

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

**Desenvolvimento de hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico  
incorporado em nanoemulsões para aplicação tópica em distúrbios de  
hiperpigmentação**

GABRIELA FÁTIMA DE LIMA FLORES

PORTO ALEGRE, 2022



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

**Desenvolvimento de hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico  
incorporado em nanoemulsões para aplicação tópica em distúrbios de  
hiperpigmentação**

Dissertação apresentada por **Gabriela Fátima de  
Lima Flores** para obtenção do GRAU DE MESTRE  
em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Helder Ferreira Teixeira  
Coorientadora: Profa. Dra. Flávia Nathiely Silveira Fachel

PORTO ALEGRE, 2022

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 26 de setembro de 2022, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Ângela Machado de Campos  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Gilsane Lino Von Poser  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Letícia Scherer Koester  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### CIP - Catalogação na Publicação

Flores, Gabriela Fátima de Lima  
Desenvolvimento de hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões para aplicação tópica em distúrbios de hiperpigmentação / Gabriela Fátima de Lima Flores. -- 2022.  
99 f.  
Orientador: Helder Ferreira Teixeira.

Coorientador: Flávia Nathiely Silveira Fachel.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Nanoemulsões. 2. Hidrogéis. 3. Ácido Rosmarínico. 4. Hiperpigmentação. 5. Pele. I. Teixeira, Helder Ferreira, orient. II. Fachel, Flávia Nathiely Silveira, coorient. III. Título.

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

“A educação é o nosso passaporte para o futuro, pois, o amanhã pertence as pessoas que se preparam hoje.”

Malcom X



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente as forças divinas e energias de Oxalá e da Mãe Oxum, que me segurou e me fortaleceu durante esses 2 anos e 6 meses, durante este período de desafio para me reinventar e apreender a me adaptar com os novos métodos de ensino remoto durante a pandemia e também de manter o controle emocional e físico para seguir em frente.

Agradeço a minha Mãe Maria Helena que me motivou sempre nos meus estudos, quanto moralmente e quanto financeiramente. A mãe sempre me apoiou e apoia nas minhas escolhas, dedico a ela a cada passo das minhas conquistas e, principalmente, a este futuro título de mestra em que será nosso juntamente comigo.

Agradeço o meu namorado e amigo Guilherme Quilombo que me motivou desde o início da seleção de mestrado e que sempre esteve disposto a me ouvir e a trocar experiências com relação a vida acadêmica de pesquisador.

Agradeço a minha sobrinha Antônia por me motivar e me fazer lembrar que não posso falhar, pois sou o exemplo dela como pessoa.

Agradeço aos meus ancestrais que não estão presentes fisicamente, como o meu pai Valdemir Gabriel, pois se estivesse aqui estaria muito feliz por mim por mais este degrau de estudo em andamento de conclusão.

Agradeço as mulheres da minha família que sempre estiveram à disposição em apoiar umas às outras com amor, carinho, compreensão e apoio na minha trajetória (mãe, irmãs e sobrinha).

Agradeço o Professor Dr. Helder Teixeira e a Professora Dra. Flávia Fachel pela disponibilidade e compreensão por terem aceitado a minha proposta de projeto e por compartilharem seus conhecimentos e experiências comigo para que eu pudesse aplicar neste trabalho. O Prof. Helder aceitou a minha proposta pelo projeto e Eu fiquei muito feliz e honrada que você Professor, acreditou em mim, mesmo eu tendo a minha graduação adquirida por outra instituição de ensino, sem experiência na área da pesquisa, você aceitou o desafio para que eu fosse capaz de buscar o embasamento teórico deste projeto para poder ter sido aplicado na prática.

E a Profa. Flávia, não esquecerei de você desde o primeiro momento em que conversei com você e lhe questionei na Escola de Verão de 2019, como era e como eu poderia fazer parte de um grupo de pesquisa na Instituição Federal para desenvolver um determinado tema na área da pesquisa. Você me encorajou pela sua história por ter formação em instituição privada como Eu. E por ter me demonstrado o passo a passo no decorrer do desenvolvimento deste projeto de pesquisa quanto teoricamente e quanto experimentalmente, serei sempre grata.

