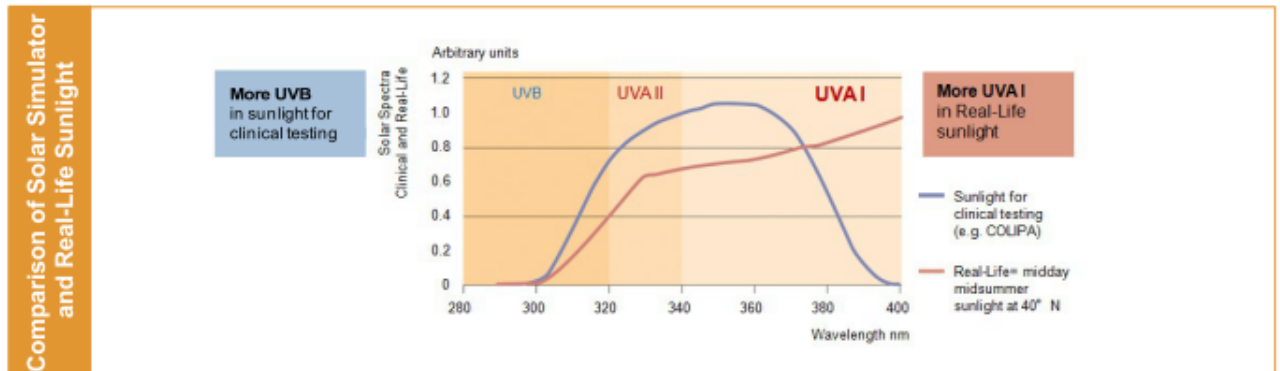
Protetor Solar Expertise® Loção FPS 30: Aqua, C12-15 alkyl benzoate, glycerin, Etilhexil Salicilato, Octocrylene, Titanium Dioxide, butyl methoxydibenzoylmethane, cyclopentasioloxane, Isopropyl palmitate, Talc, stearic acid, potassium cetyl Phosphate, triethanolamine, phenoxyethanol, palmitic acid, PEG-100 stearate, glyceryl stearate, caprylyl Glycol, aluminum hydroxide, Methylparaben, acrylates/C10-30 alkyl acrylate Crosspolymer, terephthalylidene dicamphor sulfonic acid, Ethylhexyl Triazone, disodium edta, tocoferol, linalool, CI 15985, Corantes, parfum.


Anexo 2.


2.1 Estimativa fator de proteção solar para a formulação Protsol1

Input	Region:	Europe	Date:	2016/04/19 03:12:43
	Application amount:	2.0 mg/cm ²		
UV Filter composition				
INCI name	USAN name	Abbreviation	Amount	
Butyl Methoxydibenzoylmethane	Avobenzone	BMBM	4 %	
Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (nano), Tinosorb M, active	Bisotrizole	MBBT	1 %	
4-Methylbenzylidene Camphor	Enzacamene	MBC	4 %	
Ethylhexyl Methoxycinnamate (Uvinul MC80)	Octinoxate	EHMC	4 %	
Octocrylene (Uvinul N539T)	Octocrylene	OCR	5 %	
Titanium Dioxide (nano) oil phase	Titanium Dioxide	TIO2	1 %	
			Total:	19 %