Agradeço a aluna de iniciação científica Gabriela Oliveira que aceitou as ideias para desenvolver as imagens do artigo de revisão e que esteve presente durante a fase experimental deste trabalho.

Agradeço ao grupo de pesquisa Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LDG), que é um grupo unido, que sempre esteve a disposição em auxiliar o próximo e me aceitaram de braços abertos, com o sentimento de acolhimento e soma para a minha participação do grupo. Em especial as colegas Nathalya Brazil e Patrícia Weimer, que sempre estiveram à disposição para me ensinar a manusear um determinado tipo de equipamento e a compartilharem dicas e indicações de artigos durante este período. E pela parceria na participação durante alguns experimentos.

Agradeço a minha Professora de inglês e amiga, Bianca, que me preparou para os estudos na prova de proficiência, e me auxiliou nas correções de escrita dos artigos científicos redigidos em língua inglesa.

Agradeço a bolsa de fomento CAPES, que disponibilizou a bolsa de pesquisa e aceitou a prorrogação para que eu pudesse concluir com efetividade o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao produtor local Ouro do Sul que doou as peles de orelha suína para a realização dos testes experimentais, para a aplicação das formulações em peles suínas.

Agradeço as tecnologias existentes como os aplicativos: Google Meet, Zoom e WhatsApp em que facilitou a nossa comunicação e orientações a distância para o desenvolvimento e aprendizado durante estes últimos dois anos atípico.



## RESUMO

A pele é o aspecto do fenótipo humano mais visível e sua cor é um de seus fatores mais variáveis. A hiperpigmentação é um fator de alteração cutânea comum de exacerbação da pigmentação da pele e diversos agentes clarificantes, como a hidroquinona, estão disponíveis no mercado. Mas, devido aos efeitos adversos e a capacidade irritante destes produtos, o emprego de compostos naturais tem sido estudado como alternativa terapêutica no tratamento da hiperpigmentação na pele. O ácido rosmarínico (AR) é um composto polifenólico, que apresenta propriedades antioxidante, fotoprotetora e antimelanogênica. O desenvolvimento de formulações mais efetivas e seguras, associando-se o emprego do AR e sistemas nanoestruturados espessados em hidrogéis para facilitar a sua penetração em camadas mais profundas da pele de grande interesse na área farmacêutica. Neste contexto, o presente estudo objetivou desenvolver hidrogéis bioadesivos contendo AR incorporado em nanoemulsões com vistas a sua administração tópica em distúrbios de hiperpigmentação na pele. Para tanto, inicialmente, um artigo de revisão sobre os tipos de hiperpigmentações existentes, tratamentos nanotecnológicos já desenvolvidos, contemplando artigos científicos e patentes existentes. Em um segundo capítulo, as formulações foram desenvolvidas e caracterizadas quanto as suas propriedades físico-químicas e bioadesivas, ao perfil de liberação e permeação/retenção em pele de orelha suína. Adicionalmente, o potencial irritante das formulações desenvolvidas também foi avaliado. Nanoemulsões contendo lecitina de gema de ovo, triglicerídeos de cadeia média, Tween® 80%, ácido rosmarínico e gel de quitosana na composição (HCNE<sub>RA</sub>) foram desenvolvidas pelo método de homogeneizador de alta pressão. As formulações apresentaram resultados adequados quanto a caracterização físico-química boa estabilidade física, e elevada capacidade bioadesiva. O perfil de permeação e retenção em pele suína, demonstrou a capacidade da formulação HCNE<sub>RA</sub> em promover a liberação do AR nas camadas mais profundas da pele. Por fim, a avaliação do potencial irritante das formulações (HET-CAM) demonstrou irritabilidade moderada (HCNE<sub>RA</sub>). Em conclusão, os conjuntos de resultados obtidos até o momento, demonstram as potencialidades da HCNE<sub>RA</sub> como potenciais de estratégias de terapia tópica em distúrbios de hiperpigmentação.

**Palavras-chaves:** Nanoemulsão; Hidrogéis; Bioadesão; Ácido Rosmarínico; Hiperpigmentação; Pele.



## ABSTRACT

The skin is the most visible aspect of the human phenotype, and its color is one of its most variable factors. Hyperpigmentation is a common altering factor of skin pigmentation exacerbation, and several clarifying agents, such as hydroquinone and others cosmetics, are available in the pharmaceutical industry. Nevertheless, due to these products' adverse effects and irritant capacity, natural products have been studied as a therapeutic alternative to treating skin hyperpigmentation. Rosmarinic acid (RA) is a polyphenolic compound that has antioxidant, photoprotective, and antimelanogenic properties. The development of more effective and safer formulations is associated with using RA and nanostructured systems thickened in hydrogels to facilitate their penetration into deeper layers, which are still of great interest in the pharmaceutical area. In this context, the present study aimed to develop bioadhesive hydrogels containing RA incorporated in nanoemulsions with a view to their topical administration in skin hyperpigmentation disorders. Therefore, a review article on the types of existing hyperpigmentation and already developed nanotechnological treatments which contemplate scientific articles and existing patents. In a second chapter, the formulations were developed and characterized in terms of their physicochemical and bioadhesive properties, the release profile, and permeation/retention in porcine ear skin. Additionally, the irritating potential of the developed formulations was also evaluated. Nanoemulsions containing egg yolk lecithin, medium chain triglycerides, Tween® 80, rosmarinic acid, and chitosan gel in the composition (HCNE<sub>RA</sub>) were developed by the high-pressure homogenization method. The formulations showed adequate results regarding physicochemical characterization, good physical stability, and high bioadhesive capacity. The permeation and retention profile in porcine skin demonstrated the ability of the HCNE<sub>RA</sub> formulation to improve the delivery of AR in deeper layers of the skin. Finally, the evaluation of the irritating potential of the formulations (HET-CAM) showed moderate irritability chorioallantoic membrane (HCNE<sub>RA</sub>). In conclusion, the results obtained so far demonstrate the potential of HCNE<sub>RA</sub> as a potential topical therapy strategy in hyperpigmentation disorders.

**Key words:** Nanoemulsion; Hydrogels; Bioadhesion; Rosmarinic Acid; Hyperpigmentation; Skin.



## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I: ARTIGO DE REVISÃO

---

- Figure 1.** Flowchart demonstrating the paper selection process searched in the Embase® (Elsevier), Scopus (Elsevier), PubMed® (MEDLINE/ National Library of Medicine), and Web of Science (Clarivate Analytics) databases with the search terms Skin\* (title) AND hyperpigmentation (all fields) AND treat\* (all fields) date from between 2000 and 2021(Combination 1)..... 38
- Figure 2.** Flowchart demonstrating the paper selection process searched in the Embase® (Elsevier), Scopus (Elsevier), PubMed® (MEDLINE/ National Library of Medicine), and Web of Science (Clarivate Analytics) databases with the search terms Nano\* (title) AND skin (all fields) AND hyperpigmentation (all fields) date from between 2000 and 2021 (Combination 2)..... 39
- Figure 3.** Mapping of key words found in selected papers with the search terms: Nano\* (title) AND skin (all fields) AND hyperpigmentation (all fields) date from between 2000 and 2021 (Combination 2)... ..... 40
- Figure 4.** Flowchart demonstrating the patent selection process in the Espacenet (European Patent Office) database with the search terms Nano\* (title) AND skin (all fields) AND hyperpigmentation (all fields) date from 2000 and2021(Combination 2)... .....41
- Figure 5.** Illustrative demonstration of the two disorders that can occur in the skin either qualitatively or quantitatively, on the left side, the manifestation of melasma, and on the right side, the manifestation of hyperpigmentation .....43
- Figure 6.** Demonstrative images of the different types of nanostructures... 47