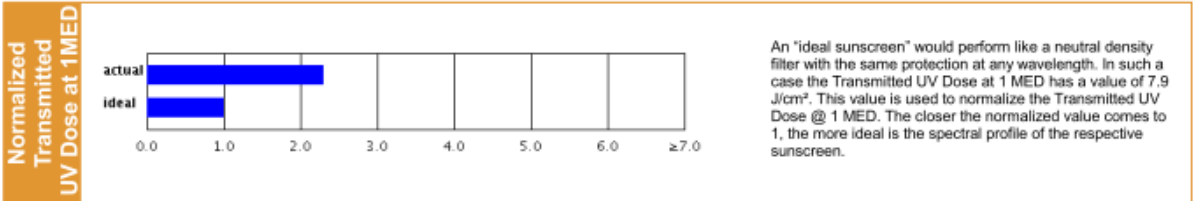
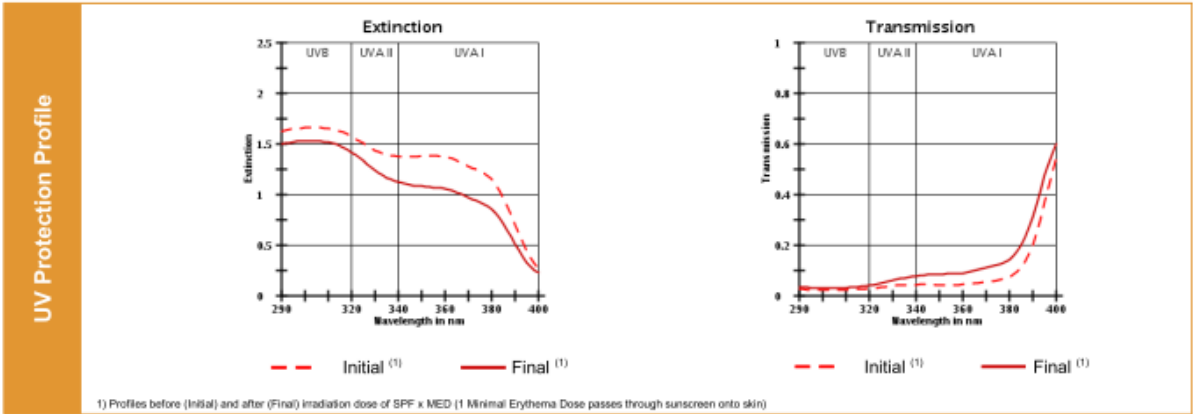
SPF	SPF (ISO 24444):	33.1	Rating:	30
		Filter efficiency: 1.7 (SPF/% UV Filter)	Simulation of the sun protection factor in vivo (SPF, ISO 24444) is performed. A description of the calculations is given in: "In silico Determination of Topical Sun Protection", Bernd Herzog and Uli Osterwalder, Cosmetic Science Technology 2011, 62 - 70	
		The UV Filter efficiency is the ratio of SPF and total UV Filter concentration (in %). The higher this value, the less Filter is required to achieve a certain SPF. This means a higher degree of freedom in the choice of other ingredients in a sunscreen formulation.		



Real-Life Calculations	Real-Life Sunburn Protection Factor (calculated with midday midsummer sunlight at 40°N)	SPF (Real-Life): 30.1	Rating:	30
		Transmitted UV Dose at 1 MED: 18.2 J/cm ² Normalized Transmitted UV Dose at 1 MED: 2.3	The SPF in vivo method (ISO 24444) uses as irradiation source a solar simulator with a cut-off of radiation >400 nm, thus emitting also far less UVA radiation than the sun. In contrast, the real-life SPF is calculated using a standard solar spectrum with full UVA content. Since sunscreens are commonly UVB biased, the Real-Life SPF is smaller than the SPF obtained with the solar simulator. The two SPFs are only the same in the case of the "ideal sunscreen" with spectral homoeostasis.	
		The irradiance of the sun is stronger in the UVA range than in the UVB range. Therefore, the total Transmitted UV Dose (from 280 to 400 nm) after having received 1 MED depends strongly on the spectral properties of the applied sunscreen. The Transmitted UV Dose after 1 MED is calculated in J/cm ² using the same standard solar spectrum as for the Real-Life SPF. An "ideal sunscreen" would perform like a neutral density filter with the same protection at any wavelength. In such a case the Transmitted UV Dose at 1 MED has a value of 7.9 J/cm ² . This value is used to normalize the Transmitted UV Dose @ 1 MED. The closer the normalized value comes to 1, the more ideal is the spectral profile of the respective sunscreen.		