## CAPÍTULO II: ARTIGO EXPERIMENTAL

---

- Figure 1.** Physicochemical properties of nanoemulsions  $NE_B$  (A) and  $NE_{RA}$  (B) as a function of the number of cycles at high-pressure homogenization..... 80
- Figure 2.** Cryo-TEM photomicrographies of  $NE_{RA}$  formulation. A) Homogeneous distribution of nanoemulsion droplets in the field. B and C) Presence of nanoemulsion droplets sized between 80 and 150 nm (arrows)... ..... 81
- Figure 3.** Droplet size (A), polydispersity index (B),  $\zeta$  -potential (C), and RA content of nanoemulsions ( $NE_{RA}$ ) and hydrogels ( $HCNE_{RA}$ ) during the stability study..... 84
- Figure 4.** Rheological profile from hydrogels  $HCNE_B$  (A) and  $HCNE_{RA}$  (B)... 85
- Figure 5.** RA *in vitro* release profile from nanoemulsions ( $NE_{RA}$ ), hydrogels ( $HCNE_{RA}$ ) and control solution after 8 h of study..... 86
- Figure 6.** Images showing the effects of different substances applied on the chorioallantoic membrane for 5 min. A: NaOH 0.1 M; B: Sodium lauryl sulfate 1% w/v; C: NaCl 0.9% w/v; D: RA saline solution; E:  $NE_B$ ; F:  $NE_{RA}$ ; G:  $HCNE_B$ ; H:  $HCNE_{RA}$  ..... 89

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I: ARTIGO DE REVISÃO

---

**Table 1.** Summary of literature survey in Embase<sup>®</sup> (Elsevier), Scopus (Elsevier), PubMed<sup>®</sup> (MEDLINE/ National Library of Medicine), and Web of Science (Clarivate Analytics) with the keywords "Nano\*" (title) AND "skin" (all fields) AND "hyperpigmentation" (all fields). Data from between 2000 and 2021 ..... 53

**Table 2.** Summary of patent survey in Espacenet with the keywords "Nano\*" (title) AND "skin" (all fields) AND "hyperpigmentation" (all fields). Data from between 2000 and 2021..... 57

### CAPÍTULO II: ARTIGO EXPERIMENTAL

---

**Table 1.** Final composition of nanoemulsions (NE<sub>B</sub> and NE<sub>RA</sub>) and hydrogels (HCNE<sub>B</sub> and HCNE<sub>RA</sub>) ..... 75

**Table 2.** Physicochemical characterization of nanoemulsions (NE<sub>B</sub> and NE<sub>RA</sub>) and hydrogels (HCNE<sub>B</sub> and HCNE<sub>RA</sub>) ..... 83

**Table 3.** RA retention profile in porcine skin layers from nanoemulsions (NE<sub>RA</sub>), hydrogels (HCNE<sub>RA</sub>), and control solution after 8 h of study... 87

**Table 4.** Irritant score and reaction with solutions control and formulations of the chorioallantoic membrane test (n = 5) ..... 88





## LISTA DE ABREVIATURAS

**AR:** *Ácido Rosmarínico*

**AZA:** *Azelaic Acid*

**Cryo-TEM:** *Cryo-Transmission Electron Microscopy*

**HA:** *Hyaluronic Acid*

**NAGA:** *N-acetyl glucosamine*

**HCNE<sub>B</sub>:** *hydrogel of chitosan with NE<sub>B</sub>*

**HCNE<sub>RA</sub>:** *hydrogel of chitosan with NE<sub>RA</sub>.*

**HET-CAM:** *hen's egg test chorionallantoic membrane*

**KA:** *Kojic Acid*

**PZ:** *Potential Zeta*

**KMO:** *Kojic Monooleate*

**NE:** *Nanoemulsions*

**NE<sub>B</sub>:** *Blank nanoemulsion*

**NE<sub>RA</sub>:** *RA-loaded nanoemulsion*

**NLCs:** *Nanostructured Lipid Carriers*

**NPs:** *Polymeric Nanoparticles*

**PDI:** *Polydispersity Index*

**PIH:** *Post-Inflamatoriry Hyperpigmentation*

**RA:** *Rosmarinic acid*

**SD:** *Standard Deviation*

**ROS:** *Reactive Oxygen Species*

**SLNs:** *Solid Lipid Nanoparticles*

**TEM:** *Transmission Electron Microscopy*

**UFLC:** *Ultra-Fast Liquid Chromatography*

**UV:** *Ultraviolet Radiation*



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>OBJETIVOS</b> .....	25
Objetivo Geral .....	27
Objetivos Específicos.....	27
<b>CAPÍTULO I: ARTIGO DE REVISÃO Nanotechnology-based delivery systems for skin hyperpigmentation: Scientific literature and patents' overview</b> .....	<b>31</b>
1. Introduction.....	35
2. Data collection .....	36
3. Melanogenesis process and hyperpigmentation in the skin.....	41
4. Pathophysiology of skin hyperpigmentation.....	44
5. Treatments .....	45
6. Nanotechnology-based delivery systems.....	46
7. Patents.....	56
8. Conclusion .....	60
References.....	61
<b>CAPÍTULO II: ARTIGO EXPERIMENTAL Rosmarinic acid-loaded nanoemulsions thickened with chitosan hydrogel designed to treat skin hyperpigmentation</b> .....	<b>67</b>
1. Introduction.....	73
2. Materials and methods.....	74
3. Results and discussion .....	80
4. Conclusion .....	89
Conflicts of interest.....	90
Acknowledgements .....	90
References.....	91
<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>95</b>







A pele é o aspecto do fenótipo humano mais visível, e sua cor é um de seus fatores mais variáveis. A síntese de melanina possui um papel fundamental na definição da cor da pele. A exposição à radiação UV excessiva pode levar à aceleração do processo melanogênico, e, conseqüentemente, da síntese de melanina, levando a uma maior pigmentação da pele (Lipsker & Boeckler, 2019).

A hiperpigmentação é um fator de alteração cutânea comum de exacerbação da pigmentação da pele, e que pode resultar de uma anormalidade qualitativa ou quantitativa de constituintes normais da pele, como: aumento da produção de melanina (hipermelanose) nas camadas da derme e/ou epiderme, depósito cutâneo de ferro (hemossiderose) ou caroteno (carotenoderma); ou ainda, de alguma substância ausente na pele (discromia) (Lipsker & Lenormand, 2019). Este distúrbio de pele pode ocorrer de forma congênita ou inesperada conforme a exposição aos raios ultravioleta (UV), ou pode ser associado a ingestão de certos medicamentos, disfunção hormonal, decorrentes de lesões inflamatórias (acne vulgar, reações de hipersensibilidade, queimaduras, traumas, entre outras) ou exposição excessiva a radiação ultravioleta (UV), sendo este último o principal fator exógeno capaz de modificar a pigmentação normal da pele (Alchorne & De Abreu, 2008a; Lipsker & Lenormand, 2019; Miot et al., 2009).

Inúmeros agentes clareadores da pele estão disponíveis no mercado, incluindo a hidroquinona, um composto amplamente empregado com efeito clareador devido a inibição da atividade da tirosinase nos melanócitos. No entanto, estes produtos podem ser bastante irritantes e estar associados a efeitos adversos (dermatite de contato, pigmentação pós-inflamatória, ocronose exógena, entre outros), ou até mesmo, serem parcialmente eficazes. Além disso, esses tratamentos podem exigir um prolongado período de uso antes que os resultados apareçam, o que está associado a um alto custo nos tratamentos. Neste contexto, o emprego de compostos naturais têm sido abordado como alternativa no tratamento de diversas lesões na pele, incluindo a hiperpigmentação, devido a possibilidade de redução de efeitos colaterais da melhoria, na tolerância e segurança relatada pelos pacientes associada a redução de custos destes produtos (Alchorne & De Abreu, 2008a, 2008b; Jesus et al., 2016; Mahjour et al., 2019)

O ácido rosmarínico (AR) é um composto polifenólico, um éster de ácido cafeico e ácido 3,4-di-hidroxifenilático, primeiramente isolado do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e encontrado em inúmeras espécies vegetais, principalmente, as pertencentes as famílias Boraginaceae e Lamiaceae (Dai et al., 2020). Desta forma, o AR é uma opção de tratamento tópico para a hiperpigmentação na pele, pois apresentam propriedades biológicas bem descritas na literatura, incluindo as anti-inflamatória e antioxidante. No entanto, o AR, assim como alguns produtos naturais, apresenta algumas limitações, como sua baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade, baixa permeabilidade em membranas biológicas e instabilidade (Fachel et al., 2019; Veras et al., 2019).