SPF		SPF (ISO 24444): 33.1 Rating: 30	Simulation of the sun protection factor in vivo (SPF;ISO 24444) is performed. A description of the calculations is given in: "In silico Determination of Topical Sun Protection", Bernd Herzog and Uli Osterwalder, Cosmetic Science Technology 2011, 62 - 70
------------	---	---	---

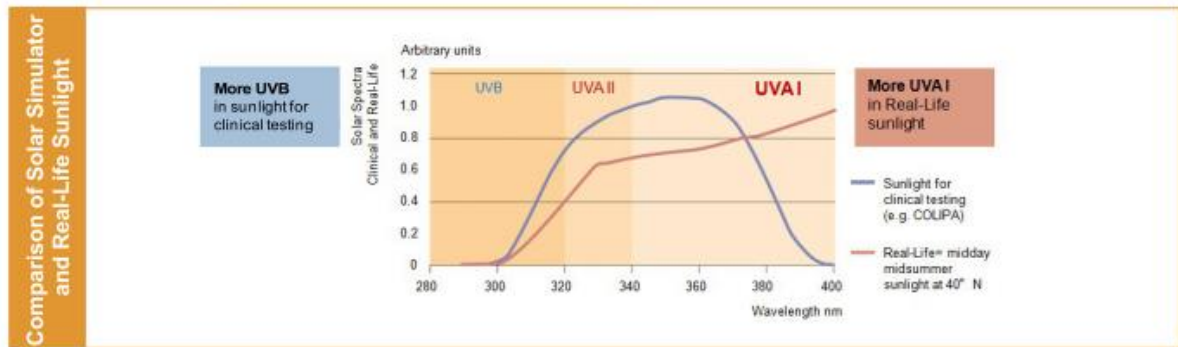
Country	in vivo	in vitro	Rating
 EU  CH  AUS  MERCOSUR	Simulated PPD UVA-PF (ISO 24442): 11.6 UVA-PF/SPF: 0.35 UVA-PF and ratio calculation with labeled SPF Labeled SPF: -	EC Recommendation (UVA-PF/SPF > 0.33) UVA-PF (ISO 24443): 11.1 UVA-PF/SPF: 0.34 Critical wavelength: 375.0 nm	
 GB		Boots Star-Rating UVA/UVB ratio w/o irradiation: 0.73 with irradiation: 0.72	
 JP	JCIA Rating UVA-PF (ISO 24442): 11.6		PA+++
 USA		FDA Final Rule Critical wavelength: 376.0 nm	Broad Spectrum <small>decreases the risk of skin cancer and early skin aging caused by the sun</small>
 Global	No global standard has been defined		




2.2 Estimativa fator de proteção solar para a formulação Protsol2

Input	Region: Europe		Date: 2018/04/19 03:14:52	
	Application amount: 2.0 mg/cm ²			
UV Filter composition				
INCI name				
		USAN name	Abbreviation	Amount
Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate (Uvinul A Plus)		-	DH-HB	3 %
Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol (nano), Tinosorb M, active		Bisotrizole	MBBT	1 %
4-Methylbenzylidene Camphor		Enzacamene	MBC	3 %
Ethylhexyl Methoxycinnamate (Uvinul MC80)		Octinoxate	EHMC	4 %
Octocrylene (Uvinul N539T)		Octocrylene	OCR	5 %
Titanium Dioxide (nano) of phase		Titanium Dioxide	TIO2	1 %
			Total:	17 %

SPF		SPF (ISO 24444): 30.1 Rating: 30	Simulation of the sun protection factor in vivo (SPF, ISO 24444) is performed. A description of the calculations is given in: <small>*In silico Determination of Topical Sun Protection*, Bernd Herzog and Ulf Oskewski, Cosmetic Science Technology 2011, 62 - 70</small>
		<small>Filter efficiency: 1.8 (SPF/% UV Filter)</small>	The UV Filter efficiency is the ratio of SPF and total UV Filter concentration (in %). The higher this value, the less Filter is required to achieve a certain SPF. This means a higher degree of freedom in the choice of other ingredients in a sunscreen formulation.