Por esse motivo, esses compostos ainda representam um grande desafio para a indústria farmacêutica e cosmética que, atualmente, tem estudado algumas estratégias, visando transpor essas limitações, como o uso de nanotecnologia. Neste sentido, nosso grupo de pesquisa, tem desenvolvido sistemas nanoestruturados para aplicação tópica do AR. Dentre os sistemas nanoestruturados, as nanoemulsões têm sido descritas para incorporação de substâncias ativas e extratos vegetais pouco solúveis em água, de forma a aumentar sua solubilidade e aumentar a permeação/retenção em membranas biológicas. As nanoemulsões são dispersões de nanogotículas oleosas em uma fase aquosa externa estabilizadas por um sistema tensoativo, as quais possuem aparência leitosa, reduzido diâmetro de gotícula e baixa viscosidade. São constituídas de óleos e tensoativos que formam o núcleo oleoso, correspondendo de 5 a 20% da formulação (Fachel et al., 2018; Marafon et al., 2019a). Por apresentarem baixa viscosidade, é conveniente a sua incorporação em formas farmacêuticas semissólidas com apropriada viscosidade para aplicação tópica.

Recentemente, foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa um sistema nanoestruturado para aplicação via tópica na pele, onde foi demonstrado que a incorporação do AR neste sistema facilitou sua permeação na pele. A partir desses resultados novas formulações foram desenvolvidas de forma a facilitar a permeação do AR em camadas mais profundas da pele, visando a aplicação para alteração cutânea, como a hiperpigmentação (Marafon et al., 2019b).



Neste contexto, a presente dissertação de mestrado objetivou desenvolver hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões de diferentes concentrações para aplicação por via tópica em distúrbios de hiperpigmentação na pele. Para tanto, a presente foi redigida na forma de capítulos, com encarte de publicações, de acordo com as normas vigentes no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## Referências

- Alchorne, M. M. D. A., & De Abreu, M. A. M. M. (2008). Dermatologia na pele negra. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 83(1), 7–20. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962008000100002>
- Avelar, M. M. De, Abreu, M. De, & Milanez, M. A. (2020). Dermatologia na pele negra. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 1–17.
- Daudt, R. M., Emanuelli, J., Kulkamp-Guerreiro, I. C., Pohlmann, A. R., & Guterres, S. S. (2013). Nanotechnology as a strategy for the development of cosmetics. *Science and Culture*, 65(3), 4–7. [http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0009-67252013000300011&lng=pt&tlng=pt](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252013000300011&lng=pt&tlng=pt)
- Fachel, F. N. S., Medeiros-Neves, B., Dal Prá, M., Schuh, R. S., Veras, K. S., Bassani, V. L., Koester, L. S., Henriques, A. T., Braganhol, E., & Teixeira, H. F. (2018). Box-Behnken design optimization of mucoadhesive chitosan-coated nanoemulsions for rosmarinic acid nasal delivery—In vitro studies. *Carbohydrate Polymers*, 199(July), 572–582. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.054>
- Jesus, M. De, Lima, D. A., Guedes, Q., Nunes, R., & Atsushi, A. (2016). *Quim. Nova*. 39(5), 592–597.
- Lipsker, D., & Boeckler, P. (2019). Hyperpigmentations. *EMC - Dermatologie*, 1(3), 1–15. [https://doi.org/10.1016/s0246-0319\(06\)41618-6](https://doi.org/10.1016/s0246-0319(06)41618-6)
- Lipsker, D., & Lenormand, C. (2019). Hyperpigmentation. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, 146(10), 666–682. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2019.05.005>
- Lucca, L. G. (2013). Avaliação da permeação cutânea de nanoemulsão contendo óleo de copaíba incorporada em hidrogéis. *Dissertação de Mestrado*, 75. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Mahjour, M., Banihashemi, M., Rakhshandeh, H., Vakili, V., Khoushabi, A., & Kakhki, M. T. (2019). A triple-blind, randomized trial of a traditional compound as compared to 4% hydroquinone in melasma. *Journal of Herbal Medicine*, 19(June 2017), 100308. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100308>
- Marafon, P., Fachel, F. N. S., Dal Prá, M., Bassani, V. L., Koester, L. S., Henriques, A. T., Braganhol, E., & Teixeira, H. F. (2019). Development, physico-chemical characterization and in-vitro studies of hydrogels containing rosmarinic acid-loaded nanoemulsion for topical application. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(8), 1199–1208. <https://doi.org/10.1111/jphp.13102>
- Veras, K. S., Fachel, F. N. S., Pittol, V., Garcia, K. R., Bassani, V. L., dos Santos, V., Henriques, A. T., Teixeira, H. F., & Koester, L. S. (2019). Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(8), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.09.01>





## Objetivo Geral

O objetivo principal da presente dissertação foi desenvolver hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões com vistas a sua administração tópica em distúrbios de hiperpigmentação na pele.

## Objetivos Específicos

- Preparar e caracterizar as nanoemulsões contendo ácido rosmarínico;
- Desenvolver e caracterizar os hidrogéis contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões;
- Avaliar a estabilidade das formulações desenvolvidas;
- Avaliar a bioadesão das formulações desenvolvidas;
- Avaliar *in vitro* o perfil de liberação do ácido rosmarínico, em células de difusão de Franz, a partir das formulações preparadas;
- Avaliar *in vitro* o perfil de permeação/retenção do ácido rosmarínico em pele de orelha suína estratificando-se as camadas da pele (estrato córneo, derme e epiderme), em células de difusão de Franz, a partir das formulações preparadas;
- Avaliar o potencial irritante das formulações desenvolvidas em modelo de membrana cório-alantoide de ovo embrionado de galinha (HET-CAM, *hen's egg test chorionallantoic membrane*).



**CAPÍTULO I: ARTIGO DE REVISÃO**

**Nanotechnology-based delivery systems for skin hyperpigmentation:  
Scientific literature and patents' overview**

**Artigo a ser submetido: *Clinics in Dermatology***

---





---

## **Introdução**

*O primeiro capítulo desta dissertação compreende um artigo científico de revisão sobre o potencial da nanotecnologia como sistemas de liberação de compostos para o tratamento de distúrbios de hiperpigmentação da pele. A hiperpigmentação é uma anormalidade qualitativa ou quantitativa que se desenvolve a partir da aceleração da produção de melanina que é ativada pela enzima tirosinase. Os tratamentos existentes têm como principais desvantagens, a instabilidade e efeitos adversos, aos quais estão relacionados a uma baixa eficácia terapêutica e tratamentos prolongados. Para contornar esta desvantagem, tem sido investigado o encapsulamento de agentes despigmentantes em diferentes tipos de nanoestruturas como lipossomas, nanocristais, nanoemulsões, nanopartículas, nanoesponjas, carreadores lipídicos nanoestruturados, niossomas e nanopartículas lipídicas sólidas. Os sistemas nanoestruturados podem proporcionar a entrega das substâncias ativas nas camadas mais profundas da pele e em um curto tempo de tratamento. Neste contexto, esse capítulo teve por objetivo revisar os sistemas de liberação de base nanotecnológica avaliados para tratar a hiperpigmentação da pele. Após extensa pesquisa bibliográfica e de patentes, foram discutidos os desafios atuais para o tratamento disponível da hiperpigmentação cutânea e as alternativas nanotecnológicas existentes.*

---



O Capítulo 1 é constituído por artigo científico de revisão a ser publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 33-66.

**Nanotechnology-based delivery systems for skin hyperpigmentation:  
Scientific literature and patents' overview**

Gabriela Fátima de Lima Flores, Gabriela Fusinato de Oliveira, Flávia Nathiely Silveira Fachel, and Helder Ferreira Teixeira\*

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

\*Corresponding author. Tel.: (+55) 51 3308 5231; Fax: (+55) 51 3308 2165.