Real-Life Calculations		Real-Life Sunburn Protection Factor <small>(calculated with midday midsummer sunlight at 40°N)</small> SPF (Real-Life): 27.1 Rating: 25	The SPF in vivo method (ISO 24444) uses as irradiation source a solar simulator with a cut-off of radiation >400 nm, thus emitting also far less UVA radiation than the sun. In contrast, the real-life SPF is calculated using a standard solar spectrum with full UVA content. Since sunscreens are commonly UVB biased, the Real-Life SPF is smaller than the SPF obtained with the solar simulator. The two SPF's are only the same in the case of the 'ideal sunscreen' with spectral homeostasis.
		<small>Transmitted UV Dose at 1 MED: 17.8 J/cm²</small> <small>Normalized Transmitted UV Dose at 1 MED: 2.3</small>	The irradiance of the sun is stronger in the UVA range than in the UVB range. Therefore, the total Transmitted UV Dose (from 280 to 400 nm) after having received 1 MED depends strongly on the spectral properties of the applied sunscreens. The Transmitted UV Dose after 1 MED is calculated in J/cm ² using the same standard solar spectrum as for the Real-Life SPF. An 'ideal sunscreen' would perform like a neutral density filter with the same protection at any wavelength. In such a case the Transmitted UV Dose at 1 MED has a value of 7.9 J/cm ² . This value is used to normalize the Transmitted UV Dose @ 1 MED. The closer the normalized value comes to 1, the more ideal is the spectral profile of the respective sunscreen.

BASF Personal Care and Nutrition GmbH, D-40789 Monheim am Rhein, Germany, sunscreen-simulator@basf.com

This document, or any answers or information provided herein by BASF, does not constitute a legally binding obligation of BASF. While the descriptions, designs, data and information contained herein are presented in good faith and believed to be accurate, it is provided for your guidance only. Because many factors may affect processing or application/use, we recommend that you make tests to determine the suitability of a product for your particular purpose prior to use. It does not relieve our customers from the obligation to perform a full inspection of the products upon delivery or any other obligations. NO WARRANTIES OF ANY KIND, EITHER EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, ARE MADE REGARDING PRODUCTS DESCRIBED OR DESIGNS, DATA OR INFORMATION SET FORTH, OR THAT THE PRODUCTS, DESIGNS, DATA OR INFORMATION MAY BE USED WITHOUT INFRINGING THE INTELLECTUAL PROPERTY RIGHTS OF OTHERS. IN NO CASE SHALL THE DESCRIPTIONS, INFORMATION, DATA OR DESIGNS PROVIDED BE CONSIDERED A PART OF OUR TERMS AND CONDITIONS OF SALE.

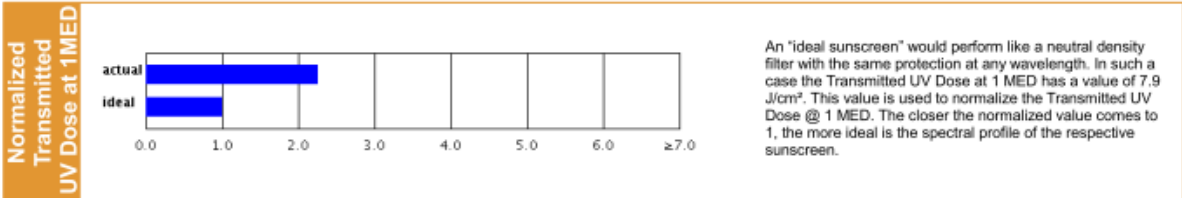
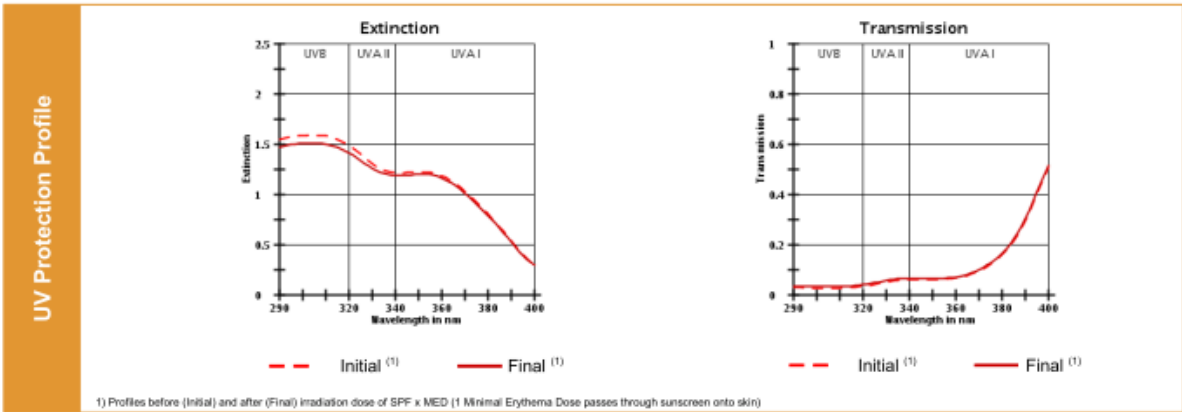
SPF



SPF (ISO 24444): 30.1
Rating: 25

Simulation of the sun protection factor in vivo (SPF; ISO 24444) is performed. A description of the calculations is given in: "In silico Determination of Topical Sun Protection", Bernd Herzog and Uli Osterwalder, Cosmetic Science Technology 2011, 62 - 70

Country	in vivo	in vitro	Rating
 EU  CH  AUS  MERCOSUR	Simulated PPD UVA-PF (ISO 24442): 10.4 UVA-PF/SPF: 0.35 UVA-PF and ratio calculation with labeled SPF Labeled SPF: -	EC Recommendation (UVA-PF/SPF > 0.33) UVA-PF (ISO 24443): 8.0 UVA-PF/SPF: 0.27 Critical wavelength: 373.0 nm	
 GB		Boots Star-Rating UVA/UVB ratio w/o irradiation: 0.65 with irradiation: 0.65	
 JP	JCIA Rating UVA-PF (ISO 24442): 10.4		PA+++
 USA		FDA Final Rule Critical wavelength: 374.0 nm	Broad Spectrum decreases the risk of skin cancer and early skin aging caused by the sun
 Global	No global standard has been defined		



Anexo 3.

4.1 Orçamentos para realização do FPS *in vivo*

	<p>KosmoSCIENCE Ciência & Tecnologia Cosmética ✉ Rua Doze de Outubro 688, 13274-125 - Valinhos – SP ☎ Telefax: (19) 3829 – 3482 🌐 www.kosmoscience.com</p>
---	---

PROPOSTA DE ESTUDO – URG003-15-R0

Estudo de Eficácia para Determinação do Fator de Proteção Solar Método FDA

OBJETIVO

Determinar a eficácia do fator de proteção solar pela aplicação de produtos cosméticos contra a radiação ultravioleta para o tratamento da pele por intermédio da metodologia FDA. RESISTENCIA AO SUOR.

DESCRIÇÃO

PRODUTOS:

Loção fotoprotetora – formulação 01

Loção fotoprotetora – formulação 02

FPS – Fator de Proteção Solar

Para leitura de Fator de Proteção Solar será empregado o seguinte método:

SPF test procedure de acordo com FDA (Federal Register / Vol. 76, No. 117 / 17 de junho de 2011)

MATERIAIS NECESSÁRIOS

- 01 embalagem de cada produto a ser avaliado contendo 200gr para avaliação do Fator de Proteção Solar.
- ENVIO DAS FORMULAÇÕES QUALITATIVAS E QUANTITATIVAS para inserção ao relatório final.
- **INFORMAR O NUMERO DESTE ORÇAMENTO NO ROTULO DAS AMOSTRAS.**

SIGILO

Garantimos total sigilo das informações apresentadas, conforme Contrato de Confidencialidade que poderá ser estabelecido.

PRAZOS

Os resultados obtidos serão apresentados em forma de relatório técnico em formato eletrônico criptografado (PDF) contendo uma introdução teórica sobre a técnica empregada, descrição da metodologia experimental, resultados, tratamentos estatísticos, discussão dos resultados, conclusão e bibliografia.

Após a aprovação do relatório em formato eletrônico, por parte do patrocinador, será emitido o Relatório Final impresso a ser entregue em mãos ou pelos Correios com AR.