E-mail address: [helder.teixeira@ufrgs.br](mailto:helder.teixeira@ufrgs.br) (Helder Ferreira Teixeira)











































































## **CAPÍTULO II: ARTIGO EXPERIMENTAL**

**Rosmarinic acid-loaded nanoemulsions thickened with chitosan hydrogel  
designed to treat skin hyperpigmentation**

**Artigo a ser submetido: *Journal of Pharmacy and Pharmacology***

---



---

## Introdução

*O segundo capítulo desta dissertação apresenta o estudo de desenvolvimento de hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões para aplicação tópica em distúrbios de hiperpigmentação. A hiperpigmentação da pele é uma anormalidade, sendo causada pela exposição aos raios ultravioleta UVA, reação adversa a medicamentos, fatores físicos e químicos, entre outros. Atualmente, existe uma diversidade de tratamentos e procedimentos que podem ser utilizados para a hiperpigmentação da pele. No entanto, esses tratamentos estão altamente associados à instabilidade e efeitos adversos, além de tratamentos prolongados. Nesse contexto, o desenvolvimento de novas estratégias para hiperpigmentação da pele continua sendo uma consideração fundamental para os pesquisadores. O ácido rosmarínico (AR) é um composto polifenólico isolado primeiramente do alecrim, o qual possui propriedades antioxidantes e antimelanogênicas bem descritas na literatura. Neste contexto, no presente capítulo descreve a incorporação o AR foi incorporado em nanoemulsões espessadas com hidrogéis bioadesivos de quitosana para aplicação tópica com o objetivo de melhorar a permeação na pele e viabilizar sua utilização em distúrbios de hiperpigmentação cutânea. Para tanto, a caracterização físico-química, perfil reológico, propriedades bioadesivas e ensaios de liberação e permeação/retenção in vitro através de pele de orelha de suína foram avaliados. Após a segurança das formulações desenvolvidas foi avaliada pelo Teste de Membrana Corioalantoica de Ovo de Galinha (HET-CAM).*

---





O Capítulo 2 é constituído por artigo científico a ser publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da tese defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 71-93.

**Rosmarinic acid-loaded nanoemulsions thickened with chitosan hydrogel designed to treat skin hyperpigmentation**

Gabriela Fátima de Lima Flores, Gabriela Fusinato de Oliveira, Nathalya Tesch Brazil, Patrícia Weimer, Roselena Silvestri Schuh, Flávia Nathiely Silveira Fachel, and Helder Ferreira Teixeira\*

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

\*Corresponding author. Tel.: (+55) 51 3308 5231; fax: (+55) 51 3308 2165.

E-mail address: [helder.teixeira@ufrgs.br](mailto:helder.teixeira@ufrgs.br) (Helder Ferreira Teixeira)





















































**CONCLUSÕES**

---



O conjunto dos resultados obtidos ao longo dessa dissertação demonstra as potencialidades do uso de hidrogéis bioadesivos contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões com vistas a sua administração tópica em distúrbios de hiperpigmentação na pele, com base nas seguintes conclusões:

- Foi possível obter nanoemulsões contendo ácido rosmarínico pelo método de homogeneização a alta pressão, aos quais posteriormente foram espessadas em hidrogéis bioadesivos de quitosana;
- As propriedades físico-químicas apresentadas demonstraram a adequabilidade das formulações desenvolvidas ao uso tópico, além de uma adequada estabilidade física até 120 dias.
- O perfil de liberação *in vitro* do ácido rosmarínico a partir das formulações demonstraram um perfil de liberação controlada.
- O perfil de permeação e retenção *in vitro* em pele suína demonstrou as potencialidades contendo ácido rosmarínico incorporado em nanoemulsões (HCNE<sub>RA</sub>) para aplicação tópica em distúrbios de hiperpigmentação, uma vez que possibilitou sua penetração até a camada da derme em pele de orelha suína.
- A avaliação HET-CAM demonstrou uma irritabilidade moderada nas formulações bioadesivas desenvolvidas.

De uma maneira geral, o presente estudo demonstrou as potencialidades da formulação desenvolvida (HCNE<sub>RA</sub>) como um carreador adequado para aplicação por via tópica para tratar os distúrbios de hiperpigmentação na pele. Estudos futuros devem ser conduzidos para confirmar esse potencial promissor das formulações desenvolvidas. As perspectivas futuras desta dissertação, englobam a avaliação da atividade antioxidante e antimelanogênica em modelos *in vitro*.