Para isto, serão necessários **40 dias após início do ensaio.**

INVESTIMENTOS

Descrição	Custo Total (R\$)
<ul style="list-style-type: none">• AVALIAÇÃO OFICIAL;• FPS – Fator de Proteção Solar;• 02 PRODUTOS;• 10 voluntários;• Obtenção das leituras basais;• Obtenção das leituras pós-tratamento esperado;• RESISTENCIA AO SUOR;• Tratamento Estatístico;• Elaboração de Relatório Técnico;	4.800,00
<i>Total Geral</i>	4.800,00

FORMA DE PAGAMENTO

O valor total do estudo deverá ser pago em duas parcelas com emissão no recebimento das amostras.

Valinhos, 24 de Julho de 2015.



Adriano S. Pinheiro
KosmoSCIENCE
Ciência & Tecnologia Cosmética
☎ +55 19 3829 3482
Adriano@kosmoscience.com

CUSTO E PRAZO

ESTUDO	VALOR UNIT.	Nº AMOSTRAS	VALOR TOTAL
HRIPT - AVALIAÇÃO DA IRRITABILIDADE DÉRMICA PRIMÁRIA, ACUMULADA E SENSIBILIZAÇÃO – “DERMATOLOGICAMENTE TESTADO”	R\$ 600,00	02	R\$ 1.200,00
DETERMINAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR COM RESISTÊNCIA À ÁGUA / SUOR – MÉTODO COLIPA	R\$ 1.800,00	02	R\$ 3.600,00
DETERMINAÇÃO DA PROTEÇÃO UVA <i>IN VITRO</i> – MÉTODO COLIPA	R\$ 800,00	02	R\$ 1.600,00
ESTUDO DE EFICÁCIA REPELENTE – DURAÇÃO DE 3 HORAS	R\$ 15.000,00	01	R\$ 15.000,00
TOTAL FINAL			R\$21.400,00
Prazo Final para Entrega dos Relatórios			90 dias
Opção de Pagamento:	5 (CINCO) PARCELAS IGUAIS (30, 60, 90, 120 E 150 DIAS).		

PROPOSTA E SOLICITAÇÃO COMERCIAL

F-PSQ_03.01 - Rev.15 - 21/08/2014

Página 1 de 2

Proposta Nº:	054802
Versão:	01
Data:	20/08/2015

DADOS DO PATROCINADOR / CLIENTE

Empresa: FUNDAÇÃO DE APOIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RGS
Endereço: AV BENTO GONCALVES,9500
 AGRONOMIA - PORTO ALEGRE - RS - 91509900 - BRASIL
Solicitante: JULIANA MEDEIROS
E-mail: juliana.pharmacia@gmail.com

CNPJ: 74704008000175
Telefone: -

DETALHAMENTO DO ESTUDO / ENSAIO

Categoria do Produto	Serviços	Código da Amostra	Nome Oficial	Relatório			Valor (BRL)
				Emissão	Empresa	Idioma	
LOCAO	FPS SECO ISO 24444 E IMERSAO COLIPA 21 35 180 MIN 10 PARTICIPANTES	054801-01	A DEFINIR	INDIVIDUAL		PORTUGUES	5.335,00
LOCAO	UVA IN VITRO ISO 24443	054801-01	A DEFINIR	INDIVIDUAL		PORTUGUES	900,00
LOCAO	FPS SECO ISO 24444 E IMERSAO COLIPA 21 35 180 MIN 10 PARTICIPANTES	054801-02	A DEFINIR	INDIVIDUAL		PORTUGUES	5.335,00
LOCAO	UVA IN VITRO ISO 24443	054801-02	A DEFINIR	INDIVIDUAL		PORTUGUES	900,00
Total do Custo:							12.470,00

Observações:

Relatório em PDF com fórmula + Impresso

Formulação 1 = Loção fotoprotetora FPS 30 UVA/UVB resistente ao suor 180 min
 Formulação 2 = Loção fotoprotetora FPS 30 UVA/UVB resistente ao suor 180 min

FORMA DE PAGAMENTO: 30 DIAS